



GIÁO TRÌNH

CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG SẢN XUẤT VÀ ĐỜI SỐNG

Mở đầu

1. Thế nào là công nghệ sinh học (CNSH)

Sự bùng nổ của CNSH.

Danh từ CNSH xuất hiện vào nửa cuối của thập kỉ 50-70 của thế kỉ XX, hiện nay được dùng khá phổ biến. Cho đến nay, chúng ta không biết ai là người đưa ra danh từ này và xuất xứ từ đâu?

Công nghệ sinh học có thể hiểu một cách đơn giản là công nghệ sử dụng các cơ thể sống để sản xuất các sản phẩm hữu ích phục vụ con người. Cũng có nhiều người đưa ra nhiều định nghĩa, song chưa có một định nghĩa nào bao trùm hết ý nghĩa của nó.

Liên đoàn châu Âu về CNSH (European Federation of Biotechnology) định nghĩa: CNSH là sự ứng dụng thực tiễn của các cơ thể sinh học hay thành phần tế bào của chúng để tạo ra những sản phẩm phục vụ cho sản xuất và đời sống, để điều khiển môi trường sống.

Có người lại định nghĩa: CNSH là kĩ thuật cao sử dụng cơ thể sống hay những chất tách từ cơ thể ấy để tạo ra hay sửa đổi một sinh vật, nhất là để nâng cao các đặc tính có giá trị kinh tế của các loài động thực vật hay tạo ra những vi sinh vật có khả năng tác động đến môi trường.

Vừa qua có người lại cho rằng: CNSH được coi là ngành khoa học công nghệ của việc chuyển nạp gene (DNA) vào tế bào hay cơ thể chủ nhằm khai thác một cách công nghiệp các sản phẩm của gene đó phục vụ đời sống, phát triển kinh tế.

Theo những định nghĩa trên có thể hiểu CNSH theo hai nghĩa:

Nghĩa rộng: bao gồm nhiều dạng sử dụng các sinh vật vào các mục đích sản xuất như làm rượu, làm men bánh mì, fromage (phomat), làm tương, chao,...

Nghĩa hẹp: CNSH kĩ thuật cao là CNSH phân tử được sử dụng những kĩ thuật hiện đại tái tổ hợp DNA, biến nạp gene qua con đường vector plasmid, cố định enzyme, gắn enzyme lên một cơ chất nào đó, giữ yên để sử dụng nhiều lần....

Tùy thuộc vào việc hiểu định nghĩa rộng hay hẹp mà người ta phân ra hai loại: CNSH mới (new biotechnology) và CNSH cổ điển (classical biotechnology).

Công nghệ sinh học cổ điển có thể coi là CNSH xuất hiện trong lịch sử loài người rất sớm, có thể cách đây 5.000-8.000 năm, thậm chí 10.000 năm. Trong kinh thánh cũng đã nói đến qui trình làm giấm, làm rượu nho, làm dưa, ...đến nay chúng ta vẫn còn sử dụng qui trình đó

Công nghệ sinh học mới xuất hiện khi kĩ thuật di truyền ra đời.
Chúng ta sẽ có dịp đi sâu vào vấn đề này trong những phần sau. -

2. Lịch sử phát triển CNSH

Từ sau chiến tranh thế giới lần thứ hai, CNSH phát triển như vũ bão. Cuộc cách mạng khoa học kĩ thuật đã có những thay đổi cơ bản có liên quan đến sự phát triển của vi sinh vật học, hóa sinh học, lí sinh học, sinh học phân tử, di truyền học phân tử, hóa sinh học hữu cơ. Nhiều mô hình nghiên cứu giúp cho việc định hướng đúng đắn sự phát triển của CNSH đặc biệt là sinh học phân tử.

Vào năm 1950-1960, trong nghiên cứu đã đạt được nhiều thành tựu to lớn, nổi bật nhất là vấn đề mã di truyền. Đến năm 1960-1962, chúng mình được cơ chế điều hòa hoạt động gene và sau đó (1969), tổng hợp được gene là một thành tựu to lớn trong sinh vật học. Sau năm 1972-1975, sự ra đời của kĩ thuật di truyền, tạo ra sự bùng nổ của CNSH, có thể tiến hành những sản xuất sinh học bắt đầu những thao tác trong ống nghiệm (*in vitro*). Kĩ thuật di truyền đã tạo ra một cuộc cách mạng trong sinh học, đồng thời nó đánh dấu một bước phát triển trong sinh học phân tử. Những thành tựu của sinh học phân tử đã dẫn đến những thống nhất trong nghiên cứu sinh học làm sáng tỏ những nghiên cứu cơ bản và nghiên cứu ứng dụng.

Trước khi CNSH ra đời (từ năm 1950-1960) cũng đã có những bước phát triển như sản xuất vaccine, kháng sinh, acid amin. Sự phát triển của CNSH đã lôi kéo, tập trung lớn các vấn đề sinh học. Hầu như những bước tiến lên của sinh học hiện đại lại mở ra những khả năng mới thường là hoàn toàn bất ngờ đối với CNSH. Trước hết phải nói đến các phương pháp được hoàn thiện nhờ công nghệ gene (genetic engineering) nhằm cấu trúc lại các chủng vi khuẩn nấm men với các gene lạ và với các đặc tính đã dự kiến trước. Tốc độ phát triển CNSH nhanh chóng một cách dị thường, thực hiện ở qui mô công nghệ rộng lớn về thức ăn gia súc, về thực phẩm và cả những hormone, peptid, neuropeptid, các chất cao phân tử sinh học phức tạp đến các hợp chất vô cơ và hữu cơ tương đối đơn giản.

Ngày nay, CNSH đó là công cụ có thể áp dụng cho nhiều ngành kinh tế khác nhau như nông lâm ngư nghiệp, sản xuất và chế biến thực phẩm, chăn nuôi thú y, y tế và sức khỏe cộng đồng, sản xuất các dược chất, sản xuất năng lượng, chuyển hóa hóa chất, chuyển hóa sản phẩm phụ nông nghiệp và công nghiệp, v.v.

Nhờ phương pháp hóa học dùng polyethylenglycol, phương pháp vật lí xung điện người ta đã dung hợp protoplast, phương pháp ngâm hạt

phần vào dung dịch DNA, phương pháp vi tiêm gene, phương pháp dùng súng bắn gene đã chuyển gene trực tiếp vào các tế bào khác nhau ở thực vật. hoặc, người ta đã chuyển gene gián tiếp được thông qua việc sử dụng các vector plasmid hoặc tạo phôi soma v.v.

Có thể nói rằng, CNSH đặc biệt là công nghệ gene thật là kì diệu, đã mở ra một triển vọng lớn lao giúp con người có thể thực hiện được hoài bão to lớn trong một tương lai phát triển với một thời gian rút ngắn.

3. Hứa hẹn của CNSH với các nước đang phát triển

Trước cuộc gặp gỡ với các em học sinh trường PTTH, khi các em hỏi nhà bác học nổi tiếng, viện sĩ trẻ tuổi nhất – phó chủ tịch viện Hàn lâm Khoa học Liên Xô (cũ) Iu. Ovchianhicov:

Tại sao viện sĩ lại hiến dâng đời mình cho sinh vật học? Viện sĩ có lấy làm tiếc về điều đó không?

Nhà bác học mỉm cười và nói:

* Không, tôi không tiếc

Và sau đó giải thích:

* Vâng, chắc là có những khoa học không kém phần quan trọng hơn sinh vật học. Nhưng tôi không biết có khoa học nào khác lại quan trọng hơn sinh vật học.

Câu trả lời hoàn toàn đúng đắn và tất nhiên đã chứa đựng trong đó lòng say mê và tình yêu của nhà bác học đối với lĩnh vực hoạt động sáng tạo đã được lựa chọn. Viện sĩ đã xác định một cách sâu sắc và rõ ràng vị trí khoa học về sự sống, về tính qui luật vận động vật chất sống trong hệ thống khoa học cơ bản, phức tạp và hiện đại.

Cách đây hơn 40 năm, khi trả lời phỏng vấn của nhà khoa học thế giới về tương lai của di truyền một nhà khoa học về sinh học phân tử đã nói:

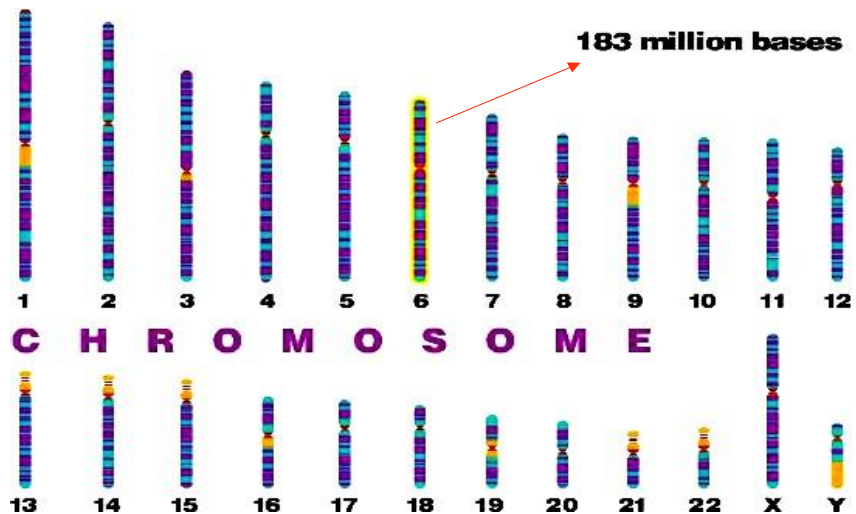
“Khó mà tiên đoán, nhưng chỉ biết đến năm 2000 trong một buổi sáng mùa xuân, thí sinh của tôi sẽ trả lời được câu hỏi “bằng cách biến đổi di truyền thế nào và chuyển gene ra sao để những cây Đậu Hà Lan đổi chiều cuộn ngược lại từ phải sang trái trên giá đỡ, để sao cho toàn bộ các lá húng được ánh sáng mặt trời tạo điều kiện cho quang hợp được tốt nhất. Và cũng bằng cách chuyển gene như thế nào để có thể “bóc thuốc gene” chữa cho một hoàng tử mắc bệnh tâm thần”.

Ngày nay, công nghệ gene đã giúp cho việc chuyển gene ưu việt vào việc tạo giống mới, ghép các gene tăng sức đề kháng của cây như tạo ra nhiều chất ức chế sự tiêu hóa của sâu bọ, người ta cũng đã chuyển gene protein capsid (những kháng thể của cây) có thể chống được các virus.

Người ta cũng đã dùng súng bắn gene đưa những gene chống chịu điều kiện bất lợi của ngoại cảnh vào cơ thể để chống hạn hán, chống sâu bệnh, v.v. Bằng phương pháp chuyển gene di truyền, người ta biến bò sữa cho bò yaourt, bằng phương pháp dung hợp protoplast người ta đã tạo ra những cây vừa ăn củ (củ khoai tây) vừa ăn quả (quả cà chua), sản xuất vaccine tái hợp, làm phóng đại gene với kỹ thuật PCR (polymerase chain reaction) đã thu được nhiều kết quả quý báu. Đặc biệt ngày 26/6/2000, các nhà khoa học thuộc dự án lập bản đồ gene người, một dự án đa quốc gia do Anh, Mỹ tài trợ và công ti Celera Genomics (CG) của Craig Venter cùng công bố bản đồ gene (BĐG) người và được đánh giá tương đương với việc nhà du hành vũ trụ Mỹ Neil Amstrong đặt bước chân đầu tiên lên mặt trăng vào năm 1969; và hơn cả thành tựu tìm ra thuốc kháng sinh. Đó là một thành tựu to lớn nhất trong lịch sử di truyền học, sinh học phân tử và y học phân tử kể từ khi Watson và Crick công bố cấu trúc xoắn kép của phân tử DNA năm 1953. Trước đó các nhà khoa học ước tính ít nhất phải đến 2005 mới thiết lập được BĐG cho khoảng 80% các gene trong hệ gene người với kinh phí ít nhất là ba tỉ USD. Trong thực tế, các nhà khoa học đã công bố BĐG người với 97% và đến năm 2002 người ta đã giải mã hoàn toàn BĐG người. Người ta đã phát hiện rằng, trong con người chỉ có 30.000 đến 35.000 gene (trước đây người ta cho rằng trong con người có từ 60.000 đến 100.000 gene). Một số đối tượng khác lại còn cao hơn như ở lúa có 50.000 gene. Nhìn chung thì có đến 98% gene tương đồng.

Bản đồ gene

HỒ gene ng-êi



Tiếp theo đó, người ta đã phát hiện nhiều gene có khả năng trị nhiều bệnh hiểm nghèo cho con người. Hơn thế nữa, ngày 27/12/2002 Giám đốc điều hành công ti sinh sản vô tính (SSVT) Clonaid-Brigitte Boisselier cho biết nhóm nhà khoa học thuộc công ti này lần đầu tiên đã thực hiện thành công ca SSVT vào ngày 26 tháng 12 năm 2002 và cho ra đời bé gái đặt tên là Eve. Không ảnh, không băng hình, không tiết lộ danh tính người phụ nữ 31 tuổi thực hiện ca SSVT, Boisselier nói rằng clonaid sẽ cung cấp chứng cứ bằng mẫu DNA trong 8-9 ngày kể từ ngày công bố. Xét ở góc độ khoa học, người ta còn bán tính bán nghi thông tin trên. Nhưng ở góc độ xã hội, sự điên rồ trong ý tưởng được nâng lên tầm “tôn giáo” của Clonaid thì không ai ngờ vực.

Việc nhân bản vô tính con Cừu Dolly đã nổi tiếng một thời (tháng 2 năm 1997), nay Cừu Dolly đã chết sau 6 năm tuổi (công bố ngày 15/2/2003). Phân tích thì thấy nó đã 12 năm tuổi vì lấy tế bào từ mẹ nó có 6 năm tuổi, sau này người ta còn nhân bản nhiều động vật khác như chuột, mèo, dê, lợn. Gần đây, ngày 7/8/2003, TS Golli người Italia thực hiện việc nhân bản thêm con ngựa. Việc nhân bản vô tính các động vật đã mở ra một hướng mới trong việc bảo tồn nguồn gene quý hiếm của các động vật có nguy cơ diệt chủng và đang diệt chủng.

Thời gian gần đây người ta cũng đã nuôi cấy tế bào gốc (stem cells). Khi phôi còn ở giai đoạn rất sớm mới có 8 tế bào thì một tế bào đều có khả năng phát triển thành một phôi hoàn chỉnh hoặc phân hóa thành bất kì loại tế bào nào của cơ thể sau này. Những tế bào này được gọi là tế bào gốc nguyên phát. Ở nhau thai một số tế bào cũng còn duy trì được khả năng phân hóa tiềm năng và có thể nuôi cấy thành dòng tế bào gốc thứ phát.

Người ta cũng đã ứng dụng công nghệ nano sinh học (bionanotechnology) cho phép thu nhận những thông tin về hệ thống sinh học ở mức lượng tử, đầu dò kích thước nano tới kích thước một phân tử riêng rẽ dùng trong chẩn đoán bệnh. Công nghệ nano là phương pháp *in situ* mới để cung cấp thông tin tốt hơn về chức năng tế bào, là công nghệ thao tác cải biến 2 chiều và 3 chiều đối với mô và tế bào, vận chuyển và phân phối thuốc hoặc gene vào mô và tế bào thông qua không chế kích thước hạt, hoạt hóa và giải phóng chất thuốc qua cơ chế và thiết bị như bơm kích thước nano, van tế bào vào cơ quan nhân tạo.

Ở Việt Nam, chúng ta cũng đã dùng phương pháp trực tiếp bắn gene và phương pháp gián tiếp chuyển gene bằng con đường plasmid để đưa gene chống chịu rầy nâu vào cây lúa (viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long), cây mía chịu hạn (viện CNSH Hà Nội) đạt kết quả bước đầu. Xí nghiệp Dược TW cũng đã chuyển nạp gene để chế vaccine có kết quả. Gần đây, ngày 24 tháng 2 năm 2004, tiếp theo viện CNSH Hà Nội, viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh cũng đã giải mã thành công bộ gene H₅N₁ (gây bệnh cúm ở người từ gà) để có hướng điều trị bệnh này.

Những thành tựu khoa học hiện nay, những kinh nghiệm của thế giới đã chứng minh rằng: người ta ngày nay đã chú ý đến những gì đã xảy ra trong toàn bộ sinh học và nhất là trong những lĩnh vực riêng của sinh học – CNSH.

Ý nghĩa xuất sắc của CNSH là ở chỗ nhờ sức mạnh đa dạng của mình mà nó đã mở ra những con đường mới mẻ để giải quyết hàng loạt

các vấn đề có tính toàn cầu như tính hạn chế và mối đe dọa thực sự của tiêu hao các nguồn năng lượng, thực phẩm truyền thống và cuối cùng là sự ô nhiễm môi trường xung quanh.

Đối với các nước đang phát triển, CNSH là một vấn đề then chốt, mà vốn các nước này đã bị coi là khác biệt so với các nước có nền công nghiệp phát triển.

Thời gian qua, trong các nước đang phát triển có một số nước vươn lên và đạt trình độ khoa học công nghệ cao. Họ có một nền tảng công nghệ vững và một thị trường đủ rộng để đảm bảo làm chủ một số mũi nhọn CNSH hướng chúng vào phục vụ các nhu cầu của nước mình.

Tuy nhiên, đa số các nước đang phát triển còn đang thiếu nguồn vốn để khai thác các công nghệ đó, thiếu hạ tầng cơ sở cho nhiều nghiên cứu cơ bản, ứng dụng và thiếu người có trình độ cần thiết cho các ngành công nghiệp sinh học. Vì vậy các nước này phải kết hợp hài hòa những tiến bộ của CNSH với tình trạng thiếu vốn nhưng lại dư thừa lao động, những bí quyết của CNSH, qui trình CNSH cổ truyền v.v.

Hiện nay các nước nghèo nhất và kém phát triển về mặt công nghệ và khoa học cũng có thể thu được một số lợi ích do tiến bộ của CNSH và tham gia vào cuộc “cách mạng CNSH” nhờ các mạng lưới hợp tác quốc tế và khu vực.

Riêng khu vực châu Á, một số trung tâm CNSH ra đời như trung tâm Tư liệu Thế giới về các Vi sinh vật MIRCEN ở Nhật Bản, viện CNSH của Đại học Osaka, viện Nghiên cứu Khoa học Kỹ thuật Thái Lan (cho vùng Đông Nam Á), trung tâm New Delhi nghiên cứu về cố định N_2 sinh học, tính chống chịu cây lương thực, cải thiện và phân phối chất dinh dưỡng trong thực vật, tăng trưởng và tái sản xuất gia súc, phát vaccine phòng bệnh nhiệt đới. Viện Nghiên cứu Cao su bằng nuôi cấy mô ở Malaysia (RRIM), công ti Mực in và Hóa chất Dainippon (DIC) Tokyo Nhật Bản chuyên sản xuất các chất sinh học tinh khiết và các chất màu thực phẩm, thức ăn cho cá, mỹ phẩm từ các loài tảo. v.v. Công nghệ sinh học có tầm quan trọng to lớn, vì vậy, CNSH đã trở thành một trong bốn mũi nhọn của thế giới ngày nay (điện tử và tin học, năng lượng, vật liệu mới, công nghệ sinh học).

Ở Việt Nam, Đảng và Nhà nước ta cũng đã thấy rõ tầm quan trọng của CNSH. Văn kiện Hội nghị lần thứ VII của Ban chấp hành TW Đảng khóa 2 cũng đã nhấn mạnh: “Ưu tiên và ứng dụng phát triển các công nghệ tiên tiến như: công nghệ thông tin phục vụ yêu cầu điện tử hóa và tin học hóa nền kinh tế quốc dân; CNSH trước hết phục vụ phát triển nông, lâm,

ngư nghiệp, chế biến thực phẩm, dược phẩm và bảo vệ môi trường sinh thái; công nghệ chế tạo và gia công vật liệu, nhất là nguồn nguyên liệu trong nước” (bài phát biểu của đ/c nguyên Tổng Bí thư Đỗ Mười tại Hội nghị lần thứ 7 BCH TW Đảng khóa VII ngày 25/7/1994 trang 84). Trong các Đại hội VIII, IX, Đảng ta cũng rất chú trọng đến vấn đề CNSH.

Trong Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2003 (ngày 16-17/12/2003), trong định hướng nghiên cứu và triển khai của viện CNSH thuộc viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, PGS.TS. Trần Lê Bình Viện trưởng viện CNSH đã đặt vấn đề: CNSH được nhà nước Việt Nam ưu tiên phát triển như một trong 4 ngành khoa học công nghệ trọng điểm. CNSH được coi là “công cụ hiện đại hóa” của sinh học trong việc phục vụ phát triển nông lâm ngư nghiệp, bảo vệ sức khỏe cộng đồng và môi trường bền vững. Về bản chất, CNSH tự thân phải là một ngành khoa học công nghệ hoàn chỉnh, có tính độc lập về khoa học và về phạm vi ứng dụng, có sức sống riêng và tồn tại như một lĩnh vực khoa học công nghệ hiện đại như công nghệ thông tin, công nghệ điện tử...đang góp phần thúc đẩy sự phát triển kinh tế xã hội. Để đáp ứng được yêu cầu đó, CNSH một mặt phải được xây dựng như các ngành khoa học hiện đại, bên cạnh đặc tính liên ngành phải dựa trên nền tảng khoa học riêng vững chắc và đặc thù không trùng lặp với các lĩnh vực khoa học công nghệ khác như công nghệ gene, công nghệ tế bào động thực vật và vi sinh vật, công nghệ enzyme và protein. Mặt khác, CNSH phải có mục tiêu và nội dung nghiên cứu đặc trưng riêng, đó là xây dựng và phát triển ngành **Công nghiệp sinh học** với chủng loại công nghệ và hàng hóa mang dấu ấn đặc thù của CNSH mà những định hướng hoàn thiện và chuyển giao công nghệ phục vụ sản xuất.

Rõ ràng, CNSH là cái chìa khóa mở đường cho sự phát triển nền kinh tế của đất nước. Cuộc cách mạng khoa học kỹ thuật nói chung và cuộc cách mạng CNSH nói riêng đã thu hút nhiều người trên trái đất này tham gia vào sự nghiệp cao cả đó. Viện sĩ N.N. Semionov đã viết rằng: “Đặc điểm cơ bản của khoa học ở thế kỉ thứ XX là ở chỗ, nó không còn là người nữ tì của sản xuất mà trở thành người mẹ của sản xuất. Sinh học đã chiếm một vị trí như thế. Tiếp sau đó là vật lí học và hóa học”.

CÔNG NGHỆ SINH HỌC PHỤC VỤ NÔNG LÂM NGƯ NGHIỆP

Chương I:

Công nghệ sinh học với năng lượng

1. Từ năng lượng mặt trời đến năng lượng sinh học.

Chúng ta phải mang ơn mặt trời vì tất cả sự giàu có của thế giới hữu cơ quanh ta. Tia sáng mặt trời tương tác với chất diệp lục của cây xanh tạo ra sự kì diệu của quang hợp. Từ các chất vô cơ đơn giản của tự nhiên như nước, CO_2 của không khí, muối N_2 , phosphor,...thực vật tạo ra các chất hữu cơ rất phức tạp về cấu trúc (tức là đặc trưng cho cơ thể sống và tham gia vào thành phần của các cơ quan và các mô của chúng) đó là đường, acid amin, nucleotide, vitamin, ...

Như vậy, thực vật hấp thụ năng lượng ánh sáng mặt trời, tạo ra các chất dinh dưỡng, đó là hiện tượng quang hợp. Nói một cách khác, quang hợp là một quá trình biến quang năng thành hóa năng và năng lượng đó được tích lũy lại trong các hợp chất hữu cơ. Một kg chất khô hữu cơ có dự trữ trong đó 4.000 kcal, . Tổng lượng chất hữu cơ do thực vật tổng hợp được trên trái đất hàng năm ước độ $4,5.10^{11}$ tấn (tính ra bằng đường glucose). Hàng năm con người chỉ sử dụng 3,5% chất hữu cơ do thực vật ở cạn tổng hợp được, còn chất hữu cơ do thực vật ở nước tổng hợp được, con người sử dụng còn đang ít.

Ngoài ra, trong phản ứng quang hợp còn giải phóng ra O_2 rất cần cho hô hấp của mọi sinh vật và cho các quá trình oxy hóa khác (hàng năm trên trái đất cây thải ra trong không khí 15.10^4 tấn phân tử oxygen).

Do đó, tia sáng mặt trời là cơ sở năng lượng của mọi sự sống. Mặt trời cung cấp một cách rộng rãi năng lượng cho con tàu vũ trụ của chúng ta – trái đất. Theo tính toán của các nhà bác học thì hành tinh này mỗi năm nhận được từ mặt trời khoảng 5.10^{19} kcal. Số lượng nhiệt năng này đủ sản xuất ra một năng lượng điện khoảng 2.10^{26} kw/h, tức là bằng số lượng

điện tạo ra trong một năm của khoảng 9 triệu nhà máy điện có công suất tương đương với nhà máy thủy điện Brataki.

Tất cả thế giới cây xanh của trái đất chỉ sử dụng hết có một phần nhỏ do năng lượng mặt trời đưa tới: 1-2%. Các nhà bác học kiên trì tìm kiếm các con đường cho phép nâng cao hiệu suất quang hợp dù chỉ thêm một vài lần (thực tế ở một số nước ở một số cây trồng cũng đã có hệ số sử dụng quang năng trong quang hợp là 2-4%), chắc hẳn là điều đó sẽ mang lại những lợi ích không thua kém gì việc chiếm lĩnh năng lượng nhiệt hạch.

Cũng cần nhấn mạnh rằng, mặc dù trong tương lai chúng ta sẽ khai thác nguồn năng lượng hạt nhân để sử dụng, song mặt trời vẫn là năng lượng chủ yếu đối với sự sống trên trái đất. Đúng như nhà vật lý học người Pháp Pierre Curie đã phát biểu (1949) “Mặc dầu tôi vẫn tin ở tương lai của năng lượng nguyên tử và thấy rõ tầm quan trọng của phát minh này, tuy nhiên, tôi cho rằng cuộc cách mạng thực sự trong năng lượng học sẽ đến chỉ lúc nào mà chúng ta có thể thực hiện được sự tổng hợp hàng loạt các phân tử tương tự như diệp lục hoặc chất lượng còn tốt hơn. Muốn đạt được mục đích đó, trước hết cần nghiên cứu tỉ mỉ kiểu phân tử đó và tác dụng của quang hợp”.

Ở đây chúng ta chưa kể đến trữ lượng thực vật hóa thạch cũng rất lớn. Chỉ mới tính riêng dự trữ C trong than đá, dầu hỏa và các khí thấp đã đạt tới 10^{18} tấn (trung bình 200 tấn/ha vỏ quả đất). Theo thống kê chưa đầy đủ thì dự trữ C trong các chất hữu cơ của sinh vật, trong các cặn bã chất hữu cơ của các sinh vật đã chết, trong hóa thạch do hoạt động của quang hợp trước đây của thực vật tạo ra cũng đạt tới $6 \cdot 10^{15}$ tấn.

2. Các biện pháp nâng cao hiệu quả sử dụng năng lượng mặt trời và tạo năng lượng bằng biện pháp sinh học

Hiện nay chúng ta phải sử dụng một cách khôn ngoan hơn, triệt để hơn các của cải mà quá trình quang hợp đang tạo ra hiện nay và đã tạo ra từ hàng chục, hàng trăm, thậm chí hàng triệu năm trước đây. Những kho báu này không đếm xuể. Phần lớn chúng chưa được sử dụng hoặc sử dụng không được tốt, nếu tận dụng hết hiệu suất quang hợp thì thực vật ở biển, ở đại dương, sông ngòi, ở lục địa cũng có thể dùng năng lượng mặt trời để tổng hợp ra một số lượng chất hữu cơ to lớn biết bao (A.A. Nishiporovitch). Chỉ tính riêng trên cạn (khoảng 1/3 bức xạ chung của mặt trời chiếu xuống hành tinh chúng ta) mỗi năm đã tổng hợp được 53 tỉ tấn chất hữu cơ, trong đó trên đồng ruộng: 11 tỉ tấn, trên thảo nguyên và trên đồng cỏ: 6 tỉ tấn và trên rừng: 36 tỉ tấn.

Chỉ một phần rất nhỏ khối lượng vật chất thực vật to lớn này được con người dùng làm thức ăn trực tiếp hoặc thức ăn gián tiếp (dưới dạng

các sản phẩm có nguồn gốc động vật). Để làm thức ăn cho con người chỉ dùng hết 6% các sản phẩm quang hợp được tạo thành trên đồng ruộng 0,03% sinh khối được tạo ra bởi thực vật trên thảo nguyên và trên đồng cỏ và chỉ khoảng 0,03% sinh khối được tạo ra trên rừng. Ở biển và đại dương nơi nhận 2/3 bức xạ mặt trời đã tổng hợp ra ít nhất cũng không kém phần sinh khối ở cạn, nhưng chỉ một phần nhỏ dùng làm thức ăn trực tiếp hoặc thông qua tôm, cá, động vật mà làm thức ăn cho con người.

Ngoài việc sử dụng “cái sẵn có” của vật chất do quang hợp tạo ra, chúng ta cần nâng cao hiệu quả của bộ máy quang hợp như tìm những test thử nhanh để phát hiện những dòng có hiệu quả quang hợp cao trước hết là dùng những loài vi Tảo. Hoặc, đi sâu vào việc tìm hiểu cơ chế di truyền nhất là di truyền quang hợp ở bộ máy lục lạp hoạt động có hiệu quả cao hơn, bằng những kỹ thuật tưới nước, bón phân hợp lý, chọn giống cây trồng có năng suất cao, phẩm chất tốt, chống chịu giỏi. Áp dụng các kỹ thuật *in vitro* để nhân nhanh các giống cây trồng. Theo dự báo của một công ti tư vấn khoa học giống cây trồng quốc tế, sản lượng lương thực thế giới sẽ tăng 5-10% trong vòng vài năm tới chỉ riêng nhờ áp dụng CNSH (Withen và Anderson, 1986; Faillin, 1986)

Bảng I.1. Sản lượng hiện nay và tương lai của một số cây trồng nông lâm nghiệp

Cây trồng	Sản lượng hiện nay (tấn/ha)	Sản lượng tương lai (tấn/ha)
Mía	70-90	150-200
Sắn	15-20	60-100
Cà chua	20-40	60-100
Cọ dầu	2-5	10-12
Lạc	1,6	4,0
Thầu dầu	0.6	2,5
Thông (ôn đới)	6,8	20-30
Thông (nhiệt đới)	12-20	40-60
Cây lá rộng (nhiệt đới)	10-20	40-100
Tre	25	100

Ngoài những cây lương thực thực phẩm cung cấp năng lượng cho con người trong bữa ăn hằng ngày, chúng ta cũng cần tận dụng một số cây khác, có nguồn năng lượng phục vụ cho đời sống xã hội, như những cây có dầu (cây Dừa, Cọ dầu, Jojoba) cây có nhựa mủ dùng làm chất đốt thay dầu mỏ, sinh khối các loại cây lấy mủ này khoảng 10 tấn/năm tương đương 1,5 tấn dầu mỏ, cây lấy tanin (Jojoba).

Về tạo nguồn năng lượng những cuộc thí nghiệm tiến hành tại Brazil, Trung Quốc hay Ấn Độ cũng như các nước đang phát triển khác đã

cho thấy có thể kết hợp hoặc liên kết việc sản xuất năng lượng với việc sản xuất nông nghiệp và thực phẩm đã cải thiện điều kiện sinh dưỡng ở nông thôn bằng biện pháp CNSH. Ở Brazil, chương trình Pro-alcohol phát động từ năm 1975 đã làm tăng trong một thời kì tương đối ngắn sản lượng ethanol chủ yếu từ phương thức cho lên men đường mía. Sản lượng đã đạt tới 8 tỉ lít ethanol hàng năm vào năm 1984 (Larovier, 1985). Mức tiêu thụ trong năm 1985 là 9 tỉ lít và năm 1986 là 12 tỉ lít ethanol (hai triệu bốn trăm nghìn ô tô trong số 8.200.000 chiếc đã tiêu thụ loại nhiên liệu chứa 20% ethanol). Việc sản xuất alcohol nguyên liệu chủ yếu là mật ri đường, sắn, dịch ép cây cao lương ngọt (Sweet sorghum), củ cải đường.

Con đường tạo khí methan (biogas): Ở Trung Quốc sản xuất khí sinh học (biogas) bắt đầu trong những năm 1950 với 5 triệu bể sinh methan được xây dựng ở tỉnh Tứ Xuyên trong tổng số trên 7 triệu bể ở khắp cả nước. Chương trình biogas lúc đầu chỉ nhấn mạnh vào việc thiết kế và việc chế tạo bể hơn là khía cạnh vi sinh vật học (điều kiện lên men vi sinh vật học và những vi khuẩn sinh khí methan và không sinh methan). Những nghiên cứu ở Thượng Hải đã sửa chữa những khuyết tật này và tìm ra hướng sử dụng ở nông thôn (Chiao, 1986, theo [8]). Hội nghị vi sinh vật biogas tổ chức năm 1981 và 1983 đã dành nhiều hơn cho các mặt nghiên cứu cơ bản. Người ta thấy các vi khuẩn sinh hydrogen và nuôi cấy hỗn hợp làm giàu các vi khuẩn methan đã sản sinh ra lượng methan lớn hơn nhiều (Sun et al., 1981, theo [8]). Người ta cũng nhấn mạnh các yếu tố không sinh methan giữ vai trò hệ trọng trong việc sản xuất biogas. Hơn nữa, việc tách các chủng tinh khiết của vi khuẩn sinh methan như: *Methanosarcina*, *Methanobrevibacter arboriphilus*, *Methanobacterium formicium*, *Methanococcus mazei* đã làm rõ hơn việc sản sinh biogas và làm tăng hiệu quả của quá trình (Chiao, 1986, theo [8]).

Chương trình biogas Trung Quốc chẳng những làm cải tiến việc sản xuất và tiêu dùng năng lượng cho gia đình mà còn nhằm kết hợp ngày càng mạnh việc sản xuất lương thực, lập lại chu trình những thải bã hoa màu và ngăn cản việc gây nhiễm. Các hệ thống phối hợp sản xuất năng lượng và thực phẩm đã được phát triển ở các làng mạc. Tại Xin Bu ở xã Lelin, trên đồng bằng sông Châu Giang gần Quảng Đông, 1.500 làng đang dùng lò chế tạo đặc biệt để sấy gỗ với nhiệt lượng 35-40% lò đun nước bằng sức nóng mặt trời, đặt trên mái nhà cung cấp 60-100 lít nước 50°C hàng ngày về mùa đông và 70°C về mùa hè. Như vậy, tiết kiệm 20-30% methan tùy mỗi gia đình sử dụng. Có nơi dùng biogas làm lò sấy khô ở các trại nuôi Tằm. Ngoài ra, những cặn bã dư thừa từ việc lên men methan, chất thải được dùng làm phân bón để trồng Nấm, dùng làm thức

ăn cho cá, góp phần làm sạch sản phẩm phụ và loại bỏ các phế thải (Larovier, 1985).

Người ta cũng có thể sử dụng Tảo đơn bào để sản xuất hydrocarbur như *Botriococcus baurii*. Tảo này đã được một số nhà khoa học Pháp (ở trường Đại học cao cấp Quốc gia) năm 1976 quan tâm. Trong Tảo có chứa lượng hydrocarbur từ 15-17% trọng lượng khô. Đây là loài Tảo nước ngọt, nuôi trồng trong điều kiện môi trường dung dịch tốt có thể thu được 60 tấn chất khô/năm, đem nó chưng cất nhẹ, có thể dùng như dầu mỡ. Các chất đốt tích lũy ở phần tế bào vỏ, đem li tâm mạnh, các chất này sẽ tách ra, tế bào vẫn còn sống có thể đem nuôi lại. Hiện nay người ta thấy rằng, vỏ tế bào này chứa những chất tương tự như dầu mỡ nên dùng nó làm mô hình nghiên cứu quá trình tạo thành dầu mỡ.

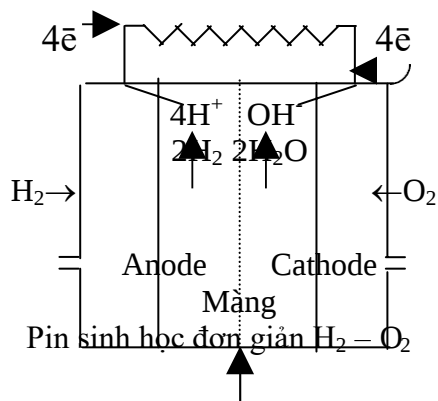
Trên cơ sở nghiên cứu về cơ chế của quá trình quang hợp, đặc biệt là các cấu trúc của lục lạp liên quan đến chức phận của nó như thế nào và việc hấp thụ năng lượng ánh sáng mặt trời, biến năng lượng đó thành dạng năng lượng hóa học ra sao (phần này sẽ nói rõ ở chuyên đề Quang hợp và năng suất ở thực vật) người ta đã chế tạo ra một số bộ phận (máy móc) để sử dụng năng lượng mặt trời như pin sinh học: một hợp chất chứa những sinh vật tạo năng lượng (do Potter chế tạo, 1925). Những điện cực platinum và dịch nuôi cấy yếm khí hoặc nấm men *Saccharomyces cerevisiae* hoặc *E. coli* tế bào xuất hiện điện thế âm xuất hiện điện cực dương của platinum. Điện cực dương platinum này được đặt trong môi trường vô trùng O_2 . Nếu có lên men sẽ tạo nên dòng điện có điện thế 0,3-0,5 volt, cường độ dòng điện 0,02 : *

Năm 1950-60, các nghiên cứu này được hoàn chỉnh, đến nay đã bắt đầu đưa vào con tàu vũ trụ để sử dụng.

Sau này người ta sử dụng những chất không tích điện như glucose:

Glucose $\xrightarrow{\text{vi sinh vật lên men}}$ H

Người ta cũng có thể dùng enzyme để biến đổi một số chất tạo H_2 .

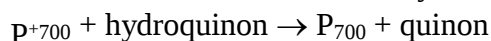
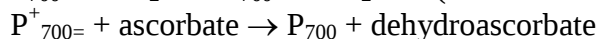
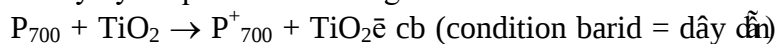




Ngoài việc tạo ra nguồn điện sinh học (pin sinh học), người ta đang nghiên cứu sử dụng các màng quang hợp.

Như ta đã biết, các sinh vật có khả năng tạo năng lượng. Người ta có thể cố định tế bào để thu năng lượng. Ví dụ; những vi khuẩn quang hợp nhờ ánh sáng tạo thành $\text{H}_2 + \text{ATP}$. Tảo lam Cyanobacteria $\rightarrow \text{H}_2 + \text{NADPH}_2$ mà NADPH_2 là chất tích trữ năng lượng ($\text{NADPH}_2 \rightarrow \text{NADP}$ cho ta 4ATP). Ở thực vật thượng đẳng trong lục lạp có màng thylakoid là nơi tạo ra H_2 , H_2O_2 , NADPH_2 .

Cũng đã có nhiều thí nghiệm biến năng lượng mặt trời thành điện năng. Ở Nhật Bản, người ta sử dụng điện cực là oxyd titan. TiO_2 được bao bởi hệ thống quang hóa I (PSI) được chiếu sáng. Chất khử được dùng là ascorbate hay hydroquinon. Phản ứng như sau:



Bằng cách này có thể tạo được dòng điện 100 mA. Dòng điện tạo được không lớn nên phải sử dụng điện cực tinh vi - điện cực được bọc bằng protein. P_{700} khá phức tạp nên trong tương lai sẽ cố định màng thylakoid để biến quang năng thành điện năng và sẽ sử dụng trong các dụng cụ tinh vi như máy điện toán. Về mặt kỹ thuật định hướng cho con người trong tương lai là nghiên cứu sử dụng trực tiếp biến quang năng thành điện năng.

Hiện nay, quang năng → hóa năng (dầu, than đá, khí đốt) → nhiệt năng (đốt nóng) → cơ năng (quay) → điện năng.

Nếu tìm cách chuyển thẳng quang năng → điện năng thì sẽ tiết kiệm rất nhiều và tránh việc tạo nhiệt năng đốt nóng và sẽ gây ô nhiễm. Còn ở quang hợp, thực hiện được như ở thực vật sẽ làm tinh sạch không khí.

Ngày nay, người ta cũng đang nghiên cứu chế tạo các biosensor, biochip là những protein thu nhận ánh sáng để sử dụng trong máy điện toán và trong các dụng cụ tinh vi khác. Ví dụ: ở Anh dùng *Rhodopsine* thu nhận năng lượng từ chuyển vào tế bào thần kinh tạo thành dòng điện sinh lí. Ở vi khuẩn *Halobacterium halobium* có chất bacteriorhodopsine nằm ở màng ngoài của tế bào. *Bacteriorhodopsine* hấp thụ lượng tử của năng lượng ánh sáng mặt trời tạo nên những biến đổi làm cho màng có sự chênh lệch gradien làm bơm photon và tạo năng lượng.

Chế được loại protein có khả năng thu lượng tử như trên thì tương lai sẽ được chế tạo các bộ phận này để sử dụng trong các máy điện toán. Đương nhiên, làm được việc này sẽ có sự phối hợp của các nhà sinh vật, hóa học và điện toán.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Văn Lung, 1999. Chuyên đề Quang hợp và năng suất ở thực vật. Tủ sách Đại học Khoa học Huế.
2. Trương Văn Lung, Võ Thị Mai Hương, 1999, Giáo trình lí thuyết Sinh lí học thực vật. Tủ sách Đại học Khoa học Huế.
3. Nguyễn Duy Minh, 1981. Quang hợp. Nxb Giáo dục Hà Nội.
4. Vũ Văn Vu, Vũ Thanh Tâm, Hoàng Minh Tấn, 1998. Sinh lí học thực vật. Nxb Giáo dục Hà Nội.
5. Grodzinski A.M., Grodzinski Đ.M., 1964. Sách tra cứu tóm tắt về Sinh lí thực vật. Nguyễn Ngọc Tân và Nguyễn Đình Huyền dịch năm 1981. Nxb Mir Moskva và Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội. _
6. Heath O. V. S., 1972. Photosynthes. Izd. “Mir”, M.
7. Oparin A.I., 1967. Cơ sở Sinh lí học thực vật. Tập 1. Lê Đức Diên và những người khác dịch năm 1975. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
8. Sasson Albert, 1988. Biotechnologies and development Công nghệ sinh học và phát triển. Người dịch: Nguyễn Hữu Thước, Nguyễn Lân Dũng và một số dịch giả khác. Nxb Khoa học & Kỹ thuật Hà Nội.

Chương II

Công nghệ sinh học phục vụ nông lâm ngư nghiệp

1. CNSH cổ truyền trong việc tạo giống mới

1.1. Chọn lọc tự nhiên

Từ xa xưa con người cũng đã biết chọn giống cây trồng, ngay cả thời kì ăn lông ở lỗ, cách đây 5000-6000 năm. Theo tài liệu ghi chép được thì nhà chọn giống đầu tiên có ý thức ở châu Âu là Lecourteur người Pháp ở đảo Gerseille (1 hòn đảo ở giữa Anh và Pháp) vào đầu thế kỉ thứ XIX. Một hôm ông mời một người bạn ở Espain (Tây Ban Nha), là một nhà thực vật học tên là Lagaska đi tham quan đồng ruộng lúa mì. Ông bạn thấy lúa mì tuy gieo cùng một giống nhưng lại có cây rất khác nhau. Theo gợi ý của bạn, Lecourteur đem gieo riêng 23 dòng khác nhau. Ông đã chọn được một giống mới. Đó là phương pháp chọn lọc. Bằng phương pháp này, về sau nhiều nhà chọn giống đã chọn được nhiều giống mới đạt với ý muốn của con người. Cơ sở khoa học của việc tạo dòng mới này là qua quá trình phát triển cá thể, trong điều kiện bất lợi của môi trường cá thể nào không chịu đựng được thì bị tiêu diệt. Trong điều kiện bất lợi đó có một số đã tạo ra một số chất để chống chịu với môi trường làm thay đổi cấu trúc và hình thái, cải biến kiểu gene và kiểu hình của quần thể theo hướng thích nghi và tạo ra loài mới. Học thuyết J.B.Lamarck (1744-1829) và nhất là của Ch.Darwyn (1809-1882) về nguồn gốc các loài là cơ sở “biến dị cá thể”. Quan điểm về sự sống sót của những cá thể thích ứng là hạt nhân của thuyết chọn lọc tự nhiên của Darwyn.

1.2. Lai hữu tính

Năm 1694, Kameriarux người Đức đã phát hiện ra cây cỏ cũng có giống đực giống cái như động vật. Đến năm 1717, nhà làm vườn người Anh là Fershai đã tạo được giống hoa Cẩm chướng đầu tiên bằng cách lai 2 giống có màu sắc khác nhau.

Khoa học về biến dị di truyền được Darwyn (1858) và Mendel (1865) phát hiện ra nhiễm sắc thể, DNA, gene, các nhà khoa học đã có một lí luận vững chắc về di truyền học, làm cơ sở cho việc chọn giống cây trồng. Cho đến nay, các nước tiên tiến có “tập đoàn giống” chuyên giữ giống để cung cấp cho các nhà chọn giống làm thực liệu ban đầu. Thường mỗi giống cây trong tập đoàn giống chỉ có một vài đặc tính tốt. Do vậy, muốn có 1 giống cây trồng lí tưởng chứa đựng tất cả các gene tốt của nhiều giống phải tốn thời gian mới làm được. Việc tổng hợp gene mang đặc tính tốt của cây trồng thường được làm bằng phương pháp lai và phải

lai trên nhiều cặp phối hợp với nhau từng đôi một mới mong đạt được kết quả tốt. Người ta còn áp dụng ưu thế lai đối với cây thụ phấn chéo (thụ phấn không phải hạt phấn của mình mà của các cây khác qua việc tạo dòng thuần chủng 6-7 thế hệ. Ví dụ, ngô từ lai đơn sang lai kép, lai 3: 1 cặp lai đơn lai với 1 dòng tự phối. Sau này các nhà khoa học phát hiện rằng bố và mẹ có đặc tính tốt thì con lai cộng lại cái tốt của bố và mẹ và tốt hơn bố mẹ. Đó là tác dụng cộng của gene và nếu con lai thừa hưởng các đặc tính tốt của nhiều bố và nhiều mẹ thì con lai càng tốt hơn - gọi là lai tổng hợp.

1.3. Đột biến

De Vrie (1901) nghiên cứu tính đột biến ở thực vật và nhận ra tính vô hướng của nó. Ông đã tách rời đột biến với ngoại cảnh và đi đến phủ nhận tác dụng tích lũy biến dị của chọn lọc tự nhiên. W. Johnson (1903) chứng minh chỉ có biến đổi trong gene mới di truyền được (đột biến).

Biến dị đột biến là do sự biến đổi vật chất di truyền (nhiễm sắc thể NST, gene) gây nên. Có 3 loại đột biến: đột biến gene, đột biến nhiễm sắc thể và đột biến gene tế bào chất.

* Đột biến gene hay đột biến điểm là những biến đổi gene xuất hiện một cách ngẫu nhiên hoặc nhân tạo. Đó là sự thay đổi cấu trúc của gene xảy ra theo các kiểu: mất đi một cặp nucleotid, thêm vào một cặp nucleotid và biến đổi trình tự các nucleotid. Biến đổi gene thường có hại, chỉ rất ít trong trường hợp có lợi, sẽ được dùng làm nguyên liệu cho quá trình tiến hóa.

* Đột biến nhiễm sắc thể là loại đột biến ở mọi cơ thể. Có 2 loại đột biến nhiễm sắc thể: đột biến số lượng và đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể.

- Đột biến số lượng NST là những loại đột biến về số lượng NST của mọi cơ thể. Nhưng đột biến số lượng có thể xảy ra toàn bộ NST (đột biến đa bội) hay ở một cặp NST nào đó. Đột biến đa bội có thể tạo ra cơ thể có bộ NST tăng lên $3n$, $4n$, $5n$,...NST. Đột biến một cặp NST ví dụ cặp NST thứ 21 ở người có 3 chiếc gây bệnh Down, đột biến tăng số NST giới tính gây các bệnh vô sinh.

- Đột biến cấu trúc NST là những đột biến trong cấu trúc bộ NST. Những đột biến về cấu trúc NST có thể xảy ra ở các dạng sau:

- . Mất đoạn: mất đi một đoạn nào đó của NST.
- . Đảo đoạn: hai phần trên cùng một NST đảo vị trí cho nhau.
- . Thêm đoạn: gắn thêm một đoạn mới vào NST.
- . Chuyển đoạn: sự trao đổi hai đoạn trên hai NST không cùng nguồn cho nhau.

* Đột biến gene tế bào chất. Có nhiều trường hợp kiểu gene bình thường mà có biến đổi kiểu hình. Đó là do biến đổi gene tế bào chất gây

nên. Các đột biến gene tế bào chất có những đặc điểm giống đột biến gene trong NST, chúng cũng bền vững và di truyền được cho đời sau. Đột biến gene tế bào chất có thể lặn hoặc trội. Đột biến gene tế bào chất cũng là nguồn nguyên liệu cho chọn giống.

Nguyên nhân của sự đột biến là do tác nhân bên trong tế bào và bên ngoài môi trường gây nên. Các yếu tố bên trong tế bào như quá trình trao đổi chất, hoạt động sinh lí mất bình thường có thể gây đột biến. Các yếu tố bên ngoài như tác nhân vật lí: nhiệt độ cao, siêu âm, tia phóng xạ, tia tử ngoại,... hay tác nhân hóa học, đặc biệt là colchicine, là các tác nhân gây đột biến quan trọng.

Con người có thể sử dụng nó để tạo ra các đột biến mong muốn dùng cho chọn giống.

Những vấn đề nêu trên tuy gọi là CNSH truyền thống nhưng thực chất cho đến ngày nay người ta vẫn sử dụng nó trong việc tạo giống mới.

2. CNSH trong việc cải tạo giống và phát triển cây trồng cho năng suất cao

Từ những năm 1960 tiếp sau việc du nhập các giống mới vào châu Á và châu Mỹ Latinh, danh từ “cuộc cách mạng xanh” bao trùm tất cả những cố gắng tăng năng suất nông nghiệp ở các nước đang phát triển (ĐPT) thông qua giống mới cao sản đặc biệt là lúa và lúa mì. Sử dụng các giống mới này đòi hỏi nhiều loại thuốc trừ sâu, các biện pháp tưới, phân bón và chăm sóc. Lai các giống mới này với các giống chống chịu của địa phương cho phép thu được các giống có năng suất còn cao hơn và thích nghi tốt hơn. Đồng thời, ngoài lúa và lúa mì, công tác nghiên cứu được mở rộng ra kê, lúa miến, ngô, Triticale và một số cây đậu đỗ (Sasson, 1986).

Chỉ trong vòng hơn 10 năm, một nửa diện tích lúa mì và 1/3 diện tích đồng lúa của các nước ĐPT đã gieo bằng giống mới cao sản. Nếu được tưới nước hợp lí, bón đủ phân và xử lí thuốc trừ sâu, năng suất có thể tăng gấp đôi đến gấp ba lần giống địa phương.

Cuộc “cách mạng xanh” lần thứ hai được nói đến vào những năm 1970 là kết quả các công trình nghiên cứu lai tạo giống năng suất cao, chống chịu sâu bệnh, hạn hán, có thể phát triển trong điều kiện ít phân bón và thuốc trừ sâu hơn. Các công trình nghiên cứu này sẽ không còn chỉ dựa trên các kĩ thuật lai, thụ phấn chéo mà dùng kĩ thuật nuôi cấy mô và tế bào cùng với kĩ thuật tái tổ hợp di truyền để nhân nhanh các giống đáng chú ý và tạo ra giống mới (Murashige, 1974; Vasil, 1984, 1985, 1986; Arnon, 1985; Mantel et al., 1985; Zaithin et al., 1986; Davies, 1987; Picrik, 1987,...), các kĩ thuật này dựa trên các cơ chế tế bào học và sinh học phân tử quyết định tính đa dạng sinh học (Collins, 1982, 1984; Kosuge et al., 1983; Tudge, 1983; Gelvin và Schilperoot, 1988).

Nhờ tránh được việc lai chéo và vượt qua được trở ngại của tính không tương hợp sinh dục (sexual incompatibility) nên tiết kiệm được nhiều thời gian. Kỹ thuật tái tổ hợp DNA và ứng dụng chúng dần dần đối với thực vật có thể giúp loại bỏ hàng rào sinh lí và giải phẫu ngăn cản sự lai khác loài (Rachie và Lyman, 1981), các kỹ thuật *in vitro* cũng cho phép tăng sự đa dạng di truyền gần đây bị giảm sút do sự phá hủy các sinh cảnh tự nhiên, làm giảm sự đe dọa do sâu bệnh ở một số cây trồng có nền di truyền quá đơn thuần.

Các nước đang phát triển nhất là các nước trong khu vực nhiệt đới còn đang giữ được sự đa dạng di truyền tương đối rộng trong các hệ sinh thái tự nhiên và hệ sinh thái nông nghiệp của mình dưới hình thức nhiều loài hoang dại có quan hệ họ hàng với cây trồng, nhiều giống chống chịu và giống địa phương.

Các kỹ thuật nuôi cấy cơ quan, mô tế bào thực vật và các lĩnh vực nghiên cứu liên quan có thể liên kết việc áp dụng công nghiệp theo các con đường sau:

- Nuôi cấy đỉnh sinh trưởng và tái sinh cây hoàn chỉnh	Nhân giống <i>in vitro</i> các cây và các giống sạch virus
- Nuôi cấy tế bào trần protoplast, mô đơn bội, chọn lọc các biến chứng và đột biến, dung hợp protoplast và tái sinh cây	Cải thiện giống và nhân giống cây trồng
- Kỹ thuật tái tổ hợp di truyền, cấy chuyển gene và tái sinh cây.	Cải thiện giống cây trồng.
- Nuôi cấy tế bào qui mô lớn, chọn đột biến, dung hợp protoplast và kỹ thuật tái tổ hợp DNA.	Sản xuất các loại hoạt chất có ích.
- Nuôi cấy tế bào, protoplast, chuyển dạng sinh học.	Tổng hợp các chất mới.

Trên quan điểm kinh tế, chi phí lao động tham gia vào cây chuyển nhân giống là khoản mục lớn nhất trong giá thành của cây giống *in vitro*. Người ta đang tiến hành nghiên cứu các máy tự động để cấy chuyển. Năm 1985, một mẫu máy cấy chuyển đã được chế tạo tại Australia có thể cấy được một cây trong một giây. Những thiết bị như vậy có thể làm giá thành cây cấy mô giảm đi rất đáng kể (Marti, 1986-87).

Việc áp dụng kỹ thuật *in vitro* có thể được xếp thành 3 loại:

. Các áp dụng có được trong thời gian ngắn (3 năm): nhân giống vô tính *in vitro*, sản xuất cây sạch bệnh, bảo quản và trao đổi quỹ gene thực vật.

. Các áp dụng trung hạn (3-8 năm): các đột biến soma và đột biến giao tử, cứu phôi, thụ tinh trong ống nghiệm, nuôi cấy túi phấn và sản xuất cây đơn bội.

. Các áp dụng dài hạn (8-15 năm): lai tế bào soma, lai xa, dòng tế bào đột biến, chuyển gene, chuyển NST, sản xuất các chất thứ cấp bằng tế bào nuôi cấy *in vitro*.

Việc áp dụng CNSH vào đổi mới thu hoạch mùa màng đang là một trong những cuộc cách mạng khoa học và kỹ thuật hiện nay. Việc đổi mới này có thể dựa vào các biện pháp kỹ thuật chính sau:

- * Sản xuất nhanh và qui mô lớn những cây trồng có cùng một tính chất di truyền, cho năng suất cao thông qua kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào.

- * Tạo những giống mới có năng suất cao thông qua phương pháp chọn dòng soma trong nuôi cấy mô tế bào.

- * Tạo ra những cây lai mới có đặc tính ưu việt bằng kỹ thuật dung hợp protoplast (protoplast fusion).

- * Tạo ra những đặc tính mới mong muốn qua việc đưa các nguyên liệu di truyền vào tế bào cây trồng bằng kỹ thuật tái tổ hợp DNA

2.1. Sản xuất nhanh và qui mô lớn những cây trồng cùng có tính chất di truyền cho năng suất cao thông qua kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào

Trong kỹ thuật trồng trọt có nhiều loài cây cần phải nhân giống vô tính ở qui mô lớn. Một số cây trồng có thể tái sản xuất dễ dàng bằng hạt nhưng khả năng nảy mầm thấp, đặc biệt là các cây lâm nghiệp. Một số khác tuy hạt dễ nảy mầm nhưng quá trình sản xuất hạt lại quá đắt. Cũng có một số cây lai duy nhất cần được nhân lên vô tính để giữ lại những đặc tính ưu việt.

Trong những năm 1930, việc tái sinh lại chồi và toàn bộ cây trồng đã được tiến hành một cách thuận lợi nhờ xây dựng được kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào thành công. Ngày nay, hầu hết phòng thí nghiệm nghiên cứu sinh lý hóa sinh di truyền thực vật đều được trang bị kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào.

Kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào thực vật bao gồm:

- * Chuẩn bị môi trường nuôi cấy có đủ thành phần cần thiết và nhiều loại, cũng như phải chọn giống đúng cho môi trường nuôi cấy từng loại mô, tế bào và thay đổi theo từng thời kỳ phát triển và phân hóa của mô (môi trường nuôi cấy protoplast khác với môi trường nuôi cấy callus, môi trường tạo rễ tạo mầm khác với môi trường duy trì mô ở trạng thái callus, v.v.)

* Điều kiện vô trùng phải nghiêm ngặt, kể từ khi chuẩn bị môi trường đến khi xử lý mô. Vì vậy, phải có buồng cấy vô trùng và tủ cấy Laminaire, cũng như các thao tác dụng cụ đều phải tuân theo nguyên tắc vô trùng triệt để.

* Chọn lựa mô phải có đủ điều kiện để phát triển mạnh và phải có đủ khả năng để tạo thành callus trong môi trường chứa chất dinh dưỡng thích hợp. Thường người ta chọn mô phân sinh ngọn hay chồi nách.

* Điều kiện xử lý mô phải thích hợp. Tuy các mô trên cùng một cây cùng một lượng thông tin di truyền như nhau nhưng cho các callus phát triển hoàn toàn khác nhau trong khả năng tái sinh chồi, phát triển rễ hay thành cây hoàn chỉnh. Đó là do xử lý chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) khác nhau, xử lý nhiệt độ và ánh sáng khác nhau. Phương pháp nuôi cấy mô và tế bào thực vật là phương pháp nhân giống lí tưởng không chỉ do đòi hỏi ít diện tích, nhanh, mà còn giữ nguyên được tính ưu việt của giống cây ban đầu.

Nhân giống và nhân dòng vô tính có ý nghĩa đặc biệt đối với cây nhiệt đới vì chúng có độ dị hợp cao, thường nhiễm nhiều loại virus. Các cây trồng sau đều có thể đưa vào nhân giống vô tính *in vitro* với mục tiêu thương mại hóa trên qui mô lớn: Atiso, măng tây, củ cải đường, tỏi, gừng, khoai tây, Raspberry, dâu tây, mía đường, khoai lang, khoai nước, dứa dại, hạnh nhân, táo tây, chuối, cam, chanh, dứa, anh đào, kiwi, cọ dầu, đu đủ, lê, dứa, chuối bột, nho, hạt dẻ, tre, lim, bạch đàn, vắ, cẩm chướng, cúc, Iris, Gerbera, huệ, lan, Pelagonium, đỗ quyên, hoa hồng, ... Một số cây đang được tái sinh trong phòng thí nghiệm: cây bơ, ca cao, cà phê, Jojoba, cao su, chà là, thuốc lá, cà rốt, Endive, cải dầu, ngô, đậu, củ từ, đậu nành, (theo tài liệu Zimmerman, 1986; Ketchum, 1987; Picrik, 1987).

Ở Trung Mỹ và Nam Mỹ, kĩ thuật nuôi cấy mô được áp dụng nhằm tạo giống cây sạch bệnh và nhân giống vô tính cây cọ dầu (Brazil, Colombia, Costa Rica, Cộng hòa Dominique), cam, chanh, khoai tây, dâu tây (Brazil), cà phê (Costa Rica và Mexico). Nhiều công ti tư nhân cũng đã dùng kĩ thuật này để tăng sản lượng cọ dầu (Costa Rica, Cộng hòa Dominique), chuối (Honduras), lan (Brazil) cẩm chướng, cúc, dứa cảnh (Colombia, Costa Rica).

Năm 1987, Ở khoa Sinh học Đại học Maranhão đã thành lập một phòng thí nghiệm cấy mô để thực hiện chương trình chọn giống các cây ăn quả nhiệt đới: dứa hột, và các cây gỗ cung cấp lương thực khác.

Các công ti tư nhân Brazil Biomatrix S.A. (Rio de Janeiro) là chi nhánh của công ti giống khổng lồ AGROCERES đang tham gia vào các nghiên cứu triển khai việc nhân giống *in vitro* khoai tây, cây ăn quả ôn đới

và nhiệt đới, cây cảnh. Công ti trải rộng trên toàn lãnh thổ Brazil và sản lượng hàng năm của nó tới 2,4 triệu cây giống (Biotechnologia Fundação).

Ở Việt Nam, Trung tâm Thực nghiệm Sinh học tại thành phố Hồ Chí Minh (1979-1980) cũng đã nhân giống vô tính *in vitro* giống khoai tây để phục vụ cho các hợp tác xã sản xuất ở thành phố Đà Lạt. Ở Viện Khoa học Việt Nam ở Hà Nội (nay là Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam) cũng đã thí nghiệm nhân giống vô tính *in vitro* các cây khoai tây, cà, lúa, thuốc lá từ năm 1974-1975. Cho đến nay, ở đây cũng đã nhân nhiều giống cây trồng như mía, ngô, dừa sợi, lúa, thuốc lá, ...có khả năng chống chịu để phục vụ cho việc trồng trọt ở địa bàn miền Bắc. Ở Đại học Nông nghiệp I, viện Di truyền Nông nghiệp TW, cũng bằng nhân giống vô tính và kĩ thuật dung hợp protoplast tạo ra nhiều giống cây trồng phục vụ cho sản xuất nông nghiệp.

Việc nhân giống và khai thác cây chịu hạn (serophyte) đã mang lại nhiều mối lợi cho các nước ĐPT ở vùng khô hạn hoặc bán khô hạn. Trong số 350.000 loài thực vật được các nhà thực vật học mô tả, con người mới chỉ thử trồng khoảng 3.000 loài làm lương thực, lấy sợi, làm thuốc hoặc thu nguyên liệu. Chỉ có khoảng 100 loài được trồng diện rộng và 90% lương thực của loài người do khoảng 10 loài cung cấp, trong đó không có loài nào thuộc cây chịu hạn. Vì vậy, cần thiết phải tìm ra các loài cây chịu hạn có khả năng cho sản phẩm dồi dào ở các vùng khô hạn chiếm hơn 1/3 diện tích của quả đất. Các nguồn nước tưới ngày nay đang trở thành một nhân tố hạn chế trong sự phát triển của nông nghiệp. Vì vậy, tìm cây chịu hạn có ý nghĩa quan trọng trong sản xuất.

Năm 1960, Viện Nghiên cứu ứng dụng, Đại học Ben. Gurion ở Negev, Israel đã được thành lập với mục đích du nhập và phát triển các cây thích nghi với điều kiện khô hạn và bán khô hạn.

Lúc đầu viện thực hiện cái gọi là “nông nghiệp sa mạc” nghĩa là du nhập và phát triển những cây từ vùng khô cằn, các loài sử dụng rất ít nước mưa (lượng mưa dưới 200 mm), chỉ cần bổ sung nước tối thiểu. Sau đó, các nhà khoa học Israel chuyển sang “làm nông nghiệp trên sa mạc”, nghĩa là làm cho những người định cư trên vùng khô cằn có thu nhập cao để đủ cho họ có mức sống khá. Người ta đã đưa vào sử dụng việc tưới nước lợ hay mặn (nước này có ở vùng sa mạc Negev).

Viện Rodolph và Rhoda Boyko (Viện Nghiên cứu Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng) của Israel đã tiến hành nhiều chương trình nghiên cứu nhằm áp dụng các tiến bộ nông học và CNSH vào vùng sa mạc Negev và các vùng khô hạn nói chung (chương trình có sự tham gia của Israel, Mỹ, Ai Cập, Hà Lan, Cộng hòa Liên bang Đức) theo tài liệu của Raz, (1987). Người ta đã trồng những cây chịu hạn nhiều năm trong đó có cây cao và

cây bụi *Atriplex mummularia* (Saltbusch) *Atriplex canescens* và *Cassia sturtii*) đã cho các kết quả đặc biệt tốt. Qua nghiên cứu so sánh 120 loài cây chịu hạn thì *Atriplex nummularia*, *Atriplex barclayana* và *Atriplex lentiformis* là cây chịu mặn cho năng suất cao và dùng làm thức ăn gia súc.

Cây *Distichlis spicata* (cỏ chịu mặn) cũng có thể sống trong điều kiện cực khô hoặc mặn dùng phủ xanh và cải thiện ô nhiễm vùng Texcoco (Mexico).

Cây Jojoba (*Simmondsia chinensis*) là loại cây bụi có lá thường xuyên thuộc họ Buxaceae (cao đến 5 m) tìm thấy ở tây bắc Mexico trong sa mạc Sonora và cả ở vùng khô cằn bang California và Arizona của Mỹ (có thể mọc ở sa mạc có lượng nước mưa 75 mm vẫn cho quả tuy cây có thấp). Cây Jojoba có bộ lá dày, thô, chịu nhiệt độ 50°C nhờ bộ rễ ăn sâu 30 m.

Từ xa xưa, dầu Jojoba dùng bôi tóc và xử lý da súc vật (thỏ dân Apaches sử dụng). Hạt Jojoba (bằng hạt Lạc) chứa một loại sáp lỏng chiếm 30-60% màu hơi vàng, có mùi, thành phần không chứa glyceride mà chứa một hỗn hợp các rượu và ester của các acid béo mạch dài từ 20-22 nguyên tử C. Dầu Jojoba thay thế dầu cá voi dùng bôi trơn trực chuyển thủy lực và hộp số xe đua ở áp suất và nhiệt độ cao, dùng trong công nghiệp da, công nghiệp mỹ phẩm, công nghiệp dược, chất chống bọt lên men vi sinh vật, sáp bóng phủ các loại giấy carbon đặc biệt. Khô dầu chứa dầu dư và khoảng 30% protein, xơ, tannin và các chất khác.

Cây Guayule (*Parthenium argentatum*) là cây lấy nhựa mủ tự nhiên làm cao su.

Cây Crambe (*Crambe abyssinica*) thuộc họ Thập tự Cruciferae chứa một lượng lớn acid erucic có thể thay thế cải dầu.

Cây bí trâu *Cucurbita foetidissima* (Buffalo gourd) có hạt giàu dầu và protein, rễ chứa nhiều tinh bột. Sau 4-5 năm sinh trưởng, thân, lá, rễ đã nặng 40 kg trong đó có 20% là tinh bột, chi Grindelia gồm nhiều loài dùng làm nhựa dẻo.

Cây *Ocnothera spp.* là cây làm thuốc, hạt có nhiều acid γ -linoleic được dùng như chất bổ sung dinh dưỡng và làm mỹ phẩm.

Những cây đã nêu trên, người ta dùng CNSH nuôi cấy mô và tế bào để nhân giống và trồng ở qui mô rộng, vừa chịu hạn, chịu mặn, chịu nóng, chịu nghèo dinh dưỡng mà đạt năng suất cao và dùng trong nhiều ngành công nghiệp khác nhau, phục vụ cho đời sống.

Đối với cây rừng, xuất khẩu gỗ giữ vai trò quan trọng đối với các nước ĐPT. Theo số liệu thống kê của bộ Nông nghiệp Pháp: năm 1984-85, mật dịch gỗ nhiệt đới là 35.236 triệu m³ trong đó châu Phi: 35%, châu Á: 60%, Trung và Nam Mỹ: 5%.

Nhân giống vô tính *in vitro* các cây rừng lấy gỗ hay làm bột giấy có ý nghĩa kinh tế rất lớn.

Chi bạch đàn (*Eucalyptus*) có nhiều loài đặc hữu ở Australia, Timor, Tân Guinê, Philippinnes. Bạch đàn đã du nhập và trồng ở Nam Mỹ, châu Phi, Spain, Portugal, châu Á, Trung Cận Đông và Bắc Mỹ. Các phương pháp nhân giống vô tính truyền thống như giâm cành, chiết cành, ghép đôi với bạch đàn đều không cho hiệu quả. Người ta tạo callus từ những phần khác nhau của các loài bạch đàn và cây con tái sinh từ callus từ các bộ phận khác nhau của bạch đàn chanh *Eucalyptus citriodora* và bạch đàn trắng *E. alba*. Từ năm 1970, đã nuôi cấy thành công mảnh lá, đoạn thân, rễ bạch đàn. Các nhà nghiên cứu Mỹ đã thu nhận cây con nuôi cấy đoạn thân các loài: *E. grandis*, *E. gunni*, *E. dalrympleana*, *E. pauciflora*, *E. ficifolia*. Từ năm 1973, AFOCEL (Association Française Forêt-cellulose) đã khởi sự nhân vô tính *in vitro* cây bạch đàn nhằm mục tiêu sản xuất lớn các dòng vô tính chịu lạnh và năng suất gỗ cao. Từ năm 1975, bắt đầu trồng ngoài đất cứ mỗi tháng trồng 20.000 cây bao gồm 18 dòng vô tính.

Hartney (1982) đã nhân vô tính thành công các giống *E. camadulensis*, *E. curtisi*, *E. ficifolia*, *E. grandis*, *E. obtusifolia* và *E. rudis*, bằng cách nuôi cấy chồi nách và từ cây con. Mchra-Palta (1982) đã thành công trong tạo chồi phụ từ lá mầm và trên đoạn thân bạch đàn *E. nova angelica* và *E. viminalis* trong điều kiện *in vitro*.

Diallo và Duhoux (1984) làm việc tại phòng thí nghiệm Sinh lý thực vật Đại học Dacar, Senegal đã nuôi cấy lá mầm và tạo thành công chồi cây *E. camaldulensis*, trên môi trường có chứa NAA (naphtalen acetic acid là một auxin) và 6.BA (6-benzylaminopurine là một loại cytokinine) kỹ thuật này cho phép tạo ra 200 cây từ 1 cây con trong 2 tháng và 10^{13} cây trong 1 năm, trong khi kỹ thuật cắt đoạn của Gupta chỉ đạt 10^6 cây/năm. Davies (1984) làm việc tại phòng thí nghiệm của Dhoux đã phát triển kỹ thuật nhân vô tính cây Faidherbia (*Acacia albida*). Cây họ Đậu này mọc ở hầu hết các vùng khô hạn ở châu Phi, đặc biệt là ở Tây Phi. Chúng đóng vai trò quan trọng đối với kinh tế đồng cỏ vùng Sudan Sahel. Chúng cố định N_2 và rụng lá vào mùa mưa. Lá và quả dùng làm thức ăn cho đại gia súc vào mùa khô. *Acacia albida* tạo môi trường thuận lợi cho các cây kê, lúa miến, lạc mọc dưới tán lá cây của chúng vào mùa mưa.

Hai cây rừng khác có khả năng cố định N_2 : cây họ Đậu *Acacia senegalensis* và cây không họ Đậu *Casuarina equisetifolia* cũng đã được quan tâm nghiên cứu nuôi cấy mô.

➤ *Nghiên cứu tạo phôi soma*

Một hướng khác được tổ chức trồng trọt là việc tạo phôi soma. Theo như mô tả của Steward và cộng sự, sự chuyển sang môi trường có nồng độ auxin thấp đã gây ra sự sinh trưởng tế bào trong phôi. Chúng cũng trải qua tất cả các giai đoạn phát triển bào thai của một hợp tử nhưng tạo thành từ tế bào soma chứ không phải là sản phẩm hòa hợp của 2 giao tử đực và cái.

Sự nuôi cấy phôi của tế bào soma có một số tiến bộ:

- * Phôi phát triển cả hai hướng đem đến cả rễ, chồi và phát triển thành cây toàn vẹn ngay từ đầu.

- * Nuôi cấy phôi có thể tạo ra một hướng lớn các cây hơn cả con đường nuôi cấy mô.

- * Khi lớn lên trong môi trường nước thì phôi tách ra thành những phôi khác và bơi tự do, do đó, không cần nhiều thiết bị. Hàng ngàn phôi phát triển trong bình nuôi cấy cổ thắt và cũng có tốc độ sinh trưởng nhanh không kém tốc độ sinh trưởng khi nuôi cấy vì sinh vật.

Ngoài cà rốt, cần tây, những cây khác như đậu, chanh, cà phê, chà là, kê cũng được nuôi cấy phôi tế bào soma. Sự chín phôi tế bào soma có thể được cải biến bằng những chất ĐHST đặc biệt dùng acid abscisic và thay đổi môi trường.

Công nghệ hiện nay hoàn toàn cho phép nhân lên những phôi soma cho một số lớn các loài cây thu hoạch quan trọng.

Một vài cây trồng đã được tái sinh thành công bằng nuôi cấy phôi soma: cà rốt, cần tây, đậu, cà phê, chanh, cọ dầu, v.v. Thí dụ: cọ dầu tạo từ phôi soma có thể thực hiện trực tiếp từ callus sơ cấp trên môi trường chứa auxin, cytokinin và than hoạt tính. Các thể phôi hình thành 6 tháng sau khi đưa các phân đoạn của lá và nuôi cấy. Có thể thu được tới 500.000 thể phôi từ 1 mẫu lá trong vòng 1 năm. Các thể phôi đã thành thực, được tách ra và tạo cây, các phôi non dùng để tiếp tục nhân (Noirel, 1984-85).

Chúng ta có thể phân biệt 2 giai đoạn trong nhân giống *in vitro* cọ dầu: giai đoạn thứ nhất: từ lúc tạo callus rút ngắn còn 6 tháng hay ít nhất tùy tốc độ tạo phôi soma, giai đoạn hai: thường kéo dài 4 tháng trong đó phôi tự nhân lên và hình thành cây. Việc chuyển vận thể phôi từ Pháp đến Malaysia hoặc Indonesia không có gì khó khăn. Giữ đông lạnh thể phôi đã được thực hiện tại phòng thí nghiệm Nghiên cứu Sinh lý các cơ quan thực vật Sau thu hoạch CPOVAR của viện Nghiên cứu Khoa học Quốc gia Pháp CNRS. Phôi được bảo quản ở -196°C trong thời gian rất dài. Người ta đã nhận thấy rằng các cây cọ dầu xuất xứ từ các phôi đông lạnh sau 15 tháng trồng trên đồi không có biến dị hình thái nào. Vì vậy, Viện Nghiên cứu dầu và cây có dầu Pháp (IRHO) đã đề xuất kỹ thuật này cho các khách

hàng hải ngoại. Kỹ thuật này rất thích hợp đối với các loài không thích hợp với nhiệt độ bảo quản của các cây ôn đới ($0-5^{\circ}\text{C}$). Hơn nữa nó có thể giảm thiểu các hiểm họa tiềm tàng nếu số lần cây chuyển để nhân giống tăng lên quá lớn (Biofuture, 1987, số 56). Dầu cọ là loại dầu ăn được sử dụng nhiều nhất trên thế giới, chỉ đứng hàng thứ 2 sau dầu đậu tương và chiếm 17% tổng sản lượng dầu béo và mỡ (3-11 tấn/ha/năm), nên cần có giống cọ dầu để trồng, nhất là các nước cận xích đạo.

Về cây dừa, từ năm 1981 các nhà khoa học Pháp thuộc Viện Nghiên cứu Khoa học vì Sự phát triển (ORSTOM) và IRHO cũng đã bắt đầu các thí nghiệm nuôi cấy mô dừa nhằm tạo phôi soma. Các cây nuôi cấy mô được tạo từ mô của phần lá non của các cây dừa 5 tuổi trồng trong nhà kính thuộc giống PB-121 con lai giữa giống lùn vàng Malaysia (Malaysia Yellow Drafts) và giống cao Tây Phi được chọn lai tại Côte d'Ivoire. Các thể phôi thu được sau 6 tháng nuôi cấy. Các nghiên cứu tạo cây hoàn chỉnh từ phôi được tiến hành từ năm 1984 (Pannetier và Noirel, 1984).

Theo các nhà khoa học Pháp, quá trình phát sinh phôi soma có thể xuất hiện trong một giai đoạn ngắn từ mô lá non của cây dừa từ 2 đến 5 tuổi và có thể thu được với cây trưởng thành. Bằng phương pháp này, dừa cho năng suất cao hơn (số quả và sản lượng cơm dừa) có thể gấp 5 lần.

Đối với cây cà phê, các nhà nghiên cứu Pháp ở GERDAT (Groupement d'Etude et de Recherche d'Agronomie Tropical), Montpellier đã nuôi cấy mô cà phê từ năm 1978-1979 và năm 1981 đã thành công trong thu nhận phôi soma trực tiếp từ mô cây ban đầu mà không phải thông qua giai đoạn tạo callus trung gian (Dublin, 1982). Các phôi vô tính được hình thành từ các bó mạch của phiến lá đem nuôi cấy trên bề mặt môi trường. Từ một mảnh lá duy nhất có thể tạo ra hơn 1.000 cây con.

Qua một vài ví dụ cụ thể nêu trên cho thấy rằng, việc nghiên cứu tạo phôi soma là một trong các biện pháp kỹ thuật có triển vọng của CNSH, nhằm nhân nhanh các giống cây trồng nông lâm nghiệp ở qui mô rộng.

➤ *Nghiên cứu nhân giống cây sạch virus.*

Để tiến hành tạo cây sạch bệnh virus bằng kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào, người ta thường dùng mô phân sinh ở đỉnh chồi. Những mô này chứa những tế bào sinh trưởng và được bao một lớp vỏ cutin. Sự hình thành mới các cơ quan của thực vật bắt đầu trong các mô phân sinh ở đỉnh chồi này. Các mô đó phân hóa ngay từ những giai đoạn đầu của phôi và giữ lại trong suốt quá trình sống của cây. Mô phân sinh là vùng khỏe mạnh nhất của cây, vì người ta thấy rằng, quá trình sinh tổng hợp DNA của virus

thực vật không xảy ra được ở vùng này – do một cơ chế gì hiện nay chưa rõ, thậm chí cả cây bị bệnh virus nhưng phần này vẫn không bị nhiễm virus. Vì mô phân sinh có các tế bào phôi nên khi nuôi cấy tạo nên callus. Dùng các chất ĐHST khác nhau như gibbrelline, auxin, cytokinine, v.v. để kích thích khối tế bào không phân hóa này đâm chồi. Từ đó hình thành nên những cây con khỏe mạnh không bị virus. Bằng cách đó người ta sản xuất ra dâu tây, khoai tây, đu đủ, khoai mỡ, sắn và nhiều cây cảnh... sạch bệnh virus.

➤ *Nhân giống bằng sản xuất hạt nhân tạo.*

Ngày nay người ta đã dùng kĩ thuật nuôi cấy mô và tế bào thực vật để sản xuất hạt nhân tạo. Tế bào thực vật có đặc trưng là không chỉ trở thành tế bào sinh dưỡng mà còn trở thành tế bào phôi mầm, chỉ cần điều khiển chúng bằng các chất ĐHST thích hợp. Do vậy, người ta cho vào bình dung dịch dinh dưỡng có chất ĐHST nhất định thì tế bào có thể trở thành tế bào phôi. Các tế bào phôi trong bình đó sẽ sinh sản rất nhiều và tụ hợp lại. Các phôi này được bao bọc bởi một chất keo - gồm hỗn hợp các chất dinh dưỡng và gọi là các hạt nhân tạo. Khi gieo các hạt này xuống đất sẽ mọc thành cây bình thường.

Việc sản xuất các hạt nhân tạo như thế rất cần thiết trong nông lâm nghiệp. Bởi vì, trong cải tạo giống nhiều khi tạo ra được giống có năng suất cao và chống chịu giỏi nhưng lại không có hạt hoặc rất ít hạt để có thể gieo trồng lại. Bằng phương pháp nói trên, người ta có thể sản xuất hạt nhân tạo bằng các tế bào bình thường của cây này với một lượng lớn trong các nồi lên men.

Một loạt các vấn đề lí thú về hạt nhân tạo ở đây là:

* Khi còn trong các bình nuôi cấy lên men rất tiện lợi cho người ta xử lí nhiệt các mô để làm sạch hết virus, tạo ra các hạt sạch bệnh.

* Người ta cũng có thể đưa vào vỏ hạt nhân tạo các loài vi khuẩn cố định N_2 thì khi cây trưởng thành, vi khuẩn này sẽ lấy N_2 từ không khí để cung cấp phân đạm cho cây đó.

* Cũng bằng cách tương tự như trên, người ta đưa một lượng thuốc trừ sâu hoặc trừ cỏ đại vào vỏ hạt nhân tạo để bảo vệ cây khỏi bị sâu và cỏ dại phá hoại.

* Hạt nhân tạo cũng là đối tượng dễ dàng để nạp các gene lạ vào để tạo ra các giống mới có đặc tính mong muốn.

Rất mừng là hiện nay trên thị trường thế giới có bán nhiều hạt nhân tạo với các tính ưu việt nói trên, trong đó có hạt lúa mì, hạt lúa, là những hạt lương thực sống còn đối với cuộc sống con người.

2.2. *Tạo giống mới có năng suất cao thông qua phương pháp tạo dòng soma trong nuôi cấy mô tế bào*

Soma là tên gọi các tế bào cơ thể (sinh dưỡng), nó khác với tế bào sinh dục.

Chúng ta biết rằng, từ các tế bào soma có thể tạo nên bất kì bộ phận nào của cây. Đó là đặc điểm toàn năng của tế bào thực vật. Từ callus có thể khôi phục lại một bộ phận nào đó: rễ, thân lá hoặc tạo thành một cây hoàn chỉnh đều dựa trên đặc điểm toàn năng này. Có điều callus được cấy đi cấy lại nhiều lần thường xảy ra những biến đổi di truyền. Những cây lớn lên từ những tế bào biến đổi ấy cho các hạt. Những hạt này lại mọc thành cây cho những đặc tính quý mà ta mong muốn. Như vậy, chính lúc này những cây đó sẽ là nguồn ban đầu để nhân lên và những thế hệ sau được tạo ra mà ta gọi là các dòng soma. Phương pháp tạo giống kiểu này gọi là phương pháp tạo dòng soma.

Cơ sở khoa học của việc chọn giống đó là hiện tượng biến dị soma - tức là biến đổi di truyền không phải ở tế bào sinh dục mà ở tế bào cơ thể (sinh dưỡng) của cây. Có ba cách:

- * Biến đổi NST kiểu đa bội thể (polyploid) như ở cà chua, đậu, cây cảnh.

- * Biến đổi NST kiểu thêm, bớt một vài NST trong bộ NST tế bào.

- * Biến đổi kiểu đột biến ở một số gene nhất định ở NST hoặc gene của ti thể, lục thể (lục lạp).

Có nhiều kiểu biến đổi:

- . Sự biến dị tự nhiên: thường rất thấp, chỉ một trong hàng triệu tế bào.

- . Bằng biện pháp chọn lọc cổ điển (sau lai ghép và đột biến) thì khó có được sự phối hợp giữa cái cũ và cái mới.

- . Biến đổi dòng tế bào soma, đặc biệt là từ những tế bào callus trong nuôi cấy thì tần số xảy ra rất nhiều. Khoai tây tái sinh từ callus đã được thử nghiệm, trong đó có 13 biến dị gene đơn giản đã được phát hiện trong 230 cây khoai tây tái sinh. Tỷ lệ biến đổi dòng soma ở đây là 1/18, có nghĩa là từ 18 cây tái sinh thì có một cây biến dị. Tỷ lệ biến dị này thật quá lớn.

Một số biến dị gene đơn giản xảy ra ở cà chua cũng đã được xác định và một trong những biến dị đó nằm ở cánh tay dài của NST 10 trong bản đồ gene.

Vừa qua đã đạt được một số kết quả về biến dị soma trong số cây trồng đã kích thích sự áp dụng phương pháp chọn lọc dòng soma vào việc đổi mới cây trồng.

Bằng phương pháp chọn dòng soma, người ta đã tạo nên được giống lúa vừa chín sớm vừa có hạt dạng dài nhằm vừa tăng năng suất thu hoạch lại vừa tạo được chất xanh làm thức ăn cho gia súc.

Về cây mía, phương pháp chọn dòng soma này đã tạo ra được giống mía chống được một số bệnh virus như bệnh fip, nấm lông, bệnh than, và bệnh đột mắt. Ta biết rằng cây Mía là cây bát bội (octoploid) hoặc thập bội (decaploid) và rất dị hợp tử. Điều này gây trở ngại cho việc mô hình hóa lý thuyết và các phân tích di truyền. Heinz, 1977 ở Hawaii và sau đó các nhà khoa học Đài Loan, Pháp, Cuba, Argentina, đã thành công trong tái sinh mía từ callus, từ nuôi cấy túi phấn đã tạo được cây đơn bội có năng suất cao hơn trong điều kiện tự nhiên so với cây bố mẹ, hoặc phương pháp chọn lọc dòng soma cho phép phân lập được các dòng kháng bệnh.

Bằng phương pháp chọn dòng soma, các nhà nghiên cứu cũng đã thực nghiệm chống bệnh tàn lụi cây cà chua, chống virus khảm thuốc lá trên cây thuốc lá.

Từ những biến đổi dòng soma, cũng đã phát hiện những quả to nhỏ khác nhau, từ đó áp dụng vào việc chọn lọc cây ăn quả như bưởi, cam, để thu được những đặc tính quý.

Đối với cây cọ dầu, khi tái sinh từ callus, cây không giống nhau mà xuất hiện một số đột biến soma (Jones, 1983). Những biến dị soma này theo Cocking ở Đại học Tổng hợp Nottingham, có nguyên nhân di truyền và do cả điều kiện nuôi cấy tạo nên (Cocking, 1981).

Nói tóm lại, trong nuôi cấy mô và tế bào thực vật, người ta đã thừa nhận có sự biến đổi di truyền. Sự biến đổi như vậy có thể có ích đối với thu hoạch của con người. Trong quá trình nghiên cứu cơ sở di truyền của sự biến đổi tế bào thực vật nuôi cấy, người ta đã nhận thấy rằng, công nghệ nuôi cấy tế bào *in vitro* cho chúng ta một lợi khí quan trọng để làm thay đổi giống cây trồng theo hướng có lợi. Đó là những biến đổi dòng soma giúp ta tạo ra nhiều giống cây mới với đặc tính ưu việt.

2.3. Tạo ra những cây lai mới có tính ưu việt bằng kỹ thuật protoplast

Protoplast là tế bào trần. Thành tế bào cellulose đã bị tiêu hủy bởi enzyme cellulase hay driselase, nó chỉ còn màng sinh chất bao quanh. Protoplast có khả năng dung hợp (fusion) với nhau để tạo thành các thể lai vô tính dưới tác dụng của một tác nhân hóa học hay vật lý để làm các màng kết dính lại với nhau và gây ra sự chuyển vận các đại phân tử DNA, các protein, các bào tử từ tế bào nọ sang tế bào kia.

Dung hợp là quá trình hợp nhất 2 protoplast lại làm một. Hiện tượng này phổ biến. Sự thật con người sinh ra cũng là kết quả một sự dung hợp giữa tinh trùng và noãn trứng, tạo thành hợp tử có dấu hiệu di truyền của cả 2 tế bào hợp lại. Chỉ có điều quá trình đó gọi là lai hữu tính. Các tế bào thực vật có khả năng dung hợp dưới dạng protoplast. Hai protoplast

dung hợp lại có thể sinh ra một cây con hoàn chỉnh dưới dấu hiệu di truyền của hai tế bào hợp lại. Nhưng quá trình này là quá trình lai vô tính (somatic hybridization). Ngày nay nhờ lai vô tính mà người ta cải tạo được nhanh chóng bộ máy di truyền tế bào nhằm tạo những giống mới có năng suất cao.

Sử dụng kĩ thuật protoplast, người ta đã lai tạo giữa cây trồng với cây hoang dại để đề kháng một số trạng thái trong môi trường bất thuận như tạo ra những cây chịu hạn cao, chịu rét giỏi, chống chịu sâu bệnh, phèn, mặn, v.v.

Kĩ thuật nuôi cấy và dung hợp protoplast đến nay không những đã thực hiện tốt đối với cây 2 lá mầm mà ngay cây có một lá mầm như lúa, thậm chí các loài rong, tảo.

Kĩ thuật protoplast trong tạo giống mới của thực vật gồm 2 giai đoạn chính sau:

a. Giai đoạn tách và nuôi cấy protoplast.

Ở giai đoạn này người ta có thể tách tế bào để xử lí tạo thành protoplast từ tất cả các thành phần của cây như rễ, thân lá, nốt sần rễ, lá mầm, hạt phấn, callus v.v. nhưng hay dùng cả là từ mô lá. Giai đoạn này gồm các bước sau đây:

+ Xử lí mẫu cho sạch và vô trùng bằng cồn 70°, sau đó bằng calcium hypochloride, cuối cùng bằng nước cất vô trùng.

+ Cắt mẫu. Mẫu được cắt nhỏ thành mảnh 0,5×2 cm hoặc thành sợi.

+ Xử lí mẫu bằng enzyme. Sử dụng enzyme hỗn hợp như pectinase, cellulase. Onozuka R₁₀ trong mannitol pH=5,8 ở một thời gian trong điều kiện ánh sáng và nhiệt độ tối ưu.

+ Tách, làm sạch protoplast bằng phương pháp lọc và li tâm.

Các bước chung là như vậy, song chi tiết mỗi loài cây đòi hỏi một loại enzyme để tách protoplast, nồng độ enzyme cũng như nồng độ chất gây co nguyên sinh chất khác nhau để có lượng tế bào protoplast cao nhất.

b. Giai đoạn dung hợp protoplast.

Trong giai đoạn này người ta sử dụng một trong hai phương pháp sau đây để dung hợp:

* Phương pháp sử dụng tác nhân hóa học: sử dụng chất polyethylene glycol (PEG). Chất này gây nên kết dính 2 protoplast và tạo điều kiện để các phân tử DNA cũng như các thành phần khác dễ đi qua màng.

* Phương pháp sử dụng tác nhân vật lí: các xung điện (electroporation) để tạo những lỗ nhỏ của màng, tạo điều kiện cho các đại phân tử đi qua. Thực chất những vấn đề chính của kĩ thuật dung hợp

protoplast là việc phân biệt và tách thể lai thông qua mắt thường, dùng gene đánh dấu, dùng môi trường chọn lọc, dùng phản ứng màu enzyme, dùng protoplast từ các loại mô khác nhau, hoặc được nhuộm bằng các chất phát huỳnh quang. Quá trình dung hợp có thể thực hiện các bước sau:

- + Hai tế bào protoplast sạch của 2 loại cây định lai cho tiếp xúc nhau theo tỉ lệ nhất định rồi nhỏ các giọt dịch hỗn hợp đó lên đĩa nhựa trong petri.

- + Nhỏ nhẹ nhàng PEG lên đỉnh mỗi giọt dịch chứa protoplast hỗn hợp đó, ủ một thời gian ở nhiệt độ phòng rồi nhấc lại vài lần như thế.

- + Rửa sạch PEG và cho vào môi trường nuôi cấy có chứa muối ammonium để phục hồi tế bào sau quá trình tách và dung hợp.

- + Độ vài ngày sau, tế bào phân chia, cấy chuyển sang môi trường chọn lọc và như vậy cấy chuyển một vài lần nữa trong môi trường chứa những chất ĐHST thích hợp để tạo callus, tạo chồi, tạo cây và rễ, v.v.

- + Có thể thử phản ứng enzyme trên mẫu lá cây lai cắt nhỏ để có thể nhận ra được có sự lai tạo hay không.

Ngày nay người ta đang sử dụng kỹ thuật dung hợp protoplast để tạo ra những cây lai mới. Chẳng hạn, lai khoai tây trồng và khoai tây hoang dại. Gene cây hoang dại giúp cây trồng chống bệnh virus.. Người ta lai cây cà chua với cây khoai tây (họ hàng chúng xa nhau) cho cây lai mang quả cà chua và củ khoai tây.

Bằng cách này, người ta tạo ra cây lai giữa cà rốt và rau mùi, cam và chanh, ...

Đối với cọ dầu, từ protoplast và sử dụng kỹ thuật tái tổ hợp gene có thể nâng cao hiệu quả, chọn lọc các dòng có dầu có năng suất cao.

Hình II.1. Cây Khoai-Cà (Pomato)



Đối với mía, dung hợp protoplast có ý nghĩa lớn đối với việc phổ biến các giống mía không ra hoa (trốn cờ) hoặc bất thụ. Các kết quả nghiên cứu của CENA (Centre de Nuclear Energy in Agriculture) và CEBTEC (Divisão de Biotechnology de Plantas et Centro de Biotechnologia Agrícola) ở Brazil cho thấy, dung hợp

protoplast cây mía có thể giúp chuyển gene kháng thuốc trừ sâu có từ dòng mía này qua dòng mía khác.

Dùng hợp protoplast có thể chọn giúp các dòng cà phê kháng bệnh và các độc tố do nấm tiết ra để đưa vào môi trường nuôi cấy nhằm chọn ra các dòng tế bào kháng độc tố cho cà phê. Năm 1987, ở Costa Rica cũng đã tái sinh cây cà phê vôi từ protoplast được tách từ phôi vô tính hình thành từ huyền phù tế bào callus lá. Sau khi nuôi cấy protoplast vài lần trên môi trường chứa 0,5 mg/l kinetine, 0,5 mg/l 2,4D, 0,5 mg/l NAA, các tác giả thu được callus nhỏ. Khi cấy chuyển sang môi trường không có chất sinh trưởng các callus phát triển thành phôi và phát triển thành cây hoàn chỉnh.

Người ta cũng dùng hợp protoplast cao su từ các tế bào phôi vô tính.

Đến nay đã có hơn 70 loài cây cũng đã được sinh ra từ protoplast.

Khi dùng hợp protoplast, người ta còn tạo ra được giống lai giữa tế bào thực vật và vi khuẩn. Sự dung hợp protoplast giữa tế bào tảo lam (vừa có đặc tính quang hợp vừa có đặc tính cố định N_2 trong không khí) với callus thực vật làm kích thích sự phát triển của chúng.

Cũng với kỹ thuật trên, người ta còn có thể dung hợp được các tế bào soma với tế bào sinh dục (hạt phấn) để tạo ra cây lai giữa các họ với nhau.

Tóm lại, kỹ thuật dung hợp protoplast hiện tại đang mở ra một khả năng rộng lớn trong việc tạo ra những giống có thể tập hợp được nhiều đặc tính tốt từ các cây khác nhau.

Hơn nữa, nhờ việc tạo thành protoplast (bóc trần vỏ tế bào), nó trở thành công cụ nghiên cứu các quá trình sinh hóa, đặc biệt là acid nucleic và protein trong tế bào, dùng mô hình nghiên cứu di truyền phân tử, nghiên cứu sự xâm nhập của vi khuẩn vào tế bào, nghiên cứu quá trình cộng sinh vi khuẩn trong cây bộ Đậu, nghiên cứu các enzyme, nghiên cứu cơ chế của quá trình quang hợp v.v. làm cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu ứng dụng phục vụ cho đời sống của con người.

2.4. Tạo ra những đặc tính mới mong muốn qua việc đưa các nguyên liệu di truyền vào tế bào cây trồng bằng kỹ thuật tái tổ hợp DNA (DNA recombination)

Việc cải tiến đưa các gene vào tế bào thực vật qua cách đưa nguyên liệu di truyền ngoại lai vào bằng con đường tái tổ hợp DNA hiện nay đang mở ra nhiều triển vọng tốt đẹp:

Cách thứ nhất: chuyển gene trực tiếp

- . Phương pháp hóa học polyethylene glycol.
- . Phương pháp vật lý xung điện dung hợp protoplast.
- . Phương pháp ngâm hạt phấn vào dung dịch DNA.

. Phương pháp vi tiêm gene.

. Phương pháp bắn gene.

Cách thứ hai: chuyển gene gián tiếp qua sử dụng các vector, đặc biệt là vector plasmid pBI12A chứa sẵn một gene khởi đầu promoter mạnh nhất và gene CaMV35S (Cauliflower mosaic virus) gene kết thúc và gene đánh dấu GUS-A.

Plasmid này được gắn thêm các gene lạ có đặc tính mong muốn đưa vào vi khuẩn hay ở thực vật dùng *Agrobacterium tumefaciens* để đưa vào cây.

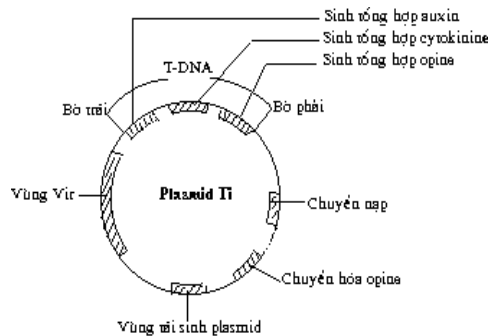
Người ta có thể đưa gene ngoại lai vào qua con đường vector plasmid: DNA được đánh dấu phóng xạ rồi đưa vào hạt phấn, chồi non, các tế bào nuôi cấy protoplast hay nhân tế bào được tách ra. DNA ngoại lai dễ nhận cảm với sự tiêu hóa của enzyme nuclease vật chủ. Phải đưa DNA vào lysosome, sau đó dung hợp vào protoplast để làm giảm tác dụng tấn công của nuclease tế bào chủ. Dần dà người ta nghiên cứu đưa DNA ngoại lai vào qua con đường vector plasmid. DNA plasmid được tìm thấy ở ti thể của động vật bậc cao. Những plasmid đó có thể là một hệ thống duy nhất của sự chuyển gene. Chúng sao chép một cách tự quản trong ti thể. Plasmid cũng được tìm thấy trong nhiều vi khuẩn. Những plasmid đó thường được liên kết với vi khuẩn bệnh lý và được dùng để kiểm tra sự sinh bệnh của một tác nhân gây bệnh cây trồng.

Vai trò plasmid Ti của *Agrobacterium tumefaciens* trong sự hình thành khối u ngày nay đã được sử dụng phổ biến để chuyển gene thực vật.

Agrobacterium gồm các loài *A. tumefaciens* và *A. rhizogenes*. *A. tumefaciens* là vi khuẩn đất gram âm, hình que. Vi khuẩn này có ở họ Rhizobiaceae có khả năng gây u ở thực vật. Nó là một plasmid dài vào khoảng 120-150 kb, có tính chất gây u nên gọi là plasmid Ti. Ti bắt nguồn từ chữ đầu của tumor inducing. Còn *A. rhizogenes* là plasmid có khả năng gây bệnh rễ tóc (hairy root) và gọi là plasmid Ri. Ri bắt nguồn từ chữ đầu của root inducing tức là sinh rễ. Kích thích plasmid này tương tự plasmid Ti.

Đối với các cây trồng, người ta có thể tạo ra giống mới cũng có những đặc tính mong muốn qua việc chuyển gene. Các gene đó có thể từ một cây không có quan hệ họ hàng hoặc từ động vật, Côn trùng, nấm men, hoặc từ các vi sinh vật. Các cây được nhận gene bằng nhiều cách khác nhau nhưng gần đây nhờ hệ thống vi khuẩn *Agrobacterium* có đặc tính sẵn có trong tự nhiên là chuyển được gene của chúng vào cây cối thông qua một phân T-DNA của plasmid Ti hoặc Ri. Chính T-DNA của vi khuẩn

được gắn vào bộ gene của thực vật sẽ làm xuất hiện khối u hoặc rễ tóc vì chúng chứa oncogene.



Hình II.2. Mô hình plasmid Ti

T-DNA có kích thước 25 kb trong đó chứa gene mã hóa cho sinh tổng hợp auxin, cytokinin, opine và các gene gây khối u (oncogene). Trong plasmid Ti, vị trí của T-DNA được giới hạn bằng bờ phải và bờ trái. Ngoài plasmid Ti còn có các vùng DNA mã hóa cho việc tái sinh plasmid, cho khả năng lây nhiễm (vùng vir) và chuyển nạp, cho việc tiêu hóa opine.

Trong các vùng DNA của plasmid Ti, ngoài T-DNA được nghiên cứu nhiều hơn cả là vùng DNA phụ trách khả năng lây nhiễm còn gọi là vùng vir. Sản phẩm hoạt động của các gene nằm trong vùng vir được tác động kích thích của các hợp chất phenol tiết ra từ vết thương là một loại protein đặc biệt như vir E₂, vir B, vir D, vir D₂, vir C₁... Các protein này nhận biết các vết thương ở các cây chủ thích hợp (hầu hết là cây 2 lá mầm), kích thích sinh sản ra các đoạn T-DNA bao bọc che chở các đoạn DNA này và giúp chúng tiếp cận với hệ gene của cây chủ một cách an toàn.

Khi cây nhiễm bệnh do T-DNA nạp vào trong hệ gene của cây chủ bắt đầu hoạt động và sản sinh ra auxin, cytokinin và opine, toàn bộ sinh trưởng của cây bị rối loạn, các tế bào phân chia vô tổ chức và tạo ra các khối u. Opine được vi khuẩn sử dụng như một loại “thức ăn” nhờ gene chuyển hóa opine trên plasmid Ti.

Cơ chế lây nhiễm của *A. rhizogenes* đối với cây 2 lá mầm cũng tương tự nhưng trong vùng T-DNA của *A. rhizogenes* chỉ có gene sản sinh ra auxin, vì thế sự thay đổi hình thái chính của thực vật là chúng tạo ra rất nhiều rễ tóc khi bị nhiễm bệnh.

Trên thực tế bệnh cây, *Agrobacterium* chỉ gây hại ở cây 2 lá mầm. Vì vậy, người ta cho rằng chúng chỉ có thể nạp T-DNA vào hệ gene các cây 2 lá mầm. Gần đây nhiều tác giả đã chứng minh khi nhiễm vi khuẩn, các cây 1 lá mầm cũng có thể sản xuất opine và có thể khai thác khả năng biến nạp gene của *Agrobacterium* ở cây 1 lá mầm.

Nhưng nếu phần T-DNA bị cắt thì plasmid Ti này vẫn giữ nguyên khả năng chuyển gene lạ vào thực vật. Do đó, plasmid Ti hiện nay trở thành một công cụ sắc bén theo đặc tính gây u vào các cây trồng.

Việc chuyển gene lạ được tiến hành theo những bước sau:

- * Tách plasmid Ti từ vi khuẩn *A. tumefaciens*
 - * Cắt bỏ phần T-DNA của plasmid đi
 - * Chuẩn bị gene lạ chứa di truyền mong muốn, chẳng hạn gene độc tố của *Bacillus thuringiensis* để tiêu diệt sâu bọ hại cây trồng.
 - * Chuẩn bị gene đánh dấu để theo dõi việc chuyển gene lạ vào thực vật có thành công hay không? Chẳng hạn, gene mã hóa cho một enzyme có phản ứng màu mà ở thực vật ít có như gene mã hóa enzyme β -glucuronidase gọi tắt là GUS-A tạo ra màu xanh da trời đặc trưng với cơ chất 5-bromo-4-chloro-3-indolyl, β -galactopyranoside được kí hiệu là X-gluc. Đôi khi người ta sử dụng khả năng đánh dấu của gene mã hóa luciferase - một enzyme của Đom đóm phát sáng trong tối ở các mô được chuyển gene. Cũng có khi sử dụng những gene kháng kháng sinh kanamycine - một chất ức chế sinh trưởng thực vật.
 - * Gắn gene lạ và gene đánh dấu vào plasmid Ti thay thế vào chỗ T-DNA đã bị cắt bỏ rồi đưa vào vi khuẩn *Agrobacterium*.
 - * Chuẩn bị tế bào vật chủ tiếp nhận vi khuẩn *Agrobacterium* chứa plasmid có gene lạ như chuẩn bị các protoplast từ các thể mô, các đĩa lá.
 - * Nuôi cấy chung vật chủ với vi khuẩn *A. tumefaciens* chứa plasmid Ti gắn gene lạ một thời gian vài ngày ở nhiệt độ ánh sáng thích hợp.
 - * Loại bỏ vi khuẩn bằng dùng các kháng sinh đặc hiệu như carbenicilline.
 - * Chuyển nguyên liệu thực vật vào môi trường dinh dưỡng nuôi cấy tế bào và mô để tái sinh có thêm những chất kích thích sinh trưởng như 2,4 D, auxin khác v.v.
 - * Cây tái sinh được nuôi trong vườn ươm và cuối cùng trồng ra đất.
 - * Theo dõi các đặc tính của gene lạ biểu hiện ở cây trồng.
- Cần chú ý:
- Cây được biến đổi di truyền cần phải được trồng trong vại vục;

- Cây chủ của vi khuẩn *Agrobacterium* có thể làm hạn chế sự biến đổi trong nhiều vụ thu hoạch.

- Muốn chuyển gene thành công cần phải phân tích mở rộng bộ gene thực vật, biết rõ tổ chức phân tử của gene đưa vào và mối quan hệ giữa nó với tổ chức cấu trúc di truyền và điều hòa di truyền.

Đối với sự chuyển gene thực vật, virus thực vật chứa DNA cũng được coi là vector. Loại virus khảm thực vật của hoa súp lơ (Cauliflower mosaic virus: CaMV) là một ví dụ hấp dẫn. Đó là một vector có thể dùng để chuyển gene, vì DNA ngoại lai có thể chuyển vào thực vật qua sự gây nhiễm lá bởi virus. Thêm vào đó CaMV có thể nhân lên trong bào tương và loại trừ khả năng gây trở ngại cho các chức phận của tế bào chủ.

S.H. Howell và cộng sự năm 1987, đã gài được phân tử linker EcoRI gồm 8 đôi base vào vùng “intergenic” của virus khảm hoa súp lơ mà không làm suy yếu sự lây nhiễm của chúng. Khả năng CaMV như một vector chuyển gene đã được chứng minh bởi Cronenbor và cộng sự khi đưa vào lá củ cải đoạn operator của operon lac *E. coli* và khi DNA của virus được tách từ những cây bị nhiễm đã thấy chứa đoạn operator lac.

CaMV có một số hạn chế: chỉ gây nhiễm cho họ cải như bắp cải, xải xoăn, cải Buxel. Thứ 2 là chỉ một lượng nhất định DNA ngoại lai được gài vào (khoảng 250 đôi base).

Việc dùng hệ vi khuẩn *Agrobacterium* đã được hàng trăm cơ sở công nghiệp và phòng thí nghiệm trên thế giới sử dụng. Chỉ ở Monsanto đã có hơn 45.000 dòng thực vật chuyển gene tự do đã được sản xuất theo kiểu này. Tuy vậy, đối với các cây lúa, ngô, lúa mì vẫn phải là cây chủ tự nhiên đối với *Agrobacterium*. Do đó, phải đưa DNA ngoại lai vào protoplast thực vật. Song, khả năng này lại tạo được rất thấp và mặt khác lại không được nguyên vẹn, phải phá vỡ tế bào để lai ghép.

Do đó, người ta có một biện pháp đơn giản hơn là tiêm DNA ngoại lai trực tiếp vào tế bào. Song cũng vấp phải một điều là tiêm trực tiếp như vậy khó có hiệu quả cao là do: . kim nhỏ dễ gây và tắc; công việc buồn tẻ, tỉ lệ DNA ngoại lai là tổ hợp vào bộ gene tế bào chủ rất thấp. Tiêm khoảng 10.000 tế bào mới hi vọng được 1 tế bào có gene mới để nâng cao hiệu quả tổ hợp gene. Joh Sanford ở trường Đại học Tổng hợp Cornell đã đề nghị dùng biện pháp bắn phá liên tục các nguyên liệu gene vào các tế bào thực vật.

Tác giả đã dùng viên đạn kim loại có đường kính 1-2 μ có phủ DNA ngoại lai. Làm tăng nhanh dần tốc độ những viên đạn kim loại này xuyên vào thành tế bào nguyên vẹn và phân tán DNA trong bào tương.

Năm 1987, họ đã cải tiến bằng viên đạn bạch kim để bắn vào tế bào thực vật và sau đó họ dùng đạn bằng vàng và đẩy đi bởi sự bốc hơi của giọt nước.

Việc bản DNA vào tế bào tuy chỉ là giai đoạn đầu của việc làm thay đổi cây trồng nhưng trước đó phải kết cấu cho được 3 vùng quan trọng của gene. Đó là:

- * Vùng promotor – vùng phát động biểu hiện gene.
- * Vùng mã hóa - tạo ra những protein mong muốn để thu hoạch tốt mùa màng.
- * Vùng poly A (polyadenine hóa) – vùng tham gia mở đầu sao chép RNA thông tin.

Công nghệ gene cũng có khả năng tạo ra những thức ăn trong sạch. Các gene đối với những protein có phẩm chất dinh dưỡng siêu đẳng được tách ra, sau đó, gài gene đó vào cây. Cây này có thể sản xuất ra những chất hóa học đặc biệt như tinh bột, dầu công nghiệp, các enzyme, các dược chất. Hơn 400 phép thử đồng ruộng của những cây trồng được công nghệ hóa ở Mỹ, châu Âu. Những thử nghiệm đó đã xác nhận hiệu quả kinh tế. những cây trồng có dấu hiệu tốt đó triển khai ra đồng ruộng từ năm 1990.

Tuy nhiên, trong công nghệ gene cũng có một số hạn chế như: chỉ cải tiến một số điểm biểu hiện không quá 3-5 gene. Một vài cây trồng không thích ứng phương pháp chuyển gene hiện hành. Sự tách gene có ích để chuyển cũng có gặp những khó khăn nhất định.

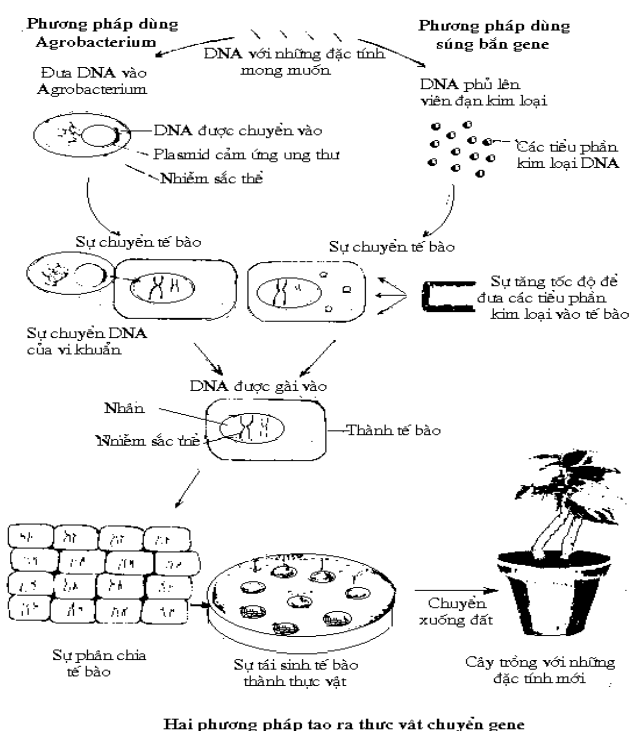
Việc sử dụng gene trong việc tạo giống mới những cây, hoa, quả,... G. Glili đã dùng vi khuẩn *E. coli* để chiết xuất lấy gene mã hóa loại enzyme tổng hợp lysine, sau đó đưa vào khoai tây và thuốc lá làm cho khoai tây lượng lysine tăng ở củ 5 lần, ở lá 4 lần và ở thân 3 lần. Người ta cũng đưa 9 acid amin khác vào khoai tây làm cho chất lượng của chúng trở nên quý giá.

Ở Mỹ cũng vừa thành công những quả cà chua chín mọng mọc trên cành nho. Cà chua loại này ít thối hỏng. Người ta cũng tạo ra bông có màu sắc tự nhiên bằng CNSH.

Ở Pháp mới đây, người ta cũng đã tạo cây bắp cải to cao hơn người bằng thao tác di truyền.

Trong 20-30 năm lại đây, CNSH đang làm đổi mới nền nông nghiệp trên toàn thế giới nhờ kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào, phương pháp chọn lọc dòng soma, kỹ thuật dung hợp protoplast và đặc biệt sử dụng công nghệ gene trong tái tổ hợp DNA, người ta đã đưa vào cây trồng những nguyên liệu di truyền mới, những gene có ích để làm thay đổi cơ bản những loài cây trồng, tạo ra một loạt các giống mới có năng suất cao, phẩm chất tốt, chống chịu giỏi trong điều kiện bất lợi của môi trường ở từng khu vực, đã có những hứa hẹn mùa màng tốt đẹp trong hiện tại và không ngừng phát triển trong tương lai không xa.

Ở nước ta, Đảng và Nhà nước đang quan tâm đến vấn đề khoa học và công nghệ, đặc biệt ưu tiên CNSH (nằm trong 4 ưu tiên chung: tin học, CNSH, vật liệu mới và hiện đại hóa nền công nghiệp). Với khoảng 20 triệu lao động nông nghiệp, có nhiệm vụ sản xuất ra 20-25 triệu tấn lương thực hàng năm, Việt Nam đứng hàng thứ 2, thứ 3 trong xuất khẩu gạo thế giới, muốn làm cho nền nông nghiệp không ngừng tăng lên, việc tạo giống mới cây trồng đặt ra cho các nhà khoa học một nhiệm vụ nặng nề và vinh quang. Dưới đây chúng tôi xin giới thiệu 2 phương pháp tạo giống mới hiện đại để chúng ta tham khảo:



Hình II.3. Bằng phương pháp trực tiếp (dùng súng bắn gene) và phương pháp gián tiếp (*Agrobacterium*) để chuyển gene vào tế bào thực vật

3. CNSH trong việc bảo vệ cây trồng.

Hàng ngàn năm nay, người nông dân luôn luôn thay đổi cây trồng, thay đổi lối canh tác để có những tiến bộ trong thu hoạch. Họ tuyển chọn

những giống cây trồng ngày càng có năng suất cao phẩm chất tốt hơn. Phẩm chất càng tốt thì đó là món ăn ngon lành cho muôn vàn vi sinh vật, sâu bọ. Theo thống kê, sâu bọ gây thiệt hại lớn cho mùa màng khoảng 20-40%. Năng suất mùa màng càng cao thì thiệt hại càng lớn. Người nông dân từ xưa đến nay, qua kinh nghiệm thực tế cũng đã có nhiều biện pháp phòng trừ như xới xáo, chăm sóc bắt sâu bọ, thay đổi vụ trồng hợp lí, trồng thảm xen kẽ, phun thuốc trừ sâu v.v. Riêng nước Mĩ, mỗi năm mất đi 2,5 tỉ USD về thuốc trừ sâu để bảo vệ mùa màng. Nhưng việc sử dụng thuốc trừ sâu bệnh, thuốc trừ cỏ dại (herbicide), ví dụ, thuốc trừ nấm chỉ được phun trừ sâu trên các vùng trồng chuối ngọt (sweet banana) nơi chỉ sản xuất khoảng 10% sản lượng chuối để đưa vào thị trường quốc tế, 90% sản lượng chuối còn lại là chuối bột (platain), một trong các nguồn lương thực của nhiều nước nhiệt đới thì chủ yếu trồng ở các qui mô gia đình rải rác. Vì vậy khó sử dụng thuốc trừ nấm và giá thành không kinh tế.

Hơn nữa thuốc trừ sâu bệnh đã để lại hậu quả khôn lường, người bị ngộ độc, thậm chí ung thư, động vật có thể chết. Vì vậy, công tác bảo vệ cây trồng theo hướng CNSH là tốt hơn cả.

Người ta đã nuôi cấy đỉnh sinh trưởng của khoai tây, đậu tây, khoai mỡ (Yam) còn gọi là khoai Ấn Độ, để làm sạch virus. Nuôi cấy đỉnh sinh trưởng cũng giúp tạo ra các giống sạch bệnh. Kỹ thuật nuôi cấy mô *in vitro* cũng giúp giải phóng cây sữa khỏi bệnh virus và Mycoplasma rất nghiêm trọng đối với dừa, chà là (Date palm), kháng bệnh hoặc ít nhiễm bệnh nấm hoa từ nhân vô tính, đặc biệt là chống chịu bệnh bayoud do nấm (*Fusarium oxysporum f-sp-albidinis*) gây ra là bệnh gây tổn thất nghiêm trọng cho chà là.

Viện IRAT (Institute de Recherches Agronomiques Tropicales et des Cultures vivrieres: Viện Nghiên cứu Nông nghiệp nhiệt đới và Các cây lương thực) của Pháp đã xây dựng được phương pháp cấy tác nhân gây bệnh vào cây con đang tái sinh từ callus, Việc sàng lọc các tế bào của những cây con này có thể cho phép phân lập được các dòng kháng bệnh, kháng 3 loại bệnh quan trọng: sinut, ieafscale và bệnh rỉ sắt. Tương tự như vậy, người ta có thể tách được các dòng tế bào kháng mặn, kháng phèn và độc tố của nấm (*Helminthosporium sacchari*). Các kết quả nghiên cứu của CENA (Centre de Nuclear Energy in Agriculture) và CEBTEC (Divisão de Biotechnology de Plantas et Centro de Biotechnologia Agrícola) ở Brazil cho thấy dung hợp protoplast cây Mía có thể giúp chuyển gene kháng thuốc trừ sâu có từ dòng mía này qua dòng mía khác. Từ năm 1985, ở phòng Hiện vi Điện tử của CENA đã bắt đầu chương trình nghiên cứu cấy chuyển gene kháng bệnh khuẩn và virus vào tế bào cây trồng, sau đó tách protoplast và dung hợp chúng trong điện trường.

Ở Mexico, các tác giả Merino và Madrigal ở trường Đại học Chapingo cộng tác với các nhà nghiên cứu của Đại học Purdue (Mỹ) đã thử tách các dòng biến dị kháng 2 nòi rỉ sắt đang gây hại ở châu Mỹ Latinh trên đối tượng cây cà phê.

Dùng hợp protoplast đã giúp cho cà phê kháng bệnh và người ta cũng đã dùng độc tố do nấm này tiết ra để đưa vào môi trường nuôi cấy nhằm chọn các dòng tế bào kháng độc tố.

Ngày nay công nghệ gene đã được dùng để tạo các giống cây chống các bệnh virus, đề kháng các côn trùng có hại, tạo giống mới chống cỏ dại, chống hư hại mùa vụ cây trồng.

Roger Beachy trường Đại học Tổng hợp Washington và Stephen Roger ở Monsanto đã áp dụng công nghệ gene cấu trúc nên một vector gene để đưa vào cây thuốc lá và cây cà chua một protein phủ mặt ngoài của virus khảm thuốc lá (tobacco mosaic virus: TMV). Những cây đó đã được đối kháng rất mạnh mẽ với nhiễm trùng và như vậy xác định giả thuyết ban đầu của Beachy là đúng - một thành phần đơn giản của virus có thể sử dụng để bảo vệ được sự tấn công của virus.

Ngày nay, sự biểu hiện một protein phủ mặt ngoài của virus nào đó có thể sử dụng để chống virus đó ở thực vật đã trở thành một cơ chế chung để bảo vệ cây trồng khỏi bệnh virus.

Trong vòng 30 năm qua, người nông dân và các nhà làm vườn tin tưởng về vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* (Bt) vì chúng sản xuất ra protein chống Côn trùng. Vi khuẩn này đã làm chết hàng loạt sâu tơ, Sâu róm ở vùng Thuringi. Các chế phẩm Bt đặc hiệu cao với các côn trùng thuộc loài bướm. Cơ chế hoạt động phân tử Bt như sau: protein Bt liên kết với những proceptor đặc hiệu được khu trú trên màng ruột của những côn trùng gây hại. Sự liên kết đó gây cản trở cho dòng vận chuyển ion vào trong tế bào biểu mô ruột và như vậy làm mất khả năng ăn uống dinh dưỡng của côn trùng. Những thuốc trừ sâu thiên nhiên này không gây độc hại cho người và động vật, thậm chí ngay cả các loài côn trùng khác. Mặt khác, tính chất có ích của thuốc trừ sâu Bt thường bị hạn chế vì dễ dàng bị rửa sạch khỏi cây, nhưng hiệu quả của chúng trên đồng ruộng thường được kéo dài.

Giữa những năm 1980, công nghệ gene của một vài hãng lớn như hãng Hệ thống gene thực vật ở Belgium, hãng Di truyền Nông nghiệp ở Middleton v.v. đã thành công trong việc tách rời các gene vi khuẩn mã hóa các protein thuốc trừ sâu. Họ đã dùng súng có *Agrobacterium tumefaciens* được gắn những gene tách rời trên đề bắn vào khoai tây, và chua và bông. Lúc đầu những gene này biểu hiện nghèo nàn. Những protein Bt được cây trồng sản xuất ra chỉ giết được những côn trùng phòng thí nghiệm nhạy cảm.

Các nhà khoa học ở Monsanto như David Fichhoff và Frédrick Perlak đã cải tiến. Họ xem xét kỹ lại gene vi khuẩn nguyên thủy để bắt chước chặt chẽ hơn đoạn DNA thực vật. Một sự cải tiến nhỏ đó đã làm tăng lên sự kiểm tra côn trùng một cách mạnh mẽ. Hai năm thử nghiệm trên đồng ruộng đã xác định rằng sự có mặt của các gene Bt đó trong cây bông đã kiểm tra một cách có hiệu quả tất cả những hư hại của đại bộ phận các loài bướm sâu bao gồm các mảng trứng của chúng. Những cây bông được thực hiện công nghệ gene đó đã làm giảm hẳn việc sử dụng thuốc trừ sâu từ 40 đến 60%.

Các nhà khoa học đã sàng lọc một cách mở rộng đối với những dòng *Bacillus thuringiensis* tự nhiên. Những dòng đó có hiệu quả trên các côn trùng khác hơn là loài bướm. Họ đã chọn được một dòng có một gene có hiệu quả chống lại loài gián cánh cứng phá hoại khoai tây: Colorado. Mùa xuân năm 1991, Russet Burbank đã ghép gene kiểm tra loài cánh cứng này trên khoai tây và đã thử một vài nơi ở Maine và Oregon. Khoai tây miễn dịch được loài cánh cứng này.

Các nhà khoa học ở tổ hợp Mycogene San Diego đã phát hiện một gene Bt chống Giun tròn kí sinh thực vật và một gene chống Muỗi. Hiện nay đang cố gắng sản xuất protein trừ Muỗi (mosquitocidal protein) ở Tảo để sử dụng vào biện pháp chống sốt rét.

Tính đặc hiệu của protein Bt và sự khu trú của nó trong các mô nói trên là protein này chỉ chống lại bọn Côn trùng tấn công. Protein khu trú nội bào này chắc chắn không bị rửa sạch và thuộc loại thuốc trừ sâu an toàn nhất.

Bên cạnh việc đề kháng virus, Côn trùng gây hại các cây trồng còn phải chống đối các loài cỏ dại. Cỏ dại làm giảm sản lượng mùa màng có khi tới 70%.

Trước đây người ta phối hợp thuốc diệt cỏ với việc làm cỏ để hạn chế cỏ dại. Vì trong thuốc diệt cỏ có phổ hạn chế trong hoạt động, nó chỉ gây ảnh hưởng rất nhỏ đối với cỏ dại.

Công nghệ gene có thể dùng để kiểm tra một cách hữu hiệu cỏ dại. Vấn đề là ở chỗ tạo ra cho cây trồng có thể sản xuất thuốc trừ cỏ dại với phổ rộng, đơn giản và an toàn cho môi trường. Nếu sử dụng được công nghệ vào cho cây trồng sẽ làm cho nông nghiệp giảm một lượng lớn thuốc trừ cỏ dại.

Có 3 hướng công nghệ để tạo ra thuốc trừ cỏ dại:

* Các nhà nghiên cứu ở Monsanto, Calgene, California đã dùng thuốc trừ cỏ dại tên là Roundup. Roundup là thành phần phổ rộng trừ cỏ dại lá to và mọc dày. Roundup ức chế hoạt động enzyme tổng hợp EPSP – enzyme này tham gia vào việc tạo acid amin thơm cần cho sự sinh trưởng

của cỏ dại. Roundup không làm ảnh hưởng tới động vật (động vật không tiến hành tạo acid amin thơm). Hơn nữa, Roundup lại thoái hóa nhanh chóng trong môi trường để trở thành vô hại.

Năm 1983, Luca Comai và David Stalker ở Calgene, Roger và Ganesh Kishore ở Monsanto đã tách được gene của enzyme tổng hợp EPSP từ vi khuẩn và cây trồng. Sau đó các nhà khoa học đã tạo những gene đã sản xuất ra lượng protein đó lớn hơn lên trong cây trồng rồi đưa vào cà chua, đậu, bông, cải dầu, và một số cây khác, các cây trồng có thể trừ được cỏ dại một cách có hiệu quả.

* Các nhà nghiên cứu ở Du Pont đã dùng kỹ thuật nghiên cứu tương tự để tiến hành công nghệ gene hóa những cây trồng có thể không dùng thuốc diệt cỏ sulfonylurea.

* Các nhà khoa học ở Hệ thống di truyền thực vật và hãng Hoechst - Đức đã có hướng tìm kiếm khác để loại trừ thuốc diệt cỏ. Từ vi khuẩn *Streptomyces hygroscopicus* đã tách ra một gene để enzyme đó ức chế chất diệt cỏ được gọi là Basta. Basta ảnh hưởng tới việc tổng hợp glutamine của enzyme trong cỏ dại và làm cho cỏ dại không lớn lên được. Nhưng trước khi gây hại, có thể xảy ra ở những cây trồng có gene làm ức chế Basta.

Trong bảo vệ quả ít bị hư hại, công nghệ gene cũng đang phát huy tác dụng. Người ta đã xác định và tách một số gene đóng vai trò trong sinh tổng hợp ethylene - một phân tử liên quan đến sự chín của hoa quả. Sự chín kéo chậm lại để kịp thu hoạch và tạo mùi tốt hơn làm phẩm chất tăng lên.

Có 2 phương pháp di truyền để tăng nguồn thu hoạch quả. Một là gài đoạn dịch mã antisen của gene chín để liên kết với RNA thông tin làm tắt gene. Athanosios theologis ở California và Don Grierson trường Đại học Tổng hợp Nottingham đã chứng minh rằng, các quả Cà chua có những gene antisen đã chống sự làm mềm. Thứ hai là đưa gene vào để tạo enzyme làm thoái hóa thành phần tiền chất hình thành ethylene, như vậy sẽ làm chậm sự chín và hư hỏng (công trình của Kishora và Harry Klee ở Monsanto).

Gần đây các nhà khoa học Mỹ cấy vào cây 1 gene vi khuẩn sản sinh ra 1 chất chitinase tiêu diệt các tế bào của nấm (cây vào cà chua, khoai tây, rau diếp và các giống cây tương tự nhưng chưa làm được đối với lúa, lúa mì, ngô và các cây có hạt khác).

Ngoài CNSH ra, hiện nay người ta còn dùng 1 số biện pháp sinh học để thay thế thuốc trừ sâu hóa học như; nuôi ong mắt đỏ để diệt Sâu đục, dùng hạt cây sấu đầu để diệt gần 2000 loài sâu hại (trong sấu đầu có azadirachtin có tác dụng diệt côn trùng mạnh). Ấn Độ đã xây dựng nhà

máy công suất 20 tấn hạt sầu đâu/ngày. Ở Pháp, người ta dùng bọ rùa để diệt rệp. Một con 1 ngày ăn khoảng 100 con rệp hại cây ăn quả, nên người ta gọi những “con bọ rùa dọn vườn”. Ở Mỹ, người ta ước tính cỏ dại Leafy Spurge 7 năm tới sẽ mọc dày 2 triệu ha đất trồng ở Bắc Mỹ, Canada, và sẽ làm tổn thất hơn 100 triệu USD. Người ta dùng bọ cánh cứng để tiêu diệt cỏ dại.

Ở Đức, hàng ngàn ha rừng Sồi đã bị một loại nhện tàn phá trong mùa đâm chồi. Người ta phun *Bacillus thuringiensis* lên ngọn cây. Khi côn trùng ăn vào cùng với chồi non, lá non thì làm cho chúng không muốn ăn nữa và sau đó chúng bị thủng bụng, lăn ra chết.

Ở Mỹ, người ta dùng loài virus polyeder để “săn đuổi và giết chết” các loài sâu và côn trùng độc hại, nhất là loại nhện độc.

Ở Việt Nam ta đã thử nghiệm nuôi sâu xanh cho trộn thức ăn có virus. Sau 6-8 ngày mỗi virus thành 10.000 virus khác, tức là chiếm khoảng 30% trọng lượng khô của con sâu. Khi sâu chết, gấp riêng ra, nghiền nát lấy nước dịch. Dịch này lại đem phun diệt sâu xanh phải hại cây trồng.

Nấm *Boveria* cũng được dùng trừ sâu róm thông. Nấm *Metthirum* cũng đang được nghiên cứu trừ rầy nâu hại lúa. Virus NPV - virus đa nhân (nuclear polyhedrosis virus) và GV (gralucular virus) đang được sử dụng vào việc diệt sâu bông.

Hiện nay người ta cũng đã dùng pheronom - chất tỏa ra mùi hương để dẫn dụ côn trùng tập trung vào một chỗ mà tiêu diệt.

4. CNSH trong việc sản xuất phân bón

Nitrogen là một trong những nguyên tố cơ bản của sự sống, bởi vì nitrogene chiếm khoảng 16% trong protein. Nitrogen lại là thành phần quan trọng của acid nucleic mà protein và acid nucleic là thành phần quan trọng của sự sống.

Ta biết rằng, trong không khí có 80-150 tấn N_2 /ha tức là gấp vạn lần so với nitrogene trong đất. Nhưng N_2 ở dạng phân tử rất bền chắc “dạng khí trơ” cây không lấy trực tiếp được.

Vì vậy, con người phải tạo ra những nhà máy khổng lồ và rất tốn kém để biến N_2 thành dạng phân đạm urea, đạm nitrate, nitrite bón cho cây.

Số lượng đạm trong nhà máy không đủ cho nhu cầu dinh dưỡng của cây (chỉ mới cung cấp 2-3% lượng đạm cho cây). Trong đất có một số vi sinh vật đất có khả năng cố định N_2 trong không khí, vi khuẩn cộng sinh với cây bộ Đậu, các tảo lam sống tự do hoặc cộng sinh với bèo dâu đã sản xuất ra phân bón cho cây trồng.

Hiện nay, người ta tạo ra những giống cây trồng có năng suất cao thường nhu cầu đòi hỏi về phân cũng cao. Vì vậy mà đất không đáp ứng được nhu cầu cho cây. Các nhà khoa học ngày nay phát hiện những bí quyết của vi sinh vật cố định N_2 , tăng lượng tiêu tốn rất ít mà hiệu quả của sự cố định cao để dùng làm nguồn phân bón bằng con đường CNSH.

4.1. Nhu cầu phân bón đối với cây trồng

Đến năm 1974, người ta đã sản xuất được 4.10^6 tấn phân đạm trị giá 8 tỉ dollars để đưa vào sử dụng cho cây trồng. Trong khi đó 25 năm về trước hàng năm mới chỉ có $3,5.10^6$ tấn. Đến cuối thế kỉ XX, do nhu cầu về lương thực ngày càng tăng, con người cần phải sản xuất 200.10^6 tấn phân đạm.

Rõ ràng năng lượng dùng để tiêu thụ cho các nhà máy phân đạm để sản xuất số lượng phân như trên thì rất khó khăn. Do đó, người ta phải dùng nhiều biện pháp kĩ thuật khác nhau: phương pháp công nghiệp, phương pháp sinh học, phương pháp di truyền.

4.2. Các phương pháp kĩ thuật khác nhau trong việc cố định N_2

* Phương pháp cố định N_2 công nghiệp bằng qui trình Haber-Bosch. Bằng phương pháp này người ta xây dựng các nhà máy khá tốn kém: cần nhiệt độ cao ($500^\circ C$), áp suất lớn (hàng ngàn atm) cũng như sự có mặt của chất xúc tác để biến khí $N_2 + 3H_2 \rightarrow 2NH_3$. Hiện nay có nhà máy lớn sản xuất 1.000 tấn/ngày, nên thế giới mỗi năm sản xuất được 4.10^6 tấn phân đạm. Song hạn chế lớn nhất của phương pháp này là tiền vốn đầu tư quá lớn. Tuy vậy, do nhu cầu của phân bón mà người ta đã xây dựng khoảng 400-500 nhà máy.

* Phương pháp cố định N_2 sinh học bằng các vi khuẩn.

- Vi khuẩn nốt sần cây bộ Đậu. Người ta đã phát hiện vi khuẩn hình que có chiều dài khoảng $0,5\mu$, có tiêm mao, ẩn náu trong các u sần của rễ cây bộ Đậu, đó là *Rhizobium*. Nốt sần là nhà máy phân đạm ngầm dưới đất của cây bộ Đậu. Trong vi khuẩn này có một gene điều khiển việc tổng hợp enzyme nitrogenase và hydrogenase cùng với sắc tố màu hồng biến N_2 phân tử thành NH_3 .

Nhờ hệ enzyme hoạt hóa này mà *Rhizobium* chỉ cần một năng lượng nhỏ (3-5 kcal/M) và cũng không cần áp suất cao cũng có thể dễ dàng bẻ gãy các nối liên kết nitrogen trong phân tử ($N \equiv N$) để dàng hình thành NH_3 . (Muốn bẻ gãy nối ba thứ nhất cần 215kcal/M, bẻ gãy nối ba thứ hai cần 127,65 kcal/M và nối ba cuối cùng chỉ cần 38 kcal/M). Vi khuẩn nốt sần cây bộ Đậu có thể đồng hóa 100-250 kg N_2 /ha.năm, cỏ Luzern: 300, cỏ Stylo: 150-200, đậu: 80-120, vi khuẩn sống tự do trong đất: 25-40 kg N_2 /ha.năm. Vi sinh vật trên vỏ quả đất có khả năng đồng hóa 100 triệu tấn/năm.

Ngày nay, người ta đã sản xuất phân bón nốt sần *Rhizobium* bằng cách phân lập các vi khuẩn nốt sần, tiến hành nuôi cấy nốt sần này ở nồi lên men lớn với các môi trường dinh dưỡng thích hợp (nguồn hydrocarbon và protein). Khi dung dịch nuôi cấy đạt được một lượng lớn vi khuẩn đem ra trộn lẫn với than bùn khô đã được nghiền cùng với rỉ đường, đóng túi nhỏ để hở miệng túi từ 3-5 ngày ở nhiệt độ 20°C rồi dán túi, bảo quản trong tủ lạnh và chuyển đến nơi tiêu dùng. Đó là loại phân sinh học nitragin.

- Vi khuẩn lam (tảo lam) cố định N₂

Từ năm 1910, Bottomley đã cho rằng trong túi lá bèo dâu ngoài tảo lam *Anabaena* còn có các loài vi khuẩn khác như *Pseudomonas radiculicola* và các loài *Azotobacter*. Tảo lam đã cung cấp cho vi khuẩn các sản phẩm quang hợp còn vi khuẩn cung cấp nitrogen đã cố định được cho tảo lam.

Ở Việt Nam, Lê Văn Cẩn và một số người khác (1954) nuôi 1 gam bèo dâu trong dung dịch không chứa nitrogene, sau 20 ngày thu được 42,6 gam. Lượng nitrogen trong bèo dâu từ 2 mg đã tăng lên 75,4 mg. Trong 2 tháng lượng nitrogen mà bèo dâu đã cố định được 136 kg/1 mẫu Bắc Bộ. Vì vậy, bèo dâu là cây phân xanh có giá trị cho nghề nông.

- Tảo xanh lục đã dùng sản phẩm quang hợp của mình làm nguồn năng lượng để đồng hóa N₂ của khí quyển. Vì vậy, tảo xanh lục trên các ruộng lúa đang là vấn đề thời sự có nhiều ý nghĩa trong việc tăng lượng đạm cho cây.

- Vi khuẩn nitrogen sống tự do trong đất

. *Chlostridium pasteurianum* là loại vi khuẩn yếm khí. Quá trình cố định N₂ thường diễn ra như sau:

Từ quá trình lên men butyric:



Hydrogen của quá trình này *Chlostridium* lấy để kết hợp với N₂:



hydrogen và nitrogen (hydrogenease và nitrogenease) khi sử dụng 1 gam đường thì *Chlostridium pasteurianum* đồng hóa được 2-3 mg N₂.

. *Azotobacter* là loại vi khuẩn hiếu khí nhờ đặc tính oxy hóa hiếu khí trong quá trình trao đổi chất. Cho nên hiệu quả cố định N₂ của chúng lớn hơn. Cứ 1 gam đường có thể cố định được 15 mg N₂ thậm chí chúng đạt tới 30 mg.

Bên cạnh đó, các vi khuẩn này còn cung cấp một lượng lớn chất điều hòa sinh trưởng như auxin, gibberelline. Do đó đã tăng được năng suất cây trồng trong đó có lúa.

4.3. Công nghệ gene trong sản xuất phân đạm

Công nghệ gene trong sản xuất phân đạm cho cây trồng là một trong những vấn đề sinh vật học hiện đại nhằm sử dụng kho tàng N_2 phân tử quý giá và vô tận của khí trời mà trước đây thiên nhiên chỉ dành cho *Rhizobium*, *Chlostridium*, *Azotobacter*, *Azospirillum* (gần đây người ta phát hiện ra tế bào rễ lúa mì, lúa nước, ngô, có một loại vi khuẩn sống cộng sinh gọi là *Azospirillum* trong đó *A. brasilense* ở lúa mì, *A. proferum* ở ngô) hay những xạ khuẩn của cà phê, phi lao, hay vi khuẩn ở một số cây tùng bách thuộc rêu, thuộc tảo, v.v.

Những thành tựu gần đây trong sinh học phân tử như việc phát hiện enzyme phiên mã ngược dòng (revertranscriptase) mở ra sự tổng hợp gene nhân tạo của Temine, Baltimore, việc phát hiện các enzyme cắt hạn chế (restrictases) các đoạn gene trong bộ gene tế bào để lai ghép các tái tổ hợp gene một cách dễ dàng của Arber, Nathan, Smith đã tạo điều kiện cho các nhà bác học Mỹ có thể biến được các trực khuẩn đường ruột *E. coli* vốn không có khả năng cố định N_2 thành một chủng đủ sức tiêu thụ được N_2 .

Enzyme nitrogenase và sự hoạt động cố định N_2 của nó.

Năm 1960, nitrogenase được tách từ *Chlostridium pasteurianum*. Lượng enzyme này chứa tới 5% protein của vi khuẩn. Khi cho thêm một lượng lớn pyruvate vào môi trường nitrogenase hai thành phần sau: 1 thành phần chứa Mo và Fe gọi là protein Mo-Fe. Thành phần thứ 2 chứa Fe và gọi là protein-Fe.

Protein Mo-Fe đã được làm kết tinh và được cấu tạo từ 4 đơn vị con sắp xếp thành một hình hộp như đã quan sát trong các ảnh hiển vi điện tử. Protein này chứa 2 nguyên tử Mo và 24-32 nguyên tử sắt và lưu huỳnh. $M=220.000$ dalton.

Protein sắt được cấu tạo từ 2 đơn vị con giống hệt nhau, chứa 4 nguyên tử sắt và 4 nguyên tử lưu huỳnh $M=60.000$ dalton.

Phổ cộng hưởng spin điện tử protein Mo-Fe là duy nhất đối với các cộng hưởng ở các giá trị của g bằng 2,01; 3,65; 4,30 thuộc về số một nguyên tử sắt. Phổ này đã được chứng minh là có ích đối với các khảo sát về cơ chế và các khảo sát về sinh lí. Còn phổ cộng hưởng spin điện tử của protein-Fe không phải duy nhất mà tương tự như phổ đã quan sát được đối với ferredoxin.

Cả 2 thành phần nói trên đều có vai trò cơ bản đối với hoạt động của nitrogenase theo tỉ lệ 1 hoặc 2 protein-Fe đối với protein Mo-Fe.

Người ta thấy protein Mo-Fe được tách ra khỏi cơ thể này có thể tái hợp với protein-Fe đã được phân lập ở một cơ thể khác để tạo ra 1 enzyme nitrogenase có chức năng. Điều đó chứng minh thêm cho sự giống nhau của các nitrogenase từ các nguồn khác nhau. Ammoniac là một sản

phẩm của sự cố định N_2 sinh học. NH_3 không phải là một chất ức chế các phản ứng. ATP cũng như 1 chất khử thích hợp, đều có vai trò cơ bản đối với sự hoạt động của nitrogenase. Để di chuyển được 1 electron, enzyme nitrogenase cần 4 phân tử ATP.

Ferredoxin hoặc flavodoxin có thể oxy hóa-khử ở gần điện cực hydrogen là những tác nhân sinh lý chuyển electron duy nhất đã biết có liên kết với nitrogenase.

Pyruvate là chất cho electron tự nhiên ở vài sinh vật như *Chlostridium*, còn ở *Rhizobium* hình như là phosphate dinucleotid adenine nicotinamid khử ($NADP.H_2$).

Nitrogenase có tính linh hoạt tuyệt diệu và khả năng khử hàng loạt những chất khác nhau. Một enzyme khác cũng có tính chất linh hoạt là ribulosodiphosphatecarboxylase – enzyme cố định CO_2 và O_2 .

Có thể xem nitrogenase như một reductase đối với H_3O^+ và đối với các liên kết ba do các chức NN, NO, NC, và CC biểu thị bằng N_2 , N_3 , N_2O , RCN, RNC, và RCCH để cho sản phẩm biểu diễn các phản ứng thêm 2, 4, 6, 8, 10, 12 và 14 điện tử. Động lực của phản ứng nitrogenase cho biết phức hợp ATP và Mg liên kết với protein-Fe chứ không phải protein Mo-Fe. Những thay đổi trong phổ cộng hưởng spin điện tử của protein-Fe và protein Mo-Fe đã dẫn đến kết quả là protein Mo-Fe bị khử bởi protein-Fe với sự tham gia của ATP, Mg. Như vậy, nitrogenase được biểu thị như một phức hợp của protein-Fe và protein Mo-Fe với Mg-ATP bao hàm trong quá trình chuyển điện tử từ protein-Fe sang protein Mo-Fe.

* Chuyển gene sản xuất nitrogenase (gene nif) từ vi khuẩn cố định N_2 sang *E. coli* bằng con đường kỹ thuật gene.

Cách đây hơn 10 năm, các nhà bác học Mỹ đã tách một đoạn gene điều khiển việc sản xuất nitrogenase ra khỏi vi khuẩn *Klasiella pneumoniae* rồi ghép đoạn gene này vào vi khuẩn *E. coli* một cách an toàn. Khi vào *E. coli*, gene này bắt tay vào việc sản xuất nitrogenase. Enzyme này giúp trực khuẩn thể *E. coli* dễ dàng tiếp thu nitrogen phân tử mà bình thường *E. coli* không thực hiện được.

* Kỹ thuật gene trong chuyển operon nitrogen vào chất nguyên sinh của cây trồng mong muốn.

Ngày nay người ta mong muốn chuyển gene nif từ vi khuẩn cố định N_2 vào thực vật thượng đẳng như lúa, khoai, cây ăn quả v.v. làm cho chúng có khả năng tự túc về phân đạm. Hi vọng rằng, trong thời gian đến, bằng kỹ thuật gene, người ta chuyển các plasmid chứa gene nif vào các cây trồng và sẽ chấm dứt nạn đói đạm triền miên của cây trồng. Lúc bấy giờ chắc chắn sẽ tạo ra một bước ngoặt vĩ đại đối với sự phát triển nông nghiệp trên toàn thế giới.

5. CNSH trong việc nghiên cứu chất ĐHST làm tăng năng suất cây trồng.

Ta đã biết, các tế bào cơ thể (soma) thực vật có tiềm năng trong một điều kiện nào đó hoàn thành một cây hoàn chỉnh. Kỹ thuật này cho phép tái sinh từ những tế bào cơ thể bị biến tính hay tế bào sinh sản đơn bội, khai thác sự khác nhau của dòng tế bào cơ thể của các mô thực vật và phát triển các kỹ thuật di truyền giống hiệu lực để làm tăng tốc độ truyền giống của các cây trồng mới và không có virus.

Điều hòa sự sinh trưởng và phát triển của thực vật bao gồm tái sinh các thực vật từ những tế bào và mô tách rời đều dưới sự kiểm soát của hormone gọi là phytohormone. Phytohormone gồm nhiều chất như: auxin, abscisin, ethylene, gibberelline, cytokinine. Nhưng 2 loại hormone quan trọng hơn là auxin và cytokinine quyết định sự kích thích phân chia và biệt hóa tế bào của các mô được nuôi cấy *in vitro*. Việc nuôi trồng bằng mô lâu dài của một số loài thực vật đã được tiến hành nhờ cộng thêm auxin vào môi trường. Sau đó, người ta phát hiện ra cytokinine (xem thêm ở Giáo trình lý thuyết về Sinh lý thực vật của Trương Văn Lung, 1991, trang 174-184 và nhiều tài liệu khác về chất điều hòa sinh trưởng ở thực vật).

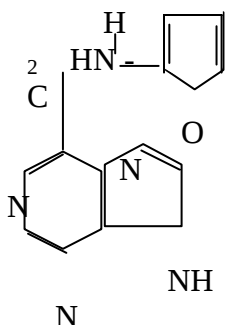
Cytokinine tự nhiên được phát hiện đầu tiên là zeatin và tách ra trong nội nhũ (endosperm) của ngô non. Giống như các cytokinine tự nhiên khác, zeatin là adenine được thay thế N^{+6} , vòng adenine nguyên vẹn mang chuỗi bên N^{+6} với liên kết đôi ở vị trí 2,3 và nhóm 4 methyl được hydroxyl hóa.

Hầu hết các nghiên cứu xác định mối liên quan giữa hoạt động sinh học với cấu trúc hóa học của cytokinine đều thử nghiệm trên các callus của thuốc lá. Khả năng cytokinine kích thích sự lớn lên của mô thuốc lá được bổ sung auxin.

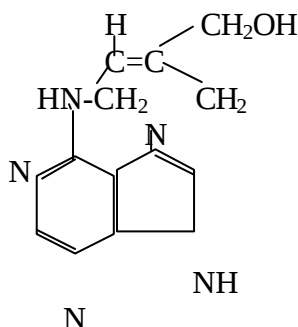
Các tác động sinh học của cytokinine

- Kích thích sự sinh trưởng của tế bào thực vật cùng với việc thêm auxin.
- Tỷ lệ auxin/cytokinine cao trong môi trường nuôi cấy thì cảm ứng sinh rễ, củ mạnh; ngược lại thì sinh nụ, cành non tăng.
- Sự lớn lên của chồi bên tăng, chồi đỉnh thì giảm, làm dễ dàng cho việc tạo hình những cành có khả năng sinh sản.
- Tăng sự đề kháng của cây tới các stress khác nhau như độ mặn, độ ẩm, nhiệt độ cao.
- Điều hòa sinh trưởng của cây dưới những điều kiện hạn hán, làm trì hoãn sự già yếu của cây và các phần còn lại của cây bị chặt.
- Kích thích diệp lục phát triển.

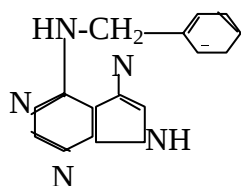
- Trong một số trường hợp nào đó, cytokinin điều hòa sự biểu hiện của những gene đặc hiệu của một số loài thực vật.



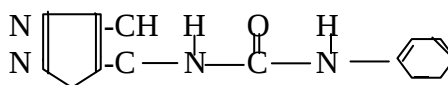
Kinitine



Trans-zeatine



N⁶ benzyladenine
(6-benzylaminopurine)
(B₄)



Thydiazuron

Các cytokinin

Cytokinin xảy ra trong thực vật như là những thành phần tự do và như là những chất được cấu thành từ vài loại RNA vận chuyển (tRNA₁).

Các cytokinin tự do trong các mô cây trồng bị biến tính từ N⁶-(Δ²-isopentenyl)adenosine 5'-monophosphate (t⁶AMP) chúng bắt nguồn từ hai chất tiền thân là 5'-AMP và Δ²-isopentenyl pyrophosphate. Enzyme xúc tác của chúng là Δ²-isopentenyl pyrophosphate: 5'-AMP isopentenyl transferase (gọi tắt là ipt hay cytokinin synthetase). Enzyme này được phát hiện trong chế phẩm vô bào của *Diotystelium discoideum*.

Hoạt động của enzyme cytokinin synthetase này cũng tìm thấy trong callus thuốc lá (việc tách chiết cũng khó khăn). Enzyme cytokinin synthetase cũng được phát hiện trong những tế bào thực vật bị biến tính bởi *Agrobacterium tumefaciens*.

Tính độc của *A. tumefaciens* được liên kết với plasmid cảm ứng ung thư mang những gene enzyme sinh tổng hợp auxin (gene 1 và 2) và cytokinin (gene ipt hoặc gene 4). Những gene này có mặt trong đoạn

plasmid Ti riêng biệt (T-DNA) nó có thể truyền từ vi khuẩn tới bộ gene của tế bào thực vật chủ. Sự biểu hiện của nó là sản xuất quá nhiều auxin và cytokinin để dẫn tới kết quả có phenotype kiểu ung thư. Thêm vào gene ipt, một số dòng của *A. tumefaciens* cũng mang gene mã hóa isopentenyltransferase (tZs), nó khu trú bên ngoài vùng T-DNA, sát với vùng DNA được liên kết với chức phận độc. Gene tZs được biểu hiện trong vi khuẩn và không được chuyển tới bộ gene vật chủ. Sự biểu hiện của nó được cảm ứng bởi những phenolic của thực vật được tạo ra sau khi cây bị thương. Vai trò của gene này có thể là cảm ứng sự phân chia tế bào dẫn đến hình thành tế bào rất nhạy cảm đối với việc nhiễm trùng. Cả gene ipt và plasmid Ti và tZs đã được đưa vào *E. coli* và những nghiên cứu giải mã từng đoạn đã chỉ ra sự đồng nhất của chúng.

Ngoài nguồn gốc vi khuẩn của nó ra, ipt là gene sinh tổng hợp hormone thực vật đầu tiên – gene này đã được thuần hóa và đã được biểu hiện *in vitro*.

Người ta biết tRNA như là nguồn cytokinin tự do. Các cytokinin có mặt trong nhiều cây kể cả thực vật bậc cao và được cấu thành từ một vài loại tRNA, nhiều tài liệu cho rằng có tới 50% cytokinin tự do được dẫn ra từ tRNA. Song ở thực vật tiến hóa cao hơn có cơ chế làm ngăn cản cytokinin được dẫn ra từ tRNA và có cơ chế liên quan tới sự điều hòa hormone. Cis-zeatin là thành phần cytokinin trội của tRNA thực vật. Cis-zeatin biểu hiện hoạt động cytokinin thấp hơn nhiều so với trans-zeatin. Song cis-zeatin có thể được biến hóa isomer trans bởi hoạt động của enzyme cis:trans.isomerase – nó đã được tìm thấy trong phôi của *Phaseolus vulgaris*. Enzyme này có thể tham gia kiểm soát sự phân phối tRNA zeatin biến thành cytokinin tự do. Nhưng các mô lớn lên trong tối như rễ thì nó không hoạt động, mà rễ lại là nguồn chính của các cytokinin ở thực vật.

Sự chuyển hóa các cytokinin bao gồm :

- Biến hóa các base, các nucleoside và các nucleotid.
- N-glucosyl hóa và sự kết hợp alanine của vòng purine.
- O-glucosyl hóa và acetyl hóa của chuỗi bên.
- Sự khử chuỗi bên.
- Làm gãy chuỗi bên.

Sự kết hợp của chúng có tác dụng khử độc hay vô hoạt những chất hoạt động sinh lí trong thực vật và động vật. Chúng hình thành cytokinin-N-glucoside và 9-alanine kết hợp vào zeatin và dihydrozeatine. Các cytokinin-N-glucoside có thể dùng như nguồn của các cytokinin tự do trong tế bào thực vật bị biến tính bởi T-DNA của plasmid cảm ứng sinh rễ (Ri) của *Agrobacterium rhizogenes*. Vi khuẩn này gây bệnh rễ tóc trong

các cây có khả năng kiểm soát nồng độ cytokinin và auxin của các tế bào thực vật chủ khác nhau.

Plasmid Ri của nó chứa các gene cảm ứng sinh rễ (rol): rol C và rol B làm mã hóa các gene β -glucosidase đặc hiệu xúc tác sự giải phóng cytokinin và auxin.

Những gene hydrolase này hoặc là vắng mặt hoặc là bị ức chế trong các tế bào thực vật bình thường. Đây cũng là một lợi khí đầy tiềm năng cho sự điều hòa nồng độ cytokinin và auxin của các loài thực vật, trong đó N-glucosyl hóa là phương pháp chủ yếu để làm vô hoạt cytokinin tự do.

Ngược lại các O-glucoside gồm các liên kết glucosyl, xylosyl và ribosyl của cytokinin thì kháng với sự oxy hóa sinh học và biểu hiện hoạt động cao trong các thử nghiệm sinh học đối với cytokinin. Các O-glucoside có thể làm ức chế trực tiếp hoạt động sinh học. Người ta đã tách được enzyme transferase O-glucosyl zeatin từ phôi của các loài *Phaseolus* khác nhau. Sự tạo thành các kháng thể đơn dòng đối với các enzyme đó có thể làm thuần hóa được những gene thích hợp. Những gene đó là những lợi khí có ích cho việc nghiên cứu chuyển hóa zeatin (enzyme đặc hiệu zeatin) chúng có thể sử dụng để sinh các kháng thể nhận diện các vị trí liên kết zeatin - tức là nhận diện các receptor (cơ quan nhận cảm) của cytokinin.

Enzyme chủ yếu làm ức chế cytokinin tự do trong tế bào thực vật là enzyme oxydase cytokinin. Enzyme này xúc tác đặc hiệu để làm gãy chuỗi N⁶. Những cơ chất tự nhiên là cytokinin mang liên kết đôi Δ^2 trong chuỗi bên (có nghĩa là i⁶Ade và những riboside của chúng, các kết hợp N-glucoside và N-alanyl. Sự vắng mặt của chuỗi đôi Δ^2 (cytokinin type dihydro-zeatin) hoặc sự có mặt của các thành phần có chuỗi bên như O-glucoside zeatin và N⁶-benzyladenine làm cho cytokinin kháng với sự thoái hóa của nó.

Người ta đã chứng minh rằng, khi cung cấp cytokinin ở ngoài vào thì tăng hoạt động của enzyme oxydase của cytokinin. Đó là một trong những lí do làm yếu cytokinin ngoại lai kích thích sự phân chia tế bào và sự nảy chồi trong một số nuôi cấy mô thực vật.

Nếu sự sinh tổng hợp cytokinin trong các mô thực vật không bị biến tính được xúc tác bởi chỉ 1 enzyme đơn giản thì nồng độ cytokinin của các tế bào thực vật sẽ kiểm soát bởi 2 enzyme: synthetase cytokinin và oxydase cytokinin.

Thông thường, cytokinin được đưa từ ngoài vào là để làm tăng cành một số cây cảnh. Đưa cytokinin vào các cây ngũ cốc sau khi ra hoa

sẽ làm tăng sự ra hạt và sinh hạt của lúa mì, lúa mạch, lúa nước, yến mạch và ngô. Đặc biệt tác dụng sâu sắc đối với những cây lớn lên khi thiếu NO_3^-

Cytokinin tổng hợp rất đắt và có hại cho sức khỏe con người cho nên người ta sản xuất cytokinin bằng công nghệ gene. Sự chuyển gene này sẽ tổng hợp ra cytokinin tự nhiên trong các thời điểm thích hợp cho sự phát triển của cây. Việc đưa gene ipt vào nhằm làm chậm sự già hóa của các lá của các cây ngũ cốc là những nghiên cứu đầy lí thú đối với tác dụng của cytokinin.

Cytokinin được tăng lên khi gene ipt được hợp nhất với promotor cấu tạo đã tạo ra những hiệu quả to lớn trên các phenotype ở thực vật.

Việc làm giảm nồng độ cytokinin liên quan với nồng độ auxin trong tế bào thực vật có tầm quan trọng trong thực tiễn. Chẳng hạn tách những phong bế sinh lí, ngăn cản sự sinh rễ và làm giảm sự tạo cành của một số cây hoa và cây cảnh trang trí bằng kĩ thuật antisense tức là đưa những đoạn antisense của gene ipt vào hay những gene mã hóa enzyme oxydase cytokinin, cũng như gene mã hóa enzyme transferase N-glucosyl đặc hiệu cytokinin bằng những promotor thích hợp.

Nồng độ cytokinin ở mô thuốc lá bị giảm bởi tăng nồng độ auxin. Đưa auxin tổng hợp vào dòng thuốc lá, mô sẽ làm tăng sự thoái hóa (H^3) zeatin *in vitro*. Nồng độ cytokinin bị kiểm soát bởi sự có mặt của gene tổng hợp auxin.

Nói tóm lại, tỉ lệ cytokinin/auxin trong các tế bào thực vật, sự đưa gene ipt vào bộ gene thực vật qua con đường công nghệ gene làm biến đổi sâu sắc hình thái cây trồng. Sự tách những gene điều hòa của cytokinin, sự bẻ gãy chuỗi bên làm vô hoạt và dự trữ lại đã làm sáng tỏ vai trò của chất ĐHST trong đó có cytokinin.

Việc thuần hóa các gene mã hóa các receptor của cytokinin là một trong các con đường nghiên cứu để kiểm tra hoạt động của cytokinin và kiểm tra hiệu quả của chúng trong quá trình tác động tới năng suất cây trồng.

6. Công nghệ sinh học trong việc tạo giống vật nuôi cho năng suất cao

6.1. Công nghệ cổ truyền trong việc tạo giống vật nuôi

Từ thời xa xưa con người đã biết thuần hóa thú hoang, chọn giữ lại những con tốt đáp ứng được nhu cầu thị hiếu của mình. Con người chọn lọc ngay từ con vật gốc theo những đặc tính di truyền tốt để tiếp tục giữ gìn và khai thác. Những con đực và con cái tốt nhất được giữ lại để làm giống. Chúng không những được chọn theo dạng hình liên quan đến kiểu di truyền mà còn tác động mạnh về mặt dinh dưỡng vào quá trình sinh sản. Hiệu quả chọn lọc tích lũy qua thời gian dài tạo nên kiểu di truyền phong

phụ từ phôi thai mà khi trưởng thành, vật nuôi sẽ biểu hiện bằng khả năng cho thịt, sữa, trứng.

Tiêu chuẩn chọn giống và khẩu phần dinh dưỡng luôn tác động mạnh đến sinh lí, trao đổi chất của con vật tạo nên sự đa dạng, phong phú cho khả năng sản xuất và sinh sản của con vật. Con người còn biết vận dụng những đột biến có lợi để nâng cao sức sản xuất của con vật như Bò thịt không sừng, cừu lấy lông ngắn chân, gà thịt trụi lông cổ...

Khi chọn lọc cá thể, con người còn chọn phối tức là tìm cách phối hợp các tính trạng tốt của đời bố mẹ truyền cho đời con. Từ đó mà có các phương pháp tạo giống vật nuôi mới, dòng mới, các tổ hợp lai mới để nâng cao năng suất và tăng thêm đa dạng sinh vật cho quần thể.

Trong lịch sử chăn nuôi, lai tạo giống đã được sử dụng để tạo ra nhiều giống vật nuôi quý giá, cung cấp vật liệu di truyền đa dạng để chọn lọc và củng cố các tổ hợp gene quý phù hợp với những mục tiêu cụ thể.

6.1.1. Nguyên tắc chung của việc tạo giống mới

- Trước hết phải có vật liệu khởi đầu thuần chủng về tính năng sản xuất. Người ta thường dùng những cá thể thuộc những dòng cao sản của những giống thuần. Khi phải dùng những giống địa phương hoặc những giống nguyên thủy làm vật liệu khởi đầu thì giống đó phải có một số lượng tương đối nhiều và phân bố trên một địa bàn nhất định.

- Tiến hành lai tạo. Sau đó khi thấy các chỉ tiêu mong muốn không chệch hướng thì sử dụng cận huyết. Mức độ và bao nhiêu đời phối cận huyết tùy thuộc vào tình hình đạt được các tiêu chuẩn đã đề ra ở mức độ nào trên con vật và tùy theo giống đem dùng có độ thuần chuẩn cao hay thấp.

- Việc chọn lọc phải tiến hành rất khắt khe, không những chỉ dựa vào các tính trạng hình thái mà đặc biệt phải chú trọng đến tính năng sản xuất thông qua các phương pháp di truyền.

- Khi đạt được nhóm hạt nhân hay một dòng của giống mới thì việc chọn lọc, nuôi dưỡng tiếp theo một chương trình có định hướng và việc áp dụng cận huyết sau đó phải thận trọng. Lúc đầu cận huyết là để củng cố các tính trạng đạt được, sau đó là củng cố thêm các tính trạng mong muốn, đồng thời loại thải các gene lặn xác định các tính trạng xấu (còn gọi là “làm trong sạch” dòng thuần). Song lúc này không cần thận sẽ dẫn đến suy thoái.

- Tiếp tục tạo dòng và nhân giống theo dòng.

6.1.2. Các phương pháp lai giống nhằm mục đích tạo giống mới

Lai cải tiến (topcrossing) và lai cải tạo (grading up)

Hai phương pháp này nói chung là rất giống nhau.

Lai cải tiến

Lai cải tiến là phương pháp lai trong đó dùng con đực của giống đi cải tiến cho giao phối với con cái của giống bị cải tiến. Sau đó dùng con đực hoặc con cái của giống bị cải tiến phối hợp với con cái hoặc con đực của các đời lai (con đực của giống đi cải tiến chỉ dùng một lần). Khi đạt yêu cầu thì cố định (“tự giao”).

Kết quả là sẽ có con lai mang chủ yếu là hệ gene của giống bị cải tiến và chỉ có một tỉ lệ nhỏ của hệ gene của giống đi cải tiến.

Lai cải tiến thường áp dụng trong trường hợp khi có một giống mà tính năng sản xuất của nó đã tương đối tốt (như lượng sữa nhiều) nhưng vẫn còn nhược điểm (như tỉ lệ mỡ sữa thấp). Nếu tiến hành nhân thuần để cải tiến nó thì sẽ rất lâu. Khi đó có thể dùng giống này làm giống bị cải tiến và chọn một giống khác có ưu điểm mà giống trên không có làm giống đi cải tiến. Đem lai hai giống này với nhau thì sẽ được các con lai vẫn có hướng sản xuất và các đặc điểm cơ bản như giống bị cải tiến nhưng có thêm đặc điểm của giống đi cải tiến.

Lai cải tạo

Lai cải tạo là phương pháp lai ở đó một giống được cải tạo (giống bị cải tạo) với một giống khác (giống đi cải tạo) bằng cách lai liên tiếp. Dùng con đực của giống đi cải tạo phối với con cái của giống bị cải tạo. Sau đó tiếp tục dùng con đực của giống đi cải tạo phối với con cái lai (con cái của giống bị cải tạo chỉ dùng một lần). Khi đạt yêu cầu thì cố định. Phần lớn các quần hợp giống chấp nhận lai bốn thế hệ liên tiếp với một đực giống thuần chủng.

Kết quả là tạo được các con lai có hệ gene của giống đi cải tạo là chính và chỉ có một phần nhỏ hệ gene của giống bị cải tạo.

Thế hệ con lai F_4 có thể được chấp nhận là một giống thuần. Quá trình này cần nhiều năm vì nó phải chờ đợi sự sinh trưởng và phát triển của các con cái ở mỗi thế hệ. Hiển nhiên, thành công lớn nhất sẽ đạt được nếu sử dụng các con đực giống tốt nhất cả về nòi giống và sức sản xuất.

Phương pháp này thường được sử dụng rộng rãi khắp nơi trên thế giới, trong trường hợp khi một giống tuy có một số đặc điểm tốt (đặc biệt là tính thích ứng) nhưng vẫn còn nhiều nhược điểm cần cải tạo. Nếu tiến hành chọn lọc, nhân thuần để cải tạo thì rất lâu. Khi đó, có thể dùng giống này làm giống bị cải tạo (thường là giống cao sản nhập nội). Kết quả là hướng sản xuất của giống bị cải tạo sẽ được thay đổi.

Lai cải tạo và lai cải tiến rất giống nhau và có thể nói đều là lai cấp tiến. Chúng chỉ khác nhau ở chỗ, trong lai cải tiến thì cấp tiến hệ gene của giống bị cải tiến còn trong lai cải tạo thì cấp tiến hệ gene của giống đi cải tạo cho các đời sau.

Lai chéo (crossing for the production of new breed)

Lai chéo là phương pháp dùng hai hoặc nhiều hơn hai giống để tiến hành lai. Sau đó chọn lọc và cố định các đời lai tốt để tạo thành giống mới.

Lai chéo không có một công thức cố định.

6.2. Công nghệ mới trong việc chuyển phôi và thao tác phôi

6.2.1. Chuyển phôi (embryo transfer)

Kỹ thuật chuyển phôi rất hiệu quả trong việc di truyền các gene quý. Kỹ thuật này đã được sử dụng qua một số năm và cho phép các nhà chọn giống gia súc phân phối chất di truyền của gia súc có giá trị nhất của họ ở mức gia đình cũng như quốc tế mà không làm suy giảm cơ sở di truyền của gia súc. Sự vận chuyển phôi sẽ thuận lợi hơn so với vận chuyển các động vật sống. Các nghiên cứu cho đến nay đã cho thấy rằng phương pháp vận chuyển vật chất di truyền này có thể hạn chế đến tối thiểu sự xâm nhập các bệnh truyền nhiễm vào các quần thể gia súc khác.

Thu nhận phôi

Phương pháp phẫu thuật và không phẫu thuật là hai phương pháp được sử dụng để thu nhận phôi ở các đại gia súc. Thu nhận phôi bằng phương pháp phẫu thuật là phương pháp thu nhận phôi sau khi đã mổ con vật. Cũng có thể giết chết con vật, cắt lấy bộ phận sinh dục bên trong mang về phòng thí nghiệm để dội rửa lấy phôi. Phương pháp không phẫu thuật đã được phát triển cho bò và ngựa cái và đã cho kết quả như phương pháp phẫu thuật. Hiện nay đây là phương pháp phổ biến được sử dụng để thu nhận phôi ở gia súc. Chúng bao gồm việc sử dụng một ống thông Foley cỡ 18-24 (gồm hai ống lồng vào nhau), cho phép dẫn dung dịch vào tử cung và sau đó cho phép dung dịch từ tử cung quay trở ra vào một vật chứa để chọn lọc. Một quả bóng nhỏ ở gần cuối ống thông có thể được thổi phồng ở phía bên trong sừng tử cung để ngăn cản không cho dịch tràn ra ngoài cổ tử cung. Dung dịch dội rửa thu được để lắng khoảng 20-30 phút, gạn bỏ phần bên trên. Phôi được tách ra, đưa vào đĩa petri và được đánh giá ở độ phóng đại 75×. Phôi sống được phân loại và sắp xếp dựa vào sự biểu hiện hình thái của chúng. Phôi sau khi đánh giá phân loại có thể đem chuyển luôn cho vật nhận đồng pha (synchronized recipients) hoặc đem đông lạnh để sử dụng sau. Tất cả các phôi sống được cho vào môi trường giữ đã khử trùng (DPBS bổ sung với 0,4% BSA) theo sự chỉ dẫn của Hiệp hội Chuyển phôi Quốc tế.

Chuyển phôi

Phương pháp chuyển phôi được sử dụng để tăng khả năng sinh sản của động vật cái. Hiện nay đây là phương pháp phổ biến được sử dụng trong thực tiễn chọn giống gia súc ở nhiều nước trên thế giới. Tuy nhiên

ứng dụng của nó trong việc nhân giống trâu chỉ mới được bắt đầu cách đây hai thập kỷ với sự ra đời của một chú nghé con chuyển phôi đầu tiên.

Các phương pháp chuyển phôi khác nhau đã được phát triển. Có hai phương pháp chuyển phôi: phương pháp phẫu thuật và phương pháp không phẫu thuật. Phương pháp chuyển phôi không phẫu thuật có một số ưu điểm: ít tổn kém, có thể đạt tỉ lệ thụ thai cao như phương pháp phẫu thuật. Vì vậy phương pháp này đã được sử dụng rộng rãi.

Mặc dù nhiều công cụ đã được thiết kế một cách đặc biệt cho việc chuyển phôi bằng phương pháp không phẫu thuật ở trâu Bò đã được mô tả trong các tài liệu trong suốt thập niên 1960 và đầu thập niên 1970 nhưng mãi cho đến khi sự áp dụng súng chuyển phôi Cassou Al thành công, cuối cùng đã chứng minh là có kết quả đối với vấn đề đặc biệt này. Vào giữa thập niên 1970, một số súng chuyển phôi cho gia súc chất lượng đã bày bán ở chợ. Coultard (1991) (Vương quốc Anh) đã mô tả phương pháp chuyển phôi của mình bằng cách sử dụng một súng chuyển phôi đã sửa đổi. Súng này có một màng bọc với đầu kim loại và hai lỗ thoát hai bên. Khi thực hiện chuyển phôi, con nhận được gây tê màng cứng và súng đã lắp đặt được đưa vào màng bọc bằng plastic rộng hơn ở phía ngoài. Chúng được đưa vào đến cổ tử cung và súng được đẩy xuyên qua màng bọc phía ngoài.

Vào năm 1983, Drost và cộng sự ở Đại học Florida, Gainesville, Mỹ, đã thành công trong việc chuyển phôi ở Trâu. Nhóm nghiên cứu này đã chuyển một phôi trâu 7 ngày tuổi vào con nhận và kết quả là lần đầu tiên một nghé con đã ra đời bằng phương pháp không phẫu thuật. Sự kiện này đã làm khuấy động sự quan tâm đáng kể của một số nước nuôi trâu. Sau đó phương pháp này đã được sử dụng ở Ấn Độ, Bungarie, Thái Lan, Pakistan, Malaysia (Misra, 1993), Ý (Schallenberger, 1990), Việt Nam (Uoc, 1992), Philippines (Cruz, 1991), Nhật Bản (Ocampo, 1988), Ả Rập (Ismail, 1993) và Trung Quốc (Wang, 1994).

Drost cũng là người đi đầu trong việc nghiên cứu chuyển phôi giữa các loài. Dưới sự quản lý của Drost, nhóm nghiên cứu đã chuyển một phôi trâu sang một bò cái nhận. Tuy nhiên, thai đã bị sảy ở giai đoạn 2-3 tháng tuổi (Drost, 1983).

Chuyển phôi bằng phương pháp không phẫu thuật lần đầu tiên ở Bungarie đã được thực hiện vào cuối năm 1984. Kết quả là đã thụ thai nhưng con cái nhận đã sảy thai vào tháng thứ 3. Vào tháng 4 năm 1986, tại viện Nghiên cứu Trâu ở Shumen, Bungarie, một thí nghiệm nghiên cứu chuyển phôi với qui mô lớn giữa Bungarie và Mỹ đã được tiến hành. Kết quả của thí nghiệm này là lần thứ hai trên thế giới và lần thứ nhất ở châu Âu, 4 con nghé con chuyển phôi đã ra đời vào đầu năm 1987. Vào tháng 2

năm 1988, nhóm nghiên cứu Bungarie đã tạo được 3 nghé con chuyển phôi (Alexien, 1988).

Kết quả các thí nghiệm nghiên cứu đầu tiên đã cho thấy kỹ thuật chuyển phôi áp dụng với bò không cho các kết quả giống như ở trâu do sự sinh sản khác biệt giữa các loài này. Theo một số thí nghiệm, các nhà khoa học Bungarie và Mỹ đã đánh giá rằng phôi trâu phát triển với cường độ lớn hơn phôi bò trong 4 ngày đầu tiên. Vì vậy thời gian tối ưu cho sự phục hồi của chúng là giữa ngày thứ 5 và ngày thứ 6 kể từ khi bắt đầu động dục thực sự của con cái cho. Chuyển phôi vào thời gian này đem lại sự thành công lớn hơn.

Chuyển phôi không phẫu thuật được thực hiện bằng cách sử dụng một súng chuyển phôi thu nhỏ xuyên qua cổ vào sừng tử cung. Các con nhận cùng lúc được kiểm tra sự có mặt của một thể vàng hoạt động (CL-corpus luteum). Màng cứng được gây tê là để giảm đến mức tối thiểu sức căng. Phôi để chuyển được hút vào một “cọng rơm” 0,25 ml ở trong một cột trung tâm chứa 20 ml môi trường giữ (holding medium) nằm ở giữa hai túi khí. “Cọng rơm” được lắp vào súng chuyển phôi và một màng bọc với đầu kim loại được lắp qua đỉnh. Sau đó một màng bọc vệ sinh được quấn trên đỉnh để tránh bất kỳ sự nhiễm trùng nào từ hệ vi khuẩn âm đạo. Bây giờ súng chuyển phôi được đưa xuyên qua âm đạo đến ngoài miệng tử cung. Rồi thì màng bọc vệ sinh được xuyên qua và súng chuyển phôi được đưa từ từ qua cổ và thân tử cung đến trên 1/3 sừng tử cung, cùng phía với buồng trứng mang thể vàng. Piston của súng được đẩy chậm chậm để đặt phôi vào sừng tử cung và súng được rút ra từ từ.

Trong chuyển phôi bằng phương pháp không phẫu thuật, bước quan trọng nhất là đưa một dụng cụ vào như súng chuyển phôi đến cổ và sừng tử cung. Sự sử dụng không cẩn thận các dụng cụ như thế sẽ làm tổn thương cổ cũng như màng tử cung và gây chảy máu. Do đó chỉ di chuyển các dụng cụ trên khi biết vị trí của chúng và quá trình đưa các dụng cụ vào tử cung luôn được kiểm tra và điều chỉnh qua trực tràng.

Ở nước ta, tại Viện Công nghệ Sinh học thuộc Viện Khoa học và Công nghệ Quốc gia, vào ngày 13 tháng 4 năm 1997, một con dê cỏ Việt Nam sau 4 tháng 23 ngày mang thai từ phôi dê Pháp được giữ đông lạnh đã sinh ra con dê cái Pháp giống Alpin màu trắng tuyền thuần chủng.

6.2.2. Các thao tác phôi

Chia tách phôi (embryo splitting)

Với kỹ thuật này có thể cho ra nhiều phôi từ một phôi ban đầu, tạo ra hàng loạt các cá thể giống hệt nhau về mặt di truyền hay nói cách khác là tạo nên một dòng vô tính.

Có hai phương pháp chia tách phôi: phương pháp dùng kim và phương pháp dùng dao cắt. Phương pháp dùng dao thì đơn giản hơn và dễ dàng hơn nhiều so với phương pháp dùng kim. Để thực hiện chia tách phôi cần phải có dung dịch nuôi phôi, kính hiển vi soi ngược Olympus, thiết bị vi thao tác để điều khiển dao cắt, kim giữ để cố định phôi...

Trước hết cho phôi dùng để chia tách vào đĩa petrie chứa dung dịch nuôi cấy; cố định phôi bằng kim giữ; điều chỉnh thiết bị vi thao tác để điều khiển dao cắt theo hướng thẳng đứng từ trên xuống hay theo hướng nằm ngang sao cho lưỡi dao đặt đúng vào giữa khối tế bào phôi; cắt phôi thành hai, chú ý thao tác nhanh, dứt khoát và chính xác; chuyển phôi sau khi tách vào dung dịch nuôi mới để nuôi cấy khoảng 2-3 giờ trước khi chuyển vào vật nhận đã được gây động dục đồng pha; cũng có thể nuôi cấy và tiếp tục chia tách lặp lại thu nhận được nhiều phôi hơn.

Phôi được sử dụng để chia tách ít nhất là ở giai đoạn 5-7 ngày sau khi thụ tinh (đối với bò). Nếu sử dụng phôi ở giai đoạn cuối phôi dâu hay đầu phôi nang khi khối tế bào đủ lớn và các tế bào chưa biệt hóa thì kết quả chia tách phôi nói chung là sẽ tốt hơn. Nếu chia tách phôi ở giai đoạn phôi dâu thì chỉ việc chia khối mầm phôi thành hai phần đều nhau. Còn nếu chia tách phôi ở giai đoạn phôi nang thì ngoài việc tách nội phôi bì thì còn phải tách phần ngoại phôi bì. Nếu tách phôi ở giai đoạn muộn hơn, lúc các tế bào đã biệt hóa thì tỉ lệ tạo nên những cơ thể toàn vẹn là thấp.

Sinh thiết phôi

Sinh thiết từ phôi sinh đôi cùng trứng có thể xác định được giới tính và các đặc tính di truyền của dòng vô tính. Có thể hút ra một ít tế bào từ phôi để xét nghiệm hoặc dùng dao cắt một phần của phôi.

Chuyên ghép nhân (nuclear transplantation)

Phương pháp chuyên ghép nhân tạo nên các dòng vô tính đã thành công ở nhiều loài gia súc như cừu, bò, ngựa, lợn, dê. Đây là một phương pháp hiện đại nhằm chuyển nhân của một tế bào phôi sớm vào một tế bào trứng đã tách nhân đi để tạo nên tế bào lưỡng bội (hợp tử) và phát triển thành phôi. Trước hết, gây siêu bài noãn, thụ tinh, rồi thu nhận phôi tốt nhất là ở giai đoạn phôi dâu; tách khối tế bào phôi dâu thành từng tế bào ($2n$) riêng lẻ; cấy mỗi tế bào ($2n$) này vào một tế bào trứng chưa thụ tinh đã được loại bỏ nhân từ trước; dung hợp tế bào ($2n$) với tế bào trứng chưa thụ tinh không nhân bằng xung điện; các tế bào trứng đã ghép nhân được nuôi cấy *in vitro* hoặc đưa vào nuôi ở vật nhận trung gian thường là thỏ hoặc cừu; sau đó chuyển các phôi đã phát triển này vào các vật nhận đã được gây động dục đồng pha.

Phương pháp này đã đem lại hiệu quả cao trong nhân giống, trong cải tiến di truyền các giống vật nuôi.

6.3. Công nghệ sinh học trong việc chuyển gene tạo giống vật nuôi

Mục đích của công tác chọn giống và nhân giống là cải tiến tiềm năng di truyền của vật nuôi...nhằm nâng cao năng suất, hiệu quả sản xuất nông nghiệp. Trong công tác nhân giống cổ truyền chủ yếu sử dụng phương pháp lai tạo và chọn lọc để cải tạo nguồn gene của sinh vật. Tuy nhiên, do quá trình lai tạo tự nhiên, con lai thu được qua lai tạo và chọn lọc vẫn còn mang luôn cả các gene không mong muốn do tổ hợp hai bộ nhiễm sắc thể đơn bội của giao tử đực và giao tử cái. Một hạn chế nữa là việc lai tạo tự nhiên chỉ thực hiện được giữa các cá thể trong loài. Lai xa, lai khác loài gặp nhiều khó khăn, con lai thường bất thụ do sai khác nhau về bộ nhiễm sắc thể cả về số lượng lẫn hình thái giữa bố và mẹ, do cấu tạo cơ quan sinh dục, tập tính sinh học... giữa các loài không phù hợp với nhau. Gần đây, nhờ những thành tựu trong lĩnh vực DNA tái tổ hợp, công nghệ tạo động vật chuyển gene ra đời đã cho phép khắc phục những trở ngại nói trên. Nó cho phép chỉ đưa những gene mong muốn vào động vật để tạo ra những giống vật nuôi mới kể cả việc đưa gene từ giống này sang giống khác, đưa gene của loài này vào loài khác.

Công nghệ tạo động vật chuyển gene là một quá trình phức tạp và ở những loài khác nhau có thể khác nhau ít nhiều nhưng nội dung cơ bản gồm các bước chính sau:

6.3.1. Tách chiết, phân lập gene mong muốn và tạo tổ hợp gene biểu hiện trong tế bào động vật

Một gene ngoại lai trước khi được chuyển vào genome của tế bào vật chủ để tạo ra động vật chuyển gene phải được phân lập và tinh chế hay nói cách khác là nó phải được tạo dòng. Các công cụ sử dụng để tạo dòng bao gồm các enzyme đặc biệt có hoạt tính cắt và nối DNA (enzyme hạn chế và ligase), các mẫu dò (probe), vector và tế bào vật chủ. Tế bào vật chủ thường được sử dụng là tế bào vi khuẩn *E.coli* và vector thường được sử dụng là plasmid.

Việc tách chiết một gene riêng lẻ là rất phức tạp bởi vì DNA mẫu chứa hàng triệu gene. Do đó để thực hiện điều này, DNA mẫu chứa gene mong muốn và vector plasmid phải được cắt bởi cùng một loại enzyme hạn chế. Các đoạn DNA mẫu sau khi được cắt có mang gene mong muốn sẽ được xen vào vector plasmid và các đầu của các đoạn DNA mẫu này và các đầu của vector plasmid sẽ được nối với nhau nhờ ligase tạo thành plasmid tái tổ hợp. Sau đó các plasmid tái tổ hợp được biến nạp vào các tế bào vi khuẩn *E.coli* và các tế bào vi khuẩn tiến hành sinh trưởng. Vào thời điểm này, các tế bào vi khuẩn chứa plasmid mang gene mong muốn sẽ được phát hiện bằng mẫu dò. Chúng được nuôi cấy trong môi trường thích hợp để sinh trưởng phát triển tạo ra hàng triệu bản sao của vector chứa

gene này. Vector chứa gene này sẽ được tách ra khỏi tế bào vi khuẩn và gene mong muốn sẽ được tách chiết. Phương pháp này có thể tạo ra hàng triệu bản sao của gene mong muốn mà không bị nhiễm bởi các gene khác. Gene chuyển có nguồn gốc từ genome này chứa các đoạn exon mã hóa và các đoạn intron không mã hóa .

Người ta cũng có thể phân lập được gene mong muốn từ sản phẩm biểu hiện của nó như mRNA hoặc protein. Từ mRNA dưới tác động của enzyme sao chép ngược sẽ tổng hợp ra DNA bổ sung mạch đơn (ss cDNA), tiếp theo là DNA bổ sung mạch kép (ds cDNA). DNA bổ sung (cDNA) này khác với DNA gốc là không chứa các intron mà chỉ bao gồm các exon. Hoặc từ sản phẩm protein, có thể suy ra trình tự nucleotide của gene cấu trúc trên cơ sở trình tự các acid amin trong phân tử protein. Sau đó có thể thiết kế cặp mồi (primer) để dò tìm đoạn gene mong muốn.

Gene cấu trúc muốn hoạt động để biểu hiện ra protein mà nó qui định trong hệ thống tế bào nhất định thì phải có promoter thích hợp với hệ thống mà nó hoạt động. Promoter ở tế bào động vật có nguồn gốc hoặc từ động vật như methallothionein (MT), thymidine kinase, β -actin, amylase, insulin, β -lactoglobulin, adipocyte P2 ... hoặc từ virus động vật như Simian virus (SV40), Rous sarcoma virus...

6.3.2. Tạo cơ sở vật liệu biến nạp gene

Ở động vật có vú thì giai đoạn biến nạp gene thích hợp nhất là trứng ở giai đoạn tiền nhân (pronucleus), giai đoạn mà nhân của tinh trùng và trứng chưa dung hợp (fusion) với nhau. Ở giai đoạn này tổ hợp gene lạ có cơ hội xâm nhập vào genome của động vật nhờ sự tái tổ hợp DNA của tinh trùng và của trứng. Do tế bào phôi chưa phân chia và phân hóa nên tổ hợp gene lạ được biến nạp vào giai đoạn này sẽ có mặt ở tất cả các tế bào kể cả tế bào sinh sản của động vật trưởng thành sau này.

Đối với động vật có vú, trứng chín được thu nhận bằng phương pháp sử dụng kích dục tố theo chương trình đã được xây dựng cho mỗi loài hoặc bằng phương pháp nuôi cấy trứng trong ống nghiệm. Sau đó thụ tinh nhân tạo để tạo ra trứng tiền nhân.

6.3.3. Chuyển gene vào động vật

Việc đặt được mục đích của việc tạo ra động vật chuyển gene đòi hỏi sự phát triển của các phương pháp có hiệu quả để chuyển gene mong muốn vào phôi. Hiện nay có nhiều phương pháp chuyển gene khác nhau đang được sử dụng để tạo động vật chuyển gene: vi tiêm, chuyển gene bằng cách sử dụng các tế bào gốc phôi, chuyển gene bằng cách sử dụng vector virus...

6.3.4. Nuôi cấy phôi trong ống nghiệm

Tế bào trứng tiền nhân sau khi vi tiêm được nuôi cấy trong ống nghiệm để phát triển đến giai đoạn phôi dâu hoặc túi phôi. Ở giai đoạn này màng trong (pellucida) bị bong ra và phôi có thể làm tổ được ở dạ con. Những phôi này được cấy chuyển vào con nhận đã được gây chửa giả (pseudopregnant) để phát triển thành cá thể con.

6.3.5. Kiểm tra động vật được sinh ra từ phôi chuyển gene

Để khẳng định động vật có được chuyển gene lạ vào hay không, người ta phải kiểm tra xem gene lạ có xâm nhập được vào bộ máy di truyền của động vật trưởng thành hay không và sản phẩm của gene lạ có được tổng hợp ra hay không.

Đối với vấn đề thứ nhất người ta sử dụng phương pháp lai phân tử trên pha rắn (Southern blot, Northern blot...) hoặc PCR. Đối với vấn đề thứ hai, để phát hiện protein do gene lạ tổng hợp ra người ta sử dụng phương pháp Western blot, ELISA hoặc kỹ thuật miễn dịch phóng xạ (RIA) để phát hiện protein lạ trong động vật.

Theo dõi các thế hệ sau của động vật chuyển gene (F_1 , F_2 , F_3 , ...) để xác định gene lạ có di truyền hay không.

6.4. *Gia súc chuyển gene, nhân bản vô tính động vật và một vài thành tựu mới*

6.4.1. Gia súc chuyển gene

Gia súc chuyển gene hormone sinh trưởng

Trong hướng này người ta tập trung chủ yếu vào việc đưa tổ hợp bao gồm gene cấu trúc của hormone sinh trưởng và promotor methallothionein vào động vật. Cho đến nay người ta đã đưa thành công gene này vào thỏ, lợn và cừu. Kết quả là những động vật chuyển gene này không to lên như ở chuột. Tuy nhiên ở Đức, trong trường hợp ở lợn chuyển gene hormone sinh trưởng lượng mỡ giảm đi đáng kể (giảm từ 28,55mm xuống 0,7mm) và hiệu quả sử dụng thức ăn cao hơn. Ở Australia, lợn chuyển gene hormon sinh trưởng có tốc độ lớn nhanh hơn đối chứng là 17%, hiệu suất sử dụng thức ăn cao hơn 30%. Các nhà khoa học ở Granada (Houston, Texas) đã tạo ra được bò chuyển gene tiếp nhận estrogene người (human estrogene receptor) có tốc độ lớn nhanh. Các nhà khoa học ở đây đã thành công trong việc đưa gene hormone sinh trưởng giống insulin bò (bovine insulin like growth hormone) vào gia súc để tạo ra giống gia súc thịt không dính mỡ.

Gia súc chuyển gene cung cấp các được phẩm chữa bệnh

Như chúng ta đã biết, nhiều protein được phẩm quý không thể sản xuất qua con đường vi sinh hoặc sinh vật bậc thấp, do những sinh vật này không có hệ enzyme để tạo ra những protein có cấu tạo phức tạp. Ý định sử dụng tuyến sữa của động vật bậc cao để sản xuất ra protein quý lần đầu tiên được Clark (1987) đề xuất. Nội dung của kỹ thuật này là gắn gene cấu trúc với β -lactoglobulin (là promoter điều khiển sự biểu hiện của gene ở tuyến sữa). Khi đưa tổ hợp có chứa promoter β -lactoglobulin vào cừu, chuột, Clark thấy chúng biểu hiện rất cao ở tuyến sữa (Hình II.3.).

Cho đến nay rất nhiều protein được phẩm quý đã và đang được nghiên cứu để sản xuất qua tuyến sữa của động vật như:

- α_1 - antitripsin và yếu tố làm đông máu IX (Blood Clotting Factor IX) của người đã được tiết ra trong sữa cừu với nồng độ là 25mg/ml.
- Chất hoạt hóa plasminogene mô người (Human Tissue Plasminogene Activator) làm tăng đông máu đã được tiết ra ở sữa dê.
- Gene urokinase người đã được đưa thành công vào lợn và tiết ra ở tuyến sữa nhờ gene khởi động alpha-casein bò.
- Protein C người được tạo ra từ sữa lợn chuyển gene...

Gia súc chuyển gene kháng bệnh

Đến nay người ta đã biết được một số gene có khả năng kháng bệnh của vật nuôi. Tiêm gene Mx vào lợn để tạo ra được giống lợn miễn dịch với bệnh cúm. Người ta cũng đã thành công trong việc tiêm gene IgA vào lợn, cừu, mở ra khả năng tạo được các giống vật nuôi miễn dịch được với nhiều bệnh...

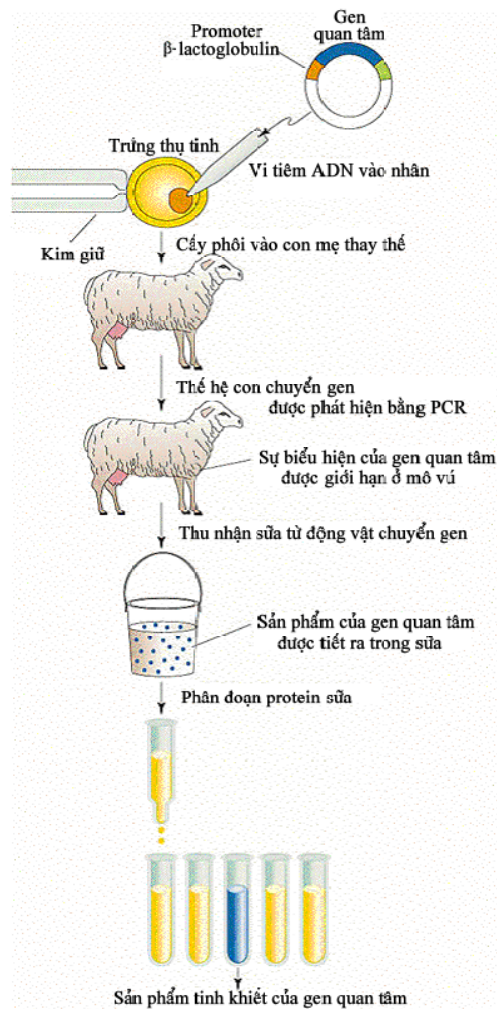
Gia súc chuyển gene cho năng suất cao và chất lượng sản phẩm tốt

Trong hướng này nổi bật là những nghiên cứu nâng cao chất lượng sữa bò, sữa cừu bằng cách chuyển gene lactose vào các đối tượng quan tâm. Sự biểu hiện của gene này được điều khiển bởi promoter của tuyến sữa. Trong sữa của những động vật chuyển gene này, đường lactose bị thủy phân thành đường galactose và đường glucose. Do vậy những người không quen uống sữa cũng có thể sử dụng được sữa này mà không cần quá trình lên men.

Hiện tại người ta chú ý tới việc đưa một số gene của vi sinh vật vào cơ thể động vật. Tiến bộ nổi bật nhất trong hướng này là đưa gene mã hóa enzyme chịu trách nhiệm tổng hợp axit amin cystein vào cừu. Cystein là acid amin được tổng hợp từ serine nhờ hai enzyme là: serine transacetylase và O-acetylserine sulfahydrylase. Hai gene chịu trách nhiệm tổng hợp hai enzyme này là Cys E và Cys K. Cystein là acid amin cơ bản rất quan trọng trong sự phát triển của lông. Những cố gắng để bổ

sung acid amin này vào thức ăn đều không đạt kết quả do chúng bị phân hủy trong ống tiêu hóa của động vật. Bởi vậy, nếu đưa được gene tổng hợp cystein vào cơ thể động vật sẽ làm tăng năng suất lông lên rất nhiều.

Các nhà khoa học Australia đã dùng gene tổng hợp cystein có nguồn gốc từ vi sinh vật (*E.coli* và *S. typhimurium*) để đưa vào cừu. Hai gene Cys E và Cys K phân lập từ hai chủng vi sinh được gắn với nhau thành một đoạn DNA, sau đó được gắn tiếp với promoter methallothionein. Ở chuột được chuyển tổ hợp gene này thì ở hầu hết các cơ quan đều có mặt tổ



Hình II.4. Sơ đồ quy trình sản xuất protein thông qua tuyến sữa

hợp và lượng lông tăng lên rất nhiều. Sự biểu hiện ở chuột và cừu giống nhau nên trong tương lai không xa sẽ tạo ra được giống cừu chuyển gene cystein với năng suất lông tăng lên rất nhiều lần.

Gia súc chuyển gene cung cấp các phủ tạng ghép thích hợp phục vụ y học

Yếu tố căn bản trong việc tạo ra vật nuôi chuyển gene để cung cấp phủ tạng thích hợp cấy ghép cho các bệnh nhân là ngăn cản sự loại thải thể ghép nhờ sự hoạt hóa các nhân tố bổ sung thuộc hệ miễn dịch của người. Các nhà khoa học đã tạo ra lợn chuyển gene biểu hiện gene mã hóa các nhân tố ngăn cản sự bổ sung của người (human complement inhibitory factors) như nhân tố làm tăng nhanh sự phân hủy (decay-accelerating factor) (Rosengard, 1995). Mục tiêu này đang được tiếp tục nghiên cứu.

6.4.2. Nhân bản vô tính động vật và một vài thành tựu mới

Vào năm 1996, Wilmut, Campbell và cộng sự đã thành công trong việc nhân bản tạo ra chú cừu Dolly. Các nhà nghiên cứu đã sử dụng các loại tế bào cho nhân là tế bào đĩa phôi (9 ngày sau thụ tinh), tế bào thai (26 ngày sau thụ tinh) và tế bào tuyến vú của một cừu cái 6 năm tuổi đang ở giai đoạn 3 tháng cuối của thai kỳ. Giải biệt hóa bằng cách đưa nhân về trạng thái tĩnh, pha G0, G1 hay M: giảm tỉ lệ huyết thanh trong môi trường nuôi cấy (từ 10% xuống còn 0,5%). Khử nhân noãn bào, hoạt hóa noãn bào và dung hợp noãn bào với tế bào tuyến vú bằng xung điện. Và kết quả thu được là một phôi. Từ 227 phôi thu được bằng phương pháp này đã được đưa vào nuôi cấy ở vòi trứng đã được thắt lại của các cừu cái mất đen. Các phôi thu được ở giai đoạn phôi dâu hay phôi nang lại được chuyển vào tử cung của các cừu cái nhận khác. Sau 5 tháng, chỉ có 1 phôi phát triển thành cừu con Dolly bình thường. (Phần này xin xem thêm ở Chương XI: Công nghệ sinh học trong việc bảo tồn và phát triển nguồn gene quý hiếm. Về động vật, trang 205)

7. Vector virus sống trong tạo vaccine thú y tái tổ hợp

7.1. Virus đậu mùa tái tổ hợp

Virus đậu mùa là thành viên của họ poxvirus. DNA genome của virus này ở dạng sợi kép có kích thước khoảng 187 kb và mã hóa 200 protein khác nhau. DNA virus đậu mùa tái bản trong tế bào chất của tế bào bị nhiễm. Sự tái bản có thể xảy ra trong tế bào chất hơn là ở trong nhân bởi vì DNA virus đậu mùa mã hóa các gene DNA polymerase, ARN polymerase và các enzyme xúc tác cho quá trình tạo mũ cap, methyl hóa, gắn đuôi polyA vào mARN. Virus này có thể xâm nhiễm vào các động vật có xương sống và động vật không có xương sống.

Virus đậu mùa có dây vật chủ lớn, biểu thị đặc điểm tốt ở mức phân tử và thường là virus ôn hòa. Vì vậy nó là một vector vaccine. Các đặc

tính quan trọng của một vector vaccine là phát tán và biểu hiện các gene đã được tạo dòng mã hóa các kháng nguyên mà dẫn đến các kháng thể trung hoà chống lại các tác nhân gây bệnh. Tuy nhiên genome virus đậu mùa là rất lớn và thiếu các vị trí cắt hạn chế, vì vậy nó không thể xen thêm vào các đoạn DNA một cách trực tiếp. Điều cần thiết là các gene đối với các tác nhân đặc hiệu phải được đưa vào genome virus bằng tái tổ hợp tương đồng (homologous recombination) *in vitro*.

Một số gene kháng nguyên đã được xen thành công vào genome virus đậu mùa và sau đó đã biểu hiện ở các tế bào động vật nuôi cấy. Các kháng nguyên này bao gồm protein G của virus dại, kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B, protein bề mặt của virus Sindbis, protein HA và NP của virus cúm, protein N và G của virus viêm miệng và glycoprotein của virus herpes simplex.

Sự sử dụng các vaccine vector được tạo ra từ virus đậu mùa cho phép các cá thể đã chủng ngừa có khả năng chống lại một số bệnh khác. Kết quả này có được là do sử dụng một virus đậu mùa tái tổ hợp mang các gene đã tạo dòng mã hóa một số kháng nguyên khác nhau.

So với các loại vaccine khác, vaccine virus tái tổ hợp sống có một số đặc điểm thuận lợi sau đây:

- Virus này có thể biểu hiện các kháng nguyên đáng tin cậy ở một dạng gần giống với sự xâm nhiễm tự nhiên.

- Virus đậu mùa có thể tái bản ở trong vật chủ, do đó khuếch đại lượng kháng nguyên hoạt hóa sự giải phóng kháng thể từ các tế bào B và kích thích sự sản sinh các tế bào T.

- Sự xen các gene kháng nguyên vào một hoặc nhiều vị trí trong genome virus đậu mùa làm giảm nhiều hơn tính độc của nó.

Trong khi nhiều công trình nghiên cứu phát triển vaccine vector virus sống đã được tiến hành với virus đậu mùa, các virus khác như adenovirus, varicella-zoster virus cũng đang được nghiên cứu như là các thể truyền vaccine có tiềm lực.

7.2. Adenovirus

Adenovirus gây ra nhiều bệnh khác nhau cho người và động vật. Chúng đang được nghiên cứu để làm vector biểu hiện các protein kháng nguyên để sản xuất các vaccine virus tái tổ hợp để chống lại các bệnh tật ở con người và động vật. DNA genome của adenovirus có kích thước 36 kb, chứa hai vùng để xen DNA ngoại lai vào: vùng E3 và vùng E1. Vùng E3 không có khả năng can thiệp để virus nhân lên trong tế bào nuôi cấy và đa số là hay bị mất. DNA ngoại lai được xen vào một plasmid vi khuẩn và sau đó được cài vào genome adenovirus. Adenovirus này được lây nhiễm vào tế bào động vật có vú. Adenovirus có những thuận lợi là dễ dàng nhân

lên trong tế bào bị lây nhiễm và genome của nó rất bền. Mặt khác mức độ biểu hiện của gene kháng nguyên ngoại lai rất cao. Hơn nữa các protein kháng nguyên còn có thể cải biến sau quá trình phiên mã.

8. Công nghệ sinh học với việc nuôi trồng thủy sản

Nhu cầu về lương thực, thực phẩm tăng lên cùng với đà tăng dân số, nạn đói protein trở nên trầm trọng. Mặt nước, đặc biệt là biển được xem là một trong những nơi có khả năng giải quyết khó khăn đó, trong đó thủy sản góp phần cung cấp nguồn protein, lipid, glucid,... cho con người. Do khai thác thủy sản quá mức, hoạt động phát triển kinh tế, đô thị hóa, phát triển công nghiệp, phá rừng,... đã gây ô nhiễm và phá vỡ các hệ sinh thái: rạn san hô, thảm rong tảo, rừng ngập mặn, ô nhiễm nguồn nước... làm mất nơi cư trú và bãi đẻ của nhiều loài thủy sản, sản lượng tự nhiên có chiều hướng giảm sút. Theo FAO sản lượng khai thác thủy sản trên thế giới trong tương lai chỉ giữ ở mức hiện nay (85-90 triệu tấn/năm). Trước tình hình đó, việc nuôi trồng thủy sản là một giải pháp nhằm bổ sung và tăng cường sản lượng thủy sản trong thời gian tới.

Ở nước ta, việc nuôi trồng thủy sản đã và đang trở thành một hướng trọng điểm. Việc ứng dụng các thành tựu CNSH là một biện pháp nhằm tạo giống mới, nâng cao năng suất và chất lượng sản phẩm.

8.1. Mặt nước nuôi trồng thủy sản

Mặt nước trên thế giới chiếm một diện tích khá lớn: 360 triệu km² trong số 510 triệu km² của toàn lục địa. Mà ở đâu có nước thì ở đó có các sinh vật sinh sống. Từ các ao hồ, đầm phá, sông suối, mặt biển, nước ngọt, nước lợ hay nước mặn, qua quá trình phát triển cá thể sinh vật thích nghi với môi trường và đã sinh trưởng phát triển một cách bình thường trong điều kiện sống đó. Do đó, thực vật ở nước đã dùng carbon để đồng hóa trong khí quyển là $15,3.10^{10}$ tấn, trong lúc đó toàn bộ thực vật hấp thụ carbon cũng chỉ $17,4.10^{10}$ tấn. Nhân dân thế giới cũng biết sử dụng mặt nước khổng lồ đó để nuôi trồng thủy sản.

Năm 1995, Việt Nam được xếp thứ 13 về sử dụng mặt nước nuôi trồng thủy sản. Hiện nay được xếp thứ 5 trong khu vực Thái Bình Dương và diện tích nuôi trồng trong năm 2000 lên xấp xỉ 135.000 ha. Diện tích nước ngọt tập trung nhiều nhất ở Nam Bộ (55,07%), Bắc Bộ chiếm 24,15%, Trung Bộ là 20,78%. Thành phần các loài cá nuôi cũng rất phong phú, riêng cá nội địa có 28 loài, cá nhập nội là 11 loài với 7 dòng cá khác nhau. (thông tin từ bộ Thủy sản năm 1996). Nhiều đối tượng khác như giáp xác (tôm, cua,...) hai mảnh vỏ, ốc, ba ba, đồi mồi, rong tảo... cũng được đưa vào nuôi ở những qui mô khác nhau.

8.2. Công nghệ sinh học trong sản xuất giống thủy sản

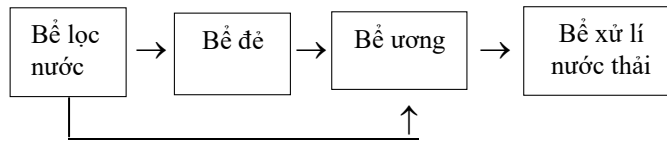
Sản xuất giống nhân tạo trở thành nhu cầu bức thiết trong nuôi trồng thủy sản. Để phát triển mở rộng nuôi các đối tượng có hiệu quả, vấn đề giống trở thành một mắt xích quan trọng. Các thành tựu về sinh sản nhân tạo trên các đối tượng thủy sản ở các nước khác nhau trên thế giới cũng như ở Việt Nam là rất to lớn. Từ khi các nhà khoa học nước Nga cho sinh sản nhân tạo thành công trên cá đã mở ra triển vọng tạo nguồn giống nhân tạo phục vụ vào việc nuôi trồng ngày càng mở rộng khắp nơi trên thế giới. Ở Hawaii, Mỹ từ năm 1976, các nhà nuôi trồng đã cho sinh sản nhân tạo trên một số đối tượng cá biển. Ở một số nước như Nhật Bản, Nga, Mỹ, Canada ứng dụng tính di cư hai chiều, cho sinh sản nhân tạo trên cá hồi, giống được thả lại tự nhiên, sau đó cá lớn quay vào đất liền và tổ chức đánh bắt. Hình thức này cũng được áp dụng đối với cá chình là đối tượng cá quý hiếm, lúc trưởng thành sống ở nước ngọt, khi đẻ di cư ra biển. Ở Nga và Iran cũng cho sinh sản trên cá tầm, đưa vào thả tự nhiên và khai thác khi chúng lớn lên. Trong khi đó ở Na Uy là nước sản xuất giống cá hồi phục vụ nuôi ở qui mô công nghiệp bằng những lồng ở biển, năm 1995 sản lượng đã đạt 220.000 tấn, giá trị 1 tỉ USD. Trung Quốc là nước có nhiều loài cá nước ngọt như: cá trắm đen, trắm cỏ, mè hoa, cá chép,... cho sinh sản nhân tạo thu được một số lượng lớn cá giống, phục vụ nghề nuôi rất phát triển. Ở Nhật Bản, các đối tượng tôm he, trai ngọc...được sản xuất giống phục vụ cho việc nuôi. Ở khu vực Đông Nam Á, tập trung nghiên cứu nhiều đối tượng cá nước ngọt, cho sinh sản nhân tạo đã đem lại những kết quả khả quan. Riêng Thái Lan, sản lượng cá nước ngọt từ nuôi trồng năm 1993 là 161.600 tấn, nuôi 3 loài chính là cá rô, cá trê, cá mè vinh. Ở Philippines, cho sinh sản nhân tạo thành công ở nhiều đối tượng nuôi như cá trắm, cá mè, đặc biệt là cá măng biển được sinh sản nhân tạo đưa vào nuôi và đạt sản lượng lớn.

Ở Việt Nam việc cho sinh sản nhân tạo thành công trên cá mè hoa từ năm 1963, đã mở ra một triển vọng trong việc sinh sản nhân tạo trên cá nước ngọt. Tiếp theo những năm 1967-1970, về cơ bản ở nước ta đã sinh sản thành công hầu hết các giống cá nuôi, chủ yếu bao gồm cá địa phương và cá nhập nội. Năm 1996, cả nước ta đã có 375 trại giống, hàng năm sản xuất 4-5 tỉ cá bột bằng phương pháp sử dụng hormone HCG, hypophyse và ương được 800-900 triệu cá giống. Từ năm 1990-1998, ở Nam Bộ đã cho đẻ thành công cá tra, cá ba sa, cá bống tượng, cá trê lai, cá rô phi, tôm càng xanh. Ngoài ra chúng ta còn cho sinh sản nhân tạo thành công ở nhiều đối tượng nước ngọt có giá trị khác như ba ba, ếch. Hàng năm cả nước ta sản xuất hàng trăm triệu con giống thuộc đối tượng thủy sản nước ngọt đưa vào phục vụ cho nhân dân.

Việc tiếp tục đa dạng hóa các đối tượng nuôi để đưa vào nuôi, tận dụng các mặt nước, chúng ta đã cho sinh sản nhân tạo thành công nhiều đối tượng nước mặn. Việc cho đẻ thành công đối tượng tôm sú (*Penaeus monodon*) và đưa vào nuôi ở qui mô cả nước, tiếp theo đã thành công phương pháp cắt mắt và cấy tinh làm cho hiệu quả được nâng cao. Sau đó nhiều đối tượng nuôi nước lợ, nước mặn khác cũng cho đẻ thành công như cá chẽm, cá bớp, ốc hương, điệp quạt, trai ngọc, cá ngựa, bào ngư, hải sâm, v.v.

Việc hiểu biết về sự phân bố, đặc điểm sinh học, sinh thái của chúng đã cho phép chúng ta tiến hành sinh sản thành công và ương nuôi giai đoạn ấu trùng thành giống với tỉ lệ sống cao và có chất lượng tốt đã mở rộng thành qui mô cả nước. Ví dụ: tôm sú: cả nước có trên 3000 trại cho đẻ từ bắc đến nam, riêng Khánh Hòa đã có đến 1000 trại. Qui trình cho đẻ trên từng đối tượng cũng khác nhau. Chẳng hạn, đối với cá, người ta theo dõi trên các giai đoạn phát triển của buồng trứng của cá cái và tinh sào của cá đực, trong giai đoạn này có thể tiêm hormone sinh dục để kích thích. Sau khi cho thụ tinh xong, người ta cho vào trong bể ấp, lúc này bắt đầu theo dõi quá trình phân chia và tỉ lệ nở của trứng, quá trình này phụ thuộc rất nhiều vào kĩ thuật cũng như kinh nghiệm. Trứng nở và trải qua một số giai đoạn. Cá bột khi đến giai đoạn dinh dưỡng, người ta cho chúng ăn các loại thức ăn phù hợp với lứa tuổi của cá bột để có tỉ lệ sống cao. Các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, pH,...cũng có vai trò quan trọng không kém. Đối với giáp xác, con cái bắt trong tự nhiên đã ôm trứng. Cho con đực và con cái vào chung một bể có kích thước thích hợp, nếu con cái trứng đã chín muối, người ta kích thích cho chúng đẻ. Sau khi thụ tinh, trứng đưa sang bể ấp, ở đây trứng phân chia. Trải qua một số giai đoạn biến thái và đến giai đoạn giống mất khoảng 15 ngày, tùy thuộc vào từng giai đoạn, người ta cho ăn tảo, *Artemia*...

Sau đây là mô hình của Thái Lan. tôm mẹ được mua từ các nguồn cung cấp giống, sau đó, cho vào bể từ 50-60 con cái và 20-50 con đực trong bể xi măng đường kính rộng 4 m (cho ăn bằng polychaete-*Nercis spp* và mực ống), con cái mang trứng đưa sang những bể 500 lít bằng sợi thủy tinh, mỗi con cái một bể. Những con cái không có trứng được kích cho đẻ bằng phương pháp cắt mắt. Một con đẻ khoảng 800.000-1.200.000 ấu trùng. Nước trong các bể được kiểm tra chất lượng hàng ngày, các yếu tố kiểm tra là pH, độ mặn, nhiệt độ, ammonium (NH_4^+). Các bể đều được sục khí. Sau khi thụ tinh, ấu trùng tách khỏi vỏ trứng và lắng xuống. Dùng ống hút ấu trùng vào bể ương có thể tích 4m^3 , giai đoạn đầu zoea – mysis cho ăn tảo *Chaetoceros* trong 4 ngày, giai đoạn PI.4-PI.5 (post larvae) cho ăn *Artemia*. Tôm nuôi từ 15-20 ngày, xuất bể để bán.



Mô hình ương Tôm sú

Ngoài việc cho đẻ thành công các đối tượng nuôi kinh tế, các nghiên cứu những phép lai kinh tế để ứng dụng tính ưu thế lai ở thế hệ F_1 cũng được áp dụng. Năm 1979, Viện Nuôi trồng Thủy sản 1 cho lai kinh tế giữa cá chép trắng Việt Nam với cá chép lai nhập nội, cả lai ngược lẫn lai xuôi đều cho ưu thế lai, tỉ lệ sống của thế hệ F_1 đạt rất cao từ 44-80% (trung bình là 62%), trong khi cá chép trắng tỉ lệ sống trung bình là 50,35%. Ưu thế lai lớn nhanh hơn hẳn bố mẹ từ 180-230%. Các năm sau, các đối tượng khác cũng được áp dụng lai kinh tế như cá rô Phi loài *Oreochromis mosambicus* với loài *O. niloticus*, cá trê loài *Clarias gariepinus* với loài *C. fuscus* và loài *Clarias gariepinus* với loài *C. macrocephalus*, cá mè trắng Việt Nam với cá mè trắng Hoa Nam (Trung Quốc)...

Ngoài các loại cá nuôi, người ta cũng chú trọng đến các loài cá cảnh nuôi trong các aquarium. Theo bộ Thủy sản (1996), ở nước ta có đến 83 loài cá cảnh đã được nuôi. 33 loài cá khác có màu sắc đẹp chưa được đưa vào nuôi và 35 loài nhập nội có nguồn gốc khác nhau từ châu Mỹ, châu Phi, Ấn Độ, Malaysia và Đông Nam Á. Tổng số loài cá nước ngọt dùng làm cá cảnh lên đến 151 loài. Nhiều loài trong số đó đã cho sinh sản thành công. Nhiều địa phương như thành phố Hà Nội, thành phố Hồ Chí Minh có nhiều gia đình nuôi và kinh doanh cá cảnh. Trong mấy năm gần đây, nhiều loài cá biển cũng được đưa vào nuôi trong các aquarium phục vụ khách du lịch, nhất là các rạn San hô có màu đẹp (có đến trên 1000 loài). Nhiều loài trong đó bước đầu cho sinh sản nhân tạo, như các loài của giống cá khoang cổ là loài sống cộng sinh với hải quỳ.

Việc bước đầu ứng dụng các thành tựu công nghệ sinh học hiện đại vào lĩnh vực sinh sản nhân tạo có một số kết quả. Việc ứng dụng kỹ thuật di truyền bước đầu được thử nghiệm trên cá hồi (Salmon) bằng phương pháp chuyển gene sinh trưởng người cho ta thấy cá nuôi sau 4 tháng có sức tăng trưởng nhanh hơn cá đối chứng. Ở Việt Nam Nguyễn Văn Cường và cộng sự (1999) nghiên cứu phương pháp chuyển gene hormone sinh trưởng người trên cá vàng và cá chạch cũng cho kết quả tốt, mở ra triển vọng ứng dụng cho tạo giống thủy sản trong tương lai.

Về việc nghiên cứu công nghệ sinh học trong nuôi trồng các loài rong tảo.

Sau khi sử dụng các dịch huyền phù loài tảo lục đơn bào *Chlorella*, Emerson R., Lewis C.M., 1941; Dulton H.J., Manning W.M., 1941 đã phát hiện thấy có một số vi tảo có thể tăng sinh khối của mình trong môi trường với số lượng 1-2 triệu tế bào/ml chất lỏng, sau vài giờ mật độ huyền phù đạt tới 50-100 triệu tế bào/ml huyền phù, sinh khối này chứa tới 50% protein thô. Đầu thập kỉ 40 của thế kỉ trước nhiều thực nghiệm nuôi cấy vi tảo ở qui mô lớn đã được triển khai ở Đức.

Năm 1953, các nhà nghiên cứu Đức ở trạm Kohlensffbiologische Froschungstation (vùng Essen CHLB Đức) đã nghiên cứu khả năng dùng CO₂ phụ phẩm của nhà máy vùng Rubirdder nuôi trồng tảo *Chlorella* và một loài tảo lục đơn bào khác là *Scenedesmus acutus*. Đầu năm 1970, chính phủ Đức mở rộng việc hỗ trợ nuôi trồng tảo ở nhiều nước đang phát triển như Ấn Độ, Péru, Thái Lan,...

Đầu thập kỉ 60 của thế kỉ XX, việc nuôi trồng tảo *Spirulina*, một loài tảo cổ định N₂ đã lôi cuốn sự quan tâm của các nhà khoa học với công trình nghiên cứu tiên phong của Clement G. và cộng sự. Năm 1975, Oswald W. J. và các cộng sự ở trường Đại học California đã công bố các kết quả nuôi trồng tảo qui mô lớn vừa để thu nhận sinh khối vừa để xử lí nước thải. Sau này có nhiều nước như Mexico, Nhật Bản, Thái Lan, Pháp, Slovaki, và cả ở Việt Nam cũng đã tiến hành nghiên cứu và nuôi trồng tảo *Spirulins maxima* và *S. platensis*.

Các nghiên cứu về tảo lam cổ định đậm như *Anabaena sianensis*, *Calothrix spp.*, *Hapalosiphon spp.*, đã được tiến hành ở Ấn Độ, Myanmar, Trung Quốc, Philippines, Thái Lan, Việt Nam và đã đưa vào ứng dụng trong sản xuất.

Các nhà khoa học Israel ở phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Tảo đã đặt ra một chương trình nghiên cứu nhằm phân lập các loài tảo lam sống tự do hay cộng sinh trong ruộng lúa, nghiên cứu điều kiện sinh trưởng tối ưu của chúng.

Về tảo lớn, nhiều nước trên thế giới hiện nay đang nuôi trồng và sản xuất qui mô lớn để dùng trong nhiều lĩnh vực công nghiệp và thực phẩm như rong mơ (*Sargassum*), các loài agarophyte, rong sụn (*Kappaphycus alvarezii* Doly). Các nhà khoa học đã nghiên cứu sâu về đặc điểm sinh lí sinh hóa để xác định thời vụ nuôi trồng và phương pháp chế biến thích hợp với các vùng sinh thái khác nhau trong thủy vực. Có những nghiên cứu sâu để nhân giống bằng bào tử hoặc tạo những loài mới như tách protoplast để dung hợp, tách tế bào từ *Gracilaria* nhằm tìm ra những loài agarophyte vừa có năng suất cao vừa có phẩm chất tốt.

8.3. Công nghệ sinh học trong kỹ thuật nuôi trồng thủy sản

Để nâng cao sản lượng trong nuôi trồng thủy sản, tùy theo từng đối tượng có qui trình và hình thức nuôi thích hợp. Nhìn chung có 4 hình thức nuôi cơ bản sau:

- Nuôi quảng canh
- Nuôi quảng canh cải tiến
- Nuôi bán thâm canh
- Nuôi thâm canh

Việc ứng dụng sự hiểu biết vào các hình thức nuôi trên là quan trọng nhằm đem lại hiệu quả cao, chi phí thấp, tận dụng được điều kiện tự nhiên và xã hội của từng quốc gia và từng địa phương. Tùy thuộc vào hoàn cảnh của địa phương và trình độ của người nuôi mà có các mô hình nuôi khác nhau. Ví dụ: ở Khánh Hòa hầu hết ứng dụng hình thức thâm canh và mô hình nuôi tôm khép kín, còn ở miền Nam thì dùng nhiều hình thức. Nuôi trồng thủy sản còn kết hợp với chăn nuôi, lâm nghiệp, làm nông nghiệp, hình thành các mô hình VAC, VACR, v.v. Các mô hình này đem lại hiệu quả khá tốt. Ngoài ra có các mô hình khác như nuôi kết hợp lúa-cá, lúa-tôm hoặc tôm-muối,... Gần đây hình thức nuôi tôm trên triều bằng cách xây dựng các ao nuôi trên các bãi ngang, nuôi tôm trên cát,... cũng đem lại hiệu quả như ở Ninh Thuận, Quảng Ngãi, Thừa Thiên-Huế, Quảng Trị, Hà Tĩnh,... Việc tận dụng các hồ ao sông suối nước ngọt, các hồ treo nước đầu nguồn để thả cá hoặc nuôi bằng bè đã đem lại hiệu quả lớn. Ở các thủy vực nước lợ và mặn cũng được triển khai để nuôi trồng như tôm sú, tôm hùm, vẹm xanh, ốc hương, ngọc trai, rau câu thối, rau câu cước, rong sụn.... Các đối tượng này nuôi riêng lẻ có và nuôi kết hợp có để sử dụng triệt để mặt nước và để xử lý chất thải trong môi trường nuôi.

8.4. Ứng dụng công nghệ sinh học trong sản xuất thức ăn nuôi trồng thủy sản

Sản xuất thức ăn là giải quyết khâu quan trọng trong nuôi trồng thủy sản ở qui mô công nghiệp, phục vụ trong sinh sản giống nhân tạo. Người ta đã tìm ra nguồn thức ăn từ giai đoạn bào xác (cyst) của tảo, *Artemia*, *Rotifer* ... nhằm chủ động được nguồn thức ăn chủ động cho từng giai đoạn phát triển ấu trùng vừa tiết kiệm được thức ăn lại đem lại hiệu quả cao. Ngoài ra, các giai đoạn ấu thể naupli của nhiều loài thực vật và động vật phù du cũng được sản xuất làm thức ăn cho ấu thể tôm, cá, ... Trong sản xuất thức ăn nhân tạo, người ta sản xuất *Chaetoceros spp.* làm thức ăn cho Tôm sú ở giai đoạn mysis đến post larvac 4 ngày tuổi (PL 4) bằng môi trường KNO_3 100 mg/m³, Na_2HPO_4 10 mg/m³, Na_2SiO_3 5 g/m³, FeCl_2 2,5 g/m³. Hiện nay nhiều cơ sở nghiên cứu ở nước ta đều có khả năng sản xuất sinh khối các loại tảo, Rotifer như ở Viện Hải Dương học

Nha Trang, Đại học Thủy sản Nha Trang, Trung tâm Nghiên cứu Thủy sản III dùng làm thức ăn trong nghiên cứu sản xuất giống. Hầu hết các trại sinh sản nhân tạo tôm sú đều sử dụng tảo và *Artemia* làm thức ăn.

Để tạo dòng cá rô phi đơn tính với tỉ lệ đực cao, người ta sử dụng chất kích dục methyltestosterone với thức ăn có hàm lượng đậm cao. Ở một số địa phương còn nuôi trồng ở qui mô công nghiệp làm thức ăn phục vụ cho việc nuôi một số đối tượng như ba ba, cá chình,...

Việc sản xuất thức dạng viên hỗn hợp trong vài năm gần đây phục vụ cho nuôi trồng ở qui mô công nghiệp, đảm bảo về thành phần dinh dưỡng, độ tan trong nước đã được mở rộng, nhiều công ti liên doanh đầu tư dây chuyền sản xuất thức ăn phục vụ thủy sản như CP group của Thái Lan, con cò... Ngày 24/3/1997 Nhà nước ta đã ra quyết định số 138 về tiêu chuẩn sản xuất thức ăn cho đối tượng thủy sản dạng viên. Thành phần thức ăn này phải đảm bảo các chất dinh dưỡng như acid amin, vitamin, các chất khoáng,... Nhân dân ta cũng biết chế biến các loại thức ăn dạng hỗn hợp bằng các nguồn nguyên liệu sẵn có như cám gạo, đậu nành, cá bột, nghêu, sò ... nuôi cho nhiều đối tượng có giá trị kinh tế như cá ba sa, cá tra, tôm càng xanh, tôm hùm... Chẳng hạn, tôm càng xanh cho ăn loại thức ăn gồm cá tạp 199 kg, thức ăn cho gà con cô đặc 60 kg, đậu nành 15 kg, hỗn hợp vitamin và khoáng chất 0,5 kg. Để tạo màu sắc cho sản phẩm sau thu hoạch có màu sắc tươi, đẹp, nhằm nâng cao giá trị sản phẩm, người ta còn cho ăn các loại thức ăn có chứa sắc tố. Theo Hiệp hội Đậu tương Mỹ, cho tôm sú ăn theo 7 chế độ khẩu phần sắc tố và chia làm 3 thời kì như sau: astaxine ở nồng độ 50, 100, 200 mg/g, β -carotene 50, 100, 200 mg/g và tảo *Dunaliella salina* 100 mg/10 g khẩu phần thức ăn.

8.5. Công nghệ sinh học trong phòng và điều trị bệnh các đối tượng thủy sản

Trong nuôi trồng thủy sản, các đối tượng nuôi thường hay nhiễm bệnh và có khi bị chết hàng loạt, làm thiệt hại rất lớn cho người nuôi. Để khắc phục tình trạng này, trước đây người ta dùng các loại thuốc cho các đối tượng thủy sản. Người ta đã sử dụng các thuốc kháng sinh như: tetracycline, nhóm sulfonamide, quilonone, erythromycine, (Nguyễn Phước Tuyên, 2002), hoặc oxytetracycline, sulpha... được trộn vào thức ăn, cũng có thể thêm các loại vitamin để điều trị bệnh, đồng thời tăng sức đề kháng các đối tượng nuôi. Chẳng hạn, người ta sử dụng kết hợp oxytetracycline + sulpha để điều trị nhiễm *Areomonas hydrophilla* ở cá mú (bộ Thủy sản, 1996) hoặc ganamycine chữa bệnh đen mang ở tôm càng xanh. Theo Thái Bá Hồ (1998), một số thuốc chữa bệnh tôm được giới thiệu và sử dụng có hiệu quả trên một số bệnh. Tuy nhiên, sử dụng các loại kháng sinh khi chữa bệnh làm cho các đối tượng nuôi chậm lớn,

dùng quá liều sẽ gây dư thừa kháng sinh trong sản phẩm thu hoạch, làm giảm chất lượng và có thể gây ngộ độc cho người tiêu dùng. Để khắc phục tình trạng này, người ta dùng giải pháp sản xuất các loại vaccine phòng bệnh, hoặc ứng dụng các qui trình công nghệ sinh học để phòng bệnh. Gần đây bộ Thủy sản giới thiệu chế phẩm VIRUTO phòng bệnh đốm trắng ở tôm sú và một số loài tôm khác rất kết quả (theo VTV2). Yu Chen Chi (Đài Loan) đã phát triển một loại vaccine kết hợp bằng nguyên lí của chuỗi thực phẩm kết hợp với sự tái tổ hợp của công nghệ. Ông cấy vi khuẩn *E. coli* đã suy yếu để phát huy tác dụng lượng kháng thể đặc biệt tạo ra phản ứng miễn dịch. Kết quả này đã đem lại lợi ích cho ngư dân nuôi cá vùng châu Á, ước tính có thể đạt lợi nhuận khoảng 3 tỉ USD.

Trong chẩn đoán phát hiện bệnh sớm rất có ý nghĩa. Trong nuôi trồng thủy sản người ta ứng dụng công nghệ PCR là phản ứng tổng hợp dây chuyền nhờ polymerase do Karl Mullius và cộng sự phát minh năm 1985 đưa vào chẩn đoán phát hiện sự nhiễm bệnh, nhất là các loài thủy sản trước khi đưa vào nuôi thả. Kỹ thuật này cho phép tái tạo theo ý muốn một mảnh DNA không theo phép nhân dòng vô tính, nghĩa là không đưa một đoạn DNA vào cơ thể sinh vật mà chỉ sử dụng những môi chuyên biệt. Những môi này là những đoạn DNA ngắn, có khả năng bắt cặp với một đầu của mạch khuôn, trong vòng một phút tạo ra một lượng các mạch DNA. Hiện nay ở nước ta, một số địa phương, các viện nghiên cứu, các trường đại học đã nhập công nghệ ứng dụng PCR này vào quản lí nguồn giống và kiểm soát bệnh. Ở một số địa phương xảy ra tình trạng tôm giống thả vào ao nuôi bị chết hàng loạt do “stress” môi trường nuôi. Công ti Long Sinh-Khánh Hòa có hướng dẫn một số giải pháp như tránh tăng độ pH trong ao nuôi, điều chỉnh độ oxygene hòa tan và tránh sử dụng quá liều kháng sinh trong điều trị khi nuôi tôm. Vaccine sử dụng phòng bệnh cho cá nuôi được sử dụng phổ biến. Các loại bệnh do vi khuẩn gây ra được công ti Thú y Thủy sản (Aqua health Lid) của Canada sản xuất như Lipogen triple và Lipogen forte cộng với Vibrogen-2, Furogen, Fry-vace, Ermogen, Renogen và Gaffogen. Sử dụng các loại vaccine này đã có hiệu quả rất rõ rệt. Các loại vaccine khác được sản xuất bằng công nghệ chuyển gene được gọi là vaccine DNA. Một chương trình nghiên cứu tại Viện Loeb ở Osawa (Canada) do tiến sĩ Heather Davis lãnh đạo nhóm nghiên cứu cho biết một số thử nghiệm trên cá đối với hepatitis được xem là một mô hình chứng minh tiềm năng của loại vaccine này trên các loài cá nuôi (Seffon Dixon, 2000).

8.6. Công nghệ nuôi trồng trong xử lí môi trường nuôi

Trong nuôi trồng thủy sản, trước khi ương giống hoặc thả giống nuôi, đòi hỏi phải xử lí môi trường, bao gồm ao (bể nuôi), nguồn nước

cung cấp vào và nước thải ra. Đối với ao nuôi sau khi xong một vụ nuôi, trước khi thả giống mới, người ta tiến hành xử lý ao nuôi bằng biện pháp thủ công và dùng một số hóa chất tẩy diệt các mầm bệnh. Ví dụ ở ao nuôi tôm sú, người ta xử lý ao nuôi bằng một trong hai phương pháp sau: xử lý ướt và xử lý khô. Tức là, ngâm nước vào trong ao hoặc phơi khô mặt ao, sau đó san bằng nền đáy, xới nền đáy để diệt vi khuẩn gây hại và làm cho các khí độc gây hại bay lên. Trước khi bơm nước vào ao nuôi để thả giống, người ta còn dùng vôi để bón nhằm diệt các loại địch hại và điều chỉnh nồng độ pH trong ao. Ngoài ra, trong việc quản lý nguồn nước nuôi, người ta còn dùng một ao lắng để xử lý bằng zeolites hoặc dolomite để làm sạch nguồn nước và diệt các loại vi khuẩn gây bệnh. Theo Nguyễn Văn Toàn (chi nhánh Ven biển – trung tâm Nhiệt đới Việt-Nga) thì sử dụng hệ thống lọc sinh học phục vụ các trại sản xuất giống tôm sú và tôm càng xanh ở Nha Trang, Khánh Hòa mang hiệu quả tốt.

Hiện nay, các chế phẩm sinh học dùng để xử lý lớp bùn đáy ở đáy ao cũng được sử dụng rộng rãi. Các chế phẩm này có điểm chung là hỗn hợp nhiều chủng vi sinh vật hữu ích và các enzyme phân hủy, chúng có khả năng hạn chế sự phát triển của các vi khuẩn gây bệnh và dùng các lớp bùn làm nguồn thức ăn. Năm 2000, công ti Thương mại Dịch vụ Môi trường Việt Nam đã nhập sản phẩm ES.2. AQUA KIT của hãng Enviro-reps International (Hoa Kỳ). Chế phẩm này bao gồm nhiều chủng vi sinh vật hữu ích như: *Bacillus licheniformis*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. polymixa* và *Aspergillus oryzae* cũng như các enzyme như: α -amylase,... Các hệ sinh vật trong sản phẩm này có khả năng cạnh tranh với các vi khuẩn có hại gây bệnh, đồng thời chúng tiết ra các chất BDC ở dạng tự nhiên có khả năng ức chế sinh vật có hại trong ao nuôi. Cho đến nay, trên thị trường Việt Nam có đến hàng chục loại sản phẩm có dạng tương tự như vậy.

Về sử dụng các mô hình nuôi như nuôi xen canh: nuôi tôm-sản xuất muối, nuôi tôm-ruộng lúa; hoặc các mô hình nuôi kết hợp như tôm-sò huyết, tôm-rong sụn, tôm-cá đối cũng được xem là hình thức làm sạch các chất thải trong quá trình nuôi. Gần đây nhất, nhóm nghiên cứu Trương Văn Lung, Vũ Tiến Lăng và một số người khác dùng rau câu cước (một đối tượng có nhu cầu về nhiệt độ và độ mặn trùng hợp với tôm sú) với mật độ thích hợp nuôi chung với tôm sú. Khi quang hợp, rau câu cước cung cấp O₂ cho tôm sú hô hấp làm giảm bớt sự thiếu hụt khí cho tôm. Rau câu cước lại hút những thức ăn thừa mà tôm không sử dụng hết làm cho môi trường khỏi bị ô nhiễm, số lượng Coliforms (loại vi sinh vật gây bệnh) giảm. Vì vậy, tôm chóng lớn hơn và khai thác được cả hai đối tượng (tôm sú và rau câu cước) có giá trị kinh tế cao, mặt khác, lợi về diện tích ao nuôi (khối

phải dùng một ao lãg). Công trình này được bộ Khoa học và Công nghệ phối hợp với hãng Sony (Nhật Bản) tặng giải “Xanh Sony” năm 2003.

8.7. *Triển vọng và ứng dụng công nghệ sinh học trong nuôi trồng thủy sản*

- Ứng dụng công nghệ sinh học trong sản xuất giống nhân tạo có chất lượng cao, có hệ số đồng hóa thức ăn cao, tạo ra các dòng chất lượng tốt kháng bệnh bằng phương pháp chuyển gene.

- Ứng dụng công nghệ sinh học vào việc xây dựng các mô hình nuôi trồng phù hợp, kết hợp với việc làm sạch môi trường nước thải, mang lại hiệu quả kinh tế cao, đầu tư thấp. Sản xuất vaccine trong phòng bệnh bằng kĩ thuật tái tổ hợp DNA hoặc tạo dòng đơn tính.

- Ứng dụng công nghệ sinh học để sản xuất các loại protein đơn bào phục vụ chế biến thức ăn hỗn hợp, sản xuất các loại thức ăn “tươi sống” bằng hình thức tế bào xác của tảo, Artemia, Rotifer v.v. làm thức ăn phục vụ sản xuất giống nhân tạo.

- Phân lập và tạo ra các hỗn hợp vi sinh vật, các enzyme sử dụng trong các hệ thống lọc sinh học, xử lí nước thải và các chất cặn bã từ nuôi trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, 1998. Công nghệ gene cây Lúa. Hội nghị toàn quốc lần thứ nhất về công nghệ sinh học cây Lúa tại Huế. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
2. Trần Quốc Dung. 2001. Nghiên cứu chuyển gene hormone sinh trưởng người vào cá Chạch (*Misgurnus anguillicaudatus*) bằng vi tiêm. Luận án Tiến sĩ sinh học, Hà Nội.
3. Đái Duy Ban, Lữ Thị Cẩm Vân, 1994. Công nghệ gene và công nghệ sinh học ứng dụng trong nông nghiệp hiện đại. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.
4. Lê Doãn Diên, 1994. Công nghệ sau thu hoạch trong nông nghiệp Việt Nam: Thực trạng và triển vọng. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.
5. Nguyễn Mộng Hùng. 2004. Công nghệ tế bào phôi động vật. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, Hà Nội.
6. Đặng Hữu Lanh, Trần Đình Miên. Trần Đình Trọng. 1999. Công nghệ sinh học với công tác giống vật nuôi, Bò. Trong: “Cơ sở di truyền chọn giống động vật” (Đặng Hữu Lanh, chủ biên), Nxb Giáo dục Hà Nội, tr 433-469.
7. Trương Văn Lung, 2004. Công nghệ sinh học một số loài Tảo kinh tế. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

8. Lê Đình Lương, Quyền Đình Thi. 2003. Kỹ thuật di truyền và ứng dụng. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, Hà Nội.
9. Bernard R.Glick, Jackj Pasternak. 1994. Molecular Biotechnology-Principles and Application of Recombinant DNA. ASM Press. Washington D.C.
10. Chopra V.L, Anwan Nasin. 1990. Genetic Engineering and Biotechnology, Oxford and IBH Publishing CO.PVT, Ltd.
11. Dalton. D.C. 1982. An Introduction to Practical Animal Breeding. Granada Publishing Limited, Great Britain.
12. Peregrino G. Duran. 2002. Technical aspects of the recovery, handling and transfer of embryos. Copyright FFTC1970-2002. (<http://www.ffmpeg.org/library/article/tb151a.html>).
13. Tạp chí Thế giới mới, Nxb Giáo dục Hà Nội, Số 613, tr: 39-42.
14. Clive James, 2004. Tóm tắt báo cáo số 32 của ISAAA về tình trạng cây trồng chuyển gene/công nghệ sinh học được trồng và mua bán trên thị trường thế giới trong năm 2004. Bản tin Công nghệ Sinh học tháng 01 năm 2005. www.biotechvn.com.vn

CÔNG NGHỆ SINH HỌC VỚI VIỆC BẢO VỆ SỨC KHỎE CỘNG ĐỒNG

Chương III

Công nghệ sinh học hiện đại trong chữa bệnh

Mặc dầu sinh sau đẻ muộn nhưng những thành tựu mà CNSH đem lại là rất lớn. Những bước phát triển nhanh chóng của các lĩnh vực như: điều chế dược liệu, tạo ra kháng thể đơn dòng, tạo ra vaccine, thành công trong giải mã bộ gene người... đã góp phần đắc lực cùng với con người trong công cuộc đấu tranh chống lại bệnh tật và không ngừng cải thiện và nâng cao chất lượng cuộc sống.

1. Sản xuất dược chất và mỹ phẩm vô hại cho con người từ sản phẩm tự nhiên và tái tổ hợp gene trong sản xuất vaccine

Trung Quốc, một đất nước đã sử dụng nền y học thực vật từ 3.000 năm nay, đã khởi xướng những chương trình nâng cao dược điển y học cổ truyền của mình bằng cách hướng tới CNSH. Đã có những chương trình nghiên cứu tác dụng sinh lý và hóa sinh của các hoạt chất thực vật trên động vật thí nghiệm; những chương trình nhằm vào các lĩnh vực mà hoạt chất có tác dụng mạnh nhất. Theo Kuang An Kun, cựu Giám đốc trường Đại học Y số 2 Thượng Hải, một trong những người khởi xướng cho sự hiện đại hóa nền y học cổ truyền Trung Hoa (Cần nhấn mạnh rằng, hiện nay ở Trung Quốc, các bác sĩ sau 6 năm đào tạo ở trường Đại học Y, còn phải học thêm 5 năm nữa mới được cấp bằng chính thức về Đông y. Trong số 600.000 bác sĩ đang hành nghề, chỉ có 1/3 là có bằng này. Chương trình đào tạo chuyên khoa kéo dài này khác hẳn chương trình đào tạo 1 năm vào đầu những năm 1960, chỉ cung cấp những kiến thức tối thiểu cho hàng nghìn “thầy thuốc chân đất”, làm cho họ chỉ có thể thực hiện được những sản sóc cơ bản nhất, ghi đơn vài chục loại thuốc và cổ động cho phong trào vệ sinh ở vùng nông thôn Trung Quốc).

Những nghiên cứu gần đây hơn đã nhằm vào việc phân lập từ thực vật những hoạt chất, để có thể sản xuất thuốc với số lượng lớn hơn và sử dụng với liều lượng chính xác hơn. Bởi vì rằng, thực vật thường sản xuất

các hoạt chất với số lượng ít ỏi, hoặc nếu không thì chỉ ít liều lượng không giống nhau trong sản xuất.

Trong các viện Hóa sinh và Hóa hữu cơ thuộc viện Hàn lâm Khoa học Trung Quốc ở Thượng Hải, nơi mà insulin đã được tổng hợp từ năm 1966, người ta cố gắng chiết xuất các loại dược liệu nhằm tổng hợp chúng và tổng hợp có các chất có cấu trúc tự do có thể có tác dụng điều trị còn mạnh hơn. Một trong các ví dụ là một loại cây phổ biến ở Trung Quốc đã nổi tiếng do tác dụng gây sảy thai, hoạt chất của nó đã được xác định là một protein có 230 acid amin. Protein tinh khiết này có hiệu lực với liều chỉ cần vài microgram. Hơn 1 triệu phụ nữ đã sử dụng nó. Người ta đã nghiên cứu bộ phận có hoạt tính của phân tử protein này và thậm chí tổng hợp chúng (Nature, vol. 318, N° 6043, 21-23/11/1985).

Qua ứng dụng CNSH, các thực vật có mùi mà đồng thời cũng thường có tính chất chữa bệnh (các tinh dầu) có thể trở thành nguồn nguyên liệu tốt cung cấp các chất cho việc sản xuất dược chất.

Artemisinin hay Quinghaosu (QHS) là một loại thuốc từ nhiều thế kỉ dùng để chống sốt rét do các nhà khoa học Trung Quốc chiết xuất từ cây ngải hoa vàng một năm (*Artemisia annua*). Ngoài quinine, một alcaloid do nhà khoa học người Pháp là Pellétier chiết xuất năm 1934 từ vỏ cây *Cinchona succirubra* (Canhkina) và được dùng để chữa bệnh sốt rét cho đến tận những năm 1950, khi thuốc chữa sốt rét tổng hợp hóa học ra đời, nhiều thực vật khác cũng được sử dụng vào mục đích này, như là *Dichroa febrriusa* (cây thường sơn, có mọc ở miền Bắc nước ta), một loài thực vật ở Trung Quốc. Alcaloid của nó là febrriugine. Tuy vậy lại quá độc không dùng được cho con người.

Năm 1967, theo quyết định của Chính phủ nước CHND Trung Hoa, nhằm bắt đầu chương trình tổng quan đầy đủ các cây thuốc trong nước, người ta đã tập trung chú ý đến *Artemisia annua* (cây ngải hoa vàng một năm) hay là cây Quinghao, thuộc họ Compositae, trong đó bao gồm cả *A. abisinthium* (cây ngải trắng) mà cây là những năm 1920 vẫn dùng trong sản xuất rượu apxin. Cây *A. dracunculus* (cây ngải giấm) vẫn được biết đến như một gia vị và để chế giấm thơm. Cây *A. tridentata* (cây ngải ba răng) miền tây Hoa Kỳ, *A. apiacea* (cây thanh hao), *A. capillaris* (nhân trần Trung Quốc) là những loài ngải dùng trong dân gian để chữa sốt.

QHS là một sesquiterpene lactone có chứa nhóm feroxide và khác với phần lớn các thuốc chống sốt rét khác là không chứa dị vòng N.

Các dẫn xuất màu của QHS như hydroquinghaosu artemether và sodium artesunate tác dụng nhanh trên các bệnh nhân thể não đang hướng tới hôn mê; trong khi quinine hay chloroquine tác dụng rất chậm thì sodium artesunate làm khỏi hôn mê sau 12 giờ.

Về mỹ phẩm, chất màu thực phẩm vô hại cho con người

Trong thời gian qua, nhiều cửa hàng bán mỹ phẩm và chất màu thực phẩm đã gây tai hại đến sức khỏe của con người cũng không ít. Bề ngoài thì quảng cáo đây là những chất màu thực phẩm tự nhiên hoặc mỹ phẩm có chứa các vitamin, cysteine, các chất diệt khuẩn có trong lá, hoa quả v.v. nhưng thực chất đã dùng các chất màu hoặc mỹ phẩm đó bằng các chất hóa học. Các chất màu hóa học có ưu điểm là màu tươi hơn, giữ màu được lâu hơn và giá thành rẻ hơn so với các chất màu tự nhiên. Nhưng nhiều người dùng các mỹ phẩm đó đã bị dị ứng, lở loét da, phát sinh nhiều bệnh khác, đưa đến những hậu quả khôn lường... Ngay ở Việt Nam năm 2000, đã có tới 45 người chết và 3800 người bị ngộ độc thực phẩm do dùng chất màu thực phẩm bằng hóa chất.

Những năm gần đây, người ta đi sâu vào việc nghiên cứu một số chất có hoạt tính sinh học ở tảo và ứng dụng nó. Một trong những chất có hoạt tính sinh học được phát hiện là phycobiliprotein. Nói chung, phần lớn các sắc tố thu nhận ánh sáng nằm trong các cơ quan tử đặc biệt, đó là phycobilisome. Phycobilisome có thể tách chiết được từ tế bào ở dạng nguyên vẹn. Ở một số loài tảo như tảo lam cố định N₂ không có chlorophyll b. Vai trò của nó trong quang hợp được thực hiện bởi biliprotein. Các protein này có màu rõ nét nhờ các nhóm mang màu liên kết hóa trị với chuỗi polypeptid.

Tảo đỏ và tảo lục thường chứa cả hai loại biliprotein là phycocyanin và phycoerythrin thường gọi là dạng C hay R (tùy theo nguồn gốc của chúng là Cyanophyceae hay Rhodophyceae) Dạng BR phycocyanin (B là tảo đỏ hồng miền *Euchema*) là một biliprotein độc nhất mang cả hai nhóm màu này. Ở hầu hết tảo lam đều chứa allophycocyanin. C-phycocyanin và C-phycoerythrin, tuy nhiên ở một số loài tảo lam không phát hiện thấy phycoerythrin. (Donalt A., Bryant et al., 1976). Qua những nghiên cứu về quang phổ hấp thụ giúp cho ta tạo điều kiện tách, tinh sạch các nhóm màu để dùng vào nhiều lĩnh vực khác nhau trong đó có việc sản xuất mỹ phẩm và chất màu thực phẩm.

Hãng Dainippon Chemical and Ink. Co. (Nhật Bản) đã đầu tư một cơ sở vật chất đại trà tảo *Spirulina platensis* (18.000 m²) tại Thái Lan chủ yếu để khai thác nguyên liệu cho chế phẩm "Linablue A". Chế phẩm này chứa 30% phycocyanin và được dùng như một chất màu thực phẩm và mỹ phẩm có nguồn gốc tự nhiên. Thị trường hiện tại trên thế giới là 10 tấn chế phẩm/năm với giá bán 170 USD/kg, trong khi đó nhu cầu là 200 tấn/năm. Theo các chuyên gia hãng Cyanotech (Mỹ) thì hãng này đã sản xuất phycobiliprotein từ *Spirulina* và *Porphyridium* trong nhiều năm nay và đã bán khoảng 40.000 USD chế phẩm (Report of Cyanotech Inc., 1985).

Viện Dầu mỏ Pháp, công ti Soda-Textcoco của Mexico là những nước sản xuất *Spirulina maxima* để xuất khẩu. Nhật Bản, Mỹ và các nước châu Âu là những nước chủ yếu nhập khẩu bột *Spirulina* bổ sung nguồn dinh dưỡng cho thực phẩm và mỹ phẩm.

Không những các loài vi tảo mà ngay cả tảo lớn cũng được nuôi trồng ở qui mô rộng. Sản phẩm của nó ngoài việc sử dụng trong các nền công nghiệp khác nhau, còn dùng trong thực phẩm mỹ phẩm như nước gội đầu, kem bôi mặt, thuốc đánh móng tay, thuốc xịt tóc, son bôi môi, sáp kẻ lông mày, v.v.

Các mỹ phẩm sản xuất bởi các nguyên liệu từ thực vật thì rất an toàn cho việc tiêu dùng của con người. Bởi vì, nó là những chất màu tự nhiên mặc dầu trong quá trình chiết xuất có nhiều chi phí tốn kém nên bị đắt hơn. Chúng ta cần nghiên cứu cải tiến để giá thành hạ và giữ màu được lâu hơn và màu tươi hơn hiện nay.

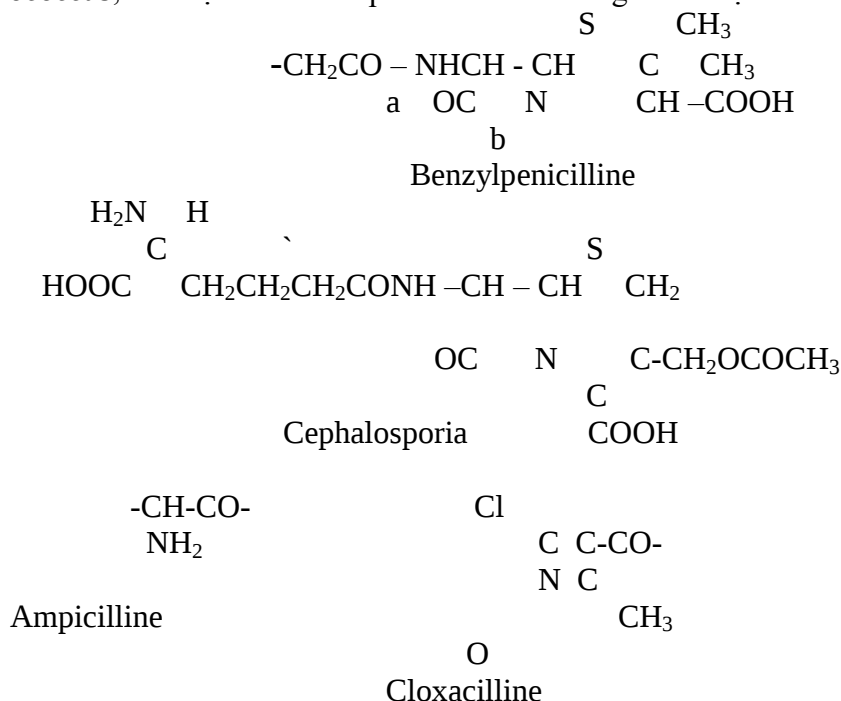
2. Nuôi cấy mô và tế bào những cây thuốc có giá trị cao

2.1. Sản xuất kháng sinh

Nền công nghiệp sản xuất thuốc kháng sinh ra đời từ những năm 40 của thế kỉ trước và được phát triển rất mạnh vì những lí do sau:

- . Nhu cầu sử dụng đối với thuốc kháng sinh rất lớn và có xu thế ngày càng gia tăng;

- . Thuốc kháng sinh đầu tiên là penicilline G (benzylpenicilline) chỉ kháng được vi khuẩn gây bệnh gram dương như *Streptococcus* và *Straphylococcus*, mà thực tế đòi hỏi phải có thuốc kháng sinh được các vi

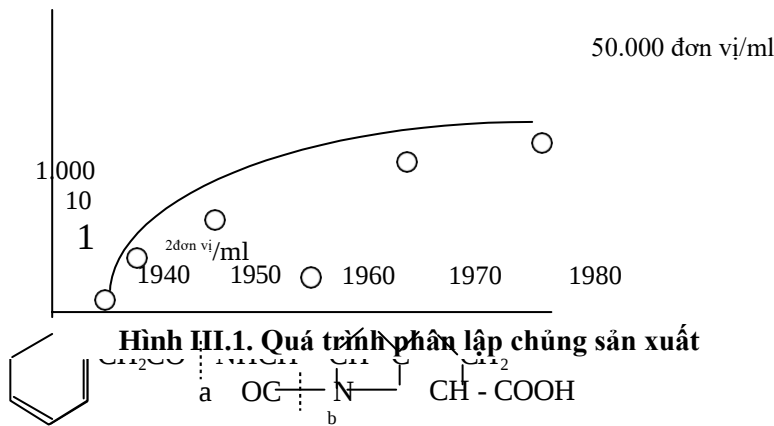


Hình IV.2. Benzylpenicilline và một số penicilline bán tổng hợp

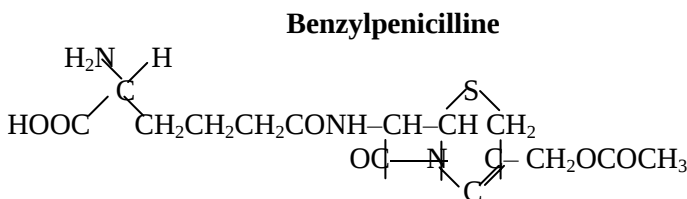
a- Vị trí cắt ở mạch bên của penicilline acid.

b- Vị trí cắt ở vòng lactam

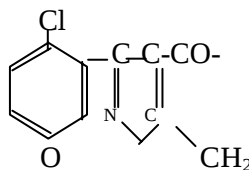
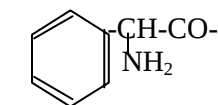
Đơn vị penicilline
100.000



Hình III.1. Quá trình phân lập chủng sản xuất



Cephalosporine



Hình III.2. Benzylpenicilline và một số penicilline bán tổng hợp.

- a- Vị trí cắt ở mạch bên của penicilline acid.
b- Vị trí cắt vòng lactam

Ngoài ra, người ta cũng tạo được streptomycine và cephalosporine là kháng sinh kháng vi khuẩn gram âm do vi khuẩn dạng sợi *Actinomyces* và nấm *Cephalosporium* tạo ra. Tuy nhiên, cephalosporine là kháng sinh thuộc nhóm penicilline, nhưng nó không gây dị ứng như penicilline (Hình III.2.) Ngoài ra, bằng cách thay thế nhóm chức mạch bên của vòng β -lactam, người ta đã tạo ra được nhiều loại kháng sinh bán tổng hợp có đặc tính tác động hết sức đa dạng. Thí dụ ampicilline là sản phẩm bán tổng hợp của penicilline, chỉ khác ở chỗ là nó chứa thêm nhóm $-NH_2$ ở mạch bên.

Tuy nhiên, sự thay đổi này đã làm cho nó có phổ hoạt động rất rộng, thậm chí còn kháng được cả một số vi khuẩn gram âm gây bệnh

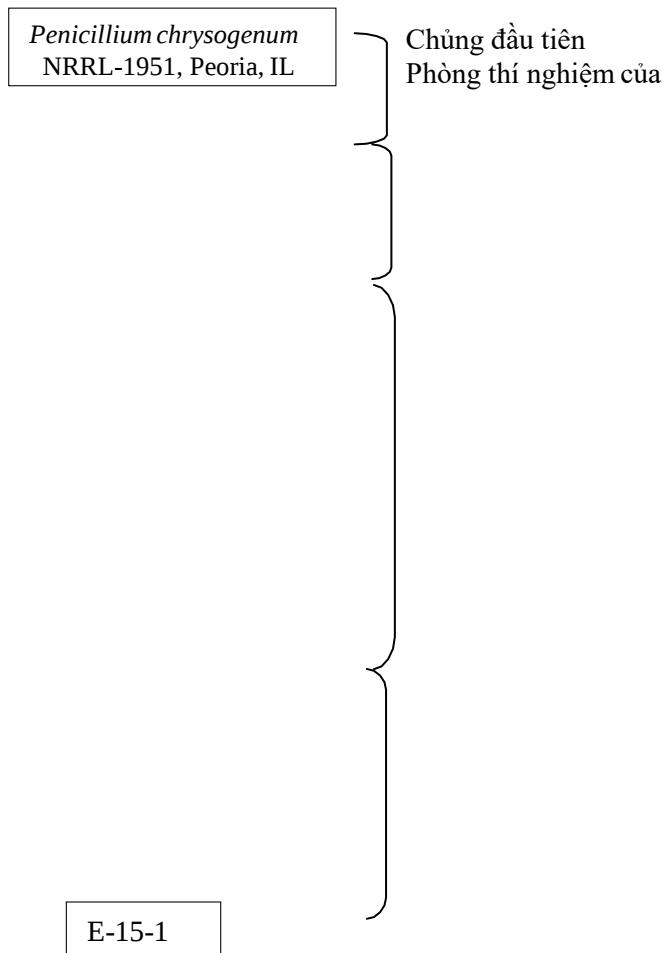
Từ E-1 đến E-15 thông qua
xử lý đột biến bằng methyl-bis-
(B-chloroethyl)-amin

Công ti Lilly

↓S

Chủng cuối cùng

đường hô hấp (*Haemophilus influenza*), tiêu hóa (*Shigella* và *Salmonella*) và bài tiết (*E. coli* Proteus). Đặc biệt do không mất hoạt tính trong môi trường acid của dạ dày, nên ampicilline là loại thuốc uống được, chứ không phải tiêm như penicilline. Tương tự như cloxacilline cũng không phân hủy trong dạ dày bởi enzyme β -lactamase, nên nó thường được chỉ định sử dụng kèm theo ampicilline để chữa trị các bệnh do *Staphylococcus* (vi khuẩn gây bệnh có khả năng tạo enzyme β -lactamase) gây ra.



Hình III.3. Tạo các chủng *Penicillium chrysogenum* đột biến nhờ chiếu xạ tia UV, tia X và sử dụng chất gây đột biến

2.2. Sản xuất thuốc bằng công nghệ nuôi cấy tế bào

Trong thực tế rất nhiều chất có hoạt tính sinh học khác nhau (chủ yếu là các chất thứ cấp) thường sử dụng trong ngành y tế được tạo ra trong

quá trình nuôi cấy tế bào động thực vật nguyên vẹn (với bộ nhiễm sắc thể không thay đổi). Chúng được tạo thành trong quá trình nuôi cấy mô và tế bào thực vật. Thí dụ cụ thể nhất là sự tổng hợp interferon trong quá trình nuôi cấy tế bào nguyên bào bạch huyết (lymphoblaste), là kỹ thuật tạo kháng nguyên làm nguyên liệu để sản xuất vaccine và tạo kháng thể đơn dòng. Tất cả chúng đều là những sản phẩm y học cao cấp và có tương lai rất to lớn.

2.3. Sản xuất thuốc nhờ các quá trình biến đổi sinh học đặc biệt

Bản chất của nó là công nghệ sử dụng vi sinh vật để thực hiện một công đoạn khó khăn quyết định nào đó trong chuỗi biến đổi hóa học của một số chất có hoạt tính sinh học được sử dụng làm thuốc chữa bệnh. Các công đoạn nói trên về nguyên tắc rất khó thực hiện bằng con đường biến đổi hóa học thuần túy và rất tốn kém, Thí dụ chủng nấm mốc *Rhizopus arrhizus* thực hiện được phản ứng hydroxyl hóa vị trí C₁₁ của nhân progesterone là một phản ứng rất tốn kém và khó thực hiện về mặt hóa học. Bằng biện pháp biến đổi sinh học đặc biệt này, ngày nay người ta có khả năng sản xuất được nhiều loại thuốc chữa bệnh có nguồn gốc từ steroid tự nhiên với giá thành rẻ hơn nhiều so với trước kia.

Một số thuốc có nguồn gốc steroid

Thuốc steroid	Công dụng
Glucocorticoid	
Cortisone	Bệnh thiếu máu, thiếu huyết, ức chế tủy não
Hydrocortisone	Bệnh tâm thần addison
Prednisone	Bệnh dị ứng, hen suyễn, lở loét cục bộ
Dexamethasol	
Hormone steroid	Thuốc ức chế miễn dịch dùng khi ghép cơ quan của người
Testosterone	
Estradiol	Chữa bệnh khớp và viêm loét dạ dày
Progesterone	Chữa trị bệnh tâm thần, bệnh rối loạn kinh nguyệt, điều trị ung thư vú và chứng rối xương

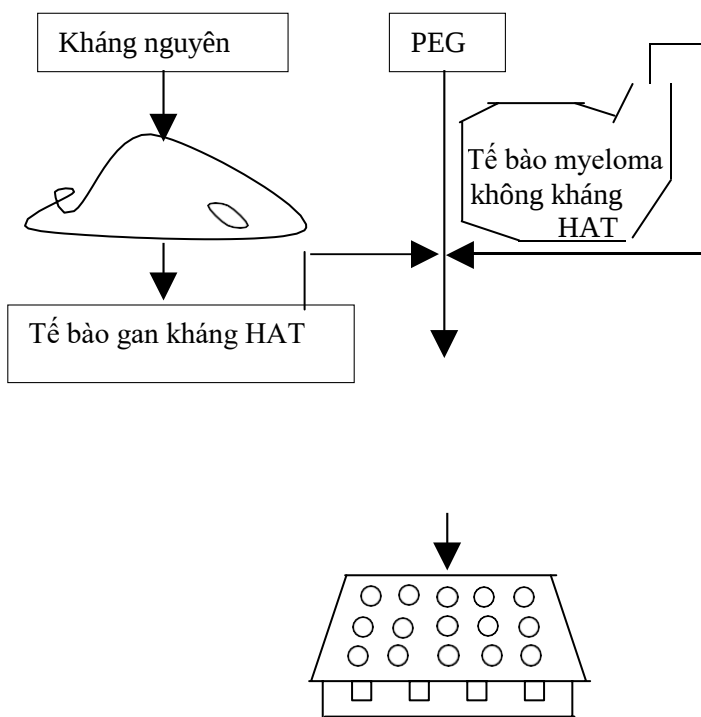
3. Công nghệ sản xuất sản phẩm y học bằng tế bào cải tiến

Bản chất của vấn đề này là việc sử dụng các tế bào sống đã được cải biến (bằng cách lai hoặc thay đổi bộ máy di truyền) để sản xuất ra các sản phẩm đặc hiệu cần thiết cho đời sống con người. Sau đây chúng ta sẽ

xem xét hai công nghệ điển hình nhất: công nghệ sản xuất kháng thể đơn dòng và công nghệ sản xuất thuốc protein nhờ DNA tái tổ hợp.

3.1. Công nghệ sản xuất kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody)

Về bản chất kháng thể đơn dòng là tập hợp của các phân tử kháng thể đồng nhất về mặt cấu trúc và tính chất, được tạo bởi dòng tế bào lai giữa tế bào ung thư myeloma với tế bào lymphocyte của hệ miễn dịch ở động vật hoặc ở người, trước khi xuất hiện công nghệ sử dụng tế bào lai để sản xuất kháng thể. Việc tạo ra một lượng lớn kháng thể có tính chất xác định nào đó là một công việc cực kì khó khăn. Lí do chủ yếu là vì các phân tử kháng nguyên (antigene) kích thích tế bào động vật có xương sống tạo ra nhiều phân tử kháng thể (antibody) khác nhau. Việc tách riêng các phân tử kháng thể này là một việc rất khó khăn và tốn kém.



Hình IV. 4. Sơ đồ công nghệ tạo kháng thể đơn dòng

Hình III.4. Sơ đồ công nghệ tạo kháng thể đơn dòng

Do đó, công trình nghiên cứu hoàn thiện công nghệ tạo kháng thể đơn dòng của Milstein và Kohler là một bước ngoặt trong lĩnh vực này. Công nghệ này cho phép mở ra một loạt những ứng dụng quan trọng trong

y tế cũng như trong nghiên cứu và sản xuất. Nội dung của công nghệ này được mô tả trong hình IV.4. bao gồm các bước sau:

- Tiêm kháng nguyên vào chuột. Tách tế bào gan chuột (là nơi kháng thể được tạo thành). Trộn tế bào gan chuột (kháng được HAT) với tế bào ung thư myeloma (không kháng được HAT). Bổ sung PEG (polyethylen glycol) vào dịch huyền phù chứa hỗn hợp hai loại tế bào trên.

- Nuôi hỗn hợp tế bào trên môi trường chọn lọc chứa HAT (hỗn hợp của hypoxanthine, aminopterin và thymidine). Tế bào gan chuột sẽ phát triển bình thường trong một thời gian, còn tế bào myeloma do bị khuyết HAT, nên chết ngay.

- Hỗn hợp nuôi cấy tạo ra tế bào lai. Kết quả là trong hỗn hợp tế bào nói trên, tế bào myeloma chết ngay, tế bào gan chết sau hai tuần nuôi cấy, còn tế bào lai phát triển bình thường, vì nó có hai đặc điểm: phân chia vô hạn (nhận được từ tế bào myeloma) và các chất trao đổi cần thiết (do tế bào gan chuột cung cấp).

3.2. Sản xuất thuốc nhờ công nghệ sử dụng DNA tái tổ hợp

Bản chất của công nghệ này là thay đổi bộ máy di truyền của tế bào bằng cách đưa gene lạ vào và bắt nó hoạt động. Có nghĩa là, bắt nó tạo ra một lượng protein hoặc peptide cần cho con người, mà trước đó bản thân tế bào không tổng hợp được. Có thể nói, công nghệ này đã tạo ra bước ngoặt lớn lao trong lĩnh vực sinh học. Các sản phẩm do nó tạo ra khá đa dạng và một số hiện đang được sản xuất ở qui mô công nghiệp. Dưới đây là một số ví dụ:

- + Sản xuất insulin bằng công nghệ sử dụng DNA tái tổ hợp. Hiện nay khoảng 1-2% dân số các nước phát triển bị bệnh tiểu đường. Để chữa trị người ta phải sử dụng insulin, là protein chứa 51 amino acid được tổng hợp ở tuyến tụy của bò và lợn. Tuy nhiên, vì cấu tạo của chúng hơi khác với insulin của người nên trong máu của bệnh nhân điều trị insulin bò bao giờ cũng xuất hiện kháng thể đối với insulin bò. Điều này gây ra một hậu quả không mong muốn làm mất một phần hoạt tính của insulin và giảm thời gian tác động của thuốc.

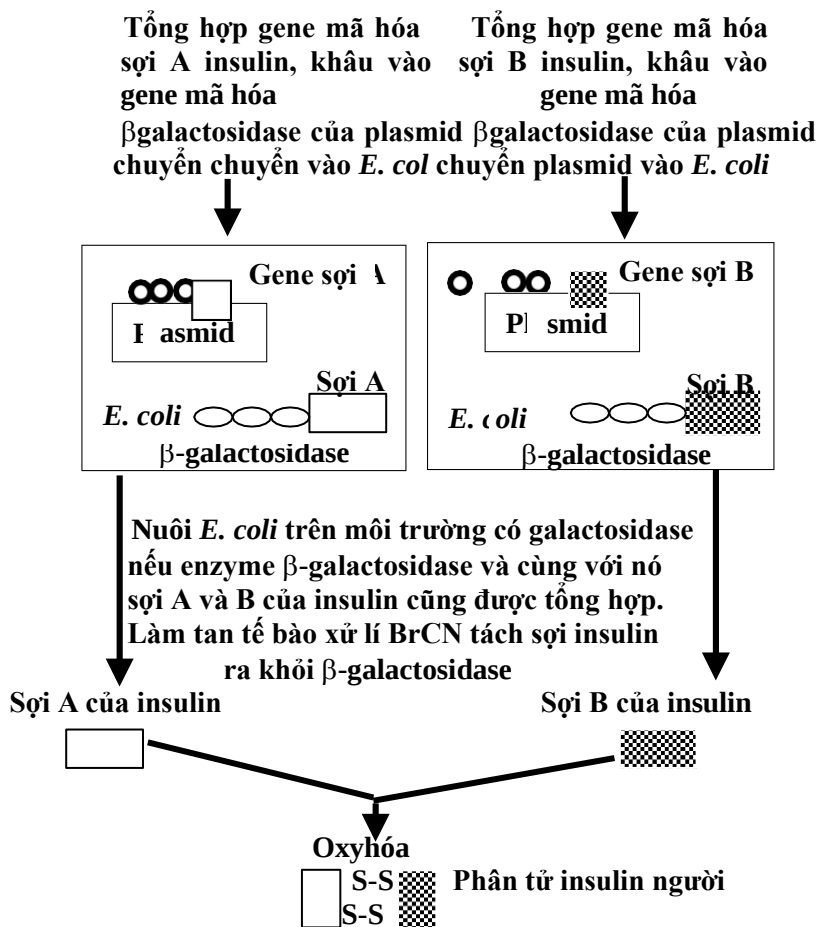
Vào đầu những năm 80 của thế kỉ trước, hãng Eli Lilly và Genetech Inc. của Mỹ đã tìm ra qui trình sản xuất insulin người bằng công nghệ DNA tái tổ hợp. Đó là protein đầu tiên tạo được bằng công nghệ gene và nhờ công nghệ này mà hiện nay insulin đã được sản xuất đại trà với giá thành rẻ hơn nhiều so với trước kia (hình III.5.)

- + Sản xuất interferon bằng công nghệ sử dụng DNA tái tổ hợp.

Interferon là nhóm protein chứa khoảng 146-166 amino acid.

Chúng xuất hiện trong tế bào động vật có xương sống khi bị nhiễm virus và giúp tế bào kháng lại virus.

Ngoài interferon còn có hai đặc tính rất giá trị: một là, chúng ức chế sự sinh sản tế bào (nên được sử dụng để chữa trị bệnh ung thư); hai là, chúng gia tăng hoạt độ hệ miễn dịch của người và động vật. Có ba loại interferon: α -interferon, β -interferon và γ -interfeffron, khác nhau bởi số amino acid và sự thể hiện hoạt tính.



Hình III. 5. Công nghệ sản xuất insulin bằng DNA tái tổ hợp

Cho đến thời gian gần đây, interferon chủ yếu được tạo ra từ tế bào bạch cầu hay nguyên bào bạch huyết của người bị nhiễm virus. Do vậy, giá thành rất đắt và rất hiếm (khoảng 40-50 USD/1 triệu đơn vị vào những năm 1980), mà thông thường trong điều trị ung thư mỗi lần phải tiêm cho bệnh nhân tới 3-6 triệu đơn vị và phải tiêm nhiều lần. Khoảng hơn 10 năm trở lại đây, người ta đã tạo ra được các gene mã hóa tổng hợp ba loại

interferon nói trên và đã xây dựng được qui trình công nghệ sản xuất interferon trong tế bào *E. coli* và nấm men. Nhờ vậy đã hạ giá thành đáng kể của interferon, hiện nay khoảng 3-5 USD/1 triệu đơn vị (1994).

Viện Sinh học Nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh từ năm 1989 đã hợp tác với các nhà khoa học thuộc viện Hàn lâm Khoa học Ucraina triển khai công nghệ sản xuất interfefon nói trên ở thành phố Hồ Chí Minh. Bước đầu họ đã tạo được hàng chục tỉ đơn vị interferon, số thuốc này đã được thử nghiệm có kết quả trên người bệnh ở bệnh viện Chợ Rẫy thành phố Hồ Chí Minh. Hi vọng trong một tương lai gần thuốc interferon sẽ là sản phẩm gần gũi và hợp túi tiền đối với người Việt Nam.

Tương tự như interferon, một sản phẩm khác giúp cơ thể tăng khả năng miễn dịch là interleukin cũng đã được các nhà sản xuất theo công nghệ sử dụng DNA tái tổ hợp. Hiện interleukin và interferon đang được thử nghiệm cùng với một số biệt dược khác để chữa trị bệnh ung thư và bệnh AIDS.

+ Sản xuất hormone phát triển của người nhờ DNA tái tổ hợp. Hormone phát triển của người là protein chứa 191 amino acid tương tự với MW khoảng 22.000 dalton. Thiếu nó cơ thể con người sẽ bị lùn. Để chữa trị, người ta phải tiêm hormone phát triển cho những đứa trẻ thiếu hormone nói trên. Trước đây, hormone phát triển được tách từ tuyến hạ não của người đã chết. Tuy nhiên, phương pháp này còn một số hạn chế. Hiện nay, hormone phát triển đã được sản xuất bằng công nghệ sử dụng DNA tái tổ hợp thông qua *E. coli*.

+ Sản xuất vaccine bằng công nghệ DNA tái tổ hợp. Công trình đầu tiên của Louis Pasteur (tháng 7/1885) đã mở đầu cho kỉ nguyên đấu tranh chống các bệnh nhiễm trùng và đề phòng chúng bằng tiêm chủng.

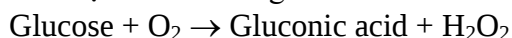
Cho đến thời gian gần đây, người ta vẫn sử dụng vaccine sống (là vi khuẩn và virus gây bệnh đã bị xử lí làm yếu đi) làm kháng nguyên kích thích tạo kháng thể cần thiết trong cơ thể người và vật nuôi. Do vậy, xuất hiện nhu cầu tạo vaccine thế hệ mới tránh được những hạn chế nói trên.

Cho đến nay, bằng công nghệ sử dụng DNA tái tổ hợp người ta đã sản xuất được protein vỏ của một số virus như: virus bệnh lở mồm long móng, virus bệnh dại và viêm gan B. Trong số này, vaccine đầu tiên là vaccine viêm gan B chế từ protein vỏ của virus viêm gan B (là bệnh phổ biến ở người Việt Nam). Vaccine nói trên (có bản chất là protein) được tổng hợp và tích lũy trong tế bào nấm men hay tế bào động vật chứa gene mã hóa protein hoặc peptide đơn được sản xuất bằng công nghệ DNA tái tổ hợp.

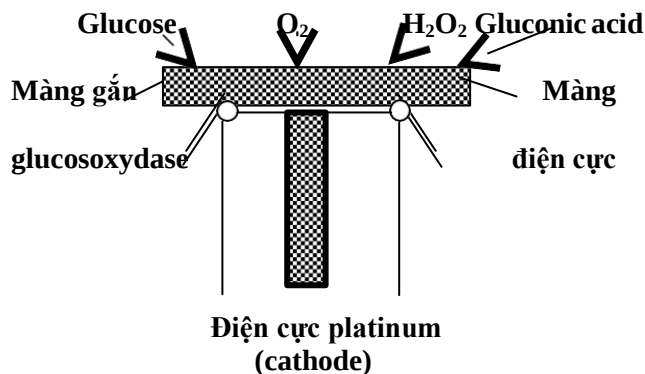
Ứng dụng enzyme trong y học. Trong một tương lai gần, enzyme sẽ được ứng dụng rất rộng rãi trong ngành y tế để làm đầu dò cho các thiết bị y tế và để chữa bệnh.

Hiện nay, một số enzyme như glucosoxydase, hexokinase, cholesteroloxydase, esterase, urease, alcohol dehydrogenase, v.v. đã được sử dụng khá rộng rãi trong ngành y tế. Điển hình nhất là việc sử dụng glucosoxydase cố định trên bề mặt điện cực platinum trong thiết bị phân tích hàm lượng glucose trong máu. Bản chất hoạt động của điện cực như sau:

Enzyme glucosoxydase được gắn trên màng điện cực, khi điện cực tiếp xúc với dịch mẫu chứa glucose thì nó sẽ xúc tác phản ứng:



Do đó, nếu trong mẫu càng nhiều glucose thì càng nhiều oxygene tự do được ghi nhận trên điện cực platinum. Qua đó, người ta sẽ xác định được hàm lượng glucose của mẫu phân tích (thí dụ như trong máu chẳng hạn) (hình IV.6)



Hình III.6. Điện cực gắn enzyme glucosoxydase

Trong y học, enzyme còn được sử dụng để loại bỏ những cục thịt mỡ dư thừa gây nguy hiểm cho một số bộ phận cơ thể người. Thí dụ, người ta dùng enzyme streptokinase và urokinase để làm tan máu đông làm nghẽn mạch máu. Hoặc, enzyme còn sử dụng để chữa trị bệnh liên quan đến sự thiếu hụt một số enzyme trong người. Đầu năm 1993, một bác sĩ người Italia cũng đã tiến hành phẫu thuật gene cho một cháu trai 4 tuổi ở đảo Sicile (Italia) bị bệnh di truyền bẩm sinh thiếu enzyme adenosine desaminase chỉ vì lầm lẫn một gene trong khoảng 40.000 gene, đã làm cho hệ miễn dịch của người cực kỳ rối loạn. Chính enzyme này đã phá hủy một trong các sản phẩm trung gian sản sinh ra trong quá trình trao đổi chất. Vô hại đối với tế bào khác nhưng lại rất độc đối với lymphocyte T (tế bào bạch huyết T). Không có nó hệ thống miễn dịch dần dần bị hỏng (giống như

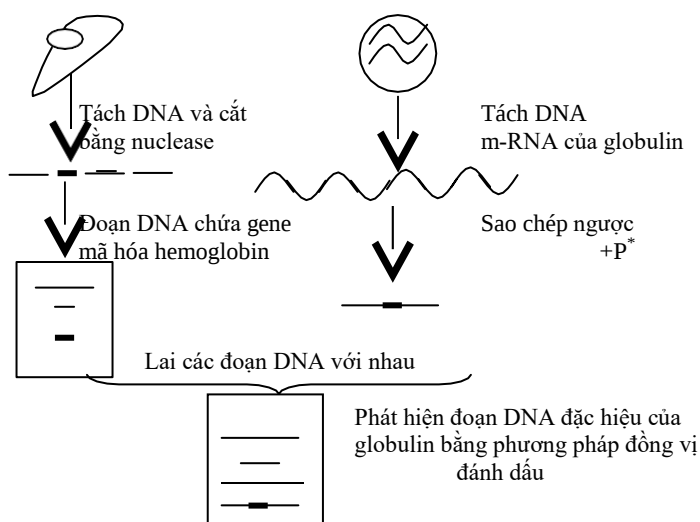
bệnh AIDS). Trước đây, bệnh này vô phương cứu chữa. Gần đây, người bác sĩ đó đã tiến hành lấy máu của tủy xương của cháu – nơi sinh ra lymphocyte T, đưa virus vô hại có mang gene của enzyme nói trên vào mẫu tủy đó, rồi lại đưa ngược trở lại vào cơ thể cháu bé. Liệu pháp lặp lại 3 lần, mức enzyme trong mẫu đã tăng. Cháu bé đã thấy khác hẳn lên. Công nghệ gene đó tiến hành không phải lần đầu tiên. Ở Mỹ đã có một cháu bé gái đang sống bình thường sau khi ghép gene từ ngày 14 tháng 9 năm 1990. Ba nhà bác học người Mỹ Frech Andreson, Michael Blaese và Ken Calver ở viện Sức khỏe Quốc gia đã tiến hành chuyển gene enzyme adenosine desaminase cho một cháu bé gái 4 tuổi mắc bệnh suy giảm miễn dịch phối hợp nói trên (SCID) phải sống trong một căn buồng vô trùng. Tháng 5/1993, nhân một cuộc họp báo, ông Ken Calver - người lãnh đạo nhóm chuyển gene này đã nói: “Tạm thời chúng tôi hài lòng với kết quả thu được. Một cháu bé đã hầu như hoàn toàn tránh được nhiễm trùng, nồng độ enzyme đạt gần mức bình thường. Hệ miễn dịch của cháu khỏe lên. Cháu có thể chạy chơi ngoài phố, đi đến lớp học, thậm chí chơi thể thao như các cháu khác”.

4. Sử dụng phương pháp di truyền phân tử và kĩ thuật DNA tái tổ hợp để chẩn đoán và chữa trị bệnh

4.1. Chẩn đoán bệnh di truyền ở thai nhi

Tế bào hồng cầu lưỡi liềm

Tế bào hồng cầu bình thường



Hình III.7. Phương pháp cắt phân đoạn đa hình DNA

Trước đây, để phát hiện bệnh này ở thai nhi người ta phải lấy máu thử trực tiếp từ thai nhi. Điều này nhiều khi gây tổn hại cho thai nhi. Gần đây, người ta bắt đầu phát hiện vấn đề sử dụng phương pháp di truyền và kỹ thuật DNA tái tổ hợp để chẩn đoán và chữa trị bệnh ở người đã bắt đầu được quan tâm từ đầu thập kỷ 80 của thế kỷ trước. Lần đầu tiên kỹ thuật này đã được áp dụng để chẩn đoán xem thai nhi có bị bệnh thiếu máu do hồng cầu lưỡi liềm hay không. Hiện nay bệnh này bằng phương pháp cắt phân đoạn đa hình RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) DNA của tế bào dịch xung quanh thai nhi. Sau đó so sánh chúng với các phân đoạn DNA hỗ trợ tách từ tế bào hồng cầu bình thường để phát hiện sự có mặt của gene bị hỏng. Phương pháp này an toàn và không gây nguy hiểm cho thai nhi. (Hình III.7).

Nội dung của phương pháp RFLP như sau: tách DNA từ tế bào hồng cầu của cả bố và mẹ có con bị thiếu máu do hồng cầu lưỡi liềm, từ người khỏe mạnh và từ dịch bào quanh thai nhi tiếp theo của người mẹ nói trên. Dùng enzyme endonuclease cắt các DNA nói trên thành các phân đoạn khác nhau và tách chúng bằng điện di. Mặt khác, từ tế bào hồng cầu lưới tách m-RNA, cho tổng hợp ngược để tạo DNA hỗ trợ cDNA (complementary DNA) gần 32p. Trộn các đoạn DNA với cDNA nhằm tạo các đoạn lai này (đoạn hòa hợp được với thứ tự nucleotid của cDNA) là đoạn chứa gene mã hóa tổng hợp globulin. Ở người khỏe mạnh gene β -globulin nằm ở phân đoạn có độ dài 7.6 kb. Ở đứa bé bị thiếu máu do hồng cầu lưỡi liềm, gene nói trên nằm phân đoạn có độ dài 13,0 kb, còn ở bố mẹ và thai nhi phát hiện thấy gene này có mặt cả ở đoạn 7,6 kb và 13,0 kb. Điều này chứng tỏ cả ba đều ở dạng dị hợp tử và mang gene bệnh thiếu máu do hồng cầu lưỡi liềm.

4.2. Vai trò của các tác nhân di truyền trong bệnh lý học

Các tác nhân di truyền trong một số trường hợp là nguyên nhân gây ra một số bệnh (trong đó có những bệnh hiểm nghèo). Cơ chế phân tử của sự thể hiện bệnh di truyền hiện còn chưa biết được nhiều. Đơn cử thí dụ điển hình nhất là bệnh tiểu đường do di truyền. Nó thể hiện ở một số dạng khác nhau. Nhóm thứ nhất bao gồm các bệnh nhân còn trẻ, ở họ tế bào β chịu trách nhiệm tổng hợp insulin hầu như bị chết hoàn toàn. Do vậy, cơ thể của các bệnh nhân này không tự tổng hợp được insulin. Nhóm thứ hai bao gồm các bệnh nhân lớn tuổi, ở họ insulin được tổng hợp bình thường. Tuy nhiên, cơ chế hấp thụ insulin lại không hoạt động, nên cơ thể vẫn luôn luôn thiếu insulin. Nhờ sự phân tích RFLP người ta phát hiện thấy có sự khác nhau về số lượng và thứ tự sắp xếp gốc nucleotid ở đoạn gần với đầu 5' của gene mã hóa tổng hợp insulin. Bằng phương pháp trên, người ta cũng phát hiện thấy liên quan của các tác nhân di truyền với sự

thể hiện rối loạn teo cơ Duchenne và bệnh tâm thần trí tuệ kém phát triển Huntington.

Triển vọng của việc chữa trị các bệnh có liên quan đến di truyền rất lớn. Trong vài năm trở lại đây đã xuất hiện một số cách tiếp cận để giải quyết vấn đề này. Đó là việc gắn bổ sung gene bình thường vào bộ máy di truyền của người bệnh hoặc lai và cấy tế bào khỏe mạnh vào cơ thể người bệnh để chữa trị một số bệnh hiểm nghèo và bệnh di truyền. Tuy còn phải khắc phục nhiều trở ngại, nhưng các biện pháp chữa trị này rất có triển vọng trong tương lai.

5. Kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody)

Hybridoma và kháng thể đơn dòng.

Các kháng thể đơn dòng từ tế bào ung thư: khi người ta tiêm vào chuột hay thỏ một chất lạ, lập tức cơ thể phản ứng tạo ra một loại phản ứng đặc hiệu để chống lại một kháng nguyên. Một kháng thể có tính đặc hiệu cao và chỉ chống lại một kháng nguyên. Trong cơ thể chỉ có một loại tế bào đặc biệt sản xuất ra một kháng thể đó. Nếu ta tách một mô để nuôi và chọn đúng dòng cho ra kháng nguyên mà ta cần thì người ta có thể được một dòng tạo ra kháng thể đặc hiệu với loại kháng nguyên. Nhưng tế bào mà ta tách là tế bào bình thường nên sinh sản có hạn (chỉ phân chia một số lần rồi chết). Trong khi đó, dòng tế bào ung thư là bất tử.

Như trên đã đề cập đến, năm 1975, Kohler Milstein phát minh ra được kháng thể đơn dòng.

Nguyên lí của nó là:

- + Gây ra những tế bào bình thường có khả năng tạo kháng thể.

- + Lai những tế bào này với tế bào myeloma (tế bào tủy) ung thư.

Quá trình này có hiệu quả khi dùng virus Sendai bằng phương pháp dung hợp tế bào.

- + Chọn các loài mà ta cần, đó là dòng lai vừa mang tính chất tạo kháng thể, vừa có tính chất sinh sản vô hạn (gọi là dòng hybridoma).

Chúng được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực:

- Tăng độ nhạy của phép thử dùng các phản ứng miễn nhiễm các kháng nguyên không dung nạp (histocompatibility) thử các kháng nguyên của nhóm máu, của tinh trùng, thử có progesteron không, thử các yếu tố làm đông máu.

- Chẩn đoán xem một bệnh nào đó có truyền theo đường sinh dục hay không hay là việc chẩn đoán ung thư.

- Về liệu pháp, chỉnh đốn lại thuốc quá liều, giảm nguy hiểm trong trường hợp ghép tủy sống, chữa trị ung thư đúng chỗ, đúng vị trí cần thiết.

- Dùng làm tinh sạch các sản phẩm, nhất là sản phẩm protein. Bằng kĩ thuật di truyền ta có thể nuôi cấy vi sinh vật để sản xuất ra insulin.

-
- Trong nghiên cứu giúp người ta phát hiện ra vị trí của protein.
 - Việc sử dụng các kháng thể đơn dòng sẽ nhanh chóng thay thế các phương pháp miễn dịch và huyết thanh học thông thường trong các xét nghiệm sau:

Thứ nhất là xác định mức độ hormone để đánh giá chức năng tuyến nội tiết hoặc thay đổi tổng hợp hormone do khối u.

Thứ hai là phát hiện một số protein có ý nghĩa chuẩn đoán khối u hoặc một số điều kiện đặc biệt trước khi sinh đẻ.

Thứ ba là xác định vi khuẩn gây bệnh.

Phát hiện các thuốc bị cấm trong máu hoặc kiểm tra nồng độ thuốc trong máu và tổ chức nhằm đảm bảo liều dùng thuốc không vượt quá ngưỡng gây độc.

Các ứng dụng khác bao gồm:

- . Ức chế phản ứng thải loại khi ghép các cơ quan.
- . Miễn dịch hóa thụ động chống lại các kháng nguyên tham gia vào sinh sản (chống thụ thai bằng phương pháp miễn dịch).
- . Định vị khối u với những kháng thể đặc hiệu.
- . Tác động độc tố định hướng tới tế bào ung thư, bằng độc tố hóa học gắn với kháng thể.

Các chất sau đây có thể dùng kháng thể đơn dòng để phát hiện: vitamin, thuốc giảm đau, thuốc ngủ, kháng sinh, thuốc chống viêm, thuốc chống tân sản (chống ung thư), thuốc tim mạch, thuốc gây ảo giác, thuốc hạ đường huyết, các hormone động vật và thực vật, thuốc làm dịu và an thần, thuốc lợi tiểu, steroid (androgene, estrogene, progestin), thuốc trừ sâu, độc tố (aflatoxin).

Nhờ tính đặc hiệu và chính xác cao, sử dụng dễ dàng, kháng thể đơn dòng đã tạo nên một nhánh phát triển mau lẹ nhất của CNSH. Theo tạp chí "High Technology magazine" thị trường kháng thể đơn dòng từ 15 triệu USD năm 1982 đến năm 1992 vượt quá 5 tỉ USD.

Loại sản phẩm kháng thể đơn dòng dùng chủ yếu là các thuốc thử nghiên cứu, thuốc thử cho chẩn đoán *in vitro* và các kháng thể dùng để phân lập các chất sinh học.

Kháng thể đơn dòng được các nhà khoa học Nhật Bản sử dụng trong chẩn đoán ung thư đường tiêu hóa, được công ti CNSH Centocor Inc. Hoa Kỳ dùng chẩn đoán ung thư tụy, trường Đại học Y khoa Nhật Bản, trung tâm Ung thư Quốc gia và công ti Kureha Chemical Industries dùng chẩn đoán ung thư tiền liệt tuyến.

Kháng thể đơn dòng đã được dùng để chẩn đoán và thử nghiệm điều trị carcinoma gan nguyên phát.

Đại học California và trung tâm Y học Albert Einstein (Philadelphia) đã dùng iode phóng xạ gắn vào kháng thể đơn dòng để sau đó công phá đặc hiệu các tế bào ung thư gan.

Kháng thể đơn dòng chống kháng nguyên đặc hiệu của lymphocyte T đã có ứng dụng quan trọng trong dự phòng phản ứng thải ghép khi truyền tủy.

Ngày nay cùng với CNSH sản xuất cytokin (giống như hormone tham gia điều hòa chặt chẽ giữa trả lời miễn dịch dịch thể và miễn dịch trung gian tế bào), người ta cũng đã sản xuất các kháng thể đơn dòng dùng trong chẩn đoán và điều trị miễn dịch.

Các kháng thể đơn dòng của chuột tuy đã được dùng trong điều trị nhưng có một số nhược điểm. Một số nghiên cứu so sánh về tần suất lai tạo giữa tế bào lymphocyte người với các dòng tế bào khác và theo dõi tính bền của chúng. Myeloma (tế bào ung thư được dẫn ra từ các lymphocyte bài tiết kháng thể) của chuột NS-I đã hợp nhất với tần suất cao nhất nhưng kém bền hơn là các tế bào lai giữa người với người.

Vấn đề tìm kiếm tế bào thành viên thích hợp để hợp nhất với lymphocyte người là một hướng mới. Hiện nay còn gặp một số khó khăn trong việc tìm kiếm tế bào thành viên thích hợp.

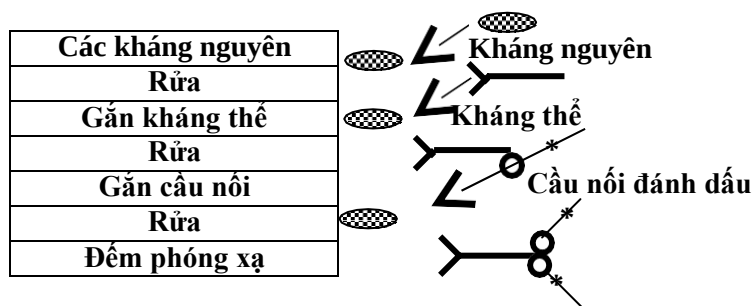
Người ta đã lựa chọn môi trường thích hợp trong lai tạo là hypoxanthine, aminopterin và thymidine (HAT) những tế bào lai giữa myeloma và lymphocyte có khả năng sử dụng hypoxanthine cung cấp trong môi trường HAT.

Trong các phương pháp phân tích miễn dịch phóng xạ RIA (Radio Immuno Assay), RAST (Radio Allergo Sorbent Test) và RIST (Radio Immuno Sorbent Test), người ta xác định hàm lượng kháng nguyên bằng các độ đo phóng xạ của phức kháng nguyên kháng thể. Còn trong phương pháp ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Test), người ta xác định hàm lượng kháng nguyên bằng cách đo độ phóng xạ của phức kháng nguyên kháng thể tạo ra enzyme đặc hiệu gắn trên nó. Sau đây là phương pháp RIA – trong những phương pháp có độ nhạy cao nhất (hình IV.8). Nội dung của nó như sau:

Gắn kháng nguyên lên ba thể nhạy cảm với nó. Rửa, loại bỏ những phân tử kháng nguyên không gắn.

Bổ sung kháng thể đơn dòng gắn đặc hiệu với kháng nguyên. Rửa, loại bỏ những phân tử kháng thể không gắn.

Gắn cầu nối được đánh dấu đồng vị phóng xạ lên kháng thể. Rửa, loại bỏ những cầu nối không gắn. Đếm đồng vị phóng xạ để biết số lượng kháng nguyên.



Hình III. 8. Phương pháp A phân tích miễn dịch phóng xạ RIA

Các phương pháp khác chỉ khác ở phần đuôi gắn vào kháng thể. Thí dụ trong phương pháp RIA, RAST và RIST - phần đuôi gắn có chứa đồng vị phóng xạ. Còn trong phương pháp ELISA - phần đuôi gắn chứa enzyme xúc tác phản ứng tạo màu. Nghĩa là, thông qua phản ứng tạo màu để biết được có (hay không có) kháng nguyên trong mẫu thử.

Hiện nay các phương pháp phân tích sử dụng kháng thể đơn dòng đang nhanh chóng thay thế các phương pháp phân tích miễn dịch và huyết thanh truyền thống trong các phân tích.

6. Các vaccine và vaccine đa trị

6.1. Các vaccine

Vaccine là chế phẩm kháng nguyên gây trạng thái miễn dịch mà không gây bệnh. Vaccine dùng để kích thích đáp ứng miễn dịch nguyên phát, làm tăng tế bào nhớ và khả năng đáp ứng miễn dịch nhớ khi tiếp xúc với kháng nguyên lần sau.

Từ 6 đến 16 tháng 7- 1885, lần đầu tiên tìm cách tiêm chủng chống bệnh dại (một bệnh có khả năng tử vong 100%) cho một em bé 9 tuổi bị chó dại cắn, Louis Pasteur đã cùng với cộng sự của mình là bác sĩ điều trị Grancher đã phải cấy truyền 13 lần virus dại trong tủy sống của thỏ với độc tính tăng dần. Ngày 27- 7 -1885, em bé đã được cứu sống và đã khỏe mạnh. Ngày 14-10-1888, viện Pasteur được thành lập, Grancher đã trình bày phương pháp của Pasteur và số liệu thống kê đã chứng tỏ hiệu quả của nó: 5374 người đã được điều trị trong thời gian từ 16 - 7-1885 đến 01- 07- 1888, tỷ lệ tử vong là dưới 1%.

Như vậy, Pasteur đã mở đầu cho kỉ nguyên đấu tranh chống các bệnh nhiễm trùng và đề phòng chúng bằng tiêm chủng.

Vaccine sống hay vaccine giảm độc lực (Attenuated vaccines): là những chủng vi khuẩn đã được giảm hoạt lực và có thể sinh sản mà không gây bệnh, nhưng kích thích được sinh tổng hợp kháng thể bảo vệ. Vaccine sống đôi khi không ổn định và có thể quay trở lại dạng độc gây ra bệnh mà lẽ ra nó phải bảo vệ cơ thể chống lại. Ví dụ như vaccine kháng bại liệt.

Vaccine này dường như không còn phù hợp cho các nước đang phát triển. Hơn thế nữa virus đã giảm hoạt lực sau khi trải qua nhiều chu kỳ nhân lên trong cơ thể trẻ em được tiêm chủng vẫn có thể phục hồi lại hoạt lực gây ra các triệu chứng bại liệt. Số liệu thống kê ở Hoa Kỳ chứng tỏ rằng trong số 10 trẻ em được tiêm chủng thì vaccine đã gây ra 9 bại liệt (viêm tủy xám) cho 3 trường hợp. Virus vaccine cũng có thể gây ra 3 đến 5 trường hợp viêm não trong 1 triệu người được tiêm chủng đầu mùa.

Vaccine bất hoạt: là những virus hay tế bào vi khuẩn nguyên vẹn đem bất hoạt, là những protein phân lập từ virus, thường gọi là những vaccine “tiểu đơn vị” (vaccine cúm chế từ haemagglutinin, vaccine chống viêm gan B chế từ kháng nguyên bề mặt viêm gan B HbsAg), là những độc tố vi khuẩn đã bất hoạt (giải độc tố bạch cầu và uốn ván); những kháng nguyên bề mặt đã tinh chế (vaccine viêm màng não).

Sử dụng những vaccine bất hoạt thì không có khả năng phục hồi lại dạng độc và tính lành được kiểm tra tốt hơn Tuy nhiên những vaccine bất hoạt lại đắt hơn và tính miễn dịch kém hơn so với vaccine sống.

Vaccine sản xuất bằng kỹ thuật gene:

Có thể dùng tế bào vi khuẩn hay nấm men đã thay đổi bằng kỹ thuật gene để sản xuất các protein miễn dịch với số lượng lớn và dùng để chế những vaccine hiệu quả. Ưu điểm của vaccine này là:

- + Kháng nguyên dùng để kích thích miễn dịch được phân lập từ phần lành tính, không gây bệnh của vi sinh vật gây bệnh, và được tổng hợp bằng các tế bào vi sinh vật hay động vật đã được lắp ráp gene, đảm bảo được ưu điểm lớn là tính an toàn của quá trình sản xuất.

- + Sản xuất vaccine bằng vi khuẩn được lắp ráp gene làm giảm mạnh giá thành vì thay thế được các công đoạn đắt tiền bao gồm môi trường nuôi cấy mô động vật hoặc phôi bằng các môi trường nuôi cấy vi sinh vật thông thường, tương đối đơn giản.

- + Giá thành còn giảm thêm nữa nhờ không phải trang bị tốn kém cho đảm bảo độ an toàn cao (ví dụ vaccine thông dụng chống bệnh lở mồm long móng thường có giá cao do quá trình sản xuất đòi hỏi những nhà xưởng có độ an toàn cao).

- + Tránh được việc phải thử nghiệm tính an toàn trên qui mô lớn, vì vaccine không chứa tác nhân gây bệnh.

+ Giá thành bảo quản và vận chuyển cũng hạ thấp nhờ giảm được các yêu cầu về làm lạnh hoặc đông khô.

Bằng kỹ thuật gene người ta cũng đã sản xuất được các protein vỏ của virus lở mồm long móng, dại, viêm gan B, herpes và cúm. Vaccine kỹ thuật gene đầu tiên cho người là vaccine viêm gan B, chế từ kháng nguyên bề mặt (HBsAg), tổng hợp trong tế bào nấm men hay động vật nuôi cấy đã lắp ráp gene. Chế phẩm đã được tinh chế, loại bỏ các protein và đoạn DNA của chính tế bào chủ.

Một ví dụ khác là vaccine sởi kiểu mới được chế ở Trung tâm Nghiên cứu Vi sinh học ứng dụng (Porton Down nước Anh), với sự hợp tác của Đại học Nữ hoàng (Belfast), ưu việt hơn hẳn loại vaccine sởi thông dụng chế từ virus giảm độc lực. Vaccine sởi kiểu mới chứa hai thành phần kháng nguyên: một ngưng kết tố hồng cầu và một protein liên kết, cả hai đều được tổng hợp bằng kỹ thuật DNA tái tổ hợp.

6.2. Vaccine đa trị

Người ta có thể chế các vaccine đa trị bằng cách ghép nối các gene thành ra gene mã hóa cho protein lai ghép, mang đặc tính miễn dịch của các kháng nguyên khác nhau.

Valenzuela và các cộng sự của mình, năm 1985 đã ghép đoạn DNA mã hóa cho đoạn glycoprotein D (gồm 300 gốc aminoacid) của virus herpes vào đoạn tiền-S, mã hóa cho protein vỏ giữa của virus viêm gan B. Gene mới tái tổ hợp này được ghép vào tế bào nấm men. Khi hoạt động, nó tổng hợp các hạt virus kiểu mới, mang đặc tính kháng nguyên lai và không tác dụng với các kháng thể kháng HbsAg (viêm gan B) lẫn glycoprotein D (herpes). Hoạt tính kháng nguyên kháng cả hai loại virus này được giữ lại, tuy nhiên các loạt virus này không gây ra được sinh tổng hợp kháng thể kháng hai virus này.

Năm 1987, các nhà nghiên cứu ở viện Pasteur Paris (phân viện Ứng dụng Công nghệ Di truyền và phân viện Nghiên cứu Vi khuẩn đường ruột) đã công bố tổng hợp được độc tố bạch hầu lai mang cả hai tiền đề kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (HbsAg). Khi tiêm chủng vào động vật thí nghiệm thì độc tố này gây được sự tổng hợp kháng thể kháng cả độc tố lẫn HbsAg.

Như vậy, ưu điểm lớn của vaccine đa trị là có thể cùng lúc sử dụng nhiều kháng nguyên trong cơ thể nhưng vaccine đơn trị lại được ứng dụng mạnh mẽ hơn bởi tác dụng đặc trị của nó.

Với sự phát triển mạnh mẽ của làn sóng công nghệ sinh học trên thế giới, vừa qua, các nhà khoa học Cuba vừa công bố sản xuất thành công vaccine nhân tạo phòng chống viêm phổi và viêm màng não. Khác với các dạng vaccine được sản xuất theo phương pháp truyền thống, loại vaccine

mới sinh kháng thể được tạo ra bằng cách tổng hợp các chất hóa học. Loại vaccine mới này chưa được công bố giá chính thức nhưng chắc chắn giá sẽ rẻ hơn loại vaccine cũ vốn có giá đến 3 đôla một liều. Chính phủ Cuba dự kiến sẽ tiêm vaccine mới cho tất cả các trẻ em dưới 15 tuổi của nước này.

Cùng với Cuba, Trung Quốc cũng đã công bố điều chế được vaccine phòng chống hội chứng viêm đường hô hấp cấp (SARS). Việc thử nghiệm vaccine trên Khỉ đã thu được các kết quả khả quan và hoàn toàn không gây ra phản ứng phụ. Dự kiến đến cuối tháng 04 -2004 này sẽ có 1.500 liều vaccine chống SARS được xuất xưởng và sau đó sẽ có thêm 20.000 liều nữa được sản xuất.

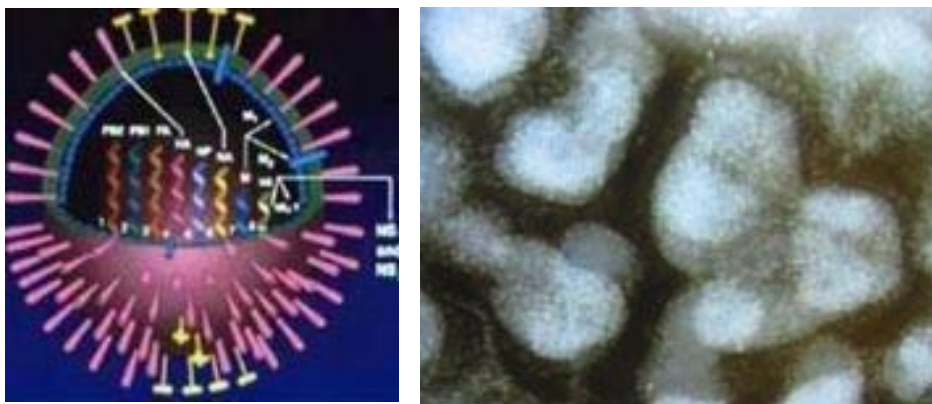
Hãng Vax Geneem đã gần tới đích trong việc nỗ lực điều chế vaccine phòng chống AIDS. Những nghiên cứu ban đầu đã cho thấy những kết quả đầy hứa hẹn.

Song song với những nghiên cứu của Vax Geneem, các nhà nghiên cứu Anh đã thử khoảng trên 20 loại vaccine trên người và động vật. Giáo sư Andrew Mc Michael thuộc phòng thí nghiệm Oxford đã báo cáo về một trong số đó tại hội nghị khoa học Lucy Dorrel: đó là vaccine được điều chế từ DNA; đoạn này khi đưa vào cơ thể thì có khả năng mã hóa protein của virus HIV, loại protein gây nên những phản ứng tự vệ mạnh nhất của cơ thể, theo hai cách: hoặc dưới dạng một DNA “trần” hoặc cùng với một virus gây bệnh đậu mùa đã bị suy yếu. Nhưng nếu tiêm cả hai cùng một lúc là tốt nhất. Ở Anh và cả châu Phi, các nhà khoa học đã thử những mũi tiêm đầu tiên trên người và đang chờ đợi kết quả. Trong tháng 09/2004, họ đã tiêm tổ hợp vaccine trên cho những người đã bị nhiễm HIV trên với hy vọng rằng tổ hợp đó sẽ kích hoạt hệ đề kháng và cùng với liệu pháp phối hợp ba loại thuốc hiện đang sử dụng sẽ giúp con người chiến thắng được bệnh AIDS.

Làn sóng công nghệ sinh học cũng thật mạnh mẽ tại khu vực châu Á-Thái Bình Dương khi mà Việt Nam cũng đã công bố sản xuất thành công hàng trăm ngàn liều vaccine thương hàn vipolyssaccharide đạt tiêu chuẩn của tổ chức y tế thế giới về hiệu lực và an toàn, với giá chỉ bằng 1/7 so với giá nhập từ Pháp, đáp ứng nhu cầu phòng dịch và xuất khẩu.

Việt Nam cũng rất tự hào khi mà vừa qua dịch sốt gia cầm đang lan tràn khắp châu Á. Trong khi đó viện Pasteur Nha Trang, viện Sinh học Nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh đã công bố sản xuất được vaccine chống bệnh sốt gia cầm khi giải mã hoàn toàn bộ gene của virus sốt gia cầm (H₅N₁). (theo tin tức VTV). Gần đây nhất (tháng 12/2005), Tiến sĩ Cao Bảo Vân, viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh đã giải mã được virus H₅N₁ ở các loại gia cầm khác nhau. Giáo Sư Nguyễn Thu Vân ở viện Pasteur Hà Nội cũng đã công bố sản xuất được vaccine A H₅N₁ trên tế bào

thận khi tiên phát, chống bệnh dịch do gia cầm lây qua người, đang chờ xác nhận của Quốc tế để sản xuất hàng loạt vào đầu năm 2006.



Hình III. 9. Virus H₅N₁

Một thành tựu cũng vừa mới được công bố mới đây là chúng ta đã sản xuất được kháng nguyên kháng nọc độc rắn. Tuy mới bước đầu sản xuất liều lượng còn hạn chế, giá thành cao. Tuy nhiên trong tương lai sẽ được sản xuất với lượng lớn nhằm đáp ứng đầy đủ nhu cầu của con người về loại vaccine này. Một hướng mới trong chế tạo vaccine là phát triển các thể kháng thể (antidiotypic antibodies). Khi kháng thể được sinh ra để chống lại một kháng nguyên thì một loại kháng thể thứ hai kháng lại kháng thể thứ nhất cũng sẽ xuất hiện.

Kháng sinh

Năm 1929, Alexandre Fleming đã tìm ra tác dụng của kháng sinh khi nghiên cứu trên đối tượng *Penicillium notatum*. Nhưng thời đại kháng sinh mới thực sự bắt đầu từ những năm 1941, 12 năm sau phát minh của Fleming khi penicilline được tung ra thị trường, loại thuốc kháng sinh này đã được tiêu thụ rất mạnh mẽ. Từ mấy trăm triệu đơn vị sản xuất ở những đầu tiên đến năm 1949 thì số lượng đơn vị đưa ra thị trường hàng tháng lên 800 tỷ đơn vị.

Đến năm 1944 Schatz, Bugio, Waksman đã tìm ra streptomycine. Đến năm 1972, 4000 đến 5000 loại thuốc kháng sinh đã được phát hiện

trong đó có chứa 50 loại kháng sinh được vận dụng trong lâm sàng điều trị dưới dạng đơn độc hay kết hợp, tạo nên một lượng kháng sinh đa dạng có thể chống cùng lúc nhiều loại bệnh.

Nhờ công nghệ sinh học lượng kháng sinh với số lượng lớn đã được tạo ra nhờ nuôi cấy gene hoặc cấy những gene tạo kháng sinh.

Trước đây chỉ có ở nấm và vi khuẩn nên có thể sản xuất kháng sinh với số lượng lớn trong một thời gian ngắn. Thuốc kháng sinh hiện nay thì có rất nhiều, một số thuốc có tác dụng “thần kì” trong những năm đầu mới tìm ra tuy nhiên một thời gian sau đó thì giảm hẳn tác dụng hay hết tác dụng. Một số thuốc kháng sinh mới được tìm ra và danh sách của nó thì ngày một dài hơn.

Tuy nhiên việc sử dụng kháng sinh đòi hỏi phải có sự hiểu biết. Sử dụng đúng liều lượng và có khoa học sẽ đem lại hiệu quả cao. Ngược lại thì sẽ không đem lại lợi ích gì mà còn rất nguy hiểm.

Hiện nay liệu pháp kháng sinh vẫn là một trong những phương pháp điều trị có hiệu quả nhất nhưng thời gian qua đã thấy nhiều biến chứng virus, xuất hiện nhiều “đối tượng mới”. Nhiều vấn đề cần được đặt ra và cần được giải đáp. Ví dụ penicilline được dùng lần đầu không thấy có dị ứng nhưng thử nghiệm mới đây đã cho thấy có gây tai biến.

Trong quá trình phát triển của y học thì các bệnh thần kinh và các bệnh tâm thần ngày càng được chú ý mặc dầu đã được phát hiện từ lâu. Tỷ lệ người mắc bệnh khá cao, đã để lại những di chứng vô cùng nghiêm trọng, không những đối với người bệnh mà còn với toàn xã hội. Bên cạnh các phương pháp điều trị hiện đại như phẫu thuật, huấn luyện di chứng và thích nghi, tâm lý liệu pháp và xã hội liệu pháp... thì phương pháp điều trị bằng thuốc vẫn đóng vai trò quan trọng.

Mấy năm gần đây, việc nghiên cứu và sản xuất các loại thuốc về thần kinh và nhất là tinh thần đã có nhiều cống hiến lớn lao. Nhiều loại thuốc mới đã được áp dụng vào công tác điều trị có kết quả tốt, đưa một số người bệnh về với cuộc sống bình thường.

Cùng với sự phát triển mạnh mẽ của công nghệ gene, công nghiệp sản xuất vaccine ngày càng được nhân rộng và phổ biến là một nhân tố quan trọng đối với chiến lược y tế và sức khỏe cộng đồng trong tương lai.

7. Công nghệ gene

Ngày nay người ta càng đi sâu vào tìm hiểu những vấn đề sinh hóa của gene. Nhờ hiểu biết sâu sắc về sinh học phân tử gene người ta đã có thể biết rằng con người có khoảng 35.000 gene và có tới 2% trường hợp bị

bệnh do khuyết tật gene. Ngày nay nhờ giải mã được bộ gene người, lập ra được bản đồ gene cho nên người ta có thể giải quyết những trường hợp bị bệnh do khuyết tật gene bằng cách thay thế các gene bị khuyết tật bởi các gene khỏe mạnh. Khoa học đã áp dụng công nghệ gene và công nghệ sinh học để bất động vật, vi khuẩn, nấm men, virus sản xuất những thuốc chữa bệnh quý với một liều lượng lớn để điều trị những bệnh tật hiểm nghèo mà trước đây người ta chỉ tạo ra được với một lượng quá ít ỏi. Bằng công nghệ gene người ta đã tạo ra được chuỗi tế bào tiết ra dopamine để chữa bệnh Parkinson. Cũng bằng cách này người ta đã xây dựng phương pháp chữa trị căn bệnh Alzheimer (bệnh lú lẫn ở người già).

Người ta đã cấy tế bào thần kinh lợn bao tử vào não bộ của Maribeth Cook, một người phụ nữ 34 tuổi là nạn nhân tai biến mạch máu não từ 5 năm trước làm liệt nửa người sau phẫu thuật. Cook đã có thể đi lại gần như bình thường, nói năng lưu loát, phong độ và tâm lí bình thường..

Jimmfinn đã 20 năm khô vì bệnh liệt rung, không thể đi lại, nói năng và hoạt động bằng hai tay. Sáu tháng sau khi ca phẫu thuật cấy tế bào thần kinh Lợn vào não bộ, Jimmfimn bắt đầu đi lại được.

Maribeth Cook và Jimmfimn đã tham gia đợt đầu của chương trình nghiên cứu lâm sàng về kĩ thuật điều trị chấn thương não bằng tế bào thần kinh Lợn.

Kỳ lạ hơn, chàng trai 20 tuổi Robert Pennington bị bại gan trầm trọng, sinh mạng của Robert chỉ có thể được cứu sống trong trường hợp được ghép buồng gan lợn để duy trì sự sống và suốt 3 ngày chàng trai đã được cứu sống nhờ buồng gan lấy từ 1 gene ở lợn.

Việc cấy ghép tế bào lách sản xuất insulin có thể cứu sống bệnh nhân bị bệnh tiểu đường do cơ thể mất khả năng tổng hợp insulin.

- Lợn nhân bản cung cấp nội tạng cho người- hiện tượng trong tầm tay.

Một con lợn nhỏ màu trắng, tai to tên là Gordy ra đời tại phòng thí nghiệm của trường Đại học Tổng hợp bang Mitsuri (Mỹ), là sự kiện khoa học lớn gây chấn động không kém gì sự kiện con cừu Dolly. Đây là một loại lợn tai to được tạo ra từ công nghệ nhân bản đã mở ra một triển vọng lớn để cung cấp nội tạng cho người bệnh có yêu cầu thay thế một số bộ phận trong cơ thể.

Từ trước đến nay việc ghép nội tạng lợn cho người chưa thành công vì bộ phận ghép thường bị cơ thể nhận đào thải bởi nội tạng cho không phù hợp với gene của cơ thể nhận. Lợn Gordy nhân bản thiếu 2 gene đã khắc phục được khó khăn này. 2 gene này không hoạt động và đã bị loại bỏ ra. Có hai gene này thì chúng có nhiệm vụ sản sinh ra một loại

đường trong cơ thể nhờ enzyme α -1,3-galactosyltransferase, viết tắt là ggta1. Chất này là thủ phạm gây ra phản ứng đào thải vì vậy khi loại bỏ 2 gene này đồng thời loại bỏ luôn ggta1 do đó kháng thể không còn có tác dụng và sẽ không xảy ra phản ứng đào thải bộ phận lạ vì vậy nội tạng của lợn Gordy sẽ không bị đào thải.

Mới đây, một phụ nữ Canada bị bệnh cholesterol máu cao gấp 10 lần mức nguy hiểm thông thường và thường xuyên có cơn đau tim lặng người do tắc nghẽn mạch vành. Nguyên nhân là do thiếu gene receptor của LDL (low density lipoprotein) nên không làm nhiệm vụ chuyển vận được cholesterol về gan gây mỡ huyết làm tắc nghẽn mạch vành. Nhờ công nghệ gene đã đưa gene vào tế bào gan, sức khỏe người phụ nữ đó đã ngày càng một cải thiện hơn.

Mỹ vẫn là nơi hoạt động nghiên cứu gene diễn ra hối hả nhất hiện nay. Các nhà nghiên cứu ở trường Đại học Michijan đang thử nghiệm thuốc tiêm gene chống ung thư vú và ung thư tử cung ở phụ nữ. Tại viện Nghiên cứu Ung thư Quốc gia Mỹ người ta đã thử loại thuốc tiêm gene chống ung thư não.

- Gene ung thư trong công nghệ sinh học.

Có một số dạng ung thư phát hiện là do gene ung thư. Phần lớn các gene ung thư đều là những alen đột biến của các gene bình thường trong tế bào, những gene này mã hóa và tổng hợp nên các hormone.

Một số trường hợp chỉ riêng lẻ 1 gene ung thư đã đủ để gây ra ung thư. Người ta đã thực hiện thành công việc truyền loại gene ung thư này cho chuột làm cho chuột bị ung thư (1989)

Một số trường hợp khác, gene ung thư chỉ có thể thực tế gây nên ung thư nếu được gắn với một số đột biến khác hoặc gắn với một số nhân tố trong môi trường.

Vì các yếu tố gắn với gene ung thư nêu trên có thể được nghiên cứu, xác định qua nuôi cấy tế bào, do đó người ta đã sử dụng các động vật truyền gene để phát hiện các nhân tố dẫn tới phát triển ung thư hoặc các bệnh lý khác ở người.

Nhiều nghiên cứu trên động vật và cả trên người, đều xác nhận bản thân ung thư và u ác tính là không di truyền. Người ta chỉ phát hiện được các tổ chất di truyền (về kiểu gene) đối với việc tạo ung thư.

Năm 1982, người ta đã tách được tế bào ung thư của người, các đoạn DNA có thể làm biến đổi các nguyên bào sợi của chuột phát triển trong nuôi cấy, từ dạng bình thường đến tế bào ung thư. Các gene này gọi là gene ung thư.

Trước đây, một giai đoạn khá dài, người ta vẫn cho nguyên nhân ung thư là do đột biến gene, đột biến NST (đứt gãy, tăng số lượng vô tổ chức...)

Ngày nay, người ta đã có đủ kinh nghiệm chứng minh ung thư không phải có nguyên nhân từ đột biến gene, đột biến NST mà chính đây là các hậu quả của ung thư. Khi một tế bào bình thường biến thành tế bào ung thư, ung thư ác tính thì trong tế bào ấy xảy ra nhiều biến đổi sâu sắc về hóa, lí. Tế bào này không còn chịu sự điều khiển có tổ chức của cơ thể nữa. Trong tế bào ung thư xảy ra đột biến gene, đứt gãy, tăng giảm số lượng NST không theo qui luật nào cả, đặc biệt làm cho tế bào có khả năng tăng sinh sản, phân bào liên tục cả trong điều kiện nuôi cấy cũng như trong cơ thể người bị ung thư, cái mà ta thường gọi là di căn của ung thư.

Trong thực nghiệm nuôi cấy trong ống nghiệm người ta xác nhận virus có thể biến đổi tế bào lành thành tế bào ác tính ở người.

Vì khuẩn than đang là nỗi kinh hoàng cho toàn nhân loại thì nay được các nhà khoa học Mỹ xem là “bảo bối”, các nhà nghiên cứu phát hiện các protein bệnh than sau khi biến đổi gene có khả năng tiêu diệt tế bào ung thư và không làm tổn thương đến các tế bào khác. Trong cơ thể người ta phát hiện đặc điểm quan trọng này cho thấy nhân loại có rất nhiều khả năng tìm ra loại vũ khí tấn công hữu hiệu chống ung thư.

Được tiến hành thí nghiệm trên 100 con chuột khi cho chúng nhiễm 3 chủng ung thư khác nhau: ung thư thịt tổ chức mềm, ung thư da và ung thư phổi. Sau đó lấy protein bệnh than (thành phần chính của vi khuẩn bệnh than) đã biến đổi gene chia làm hai lần tiêm. Kết quả đạt được đã gây sững sốt cho nhiều người, bởi vì các tế bào ung thư gần như đã bị tiêu diệt hết và trong suốt quá trình thí nghiệm thì các tế bào lành trong cơ thể chuột không hề bị tổn thương.

- Dùng súng bắn gene chữa ung thư.

Một nhóm các nhà nghiên cứu Mỹ vừa tuyên bố đã phát minh ra loại "súng di truyền gene" có thể bắn các viên đạn chứa DNA vào trong tế bào để chống các khối u ung thư. Bác sĩ Aruna, Tổ trưởng tổ nghiên cứu Đại học Winsconsin (Mỹ) nói: "dùng súng bắn gene có ưu việt hơn các phương pháp đưa gene vào cơ thể để chữa bệnh ở chỗ nó không độc hại, dễ dàng xuyên qua vách tế bào". Tuy nhiên ông cũng thừa nhận dùng súng bắn gene chỉ thích hợp cho việc chữa trị các khối u ở gần bề mặt da. Nhưng nếu cắt bề mặt da thì cũng có thể dùng gene để chữa trị các khối u nằm sâu bên trong.

Năm 2002, giáo sư Daniel thuộc Đại học Stanford (Mỹ) đã tiến hành thử nghiệm dùng virus để chữa trị cho 35 bệnh nhân ung thư gan ở

giai đoạn cuối. Sau khi tiến hành cấy virus vào gan thì ở người bệnh xuất hiện những biểu hiện của bệnh cúm như đau họng, sổ mũi và sốt cao.

Theo các nhà khoa học thì đây là biểu hiện của các phản ứng phụ của liệu pháp virus: "Các phản ứng này nhẹ hơn nhiều so với triệu chứng: buồn nôn, suy sụp thể chất và bị rụng tóc".

Các bệnh nhân này theo dự đoán của bác sĩ chỉ có thể sống tối đa 6 tháng. Song sau khi cấy virus vào gan họ đã sống được trên 2 năm.

Qua siêu âm, các khối u trong gan của 35 bệnh nhân này nhỏ dần hoặc không phát triển thêm.

Các nhà khoa học tại Đại học Southwestern medical center bang Texas (Mỹ) cũng đã tiến hành thí nghiệm dùng loại Adenovirus trong điều trị ung thư buồng trứng.

Nhóm các nhà khoa học của Mayo Clinic đã tiến hành thí nghiệm thành công trình việc dùng vaccine chống bệnh sởi, có chứa virus sởi để điều trị các ca ung thư máu. Hiện nay các nhà khoa học tại Mayo Clinic này đang chuẩn bị các bước thử nghiệm trên người.

Các loài virus được sử dụng trong liệu pháp gene được coi là những dẫn xuất của DNA. Đây là cơ sở để các nhà khoa học dùng virus biến đổi gene. Trong điều trị bệnh ung thư phổi các nhà khoa học đã phát hiện ra rằng trong DNA của người mắc bệnh ung thư phổi có sự thiếu hụt một phần gene. Họ đã lấy phần gene thiếu hụt này cấy vào virus đã được biến đổi gene. Qua đường thở các virus này đã được người bệnh hít vào phổi, sau khi vào phổi các virus này sản xuất ra protein để chống lại ung thư.

Gần đây, giáo sư David Sandersen cùng với các cộng sự ở Đại học Purdue đã thành công trong việc biến đổi gene virus Ebola, vốn dĩ là loại virus này không những không còn nguy hiểm đối với con người mà còn trở thành loại tân dược để điều trị các bệnh về phổi rất có hiệu quả.

Trường hợp insulin tổng hợp tự nhiên trong cơ thể không đủ, glucose phải thải ra ngoài theo đường nước tiểu gây nên bệnh đái tháo đường. Người bị bệnh đái tháo đường chỉ được cứu sống nếu bổ sung vào cơ thể họ một lượng insulin nhất định. Trước kia insulin ít và đắt khó đáp ứng được nhu cầu của những người bị bệnh.

Ngày nay với công nghệ sinh học hiện đại người ta đã sản xuất ra được nhiều insulin và rẻ nên đáp ứng được nhu cầu cho những người bị bệnh đái tháo đường. Công nghệ sinh học hiện đại đã sản xuất ra insulin trong các nhà máy tí hon là vi khuẩn *E. coli*. Trong dây chuyền sản xuất này, khâu đầu tiên là tách gene phụ trách tổng hợp insulin trong cơ thể sống có thể từ người hoặc từ Chuột. Gene insulin cũng có thể được tổng hợp nhân tạo trong ống nghiệm. Sau đó là tách plasmid từ một loại vi

khuẩn, tức là vào tế bào vi khuẩn nhận (*E. coli*). Khâu tiếp theo là tạo dòng DNA mang gene insulin bằng cách cho gắn gene này vào plasmid tạo thành một DNA plasmid tái tổ hợp mang gene insulin.

Ở đây có sử dụng vai trò của enzyme cắt giới hạn. Người ta chọn một enzyme cắt thích hợp đối với cả DNA mang gene insulin và cả plasmid. Enzyme cắt sợi đơn DNA nói trên thành các đoạn, cắt mở vòng plasmid. Dưới tác động của một loại enzyme nối, đoạn DNA có mang gene insulin được chọn ra ghép vào plasmid, sau đó plasmid được đóng vòng thành một plasmid "lai" có mang gene insulin.

DNA plasmid tái tổ hợp này được chuyển vào nhà máy sản xuất insulin (*E. coli*). Bằng các phương pháp khác nhau như dùng CaCl_2 tác động làm màng tế bào vi khuẩn *E. coli* có thể thấm qua loại plasmid nói trên.

Trong nhà máy này DNA plasmid tái tổ hợp được nhân bản gene, insulin trong đó cũng được nhân bản và được truyền liên tiếp cho các thế hệ tế bào vi khuẩn qua cơ chế phân bào cực nhanh của tế bào vi khuẩn *E. coli*, được sao mã rồi giải mã tổng hợp ra hàng loạt insulin. Tất cả đều do bộ máy di truyền của tế bào vi khuẩn nhận điều khiển.

- Công nghệ sinh học với gene khuyết tật .

Bệnh câm điếc có nguyên nhân do vùng não có liên quan đến tiếng nói bị tổn thương. Để chữa bệnh này trước đây người ta phải lấy tế bào thai người (từ các trường hợp phá thai) để cấy vào cơ thể bệnh nhân. Tuy đã có các biện pháp làm thích nghi tế bào được cấy ở cơ thể bệnh nhân nhưng nhiều trường hợp vẫn gặp khó khăn do phản ứng thải loại.

Một phương hướng giải quyết bằng CNSH hiện đại do các nhà khoa học Nga ở viện Sinh học gene đang theo đuổi và đã có rất nhiều kết quả đó là đã tách được các gene có tác động làm tăng trưởng các mô thần kinh trên não bộ.

Một phát minh gần đây nhất đã được công bố là dùng tế bào thần kinh ruồi cái cấy vào não bệnh nhân câm điếc bẩm sinh, bệnh nhân teo não, nhũn não, bại liệt do não thiếu một loại tế bào nhất định.

Quá trình thí nghiệm được tiến hành đầu tiên trên ếch và sau đó là trên chuột đều thu được kết quả tốt, chứng minh rõ là các tế bào thần kinh ruồi cái có tác dụng sinh ra các chất kích thích sinh học. Bệnh nhân câm điếc bẩm sinh được cấy tế bào thần kinh ruồi cái đã phục hồi được khả năng nói, giao tiếp bình thường.

Tìm ra loại gene khuyết tật gây nên căn bệnh rối loạn ngôn ngữ ở trẻ em:

Các chuyên gia ở trung tâm Nghiên cứu gene người thuộc Đại học Oxford (Anh) vừa qua đã công bố một nghiên cứu mới trên Tạp chí Nature

số ra tháng 10- 2001. Theo đó người ta phát hiện thấy NST số 7 trong tổng số 23 NST của cơ thể người là nhân tố quyết định khả năng học ngôn ngữ của con người.

Trong loại gene này có một khuyết tật di truyền gọi là FOX P₂ gây cản sự phát triển não của bào thai làm cho trẻ sinh ra mắc tật nói lắp. Qua nghiên cứu giúp cho khoa học phát hiện được cơ cấu phát triển khả năng phát ngôn ngữ của trẻ thơ cũng như quá trình tiến hóa về ngôn ngữ nhưng quan trọng hơn là hiểu được cơ chế gây bệnh từ đó tìm ra phương pháp khắc phục chứng nói lắp.

Năm 1998 các nhà khoa học cũng đã bắt tay vào nghiên cứu những khuyết tật của NST số 7 và đã phát hiện được có những người không có tiền sử gia đình mắc bệnh rối loạn phát ngôn ngữ nhưng bản thân lại có gene FOX P₂ này. Trong gene FOX P₂ này có chứa 1 hóa chất dạng bậc thang gọi là guanine, chất này được thay thế bằng adenine và sự thay đổi cực nhỏ đó có thể gây ra những hiểm họa rất lớn cho con người. FOX P₂ là 1 thành viên trong tổ hợp gene tạo ra các protein cho quá trình sao chụp gene và biến chứng thành thể truyền tin RNA. Đây là một trong những quá trình phức tạp, trong đó tạo ra các protein cần thiết duy trì cho cơ thể con người tồn tại và phát triển.

Các hợp chất guanine do adenine thay thế sẽ làm giảm số lượng của các vật chất tạo nên thể truyền tin RNA và cuối cùng ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình phát triển não của bào thai làm cho trẻ em bị mắc chứng ngọng, nói lắp và ảnh hưởng trực tiếp đến việc giao tiếp hay còn gọi là căn bệnh rối loạn ngôn ngữ đặc trưng (PLD).

Nghiên cứu trên của các chuyên gia WCHC mở ra một triển vọng mới trong việc tìm ra nguyên nhân gây bệnh có liên quan đến di truyền và từ đó tìm ra những biện pháp ngăn ngừa từ bố mẹ sang con cái.

Gần đây đã công bố thành tựu của các nhà khoa học Pháp thuộc trung tâm Nghiên cứu Khoa học Quốc gia (CNRS) và viện Nghiên cứu Di truyền Phân tử Paris phát hiện nguyên nhân của bệnh béo phì do sự xuất hiện của gene đột biến beta 3, là gene cảm nhận adrenaline bằng các kỹ thuật công nghệ sinh học hiện đại, người ta tìm cách tác động, khôi phục hoạt động của gene do sự khiếm khuyết về di truyền để giải quyết "tận gốc" chứng béo phì trên cơ sở phục hồi lại trạng thái cân bằng cơ thể.

Thật là một dịch vụ gene và công nghệ gene hấp dẫn và sôi động đang diễn biến từ các bình cô cong và ống nghiệm để đi đến kết sắt và nhà băng. Với đà này của công nghệ gene, người ta rất lạc quan sẽ tạo được những nhân tài như kiểu Moza, Einstein....và tạo ra những con người đẹp:" trong như ngọc trắng như ngà".

8. Biện pháp thụ thai *in-vitro*

Cách đây 26 năm, (năm 1978), cả thế giới kinh ngạc đón chào Louise Brown, người đầu tiên ra đời bằng phương pháp thụ tinh trong ống nghiệm. Hiện nay trên thế giới có khoảng 500.000 người đang sống cũng đã ra đời trong ống nghiệm.

Đúng 20 năm sau, khi đứa trẻ đầu tiên ra đời trên thế giới bằng phương pháp thụ tinh trong ống nghiệm, ngày 30 tháng 04 năm 1998, ba em bé thụ tinh trong ống nghiệm đầu tiên của Việt Nam cất tiếng khóc chào đời. Tính đến nay, tại bệnh viện Phụ sản Từ Dũ thành phố Hồ Chí Minh đã có 2000 bé như thế từ chương trình này (em bé thứ 2000 ra đời ngày 11-12-2005). Đó là một hành trình kì diệu, gian nan và xúc động mà có những chuyện ngẫm lại vẫn thấy bồi hồi... Để làm được việc thụ tinh trong ống nghiệm, một điều quá mới mẻ ở Việt Nam về mọi mặt: kĩ thuật khoa học, dư luận xã hội, luật pháp,... Bác sĩ – anh hùng lao động Nguyễn Thị Ngọc Phụng – Giám đốc bệnh viện Phụ sản Từ Dũ đã phải “chiến đấu” với một sự chịu đựng và kiên trì ghê gớm cho cú đột phá mang tính bước ngoặt trong lịch sử Y học Việt Nam này. Việc có một đứa con trong gia đình là nỗi khao khát làm mẹ của rất nhiều phụ nữ hiếm muộn, nỗi bất hạnh, thậm chí dẫn đến tan vỡ gia đình của những cặp vợ chồng vô sinh.

Theo tài liệu thống kê của Trung tâm Brown Hall (Anh) – nơi đưa bé thụ tinh trong ống nghiệm đầu tiên ra đời, công bố trong năm 1999 thì tỉ lệ thành công của phương pháp thụ tinh trong ống nghiệm thông thường (IVF) là 30%, trong khi tại bệnh viện Từ Dũ đạt tới 38-40%. Với những kĩ thuật thụ tinh trong ống nghiệm phức tạp hơn như thụ tinh trong ống nghiệm bằng kĩ thuật ICSI (bơm tinh trùng vào trứng) tại Bỉ, nơi đầu tiên áp dụng kĩ thuật này, hiện tỉ lệ thành công là 35,9% thì tại bệnh viện Từ Dũ đã được thực hiện trong 171 ca, mẹ tròn con vuông 31 ca, tỉ lệ thành công 41,5%. Thụ tinh trong ống nghiệm bằng xin trứng của người khác thì ở Brown Hall đạt 33% thì tại bệnh viện Từ Dũ thật đáng kinh ngạc, tỉ lệ thành công đến 51% với 111 ca đã thực hiện thì 56 ca thành công.

Thụ tinh trong ống nghiệm đang hướng về phía trước nhưng còn rất nhiều vấn đề cần giải quyết trước nhu cầu về mượn tử cung, cho nhận tinh trùng ...hiện đang “đóng băng” chờ quyết định của pháp luật. Ở đây chưa nói đến việc thụ tinh trong ống nghiệm không phải lúc nào cũng “suôn sẻ” như chúng ta mong muốn. Trong phóng sự khoa học ở tờ Tạp chí Thế giới mới năm 2000 cũng đã có bài viết “Thụ tinh trong ống nghiệm; hạnh phúc đi cùng nỗi lo” có viết: thụ tinh trong ống nghiệm dẫn đến đa thai và sinh non. Khi trẻ chào đời không đủ tháng đủ ngày thường mang một số bệnh như suy hô hấp, xuất huyết màng não, thậm chí phát triển tâm thần và đặc biệt là bệnh vồng mạc ở mắt gọi tắt là ROP

(retinopathy of prematurity) hoặc bị RLF (retrolental fibrosis) dẫn đến mù hoàn toàn.

Thụ tinh trong ống nghiệm là thế. Tuy nhiên, đối với nhân bản người, có lẽ một trong những vấn đề gây tranh cãi nhất là sao cho giữ được bản sắc riêng của từng cá nhân được sinh ra trên đời này. Ngày 31 tháng 7 năm 2001, Quốc hội Mỹ đã thông qua đạo luật cấm mọi hình thức nhân bản phôi thai người. Một số nhà khoa học đã lập tức lên tiếng phản đối đạo luật này. Xét về khía cạnh y học thì việc nhân bản tế bào gốc trong phôi thai sẽ mở ra những triển vọng chưa từng thấy để điều trị một số bệnh được gọi là vô phương cứu chữa. Nhưng nếu dùng công nghệ nhân bản để tạo nên một con người hoàn chỉnh thì lại là điều hoàn toàn khác. Dù thế nào đi chăng nữa, chúng ta phải thừa nhận rằng, khó có thể ngăn được bước đi của các nhà “nhân bản học”. Còn về tương lai của công trình có một không hai này thì như Gregor Pence, một nhà triết học người Mỹ nhận xét: “Nếu một đứa trẻ đầu tiên ra đời bằng nhân bản khỏe mạnh thì chúng ta sẽ dụi ngay đi và quên dần với nó. Nhưng nó lại ốm yếu, quặt quẹo hoặc thậm chí chết thì việc nhân bản sẽ bị cấm trong vòng 100 năm”.

Theo tin tức từ Seoul, Hàn Quốc (12/2/2004), các nhà khoa học Hàn Quốc đã nghiên cứu từ 245 trứng đã nhân thành 30 phôi. Phôi phát triển từ tế bào gốc và có khả năng phân chia thành tế bào các cơ quan. Các nhà khoa học Hàn Quốc không có ý định nhân bản vô tính để hoàn chỉnh một con người mà trong quá trình phân chia phôi thành các cơ quan, các nhà khoa học dùng nó trong việc chữa trị một số bệnh hiểm nghèo. Gần đây các nhà khoa học Australia và Mỹ cũng đang nghiên cứu tế bào gốc để thay thế các cơ quan mà con người bị thương tổn các cơ quan đó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đái Duy Ban, Lữ Thị Cẩm Vân, 1994. Công nghệ gene và công nghệ sinh học ứng dụng trong y dược học hiện đại Nxb Y học Hà Nội.
2. Phan Cự Nhân- Trần Đình Miên, 1997. Tìm hiểu công nghệ sinh học hiện đại. Nxb Giáo dục Hà Nội.
3. Trương Văn Lung, 1995. Chuyên đề công nghệ sinh học. Tủ sách Đại học Khoa học Huế
4. Nguyễn Văn Uyển, Nguyễn Tiến Thắng, 1996. Những kiến thức cơ bản về công nghệ sinh học, Nxb Giáo dục Hà Nội.
5. Bezborodov A.M., Moxolov V.V., Rabinovitch M.I., Nguyễn Văn Uyển, Ngô Kế Sương và nnk, 1994. Công nghệ sinh học và một số ứng dụng tại Việt Nam, Tập I, II. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.

-
6. Tạp chí Thế giới mới số 565, trang 3, trang 67. Tạp chí Thế giới mới số 566, trang 3, 6.
 7. Tạp chí Thế giới mới số 571, trang 57. Tạp chí Thế giới mới số 565, trang 3, trang 67. Tạp chí Thế giới mới số 595, tr: 50, 56, 60. Tạp chí Thế giới mới 613, trang 3-7. Nxb Giáo dục Hà Nội.
 8. Tạp chí Tri thức trẻ số 78, trang 87,88. Tạp chí Tri thức trẻ số 80, Tạp chí Tri thức trẻ số 93, trang 101. Tạp chí Tri thức trẻ số 98, trang 71.
 9. Bệnh viện Bạch Mai, 1968. Thuốc điều trị các bệnh thần kinh. Nxb Y học Hà Nội
 10. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc lần thứ nhất tháng 12/1999.
 11. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc 2003, Hà Nội 16-/12/2003
 12. Báo cáo khoa học Hội nghị “Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống định hướng y dược học”, Học viện Quân y ngày 28 tháng 10 năm 2004.
 13. Albert Sasson, 1988. Biotechnologies and development Công nghệ sinh học và phát triển. Người dịch: Nguyễn Hữu Thước, Nguyễn Lâm Dũng và một số dịch giả khác. Nxb Khoa học & Kỹ thuật Hà Nội.

Chương IV

Sự kết hợp công nghệ sinh học cổ truyền và công nghệ mới trong việc nâng cao sức khỏe con người

Đây là vấn đề còn đang mới mẻ và đang được nhiều nước sử dụng để nâng cao khả năng chữa trị bệnh cho con người. Đây cũng là một hướng phát triển mới cho ngành y học thế giới và có triển vọng lớn.

1. Kết hợp chẩn đoán Đông y-Tây y để định hướng bệnh

Một trong các phương pháp hiện đại hóa y học cổ truyền là dùng phương pháp, kỹ thuật của Tây y để chẩn đoán, từ đó thầy thuốc quyết định nên chữa theo Tây y hay Đông y. Nhiều bệnh cần phải theo Tây y mới có khả năng cứu chữa hoặc cứu sống như các bệnh cứu khẩn cấp, hôn mê, bệnh cần phẫu thuật, bệnh nhiễm trùng nặng. Nhiều bệnh mang tính xác định rõ nguyên nhân hoặc có tổn thương rõ ràng, chữa theo Tây y có kết quả rõ rệt như lao phổi, loét dạ dày, tá tràng, viêm phổi, ung thư phát hiện sớm, ... Các phương pháp hiện đại như nội soi dạ dày, đại tràng siêu âm, siêu âm qua nội soi, CT scanner, chụp động mạch vành, thông tim, cắt đốt, ... đã chẩn đoán sớm trong khi Đông y không có khả năng xác định.

Ngược lại, Đông y, theo Tổ chức Y tế Thế giới, có khả năng chữa tốt các bệnh mãn tính về tiêu hóa, thần kinh, đau nhức, các bệnh chức năng, (không có tổn thương rõ ràng).

Thuốc bổ Đông y, thuốc kích thích ăn uống có tác dụng tốt. Châm cứu, bấm huyệt có tác dụng tốt cho bệnh đau dây thần kinh tọa, liệt dây thần kinh số 7, gáy tê. Một số bệnh chữa theo Đông y rẻ tiền, hiệu quả cao như viêm dạ dày, xung huyết, bệnh đại tràng chức năng.

Ngày nay nhiều thầy thuốc Đông y tiến hành khám bệnh theo phương pháp lâm sàng, xét nghiệm, siêu âm song song với chẩn đoán Đông y theo thể bệnh. Vì vậy, các lương y đã thu được kết quả tốt trong điều trị.

2. Kết hợp Đông y-Tây y để chữa bệnh

Nhờ phương pháp phân tích hoạt chất chính xác, thí nghiệm trên súc vật mà người ta phát hiện ra tác dụng mới khác hẳn trước đây. Thí dụ: tả trạch, hà thủ ô được chữa chứng mỡ trong máu cao, kim tiền thảo chữa thận, dầu hạt tiêu chữa hen, bạch hoa xà thiệt thảo chữa ung thư.

Khi phát hiện thuốc có tác dụng tốt, không độc thì kết hợp cùng thuốc Đông-Tây y cùng ngày hoặc cùng làm thành một viên thuốc đều có tác dụng tăng lên. Ví dụ: thuốc tiêu khát hoàn gồm có thuốc Đông y và

một loại thuốc Tây y như Daonil. Thuốc tiêm phong hoàn gồm thuốc Đông y và một chất thuốc Tây y chữa giảm đau, chống viêm khớp.

Sai lầm lớn nhất khi kết hợp Đông-Tây y là quan niệm sai về phủ tạng, cơ quan. Sai lầm thứ 2 là không biết rõ tác dụng của thuốc nên áp dụng sai.

Một số người quan niệm thuốc Bắc, thuốc Nam không độc, gây mát, nên dùng dài ngày hay liều cao. Số người ngộ độc thuốc Đông y vẫn thường xảy ra. Mức độ nặng thì gây hôn mê, tụt huyết áp, suy gan, suy thận, ...Mức độ nhẹ hơn, gây viêm gan do ngộ độc, nôn mửa, suy thận mãn tính diễn biến chậm. Nguyên nhân gây ngộ độc thường do truyền miệng, tự dùng không biết rõ tác dụng hoặc chẩn đoán sai, hiểu sai chẩn đoán Đông-Tây y. Có người bị hôn mê do uống vỏ cây vú sữa hi vọng chữa tiểu đường. Nhiều người bị ngộ độc mật cá trắm khi uống (thực ra chỉ dùng ngoài như bôi da).

Khi kết hợp Đông-Tây y trong một đợt, một ngày, thông thường theo nguyên tắc không độc, không làm mất tác dụng của thuốc kia, không gây biến chứng nặng hoặc tác dụng phụ. Phải biết chắc, hiểu rõ tác dụng của từng loại thuốc để kết hợp. Ví dụ: vitamin có thể kết hợp với nhân sâm, có tác dụng bổ dưỡng. Người ta phát hiện ra interferon dùng cùng với tiểu sai hô thang gây bệnh gan nặng hơn. Ngũ vị tử dùng chung với sorbetol gây tiêu chảy. Thuốc tiêm khát hoàn đã có thêm thuốc Tây hạ đường huyết lại dùng thêm thuốc hạ đường huyết khác như diabinese sẽ gây tụt đường huyết.

Không kết hợp hai loại thuốc độc với nhau. Ví dụ: lệ khô kết hợp với thuốc độc Tây y, hai thuốc làm tăng tác dụng của nhau khi dùng liều cao và ngay cả khi dùng đúng liều, gây bệnh nặng hơn. Hoặc laxix dùng chung với râu ngô, mã đề, rễ cỏ tranh gây ra tiểu nhiều, mất nước, rối loạn điện giải.

Không dùng quá nhiều thuốc khi không biết rõ tác dụng, một thang thuốc Đông y thông thường có từ 5 đến 10 vị, trong khi chưa biết rõ hết từng vị lại dùng thêm thuốc Tây y có thể gây ngộ độc cấp hoặc ngộ độc từ từ mà không nhận ra. Các bệnh ngộ độc thường gặp nhất là suy gan, suy thận, chảy máu nặng do dùng thuốc tiêm vào búi trĩ. Phải biết rõ chẩn đoán của Tây y hoặc Đông y để kết hợp thuốc. Nếu không biết bệnh loét đại tràng mà lại dùng Đại Hoàn sẽ gây tiêu chảy nặng hơn.

Tóm lại, khi kết hợp hai loại thuốc Đông y và Tây y nên kết hợp việc làm tăng tác dụng chữa bệnh nhưng không gây tác dụng phụ. Cần phải giảm liều, phải theo dõi khi dùng chung, không dùng nhiều thuốc khi chưa rõ tác dụng. Không dùng các loại dễ gây độc với nhau. Cần dựa vào

hai chẩn đoán Đông và Tây y để lựa chọn thuốc. Khi phối hợp thuốc nên cách một thời gian để theo dõi.

Phương pháp hiện đại hóa y học cổ truyền đang được tiến hành như dùng khoa học hiện đại phân tích, chẩn đoán, phân biệt bệnh để từ đó chọn ra một phương pháp điều trị thích hợp. Chọn thuốc đặc trị từ được thảo, tìm ra tác dụng mới, tìm ra hoạt chất chính đang được áp dụng rộng rãi. Sự kết hợp giữa hai chẩn đoán Đông-Tây y trên một người bệnh sẽ tránh được sai lầm.

Một điều trong nhiều bệnh viện hiện nay hay sử dụng là để tránh hại sức khỏe cho con người khi gây mê trong những ca mổ, người ta dùng phương pháp châm cứu. Chỉ cần một số kim châm vào các huyệt thì người bệnh nằm trên bàn mổ thấy hết, biết hết những thao tác của bác sĩ đang mổ cho mình nhưng không hề thấy đau đớn. Đương nhiên, một số người yếu “bóng vía” thì họ rất sợ trước những thao tác của bác sĩ khi đưa con dao vào rạch da thịt mình.

Chúng ta không nên quên lời dạy của bác Hồ: *“Thầy thuốc Tây y phải học Đông y, thầy thuốc ta cũng phải học Tây y thì mới tốt”*.

Một điều cũng cần phải quan tâm trong giai đoạn hiện nay là điều tra hoạt chất sinh học (bioprospecting).

Theo Ian Paterson (Giáo sư Đại học Cambridge, Mĩ) đã nói: Thế giới các cơ thể sống đã trải qua một thời kì dài đấu tranh sinh tồn đã phát triển được các khả năng vô cùng phức tạp và có thể ứng dụng trong rất nhiều khía cạnh của y học. Bộ gene của các sản phẩm tự nhiên không bao giờ phí thời gian mà không tạo ra các hợp chất mới không tác động tới các hệ thống sinh học.

Điều tra thăm dò hoạt chất sinh học trong sinh vật sống có thể mang lại lợi ích to lớn về y dược học và thương mại. Đương nhiên đây là lĩnh vực đầu tư mạo hiểm, có thể thất bại và cũng có thể thu lợi nhuận rất lớn. Vì thế, các quốc gia đang phát triển thường không đủ tiềm lực về tài chính, về trang thiết bị và đặc biệt về chuyên gia để triển khai công việc này, mặc dù tài nguyên thiên nhiên và tính đa dạng sinh học của các nước này hết sức phong phú và to lớn. Hoạt động điều tra thăm dò hoạt chất đòi hỏi sự kết hợp chặt chẽ giữa kinh nghiệm cổ truyền trong việc sử dụng các động vật, thực vật, nấm và vi sinh vật làm thuốc cũng như những trang thiết bị hiện đại của phân tích hóa học và sinh học.

Công việc thường bắt đầu với những nhóm cây con được y học cổ truyền sử dụng, sau đó mở rộng một cách có hệ thống đến các khu vực vườn Quốc gia, tiếp đến là các hệ vi sinh vật sống trong các hệ sinh thái đặc biệt như rừng ngập mặn, kí sinh trên cây dược liệu, trên rong, tảo biển,... Về phương pháp tiến hành trước tiên là điều tra tìm hiểu kinh

nghiệm sử dụng thuốc của người dân, sau đó dùng các phương pháp hiện đại để tách chiết, thường là các loại dịch chiết, được đưa về phòng thí nghiệm để tiến hành sàng lọc qua các phép thử đặc trưng cho các nhóm thuốc như kháng khuẩn, kháng virus, chữa sốt rét, chữa rối loạn thần kinh, chữa bệnh lao, ức chế sinh trưởng của tế bào ung thư. Rất có thể phải phối hợp nhiều phòng thí nghiệm để tổ chức sàng lọc một cách có hệ thống và có hiệu quả. Những mẫu dương tính sẽ được phân tích hóa học như sắc kí cao áp, điện di, khối phổ để cuối cùng đi đến hoạt chất. Ví dụ, gần đây người ta tìm thấy chất chống HIV gọi là conocurvone trong rễ cây *Cotinus coggygia*. Rất nhiều quốc gia phát triển hoặc đã công nghiệp hóa (NICs) và các công ti hóa dược chất muốn đầu tư cho loại công việc này.

Tại viện Nghiên cứu Eisai (bang Massachussets, Mỹ) các nhà khoa học đã điều chế được chất kí hiệu Halichondrin B, dẫn xuất từ một loài bọt biển sống dưới tầng nước sâu trong vùng biển New Zealand, được cho là đặc biệt công hiệu trong việc điều trị ung thư giai đoạn cuối. Công ti Bristol-Myers Squibb đang thử nghiệm một loại thuốc mang tên Ixabepilone, mô phỏng theo một loại vi khuẩn có nhiều trong đất mùn bình thường nhưng có thể chữa khỏi bệnh ung thư. Tập đoàn Wyeth gần đây đã giới thiệu ra thị trường sản phẩm mới biệt dược Rapamune phân lập từ một loại giun đất của đảo Easter có tác dụng phòng ngừa hiện tượng thải loại trong ghép thận. Rapamune cũng là chế phẩm chạy nhất của hãng trong thời gian qua. (theo Tạp chí Thế giới mới số 664, tháng 12 năm 2005 trang 55-58).

Thế giới sinh vật thật đa dạng và phong phú. Nếu khai thác được thế giới này dù chỉ một phần nhỏ, y học cũng sẽ thu được những thành công vượt bậc phục vụ đắc lực cho sức khỏe cộng đồng.

Vì thế, nhiều tổ chức quốc tế đã cho ra đời những văn bản nêu nguyên tắc chung về bioprospecting, trong đó có việc thừa hưởng những kết quả sử dụng của phương pháp cổ truyền kết hợp những phương pháp hiện đại để tạo ra nhiều sản phẩm dược học nhằm chữa trị ngày càng tốt hơn những bệnh mà trước đây cho là vô phương cứu chữa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO (Tham khảo tài liệu ở chương III)

Chương V

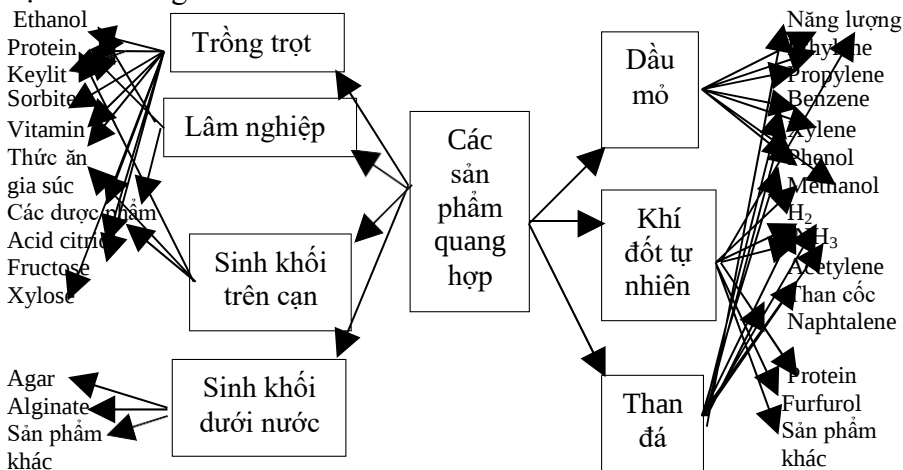
Công nghệ sinh học trong việc tạo sản phẩm hữu cơ thực phẩm

1. Thế giới sinh vật là nguồn nguyên liệu vô tận cho công nghiệp hóa thực phẩm

Từ cuối thế kỉ XIX, một trong những người sáng lập ra môn hóa học tổng hợp, nhà bác học nổi tiếng người Pháp Marcelin Berthelot đã khẳng định: “Vấn đề các sản phẩm dinh dưỡng là vấn đề hóa học. Khi nào thu nhận được năng lượng một cách rẻ tiền thì thực hiện được việc tổng hợp các sản phẩm dinh dưỡng từ carbon (lấy từ khí carbonic) từ hydrogen (lấy từ nước), từ nitrogen và oxygen (lấy từ không khí). Các công việc mà cho đến nay cây cối đã làm được nhờ năng lượng mặt trời. Chúng ta trong tương lai không xa sẽ thực hiện được”.

Bức tranh do Berthelot vẽ ra, đến ngày nay, vẫn là một cảnh điện viên viễn tưởng đối với chúng ta.

Dmitri Ivanovitch Mendeleiev đã sáng suốt cho rằng, hiện thực nhất vẫn là sản xuất ở các nhà máy sản phẩm dinh dưỡng nhờ sinh vật. Thế giới sinh vật vẫn là nguồn cung cấp hóa chất trong tự nhiên. Các nhà sinh vật học và hóa học trong sự hợp tác sáng tạo đã làm nên những qui trình công nghệ hiện đại để sử dụng có hiệu quả nhất. Thế giới sinh vật dùng làm nguyên liệu cho việc chế tạo ra các hóa chất khác nhau để phục vụ cho con người.



Hình V.1. Sơ đồ các sản phẩm hóa học được hình thành từ

thực vật

Thật vậy, từ năm 1950, công nghiệp dầu mỏ phát triển trong đó có hóa dầu chế tạo các hóa chất từ dầu mỏ, mà thực chất dầu mỏ và than đá đều từ sinh khối tự nhiên do quá trình quang hợp tạo nên và hóa thạch theo thời gian vùi lấp ở dưới mặt đất.

Ngoài ra, trong thực vật còn cho nhiều sản phẩm hóa học khác. Có thể tóm tắt theo sơ đồ được trình bày sau:

Trong công nghiệp cung cấp dầu béo: tinh dầu, hương liệu, tannin làm màu nhuộm, rezin, dầu nhờn, cao su, sợi, bột giấy. Các cây thuốc cho dược phẩm, cây có chất độc, thuốc cá, thuốc trừ sâu. Cây làm nhựa mủ: làm chất đốt, nhiên liệu. Một số rong biển cho agar, alginate, carageenan. Mỡ cá voi, mùi thơm cà cuống, xạ hương chồn, mùi vani, chất cho mùi với chất giữ hương dùng trong giải khát, v.v.

Ngoài những chất tự nhiên đã được con người sử dụng từ lâu còn có những chất quý hiếm mà trong hóa học không thể chế tạo được. người ta phải nuôi trồng trong điều kiện cần thiết cho quá trình sống của chúng (thành phần và tỉ lệ vi lượng thích hợp, điều kiện khí hậu thích nghi). Đó là những cây con đặc sản của từng vùng mà nơi này có, nơi khác không có hoặc nếu có thì chất lượng sản phẩm thua kém. Ví dụ: nhân sâm ở Triều Tiên có một số vùng trồng được loại tốt. ở nước ta có tam thất, trầm hương, quế Thanh (Thanh Hóa), quế Trà Mi (Quảng Nam). Gần đây người ta đã phát hiện trên đỉnh núi Ngọc Linh (Kontum) có loại nhân sâm (người ta đặt tên là nhân sâm Ngọc Linh), phẩm chất còn tốt hơn cả nhân sâm Triều Tiên.

Ở Pháp có loại nấm Truffe, giá có lúc lên 4.000 Francs/kg. Nấm *Melanosporeum tuberculum* sống ở vùng núi đá vôi, sống cộng sinh với cây sồi (*Quercus*) mọc ở đất 1-2 dm. Để tìm giống nấm này, người ta dẫn lợn đi đánh hơi. Nấm này tạo hương tự nhiên khi nấu gan vịt, ngỗng.

Shikonin là chất có màu đỏ dùng làm chất chế màu. Chất này lấy từ rễ cây *Lithospermum erythrorhizon* có ở Nhật Bản, Triều Tiên. Cây này trồng 5-7 năm, chiết rễ lấy được 1-2% chất khô, giá 1 kg là 4.500 USD. Nhu cầu tiêu thụ shikonin cao. Ở Nhật Bản phải nhập thêm của Trung Quốc, Triều Tiên. Hiện nay, ở Nhật Bản dùng kĩ thuật nuôi cây mô và tế bào để nhân giống, chọn dòng tế bào có tỉ lệ shikonin cao (14-15%). Người ta chọn dòng tế bào có màu đỏ đậm thì tỉ lệ shikonin càng cao. Người ta dùng nồi lên men 750 lít để nuôi tế bào trong 15 ngày thu được 5 kg. Nhờ phương pháp này mà khối lượng thu được nhiều và chọn dòng có chất lượng cao. Bằng con đường nuôi cây mô và tế bào hiệu quả gấp 800 lần so với nuôi trồng tự nhiên. Nhờ CNSH can thiệp vào mà nhiều sản phẩm quý được nhân lên nhanh, do đó việc thu nhận các sản phẩm quý được nhiều.

Việc hiểu biết các cơ chế di truyền và kỹ thuật đã thay đổi hướng sản xuất và mở ra nhiều triển vọng tốt đẹp. Ở Bungarie, hoa hồng được tạo gene, không chế gene tạo mùi thơm biểu hiện sớm, thu được nhiều chất có mùi hương khác nhau và rẻ tiền hơn nhiều lần so với việc thu hương tự nhiên.

Ngoài ra, trong nuôi cấy có thể tự động và điều khiển được nhờ điện toán (tạo pH, độ ẩm, ...).

2. Sự chuyển hóa sinh học là cơ sở khoa học của công nghệ chế biến tạo ra sản phẩm hữu cơ thực phẩm

CNSH, các sản phẩm của sự tổng hợp sinh học và các quá trình lên men chuyển hóa vật chất gắn liền với những điều mới mẻ và có khi là bất ngờ không những chỉ đối với nông nghiệp, lâm nghiệp, y học (phần một và hai). Càng ngày càng thấy rõ khả năng ứng dụng cụ thể và rộng rãi chúng trong các ngành hóa học và năng lượng học.

Việc sản xuất các acid hữu cơ, acid amin, con người đã chế tạo ra nó để sử dụng khá sớm. Cha ông ta từ xưa cũng đã biết muối dưa, làm giấm, làm tương, chao để sử dụng trong đời sống hằng ngày. Acid citric được sản xuất từ chanh.. Sau đại chiến thế giới lần thứ nhất (1920), người ta sản xuất bằng con đường vi sinh vật. Sau đó người ta cũng đã sản xuất nhiều acid amin khác nhau. Từ năm 1909, Nhật Bản bắt đầu sản xuất acid amin là acid glutamic.

2.1. Sự chuyển hóa sinh học (biotransformation) và các ứng dụng trong sản xuất và công nghiệp

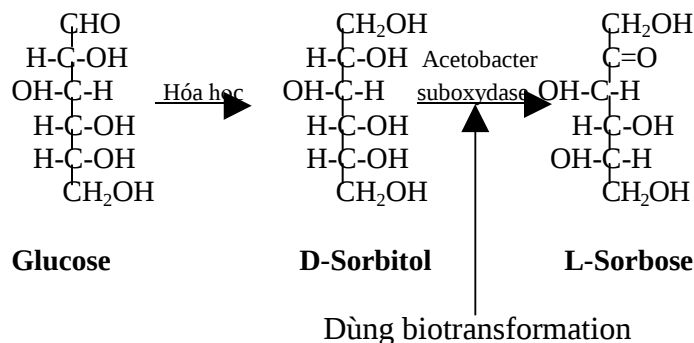
Các sinh vật có khả năng thực hiện nhiều loại phản ứng hóa học khác nhau. Chưa kể đến những phản ứng hóa học ở động vật và thực vật, trong vi sinh vật ngay từ năm 1959, người ta đã phát hiện thấy hơn 1.500 phản ứng khác nhau.

Những phản ứng chung bao gồm:

- Phản ứng oxy hóa: decarboxyl hóa các acid amin
- Phản ứng khử: phản ứng $2\text{NH}_2 + 3\text{H}_2 \rightarrow 2\text{NH}_3$
- Phản ứng carboxyl hóa tạo nhóm $-\text{COOH}$ ở các acid hữu cơ
- Phản ứng mất amin (desamination)
- Phản ứng tạo glucoside xảy ra khi tổng hợp tryptophan
- Phản ứng thủy phân
- Phản ứng methyl hóa (gắn nhóm $-\text{CH}_3$)
- Phản ứng ether hóa, ester hóa
- Phản ứng mất nước
- Dismutation: khi tổng hợp các chất chỉ được chuyển đổi và tạo ra các hợp chất trung gian, sau đó được biến đổi để tạo thành chất mới

- Phản ứng kết hợp (condensation: ngưng tụ, cô đặc)
- Phản ứng amin hóa:
- Phản ứng acetyl hóa tạo acetylCoA
- Phản ứng amylin hóa: cắt bột thành đường

Các phản ứng này được thực hiện trong các ngành công nghiệp để sản xuất ra các sản phẩm cần thiết. Một trong những ví dụ điển hình là sử dụng các sinh vật để thực hiện các phản ứng trong chế biến D-sorbitol thành L-sorbic:



L-sorbose → L-acid ascorbic (vit.C)

Nhờ vi khuẩn chuyển phản ứng D-sorbitol thành L-sorbose mà sản phẩm được hạ giá thành so với thực hiện phản ứng bằng hóa học.

Việc sản xuất cortison chất trị thấp khớp, đau nhức được tổng hợp hóa học để bán ra thị trường. Nếu bằng con đường hóa học thì phải trải qua 37 công đoạn. Vì vậy giá thành cao (giá 200 USD/g). Nhờ sự kết hợp giữa hóa học và vi sinh vật học mà qui trình sản xuất này rút ngắn còn 11 công đoạn và giá thành chỉ còn 0,68 USD/g mà không cần đến nhiệt độ và áp suất cao.

Rất nhiều chất kháng sinh hiện nay dùng trong điều trị, người ta sản xuất bằng con đường hóa học kết hợp với sinh vật học.

2.2. Sản xuất acid hữu cơ

* Acid citric: Những năm 1920, người ta sản xuất acid citric bằng cách dùng *Aspergillus niger*. Người ta cũng đã tuyển chọn những giống *Aspergillus* có năng suất cao để sản xuất có hiệu quả. Cơ chất cho quá trình lên men này là mật rỉ đường, nuôi ở độ pH thấp (pH=3). Dưới hoạt động của *Aspergillus*, pH chuyển sang dạng acid (pH=1), sau đó người ta chiết ra được acid citric. Trong quá trình lên men, dùng *Aspergillus niger* chuyển được 90% đường thành acid citric. Người ta cho CaCO_3 để tạo thành tủa calcium citrate lắng xuống, sau đó cho tác dụng tủa với H_2SO_4 để tạo thành acid citric và CaSO_4 lắng xuống. Dem acid citric cô, kết tinh. Trong quá trình lên men, ở bề mặt tạo thành một lớp bào tử đen dày.

Sau này người ta sản xuất acid citric bằng cách nuôi *Aspergillus* trên parafin dầu mỏ.

* Acid gluconic: có một thời gian, người ta sản xuất acid này bằng con đường lên men vi sinh vật từ glucose dưới tác dụng của enzyme glucosoxydase:

Glucose $\xrightarrow{\text{enzyme}}$ acid gluconic

Glucosoxydase là một enzyme cần không khí, vì vậy trong sản xuất cần sục khí mạnh. Người ta tủa acid gluconic bằng CaCO_3 để tạo thành calcium gluconate (được phẩm dạng cốm cho trẻ em). Hiện nay, người ta vẫn sản xuất bằng con đường hóa học là chủ yếu, vì vi sinh vật rất dễ bị nhiễm và chọn chúng tương đối khó.

Enzyme glucosoxydase đã sử dụng để bảo quản thực phẩm. Cho vào bia một ít enzyme này sẽ bảo quản lâu hơn. Bởi vì, trong bia còn một ít đường glucose. Chúng được lên men thành acid gluconic sẽ loại được O_2 và bia hơi chua một ít nên ít bị nhiễm và giữ được lâu hơn.

* Acid itaconic: được sản xuất từ *Aspergillus itaconicus* và *Aspergillus terreus*. Cơ chất của nó là mật rỉ đường, chất tinh bột, đường.

Acid này được dùng trong sản xuất polymer và được dùng trong sản xuất len nhân tạo. Khi công nghiệp hóa dầu phát triển con đường sản xuất này bị ngưng.

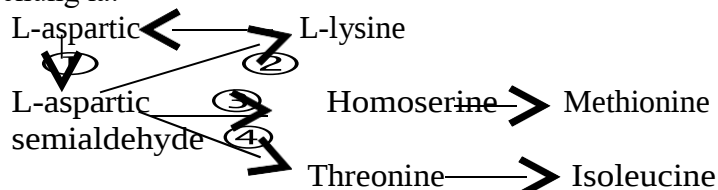
* Acid lactic: được sản xuất chủ yếu là dùng vi sinh vật lên men lactic. Công nghiệp hóa dầu phát triển thì sản xuất acid lactic bằng con đường vi sinh vật cũng bị ngưng.

2.3. Sản xuất acid amin

* Acid L-glutamic: lần đầu tiên vào năm 1909, hãng Ajinomoto Nhật Bản sản xuất acid này.

Thật ra, bột ngọt đã được sản xuất từ năm 1908 bằng cách thủy phân gluten của bột mì. Người ta dùng *Micrococcus glutamicum* chính xác hơn là *Brevibacterium glutamicum*. Trước đây sản xuất được 40g/l. Hiện nay nhờ chọn lọc dòng có năng suất cao nên sản xuất được 120g/l.

* Lysine: cũng được sản xuất lượng lớn để bổ sung vào thực phẩm. Chu trình của chúng là:



Trong sản xuất cần ức chế con đường ③ và ④ để tạo thành ~~li~~

được nhiều hơn. Sau đây là kết quả của việc sản xuất acid hữu cơ và acid amin.

Sản phẩm	Giá đơn vị (USD)	Tổng sản lượng (tấn/năm)
Acid glutamic	3.5-4,0	300.000
Acid citric	1,5	300.000
Lysine	5,0-5,5	40.000
Acid lactic	1,0-1,5	40.000

2.4. Sự cố định enzyme và cố định tế bào

- Sử dụng các enzyme: các enzyme sản xuất bằng con đường vi sinh vật hoặc tách từ vi sinh vật được sử dụng khá rộng rãi hiện nay. Trong thực tế người ta phát hiện ra 2.000 enzyme khác nhau; cho đến nay, người ta đã thu được 200 loại enzyme và sử dụng rộng rãi trong sản xuất Sử dụng rộng rãi nhất là các loại amylase và proteinase. Sau đây là một số nguồn và ứng dụng của enzyme:

Tên enzyme	Nguồn	Ứng dụng
α -amylase	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Tạo siroglucose Hồ tinh bột
β -gluconase	<i>Aspergillus niger</i>	Dịch hóa trong lên men bia
Glucoamylase	<i>Aspergillus niger</i>	Thủy phân bột
Glucoisomerase	<i>Artinobacter sp.</i> <i>Bacillus sp.</i>	Fructose cao cấp Siro từ bột ngô có fructose cao cấp

Việc ứng dụng enzyme vào công nghiệp ngày nay càng được mở rộng. Gần đây phát hiện ra có ba loại enzyme xử lý sản phẩm dầu mỏ tạo polymer, tính ra trong thời gian tới lợi nhuận có thể lên tới 50 tỉ USD.

Sản phẩm phụ và chất thải chứa carbohydrate có thể được chuyển hóa bằng cách lên men nhờ các vi sinh vật thông thường hay bằng các quá trình CNSH. Ví dụ: rỉ đường tạo thành từ nước cái, sau khi kết tinh đường mía và được loại khỏi công đoạn chế biến khi nồng độ của đường trở nên quá thấp. Ngoài đường ra, trong đó có sulphite, sodium carbonate và các muối magnesium (đặc biệt với đường củ cải). Tuy nhiên, sự lên men rỉ đường không chuyển hóa được tất cả đường sót lại.

Hemicellulose gồm 10% sinh khối gỗ thông và 20% sinh khối gỗ của các cây lá rộng, trên 30% ở rơm rạ và lõi ngô. Thủy phân hemicellulose tạo ra xylen và xylose. Sulzer (Thụy Sĩ) đã tách xylose từ chất thải giàu sulphite của bột gỗ có thể thu 80 kg xylose/1 tấn chất thải gỗ hoặc 120 kg xylose/1 tấn bã mía.

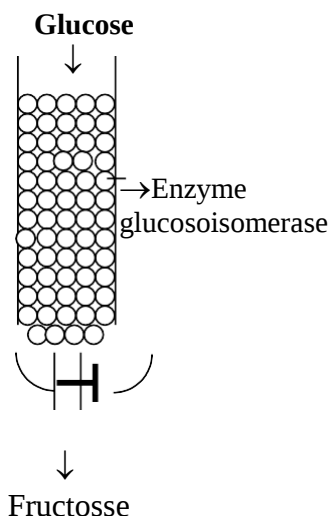
Cho lên men trực tiếp hexose và pentose lấy từ dịch thủy phân cellulose và hemicellulose nhờ vi sinh vật phân hủy cellulose để tạo thành ethanol thì vẫn hấp dẫn hơn sản xuất cồn từ tinh bột ngũ cốc. Sự phân giải

và chuyển hóa cellulose và hemicellulose bằng vi sinh vật sản sinh ra ethanol và các nguyên liệu khác cho công nghiệp hóa chất (furfiról, phenol, cresol) có thể lấy ra được 20.000 tấn ethanol và 22.000 tấn furfirirol từ 200.000 tấn rơm đã được biến đổi hoàn toàn.

Những sản phẩm tạo thành ở trên đều do các enzyme thực hiện các phản ứng sinh hóa trong cơ chất. Song có nhược điểm là chúng dễ bị mất hoạt tính hoặc giảm hoạt tính sau một số lần sử dụng. Nếu tách chiết các enzyme đó ra để sử dụng thì thường khó khăn và tốn kém. Vì vậy, hiện nay người ta tiến hành cố định enzyme, nghĩa là gắn enzyme vào một chuỗi nào đó để sử dụng nhiều lần.

* Gắn lí học (physical assosiation) kết hợp cơ học. Sử dụng những vật xốp (gạch, sành sứ, đồ gốm), enzyme chui vào và gắn vào đó. Thường người ta cho vào một cột trên đó có một số chất nào đó cho phản ứng. Phương pháp này thực tế ít sử dụng vì enzyme dễ gắn vào thì cũng dễ tách ra, do đó, dễ bị rửa trôi đi.

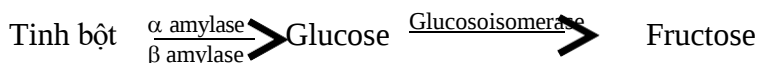
* Phương pháp nối những liên kết cộng hóa trị: một đầu của enzyme gắn vào cơ chất, đầu kia của enzyme vẫn tự do. Vì vậy chúng vẫn có hoạt tính bình thường. Ví dụ: dùng cơ chất là glutaraldehyde hay toluen diisocyanate thực hiện phản ứng bằng những liên kết cộng hóa trị. Phương pháp này ít được sử dụng.



* Phương pháp nhốt (entrapment): những polymer có dạng sợi và những phân tử enzyme tủa ra nằm ở những chất nền dùng để nhốt chúng. Các chất nền thường là chất xốp, thường dùng là collagen, gelatin, agar, alginate, carageenan, polyacrilamide, cellulose, triacetal, polystyrene. Tuy

theo mục đích mà sử dụng. Đầu tiên có thể dùng monomer đậm trộn với enzyme. Enzyme sẽ nằm vào trong. Sau đó dùng alginate nấu chảy ra, cho đặc lại, cùng enzyme làm thành viên. Cho viên vào các cột rồi cho dịch alginate đi qua. Có nhiều loại enzyme có thể dùng để sử dụng hàng năm trời.

Mặc dầu tạo enzyme cố định tốn kém nhưng sử dụng được nhiều lần. Hiệu quả sử dụng enzyme cao. Ví dụ:



- Khi có kỹ thuật thuật cố định, việc tạo fructose là phản ứng thuận nghịch, nếu fructose tạo thành nhiều sẽ phản ứng trở lại thành glucose. Sử dụng enzyme cố định glucosoisomerase lên cột đổ dung dịch glucose qua. Phản ứng tạo thành fructose chảy ra ngoài cột. Nhờ vậy mà có thể thu được dung dịch fructose có đến 90%. Enzyme cố định còn có thể sử dụng được nhiều lần, tránh được ức chế ngược và sử dụng được lâu hơn (nếu như không sử dụng liên tục cũng bị nhiễm). Bằng phương pháp này, ở Mỹ hàng năm thu được 4 triệu tấn.
- Cố định tế bào: trong nhiều trường hợp, việc chiết enzyme gặp nhiều khó khăn và tốn kém; nếu dùng được tế bào thì đỡ tốn kém hơn. Việc cố định tế bào cũng giống như việc cố định enzyme, có thể dùng các phương pháp cơ học, gắn bằng liên kết cộng hóa trị hoặc nhốt. Việc cố định tế bào cũng đã được sử dụng từ lâu. Như việc làm giấm cổ truyền bằng cách cho con giấm bám trên mùng cưa, đổ dịch đường, rượu, sẽ tạo thành giấm.

Nguyên tắc là cho tế bào bám vào một vật nào đó để sử dụng nó được nhiều lần trên vật cố định. Ví dụ: cố định tế bào *Saccharomyces cerevisiae* để lên men. Người ta pha alginate lỏng trộn lên tế bào nấm men cho thêm CaCl_2 để alginate tạo thành calcium alginate, cho qua lưới tạo viên. Khi dùng cũng như đối với việc sản xuất fructose ở trên, cho dịch đường đi qua cột có chứa viên men. Quá trình lên men rượu được thực hiện. Phương pháp cố định này, tế bào cố định được sử dụng nhiều lần.

Đối với tế bào thực vật, người ta cũng cố định bằng phương pháp này. Bởi vì, việc tách enzyme ra khỏi tế bào thực vật thì khó hơn. Chúng thường có thành tế bào dày bằng vỏ cellulose. Người ta sử dụng bằng phương pháp cố định tế bào để tạo ra chất ta cần thì có lợi hơn.

Để quá trình cố định có kết quả, cần để ý tới các yếu tố sau đây:

- Enzyme phải ổn định trong những điều kiện diễn ra phản ứng.

- Nếu có thể được thì các chất tham gia phản ứng tạo liên kết ngang sẽ chủ yếu chỉ tương tác với những nhóm chức năng nằm ngoài tâm hoạt động của enzyme.

- Nếu điều kiện trên không thực hiện được thì chất tham gia phản ứng tạo liên kết ngang phải có kích thước lớn, không cho phép nó xâm nhập vào tâm hoạt động của enzyme.

- Tâm hoạt động phải luôn luôn được bảo vệ (nếu thực hiện được) bằng các phương pháp khác nhau. Thí dụ enzyme có chứa nhóm –SH thì cần phải xử lí sơ bộ nó bằng glutathione hay cysteine và chỉ tái hoạt hóa enzyme sau khi đã gắn nó vào chất mang. Đôi khi có thể che tâm hoạt động bằng cách bổ sung vào hỗn hợp phản ứng cơ chất đã được bão hòa bởi enzyme.

- Biện pháp rửa để tách enzyme “không cần gắn”, không gây ảnh hưởng xấu tới enzyme đã được gắn.

- Khi lựa chọn hệ cố định, cần phải để ý tới phản ứng cụ thể. Thí dụ: thật vô nghĩa nếu bằng con đường lí học ta đưa enzyme vào gel mang và sử dụng nó để xúc tác phản ứng phân rã polymer cao phân tử như polysaccharide chẳng hạn. Cũng như vậy, các polyanion sẽ không có vai trò đáng kể nếu là chất mang enzyme xúc tác biến đổi cơ chất anion thành sản phẩm cation, đặc biệt là, nếu như enzyme này lại còn bị ức chế bởi sản phẩm của phản ứng.

- Còn phải tính đến các tính chất cơ học của chất mang. Đặc biệt, điều này liên quan tới những chất mang được sử dụng trong những cột lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Doãn Diên, 1994. Công nghệ sau thu hoạch trong nông nghiệp Việt Nam: Thực trạng và triển vọng. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.
2. Trương Văn Lung, 1995. Chuyên đề Công nghệ sinh học. Đại Học Huế
3. Trương Văn Lung, 2002. Công nghệ sau thu hoạch. (Hô hấp với việc chế biến và bảo quản thực phẩm). Tủ sách Đại học Khoa học Huế.
4. Phạm Văn Ty, 2001. Miễn dịch học. Nxb Đại Học Quốc Gia Hà Nội
5. Nguyễn Văn Uyển, Nguyễn Tiến Thắng, 1996. Những kiến thức cơ bản về công nghệ sinh học, Nxb Giáo dục Hà Nội.
6. Trần Cẩm Vân, Bạch Phương Lan, 1995. Công nghệ vi sinh và bảo vệ môi trường. Nxb Khoa học & Kỹ thuật. Trung tâm Giao lưu quốc tế về Văn hóa Giáo dục và Khoa học (CCES), Hà Nội.

-
7. Sasson Albert, 1988. Biotechnologies and development Công nghệ sinh học và phát triển. Người dịch: Nguyễn Hữu Thước, Nguyễn Lâm Dũng và một số dịch giả khác. Nxb Khoa học & Kỹ thuật Hà Nội.
 8. Bezborodov A.M., Moxolov V.V., Rabinovitch M.I., Nguyễn Văn Uyên, Ngô Kế Sương và nnk, 1994. Công nghệ sinh học và một số ứng dụng tại Việt Nam, Tập II. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.

Chương VI

Công nghệ sinh học ứng dụng trong khai khoáng và sản xuất vật liệu

CNSH ứng dụng trong khai khoáng và sản xuất vật liệu có nhiều đặc điểm tương tự như CNSH tạo sản phẩm hữu cơ thực phẩm. Song, CNSH ứng dụng trong vật liệu ngoài việc chế tạo, khai thác vật liệu, còn là công nghệ dùng thu hồi các chất và xử lý môi trường.

Cơ thể sinh vật có thể tạo ra nhiều loại vật liệu quý mà đến nay con người chưa thể bằng cách tổng hợp hóa học nào thay thế nó. Ví dụ việc tạo thành xương trong cơ thể động vật do thức ăn biến đổi mà thành; xương là vật liệu khó thay thế, người ta không thể dùng kim loại để thế xương. Gần đây người ta sử dụng vật liệu thay thế xương là san hô biển. Đây là thành công bước đầu trong CNSH phục vụ sức khỏe cộng đồng mà chương trước chúng tôi chưa có dịp đề cập đến.

Đứng về đặc điểm sinh học mà nói, các đảo san hô ở biển, tổ ong ... thì chưa có một lâu đài nào có thể so sánh được kiến trúc của chúng. Bởi vì, đó là những biopolymer, sản phẩm vật liệu của sinh học.

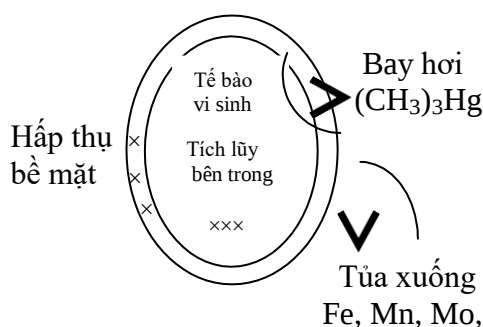
1. Sự biến đổi, tích lũy và cố định các kim loại

Do nạn ô nhiễm môi trường nên một vấn đề đặt ra là phải xử lý chất thải, làm sạch môi trường, làm sạch nước... Đây là vấn đề đang được chú ý giải quyết của nhiều nước. Có nhiều cách giải quyết: xử lý bằng phương pháp vật lý học, hóa học; có thể xử lý bằng phương pháp sinh học.

Sử dụng phương pháp vật lý và hóa học gặp nhiều tốn kém và ít hiệu quả hơn phương pháp sinh học. Nhiều nơi, các hồ ao bị ô nhiễm, người ta đã tiến hành nuôi Tảo, vi sinh vật, nhờ tảo tích lũy các kim loại, làm biến đổi thành dạng bay hơi hoặc kết tủa xuống, hoặc các chất thải là nguồn thức ăn của chúng.

Cơ sở khoa học của giải pháp này là nhiều vi sinh vật có khả năng tích lũy kim loại với nồng độ cao và trong tế bào vi sinh vật một số loài có những chất đặc biệt dễ gắn với các kim loại. Cấu trúc đặc biệt gắn với kim loại là những kim loại Fe, Mg, Cu, Zn, Mo,... và cũng có thể tích lũy những chất khác. Nồng độ tích lũy kim loại của các vi sinh vật thường cao hơn môi trường bên ngoài hàng ngàn lần.

Mối quan hệ giữa sinh vật và tích lũy kim loại được thể hiện qua mô hình sau:

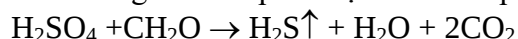


Hình VI.1. Mối quan hệ giữa sinh vật và tích lũy kim loại

Ngoài các biện pháp trên, người ta còn tạo chất bay hơi:

Methyl hóa các hóa chất chứa các chất độc: arsenic, telur, selen, thủy ngân, ... tạo thành các chất bay hơi.

Tủa xuống: khử sulphate tạo thành sulphite bay hơi:



Những phần gắn với nó trong hóa chất sẽ được tủa xuống.

Hấp thụ bề mặt: nhiều kim loại được tế bào hấp thụ bề mặt của nó như tảo *Chlorella* hấp thụ Au, một số nấm men hấp thụ uranium trên bề mặt. Một số vi sinh vật khác hấp thụ Fe, Mo, ... *Micrococcus* hấp thụ chì. Các vi khuẩn hấp thụ bề mặt nhanh hơn nấm men. Có những vi khuẩn hấp thụ cùng họ hàng nhưng cũng có những vi khuẩn hấp thụ họ hàng của chúng xa nhau.

Một số vi khuẩn hấp thụ một số kim loại đặc biệt như *Bacillus megaterium* ở 20°C gắn 43 mg Cd/1g sinh khối.

Tích lũy từ bên trong: sau khi hấp thụ bề mặt, vi sinh vật tiếp tục đưa kim loại vào bên trong như là thức ăn của chúng. Nếu tách kim loại ra khỏi tế bào thì vi sinh vật đó bị chết. Một số vi sinh vật có thể hút kim loại vào trong tế bào với nồng độ gấp hàng triệu lần so với nồng độ bên ngoài.

So với các biện pháp khác như vật lý hóa học thì biện pháp sinh học có nhiều ưu thế hơn như không gây ô nhiễm, có thể xử lý và thu hồi ở nồng độ thấp. Vi sinh vật sử dụng chất hữu cơ thải ra làm tăng sinh khối của chúng, đồng thời loại bỏ được chất bẩn trong môi trường hoặc có thể xử lý một cách hữu hiệu đối với từng kim loại thải ra môi trường.

Biện pháp dùng sinh vật để xử lý chất thải môi trường hiện nay đang tập trung nghiên cứu và ứng dụng (sẽ đề cập đến ở chương X, phần bốn).

2. Ứng dụng CNSH vào công nghiệp khai khoáng.

CNSH khoáng chất (mineral biotechnology) - luyện kim bằng con đường sinh học (bihydrometallurgy) là vấn đề mới mặc dầu cách đây hơn

1.000 năm, người La Mã đã biết lấy đồng từ dòng nước chảy qua mỏ đồng.

Vào thế kỉ XVIII, người Anh cũng đã lấy đồng từ nước chảy qua mỏ đồng.

Thế kỉ XVIII, người Tây Ban Nha (Spain) lấy đồng từ mỏ Rio-Tinto (Nam Mỹ) nhờ một số sinh vật tác động vào khoáng sản, từ đó con người thu được kim loại. Nhưng trong một thời gian dài, con người ít chú ý đến hướng này. Dần dần tri thức của con người ngày càng được tích lũy, người ta có hướng sử dụng các vi sinh vật biến đổi các khoáng vật để tiến hành khai thác khoáng sản. Hiện nay, sử dụng sinh vật để khai thác đồng, uranium, vàng, bạc, và nhiều kim loại khác.

Gần đây, người ta phát hiện thấy loại tảo *Chlorella* có khả năng hấp thụ vàng trên bề mặt tế bào. Người ta tuyển chọn giống tảo có khả năng hấp thụ vàng trên bề mặt lớn. Từ đó mở ra trong tương lai một hướng tìm các sinh vật có khả năng hấp thụ các kim loại quý hiếm để khai thác.

Việc khai thác khoáng bằng con đường sinh học có ưu điểm là:

- Ít tốn năng lượng
- Ít làm ô nhiễm môi trường, ít làm thay đổi cảnh quan
- Có tính đặc hiệu cao, do một số loài sinh vật hấp thụ và biến đổi một số nguyên tố nhất định.

2.1. Tách quặng bằng vi sinh vật

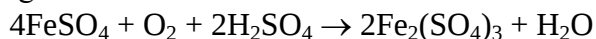
Năm 1947, từ vi khuẩn *Thiobacillus ferroxydans* có khả năng oxyhóa sắt, khử các chất có lưu huỳnh, vì vậy đã làm tan đồng vào dung dịch.

Vào những năm 1950-60, người ta đã phân lập được các giống vi khuẩn này. Đặc điểm của chúng là sống trong môi trường có độ pH thấp.

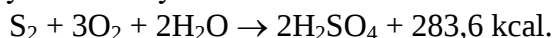
Tiếp theo, người ta đã phân lập được một số loài khác như *Leptospirillum ferroxydans* sống ở pH=1-2. Khác với loại trên là chúng oxyhóa sắt, không ảnh hưởng đến lưu huỳnh. Sau đó, người ta lại phát hiện được hàng loạt các loài khác, có loài chịu nhiệt độ cao như *Sulfolobus bricleyi* sống ở nhiệt độ 60°C để biến đổi các sản phẩm chứa lưu huỳnh.

Nói chung, các vi sinh vật biến đổi khoáng chất thường sống trong các điều kiện khắc nghiệt mà các loại sinh vật khác không sống được như pH thấp (1-3), chịu đựng được nồng độ chất độc cao mà ở nồng độ đó các sinh vật khác bị ngộ độc như arsenic ở nồng độ 20 g/l, Cu: 60 g/l, Zn: 130 g/l.

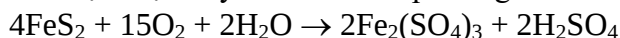
Về cơ chế tác động, chúng có tác động trực tiếp hoặc gián tiếp các phản ứng sau:



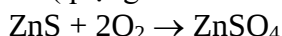
hoặc oxyhóa lưu huỳnh:



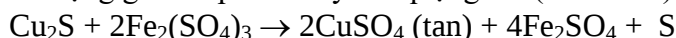
Còn có thể thực hiện oxyhóa-khử theo phương trình:



oxyhóa sphalerite (quặng có chứa kẽm)



Có thể tác động gián tiếp như oxyhóa quặng Cu (halkonite)



Quặng uranite:



2.2. Ứng dụng vào công nghiệp khai khoáng

Polysaccharide do vi khuẩn tạo ra có cấu tạo và đặc tính hóa lí khác với polysaccharide ở động vật và thực vật ở chỗ chúng có độ nhớt cao khi ở nồng độ thấp. Do vậy, chúng có thể được sử dụng một cách tuyệt diệu để làm chất gây nhũ tương, chất ổn định dung dịch nhớt, chất tạo đông đặc, chất độn,... Từ các polysaccharide do vi sinh vật tạo ra có thể dùng như một loại dầu bôi trơn để làm nhẹ bớt quá trình khoan giếng tìm dầu mỏ và khí đốt. Các polysaccharide khác của vi sinh vật cũng như những loài vi khuẩn xác định, nếu bơm dung dịch hoặc huyền phù của chúng vào giếng khoan sẽ tạo ra trong vỉa quặng sự hình thành tích cực các khí, áp suất tất nhiên sẽ tăng lên và hiệu suất khai thác dầu sẽ tăng lên.

Chất béo nhận được khi chiết rút hydrocarbon từ nấm men nuôi cấy trên parafin lỏng và nhiên liệu diesel lại là tác nhân tốt trong quá trình làm giàu khoáng sản bằng phương pháp tuyển nổi.

Tài nguyên thiên nhiên khai thác nhiều lúc bị hao hụt một cách đáng kể, đặc biệt là các tài nguyên quý dưới đất. Đó là do kĩ thuật khai thác và chế biến chúng còn lạc hậu. Ở Liên hiệp xô nghiệp khai thác luyện kim Dreskasgan tới 1/5, ở một vài vỉa tới 1/3 số lượng quặng đồng còn sót lại trong đất. Các nhà máy luyện chì và các nhà máy luyện kim khác tích lại tới hàng triệu tấn xỉ. Trong các xỉ này có chứa tới hàng nghìn tấn kim loại màu và kim loại hiếm. Trong khi đó, dịch huyền phù của các chủng vi sinh vật được lựa chọn lại có khả năng hòa tan đồng, cobalt và nhiều thành phần khác của các quặng nghèo và bã thải. Các dung dịch được lấy từ đất lên và thu thập lại trong các thiết bị để xử lí bằng lên men, đó sẽ là các nguồn kim loại tinh khiết có được mà không cần các quá trình luyện kim. “Nghề nghiệp” của các vi sinh vật luyện kim là rất khác nhau. Chẳng hạn, nhờ vi khuẩn có thể tách được arsen ra khỏi dịch có thiếc-đồng-arsen, phân tách được dịch cô đặc đồng-kẽm và một số dịch cô khác, tách được vàng từ quặng arsenopyrite, thậm chí tách được uranium từ nước biển.

Chắc là trong tương lai sẽ có những mỏ tự động và các xí nghiệp khác nhằm khai thác, làm giàu, tinh chế luyện kim màu, kim loại hiếm trên cơ sở CNSH và có thể hoàn toàn không có công nhân.

Các sản phẩm của việc sản xuất nhờ vi sinh vật tỏ ra có lợi cả đối với các nhà luyện kim đen, các xí nghiệp sản xuất ô tô, xe tăng. Các dẫn xuất lipid vi sinh vật, các monocarbonic của các acid béo có thể là dầu bôi trơn tuyệt diệu đối với các trục máy cán khi sản xuất các tấm thép mỏng, còn phospholipid - chất phụ gia chống ăn mòn được đưa vào dầu nhờn. Từ furfinol của công nghiệp thủy phân, người ta đã sản xuất được nhựa feran và furil tổng hợp. Đó là những chất kết dính tuyệt vời dùng để sản xuất các cốt cao cấp. Các cốt này rất cần thiết cho các lá thép, gang, đồng và nhiều chi tiết khác có hình dạng phức tạp, cần cho các khuôn kim loại có chất lượng cao, cho phép giảm bớt hoặc loại bỏ hẳn các xử lý cơ học tiếp tục và làm tiết kiệm được kim loại.

Hiện nay trên thế giới đã có nhiều nước sử dụng CNSH đã tách các kim loại hiếm ở qui mô lớn. Ngoài việc tách đồng nhờ vi khuẩn *Thiobacillus perroxyd* để thu đồng gấp 5-6 lần so với khai thác thông thường. Người ta đã:

- Tách uranium: ở Canada có đến 75% uranium ở dạng oxyde U_3O_8 . Mỏ Denison đã dùng vi sinh vật để khai thác. Năm 1986, đã khai thác đạt 360.000 kg U_3O_8 . Trong tương lai, ở Canada sẽ mở hàng chục xí nghiệp để sản xuất quặng uranium.

- Tách vàng, bạc: Au, Ag thường lẫn trong phức chất pyrite FeS_2 . Thường pyrite bao ngoài các chất đó. Lúc đầu Mỹ, Australia khai thác vàng bọc pyrite ở ngoài rất nhiều khó khăn. Khai thác không hiệu quả. Sau này Liên Xô (cũ), Mỹ dùng vi sinh vật để làm tan pyrite ở ngoài, để lộ vàng ra. Nhờ vậy mà vốn đầu tư thì ít mà hiệu quả kinh tế thì cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Thành Hồ, 1994. Công nghệ sinh học. Tài liệu đánh máy trường Đại học Khoa học Tự nhiên thành phố Hồ Chí Minh.
2. Nguyễn Bá Lộc, 1999. Giáo trình Công nghệ sinh học. Nxb Giáo dục Hà Nội.
3. Trương Văn Lung, 1995. Công nghệ sinh học. Tủ sách Đại học Khoa học Huế.
4. Nguyễn Văn Uyên, Nguyễn Tiến Thắng, 1996. Những kiến thức cơ bản về công nghệ sinh học, Nxb Giáo dục Hà Nội.

Chương VII

Công nghệ sinh học ứng dụng trong chế biến các sản phẩm nông lâm ngư nghiệp

Lịch sử của ngành học chế biến chuyên nghiên cứu về những biến đổi sinh hóa của ngũ cốc được phát triển theo yêu cầu của công nghệ bảo quản và chế biến lương thực. Phần lớn các công trình đều hướng vào nghiên cứu các thành phần hóa học của ngũ cốc (gạo, bột, mì sợi, bánh mì,...). Người ta đã nghiên cứu những công nghệ cổ truyền và công nghệ mới để chế biến các sản phẩm phù hợp với nhu cầu, tập quán sống của con người. Sau đây là một số ví dụ.

1. Công nghệ chế biến cổ truyền

1.1. Sản phẩm công nghệ chế biến từ glucid (saccharide) ở thực vật

Từ xưa ông cha ta đã biết chế biến các sản phẩm từ tinh bột để cho chúng vừa khỏi bị hư hỏng vừa tăng chất lượng và hương vị của sản phẩm. Nguyên liệu để chế biến tinh bột là các loại củ, hạt như ngô, khoai, sắn. Hàm lượng đường bột rất cao (>70%). Người ta chế biến phần lớn bằng phương pháp thủ công hay máy móc.

Các dạng tinh bột thường được lên men hoặc ủ chua, sau đó tùy theo sản phẩm cần dùng mà có những phương thức chế biến khác nhau để có hương vị khác nhau.

Phổ biến trong dân gian, người ta làm bánh để ăn hàng ngày, làm kẹo, làm đường và cao hơn nữa là làm rượu. Ở các nước châu Âu có rượu nho người ta làm bằng con đường thủ công truyền thống đã xuất hiện hàng ngàn năm nay. Ở các nước trong khu vực Đông Nam Á cũng có các loại cơm rượu như cơm rượu nếp Indonesia, vang quả Philippines, rượu sakê Nhật Bản. Ở Việt Nam có rượu dâu tây, rượu chuối, rượu nếp than, rượu vang đỏ, vang trắng, rượu nếp (rượu đế), rượu màu (chế biến từ hoa quả) v.v.

1.2. Sản phẩm công nghệ chế biến từ protein động vật và chế biến lên men từ thực vật

Ngoài glucid ra, protein là thực phẩm không thể thiếu được đối với con người. Thậm chí, ở các nước phát triển protein là nguồn thực phẩm chính. Sự nghèo đói là sự thiếu protein. Nói cách khác, người ta lấy tiêu chí protein cung cấp nhiều hay ít đối với con người để đánh giá nước đó thuộc vào diện nghèo đói ở mức độ nào.

Protein cung cấp cho con người lấy từ nguyên liệu của động vật, thực vật thậm chí từ vi sinh vật. Trong dân gian, thịt, tôm, cá là món ăn hàng ngày có chứa protein.

Dưới tác động của điều kiện bên ngoài như nhiệt độ, độ ẩm, vi sinh vật lên men thối, ...protein dễ bị hư hỏng. Vì vậy, từ xưa người ta đã có những phương pháp bảo quản như xử lý bằng nhiệt độ: phơi nắng, hun khói, nướng, quay, sấy bằng hệ thống nóng, sấy thăng hoa, làm lạnh (ướp lạnh, lạnh đông); bảo quản bằng phương pháp hóa học: ướp muối, ướp bằng acid, chất kháng sinh, v.v.

Người cũng tiến hành chế biến, chuyển hóa thịt, cá để có sản phẩm ngon miệng hơn như làm mắm, làm tôm chua, nem chua. Một số địa phương có những chế biến truyền thống như làm mắm nêm, mắm cá thu, nước mắm Phan Thiết, nước mắm Phú Quốc, tôm chua Huế, nem chua Thanh Hóa, nem chua Huế, Tôm muối thính Balao Balao (Philippines), tôm muối Kung Chom (Thái Lan), cá thu muối Kysaya, mực muối Ika Shiokara (Nhật Bản); v.v.

Về thực vật người ta chế biến thành các sản phẩm giàu protein như làm tương, chao, nước chấm, xì dầu, đậu hũ, sữa đậu nành tươi, v.v.

Trong các loại thực phẩm lên men truyền thống thì miso của Nhật Bản (700.000 tấn/năm ở đầu thập kỉ 60 của thế kỉ trước) rất đáng chú ý. Dùng đậu tương nguyên hạt và lên men nhờ *Aspergillus oryzae*. Ở Nhật Bản dùng miso 24 g/đầu người/ngày. Đậu phụ, chao, tương Trung Quốc (sufu) và cả ở Việt Nam là sản phẩm giống như fromage (phomat) được chế biến nhờ nấm mốc (chủ yếu là *Mucor*). Ang-kak là một loại thực phẩm chế biến ở Trung Quốc bằng cách lên men gạo nhờ nấm mốc *Monascus purpurus*.

Ở Mỹ và nhiều nước khác người ta đưa dây chuyền sản xuất ở qui mô lớn các sản phẩm giống như thịt nhưng đúng là không hề chứa thịt. Nguồn protein ở đây là đậu tương được cô đặc lại hoặc tách ra. Từ dung dịch này có hoặc không bổ sung casein và albumin trứng), người ta nhận được món thịt đông, dùng kĩ thuật xe sợi ướt làm thành thớ, tạo ra các món thịt (giò, chả, thịt rán, bít-tết, thịt muối, thịt băm, giăm bông, thịt thú rừng, và cá thịt nghiền paté). Ở Việt Nam những chùa chiền và cả những Phật tử theo đạo Phật, người ta cũng dùng các món ăn chay, nhìn bề ngoài là những món ăn bằng thịt nhưng không phải từ thịt.

1.3. Sản phẩm công nghệ chế biến từ các loại dầu thực vật và mỡ động vật

Ở trong thực vật, lipid có tên là dầu, ở động vật người ta thường hay gọi là mỡ. Lipid hay chất béo là những hợp chất hữu cơ có trong tế

bào sống, không hòa tan trong nước, nhưng tan trong các dung môi hữu cơ, không phân cực như ester, ether dầu hỏa, toluen.

Lipid là thành phần cấu tạo quan trọng của các màng sinh học là nguồn nguyên liệu dự trữ, cung cấp năng lượng cho cơ thể. Lipid thường được chia thành hai nhóm lớn:

Lipid đơn giản là ester của alcohol và acid béo. Thuộc nhóm này có triaxylglycerol (dầu thực vật, mỡ), sáp và sterid.

Lipid phức tạp: trong phân tử của chúng ngoài alcohol và acid béo còn có các thành phần khác như các gốc acid phosphoric, cholin, saccharide. Nhóm này được chia thành các nhóm nhỏ tùy theo bản chất và cấu tử alcohol hoặc cấu tạo khác như glycerophospholipid, glyceroglycolipid, sphingophospholipid và sphingoglycolipid.

Phân lipid của thực phẩm, các thực phẩm chế biến chủ yếu từ lipid động thực vật, mỡ, dầu béo tinh luyện đều là những đối tượng cho vi sinh vật gây hư hỏng. So với thực phẩm khác thì mỡ và dầu béo tinh luyện ít bị hư hỏng bởi vi sinh vật hơn. Chính các sản phẩm giàu lipid này hư hỏng vì hóa học nhiều hơn vì vi sinh vật.

Hình thức hư hỏng chính của lipid là quá trình thủy phân và oxy hóa hoặc phối hợp cả hai quá trình này. Kết quả lipid bị chuyển hóa thành glycerine, khí CO₂ và nước. Biểu hiện hư hỏng chủ yếu của các loại mỡ và dầu béo tinh luyện là hiện tượng ôi, khét. Các sản phẩm lipid bị ôi thường có mùi vị rất khó chịu. Trong quá trình ôi, các phản ứng thủy phân và oxy hóa thường xảy ra đồng thời.

Việc chế biến dầu mỡ cổ truyền của nhân dân từ trước đến nay là ép (đối với thực vật) và rán (đối với động vật).

Ví dụ: Lạc có chứa nhiều dầu và protein, là loại thực vật quý. Lạc được dùng làm dầu ăn, bơ nhân tạo. Khô lạc được dùng để chế biến nước chấm, chế phẩm protein, bánh kẹo, thức ăn gia súc, v.v. Bản thân hạt lạc dùng làm thức ăn, lạc rang.

Quả lạc có lớp vỏ cứng, có tác dụng bảo vệ rất tốt cho hạt tránh được ảnh hưởng xấu của môi trường bên ngoài. Các gia đình ở nông thôn có thể dùng 2 lớp cót quây quanh, ở giữa là lớp trấu khô hoặc tro bếp để chống ẩm. Nếu số lượng ít có thể bảo quản bằng chum, vại và bịt kín.

Trong chế biến cổ truyền, thủ công, người ta hay áp dụng phương pháp ép. Lạc sau khi được lựa chọn, đem vào nghiền nát. Mục đích của quá trình này là phá hủy triệt để những tế bào nhân nhằm giải phóng dầu ra ở dạng tự do để dễ thu hồi. Độ ẩm thích hợp cho quá trình nghiền là 10-12°C. Bột nghiền được đưa qua chum sấy để làm cho dầu được linh động và khi ép dầu dễ dàng thoát ra.

Ngoài lạc ra, người ta cũng sử dụng nhiều thực vật khác để ép dầu như cọ dầu, dừa, đào lộn hột (điều), ôliu, đại hái (mỡ lợn, mỡ bò), hướng dương, bông, v.v. tùy theo nhu cầu sử dụng của chúng.

Xi dầu (shoyu) chế ở Trung Quốc cách đây nhiều thế kỷ và sau đó lan ra các nước khác ở Viễn Đông, Nhật Bản là nước sản xuất chủ yếu hiện nay. Chế tạo xi dầu nhờ lên men của *Aspergillus oryzae*.

Về mỡ động vật thì người ta thường hay rán nhất là mỡ lợn, mỡ bò, mỡ cừu, mỡ gà, vịt, mỡ cá, v.v. Nói chung, mỡ có năng lượng cao cung cấp cho nhu cầu sống nên người sử dụng khá phổ biến nhất là các nước ở vùng ôn đới, hàn đới. Tuy nhiên, trong mỡ có nhiều cholesterol gây xơ cứng động mạch, nên sau này nhiều nước sử dụng chủ yếu là dầu thực vật.

1.4. Sản phẩm chế biến từ rau quả

Rau quả là một trong những sản phẩm có tỉ lệ thất thoát cao nhất, có khi lên tới 100%. Một trong những yêu cầu quan trọng nhất đối với việc chế biến và bảo quản rau quả là làm thế nào để bảo tồn một cách tối đa các chất dinh dưỡng, hương vị, màu sắc của rau quả. Muốn vậy, cần phải hiểu rõ thành phần hóa học, các quá trình hóa sinh xảy ra trong rau quả.

Những tính chất quan trọng nhất của quả như hương vị, màu sắc, độ bền khi bảo quản đều được hình thành trong quá trình chín. Việc nghiên cứu quá trình sinh lý, hóa sinh cơ bản của sự chín có ý nghĩa to lớn trong việc tăng cường phẩm chất của quả. Xác lập thời hạn tối ưu trong thu hoạch và ngăn ngừa những tổn thất khi bảo quản và chế biến. Đó là những quá trình sinh trưởng của quả khi chín, những biến đổi về thành phần hóa học của quả khi chín. Nhân dân ta từ xưa đến nay, qua quá trình sống đã tích lũy nhiều kinh nghiệm, nên thu hoạch quả vào lúc nào để dùng vào mục đích gì.

Từ nhiều thế kỷ nay, con người đã biết bảo quản và chế biến rau quả, là loại thực phẩm nhanh bị hư hỏng. Trước hết người ta chú ý đến việc chọn lọc các giống cây cho quả và rau có chất lượng tốt và bảo quản lâu. Tiếp theo đó là lai hữu tính, đồng thời kết hợp với biện pháp chăm sóc cây nhằm mục đích tạo ra các giống rau quả có chất lượng mong muốn.

Rau quả thì có những loại cần bảo quản tốt để sử dụng, không cần qua chế biến, có loại thì cần phải tiến hành việc chế biến hoặc chuyển hóa sản phẩm. Ví dụ: cam, bưởi, cần bảo quản bằng cách vùi trong cát hoặc cho vào chum nước đường, nước mật để vừa diệt khuẩn vừa không có không khí, giảm tối đa quá trình hô hấp: khí CO₂ và nước không thoát ra làm quả tươi lâu. Rau quả cho vào tủ lạnh để chống sự lên men thối. Một số sản phẩm khác như hành, kiệu, măng thì phơi nắng. Có loại thì muối chua như dưa chuột, các loại cải, cà chua, v.v. Có loại chế biến thành rượu

như nho, dâu, mơ, mận, v.v. Qua sự bảo quản và chế biến phong phú này không những sản phẩm không bị thất thoát mà còn làm tăng hương vị thơm ngon hoặc chất lượng tốt hơn cả khi dùng tươi sống.

2. Một số qui trình công nghệ lên men hiện đại

Mặc dầu CNSH chủ yếu đã được thực hiện và phát triển ở các nước đang phát triển với các thành tựu như lên men liên tục - bất động hóa enzyme và tế bào, công nghệ di truyền, vô tính hóa các gene (gene cloning), các bí quyết về công nghệ cổ truyền cũng không hề thiếu tại các nước đang phát triển.

Tuy vậy, các nhà nghiên cứu Nhật Bản ở viện Nghiên cứu Vật lý và Hóa học (RIKEN, Bảo tàng giống vi sinh vật Nhật Bản), ở viện Nghiên cứu Vi sinh vật học ứng dụng thuộc Đại học Tổng hợp Tokyo và ở bộ môn CNSH thuộc viện Nghiên cứu Khoa học và Kỹ thuật Thái Lan (bộ Khoa học và Kỹ thuật Bangkok (đã phân lập được 80 chủng nấm men từ 39 mẫu thuộc 29 loại thực phẩm khác nhau (cá, tôm, thịt, ngũ cốc, hoa quả,...) và các vật liệu có liên quan khác ở Thái Lan. Các chủng này thuộc về các chi *Candida*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis* và *Stephanoascus*. Các nghiên cứu này đã được tiến hành nhằm mục đích làm sáng tỏ vai trò của các loại nấm men trong quá trình lên men và làm chín các thực phẩm lên men để làm tăng chất lượng của các sản phẩm lên men. Các quá trình này chịu sự ảnh hưởng của sự hiện diện nhiều loại vi sinh vật khác nhau. Chẳng hạn, vi khuẩn lactic và nấm men đóng vai trò quan trọng trong việc sản xuất và làm chín rượu sakê, nước chấm, tương, fromage (phomát) v.v. Sự phối hợp tác động của vi sinh vật cũng nổi bật trong các quá trình sản xuất và làm chín thành thực nhiều loại thực phẩm lên men ở vùng Đông Nam Á (Suzuki M. et al. 1987).

Những mặt dưới đây cho thấy rõ những lợi ích mà các nước đang phát triển có thể đạt được trong ứng dụng CNSH hiện đại vào việc chế biến các sản phẩm nông lâm ngư nghiệp dựa trên những bí quyết của CNSH cổ truyền và CNSH mới để đáp ứng nhu cầu về thực phẩm và dinh dưỡng.

2.1. Công nghệ lên men từ nguyên liệu giàu glucid

Trong quá trình chế biến, CNSH ngày càng phát triển đã đóng góp phần đáng kể để chế biến các sản phẩm có chất lượng cao.

Lên men trên môi trường xốp (môi trường bán lỏng)

Trong các điều kiện lên men nhằm nâng cao giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế cho nông sản và phụ phẩm của công nghiệp thực phẩm thì lên men trên môi trường xốp là những phương pháp công nghệ rất đáng quan tâm.

Ở Indonesia, Tempeh chứa đến 55% protein là loại bánh xốp làm bằng đậu tương (bánh Kedেকে), bằng lạc (bánh Ontjom) hay bằng dừa (bánh Bongkreke).

Chế tạo Tempeh cần 2-3 ngày. Đậu tương được ngâm nước 12 h, bóc vỏ, luộc đậu trong 30 phút để phá chất ức chế enzyme tripsine của tụy tạng và một chất ức chế sinh trưởng khác. Rửa lại đậu nhiều lần và rửa nước. Cấy bào tử nấm *Rhizopus oligosporus* và các hạt đậu đã được nghiền nhỏ đựng trong khay, sự lên men kéo dài 36-38 h ở nhiệt độ 34°C. Thu được bánh màu nâu nhạt. Tempeh được ăn sau khi đã nấu hay rán với dầu dừa.

Khi lên men sẽ xảy ra quá trình thủy phân các thành phần α -glucoside cũng như 30% triglyceride, làm giải phóng ra loại acid béo chủ yếu là acid linoleic (2,5 g/100g) trong khi hàm lượng lipid trong Tempeh vẫn gần bằng lượng lipid trong đậu tương (20-26%). Lượng protein tăng lên và đạt tới 50-55% trọng lượng khô (đậu tương chứa 40-43% protein) vì phần lớn protein bị enzyme protease của nấm mốc thủy phân thành acid amin nên lượng chứa nitrogen hòa tan tăng từ 0,5-2%. Nhờ vậy mà đã làm thay đổi chất lượng của đậu tương khi dùng Tempeh. Tempeh cũng khá giàu riboflavin (vit. B₂: 7 μ g/g) và niacin (vit. PP: 60 μ g/g) (vit. B₂ cao hơn 2 lần và vit. PP cao hơn 5 lần so với Đậu tương). Tempeh còn chứa vit. B₁₂ (5-30 mg/g). Các nhà khoa học Mỹ đã ứng dụng cách chế biến Tempeh của Indonesia vào việc chế biến ngũ cốc và Sắn. Bột Mì được lên men bằng *Rhizopus oligosporus* ở nhiệt độ 31°C trong 20 h có chứa lượng protein cao hơn ban đầu 6-7 lần, riboflavin cao hơn 5 lần và niacin cao hơn 2 lần. *R. oligosporus* tạo ra ít amylase, do đó bột Mì không bị thủy phân và không xảy ra quá trình lên men rượu.

Raimbault (Pháp) đã nghiên cứu ở Senegal sự thủy phân bột sắn bằng vi khuẩn *Lactobacillus* nhằm bảo quản sắn tươi hoặc cấy thêm nấm sợi đã làm giàu protein cho bột sắn. Các chủng vi khuẩn *Lactobacillus* có khả năng thủy phân tinh bột được phân lập từ sắn và được dùng để lên men lactic nhằm cải thiện điều kiện bảo quản cũng như nâng cao giá trị dinh dưỡng cho bột sắn.

Ở Mexico, Raimbault đã tách được 100 chủng vi khuẩn lactic từ các thực phẩm lên men truyền thống như pulque, pozol, tesguino. Những chủng này thuộc về các chi *Lactobacillus*, *Pediococcus* và *Streptococcus*. Một chủng *Lactobacillus* đã được lựa chọn để dùng vào việc bảo quản sắn tươi và làm giàu protein cho sắn.

Sau khi thực nghiệm lên men ở phòng thí nghiệm, người ta triển khai ra các qui mô sản xuất thử, đánh giá chất lượng dinh dưỡng của các

sản phẩm lên men, đánh giá nguy cơ nhiễm các chủng đột biến sinh độc tố nấm (mycotoxin).

Ngoài Mexico, các nước khác ở Nam Mỹ (Argentina, Chile, Venezuela) cùng các nước Trung Mỹ và vùng Caribé (Costa Rica, Cuba, Guatemala) cũng quan tâm đến các ứng dụng lên men trên môi trường xốp làm giàu protein cho các cơ chất giàu tinh bột tạo nên các thực phẩm lên men giàu protein gọi tắt là AFEP, làm lên men lactic nhằm bảo quản các sản phẩm nông nghiệp giàu tinh bột, làm tăng khả năng tiêu hóa và tăng hương vị cho các thức ăn chăn nuôi (bã mía, thân cây lúa miến), gia súc lớn, tìm ra các enzyme phân hủy tinh bột, phân hủy cellulose một cách rẻ tiền, khử các chất có hại ra khỏi các nông sản phẩm (khử tannin thuộc loại polyphenol và cafein ra khỏi hạt cà phê).

Ngoài ra, người ta làm giàu protein cho một số loại sản phẩm mà trước đây người ta phải chôn hoặc thả xuống biển hàng triệu tấn, nay biến chúng thành thức ăn cho chăn nuôi gia súc, tôm, cá hoặc làm phân bón hữu cơ vi sinh.

Mặc dù việc sản xuất các thực phẩm lên men giàu protein từ glucid còn có nhiều khó khăn về kỹ thuật và về kinh tế, nhưng đây là một lĩnh vực đầy triển vọng trong việc tự cung tự cấp thức ăn và nâng cao giá trị dinh dưỡng cho các khu vực dân cư thiếu hụt protein. Hơn nữa, chúng còn đầy triển vọng trong việc sản xuất các sản phẩm sinh hóa học có giá trị cao như enzyme.

Chế biến glucose từ gỗ

Nghề nghiệp về gỗ rất đa dạng. Theo tính toán của các chuyên gia, cách đây 40 năm, các mặt hàng chế tạo từ gỗ gồm khoảng 4.000 loại, bây giờ đã quá 25.000 loại và còn được tiếp tục mở rộng.

Nhưng bất hạnh ở chỗ, trong quá trình xử lý cơ học, rất nhiều gỗ bị hao phí một cách vô ích. Phế phẩm của việc chế biến gỗ tròn là 27% khi cưa gỗ, trong công nghiệp gỗ dán: 55%, trong sản xuất diêm: 65%.

Khi chế biến theo kiểu cơ hóa học, các mảnh vụn của gỗ hoặc các phế liệu sẽ được tẩm nhựa rồi được ép lại và nhờ đó mà chế tạo ra các tấm gỗ ép-vỏ bào, gỗ ép-sợi dùng thay thế cho gỗ nguyên vẹn.

Chế biến hóa học gỗ là có hiệu quả. Các nhà máy công nghiệp hóa học rừng đã xử lý gỗ ở nhiệt độ cao và sản xuất ra acid acetic, than gỗ, dầu thông, methanol, formalin, phenol, aceton, và hàng loạt các sản phẩm khác còn chế xuất từ gốc cây thông sẽ thu được caniphol. Trong công nghiệp cellulose-giấy, trước hết từ gỗ phải tách được cellulose, sau đó từ cellulose mới làm ra giấy. Cellulose còn là nguyên liệu để sản xuất ra sợi nhân tạo visco, cellophan, phim ảnh, verni và nhiều sản phẩm khác. Cellulose là một trong những chất hữu cơ ổn định nhất, được thực vật tạo ra nhờ năng

lượng ánh sáng mặt trời. Không có loại thực vật nào, không có loại động vật nào (trừ loài nhai lại có các loại vi sinh vật trong dạ dày sinh ra enzyme cellulase) có thể phân giải và đồng hóa được cellulose. Cellulose tạo ra bộ xương chống đỡ cho cây thảo và thân cây gỗ.

Trong các màng tế bào đã hóa gỗ, các vi sợi (microfibril), cellulose đóng vai trò cốt sức của bê tông, còn cái đóng bê tông ở đây là lignin 20-30% và hemicellulose 20%. Khi sản xuất cellulose thì lignin và các thành phần hemicellulose còn lại sẽ được hòa tan bằng các muối của acid sulphuric hoặc bằng các chất kiềm. Ở đây không xảy ra những chuyển biến đáng kể đối với cellulose.

Ở các nhà máy thủy phân thì phương hướng của qui trình công nghệ lại hoàn toàn ngược lại: cellulose và hemicellulose chuyển vào dung dịch, còn lignin thì ở lại dạng chất rắn tự nhiên. Sự khác nhau căn bản lại ở chỗ khác. Sự thủy phân không phải có mục đích duy trì mà là cấu tạo lại hoàn toàn phân tử cellulose. Thậm chí, có thể nói rằng, ở đây đã hoàn toàn việc trẻ hóa lại phân tử này. Khi quang hợp trong lá cây tạo thành glucose, hàng nghìn phân tử glucose ngưng tụ lại, polymer hóa thành phân tử polysaccharide-cellulose và khi đó giải phóng ra nước. Khi thủy phân, phân tử cellulose liên kết với nước phân giải ra hàng nghìn gốc glucose đã cấu tạo ra nó.

Cellulose là vật chất cơ bản của gỗ, hoàn toàn không ăn được, lại chuyển hóa thành glucose - loại hydrate carbon sinh ra trong các lá xanh khi hấp thụ ánh sáng mặt trời. Loại đường này sẽ hòa tan trong nước và dễ dàng được tất cả các cơ thể sống đồng hóa.

Việc thủy phân gỗ và các vật liệu thực vật khác như vỏ hạt bông, vỏ hạt hướng dương, thân và bẹ ngô, rơm rạ của lúa và các loại cỏ thảo khác... là một quá trình hóa học khá phức tạp. Trong tế bào thực vật đã tạo thành các polysaccharide phức tạp (cellulose và hemicellulose) từ các đường đơn giản nhờ năng lượng ánh sáng mặt trời. Khi phân giải ngược lại cũng cần dùng một năng lượng tương tự. Mặc dù quá trình thủy phân tiến hành chỉ có mặt của các chất xúc tác (acid sulphuric, chlohydric hay các acid khác), khối chất phản ứng (gỗ) đã nghiền nhỏ cùng với chất xúc tác phải đun sôi đến 180°C hay cao hơn, với một áp lực trong thiết bị thủy phân đến 10-12 atm..

Dung dịch đường acid tạo thành được liên tục lấy ra khỏi nơi phản ứng, còn phần rắn là lignin thì sau khi kết thúc toàn bộ quá trình, sẽ lấy ra khỏi thiết bị thủy phân.

Dịch thủy phân được trung hòa và làm sạch các tạo chất. Dung dịch tinh khiết được làm nguội (dịch trung hòa – neutralizate) chứa khoảng 3% đường hexose (glucose, mannose, galactose) và pentose

(xylose, arabinose). Trong dung dịch còn một số lượng acid acetic và acid hữu cơ khác.

Ở các nhà máy rượu thủy phân nhờ một loại enzyme để biến đường hexose thành ethanol, bã còn lại, sau khi đã cất rượu lại được dùng để nuôi cấy nấm men gia súc. Dịch trung hòa, sau khi loại bớt nước sẽ là một dịch đậm đặc chứa 25-30% đường gọi là mật thủy phân, dùng trong khẩu phần động vật khi thiếu hydrate dễ tiêu.

Việc nghiên cứu đưa vào sản xuất qui trình công nghệ mới tiên bộ hơn, cho phép thu được dịch đường nhanh hơn, rẻ hơn, và sản xuất glucose thực phẩm, nấm men bánh mì, nấm men thực phẩm, acid amin không thay thế (lysine), acid glutamic, acid citric và nhiều sản phẩm có ích khác.

Chế biến rơm rạ

Các chế phẩm enzyme tạo ra khả năng nâng cao chất lượng thức ăn tươi và sử dụng triệt để hơn các sản phẩm phụ của trồng trọt như rơm rạ, chẳng hạn, để làm thức ăn cho chăn nuôi.

Trên đồng ruộng, đồng cỏ, người ta gieo trồng ngày càng nhiều các thức ăn xanh dùng trong chăn nuôi. Điều cần thiết là phải biết chế biến thức ăn và bảo quản để dùng quanh năm mà không bị mất dinh dưỡng. Phục vụ cho mục đích này, người ta ủ chua, bảo quản về mùa đông thức ăn chăn nuôi bằng acid lactic sinh ra bởi vi khuẩn lactic. Khi ủ chua các chất dinh dưỡng trong đó có vitamin sẽ bị mất mát ít hơn so với cỏ khô. Để cho vi khuẩn lactic phát triển nhanh trong khối lượng thức ăn xanh ủ bằng cách nén kỹ và đậy kín, cần có đủ lượng đường hòa tan và dễ lên men. Trong thực vật càng chứa nhiều protein thì các vi khuẩn này càng cần có nhiều đường để hình thành acid lactic và một phần acid acetic. Các acid này sẽ làm acid hóa khối thức ăn ủ chua và làm ức chế sự phát triển của các vi khuẩn butyric trong đó loại vi khuẩn này làm thối rữa khối chất xanh.

Không phải mọi thực vật đều có chứa đủ lượng đường cần thiết cho sự phát triển của vi khuẩn lactic và cho việc làm chua một cách thích hợp khối lượng thức ăn ủ chua. Cũng vì thiếu đường mà các cây trồng giàu protein như Đậu Hòa Lan, cỏ Ba lá, Đậu tằm,... khó ủ chua, còn cỏ Đinh lăng và Đậu tương thuộc loại thực vật không ủ chua được.

Sự phân loại như vậy nhằm đưa thêm chế phẩm enzyme vào hợp lý để chuyển cây họ Đậu thành loại ủ chua được. Muốn vậy, khi xếp thực vật vào nơi cất chứa, phải cho thêm một lượng không lớn các chế phẩm enzyme. Dưới tác dụng của chúng, một phần polysaccharide (cellulose, tinh bột, hemicellulose, pectin) bị phân giải thành đường và các acid hữu cơ đơn giản, tan trong nước thành acid amin. Tất cả các chất này được vi

khuẩn lactic đồng hóa tốt và sinh ra acid lactic một cách nhanh chóng, thức ăn ủ xanh nhận được sẽ có chất lượng tốt, tươi, ngon và phong phú chất dinh dưỡng. Bò sữa, bò đực, bê, lợn đều ăn ngon lành. Thức ăn ủ chua như vậy bảo quản được 2 năm.

Nhờ các chế phẩm enzyme có thể chuyển hóa rơm rạ thành thức ăn ủ chua có chất lượng tốt, thậm chí thành một loại thức ăn glucid-protein quý giá.

Các chuyên gia của viện Nghiên cứu Kỹ thuật Sinh học Liên Xô (cũ) và viện Hàn lâm Nông nghiệp mang tên Timiriazev K.A. đã đề nghị một phương pháp đơn giản, rẻ tiền và có hiệu quả để xử lý rơm rạ bằng nhiệt và enzyme trong các máy trộn hỗn hợp C-12 do ngành công nghiệp Liên Xô sản xuất. Enzyme chuyển hóa phần polysaccharide phức tạp của rơm rạ thành các dạng hòa tan và dễ được vi sinh vật đồng hóa. Sau đó được ủ chua hoặc được cấy nấm men để phát triển trên phân đường của thức ăn. Trong trường hợp này thức ăn từ rơm rạ có chất lượng dinh dưỡng gần với đậu.

Chế biến tinh bột ngô

Sau đây là một ví dụ về công nghệ chế biến ngô của nhà máy sản xuất tinh bột ngô và tinh bột ngô cải biến của công ty Hữu hạn Khai thác ngô ở Tân Nguyên, Cát Lâm, Trung Quốc (liên doanh với nước ngoài. Vốn đăng ký kinh doanh 12 triệu USD. Tổng kinh phí đầu tư là 45 triệu USD).

Sản phẩm chủ yếu của công ty này là tinh bột.

* Tinh bột ngô có thể dùng làm nguyên liệu trong các ngành công nghiệp khác nhau: làm giấy, dược liệu, dệt, thực phẩm.

- Ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm:

Tinh bột ngô có thể chuyển hóa thành đường. Ví dụ: fructose từ tinh bột ngô có thể cải thiện và tăng cường khẩu vị của các thực phẩm chế biến. Ngày nay, đường tinh bột (starch sugar) là nguồn đường mới dùng để thay thế đường mía (ngọt đạt 173,3% so với đường mía). Tinh bột ngô cũng là nguyên liệu để sản xuất mì chính, acid citric, v.v.

- Ứng dụng trong công nghiệp dược:

Tinh bột ngô có thể sản xuất đường glucose dùng trong y học nhờ quá trình thủy phân. Sau đó, glucose có thể sản xuất vitamin C v.v. Tinh bột ngô làm chất phụ gia trong việc sản xuất thuốc viên và làm nguyên liệu để chế biến các tác nhân chống vi khuẩn, chống nấm v.v.

- Ứng dụng trong công nghiệp giấy:

Tinh bột ngô làm chất phụ gia trong công đoạn ướt của quá trình sản xuất giấy khiến cho giấy bền chắc và có bề mặt đẹp. Có thể làm chất hồ dính bề mặt để tăng độ bóng của giấy, sản xuất ra bề mặt giấy in tương

đổi tốt, giảm bớt tỉ lệ rách và xơ xước. Có thể làm chất kết dính cho lớp bồi nguyên liệu màu giữa giấy và bìa cứng. Tinh bột ngô làm cho màu kết dính với nhau và kết dính với sợi để tạo thành bề mặt bền chắc, trơn đều đặn và liên tục, làm tăng độ trắng, độ sáng và độ trong suốt của giấy. Có thể làm chất kết dính để sản xuất giấy cứng, giấy carton v.v.

- Ứng dụng trong các lĩnh vực công nghiệp khác:

Tinh bột ngô dùng trong hồ sợi trong công nghiệp dệt, làm chất phụ gia trong công nghiệp đúc, trong công nghiệp khoan dầu cũng như trong công nghiệp chất dẻo.

* Bột gluten từ ngô: Bột gluten từ ngô là một loại bột giàu protein (>60%), chứa nhiều acid amin chúng có giá trị cao trong chế biến thực phẩm và gia vị. Loại bột này có thể dùng làm môi trường nuôi cấy trong công nghiệp lên men. Thức ăn gia súc làm bằng bột gluten là thức ăn cao cấp có chất lượng tốt đối với gia súc, gia cầm, cá.

* Dầu phôi ngô: Dầu phôi ngô có chứa nhiều acid linoleic có thể hòa tan cholesterol trong máu, làm mềm huyết quản, làm giảm huyết áp và ngăn ngừa hiện tượng xơ vữa động mạch. Đây cũng là loại dầu thực phẩm có chất lượng cao, chứa nhiều vitamin E, là một loại dầu bổ dưỡng hảo hạng. Ngoài ra, dầu phôi ngô dùng làm nguyên liệu hóa học để sản xuất xà phòng và các loại sản phẩm khác có liên quan đến dầu mỡ.

* Chế phẩm có hàm lượng fructose cao: chế phẩm fructose là dung dịch không màu, trong suốt. Các cấu tử của chế phẩm là fructose và dextrose. Chế phẩm hàm lượng fructose cao được mang danh hiệu “Mật Ong nhân tạo” và hiện nay đã thịnh hành khắp thế giới. Chúng không những có vị thuần khiết, có độ ngọt cao hơn đường mía mà còn có ưu việt khác như giá trị dinh dưỡng cao, dễ hấp thụ. Những đặc tính của chế phẩm này về tính thấm thấu (permeability), về tính dễ kết tinh (crystallization), về tính lên men (fermentation) và tính chống chịu sâu răng v.v. đều là những nguyên nhân để người ta ưu tiên cho chế phẩm này trong công nghiệp thực phẩm, trong công nghiệp đồ uống và trong việc tiêu dùng ở gia đình. Đặc biệt chế phẩm này dùng trong các bệnh nhân mắc bệnh đái đường và trong đồ uống của các vận động viên.

Chế phẩm có hàm lượng fructose cao của công ty Tân Nguyên có loại F-42 fructose (42% fructose), F-55 fructose tiêu chuẩn (55% fructose).

* Tinh bột ngô cải biến (corn modified starch): công ty Tân Nguyên đã sản xuất 5 loại tinh bột ngô cải biến: cải biến nhờ acid (acid – modified starch) bằng cách cho tinh bột huyền phù trong dung dịch acid loãng (HCl hoặc H₂SO₄) ở nhiệt độ trong phòng đến nhiệt độ hồ hóa. Khuấy cho đến

khi nhiệt độ độ nhớt huyền phù giảm đến mức thích hợp, trung hòa bằng kiềm hoặc sodium carbonate, rửa và sấy khô.

Loại tinh bột này được sử dụng làm chất hồ sợi trong công nghiệp dệt, dùng chế tạo chất ngọt mềm trong công nghiệp thực phẩm, dùng làm chất hồ dính các giấy đặc biệt trong công nghiệp giấy, dùng trong các hiệu giặt là để làm sạch quần áo, dùng làm nguyên liệu cơ bản để sản xuất các chất tẩy rửa ở dạng lỏng trong gia đình, dùng sản xuất giấy cứng dán tường.

Cải biến bằng cách oxyhóa hoặc còn gọi là tinh bột bị oxyhóa (oxydized starch), được oxyhóa nhờ một số tác nhân oxyhóa như natrium hypochloride (NaOCl), calcium hypochloride, ammonium persulphate, kalium persulphate, hydroperoxyde, acid peracetic, kalium permanganate, perborate, v.v.

Phản ứng được tiến hành trong dịch tinh bột huyền phù hoặc trong tinh bột nhão đã được hồ hóa.

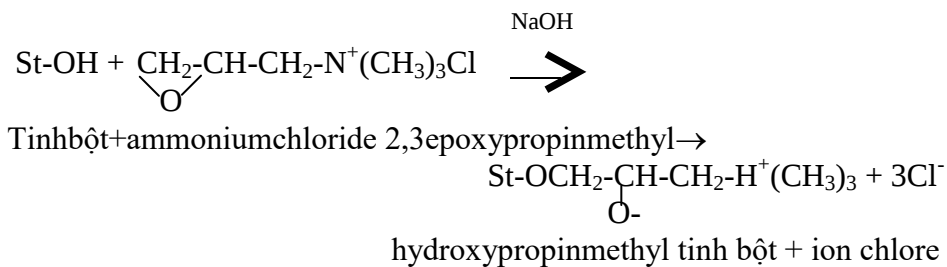
Tùy thuộc vào chủng loại của chất oxyhóa và tùy thuộc vào các điều kiện của phản ứng, nhóm carboxyl (-COOH) và nhóm carbonyl (-C=O) đã được gắn vào tinh bột, đồng thời xảy ra sự giải trùng hợp hóa (depolymerization). Sự oxyhóa trong trường hợp này chỉ là một quá trình trong đó một nhân cải biến (modification reagent) sẽ gây ra hai biến đổi quan trọng về mặt hóa học (sự giải trùng hợp hóa + sự gắn các nhóm carboxyl vào tinh bột).

Những tinh bột này được dùng trong các tác nhân kết dính trong công nghiệp giấy, hồ sợi trong công nghiệp dệt, dùng trong công nghiệp thực phẩm và dùng làm chất kết dính dán giấy bìa, giấy ốp tường, bìa cách âm trong công nghiệp vật liệu xây dựng.

Tinh bột có liên kết ngang (cross linked starch) là kiểu cải biến thu nhận được từ hoạt động của các nhân 2 chức hoặc đa chức (polyfunctional reagents) có khả năng phản ứng với nhiều nhóm hydroxyl và ít nhất là 2 nhóm hydroxyl. bằng cách như vậy sẽ hình thành liên kết ngang 1 phân tử tinh bột này đến 1 phân tử tinh bột khác.

Tinh bột này sử dụng trong công nghiệp thực phẩm, trong gia vị của xúp, nước thịt, nước sốt, v.v., trong nghề làm bánh pudding và các loại thực phẩm khác có thịt nhồi, dùng làm chất hấp thụ của các đồ dùng vệ sinh của người, làm vật liệu hấp thụ các chất trao đổi ion, làm các tác nhân chống ngưng kết trong phim ảnh.

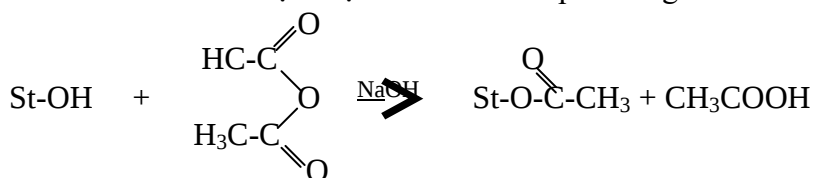
Tinh bột cationic (cationic starch) là một loại ester tinh bột có thể điều chế theo phản ứng sau:



Loại tinh bột này dùng trong công nghiệp giấy, công nghiệp xây dựng, dệt, công nghiệp xử lý nước thải cũng như trong công nghiệp khai khoáng.

Ester tinh bột (starch ester): acetate tinh bột hoặc tinh bột đã được acetate hóa (starch acetate, acetylated starch).

Acetate tinh bột được điều chế theo phản ứng sau:



Tinh bột + aldehyde acetic $\xrightarrow{\text{NaOH}}$ acetate tinh bột + acid acetic

Loại tinh bột cải biến này được sử dụng trong công nghiệp thực phẩm, dệt, giấy và dùng làm tác nhân hút ẩm trong các ngành công nghiệp khác nhau.

Quay lại vấn đề nghiên cứu sirofructose, bởi vì nó là loại đường có ý nghĩa quan trọng trong những năm tới đây. Năm 1986, Usami ở trường Đại học Waseda đã tổng hợp được một chất gây vị ngọt mới, chất xylofructose. Loại đường đôi này được tổng hợp nhờ enzyme b-fructofuraloxydase của nấm *Penicillium frequentem*, enzyme này xúc tác thủy phân saccharose thành fructose và glucose, đồng thời đem một gốc xylose gắn với fructose. Hãng Lotte Inc. đã hợp tác để sản xuất xylofructose. Một loại đường ba cũng đã được tổng hợp từ fructose là galactozilfructose nhờ sử dụng enzyme của vi nấm *Aspergillus spp.* do hãng Meji Seaki Co. Lid. của Nhật Bản tiến hành. Theo một số chuyên gia siro (xi-rô) đặc nhiều đường fructose chế từ ngô (HFCS) sản xuất bằng đồng phân hóa enzyme glucose chế từ tinh bột ngô thủy phân sẽ thống trị trên thị trường chất ngọt nhiều calo tự nhiên trên thế giới thập kỷ 1990. Xi-rô này sẽ cung cấp 50% thị trường thế giới, trong khi đó các chất ngọt tổng hợp đóng góp khoảng 10%.

Ở các nước phát triển, tiêu thụ sirofructose đang dần dần thay thế đường saccharose. Thí dụ ở Mỹ, tiêu thụ đường saccharose đã giảm từ 91 pao/đầu người năm 1979 xuống 87 pao/năm 1980. Trong khi đó tiêu thụ sirofructose từ 15,4 pao lên 19 pao/đầu người cùng trong một giai đoạn đó. Năm 1987 tiêu thụ đường mía và sirofructose theo đầu người ở Mỹ là tương ứng 67 pao và 36 pao.

Sự bành trướng thị trường sirofructose và sản xuất chất ngọt này là do tiền đề sau đây quyết định:

- Các nước nhập khẩu đường phát triển mạnh, sản xuất sirofructose (isoglucose) hoặc triển khai các chất ngọt thay thế.

- Công nghiệp tiêu thụ nhiều đường dạng lỏng, mặc dù tiêu thụ phụ thuộc vào từng ngành công nghiệp thực phẩm.

- Giá đường cao, ảnh hưởng đến công nghiệp lẫn người tiêu thụ (trừ nhóm dân cư thu nhập thấp).

- Các hệ thống chuyên chở và phân phối năng suất cao có thể đáp ứng nhu cầu tồn trữ và sử dụng xi-rô cũng như các phụ phẩm như dầu phôi ngô và thức ăn gia súc từ ngô.

- Công nhân có trình độ cao, cung cấp đủ nước sạch, hóa chất, enzyme và năng lượng.

- Có đủ vốn, vì để xây dựng xí nghiệp isoglucose đòi hỏi vốn đầu tư lớn.

- Có dồi dào nguồn tinh bột rẻ tiền, hoặc nhập khẩu được nguyên liệu rẻ để sản xuất isoglucose mà không dùng được cho người và gia súc.

Các tiền đề trên giải thích tại sao Mỹ sản xuất isoglucose phát triển mạnh, mà Mỹ một nước phải nhập khẩu rất nhiều đường, đồng thời sản xuất 46% tổng sản lượng ngô thế giới. Cũng như ở Nhật Bản, một nước nhập khẩu đường chủ yếu và nhập tới 99% ngô cho mình.

Các nước Đông Âu và một số nước đang phát triển ngày càng quan tâm đến sản xuất isoglucose (Argentina, Australia). Ở Đông Nam Á (Malaysia, Pakistan, Hàn Quốc) và châu Mỹ Latinh (Brazil, Chilê, Mexico, Péru) đang xây dựng các xí nghiệp và thị trường mở ra nhanh chóng.

Sản lượng isoglucose năm 1988 ở Mỹ là 4,2 triệu tấn, Canada: 300.000 tấn, Nhật Bản: 800.000 tấn, khối EEC: 1-2 triệu tấn, các nước đang phát triển: 500.000 tấn, các nước Đông Âu: 200.000 tấn. Nếu không kể EEC sản lượng isoglucose 6 triệu tấn của thế giới năm 1988 sẽ tương ứng với khả năng tối đa của thị trường.

Chắc chắn phương pháp mới sẽ làm giảm giá thành sirofructose và tăng tốc độ thay thế đường. Việc bán xi-rô ở dạng khô ngày càng tăng sẽ cạnh tranh với đường sử dụng trong nội tại.

Chiều hướng này có ảnh hưởng quan trọng trên phạm vi thế giới, đặc biệt đối với nền kinh tế và cán cân ngoại thương của các nước sản xuất đường vốn đã bị thiệt thòi do giá đường giảm liên tục trên thị trường thế giới.

2.2. Công nghệ sản xuất protein nhờ vi sinh vật

Có rất nhiều loại sản phẩm chế biến từ protein như thịt hộp, cá hộp, nước mắm ngăn ngày, răn bông, xúc xích, lập xương, patê, các mặt hàng thủy sản lạnh đông,...ở qui mô công nghiệp. Ở đây chúng tôi chỉ giới thiệu một vài sản phẩm tiêu biểu để làm ví dụ.

Sản xuất protein đơn bào

Việc nghiên cứu vi sinh vật ở qui mô lớn để làm ra nguồn protein cung cấp cho con người và gia súc, gia cầm được coi là một biện pháp giải quyết nạn khan hiếm thức ăn ở Đức trong đại chiến thế giới lần thứ nhất. Tại Berlin, Delbruck cùng các đồng sự của mình đã lần đầu tiên tổ chức nuôi cấy lớn nấm men bia *Saccharomyces cerevisiae*. Sinh khối nấm men này được dùng chủ yếu để bổ sung vào xúp và xúc xích. Các nấm men thực phẩm (*Candida arborea*, *Candida utilis*) một lần nữa đã góp phần quan trọng vào việc bổ sung thực phẩm hàng ngày của người Đức trong đại chiến thế giới lần thứ hai. (Theo Tạp chí Scientific American, 1981). Hiện nay, nấm men được sản xuất như một phụ phẩm của công nghiệp bia, hoặc được nuôi trên nhũ nhanh (Lactoserum) một phụ phẩm của ngành sản xuất fromage. Sinh khối nấm men cũng dùng làm thức ăn cho lợn con để cung cấp loại acid amin không thay thế được là lysine.

Trong những năm 1960, thuật ngữ “protein đơn bào” (SCP: single cell protein) lần đầu tiên được dùng để chỉ các protein vi sinh vật sản xuất bằng cách nuôi cấy lớn nấm men hoặc vi khuẩn đã được dùng để làm thức ăn cho người và gia súc, gia cầm. Cơ chất dùng cho việc sản xuất protein đơn bào là hydrocarbon dầu mỏ, rỉ đường. Bã thải của các nhà máy bột giấy để nuôi sống các nấm men *Saccharomyces*, *Candida*, *Mycoprotein*, (protein nấm ví dụ: *Fusarium gramineum*), các loại tảo đơn bào: *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Spirulina*, ...

Sản xuất protein từ parafin dầu mỏ

Mùa hè năm 1913, giáo sư E.E. Uspenski trường Đại học Tổng hợp Moskva tiến hành nghiên cứu cây tầm ma (*Urtica*) và cây mộc tặc (*Equiserum*) mọc trên than và trên nước. Ông thấy đôi khi trên thành chậu làm bằng parafin, hay tráng parafin xuất hiện khuẩn ti nấm mốc và một lớp váng vi khuẩn. Uspenski đã cấy các vi sinh vật này và xác định được “lai lịch” của nó. Đó là *Aspergillus flavus*. Cuối năm 1922, học trò của ông là V.O.Tauson nghiên cứu điều kiện phát triển của nấm trên parafin và sinh lí học của quá trình oxyhóa này. Năm 1925, luận án tốt nghiệp của

nhà khoa học trẻ tuổi này “Sự đồng hóa parafin bởi vi sinh vật” đã bảo vệ thành công xuất sắc.

Lúc đó cũng là lúc xuất hiện các thông báo của Rahn, Tausz, Sohngen và Vaner về những trường hợp oxyhóa parafin bởi vi sinh vật mà họ đã quan sát thấy. Trước đó, năm 1695, Miyoshi đã phát hiện được khả năng như thế ở nấm, nhưng hồi đó các công trình của các nhà bác học trên thế giới hoàn toàn không xem xét tới vai trò của vi sinh vật trong việc phân giải hydrocarbon trong tự nhiên cũng như nghiên cứu rất ít về sinh lí học của các vi sinh vật này.

Tauson đã chứng minh rằng, parafin có thể dùng làm nguồn dinh dưỡng carbon duy nhất cho một nhóm lớn các sinh vật.

Các nghiên cứu được đặc biệt chú ý khi có sự đe dọa gay gắt đối với nhân loại về nạn đói protein. Các tổ chức nghiên cứu khoa học của Pháp, Anh, Italia, Nhật Bản và Mỹ bắt đầu đẩy mạnh việc nghiên cứu vấn đề thu nhận protein từ dầu mỏ.

Hãng dầu mỏ Bistish Petroleum (BP) của Anh từ kết quả nghiên cứu của Champagnat tại La Viera (Pháp) đã quan tâm đến việc sản xuất sinh khối vi sinh vật trên hydrocarbon từ cuối những năm 1950. Dự án ban đầu ngoài việc sản xuất protein còn nhằm mục đích khử sáp cho dầu mỏ. Dầu thô ở La Veria chứa từ 10-15% parafin. Chất này được những loài nấm men *Yarrowia* (*Candida*) chuyển hóa từ các nôi lên men được bổ sung ammoniac ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$) để cung cấp N_2 và để giữ độ pH thích hợp cho môi trường không khử trùng (*Candida lipolytica* lần đầu tiên được tách từ bơ thực vật ở Hòa Lan năm 1928 được gọi là *Torula lipolytica* sau đó đổi thành *Saccharomycopsis* và đến nay lại đổi *Yarrowia lipolytica*). Nấm men này oxyhóa được hydrocarbon thành acid béo nhờ enzyme hydroxylase. Các acid béo sẽ được phân hủy tiếp thành acetylCoA rồi được chuyển thành sinh khối nấm men). Sau giai đoạn sinh trưởng mạnh mẽ nấm men được tách ra và phần dầu còn lại được chuyển đi, phần lipid chiếm đến 10% của sinh khối.

Đầu năm 1970, nhiều nhóm hóa học và công nghiệp dầu mỏ, chủ yếu là ở châu Âu và Nhật Bản đã quan tâm đến việc xây dựng các qui trình công nghệ và xây dựng các nhà máy nhằm sản xuất ra protein đơn bào của nấm men hay của vi khuẩn từ cơ chất là hydrocarbon, methan, hay methanol. Nhà máy có qui mô lớn đầu tiên của hãng BP ra đời ở Sarroch (vùng Sardinia) vào cuối năm 1975, sản xuất nấm men từ n-parafin với công suất 100.000 tấn/năm. Một nhà máy khác của BP ở Grangemouth (thuộc Scotland) với những nôi lên men có khuấy trộn chứa môi trường có n-parafin thuần khiết. Sản lượng protein đơn bào là 4.000 tấn/năm. Công ti Liquichimica ở Italia cũng đã xây dựng nhà máy sản xuất từ n-parafin ra

protein nấm men, acid amin, acid béo và acid citric (qui trình của Nhật Bản) công suất năm 1980 là 200.000 tấn protein. Ở Rumanie tại vùng Curtea de Arges đã xây dựng một nhà máy sản xuất protein đơn bào theo qui trình của công ti Dainippon Ink. & Chemical (Tokyo). Nấm men được dùng là *Candida parafinica* cho phát triển trên 4 nồi lên men hình tháp có sức khí dung tích 1.260 m³. Cơ chất lên men là parafin. Không khí sau khi được nén và lọc sẽ được đưa vào nồi lên men để sức khí và làm phân tán parafin. Sản lượng 60.000 tấn/năm (giá thành 1000 USD/tấn protein đơn bào với tên thương phẩm Romiprot).

Sản xuất protein từ methanol

Sản lượng khí tự nhiên to lớn ở Bắc Hải cũng đã làm công ti Shell International Petroleum quan tâm đến việc dùng nguyên liệu này để làm cơ chất cho việc sản xuất protein. Khí thiên nhiên ở Bắc Hải gần như là khí methan tinh chất. Chúng được dùng để tổng hợp ammonium trong ngành hóa dầu. Để đề phòng sự bốc cháy của methan người ta đã oxyhóa thành methanol nhờ phương pháp hóa học.

Việc sản xuất protein từ methanol là phương pháp được sử dụng trong các nhà máy của công ti Hocchst AG ở Cộng hòa Liên bang Đức và của công ti ICI (Imperial Chemical Industries Ltd.) ở Anh. Phương pháp này cũng đã được viện Nghiên cứu Khoa học Koweit tiếp nhận và một nhà máy sản xuất thử sinh khối nấm men đã được triển khai năm 1982.

Nhóm công ti ICI tham gia sản xuất protein từ năm 1968. Năm 1980, xây dựng một nhà máy ở Billingham (Anh) và cạnh tranh với đậu tương bằng cách nâng cao hiệu suất chuyển hóa methanol thành protein.

Chủng vi khuẩn được sử dụng – *Methylophilus methyloropus* ASI – có khả năng đồng hóa ammonium từ dịch nuôi cấy bằng cách chuyển hóa nó thành acid glutamic nhờ enzyme glutaminsynthetase (GS) và enzyme glutamatesynthetase (COGAT). Việc đồng hóa ammonium ở bước xúc tác nhờ GS cần có năng lượng ở dạng ATP. ATP được sinh ra khi oxyhóa methanol thành CO₂ và việc này làm tiêu hóa quá nhiều carbon. Ở một số vi khuẩn khác kể cả *E. coli*, có một cách tổng hợp acid glutamic rất quen thuộc đòi hỏi ít năng lượng hơn và phụ thuộc vào một enzyme khác – glutamate dehydrogenase (GDH). Người ta đã tách được một chủng đột biến của vi khuẩn ASI không đồng hóa ammonium vì thiếu enzyme COGAT. Mặc khác, các gene mã hóa việc tổng hợp GDH của *E. coli* đã được gắn vào một plasmid và chuyển vào tế bào của ASI. Vì vậy, có thể đồng hóa ammonium mà chi phí năng lượng thấp hơn.

Cuối năm 1983, công ti ICI hợp tác với Liên Xô xây dựng một nhà máy sản xuất protein công suất 100.000 tấn/năm và cần cung cấp một năm 200.000 tấn methanol.

Nhiều công ti khác trên thế giới ở qui mô nhỏ hơn cũng đã tiến hành sản xuất protein bằng phương pháp methanol này.

Sản xuất protein bằng các cơ chất khác

Đầu năm 1960, trong việc sản xuất protein từ hydrocarbon còn có các nhà máy lên men được xây dựng để sản xuất sinh khối vi sinh vật từ rỉ đường và từ bã thải của các nhà máy giấy. Rỉ đường mía hay rỉ đường củ cải là chất dịch chứa 50-60% phân tử hydrate carbon nhỏ bé, có thể lên men nhờ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* hay *Candida/Torula utilis*. Dịch thải của nhà máy bột giấy cũng chứa một nồng độ thấp các đường có thể lên men bằng nấm men.

Nhiều nhà máy lên men được xây dựng ở Mỹ và các nước Bắc Âu, dùng dịch thải của bột giấy để sản xuất protein, nhờ đó mà giảm việc làm ô nhiễm sông ngòi bởi dịch thải này. Loại nấm men phát triển trên dịch kiềm sulphite (*Candida utilis*) là loại nấm men thực phẩm được dùng để làm chất điều vị cho thức ăn và xúp.

Để chống ô nhiễm môi trường do sản xuất bột giấy và tăng lượng protein, nhiều công ti Envirocon Ltd., Vancouver, Cellulose Attisholz (Thụy Sĩ), United Paper Mill's Jamsankoski, công ti Giấy và Bột giấy G.A. Serlachius Oy (Phần Lan) ...đã tiến hành sản xuất protein dùng trong chăn nuôi.

Về sản xuất protein từ rỉ đường thì Cuba đã sản xuất nấm men gia súc (*Candida utilis*) từ rỉ đường của nhà máy đường và từ hỗn hợp giữa rỉ đường và bã rượu. Năm 1986 có tới 11 nhà máy sản xuất protein hoạt động ở Cuba và 2 nhà máy khác sản xuất men bánh mì. Bảy trong số các nhà máy này do công ti SPEICHIM của Pháp thiết kế, các nổi lên men với quá trình sục khí. Bốn nhà máy còn lại do các công ti Áo thiết kế. Tổng công suất hàng năm là 130.000 tấn, sản lượng thực tế là 90-100.000 tấn sinh khối/năm. Sinh khối này chủ yếu dùng trong chăn nuôi.

Ngoài việc dùng nấm men để lên men, ở Billingham (Anh) đã dùng loại nấm sợi *Fusarium gramineum* để sản xuất trong giai đoạn đầu (1.000 tấn protein/năm). Loại mycoprotein này được công ti Rank Hovis Mc. Drgall của Anh bán ra thị trường qua chi nhánh New Era Food (do công ti này và công ti ICI lập ra). Sử dụng mycoprotein đã được phép dùng vào thực phẩm cho người vì protein chiếm 44% trọng lượng khô, saccharide: 19%, cellulose: 18% và lipid: 14%. Từ năm 1975, Azoulay đã giúp cho hãng Adour Entreprise (tây nam nước Pháp) phân lập một chủng nấm men *Candida tropicalis* có thể lên men trực tiếp sắn mà không cần quá trình thủy phân ban đầu. Cứ 2 kg bột Sắn khô thì được 1 kg sinh khối nấm men (hay 7 kg sắn tươi được 1 kg sinh khối). Bột nấm men sấy khô >100°C để phân hủy acid hydrocyanic có trong sắn (*Manihot esculenta*) chuyển thành

ammonium và acid formic. (các loại sản khác như *M. aipi* không có hydrocyanic nếu không cần xử lý để loại bỏ độc tính của chúng).

Ấn Độ, Thái Lan cũng sản xuất và xuất khẩu sinh khối nấm men từ Sắn.

Ở Ecuador và Colombia cũng sản xuất sinh khối nấm men từ chuỗi kém phẩm chất, không xuất khẩu được, đã bán hàng năm 1 triệu dollards Mỹ.

Chế biến chất ngọt tự nhiên

Sản xuất các chất ngọt tự nhiên bằng nuôi cấy mô và tế bào thực vật cũng như các chất ngọt không phải đường bằng phương pháp CNSH khác có thể làm xấu đi tình trạng của đường mía và củ cải đường trên thị trường quốc tế. Giá đường bắt đầu hạ từ năm 1985 do lượng tiêu thụ ở các nước công nghiệp giảm nhanh, do các nước xuất khẩu sản xuất quá nhiều và do cạnh tranh ngày càng tăng của sirofructose (isoglucose) và các chất ngọt bán tổng hợp (aspartam) hoặc chất ngọt nhân tạo (acesulfam K). Theo tài liệu của Wolkstein nhan đề “Đường trước sự tấn công tiếp của fructose, polysaccharide và các chất ngọt khác” xuất bản năm 1986 tại Mỹ. Trong vòng 15 năm, kể từ năm 1987 về trước, tối thiểu có 8 chất gây vị ngọt đang được nghiên cứu và được tung ra thị trường. Chính tài liệu đó đã kết luận: thị trường Mỹ sẽ đạt mức 154,3 tỉ bảng Anh (pao) chất ngọt qui chuẩn ra đường và vào năm 1990 với sự phân bổ như sau: các chất ngọt có calo sẽ giảm từ 129,8 xuống 124 tỉ pao qui ra đường và 109,6 tỉ pao vào năm 2005. Còn các chất ngọt ít calo hoặc không calo sẽ tăng từ 17 đến 30,5 tỉ pao vào năm 1990 và 45,3 tỉ pao vào năm 2005. Dự báo này cho thấy rõ tỉ lệ quan trọng của các chất ngọt ít calo (xem Nothias J.K., 1987).

Các chất ngọt ít calo gồm nhiều chất có nguồn gốc khác nhau, tự nhiên hoặc nhân tạo. Chất ngọt tự nhiên được ưa chuộng hơn vì được gắn nhãn “tự nhiên” và vì vậy được dùng nhiều hơn trong thực phẩm. Thị trường chứa thực phẩm và nước uống ít calo đang tăng lên nhanh chóng: 2,5 tỉ USD doanh số năm 1982 và 41,2 tỉ USD năm 1990. Nhu cầu tăng nhanh này lại đi kèm theo bởi sự chú ý nhiều hơn của người tiêu dùng đến thành phần thực phẩm. Vì vậy các chất ngọt tự nhiên được ưa thích hơn. Cần ghi nhận rằng, các công ti thực phẩm, hóa chất và hóa dược được đa quốc gia ngày càng tham gia nhiều đến sự phát triển các chất có vị ngọt mới như Tate và Lyle (Anh), E.I. Du pont de Nemours, Monsanto, Pfiser (năm 1986 đã xin được giấy phép bán một chất ngọt tổng hợp mới tên là alitام ở Mỹ) và một số công ti lớn ở Nhật Bản.

Tạp chí Mĩ “Bioprocessing Technology” số tháng 8 năm 1986 cũng đã tổng kết về các chất ngọt có nguồn gốc thực vật tự nhiên gồm một số loại chất khác nhau.

Trong năm 1970, tập đoàn Tate và Lyle chế biến đường và thực phẩm của Anh đã xây dựng ở Gana, Liberia, Malaysia các đồn điền trồng cây *Thaumatococcus danielli* (họ Narantaceae) tìm trong rừng ẩm Tây và Nam Phi, có quả chùm màu đỏ rất ngọt, chứa một protein ngọt là thaumatin. Hãng này sau đó nghiên cứu sản xuất thaumatin bằng phương pháp CNSH (Kenney M.J., et al., 1983). Gene mã hóa thaumatin đã được nhân dùng trong vi khuẩn *E. coli* bởi các nhà nghiên cứu ở phòng thí nghiệm Unilever (Colworth, Anh) và các nhà khoa học trường Đại học Kent đã truyền vào cây thuốc lá. Gene mã hóa cho thaumatin cũng có thể truyền vào các cây trồng thực phẩm để tăng mùi vị sản phẩm.

Các nhà khoa học ở INGENE (International Genetic Engineering) Santa Monica, California đã nghiên cứu nhân dòng và đưa gene này vào tế bào nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*). Bằng cách đó, có thể tạo thành thaumatin nhờ nuôi nấm men trên qui mô lớn, sau đó, “phục chế” phân tử protein (phục hồi 8 cầu nối disulphite tạo điều kiện cho protein có được cấu trúc và tính chất tự nhiên của nó). Công trình này được hãng Beatrice US Food Corporation tài trợ từ năm 1982 mỗi năm 1 triệu USD và riêng năm 1986 là 1,8 triệu USD; công ti này được độc quyền bán sản phẩm làm ra trong khi công ti INGENE dự kiến sẽ thu được 25 triệu USD tiền bản quyền (theo Biofutur số 54 tháng 2 năm 1987 trang 13).

Thaumatin có độ ngọt gấp 2.000-2.500 lần đường saccharose (so cùng trọng lượng) với giá trị 16.500 USD/kg năm 1984. Vị ngọt của thaumatin lên chậm và giữ được lâu. Nó còn có tác dụng tăng vị một số chất như bạc hà cay. Đặc điểm này tạo thuận lợi cho thaumatin được sử dụng làm kẹo cao su và trong công nghiệp dược. Năm 1987, thaumatin được bán ở Áo, Thụy sĩ, Nhật Bản và Anh, trong khi đó ở Mĩ nó đang được xem xét độc tính trước khi cho phép bán. Các nước khác cũng đang trong quá trình cho phép buôn bán thaumatin như là chất ngọt.

Monellin là một protein ngọt khác chiết tách từ trái cây leo *Doscoreophyllum cumminsii* (họ Menispenneaceae) tìm thấy ở vùng nhiệt đới ẩm Tây và Trung Phi. Thaumatin và monellin là 2 loại protein ngọt đặc biệt, ngọt gấp 100.000 lần đường nếu tính theo phân tử lượng và gấp vài nghìn lần nếu tính theo trọng lượng. Người ta đã chứng minh rằng, hình thể nguyên gốc là rất quan trọng đối với vị ngọt mặc dù cả hai loại protein đều rất ngọt, song giữa chúng không những giống nhau đáng kể qua thống kê trình tự acid amin của chúng. Mặc dù không giống nhau về trình tự nhưng các kháng thể của thaumatin vẫn giành giật monellin, song

lại không giành giết loại monellin không ngọt đã bị cải biến hóa học và ngược lại (xem Ogata C. et al., 1987). Để tìm hiểu cơ sở cấu trúc của các quan sát trên, Ogata và ctv ở khoa Hóa trường Đại học Tổng hợp California, Berkeley đã xác định cấu trúc của monellin ở độ phân giải $3\text{\AA}$, sau khi đã thông báo cấu trúc tinh thể của thaumatin năm 1985 (Ogata et al., 1987). Monellin gồm 2 chuỗi peptid, chuỗi A gồm 44 gốc và chuỗi B gồm 50 gốc. Khung cấu trúc tổng thể của monellin và thaumatin không có gì giống nhau đáng kể cả. Các protein này chỉ có 2 khu vực nhỏ (cả hai đều là tripeptid) nằm trong vùng nút mở, là giống nhau về trình tự acid amin. Các nghiên cứu sinh hóa và miễn dịch cũng được tiến hành nhằm xác định các khu vực có thể là chịu trách nhiệm về phản ứng kháng thể giao chéo và liên kết thụ cảm vị ngọt.

Chế biến cá thịt hộp, xúc xích, giò, Lạp xưởng, nem chua

Thịt được chứa các hộp kín và thanh trùng ở nhiệt độ cao (115-121°C khoảng 40-69 phút tùy từng loại thịt và số lượng tạp khuẩn trên thịt)

Thịt đóng hộp phải là loại thịt tốt từ gia súc, gia cầm khỏe, thịt còn tươi, chưa có dấu hiệu hư hỏng. Trước khi thanh trùng cần phải kiểm tra vi sinh vật có trong thịt theo 2 tiêu chuẩn: tổng số vi khuẩn và bào tử các vi khuẩn hiếu khí ưa nhiệt. Trong quá trình thanh trùng, hầu như các vi sinh vật gây bệnh chết hoàn toàn. Các vi sinh vật phá hủy thịt chết phần lớn. Các bào tử của vi khuẩn *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Cl. botulinum* có thể vẫn còn sống. Trong hộp thịt, bào tử *Cl. botulinum* có thể phát triển sinh ra độc tố gây ngộ độc thịt. Trong thịt có nhiều mỡ, tế bào vi sinh vật trong môi trường mỡ bền với nhiệt. Cho nên, chế độ thanh trùng cần phải chú ý.

Xúc xích, giò, Lạp xưởng. các sản phẩm này là thực phẩm ăn trực tiếp không cần qua đun nấu lại. Vì vậy, yêu cầu vệ sinh nguyên liệu thịt phải cao, thịt loại tốt, tươi. Cũng cần chú ý đến chất lượng nguyên liệu phụ như bột, muối ăn, diêm tiêu (KNO_3), gia vị. Thịt đã loại bỏ gân, xương, cho vào xay mịn rồi trộn muối ở nhiệt độ thấp trong khoảng thời gian tùy theo phương pháp chế biến. Ngoài muối còn cho thêm diêm tiêu để giữ màu thịt, thêm đường cho mềm thịt, thêm gia vị (làm Lạp xưởng thì thêm húng liú). Sản phẩm được luộc chín. Bảo quản thường hoặc bảo quản lạnh. Sản phẩm có thể sấy khô hoặc xông khói. Trong vi khuẩn có những chủng làm hoàn thiện màu sắc cho xúc xích. Một số nước dùng vi khuẩn dạng thanh khiết cho vào xúc xích: *Pediococcus cerevisiae*, *Micrococcus T.53*, *L. platarum*, *M. aquatilis*, *M. auranticus*, *Str. Lactis*, *Micrococcus spp.* Xúc xích, Lạp xưởng, giăm bông, giò, chả,...có một lượng nước

không lớn (30-40%), có vỏ bọc, có các chất ức chế vi khuẩn (muối, diêm tiêu, gia vị, các chất trong khói) nên có thể bảo quản được một thời gian.

Nem chua. Tùy theo tập quán của mỗi nước, mỗi vùng mà cách làm có khác nhau. Ví dụ tôm chua Longanisa của Philippine bao gồm thịt nạc 70%, mỡ thái nhỏ 30%, muối 2% so với tổng số thịt, đường tinh 2%, giấm 2%, rượu vang 2%, hạt tiêu đen 0,6%, tỏi giã nhỏ 0,6%, potassium nitrate 0,05%, hỗn hợp phosphate 0,15%. Vi khuẩn lên men lactic tự nhiên có mặt trong nguyên liệu ban đầu. Ướp 2-3 ngày trong tủ lạnh, lấy ra để nguội cho lên men ở nhiệt độ 30-35°C trong 12-24 giờ, đem dùng.

Lên men tôm, cá và các loại thủy sản khác

Cá tôm muối

Cá, tôm muối là sản phẩm khá phổ biến. Phương pháp muối tôm, cá để bảo quản được dùng từ thời cổ xưa. Dung dịch muối có khả năng tạo thành áp suất thẩm thấu cao. Dung dịch muối 10-20% có áp suất thẩm thấu 200 atm. Tế bào nguyên liệu cũng như vi sinh vật bị co nguyên sinh làm cho vi sinh vật hoặc ngừng hoạt động. Các quá trình biến đổi các chất không thực hiện được chức năng bình thường. Vì vậy một số vi sinh vật gây hại không hoạt động được.

Trong quá trình muối tôm, cá có thể xảy ra những biến đổi hóa sinh liên quan đến tác dụng của protease và oxy hóa- khử cũng như sự hoạt động của vi sinh vật có trong tôm cá. Thịt của một số cá muối trở nên mềm, tươi ngon và có mùi vị thơm dịu. Vì vậy, tôm cá muối đã “chín” và có thể ăn trực tiếp không cần phải qua nấu nướng. Gần đây một số nước đã bảo quản cá ở dạng đóng bánh. Nguyên liệu đem xay nhỏ và bóp muối. Sau đó đem ép rồi phơi hoặc sấy khô. Sản phẩm giữ được dài ngày cả trong điều kiện khí hậu nhiệt đới. Trước khi nấu, đem ngâm vào nước nóng để giảm độ mặn.

Các nước Đông Nam châu Á dùng tôm, cá muối khá phổ biến như tôm muối thính Balao Balao (Philippine), tôm muối Kung Chom (Thái Lan), Tôm muối Saeojeot (Triều Tiên), mắm cá thu Burong (Philippines), trai muối hơi Malangpu Dong (Thái Lan), tôm chua Huế, mắm nêm, cá mắm các loại, nước mắm (sản xuất khắp cả nước trong đó có những vùng làm nước mắm truyền thống trở thành những món hàng đặc sản như nước mắm Phan Thiết, nước mắm Phú Quốc, v.v.).

2.3. Sản phẩm từ rau quả

Để giảm bớt sự thất thoát các sản phẩm rau quả, hiện nay người ta cũng ứng dụng nhiều hình thức chế biến khác nhau như sản xuất các loại rau quả hộp, sấy khô quả ở qui mô lớn và hiện đại, lạnh đông rau quả, muối, lên men rau quả rồi đóng hộp.

Sau đây là một vài ví dụ về việc chế biến rau quả

Bảo quản và chế biến rau quả bằng phương pháp lạnh và lạnh đông

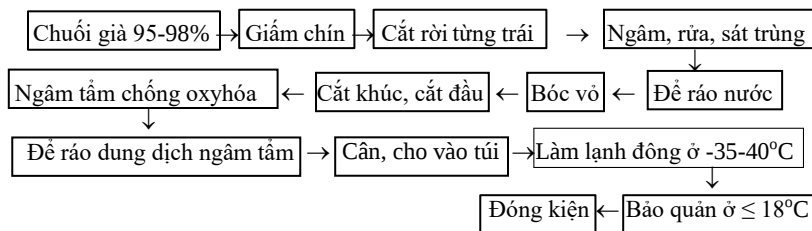
Phương pháp lạnh đông rau quả được bảo quản ở 0°C sẽ kìm hãm quá trình sinh lí, sinh hóa và hoạt động của vi sinh vật, đồng thời làm tăng hương vị cho rau quả. Thông thường người ta bảo quản rau quả trong kho lạnh từ 2 đến -2°C. Cũng tùy theo phẩm chất của sản phẩm mà nhiệt độ bảo quản có khác nhau.

Tùy theo mức độ xử lý nguyên liệu cả cách phối chế, rau quả lạnh đông có các dạng sau:

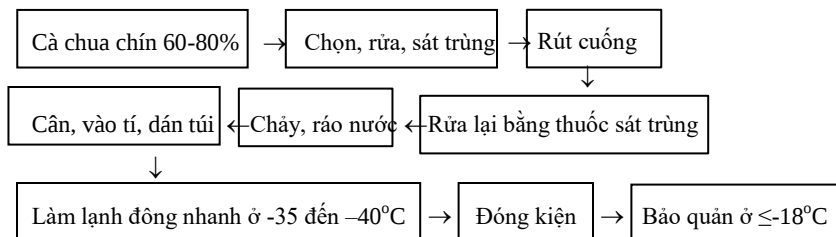
- + Rau tự nhiên lạnh đông
- + Rau rót nước muối lạnh đông
- + Quả tự nhiên lạnh đông
- + Quả trộn nước đường lạnh đông
- + Nước rau quả lạnh đông
- + Rau quả nghiền lạnh đông.

Sau đây là một vài qui trình lạnh đông rau quả.

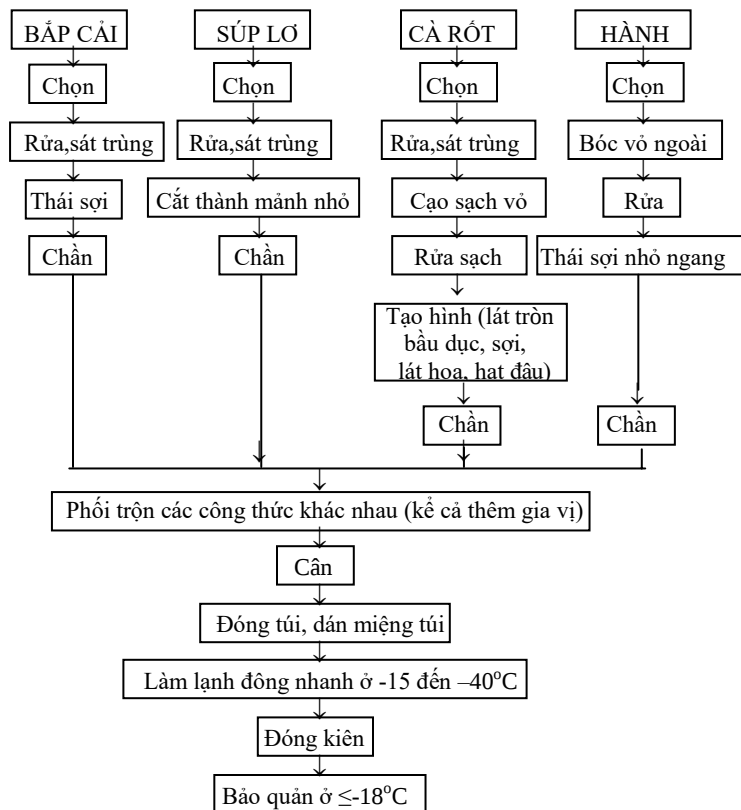
Qui trình lạnh đông chuối



Qui trình lạnh đông cà chua



Quy trình lạnh đông hỗn hợp rau



2.4. Chế biến thực phẩm chuyển gene

Đã từ hàng nghìn năm qua, loài người biến đổi di truyền cây trồng như giữ giống tốt từ vụ trước qua vụ sau; cây cà chua dại thành cây cà chua hiện nay; cây ngô dại bắp trần dài 2,5 cm thành quả có bao dài 30 cm. Hàng trăm giống mới được tạo ra bằng chiếu xạ hoặc dùng hóa chất gây đột biến.

Một trong những biện pháp hiện nay là kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào, tạo phôi soma, hạt nhân tạo, tạo dòng soma trong nuôi cấy mô và tế bào, protoplast, đặc biệt sử dụng công nghệ gene trong tái tổ hợp DNA.

Có nhiều giống cây mới được tạo ra theo ý muốn của con người, như tạo ra cây vừa ăn quả, vừa ăn củ (quả cà chua và củ cà rốt hoặc cà của khoai tây trong cùng một cây, một chùm quả nho ở giữa có quả cà chua xen vào mà quả cà chua này lại ít thối hỏng, v.v.), cây ngô chuyển gene chống sâu hại v.v..



↑
Ngô chuyển gene kháng sâu hại

← Cây khoai-cà (Pomato)

Hình VII. Cây trồng thực phẩm chuyển gene

Hoặc trong hạt nhân tạo, người ta đã đưa vào vỏ hạt các loài vi khuẩn cố định N_2 , khi cây trưởng thành, vi khuẩn này sẽ lấy N_2 từ không khí để cung cấp phân đạm cho cây đó. Cũng bằng cách tương tự, người ta đưa một số thuốc trừ sâu hoặc trừ cỏ dại vào vỏ hạt nhân tạo để bảo vệ cho cây khỏi bị sâu và cỏ dại phá hoại. Hạt nhân tạo cũng dễ dàng nạp các gene lạ vào nhằm tạo ra các giống mới có đặc tính mong muốn. Về chuyển nạp gene, trên thế giới cũng đã có nhiều thành tựu. Riêng ở Việt Nam, viện Công nghệ Sinh học, viện Sinh học Nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh thuộc viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, viện Di truyền Nông nghiệp TW, viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long thuộc bộ NN&PTNT đã chuyển nạp gene chống chịu rầy nâu vào cây lúa bằng súng bắn gene và cả phương pháp gián tiếp bằng plasmid *Agrobacter tumefaciens* cũng đạt kết quả. Nhiều công trình nghiên cứu chống chịu sâu bệnh, bảo vệ cây trồng như dùng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* (Bt) là loài có khả năng sản sinh ra protein chống côn trùng. Người ta cũng đã đưa gene vào để tạo enzyme làm thoái hóa thành phân tiền chất hình thành ethylen, như vậy sẽ làm chậm sự chín và hư hỏng. (Công trình của Kishore và Harry Klee ở

Monsanto). Các nhà khoa học Mĩ cấy vào cây một gene vi khuẩn sản sinh ra một chất chitinase tiêu diệt tế bào nấm (cây vào cà chua, khoai tây, rau diếp và các giống cây tương tự nhưng chưa làm được với lúa, lúa mì, ngô và các cây có hạt khác).

Bên cạnh việc nâng cao năng suất cây trồng, người ta cũng đã nâng cao phẩm chất của chúng bằng cách đưa gene tạo enzyme mới như G. Glili đã dùng vi khuẩn *E. coli* để chiết xuất lấy gene mã hóa loại enzyme tổng hợp lysine, sau đó đưa vào khoai tây và thuốc lá làm cho hàm lượng lysine trong khoai tây ở củ tăng 5 lần, ở lá tăng 4 lần và ở thân tăng 3 lần. Người ta cũng đã đưa 9 acid amin khác vào khoai tây làm cho chất lượng khoai tây trở nên quý giá. Giữa thập kỉ 90 của thế kỉ trước, ở Brazil, công ti Sinh học đưa dự án ghép một gene của lạc cho đậu tương nhằm làm giàu đạm cho đậu tương, đã bị bỏ vì đậu tương này gây dị ứng cho người.

Như vậy, giữa những năm 1990, công nghệ gene bắt đầu đưa vào hơn 50 sản phẩm mới được ứng dụng ở 13 nước với diện tích 52,6 triệu ha năm 2001, tăng 50 lần so với năm 1996. Trong đó nhiều nhất là đậu tương 34,9 triệu ha, bằng 64% diện tích đậu tương thế giới, ngô 6,1 triệu ha và 3,3 triệu ha cây cải dầu. Người ta đã ra được hơn 10 giống cây trồng mang gene mới. Đến năm 2004 đã có đến 81 triệu ha trồng cây chuyển gene ở 17 quốc gia và dự tính vào năm 2010 diện tích trồng cây chuyển gene sẽ tăng lên đến 150 triệu ha với khoảng 15 triệu người trồng tại 30 nước trên thế giới.

Về vật nuôi cũng đã có nhiều thành tựu. Ví dụ như tiêm DNA vào trứng để chuyển đổi gene MT-hGH phát triển thành blastocyste, cấy nửa noãn bào vào gia súc để tạo ra những con sinh đôi, dùng hormone tăng trưởng tái tổ hợp gene của bò để tăng sinh lí sữa (ở Mĩ làm tăng 15% hàm lượng sữa trong bò), tạo bê đực và bê cái theo ý muốn, v.v. Bằng kĩ thuật lên men, Elizabeth Stiton, Danny Lactaire đưa gene sản sinh vi khuẩn lên men vào hệ di truyền con bò sữa, chuyển gene di truyền của bò sữa thành bò cho yaourt.

Vấn đề đang tranh cãi hiện nay là sản phẩm chuyển gene có được an toàn thực phẩm hay không? Đã có nhiều tranh luận về vấn đề GMO (Genetically modified organisms – có nghĩa là có gene cải biến hay chuyển gene). Có người cho rằng, sản phẩm chuyển gene hiện nay như gene ngô BT, đậu tương BT, dầu cải BT là những sản phẩm kì diệu, kết quả của công nghệ gene. Điều này rất đáng hoan nghênh. Hàng triệu nhân dân Mĩ đang ăn loại sản phẩm này, nhưng châu Âu và nhiều nước khác lại tẩy chay. Đây là một nghịch lí không thể giải thích được. Có người cho rằng, những nước phản đối đều có lí do của họ. Nếu như đồng ý với ý kiến phản đối như vậy, đã ai đảm bảo là sản phẩm này không độc hại cho sức khỏe

cả con người? Có người lại nói: công ti Công nghệ Sinh học có tầm cỡ nhất của thế giới Monsanto đã nêu lên tình trạng bùng nổ dân số trên thế giới trong thế kỉ tới, đòi hỏi diện tích nông nghiệp hiện nay là 1,5 tỉ ha phải tăng lên 2,8 tỉ ha. Nhưng đó chưa phải là biện pháp hữu hiệu để giải quyết vấn đề lương thực cho loài người. Chỉ có dựa vào một nền nông nghiệp áp dụng các giống chuyển gene mới có thể nuôi sống được 10-12 tỉ người, lại tiêu hao ít năng lượng và chống được ô nhiễm môi trường. Người khác lại nói: hiện nay ở Mỹ, các sản phẩm chuyển gene hầu hết do công ti tư nhân sản xuất ra, họ cấp tiền cho các viện nghiên cứu, các trường đại học nghiên cứu đề tài cho họ. Các công ti đều chạy theo lợi nhuận. Họ tuyên truyền rùm beng, đã chắc gì tất cả sản phẩm đều phục vụ lợi ích lâu dài cho con người? Lại ý kiến trả lời: hãy cứ nói đến lợi ích cho nhà nông. Các sản phẩm có gene vi sinh vật BT có thể chống được sâu bệnh, nhà nông không phải dùng nhiều thuốc hóa học để phòng trừ, tiết kiệm được chi phí, chống ô nhiễm sản phẩm, chống ô nhiễm đất, nước và không khí. Ý kiến chống lại: nhưng chính gene đó lại tạo ra độc hại cho sản phẩm thì sao? Đã có gì chứng minh là về lâu về dài biến đổi an toàn cho người? Mới đây tàu chở đậu tương từ Mỹ đã bị dân Anh tẩy chay đầy v.v. và v.v. Đúng là còn quá nhiều tranh cãi.

Về chuyên đề “Âm thực thời chuyển gene”, trong Tạp chí Thế giới mới, Thiếu Lâm đã viết bài “*Thực phẩm chuyển gene - Thị trường không ai kiểm soát*” trong trích dẫn đầu tiên đã viết:

Sau khi ăn món bánh bột ngô nhân thịt gà, bà Grace Booth 35 tuổi ở California (Mỹ) cảm thấy nóng trong người, buồn nôn, sau đó bị tiêu chảy, sưng vù môi, khó thở. Các bác sĩ chẩn đoán bà bị sốc phản vệ nên tiêm thuốc kháng dị ứng, truyền dịch và cho uống thuốc kháng histamine Benadryl. Năm giờ sau, bà Grace Booth xuất viện. Sau này bà mới biết bà bị dị ứng với ngô chuyển gene StarLink dùng làm nguyên liệu để chế biến bánh bột ngô nên đã gửi đơn đến kiện cơ quan Quản lí Thực phẩm và Dược phẩm (FDA). Từ nhiều năm nay, thực phẩm chuyển gene đã bị nghi ngờ có chứa nhiều protein lạ có thể gây hại sức khỏe cho con người. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên người tiêu dùng đi kiện. Tháng 3 năm 2001, tạp chí Discover của Mỹ đã đưa lên trang bìa vụ ngô StarLink gây dị ứng. FDA cũng đã chuẩn bị xét nghiệm mẫu máu của 44 người làm đơn kiện của Aventis – nhà sản xuất Ngô chuyển gene StarLink.

Tác giả Thiếu Lâm viết trong tạp chí Thế giới mới (2001, trang 21-25) đã nêu những mục chính như sau: Bánh bột ngô gây dị ứng. Tác giả đưa ra nhiều trường hợp ở Mỹ, người dùng bánh ngô chuyển gene bị dị ứng. Ngô StarLink bắt đầu xuất hiện trên thị trường Mỹ vào năm 1998. Giống ngô này mang gene vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* có khả năng tiết

độc tố diệt bướm ổng giúp cây Ngô không bị phá hại. Tuy nhiên, trong ngô StarLink có protein Cry9C, một loại protein không bị các enzyme đặc biệt trong bộ máy tiêu hóa con người phân hủy. Trong số 44 trường hợp kiện cáo về ngô StarLink, trung tâm Kiểm soát Dịch bệnh Mĩ (CDC) đã chú ý đến 26 trường hợp và đưa ra kết luận ban đầu: 11 trường hợp đã xảy ra triệu chứng dị ứng và 7 trường hợp trong số này chắc chắn có liên quan trực tiếp đến việc ăn thức ăn bằng bột ngô chuyển gene StarLink mang nhãn hiệu Taco Bell hoặc Mission Foods. Tuy nhiên CDC vẫn chưa khẳng định Cry9C có trong thức ăn hay không và FDA sẽ tiếp tục làm công việc này.

Mục chính khác Thiếu Lâm đã viết: Không ai dám chắc thực phẩm chuyển gene gây ngộ độc và ngược lại. Thực phẩm không chuyển gene: khó phân biệt thật giả. Người ta đã biểu tình chống cây chuyển gene ở Brazil. Đồng ruộng trồng cây cải dầu chuyển gene bị phá bỏ ở Pháp.

Đúng, thực phẩm chuyển gene là vấn đề còn đang tranh cãi. Thời gian qua, các nước EU không chịu nhập thực phẩm chuyển gene của Mĩ. Sau này họ yêu cầu thực phẩm chuyển gene phải có lí lịch chuyển gene. (Gần đây có thông tin cho rằng EU đã quyết định cho nhập thực phẩm chuyển gene trở lại nhưng không giải thích lí do).

Có một số người yêu cầu gắn nhãn hiệu cho sản phẩm mới có cấy ghép gene. Nhưng sản phẩm mới không khác mấy về cơ bản của sản phẩm cổ truyền. Vả lại, từ giữa những năm 1990, hơn 60% sản phẩm lương thực, thực phẩm chế biến ở các siêu thị Hoa Kỳ gồm có pizza, khoai tây lát, xi-rô ngô, bột mỳ, đậu tương, cải dầu,... đều là sản phẩm công nghệ gene mới. Do đó gắn nhãn hiệu là không cần thiết. Sản phẩm có gene mới có hại cho môi trường không? Dòng lan truyền gene thông qua hạt phấn, hạt giống từ giống này qua giống khác là mối lo của một số nhà khoa học. Việc lan truyền từ cây trồng sang cỏ qua gió, ong bướm hoặc các yếu tố khác là có thể xảy ra.

Chúng tôi nghĩ, lí lịch gene là quan trọng. Không phải gene nào cũng gây phương hại cho con người. Ví dụ như trên đã nói, tăng thêm một số gene tạo enzyme, từ đó tạo ra sản phẩm có nhiều acid amin không thay thế làm cho chất lượng của sản phẩm tăng lên như tăng 9 acid amin cho củ khoai tây, hoặc chuyển thêm gene sản sinh vi khuẩn lên men vào hệ di truyền của bò sữa, chuyển bò sữa thành bò cho yaourt v.v. thì đâu có hại! Còn việc đưa gene chống sâu bệnh vào tế bào thì rõ ràng có hai mặt: cây sẽ không bị bệnh và cho năng suất cao hơn; sản phẩm tạo thành được nhiều hơn. Ngay cả khi bị bệnh, bản thân cơ thể muôn chống lại điều kiện bất lợi đó, sinh vật phải tiết ra các kháng thể độc để diệt trừ những tác hại gây ra. Các kháng thể đó vẫn còn lưu lại trong cơ thể, nếu nồng độ cao

cũng có hại cho con người. Trong trường hợp con người can thiệp vào bằng phương pháp hóa học hoặc phương pháp chuyển gene chống sâu bệnh, nếu như nồng độ cao là có hại cho sức khỏe con người. Vấn đề là nồng độ sử dụng và sự tích lũy chất độc hại ở cơ thể. Nếu nồng độ cao thì phương pháp đó phải loại trừ, nếu nồng độ thấp cho phép thì nên sử dụng. Vì vậy cần phải tiến hành phân tích và phải có lí lịch của đối tượng cần tiêu dùng.

Gần đây, trong Tạp chí Thế giới mới số 595 ra ngày 26/7/2004 trong bài “Khả năng kì diệu của chíp sinh học”, tác giả Ngọc Nhân đã viết: công ti Apibio của Pháp đã bước đầu đưa vào thử nghiệm một loại chíp sinh học có khả năng phát hiện nhanh các loại thực phẩm biến đổi gene. Người ta sử dụng chíp có gắn DNA đặc trưng của loại không biến đổi gene. Khi thử nghiệm, thiết bị sẽ so sánh gene của loại thực phẩm nhập khẩu với gene mẫu trong chíp. Nếu hai nhánh DNA đó “nhận ra nhau”, điều đó có nghĩa là thực phẩm nhập khẩu là thứ thiệt.

Tiềm năng sinh học mới rất to lớn, nhưng nó cũng không thể mang lại các rủi ro. Phủ nhận hay chỉ dựa vào kĩ thuật mới đều là sai lầm. Chúng ta cần phải phân tích cặn kẽ và trả lời. Ở đâu, như thế nào, tại sao chúng ta lại sử dụng các sản phẩm sinh học mới và nếu chúng ta thử nghiệm rộng rãi, phán xét khôn ngoan, cân nhắc lợi hại, đó là những điều cần thiết hơn cả cho những ai cần đến nó. (trong mục này chúng tôi có sử dụng thêm tài liệu “Sản phẩm biến đổi gene” của Tạ Từ trong báo Nhân dân số 65/9-2002.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đái Duy Ban, Lữ Thị Cẩm Vân, 1994. Công nghệ gene và công nghệ sinh học ứng dụng trong nông nghiệp hiện đại. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.
2. Lê Doãn Diên, 1994. Công nghệ sau thu hoạch trong nông nghiệp Việt Nam: Thực trạng và triển vọng. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.
3. Nguyễn Lân Dũng, 1992. Tìm hiểu về công nghệ sinh học, Nxb Giáo dục Hà Nội.
4. Trương Văn Lung, 1995. Chuyên đề Công nghệ sinh học. Tủ sách Đại học Khoa học Huế
5. Trương Văn Lung, 2002. Công nghệ sau thu hoạch. (Hô hấp với việc chế biến và bảo quản thực phẩm). Tủ sách Đại học Khoa học Huế.
6. Ngọc Nhân, 2004. Khả năng kì diệu của chíp sinh học, Tạp chí Thế giới mới, Nxb Giáo dục Hà Nội, số 595, tr: 52-55.

-
7. Phan Cự Nhân, Trần Đình Miên, 1997. Tìm hiểu công nghệ sinh học hiện đại. Nxb Giáo dục, Hà Nội
 8. Nguyễn Hữu Phúc, 1998. Các phương pháp lên men thực phẩm truyền thống ở Việt Nam và các nước trong vùng. Nxb Nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh.
 9. Hồ Sửung (chủ biên), 1982. Vi sinh vật trong bảo quản và chế biến thực phẩm. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.
 10. Lê Ngọc Tú (chủ biên), 2000. Hóa sinh công nghiệp, Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội
 11. Trần Cẩm Vân, Bạch Phương Lan, 1995. Công nghệ vi sinh và bảo vệ môi trường. Nxb Khoa học & Kỹ thuật. Trung tâm Giao lưu quốc tế về Văn hóa Giáo dục và Khoa học (CCES), Hà Nội.
 12. Albert Sasson, 1988. Biotechnologies and development Công nghệ sinh học và phát triển. Người dịch: Nguyễn Hữu Thước, Nguyễn Lâm Dũng và một số dịch giả khác. Nxb Khoa học & Kỹ thuật Hà Nội.
 13. Bezborodov A.M., Moxolov V.V., Rabinovitch M.I., Nguyễn Văn Uyển, Ngô Kế Sương và nnk, 1994. Công nghệ sinh học và một số ứng dụng tại Việt Nam, Tập I, II. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.
 14. Clive James, 2004. Tóm tắt báo cáo số 32 của ISAAA về tình trạng cây trồng chuyển gene/công nghệ sinh học được trồng và mua bán trên thị trường thế giới trong năm 2004. Bản tin Công nghệ Sinh học tháng 01 năm 2005. www.biotechvn.com.vn

CNSH VỚI VIỆC BẢO VỆ MÔI TRƯỜNG

Chương VIII

Các hoạt động sản xuất nông lâm ngư nghiệp và công nghiệp cũng như thực trạng về ô nhiễm môi trường

Khoa học kỹ thuật ngày càng phát triển khiến cho con người vươn xa hơn, rộng hơn và ước mơ chinh phục được trái đất. Dân số tăng nhanh, lương thực thực phẩm ngày càng khan hiếm đã khiến cho con người tìm mọi cách khai thác cạn kiệt nguồn tài nguyên thiên nhiên. Con người đã bất chấp tất cả, thế rồi chính con người đang phải gánh lấy hậu quả này. Đó là nạn hạn hán, lũ lụt, bệnh tật, ô nhiễm môi trường,...

Bước sang thế kỉ XXI là thế kỉ của công nghệ sinh học và công nghệ thông tin, đứng trước tình hình môi trường đang kêu cứu thì ngành công nghệ sinh học là một trong những ngành đi đầu trong công tác bảo vệ môi trường. CNSH đang đóng một vai trò hết sức to lớn, thúc đẩy các ngành công nghệ khác cùng phát triển. Một trong những vấn đề khó khăn hiện nay là nạn ô nhiễm môi trường sống, nó được xem như là cơ bản dẫn đến các thảm họa về môi trường.

1. Một số định nghĩa

1.1. Định nghĩa môi trường

Theo định nghĩa của UNESCO (1981) thì môi trường của con người bao gồm toàn bộ các hệ thống tự nhiên và các hệ thống do con người tạo ra, những cái hữu hình (đô thị, hồ chứa...) và những cái vô hình (tập quán, nghệ thuật...), trong đó con người sống bằng lao động của mình, họ khai thác các tài nguyên thiên nhiên và nhân tạo nhằm thỏa mãn những nhu cầu của mình. Như vậy, môi trường sống đối với con người không chỉ là nơi tồn tại, sinh trưởng và phát triển cho một thực thể sinh vật là con người mà còn là “khung cảnh của một cuộc sống, của lao động và sự nghỉ ngơi của con người”.

1.2 Định nghĩa ô nhiễm môi trường

Ô nhiễm môi trường là sự nhiễm bẩn của môi trường làm cho môi trường không còn trong lành, sạch sẽ. Sự nhiễm bẩn có thể xảy ra ở môi trường đất, môi trường nước, môi trường không khí do các tác nhân gây ô nhiễm tương ứng với từng loại môi trường trên.

1.3 Định nghĩa chất thải

Chất thải bao gồm chất thải rắn, lỏng, khí được thải ra sau quá trình sử dụng của con người và đã bị thay đổi tính chất ban đầu của chúng. Thông thường chất thải được phân loại theo nguồn gốc phát sinh ra chúng. Đó là cơ sở cho việc lựa chọn các biện pháp hoặc công nghệ xử lý.

Chất thải được phân thành các loại:

+ Chất thải sinh hoạt: chất thải từ các khu dân cư, khu vực hoạt động thương mại, công sở, trường học...

+ Chất thải công nghiệp: chất thải từ các nhà máy đang hoạt động, có cả chất thải sinh hoạt nhưng trong đó chất thải công nghiệp là chủ yếu.

+ Chất thải đô thị: là những chất thải trong các hệ thống cống thoát của một thành phố.

Nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường:

Có nhiều nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường. Có nguyên nhân chính do hoạt động của các quá trình tự nhiên diễn ra trong môi trường nhưng cũng có nguyên nhân lại xuất phát từ những hoạt động của con người gây ra.

* Sự phát triển của các ngành công nghiệp:

Hầu hết các nhà máy đều thải ra các loại khí độc làm ô nhiễm bầu khí quyển. Lượng khí CO₂ do các nhà máy thải ra làm ô nhiễm nghiêm trọng môi trường khí, gây nên hiệu ứng nhà kính. Nhưng đặc biệt nghiêm trọng là CFC, được sử dụng nhiều trong công nghiệp lạnh, là tác nhân phá vỡ tầng ozone bao quanh trái đất.

Các hoạt động công nghiệp còn thải ra môi trường một lượng nước thải công nghiệp, là nguyên nhân quan trọng gây ô nhiễm nguồn nước và ô nhiễm cả đất. Trong công nghiệp dược phẩm, chất thải từ hoạt động sản xuất chất kháng sinh thường chứa đựng tế bào vi sinh vật, một vài sản phẩm biến thái cũng như thành phần không dùng đến của môi trường nuôi cấy cũng góp phần đáng kể vào việc làm ô nhiễm môi trường nước.

Các nhà máy còn thải ra các chất rắn, các phế liệu của công nghiệp cũng là nguồn gây ô nhiễm quan trọng.

* Hoạt động nông nghiệp:

Việc lạm dụng thuốc trừ sâu, phân hóa học là một trong những nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường quan trọng. Thuốc trừ sâu, phân hóa

học làm ô nhiễm cả môi trường đất, môi trường nước lẫn môi trường không khí.

Thuốc trừ sâu là những hóa chất độc nên khi sử dụng nhiều nó không được phân hủy hết mà còn tồn đọng trong các sản phẩm nông nghiệp. Khi con người, gia súc sử dụng những sản phẩm này thì có thể mắc phải những bệnh nguy hiểm như ung thư, bệnh di truyền, thậm chí rất dễ bị ngộ độc thực phẩm.

Ngoài ra thuốc trừ sâu còn tiêu diệt các sinh vật có lợi khác như chim, ếch, côn trùng có ích... làm mất cân bằng sinh thái, làm suy giảm đa dạng sinh học.

Việc sử dụng phân bón hóa học nhiều, kéo dài từ năm này qua năm khác gây ra những tác hại nghiêm trọng cho môi trường sinh thái: làm xấu tính chất hóa lí của đất, làm xấu tính chất vật lí của đất, làm cho đất bị chua hay bị kiềm hóa, tích lũy trong đất nhiều ion độc do cây không sử dụng hay không sử dụng hết.

Từ những nguyên nhân trên làm cho đất ngày càng xấu đi, cân bằng sinh thái trên đồng ruộng bị phá vỡ. Ngoài ra, để có phân hóa học cung cấp cho nông nghiệp các nhà máy sản xuất phân bón trên thế giới hàng ngày thải ra không khí, nước, đất những chất rất độc hại làm ô nhiễm môi trường.

*** Phá rừng:**

Có thể xem phá rừng là nguyên nhân cơ bản, là nguồn gốc của nhiều nguyên nhân khác làm mất cân bằng sinh thái và ô nhiễm môi trường sống.

Rừng chính là cái máy điều hòa tỉ lệ khí O_2/CO_2 khổng lồ trên trái đất giúp cho việc duy trì sự sống trên trái đất. Rừng chính là lá phổi của trái đất. Rừng còn tạo nên một thảm thực vật giữ nước khổng lồ ngăn chặn xói mòn, lũ lụt...Rừng còn là nơi để bảo tồn tính đa dạng sinh học, bảo đảm sự cân bằng trên trái đất.

Thế nhưng hiện nay rừng đang bị tàn phá nghiêm trọng, diện tích rừng ngày càng bị thu hẹp do hoạt động của con người. Hàng năm có khoảng 10 triệu ha rừng bị con người trên thế giới phá hủy với các mục đích khác nhau. Phá rừng đã gây ra những hậu quả nghiêm trọng.

- Nạn phá rừng, đốt rừng là nung rẫy đã làm tăng CO_2 gây mất cân bằng tỉ lệ O_2/CO_2 có ảnh hưởng trực tiếp đến sự sống trên trái đất.

- Rừng đầu nguồn bị phá làm giảm khả năng giữ nước là nguyên nhân chính gây ra lũ lụt, xói mòn.

- Rừng bị chặt phá làm mất thảm thực vật bao phủ trở thành đất trống đồi trọc làm cho sự xói mòn xảy ra nghiêm trọng. Chất dinh dưỡng trong đất bị trôi theo dòng nước, đất cạn dần chất dinh dưỡng.

- Rừng bị phá làm giảm tính đa dạng sinh học. Sự suy giảm tính đa dạng sinh học trên trái đất dẫn đến sự diệt vong của nhiều loại động thực vật từ đó làm cho cân bằng sinh thái bị phá vỡ.

* Hoạt động của con người:

Xã hội càng văn minh, dân số càng tăng thì ngày càng xuất hiện nhiều yếu tố gây ô nhiễm môi trường.

- Sự bùng nổ dân số kéo theo quá trình đô thị hóa ngày càng diễn ra mạnh mẽ mà môi trường đô thị là môi trường bị ô nhiễm nặng.

- Sinh hoạt của con người tạo nên lượng rác thải, nước thải lớn gây ô nhiễm môi trường. Dân số càng tăng thì nguy cơ ngày càng lớn.

- Xã hội càng văn minh, con người càng có nhu cầu sử dụng nhiều loại phương tiện gây ô nhiễm môi trường như xe có động cơ, tủ lạnh... Ô nhiễm do xe cộ thải ra trong môi trường không khí ngoài CO₂ ra còn có cả Pb.

* Những nguyên nhân khác:

Bên cạnh những nguyên nhân thường xuyên trên còn có những nguyên nhân không thường xuyên nhưng không kém phần quan trọng cũng góp phần gây ô nhiễm môi trường

- Nạn cháy rừng tự nhiên.
- Nạn đắm tàu chở dầu.
- Các vụ thử vũ khí hạt nhân...
- Chiến tranh hóa học, vi trùng...
- Tai nạn các nhà máy hạt nhân.

Nắm bắt được những nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường, con người đã tìm ra những giải pháp thích hợp để ngăn ngừa sự ô nhiễm môi trường. Giải pháp đầu tiên và cũng có ý nghĩa quyết định là ngăn chặn ngay những nguyên nhân do chủ quan con người tạo ra. Đồng thời xây dựng những giải pháp khoa học để ngăn chặn và xử lý hậu quả của sự ô nhiễm môi trường. Trong những giải pháp khoa học thì công nghệ sinh học đóng góp vai trò chủ đạo, quyết định nhất.

2. Sự ô nhiễm môi trường

* Ô nhiễm môi trường không khí:

Theo TCVN 5966-1995 sự ô nhiễm không khí được qui định như sau: là sự có mặt của các chất trong khí quyển sinh ra từ hoạt động của con người hoặc từ các quá trình tự nhiên và nếu nồng độ đủ lớn và thời gian đủ lâu chúng sẽ ảnh hưởng đến sự thoải mái dễ chịu, sức khỏe hoặc lợi ích của người hoặc môi trường CO₂ thải vào khí quyển ngày càng tăng cao :

- Năm 1950 : lượng CO₂ thải vào không khí là 12 triệu tấn/năm
- Năm 1980 : lượng CO₂ thải vào không khí là 150 triệu tấn/năm
- Năm 1990-1991 : lượng CO₂ thải vào không khí là 3000 triệu tấn/năm

-
- Năm 1996 : lượng CO₂ thải vào không khí là 5200 triệu tấn/năm
 - Năm 1998 : lượng CO₂ thải vào không khí là 6000 triệu tấn/năm

Tuy nhiên, hội nghị thượng đỉnh về môi trường họp tại Rio De Janeiro vào tháng 6/1992 đã yêu cầu giảm thiểu mức thải CO₂ trong những năm cuối thập niên 90 chỉ bằng mức năm 1991 là 3000 triệu tấn/năm.

Nguồn gây ô nhiễm không khí

Có không dưới 100 các tác nhân gây ô nhiễm không khí. Tuy nhiên có 9 nhóm chính gây ô nhiễm không khí ở bên ngoài

- Carbon oxides: CO và CO₂
- Sulfur oxides: SO₂ và SO₃
- Nitrogen oxides: NO, NO₂ và N₂O
- Các hợp chất dễ bay hơi (VOCS): có hơn 100 hợp chất khác nhau như: CH₄, C₆H₆, CFCs.
- Các chất lơ lửng đặc biệt (SPM): có hơn 1000 dạng khác nhau như bụi rắn, các dạng giọt lỏng, dầu, H₂SO₄, Chì, Asen, Cadimium, PCBs, DDT và các loại thuốc trừ sâu...
- Các chất quang hóa như: PANS, NOX và các hợp chất hydrocarbon dễ bay hơi dưới tác dụng của ánh sáng mặt trời.
- Các chất phóng xạ: Radium 222, Iode 131, Strontium 90, Phetonium - 239 và các đồng vị phóng xạ khác có trong khí quyển.
- Nhiệt: Ô nhiễm nhiệt xuất hiện khi năng lượng bị biến đổi từ dạng này sang dạng khác như khi sử dụng các chất đốt là nguyên liệu hóa thạch, các nhà máy, các khu công nghiệp và các chất đốt bằng gỗ củi.
- Tiếng ồn: Tiếng ồn ô nhiễm bởi các động cơ, xe cộ, máy bay, tàu hỏa, công nghiệp chế tạo, công nghiệp xây dựng, máy xén cỏ, máy hút bụi, radio, cassette và các hoạt động khác.
- Các nhà máy hóa chất, các hoạt động có tính công nghiệp đã thải vào môi trường những chất độc hại như dioxydsulfur , CFC (Clorua Flore Carbon) đã làm bào mỏng tầng ozone, tăng hiệu ứng nhà kính

Công nghiệp tạo ra nhiều nguồn ô nhiễm khác nhau. Ví dụ: sản xuất giấy gây ra bụi và hỗn hợp hydrogen, chế biến hạt Điều tạo ra bụi H₂S dạng hơi và H₂SiF₆. Nhà máy lọc dầu tạo ra bụi, mùi hôi và phenol. Nhà máy thuốc lá tạo ra bụi, mùi hôi nicotine, các nhà máy hợp chất SO₂, NO₂, CO₂. Nhà máy super phosphate tạo ra HC, SO₂, CO₂, NO₂.

Thành phố Hồ Chí Minh có gần 1000 nhà máy công nghiệp, 30.000 cơ sở sản xuất tiểu thủ công nghiệp và hàng trăm cơ sở đầu tư nước ngoài, hầu hết các cơ sở sản xuất đều chưa có hệ thống xử lý khí thải hoàn chỉnh. Theo thống kê chưa đầy đủ thì lượng khí ô nhiễm hàng năm

thải ra 1017 tấn bụi, 30.580 tấn SO_2 , 390 tấn SO_3 , 1.948.500 tấn CO_2 , 260 tấn CO, 7.554 tấn NO_2 , 137 tấn hydrocarbon, 78 tấn aldehyde. Toàn bộ các nhà máy thuộc công ti Thép miền Nam hàng năm thải vào môi trường từ 2.840 tấn đến 4.600 tấn bụi và 994-1.420 tấn CO.

Tại thành phố Hồ Chí Minh với số xe trên 900 ngàn chiếc, hàng tháng tăng 1200 chiếc cùng hàng triệu lượt xe từ các tỉnh về thành phố tiêu thụ khoảng 2-19 ngàn tấn xăng, 190.000 tấn CO, 12.000 ngàn tấn CO_2 , 13.200 tấn hydrate carbon, 160 tấn aldehyde.

Tính trên toàn thế giới, riêng các phương tiện cơ giới đã thải ra 60% khí CO, 42% NO_2 và 40% hydrate carbon, 13% muối và 3% SO_2 . Riêng giao thông vận tải thải ra 18% tổng lượng CO_2 trên thế giới tương đương 700 triệu tấn carbon mỗi năm (Cứu lấy trái đất UNEP, 1992)

Theo báo cáo của viện Quan sát Thế giới, 1992, tốc độ chất thải của các phương tiện cơ giới Mỹ: CO là 60,3 triệu tấn, HC: 14,1 triệu tấn, SO_2 : 16,6 triệu tấn, NO_2 : 18,2 triệu tấn, SPM: 4,1 triệu tấn.

Giao thông càng phát triển càng tăng sự ô nhiễm.

Ngoài ra tàu hỏa, tàu thủy chạy bằng than hay xăng dầu đều gây ô nhiễm môi trường tương tự như xe ô tô. Máy bay cũng là nguồn gây ô nhiễm bụi, hơi độc hại và tiếng ồn, đặc biệt máy bay siêu âm còn thải ra nitrooxide gây hư hại tầng ozone là tấm lá chắn tia cực tím cho trái đất.

Nguồn ô nhiễm không khí từ nông nghiệp tạo ra khoảng 15% tổng số các chất khí ô nhiễm gây bức xạ tạo nên hiệu ứng nhà kính. Trong đó CO_2 được tạo thành do việc đốt rừng làm nương rẫy và do hỏa hoạn. Trong thập kỉ qua đã có 1.700.000km²/năm rừng nhiệt đới bị tàn phá mà hậu quả lượng CO_2 tăng lên nhiều. Những cánh đồng lúa miền đất ướt giải phóng khí methan từ các quá trình phân giải chất hữu cơ. Nguồn sản sinh các chất này đáng kể từ các trang trại chăn nuôi và từ các đồng rác không xử lí đúng kĩ thuật. Các chất khí này gây ô nhiễm môi trường làm tăng hiệu ứng nhà kính và phá hủy tầng ozone.

Ngoài ra các cuộc chiến tranh cũng làm ô nhiễm môi trường khí rất cao. Lượng bom đạn đã gây những tai họa về người và có thể thống kê, nhưng những tai họa về môi trường sinh thái thì không thể thống kê và khó khắc phục hậu quả.

Ở Việt Nam trong thời kỳ chiến tranh chống Mỹ có hàng triệu tấn bom, hàng chục sân bay dã chiến vùng rừng đã phá đi sinh cảnh, ở miền Nam 72 triệu lít hóa chất diệt cỏ, 44 triệu lít chất độc màu da cam rải xuống đã tàn phá rừng và đưa vào môi trường các chất độc hại khác. Người dân vùng vĩ tuyến thứ 17 trong thời kì Mỹ đánh phá ác liệt, hàng vạn tấn bom, đạn đại bác đã rơi vào quê hương họ, thường xuyên bị khói thuốc súng quện với bụi đất mù mịch. Nhưng người dân ở đây vẫn kiên

cường anh dũng chống trả máy bay, bom đạn của đế quốc Mỹ và họ vẫn vui vẻ nói đùa một cách dí dỏm: *“Quê tôi ở cực nam của miền Bắc, cực bắc của miền Nam nên cực ời là cực”*.

Cuộc chiến tranh vùng vịnh 1991, hơn 570 giếng dầu bị đốt cháy, trung bình mỗi ngày có khoảng 120 triệu đô la Mỹ biến thành khói đen. Theo tính toán trong thời gian xảy ra cuộc chiến có khoảng 3 triệu tấn khí carbon, CO₂, carbon hydroxide và các hóa chất độc hại khác sản sinh ra từ các giếng dầu bị cháy làm ô nhiễm nghiêm trọng vùng trời ở vùng vịnh và các khu vực khác.

Do dầu mỏ cháy không hết nên trong khói dầu có nhiều chất độc hại như khí carbon, hydrocarbon, ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Khắp mọi nơi ở thủ đô Kuwait đều sực mùi dầu cháy, nhiều người bị ho và nhức đầu.

Trong năm 1991 ở Takzan xuất hiện nhiều trận mưa acid đều là mưa acid quá mức bình thường.

Khí quyển bị ô nhiễm không những trực tiếp đe dọa sức khỏe con người mà còn ảnh hưởng rất lớn đến khí hậu. Hiện nay toàn cầu đang lo ngại về những mối đe dọa lớn liên quan đến sự ô nhiễm khí quyển đó là mưa acid, hiệu ứng nhà kính và thủng tầng ozone.

* Ô nhiễm môi trường đất:

Ô nhiễm môi trường đất là sự xâm nhập hoặc đưa vào những chất lạ có khả năng tác hại đến sinh vật và môi trường trong các môi trường với liều lượng trên mức cho phép .

Các nguồn gây ô nhiễm môi trường đất

- Từ tự nhiên:

Các loại ô nhiễm do sự cố của môi trường ở những vùng khác nhau. Chẳng hạn, núi lửa là hiện tượng sự cố gây ảnh hưởng đến môi trường đất, nứt đất cũng ảnh hưởng đến môi trường đất, sự tuần hoàn nước với một tốc độ quá lớn đột ngột cũng là một hiện tượng gây sạt lở.

- Từ con người: đây là nguyên nhân lớn nhất

+ Từ hoạt động công nghiệp: thải vào môi trường không khí một lượng bụi trong đó có chứa những dạng ô nhiễm như có gốc acid (Cl-, SO₄⁻) dễ khi kết hợp với nước tạo thành đám mây acid rơi xuống làm ô nhiễm môi trường đất, độ pH của đất thay đổi.

Bụi thải có những kim loại nặng vào không khí như Pb, Zn, As, ... nhờ trọng lực của chúng rơi xuống đất làm ô nhiễm môi trường đất. Ngoài ra hoạt động công nghiệp còn thải ra môi trường đất nguồn nước bẩn rồi thẩm thấu, khuếch tán vào môi trường đất gây ô nhiễm.

+ Hoạt động nông nghiệp: gây ô nhiễm theo những hướng khác nhau như: sử dụng phân bón hóa học, nguồn thuốc bảo vệ thực vật.

+ Sinh hoạt: chủ yếu là rác thải, bình quân 1 người/1 ngày thải 4 kg rác thải. Các rác thải này thay đổi theo thời gian và mức sống của từng vùng, đặc biệt khi công nghiệp hóa-hiện đại hóa phát triển thì nguồn rác thải càng phong phú và khó phân hủy.

* Ô nhiễm môi trường nước:

Là sự đưa các chất lạ vào trong nguồn nước do các hoạt động của tự nhiên, con người quá tiêu chuẩn cho phép gây ảnh hưởng đến đời sống, sức khỏe của con người.

Các nguồn gây ô nhiễm môi trường nước:

Nguồn gốc gây ô nhiễm có thể là tự nhiên hoặc nhân tạo. Sự ô nhiễm có nguồn gốc tự nhiên có thể do mưa, tuyết tan, bão tố, núi lửa,... Nó rất nghiêm trọng nhưng xảy ra không thường xuyên và không phải là nguyên nhân chính gây suy thoái chất lượng nước toàn cầu. Sự ô nhiễm nhân tạo chủ yếu là do nước thải sinh hoạt, nước thải công nghiệp, giao thông vận tải, phân bón và các hóa chất bảo vệ thực vật.

Dựa vào nguồn gốc phát sinh mà người ta phân ra thành các loại nước thải: nước thải sinh hoạt, nước thải công nghiệp, nước mưa chảy tràn, nước sông, hồ, biển bị ô nhiễm do các yếu tố tự nhiên.

Đặc tính các loại nước thải:

- Nước thải sinh hoạt:

Nước thải sinh hoạt là nước thải ra từ các hộ gia đình, bệnh viện, khách sạn, trường học, cơ quan,... Loại nước thải này chứa hàm lượng các chất hữu cơ không bền vững khá cao, dễ bị phân hủy sinh học. Các chất này khác nhau, tùy thuộc vào điều kiện sống khác nhau. Ở Mỹ là 380 - 500 lít/người/ngày đêm.

- Nước thải công nghiệp:

Sự tăng nhanh về công nghiệp đã làm tăng nhu cầu về nước và lượng nước thải từ đó cũng tăng lên. Đặc biệt đối với các ngành chế biến thực phẩm, giấy, hóa chất, dầu mỏ, than và luyện kim. Năm ngành này đã tiêu thụ ngót 90% tổng lượng nước trong sản xuất. Chẳng hạn phải sử dụng 15 lít nước để sản xuất 1 lít bia, 200 m³ nước để sản xuất 1 lít dầu lọc, 300 m³ nước để sản xuất 1 tấn giấy.

- Nước chảy tràn mặt đất:

Do nước mưa hoặc do thoát nước từ đồng ruộng cũng là nguồn gây ô nhiễm nước sông, hồ, biển. Nước rửa trôi đồng ruộng có thể cuốn theo các chất rắn, hóa chất bảo vệ thực vật, phân bón. Nước rửa trôi qua khu dân cư, đường phố, cơ sở sản xuất công nghiệp có thể làm ô nhiễm nguồn nước do các chất rắn, dầu mỡ, hóa chất, vi sinh vật,...

- Nước sông, hồ bị ô nhiễm do các yếu tố tự nhiên:

Nước sông, hồ bị ô nhiễm mặn ở vùng ven biển có thể chuyển nước mặn vào các vùng sâu trong nội địa. Nước sông, kênh rạch bị nhiễm phèn có thể chuyển acid, sắt, nhôm,... đến các vùng khác và gây suy giảm chất lượng nước của vùng bị tác động.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Huê, 1996. Xử lý nước thải. Nxb Xây dựng. Hà Nội.
2. Trần Văn Nhân, Ngô Thị Nga, 1999. Giáo trình công nghệ xử lý nước thải. Nxb Khoa học Kỹ thuật. Hà Nội.
3. Trần Cẩm Vân, Bạch Phương Lan, 1995. Công nghệ vi sinh và bảo vệ môi trường. Nxb Khoa học & Kỹ thuật. Trung tâm Giao lưu quốc tế về Văn hóa Giáo dục và Khoa học (CCES), Hà Nội.

Chương IX

Vai trò của công nghệ sinh học trong việc xử lý môi trường

1. Những nghiên cứu trong việc chống ô nhiễm môi trường

Ngày nay, để xử lý chất thải người ta đã phối hợp các biện pháp cơ học, vật lý (lọc, nghiền, sa lắng...), biện pháp hóa học (phân hủy, diệt sinh vật hại...) kết hợp với biện pháp sinh học thành qui trình xử lý hiện đại và mang tính triệt để nhất. Tùy theo loại chất thải khác nhau mà các công đoạn, trình tự xử lý có khác nhau để loại trừ các chất, thành phần không mong muốn. Trong qui trình này, công đoạn xử lý sinh học đã lợi dụng đặc tính sinh vật để biến đổi thành phần chất thải. Có thể tóm lược qui trình như sau:

- Sử dụng các vi sinh vật phân giải yếm khí để phân giải các chất thải có nguồn gốc hữu cơ.
- Sử dụng các vi sinh vật, enzyme để phân giải hiếu khí các chất thải, biến chất thải thành chất có thể sử dụng được.
- Sử dụng vi sinh vật để hấp thu các chất khó tan, biến chúng thành các sản phẩm khác, biến đổi tính chất của chất thải.
- Dùng thực vật thủy sinh hoặc trồng hoa màu dưới dạng thủy canh để hút các “chất bẩn” hòa tan trong môi trường như NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} dùng làm thức ăn để đồng hóa trong cơ thể thực vật. Lúc này môi trường mới sạch thực sự.

2. Chế biến và sử dụng chất thải trong môi trường

Một số qui trình xử lý chất thải

Qui trình xử lý chất thải cổ điển

Từ xưa con người đã biết xử lý chất thải bằng các biện pháp hết sức đơn giản, thô sơ như đốt, chôn lấp các chất thải rắn, vớt rác thải trước khi cho thải ra sông, ao hồ. Đặc biệt đối với chất thải từ chăn nuôi (phân) người ta ủ với rơm rạ và dùng làm phân bón cho cây trồng... Do mật độ dân cư chưa cao, thêm vào đó là nền sản xuất thô sơ nên chất thải không nhiều, hơn nữa chủ yếu là các dạng dễ phân giải nên chất thải có đủ mặt thoáng, thời gian để phân giải, chuyển hóa vào chu trình vật chất. Quá trình xử lý khá đơn giản, chủ yếu dựa vào các sinh vật có sẵn trong tự nhiên, vấn đề rác thải chưa mang tính xã hội.

Quy trình xử lý chất thải hiện đại

Cùng với sự phát triển của nền văn minh và tốc độ phát triển của loài người, môi trường ngày càng bị ô nhiễm nghiêm trọng. Như vậy, ô nhiễm môi trường đang là vấn đề quan tâm của toàn nhân loại. Con người phải giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường với các quy trình, công đoạn phức tạp, có sự tham gia của nhiều lĩnh vực khoa học: vật lý, hóa lý, sinh học... Trong những giải pháp khoa học thì công nghệ sinh học (CNSH) đóng góp vai trò chủ đạo, quyết định nhất. CNSH ngày nay đã trở thành công cụ đắc lực để con người bảo vệ được môi trường sống khác của hành tinh. CNSH được áp dụng cho nhiều lĩnh vực khác nhau để bảo vệ môi trường.

Dùng cây cố định đạm để bảo vệ, cải tạo đất

Đất trồng, đòi hỏi là đất đai dễ bị thoái hóa do xói mòn, rửa trôi. Để chống sự thoái hóa của đất ở đây thì biện pháp hàng đầu là phủ xanh các vùng đất đó. Tuy nhiên đất ở đây nghèo chất dinh dưỡng và vùng đất này thường rất chua. Do đó biện pháp đầu tiên là phải tìm ra loại cây thích hợp với vùng đất.

Theo nhiều nghiên cứu thì các cây họ Đậu thích hợp với vùng đất này, chúng có khả năng cải tạo đất rất tốt. Chúng bổ sung đạm cho đất cải tạo khu hệ vi sinh vật quanh rễ góp phần thúc đẩy quá trình tạo mùn trong đất, giữ nước hạn chế xói mòn.

*Phương pháp trồng cây bộ Đậu:

- Chọn giống: do điều kiện khắc nghiệt của vùng đất trồng, đòi hỏi, muốn cho cây phát triển tốt trước hết cần chọn giống thích hợp.

+ Chọn lọc giống nào phát triển tốt trên đất trồng, đòi hỏi trong số tập đoàn các giống cây bộ Đậu.

+ Lai tạo để tạo ra các giống cây đậu thích hợp với vùng đất đó.

+ Hoặc dùng công nghệ gene để tạo ra giống cây chịu hạn, cần ít chất dinh dưỡng, chịu chua... để thích ứng với điều kiện khắc nghiệt ở vùng đòi hỏi mà vẫn cho năng suất tốt.

- Nhân giống: dùng phương pháp nuôi cấy mô tế bào để nhân giống cây đã được chọn, đáp ứng nhu cầu trồng ở những diện tích lớn.

- Trồng cây bộ Đậu lên vùng đòi hỏi.

Tùy theo điều kiện đất đai, khí hậu và nhu cầu của từng giống cây mà có biện pháp kỹ thuật hợp lý.

* Nhân giống vi khuẩn *Rhizobium*

Song song với việc chọn giống cây bộ Đậu, nhân giống và trồng cây cần tiến hành việc chọn lọc, nhân giống vi khuẩn *Rhizobium* thích hợp với cây bộ Đậu đem trồng để cải tạo đất.

Dùng vi khuẩn *Rhizobium* đó để sản xuất phân vi sinh (nitragin) để bón cho cây. Có thể dùng nitragin tẩm hạt hay bón vào đất trước khi trồng cây bộ Đậu.

Tạo khả năng cố định đạm: tạo nên các dạng cây có khả năng cố định đạm để tự cung cấp đạm.

Dùng công nghệ gene để chuyển gene sản xuất enzyme nitrogenase (gọi là gene nif) từ vi khuẩn cố định N_2 sang cho *E.coli* tạo cho *E.coli* có khả năng cố định N_2 , rồi sử dụng *E.coli* này cho cây trồng như là nguồn cung cấp N_2 cho cây

Dùng phân sinh học chống ô nhiễm

Phân hóa học có vai trò lớn trong việc nâng cao năng suất cây trồng. Tuy nhiên nếu lạm dụng phân hóa học quá thì sẽ dẫn đến những tác hại nghiêm trọng, nhất là gây ô nhiễm môi trường. Để tránh ô nhiễm môi trường biện pháp có hiệu quả nhất là sử dụng phân bón sinh học thay thế cho phân hóa học. Bởi vì phân sinh học có vai trò lớn trong việc nâng cao năng suất cây trồng nhưng không gây ô nhiễm môi trường, góp phần xây dựng một nền nông nghiệp sinh thái.

Phân vi sinh là dạng có nhiều ưu điểm. CNSH đã tạo ra nhiều dạng phân vi sinh có giá trị sử dụng cao, với hiệu quả khác nhau phù hợp với các loại cây trồng khác nhau, các loại đất trồng khác nhau. Phổ biến nhất hiện nay là phân sinh học nitragin và *Azotobacter*, ngoài ra còn có phân lân sinh học.

Dùng phương pháp sinh học để bảo vệ thực vật

Thuốc trừ sâu hóa học gây nhiều tác hại cho môi trường nên việc sử dụng biện pháp sinh học để bảo vệ thực vật có ưu điểm rất lớn trong bảo vệ môi trường, bảo vệ tính đa dạng sinh học, bảo đảm sự cân bằng sinh thái.

Những biện pháp sinh học để bảo vệ thực vật gồm:

- Dùng vi sinh vật diệt côn trùng gây bệnh: Có 3 nhóm có khả năng gây bệnh cho côn trùng là vi khuẩn, vi nấm và virus. Trong nhóm vi khuẩn người ta thường dùng *Bacillus thuringiensis* tạo chế phẩm trừ sâu sinh học.

- Dùng vi sinh vật diệt vi sinh vật gây bệnh: Chủng vi sinh vật thường được sử dụng để tạo ra thuốc trừ sâu sinh học là xạ khuẩn phân lập từ đất. Sau khi chọn được chủng thích hợp tiến hành nuôi cấy để nhân giống trong nồi lên men. Dịch nuôi cấy đó chính là chế phẩm thuốc trừ sâu sinh học thô. Từ chế phẩm đó có thể tạo ra thuốc trừ sâu dạng nước hoặc dạng bột để sử dụng.

- Dùng côn trùng, động vật khác diệt côn trùng gây bệnh.

Nguyên tắc chung của các biện pháp trên là sử dụng tính đối kháng sinh học giữa các nhóm sinh vật với nhau để tiêu diệt các sinh vật gây bệnh cho cây.

Khi sử dụng thuốc trừ sâu, không chỉ côn trùng gây hại bị tiêu diệt mà các loài đối kháng với chúng cũng bị tiêu diệt theo làm cho yếu tố tự điều chỉnh của hệ sinh thái tự nhiên bị mất đi, hệ sinh thái tiếp tục mất cân bằng ngày càng nghiêm trọng thêm. Các phương pháp sinh học bảo vệ thực vật là nhằm vào việc phục hồi những loài đối kháng với côn trùng gây hại để tiêu diệt các loài côn trùng gây hại mà không làm ô nhiễm môi trường.

Công nghệ xử lý rác thải

Rác là một nguyên nhân nghiêm trọng gây ô nhiễm môi trường như môi trường nước, đất, không khí. Rác thải trong môi trường hiện nay chủ yếu là rác thải sinh hoạt và rác thải công nghiệp. Thành phần rác rất đa dạng. Rác sinh hoạt chủ yếu là giấy loại, nhựa, tổng hợp thủy tinh cao su, phế thải từ thức ăn... Thành phần hóa học phức tạp gồm chất vô cơ và chất hữu cơ... khó phân hủy còn rác trong công nghiệp gồm nhiều loại phế thải như kim loại, thủy tinh, nhựa, giấy... có thành phần lí hóa khác nhau nên phương pháp xử lý chúng cũng rất phức tạp. Việc xử lý rác thải mà không làm ảnh hưởng đến môi sinh khác như khí, nước... là một vấn đề lớn.

Trước đây, phần lớn rác của các thành phố, khu vực dân cư... được tập trung lại rồi chôn hoặc đốt đi. Cả 2 phương pháp này đều làm cho ô nhiễm lại môi trường, là phương pháp xử lý chậm lại ít hiệu quả trong thời đại hiện nay do sự phát triển của khoa học hiện đại. Sự phát triển của khoa học công nghệ đã góp phần rất lớn vào công cuộc bảo vệ môi trường xanh sạch đẹp như công nghệ hóa chất... nhưng những công nghệ đó vừa xử lý nhưng lại vừa làm ô nhiễm nghĩa là công việc xử lý môi trường bằng phương pháp lí hóa chưa đem lại kết quả tối ưu. Nói như vậy là để ta thấy được ứng dụng và vai trò rất lớn của công nghệ sinh học trong xử lý rác thải. Xử lý môi trường nói chung (rác thải nói riêng) bằng phương pháp sinh học đem lại hiệu quả cao nhất, vừa không làm ô nhiễm môi trường trở lại, vừa có hiệu quả kinh tế cao. Có nhiều phương pháp xử lý phế thải khác nhau đang được sử dụng... Bản chất của các phương pháp đó thể hiện trong 4 nội dung chủ yếu sau:

- Phân hủy sơ cấp làm thay đổi bản chất hóa học của các chất xử lí.
- Phân hủy sinh học sơ cấp làm thay đổi tính chất của chất xử lí.
- Phân hủy sinh học riêng biệt để biến phế thải hữu cơ thành sản phẩm vô cơ.

- Hút các chất vô cơ để cho môi trường trở nên sạch hơn nhờ thực vật trong quá trình đồng hóa của mình tạo nên các sản phẩm hữu ích.

Các quá trình trên thực hiện được nhờ có sự tham gia tích cực của các nhóm vi sinh vật và thực vật thích hợp.

Do thành phần chủ yếu của phế thải là cellulose cho nên các vi sinh vật có khả năng phân giải cellulose được sử dụng vào việc xử lý phế thải rất hiệu quả...

Cứ như vậy, tùy thuộc vào thành phần của từng loại rác mà ta chọn và sử dụng vi sinh vật cho phù hợp.

* Việc sử dụng vi sinh vật để phân hủy rác được tiến hành qua các bước sau:

- Phân lập vi sinh vật phân hủy rác.
- Chọn chủng thích hợp, nâng cao hoạt tính phân hủy rác.
- Thử nghiệm khả năng phân hủy rác.
- Chế tạo chế phẩm.

Các chế phẩm khi đem sử dụng phải tùy thuộc vào loại rác, tùy chủng vi sinh vật mà có thể thực hiện các phương pháp phân hủy khác nhau: phân hủy kỵ khí, phân hủy hiếu khí hay phân hủy hiếu khí-kỵ khí phối hợp. Rác sau khi phân hủy được dùng làm phân bón.

Ở các nước tiên tiến người ta tiến hành xử lý rác thải theo các phương pháp hiện đại bằng các thiết bị hiện đại. Các phương pháp đó cũng dựa vào khả năng phân hủy rác của các nhóm vi sinh vật được tiến hành trong các thiết bị khép kín nên không ảnh hưởng đến môi trường.

Có 2 phương pháp xử lý rác chủ yếu theo các công nghệ tiên tiến này:

- Xử lý phế thải bằng con đường hiếu khí, con đường này có 3 công nghệ đang được sử dụng:

- * Xử lý bằng màng lọc thẩm thấu.
- * Xử lý bằng buồng hoạt tính.
- * Xử lý bằng lớp men giả.

Đây là một công nghệ sử dụng rộng rãi vào khoảng 2 thập kỉ gần đây, đặc biệt ở các nước đang phát triển như Trung Quốc, Việt Nam.

+ Xử lý phế thải bằng con đường yếm khí là quá trình xử lý phế thải sử dụng các vi sinh vật yếm khí để phân hủy chất hữu cơ trong phế thải thành khí methane. Đây là hướng vừa xử lý phế thải vừa tạo ra biogas để sử dụng trong sinh hoạt. Phương pháp này được sử dụng rộng rãi ở Ấn Độ, chi phí ít và tiết kiệm về kinh tế.

+ Các phế thải công nghiệp được chia thành 2 nhóm:

- Các phế thải có liên quan đến sinh học như công nghiệp sữa đường, thực phẩm...

- Các phế thải không liên quan đến sinh học như công nghiệp nặng, cơ khí... Đối với loại này thường xử lý bằng phương pháp lí hóa.

Đối với phế thải có liên quan đến sinh học thì tùy theo loại phế thải mà có phương pháp xử lý thích hợp:

+ Xử lý phế thải ngành công nghiệp sữa

Huyết thanh sữa là phế thải chủ yếu của ngành công nghiệp sữa. Với loại phế thải này người ta thường cô đặc làm thức ăn gia súc hoặc cho lên men *Lactobacillus bulgaricus* để thu sinh khối sinh vật giàu protein làm thức ăn cho gia súc.

+ Xử lý phế thải ngành công nghiệp giấy

Phần phế thải nhà máy phụ thuộc phương pháp thủy phân nguyên liệu để làm giấy. Nếu xử lý bằng kiềm thì phế thải chứa nhiều lignin khó phân giải và các acid hữu cơ. Phế thải này khó xử lý bằng phương pháp sinh học nên thường đốt để tận dụng năng lượng. Nếu xử lý nguyên liệu bằng acid thì phế thải chứa 60% lignin, các loại đường chiếm 30% và các chất khác như acetic, methan... các loại phế thải này dùng phương pháp lên men tạo nên sinh khối giàu protein.

+ Xử lý phế thải ngành công nghiệp nhuộm

Phế thải chứa nhiều màu và sắc tố khác nhau. Ngoài ra còn chứa nhiều chất độc nên chủ yếu dùng phương pháp hóa học.

+ Xử lý ô nhiễm dầu mỏ

Dầu mỏ là nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng trong khai thác, vận chuyển và sử dụng. Để xử lý ô nhiễm do dầu mỏ người ta thường sử dụng các vi sinh vật sử dụng dầu làm thức ăn để xử lý.

Xử lý nước thải bằng CNSH

Có nhiều phương pháp xử lý nước thải, mỗi phương pháp đều có ưu, nhược điểm của nó.

- Phương pháp hóa học: dùng chất kết tủa, lọc kết hợp với sự phân hủy hóa học.

- Phương pháp vật lí: dùng nhiệt để diệt trùng và phân hủy.

- Phương pháp hóa lí: trao đổi ion, hấp thụ.

- Phương pháp sinh học: sử dụng vi sinh vật và thực vật.

Trong các phương pháp trên phương pháp sinh học ngày càng được sử dụng rộng rãi vì phương pháp này có nhiều ưu điểm hơn các phương pháp khác:

- Phân hủy các hợp chất hữu cơ trong nước thải nhanh, triệt để mà không gây ô nhiễm môi trường.

- Tạo ra được một số sản phẩm có ích để sử dụng trong công nghiệp và sinh hoạt (như biogas, ethanol...), trong nông nghiệp (phân bón).

- Thiết bị đơn giản, phương pháp dễ làm, chi phí tốn kém ít hơn các phương pháp khác.

Nguyên tắc cơ bản của phương pháp sinh học xử lý nước thải là dùng hệ vi sinh vật để phân hủy các chất có trong nước thải tạo nên các sản phẩm không độc hại cho môi trường. Các sản phẩm của quá trình phân giải nước thải do vi sinh vật có thể được sử dụng trong nhiều lĩnh vực của sản xuất đời sống như tạo ra biogas, tạo protein trong sinh khối vi sinh vật để làm thức ăn gia súc...

Hệ vi sinh vật tham gia trong xử lý nước thải có nhiều loại khác nhau như nấm men, nấm mốc, xạ khuẩn. Tùy theo hệ vi sinh vật sử dụng mà có phương pháp xử lý thích hợp theo hai hướng: xử lý yếm khí và xử lý hiếu khí hay xử lý tự nhiên.

***Phương pháp hiếu khí xử lý nước thải**

Đây là phương pháp xử lý nước thải trong điều kiện có O_2 tham gia.

- Sử dụng “bùn hoạt động” để xử lý. “Bùn hoạt động” là một hỗn hợp dạng lỏng sệt như bùn trong đó chứa nhiều vi sinh vật hiếu khí (vi sinh vật chiếm 70% khối lượng của bùn). Bùn hoạt động có khả năng vô cơ hóa mạnh các hợp chất hữu cơ có trong nước thải.

Hệ sinh vật dùng trong bùn hoạt động gồm nhiều nhóm khác nhau, thường gặp là *Actinomyces*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*...

Cho bùn hoạt động chảy vào bể xử lý nước thải. Tại bể xử lý các vi sinh vật sẽ tiến hành phân hủy các chất có trong nước thải trong điều kiện không khí luôn luôn được sục vào bể.

Sau khi qua bể xử lý, tiến hành quá trình lắng hỗn hợp để lọc phân nước sạch và tách phần cặn bã. Phần nước sạch sẽ được đưa ra để sử dụng lại theo các mục đích riêng.

***Dùng bể xử lý hiếu khí:** bùn hoạt động chứa sẵn trong bể, cho nước thải chảy vào bể, khuấy sục khí. Nước sau khi được xử lý lấy ra bằng van và đem sử dụng lại, ngoài ra theo phương pháp này còn thu được biogas.

***Dùng bể lọc sinh học:** người ta cho vào bể vật liệu xốp, mang vi sinh vật. Vật liệu xốp có thể là mảnh gốm, sứ, đá dăm, sỏi, polymer... với độ xốp cao. Nước thải phun từ trên xuống, không khí thổi từ dưới lên. Nước xử lý sơ bộ đó đưa sang bể lắng để tách.

***Phương pháp xử lý yếm khí nước thải**

Nguyên tắc của phương pháp này là sử dụng các vi sinh vật yếm khí để xử lý nước thải trong điều kiện không có O_2 .

Một trong những biện pháp yếm khí xử lý nước thải là dùng bể methan để xử lý.

Phương pháp yếm khí chủ yếu dùng cho loại nước thải có nồng độ chất hữu cơ cao, có nhiều cặn, chất xơ thường ở dạng đặc quánh như bùn.

Quá trình làm sạch nước thải tiến hành trong bể kín đảm bảo điều kiện yếm khí. Cho nước thải vào bể đó vì sinh vật phân giải yếm khí sẽ tiến hành quá trình phân giải chất hữu cơ có trong nước thải. Sản phẩm của quá trình phân giải này là biogas chiếm 50-80%. Ngoài ra còn có một số chất khác như benzol, toluen...

Hệ vi sinh vật lên men yếm khí thường có sẵn trong nước thải. Tuy nhiên để tăng nhanh tốc độ phân giải, nâng cao năng suất hoạt động của các bể methan, có thể phân lập, nuôi cấy các vi sinh vật thích hợp để cung cấp thêm cho bể.

Các nhóm vi sinh vật thường gặp trong quá trình phân hủy này là *Methanococcus*, *Methanobacterium*, *Methanosarcina*...

Do ý nghĩa của bể methan mà hiện nay phương pháp này đang được phổ biến rộng rãi từ qui mô nhỏ ở hộ gia đình cho đến qui mô công nghiệp để vừa xử lý nước thải giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường vừa tạo ra khí biogas cung cấp cho sinh hoạt. Đặc biệt ở qui mô hộ gia đình thì phương pháp này rất tiện lợi và có hiệu quả cao nên được ứng dụng khá rộng rãi trong nhân dân.

Xử lý bằng thực vật thủy sinh

Ngoài việc xử lý nước thải bằng các loại vi khuẩn hiếu khí, yếm khí nhằm loại bỏ các lượng chất hữu cơ trong nước thải, người ta còn sử dụng một số loài tảo, bèo và vi sinh vật khác. Cơ sở khoa học của giải pháp này là một loại tảo và vi sinh vật có khả năng tích lũy các kim loại có nồng độ cao như: Fe, Cu, Zn, Mo,... và cũng có thể tích lũy những chất khác.

Xử lý nước thải bằng tảo nhỏ:

Theo Lalierte và cộng sự (1994), việc dùng tảo nhỏ để xử lý nước thải có những ưu thế riêng biệt. Nước thải từ hệ thống xử lý thứ cấp, tuy có hàm lượng BOD và COD thấp, nhưng hàm lượng các chất vô cơ (NH_4^+ , PO_4^{3-} , NO_3^- , ...) còn rất cao. Tảo nhỏ sẽ hấp thu chất này, đồng thời tạo ra lượng oxygen cần thiết hỗ trợ đắc lực cho quá trình oxy hóa sinh học của vi khuẩn.

Nuôi trồng tảo nhỏ trong môi trường nước thải chính là tận dụng ưu điểm của chúng về khả năng biến đổi có hiệu quả các chất dinh dưỡng trong nước thải thành nguồn protein cao cấp. Ý đồ này được thực nghiệm chứng minh ở nhiều nơi trên thế giới. Các nhà khoa học Canada và Anh đã nuôi tảo *Spirulina maxima* trong nước thải của xí nghiệp xử lý nước thải sinh hoạt. Nước phân gia súc được các nhà khoa học Israel và Bungarie

dùng để nuôi tảo nhỏ khá tốt. Ở Việt Nam, việc thử nghiệm nuôi trồng *Spirulina platensis* bằng nước thải hầm biogas không chỉ là biện pháp mở rộng sản xuất và hạ giá thành sản phẩm mà còn giải quyết một khâu quan trọng trong xử lý nước thải làm lành mạnh môi trường sinh thái ở nông thôn.

Xử lý nước thải bằng thực vật thủy sinh:

Cơ sở khoa học của việc dùng thực vật thủy sinh trong xử lý nước thải là khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng có trong nước thải của chính các loại thực vật này. Mặt khác, quan trọng hơn đó là khả năng phân giải và đồng hóa các chất bẩn trong nước thải của vi sinh vật sống bám trên thực vật thủy sinh. Thực vật thủy sinh như là một giá thể thích hợp cho vi sinh vật để chúng tiến hành phân giải các hợp chất hữu cơ trong nước. Thân và rễ của thực vật thủy sinh là giá thể cho nhiều loài vi sinh vật phát triển. Hơn nữa, sự có mặt của thủy sinh vật trong các hồ ổn định sinh học đã hạn chế và kiểm soát sự phát triển của các loài tảo do làm giảm khả năng xuyên thấu của ánh sáng và cạnh tranh về dinh dưỡng.

Ví dụ: công trình thí nghiệm sử dụng bèo sen (*Eichhornia crassipes*) làm sạch môi trường nước thải sinh hoạt tại hói Phú An và Phú Thượng, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên - Huế (2002).

Hiệu quả xử lý các chất ô nhiễm của bèo sen tại các thời điểm nuôi

Các thông số	Hiệu quả loại bỏ chất bẩn sau 10 ngày (%)		Hiệu quả loại bỏ chất bẩn sau 15 ngày (%)	
	Phú An	Phú Thượng	Phú An	Phú Thượng
NO ₃ ⁻	64.16	64.08	70.63	72.02
PO ₄ ³⁻	79.49	78.38	84.95	82.13
NH ₄ ⁺	56.14	66.94	64.39	73.24
COD	55.74	56.67	71.52	63.78
BOD ₅	55	55.6	65	63.9
Coliform	80.83	86.36	90	87.27

Đối với thí nghiệm này, các tác giả Trương Văn Lung, Hoàng Thị Tuyết Ngọc đã tiến hành thí nghiệm với nhiều khay mẫu có các độ sâu khác nhau: 25cm, 35cm, 45cm. Ở bảng trên, chúng tôi chỉ trích số liệu điển hình đối với khay mẫu ở độ sâu 35cm.

***Phương pháp tự nhiên xử lý nước thải**

Với những loại nước thải có nồng độ chất nhiễm bẩn không cao, không chứa nhiều chất độc hại cho con người thì thường dùng phương pháp xử lý tự nhiên.

Nước từ nhà máy, khu dân cư... cho chảy thấm qua lớp đất dày khoảng 2 m, hay chảy qua lớp đất xốp, cát... Nước thải đi qua các lớp đó nhờ hệ vi sinh vật có sẵn ở đây, các chất bẩn sẽ được phân hủy làm cho nước trở nên sạch hơn.

Đây là quá trình tự làm sạch nên dễ làm, ít tốn kém, có thể xử lý nước thải trên qui mô lớn. Nước sau khi xử lý có thể dùng trong nông nghiệp, dẫn ra ao, hồ, sông... để hòa vào nguồn nước chung của tự nhiên.

Một số công trình nghiên cứu, ứng dụng CNSH

1. Chương trình biogas của Trung Quốc đã cải tiến việc sản xuất và tiêu dùng năng lượng cho gia đình mà còn ngăn cản việc gây ô nhiễm. Chất thải của quá trình làm biogas được dùng làm phân bón, trồng nấm, làm thức ăn cho cá, góp phần làm sạch sản phẩm phụ và loại bỏ các phế phẩm.

Protein đơn bào (SPC - single cell protein), dùng cơ chất là hydrate carbon, rỉ đường, bã thải của nhà máy bột giấy để nuôi cấy sống các nấm *men Sacchromyces, Candida, Mycoprotein*, các loại tảo đơn bào *Chlorella, Scenedesmus, Spirulina*... Các nước đã tiến hành là Thụy Sĩ (Công ti Envirocom Lid, Vancower), Phần Lan (G. A. Serlacchus), Cuba.

2. Kỹ thuật nuôi tảo trên nước thải đã phát triển rõ và có những cải tiến quan trọng, làm cho nước trong và sản sinh một lượng sinh khối giàu protein và nguyên tố vi lượng.

Một vài loài tảo thuộc chi *Pseudomonas* có những enzyme oxy hóa-khử hay hydroxyl hóa phân hủy được một số lớn phân tử hydrocarbon hoặc các hợp chất thơm rất độc (benzyl, toluen, xylen...). Năm 1979, Chakrabarky ở Đại học Illinois chọn được một chủng vi khuẩn có khả năng phát triển mau chóng trên dầu thô. Sau mười tháng nuôi cấy, tỉ lệ tăng trưởng của chúng tăng lên đáng kể và 2,4,5T (2,4,5 acid trichlorophenolacetic) được tiêu đi trong vòng vài ngày thậm chí ở cả nồng độ rất cao.

Kỹ thuật tái tổ hợp DNA thường cung cấp khả năng tạo ra những chủng vi khuẩn có thể phá hủy và hấp thu một số lớn các chất do công nghiệp hóa chất sản xuất ra thường thường không phân giải được bằng con đường sinh học, ví dụ ở Nhật Bản, Furukuwa và cộng sự tách được một chủng xạ khuẩn *Nocardia* có thể phân hủy cao su chỉ trong một tuần.

- **Chất thải rắn**

Xử lý rác thải bằng giun

Giun đùn lỗ và thải ra các chất hữu cơ làm đất tơi xốp. Các nhà khoa học Việt Nam đã thử nghiệm thành công phương pháp nuôi giun bằng rác thải, nhằm giải quyết nạn ô nhiễm môi trường do rác gây ra, đồng thời

cung cấp thức ăn cho gia súc. Loài giun này được nhập từ Philippines, có ưu điểm là dễ nuôi, sinh sản nhanh, thích nghi tốt với khí hậu nước ta.

Huỳnh Thị Kim Hối, thuộc viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, đã nghiên cứu kinh nghiệm dân gian, kết hợp với các kiến thức khoa học hiện đại để cho ra đời một qui trình xử lý rác thải nhờ giun đất Phillipines. Loài giun này có tên khoa học là *Perionyx excavalus*, có thể tiêu hóa chất thải rất tốt.

Theo tính toán, để phân hủy 1 tấn rác hữu cơ trong một năm, người ta cần khoảng 1.000 con giun giống và các thế hệ con cháu của chúng. Hiện tại, đề tài nghiên cứu đã được ứng dụng cho việc xử lý rác thải ở các thành phố lớn.

Trên thực tế, việc nuôi giun đất để xử lý ô nhiễm môi trường đã được nhân dân ta áp dụng từ lâu. Kinh nghiệm này đã được phổ biến rộng rãi nhất ở Hà Đông. Nhân dân ở đây thường làm chuồng gà phía trên và nuôi giun đất phía dưới, vì phân do gà thải ra là nguồn thức ăn tốt cho giun đất. Mặt khác nhờ giun đùn đất, tiêu hóa và thải ra chất hữu cơ, mà sau một thời gian, đất ở phía dưới chuồng gà sẽ tơi xốp, rất tốt cho cây trồng. Khi đó, người ta lại chuyển chuồng gà ra chỗ khác, cứ như vậy... Chu trình khép kín này khiến cho việc nuôi gia cầm không gây ô nhiễm môi trường.

Khử mùi rác bằng chế phẩm sinh học

Một lít chế phẩm sinh học Odor removal (Uyama enzyme) của Công ti TNHH Thái Dương (Long An) có thể xử lý 20 tấn rác.

Loại chế phẩm có khả năng khử mùi hôi của rác hơn 60% trong ngày đầu tiên và giảm dần đến hơn 80% trong các ngày tiếp theo. Mùi hôi thối trong nước rỉ rác cũng giảm hơn 80% và không tái nhiễm, mật độ ruồi giảm hơn 90%.

Đây là bản đánh giá kết quả khảo nghiệm của hai trường đại học Khoa học Tự nhiên và Bách khoa thành phố Hồ Chí Minh về ứng dụng chế phẩm này tại các trạm trung chuyển rác, bãi rác và nước rỉ rác.

Bao gói tự phân hủy sinh học (kết hợp phương pháp hóa học và sinh học)

Lê Trung Sơn và Trịnh Lê Hùng, giảng viên khoa Hóa, trường Đại học Khoa học Tự nhiên Hà Nội, đã chế tạo thành công bao gói tự phân hủy sinh học.

Bao gói được làm từ hỗn hợp tinh bột (bột đao và bột sắn) trộn với các dung dịch protein và các chất dẻo hóa, chất phụ gia tạo thành hỗn hợp blend. Trải hỗn hợp này lên bề mặt rồi gia nhiệt, vật liệu được tạo ra sau khi sấy là một màng mỏng có độ dày từ 0,15 - 0,35 mm.

Màng vật liệu này được dùng chế tạo các chậu, túi trồng cây tự phân hủy, cốc uống nước, giấy gói kẹo, đĩa thức ăn dùng một lần. Vật liệu này có giá từ 1.000 - 1.200 đồng/m².

Các kết quả thử nghiệm cho thấy vật liệu phân rã trong nước sau vài ngày, trong đất sau vài tuần. Những sản phẩm làm từ vật liệu này sẽ hạn chế ô nhiễm môi trường.

Công nghệ vi sinh trong sản xuất chế phẩm sinh học BZT

① Giải thích về vi khuẩn: Quá trình ổn định vi khuẩn làm việc tr thế nào?

Vi khuẩn sinh sản bởi một quá trình gọi là nhân đôi tế bào mới sinh ra bằng cách chia đôi từ tế bào mẹ. Một số có thể sinh sản rất nhanh ở những điều kiện thích hợp. Nếu có thực phẩm, độ ẩm thích hợp ở đúng nhiệt vi sinh có thể bắt đầu sinh sản trong vòng chưa đến hai mươi phút, chỉ trong tám giờ một tế bào ban đầu có thể nhân lên thành 17 triệu vi khuẩn mới.

Vi khuẩn chọn lọc, được nuôi cấy trong một môi chất. Dưới sự giám sát, vi khuẩn sau khi thanh lọc được chuyển qua một bồn lên men sinh học 250 lít sinh trưởng trong vòng 20 giờ.

Sau khi kiểm tra chất lượng về độ thuần khiết, vi khuẩn được đưa sang bồn lên men kín vô trùng có dung tích 5.000 lít để bắt đầu giai đoạn sản xuất. Dưới điều kiện pH thích hợp, dung dịch đường vô trùng và oxygen được đưa vào để nuôi vi khuẩn. Trong suốt quá trình này, sản phẩm được lấy mẫu để theo dõi sự vô trùng và các thông số tăng trưởng.

Trong vòng 24 giờ, sẽ thu hoạch vi khuẩn và cô đặc bằng một máy li tâm cực nhẹ. Vi khuẩn cô đặc được bọc lại bằng chất keo β -glucan bởi một qui trình đã được cấp bằng sáng chế. Qui trình này giúp vi khuẩn chống lại độ ẩm để duy trì sự sống trong thời gian bảo quản hoặc trộn với chất mang.

Sau đó sản phẩm được làm lạnh nhanh trong hệ thống lạnh lỏng trước khi đưa vào sấy ở nhiệt độ ở -40⁰C trong hệ thống phòng lạnh lớn. Qui trình sấy lạnh hai bước này, trong điều kiện độ ẩm dưới 5%, bảo đảm tỉ lệ sống sót của vi khuẩn cao và sẵn sàng cho giai đoạn cuối là kiểm tra để đảm bảo các dòng vi khuẩn không nhiễm khuẩn *Salmonella*.

② Chuyển đổi BOD và oxygen

BOD (nhu cầu oxygen sinh học – sự oxy hóa sinh học) là khối lượng oxygen hòa tan được tiêu thụ bởi các vi khuẩn trong quá trình oxy hóa các chất hữu cơ và vô cơ. Thí nghiệm BOD được xây dựng nhằm ngăn ngừa hậu quả của nước thải tới nguồn nước và xác định khả năng tiêu hóa các chất hữu cơ của chúng.

Sự chuyển đổi oxygen lớn trong nước là một vấn đề phức tạp và có nhiều nhà khoa học đã bỏ ra cả cuộc đời để nghiên cứu. Việc cho rằng oxygen chuyển đổi bằng những bọt khí lớn chỉ đúng trong một vài trường hợp chủ yếu trong việc lên men khi mà protein bao phủ bề mặt bọt khí. Đó chính là nguyên nhân tại sao phải sử dụng máy đập khí và bơm khí trong quá trình lên men.

Ứng dụng công nghệ vi sinh vật trong sản xuất phân bón hữu cơ sinh học

Sử dụng những chủng vi sinh vật có tuyển chọn định hướng để sản xuất phân hữu cơ vi sinh vừa làm rút ngắn thời gian chuyển hóa chất hữu cơ sang dạng mùn lại vừa nâng cao chất lượng và hiệu quả phân bón. Ủ rác với chế phẩm Micromix 3 đã rút ngắn 14 ngày so với ủ rác thông thường, chất lượng mùn trong sản phẩm tăng. Tiếp theo bổ sung các chế phẩm giống vi sinh vật hữu ích cho cây trồng để tạo nên chế phẩm phân hữu cơ- vi sinh chứa 106 CFU/g từng loại vi sinh vật hữu ích cho cây trồng (cố định N₂, phân giải phosphate, sinh chất kích thích sinh trưởng). Loại phân bón này có tác dụng tăng năng suất cây trồng, giảm lượng phân bón hóa học, tiết kiệm đầu tư sản xuất và giảm ô nhiễm môi trường đất, nước và thực phẩm

Seraphin - Công nghệ xử lý rác thải sinh hoạt tại Việt Nam

Rác thải sinh hoạt tại Việt Nam, nhất là tại các thành phố lớn chủ yếu được xử lý thô sơ bằng cách vùi tại các bãi chôn lấp, có nguy cơ gây ô nhiễm môi trường và nguồn nước ngầm. Căn cứ vào thực tế đó, tập thể các nhà khoa học thuộc công ty cổ phần Công nghệ Môi trường xanh đã tự nghiên cứu và phát triển thành công công nghệ xử lý rác mang tên Seraphin, phù hợp với đặc điểm rác thải Việt Nam là không được phân loại từ đầu nguồn.

Công nghệ Seraphin đã được nghiên cứu trong 5 năm và được ứng dụng cách đây 18 tháng dưới dạng nhà máy xử lý rác thí điểm ở Ninh Thuận với công suất 150 tấn/ngày. Chi phí xây dựng là 20 tỉ đồng.

Có thể tóm tắt quá trình xử lý rác thải như sau: Ban đầu rác từ khu dân cư được đưa tới nhà máy và đổ xuống nhà tập kết nơi có hệ thống phun vi sinh khử mùi cũng như ozone diệt vi sinh vật độc hại. Tiếp đến, băng tải sẽ chuyển rác tới máy xé bông để phá vỡ mọi loại bao gói. Rác tiếp tục đi qua hệ thống tuyển từ (hút sắt thép và các kim loại khác) rồi lọt xuống sàng lỏng.

Sàng lỏng có nhiệm vụ tách chất thải mềm, dễ phân hủy, chuyển rác vô cơ (kể cả bao nhựa) tới máy vò và rác hữu cơ tới máy cắt. Trong quá trình vận chuyển này, một chủng vi sinh ASC đặc biệt, được phun vào rác hữu cơ nhằm khử mùi hôi, làm chúng phân hủy nhanh và diệt một số

tác nhân độc hại. Sau đó, rác hữu cơ được đưa vào buồng ủ trong thời gian 7-10 ngày. Buồng ủ có chứa một chủng vi sinh khác làm rác phân hủy nhanh cũng như tiếp tục khử vi khuẩn. Rác biến thành phân khi được đưa ra khỏi nhà ủ, tới hệ thống nghiền và sàng. Phần trên sàng được bổ sung một chủng vi sinh đặc biệt nhằm cải tạo đất và bón cho nhiều loại cây trồng, thay thế trên 50% phân hóa học. Phần dưới sàng tiếp tục được đưa vào nhà ủ trong thời gian 7-10 ngày.

Do lượng rác vô cơ khá lớn nên các nhà khoa học tại công ti tiếp tục phát triển hệ thống xử lý phế thải tro và dèo, tạo ra một dây chuyền xử lý rác khép kín. Phế thải tro và dèo đi qua hệ thống sấy khô và tách lọc bụi tro gạch. Sản phẩm thu được ở giai đoạn này là phế thải dèo sạch. Chúng tiếp tục đi qua tổ hợp băm cắt, phối trộn, sơ chế, gia nhiệt bảo tồn rồi qua hệ thống thiết bị định hình áp lực cao. Thành phẩm cuối cùng là ống cống panel, cọc gia cố nền móng, ván sàn, cốp pha, gạch bloc...

Cứ 1 tấn rác đưa vào nhà máy, thành phẩm sẽ là 300-350 kg seraphin (chất thải vô cơ không hủy được) và 250 - 300kg phân vi sinh. Loại phân này hiện đã được bán trên thị trường với giá 500 đồng/kg. Hiện công ti đang làm chủ đầu tư xây dựng nhà máy xử lý rác Thủy Phương tại thành phố Huế với công suất 150 tấn/ngày, chi phí xây dựng 30 tỉ đồng.

Theo dự kiến, nhà máy sẽ đi vào vận hành trong tháng 11/2005. Một nhà máy khác mang tên Đông Vinh tại thành phố Vinh với công suất xử lý 200 tấn/ngày cũng sẽ được hoàn tất vào tháng 12/2005 với chi phí xây dựng khoảng 45 tỉ. Chi phí xây dựng một nhà máy xử lý rác sinh hoạt sử dụng công nghệ seraphin rẻ hơn nhiều so với các giải pháp xử lý rác nhập ngoại.

Như vậy, qua các công đoạn tách lọc - tái chế, công nghệ seraphin làm cho rác thải sinh hoạt được chế biến gần 100% trở thành phân bón hữu cơ vi sinh, vật liệu xây dựng, vật liệu sản xuất đồ dân dụng, vật liệu cho công nghiệp. Các sản phẩm này đã được cơ quan chức năng, trong đó có Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường chất lượng kiểm định và đánh giá là hoàn toàn đảm bảo về mặt vệ sinh và thân thiện môi trường. Với công nghệ seraphin, Việt Nam có thể xóa bỏ khoảng 52 bãi rác lớn, thu hồi đất bãi rác để sử dụng cho các mục đích xã hội tốt đẹp hơn.

Tuy nhiên, để tạo điều kiện dễ dàng hơn trong khâu xử lý rác thải sinh hoạt, công ti Vệ sinh Môi trường Đô thị tại các tỉnh, thành phố cần vận động, hướng dẫn người dân phân loại rác sinh hoạt ngay từ đầu - điều mà các nước phát triển đã làm từ hàng chục năm qua.

Tận dụng khí sinh vật từ phân gia súc và chất thải nông nghiệp

Công ti Farmatic Biotech Energy, Đức xây dựng xong nhà máy phân hủy kỵ khí qui mô lớn đầu tiên ở thị trấn Holsworthy thuộc vùng Bevon, Anh. Đây là một dự án do công ti Farmatic, cộng đồng địa phương

và các nông dân ở đây hùn vốn xây dựng. Nhà máy được xây dựng từ tháng 2/2001 và theo kế hoạch, nhà máy được đưa vào sản xuất với công suất đầy đủ vào tháng 6/2002.

Nhà máy khí sinh vật Holsworthy có công suất xử lý cao nhất là 14600 tấn phân trâu bò, gia cầm, kể cả chất thải lương thực hữu cơ. Phân gia súc được thu gom từ 25-30 trang trại địa phương, cách nhà máy 10 dặm. Chất thải lương thực sau khi chế biến được thu gom từ các cơ sở chế biến lương thực vùng Tây Nam.

Jorgen Fink, Giám đốc điều hành của công ti Farmatic tin rằng, Anh có tiềm năng xây dựng ít nhất 100 nhà máy. Các nhà máy này có thể đồng phân hủy phân gia súc với chất thải lương thực (như Holsworthy) hoặc có thể chỉ phân hủy chất thải lương thực và sinh hoạt.

- **Chất thải lỏng**

Enretech-1 có 2 công dụng là chất thấm dầu và đồng thời phân hủy sinh học dầu. Sản phẩm có chứa các loại vi sinh tồn tại sẵn có trong tự nhiên, không bị cải biến về gene. Khi có nguồn thức ăn là các hydrocarbon và độ ẩm thích hợp, các vi sinh này sẽ phát triển nhanh chóng về lượng và "ăn" dầu, chuyển hóa các chất độc hại thành vô hại. Vi sinh chỉ tồn tại và phát triển trong xơ bông của Enretech-1, không thể nuôi cấy phát triển ở môi trường ngoài "chủ" của chúng. Sản phẩm được sản xuất từ nguồn nguyên liệu tận dụng lại trong công nghiệp chế biến bông.

Đặc tính

- * Hấp thụ nhanh các hợp chất hydrocarbon ở mọi dạng nguyên, nhũ tương từng phần hay bị phân tán. Khả năng hấp thụ gấp 2-6 lần trọng lượng bản thân.
- * Cô lập các chất lỏng mà nó hấp thụ, không nhả lại môi trường, do đó không phát sinh nguồn ô nhiễm thứ hai.
- * Phân hủy hydrocarbon bằng vi sinh tự nhiên có sẵn trong các xơ bông của Enretech-1.
- * Không độc hại đối với sức khỏe con người, động thực vật và môi trường.
- * Hỗn hợp Enretech-1 & dầu bị hấp thụ là chất thải thông thường, có thể chôn lấp như chất thải không nguy hại do đạt các tiêu chuẩn an toàn của bộ Môi trường Mỹ (USA EPA TCLP 1311, 9095A & 9096).
- * Đơn giản và an toàn khi sử dụng, không cần chuyên gia hay huấn luyện đặc biệt.

Phạm vi sử dụng:

Enretech-1 được sử dụng cho ứng cứu khẩn cấp các sự cố tràn dầu trên đất, xử lý tại chỗ đất cát bị nhiễm dầu.

Khi việc thu gom dầu tràn bằng các biện pháp cơ học (phao quây, bơm hút, tẩm thấm...) không thể thực hiện được ở trên mặt đất, bờ sông, bờ biển, các dải đá... bị nhiễm dầu thì Enretech-1 là giải pháp xử lý hiệu quả kinh tế nhất và triệt để nhất.

Các xơ bông của Enretech-1 sẽ hấp thụ hydrocarbon ngay khi tiếp xúc. Khả năng kết bao rất mạnh là đặc tính ưu việt giúp cố định dầu trong các xơ bông, loại trừ nguy cơ dầu lan rộng hay ngấm sâu xuống đất, nhũ tương trong nước hay phát tán vào không khí.

Quá trình phân hủy sinh học dầu (đã bị cô lập) bởi vi sinh Enretech diễn ra ngay sau đó. 70 - 80% lượng dầu hấp thụ bị phân hủy sau 2 tháng. Trong điều kiện thích hợp, 80% hydrocarbon bị phân hủy sau 30 ngày. Vi sinh Enretech phát triển tốt nhất khi đất ô nhiễm dầu ở điều kiện nhiệt độ 25 - 30°C, độ ẩm 40%, pH 6 - 8. Khi nhiệt độ dưới 15°C hay trên 40°C, vi sinh ngừng hoạt động và phát triển.

Thời gian hydrocarbon bị phân hủy hoàn toàn nhanh hơn rất nhiều so với thời gian xơ bông Enretech tự phân hủy nên không gây nguy hại cho môi trường.

Hệ thống xử lý nước thải trong các bể aeroten

Các bể aeroten còn gọi là phương pháp hiếu khí, sục khí hay không khí sinh học. Đối với phương pháp này, vi sinh vật sinh trưởng ở trạng thái huyền phù. Quá trình làm sạch aeroten diễn ra theo mức dòng chảy qua của hỗn hợp nước thải và bùn hoạt tính được sục khí. Việc sục khí ở đây đảm bảo các yêu cầu của quá trình: làm nước được bão hòa oxygen và duy trì bùn hoạt tính ở trạng thái lơ lửng.

Nước thải ban đầu được tách sơ bộ cặn, rác trước khi vào bể điều hòa, sau đó được bơm tự động lên bể aeroten cao tải. Ở đây chất hữu cơ được phân hủy nhờ vi sinh vật hiếu khí có hoạt tính cao và bộ phân phối khí hiệu suất cao. Bùn hoạt tính được tách từ bể lắng liên hợp với bể phản ứng (để giảm chi phí xây dựng và mặt bằng) một phần được tuần hoàn còn phần lớn được xử lý ở bể tiêu hủy bùn. Nước thải sau xử lý đạt tiêu chuẩn thải được đổ vào nguồn tiếp nhận.

Làm sạch nước Hồ Tây bằng cây thủy sinh

Sau khi dự án thay nước Hồ Tây phá sản, thành phố Hà Nội chuyển hướng sang phương pháp sinh học, ít rủi ro và rẻ tiền hơn: trồng cây thủy sinh trong hồ. Dự án vừa được công ti đầu tư khai thác Hồ Tây đề xuất, dự kiến thực hiện trong 24 tháng (2004 - 2005) với tổng chi phí gần 5,4 tỉ đồng.

Các loại cây đem trồng sẽ được lựa chọn theo tiêu chí sau: đầu tiên và quan trọng nhất, phải chọn những loài cây phát triển tốt trong nước, dưới đáy hồ, trên mặt nước, nằm trong quần thể thực vật vùng châu thổ

Sông Hồng có khả năng làm giảm ô nhiễm môi trường. Thứ hai, tạo ra được cảnh quan đẹp. Thứ ba, có giá trị về kinh tế. Sau khi trồng, công ti sẽ chăm sóc, bảo vệ, theo dõi, kiểm soát sự sinh trưởng và phát triển, thu hoạch sản phẩm, bán sản phẩm, nghiệm thu, tổng kết dự án.

Các loại cây thủy sinh được trồng gồm: sen hoa các màu, hoa súng các màu (25ha), rau muống bè, rong đuôi chó, rong tóc tiên, rong rập (5 ha cho các loại rong, trồng dưới đáy hồ).

Dự án nhấn mạnh việc không chế sự phát triển tràn lan, đến mức giống như những cuộc xâm lăng, như của bèo tây trong một thời kỳ, của các loài cây thủy sinh này, để tránh tác động ngược. Diện tích tối đa được phép cho trồng thủy sinh - và phải thực hiện được bằng những tác động mạnh của con người - là không quá 25 ha, tức là 4,75% mặt nước Hồ Tây.

Một cuộc hội thảo đã được tổ chức ngày (21/11/2003), để lấy ý kiến của các nhà khoa học đầu ngành về dự án. Theo GS. Mai Đình Yên: "Nên lập một vườn cây thủy sinh trên Hồ Tây".

Phóng viên VietNamNet có buổi trò chuyện với GS. Mai Đình Yên sau buổi hội thảo về những điều cần bàn kỹ hơn xung quanh dự án trồng cây thủy sinh, cũng như sáng kiến của ông về một vườn cây thủy sinh để lưu giữ nguồn gene thực vật cho Hồ Tây và cả vùng đồng bằng Bắc Bộ.

Dùng bèo để lọc sạch nước hồ Xuân Hương

Trước tình trạng nước hồ Xuân Hương bị ô nhiễm nghiêm trọng do các nguồn nước thải trên lưu vực đổ về, Ban Quản lý và Khai thác Công trình thủy lợi Đà Lạt đã thả bèo đồng loạt với số lượng lớn xuống các hồ lắng nằm phía trên, nơi chứa nguồn nước đổ trực tiếp vào hồ Xuân Hương.

Đó là các hồ Đội Có (phường 2), Cầu Sắt (Trạm Trinh, phường 9), Hồng Lạc (Phạm Hồng Thái, phường 10). Từ mấy năm qua, nguồn bèo ở các hồ này đã được cho vét sạch và điều đó góp phần gây mất cân bằng sinh thái ở môi trường nước hồ.

Xử lý nước thải của vật nuôi bằng các cây thủy sinh

Khả năng thích ứng: Nước thải từ các trại chăn nuôi chứa khối lượng lớn các nitrogen, phosphore và những hợp chất vô cơ có thể hòa tan được. Thật khó tách những chất này khỏi nước bằng quét tước hay lọc thông thường. Ta có thể xử lý chúng một cách hiệu quả bằng sử dụng các loại cây vừa ít chi phí lại vừa không ảnh hưởng môi trường. Hai loài cây hữu hiệu để xử lý nước thải là bèo lục bình (water hyacinth) và cỏ muỗi nước (water dropwort). Thời gian duy trì trong nước (Hydraulic Retention Time- HRT) có tác động nhất của nước thải là khoảng 10 ngày trong ao hồ hay mặt nước thoáng trong một trong những loài cây thủy sinh này.

Giới thiệu về cây:

Cỏ muỗi nước (water hyacinth - Oenanthe stolonifera)

Cỏ muỗi nước là loài cây leo lâu năm, còn gọi là cây “cần tây nước” (water celery). Loài bản địa của vùng Đông Nam Á, thân và lá của nó có thể ăn sống hoặc chín như một loại rau. Nó sinh sản theo cách phân chia rễ và sinh trưởng tốt nhất trong môi trường nước nông cho tới sâu 20cm, hoặc các bờ ao và suối.

Bèo lục bình hay còn gọi bèo Nhật Bản, water hyacinth, (Eichhorma crassipes)

Bèo lục bình có nguồn gốc Nam Mỹ, sinh trưởng nhanh và nổi trên mặt nước. Hoa màu tím được coi là cây trang trí ở một số nước châu Á và sau đó trở thành một loài cỏ dại thủy sinh chính. Nó có thể tái sinh rất khỏe và nhanh.

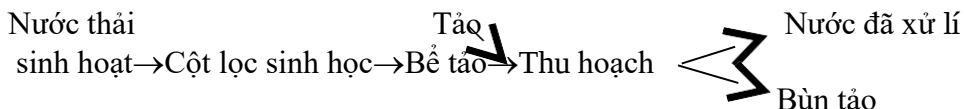
Xử lý nước thải:

Nước thải của vật nuôi cho chảy vào bể lắng, để chất thải rắn lắng xuống đáy. Sau một vài ngày cho phân nước trong chảy vào bể mở có bèo lục bình hoặc cây cỏ muỗi nước. Mặt nước trong bể này được cây che phủ (mật độ đạt xấp xỉ 400cây/bể).

Nếu là bèo lục bình, thì bể có thể làm sâu tùy ý. Còn loài cỏ muỗi nước thì để nước nông một chút, nên phải hạn chế độ sâu của bể xử lý khoảng 30cm. Cỏ muỗi cần thời tiết mát mẻ còn bèo lục bình lại thích thời tiết ấm áp.

Các kích cỡ của bể tùy thuộc vào lượng nước thải cần được xử lý. Chẳng hạn, chất thải của 10 con gia súc sẽ khoảng 456lít. Bể sẽ phải là 6m mỗi cạnh và sâu nửa mét. Bèo tấm (*Lemna japonica*) và bèo Nhật Bản (*Eichhornia crassipes*) để xử lý nước thải sinh hoạt, nước thải các lò mổ động vật, nước thải của lò bún (theo Trương Văn Lung năm 2000). Qua kết quả phân tích cho thấy khi xử lý nước thải bằng các loại bèo độ nhiễm bẩn của nước thải thể hiện BOD₅ chỉ ở mức 9 - 20mg/l (giảm từ 92 - 96%), COD là 20 - 37mg/l, nitrite, nitrate và phosphate giảm rõ rệt, đặc biệt NH₄⁺ bèo hấp thụ từ 90 đến 99%. Trong môi trường nước thải chất hữu cơ được phân giải thành các chất vô cơ là thức ăn tốt cho bèo.

Ngoài ra người ta còn có thể sử dụng một số loài tảo lục như: *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris* và các tập đoàn vi sinh vật có sẵn trong nước thải để xử lý nước thải sinh hoạt có hiệu quả.



Xử lý nước thải các làng nghề bằng lau, sậy

Lau, sậy là loài cây có thể sống trong những điều kiện thời tiết khắc nghiệt nhất. Hệ sinh vật xung quanh rễ của chúng vô cùng phong

phủ, có thể phân hủy chất hữu cơ và hấp thụ kim loại nặng trong nhiều loại nước thải khác nhau, như các loại nước thải làng nghề.

Phương pháp dùng lau, sậy xử lý nước thải do Kathe Seidel người Đức đưa ra từ những năm 60 của thế kỉ XX. Khi nghiên cứu khả năng phân hủy các chất hữu cơ của cây cối, ông nhận thấy điểm mạnh của phương pháp này chính là tác dụng đồng thời giữa rễ, cây và các vi sinh vật tập trung quanh rễ. Trong đó, loại cây có nhiều ưu điểm nhất là lau, sậy.

Không như các cây khác tiếp nhận oxygen không khí qua khe hở trong đất và rễ, lau, sậy có một cơ cấu chuyển oxygen ở bên trong từ trên ngọn cho tới tận rễ. Quá trình này cũng diễn ra trong giai đoạn tạm ngừng sinh trưởng của cây. Như vậy, rễ và toàn bộ cây lau, sậy có thể sống trong những điều kiện thời tiết khắc nghiệt nhất. Oxygen được rễ thải vào khu vực xung quanh và được vi sinh vật sử dụng cho quá trình phân hủy hóa học. Ước tính, số lượng vi khuẩn trong đất quanh rễ loại cây này có thể nhiều như số vi khuẩn trong các bể hiếu khí kĩ thuật, đồng thời phong phú hơn về chủng loại từ 10 đến 100 lần.

Chính vì vậy, các cánh đồng lau, sậy có thể xử lý được nhiều loại nước thải có chất độc hại khác nhau và nồng độ ô nhiễm lớn. Hiệu quả xử lý nước thải sinh hoạt (với các thông số như ammonium, nitrate, phosphate, BOD₅, COD, coliform) đạt tỉ lệ phân hủy 92 - 95%. Còn đối với nước thải công nghiệp có chứa kim loại thì hiệu quả xử lý COD, BOD₅, chrome, đồng, nhôm, sắt, chì, kẽm đạt 90 - 100%.

Theo Nguyễn Quang Minh, vụ Khoa học Công nghệ, bộ Xây dựng, nước ta hiện có khoảng 1.450 làng nghề truyền thống, tập trung chủ yếu ở đồng bằng Bắc Bộ, với các nghề như chế biến sản phẩm nông nghiệp (làm bún, miến, nấu rượu, chế biến thịt gia súc, gia cầm); sản xuất, tái chế giấy, sắt, nhựa, hóa chất; sản xuất đồ gốm, mộc, kim khí. Tại nhiều làng nghề, nước thải đang là nguy cơ lớn gây ô nhiễm nước mặt, làm phát sinh nhiều mầm bệnh nguy hiểm. Nước thải không được xử lý mà xả thẳng ra sông, hồ, kênh, mương... hay đất bỏ hoang của làng.

Việt Nam là đất nước nhiệt đới, khí hậu nóng ẩm, rất thích nghi cho sự phát triển của các loại lau, sậy. Mặt khác ở các làng, diện tích đất nông nghiệp bị bỏ hoang cũng còn khá lớn. Do vậy, việc áp dụng phương pháp xử lý nước thải bằng lau, sậy sẽ rất hiệu quả.

Xử lý nước thải nuôi tôm bằng rong biển

Đây là đề tài khoa học do Phạm Văn Huyền, phân viện Khoa học Vật liệu tại Nha Trang, làm chủ, được Hội đồng Khoa học Công nghệ tỉnh Khánh Hòa đánh giá tốt.

Đề tài đề xuất một số mô hình xử lý nước thải bằng các loại rong biển đối với từng loại ao đĩa để đạt hiệu quả nuôi tôm cao nhất như: sử dụng rau câu cước đối với loại ao, đĩa có đáy cát hoặc cát pha bùn; rau câu chỉ vàng đối với ao, đĩa đáy bùn; rong sụn đối với ao đầm, vịnh gần biển.

Đề tài đã được ứng dụng thực tế tại các ao chứa nước thải tại các khu nuôi tôm sú ở Đồng Bò (Nha Trang), Ba Ngòi (Cam Ranh), kết quả cho thấy, khi những nơi này được xử lý bằng cách trồng các loại rong biển thì hàm lượng những yếu tố gây ô nhiễm môi trường trong nước thải nuôi tôm đều giảm từ 60 - 80%.

Nghiên cứu xử lý nước thải nhà máy thuộc da bằng biện pháp lọc sinh học

Hiện các cơ sở thuộc da hoặc không được trang bị hoặc đã được trang bị một hệ thống xử lý nước thải nhưng ở trong tình trạng không hoạt động vì nhiều lý do khác nhau. Do vậy, nước thải của các đơn vị này đều được xả trực tiếp ra các sông, hồ xung quanh cơ sở sản xuất, gây ô nhiễm trầm trọng. Để đảm bảo chất lượng nguồn nước và sức khỏe cộng đồng, các dòng thải này buộc phải được xử lý trước khi xả ra các nguồn tiếp nhận.

Trong số các giải pháp có thể áp dụng để xử lý nước thải của nhà máy thuộc da, phương pháp sinh học là một biện pháp khả thi do tính tiện ích, kinh tế và an toàn sinh thái. Báo cáo này sẽ trình bày một số kết quả thăm dò kỹ thuật lọc sinh học để xử lý nước thải loại này.

Xử lý nước thải chăn nuôi bằng nấm và vi khuẩn

Cơ quan Hygefac Laboratories, Pháp, đã tách được 80 dòng vi khuẩn khác nhau mà khi hỗn hợp vào chất thải chăn nuôi ngựa, gia cầm, gia súc có thể khử mùi hôi và cải thiện giá trị làm phân bón của chất thải. Các vi khuẩn ưa khí cộng sinh, được bán trên thị trường với nhãn hiệu "Azofac", khi đưa vào chất thải chăn nuôi lỏng sẽ tác động đến vi khuẩn kỵ khí, là vi khuẩn bình thường phát triển trong chất thải và phát thải các khí có mùi hôi. Tiềm năng của công nghệ này đã được phòng Thí nghiệm Quốc gia Pháp cùng với các kỹ thuật viên của viện NIOSH của Mỹ khẳng định. Theo phòng Thí nghiệm Quốc gia Pháp, có thể giảm tới 80% lượng ammoniac và 90% hydrosulphite. Xử lý chất thải lỏng bằng Azofac cũng cho phép, nhờ giảm phát thải ammoniac, hấp thụ được nồng độ nitrogen lớn hơn, làm tăng giá trị làm phân bón.

Mới đây, các nhà khoa học đã bắt đầu sử dụng nấm để đạt được kết quả tương tự. Một nhóm các nhà nghiên cứu do Jean Villard thuộc trường Đại học Paris V lãnh đạo, đã tách được bốn loài nấm sợi tự nhiên: *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus* và *Fusarium*, có khả năng "tiêu hóa" chất thải lỏng. Bốn loài nấm này tác dụng tổng hợp với nhau. Theo Villard, lợi ích của

việc sử dụng nấm là chúng có nhiều trong các enzyme. Sau khi xử lý trong bể phân hủy sinh học, lượng sinh khối còn lại ít hơn nhiều so với xử lý bằng vi khuẩn. Các thử nghiệm sản xuất thử ở trang trại cho thấy, phân sau khi được xử lý, hoàn toàn không có mùi và giảm được 80% chất ô nhiễm. Chi phí lắp đặt thiết bị khoảng 4,5 USD cho 35 foot khối (khoảng 10 m³) đã xử lý, trong khi các hệ thống xử lý phức tạp hơn có thể đắt gấp 3 lần. Dự án này do Tổ chức Euralis (tổ chức hợp tác của các nhà chăn nuôi và nhân giống) tài trợ.

Quy trình xử lý chất thải lỏng của Euralis gồm hai pha. Trước hết, chất thải lỏng được xử lý với vi khuẩn kỵ khí và sau đó được xử lý với nấm trong môi trường ưa khí. Trong bồn phân hủy sinh học đầu tiên, vi khuẩn chuyển hóa nguyên liệu được nitrogen hóa trong chất thải lỏng thành các nitrite. Trong bồn phân hủy thứ hai, nấm hấp thụ nitrite, giải phóng ra khí ở dạng nitrogen trong khí quyển. Lưu huỳnh, nguồn gây mùi nhiều thứ hai trong chất thải lỏng, được tạo thành phức chất trong sinh khối còn lại. Nấm cũng tiêu thụ một phần lớn phosphore và kalium chứa trong chất thải và thu giữ các kim loại nặng, nhất là chì, thủy ngân và cadimium. Việc khử được COD, nitrogen, phosphore và kalium tạo ra khả năng sử dụng chất thải đã xử lý để làm nước tưới.

Xử lý ô nhiễm môi trường không khí

Sử dụng một cách đúng đắn thảm thực vật, cây gỗ, cây bụi với mục đích phòng chống ô nhiễm môi trường không khí là biện pháp quan trọng trong điều kiện hiện nay. Quan trọng nhất là xây dựng một cách có hệ thống ở thành phố và các khu công nghiệp, những khu rừng, khu công viên đáp ứng những yêu cầu về kiến trúc qui hoạch.

Vấn đề xử lý ô nhiễm môi trường không khí hầu như chưa có công trình nào đặc sắc. Người ta chú trọng việc trồng cây xanh ở các thành phố vừa tạo cảnh quan môi trường, vừa hạn chế được khí CO₂. Ngay cả ở Mỹ, quốc gia thải rất nhiều khí thải cũng chỉ có giải pháp tạm thời là chôn CO₂ dưới đáy đại dương.

Qua kết quả nghiên cứu, có thể nói rằng vấn đề xử lý các loại chất thải là rất cấp bách và cần thiết. Việc ứng dụng công nghệ sinh học trong xử lý là bước đi đúng cho vấn đề môi trường ngày nay. Để thực hiện tốt công nghệ này, chúng tôi mạnh dạn đưa ra một số kết luận và đề nghị sau:

① Áp dụng các phương pháp sinh học là công nghệ có tính khả hiệu, có nhiều ưu điểm và an toàn về sinh thái.

② Để xử lý có hiệu quả cần lồng ghép, kết hợp nhiều phương pháp xử lý khác nhau. Làm thế nào vừa tiết kiệm chi phí lại vừa có hiệu quả trong bảo vệ môi trường.

③ Cần có sự liên kết giữa các nhà khoa học và các doanh nghiệp cần thúc đẩy hơn nữa những ứng dụng đem lại lợi ích kinh tế.

④ Các nhà nghiên cứu cần đầu tư nhiều hơn nữa về những đề tài có triển vọng lâu dài, có khả năng ứng dụng vào công tác xử lý môi trường và bảo vệ môi sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Huệ, 1996. Xử lý nước thải. Nxb Xây dựng. Hà Nội.
2. Bá Hung, 2003. Xử lý nước thải nuôi tôm bằng rong biển. Báo Nhân dân, ngày 26/5.
3. Phạm Thị Ngọc Lan, Phạm Thị Hòa, Lý Kim Bảng, 1999. Tuyển chọn một số giống xạ khuẩn có khả năng phân giải cellulose từ mùn rác. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc lần thứ nhất tháng 12/1999, Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr 177-181.
4. Trương Văn Lung, 2000. Nuôi bèo Nhật Bản (*Eichornia crassipes*), bèo tấm (*Lemna japonica* Landolt) và bèo cái (*Pistia stratiotes* L.) để xử lý nước thải ở Thừa Thiên Huế. Tạp chí Khoa học, Đại học Huế, Số 10. tr: 103-107.
5. Trương Văn Lung, Nguyễn Ngọc Thanh, 2003. Thăm dò một số biện pháp sinh học để xử lý nước thải từ quá trình sản xuất của nhà máy chế biến tinh bột sắn Quảng Nam. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc lần thứ 2, Hà Nội tháng 12/2003, Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr 313- 316.
6. Trần Văn Nhân, Ngô Thị Nga, 1999. Giáo trình công nghệ xử lý nước thải. Nxb Khoa học Kỹ thuật. Hà Nội.
7. Đặng Xuyên Như, Nguyễn Phú Cường, Dương Hồng Dinh, 1999. Ứng dụng tảo và cột lọc sinh học trong xử lý nước thải sinh hoạt qui mô nhỏ. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc lần thứ nhất tháng 12/1999, Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr: 192-197.
8. Nguyễn Quốc Thông, Đặng Đình Kim và cộng sự, 2003. Nghiên cứu khả năng hấp thụ kim loại nặng Cr và Ni của bèo cái (*Pistia stratiotes* L.) từ nước thải, Những vấn đề cơ bản trong sinh học, Báo cáo khoa học hội nghị toàn quốc lần thứ 2, Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, trang 401 - 404.
9. Trần Văn Tura, Nguyễn Tiến Cư, Đặng Đình Kim, Hồ Tú Cường, Hoàng Thị Bảo, 2003. Nghiên cứu xử lý nước thải chế biến thủy sản bằng phương pháp kỵ khí. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ Sinh

học toàn quốc lần thứ 2, Hà Nội tháng 12/2003, Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr 141-143.

10. Trần Cẩm Vân, Bạch Phương Lan, 1995. Công nghệ vi sinh và bảo vệ môi trường. Nxb Khoa học & Kỹ thuật. Trung tâm Giao lưu quốc tế về Văn hóa Giáo dục và Khoa học (CCES), Hà Nội.
11. Chế phẩm BRF-1 AQUAKIT và BRF-2 AQUAKIT xử lý ô nhiễm dầu, www.oilspill.com.vn
12. Dùng bèo để lọc nước Hồ Xuân Hương, www.vnexpress.net
13. Hoa ngũ sắc chống ô nhiễm chì trong đất, www.vnn.vn
14. Khử mùi rác bằng chế phẩm sinh học, www.hanoitv.org.vn
15. Nghiên cứu xử lý nước thải nhà máy thuộc da bằng tháp lọc sinh học, www.biotechvn.com.vn
16. Seraphin-Công nghệ xử lý rác thải sinh hoạt Việt Nam, www.vnexpress.net
17. Xử lý chất thải chăn nuôi bằng nấm và vi khuẩn, www.vista.gov.vn
18. Xử lý nước thải làng nghề bằng lau, sậy, www.vnexpress.net
19. Xử lý rác thải bằng giun, www.vnexpress.net

Chương X

Công nghệ sinh học trong việc bảo tồn và phát triển nguồn gene quý hiếm

1. Lưu giữ nguồn gene

Động lực chủ yếu của cuộc cách mạng CNSH, còn gọi là cuộc cách mạng xanh lần thứ hai lại là các tổ chức tư nhân mặc dù hầu hết các nghiên cứu cơ bản đều là được tiến hành ở các trường Đại học Quốc lập và các trạm Nông Lâm nghiệp. Ở Pháp việc phân phối thương mại giống cây nhiệt đới thông qua kỹ thuật vi nhân giống phần lớn do các cơ quan công cộng như trung tâm Hợp tác Quốc tế về Nghiên cứu Nông học cho Phát triển (CIRAD) và các chi nhánh Vitropic và Tropiclons của trung tâm kiểm soát.

Tư nhân hóa các kết quả nghiên cứu CNSH có nghĩa là các kết quả nghiên cứu này không còn là một bộ phận cấu thành của tri thức khoa học kỹ thuật, một tài sản chung cho mọi người nữa.

Quá trình tư nhân hóa như vậy có liên quan đến nguồn gene và tài nguyên di truyền thực vật rất cần cho công tác lai tạo và nuôi cấy mô thực vật. Các dòng lai có đặc tính mong muốn và được dùng vào tái tạo giống mới. Các giống thương mại mới hoặc các dòng tế bào, các sản phẩm mới và các hướng sử dụng mới của các sản phẩm này. Các qui trình kỹ thuật mới có liên quan đến việc tạo ra giống hoặc sản phẩm mới.

Tư nhân hóa làm xấu đi khả năng tiếp cận thông tin và bí quyết kỹ thuật cũng như khả năng tiếp nhận các giống cây trồng, dù ở dạng sống hay giữ đông lạnh, hạn chế mức độ phong phú của loài mới công nghệ.

Giữa những năm 1980, có 14 công ti và tập đoàn giống lớn chiếm khoảng 20% thị trường, ở các nước kinh tế thị trường.. Doanh thu hàng năm của họ hàng triệu USD, sản xuất, lưu giữ và bán hạt giống. Các công ti này đã huy động vốn khổng lồ (từ 18 đến 30 tỉ USD) trên thị trường thế giới.

Để làm cơ sở cho việc chọn giống cây trồng, cho đến nay các nước tiên tiến có các “tập đoàn giống” chuyên giữ giống để cung cấp cho các nhà chọn giống làm vật liệu ban đầu cho việc lai tạo. Các tập đoàn giống lớn nhất thế giới là tập đoàn giống lúa ở viện Nghiên cứu lúa Quốc tế Philippines có 120.000 giống , tập đoàn giống lúa mì ở viện Cây trồng Liên Xô (cũ) có trên 20.000 giống, tập đoàn giống ngô ở trung tâm Quốc

tế Cải biến ngô và lúa mì Mexico có hơn 10.000 giống, tập đoàn giống cao lương ở viện Khoa học Nông nghiệp Ấn Độ có hơn 8.000 giống. v.v.

Thường mỗi giống cây trong tập đoàn chỉ có vài đặc tính tốt. Do vậy, muốn có một giống cây trồng lí tưởng chứa đựng các gene tốt của nhiều giống phải tốn thời gian dài mới làm được. Do vậy, trong công việc này phải làm dần do nhiều thế hệ các nhà chọn giống nối tiếp công việc của nhau.

Việc tổng hợp các gene mang đặc tính tốt của cây trồng thường được làm bằng phương pháp lai và phải lai trên nhiều cặp lai phối hợp với nhau từng đôi một mới mong đạt được kết quả tốt.

Sau này, các nhà khoa học phát hiện rằng bố và mẹ có đặc tính tốt thì con lai cộng lại cái tốt của bố và mẹ. Đó là tác dụng cộng của gene, và nếu con lai thừa hưởng các đặc tính của nhiều bố và nhiều mẹ thì con lai càng tốt hơn - gọi là lai tổng hợp. Vì vậy cho nên việc lưu trữ giống – lưu trữ nguồn gene sinh học là điều hết sức cần thiết cho ngày nay và cho cả thế hệ mai sau.

Vì vậy, lưu giữ nguồn gene sinh học *ex-situ* và *in situ* (bên ngoài và tại chỗ) là điều hết sức lưu ý đối với các nhà sinh học, đặc biệt là các nhà di truyền học.

2. Bảo tồn gene và Ngân hàng gene

Trước hết cần xác định nguồn gene là gì? Theo “Qui chế quản lí và bảo tồn nguồn gene động vật, thực vật và vi sinh vật” được bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành ngày 30 tháng 12 năm 1997 thì nguồn gene là những sinh vật sống hoàn chỉnh hay bộ phận của chúng mang thông tin di truyền sinh học, có khả năng tạo ra hay tham gia tạo ra giống mới của thực vật, động vật và vi sinh vật.

Từ định nghĩa này có thể thấy rõ bảo tồn nguồn gene chính là bảo tồn các vật thể mang thông tin di truyền những vật liệu ban đầu có khả năng tạo ra giống mới.

Điều quan trọng khi bắt tay vào bảo tồn nguồn gene là phải xác định được mục tiêu bảo tồn. Mục tiêu khác nhau thì phương pháp bảo tồn và đối tượng bảo tồn cũng khác nhau.

Cho đến nay, mục tiêu bảo tồn trong nông nghiệp bao giờ cũng xác định là để sử dụng cho công tác chọn giống và gây giống trước mắt và trong tương lai. Vì vậy, việc bảo tồn nguồn gene bao giờ cũng được tập trung giải quyết cho các loài cây trồng chủ yếu mà không bảo tồn cho các loài cây cỏ không có ý nghĩa kinh tế. Ở đâu và bao giờ bảo tồn gene cũng nhằm sử dụng cho công tác giống trước mắt và lâu dài có hiệu quả hơn. Vì vậy bảo tồn nguồn gene bao gồm việc bảo tồn các sinh vật nguyên vẹn lẫn những bộ phận được dùng cho lai giống và nhân giống.

Những năm vừa qua, nhân dân ta do thiếu lương thực phục vụ cho cuộc sống nên chú ý đến năng suất cây trồng vật nuôi, chưa thực sự chú ý đến phẩm chất. Chúng ta cũng chưa có nơi lưu giữ giống, do đó ngân hàng gene của chúng ta còn rất nghèo nàn.

Ngân hàng gene là dùng kĩ thuật phục chế lại DNA để lấy toàn bộ DNA trên một loại tế bào sinh vật hoặc toàn bộ DNA trên nhiễm sắc thể cấy lên gene vận chuyển sau đó chuyển dịch đến tế bào cư trú để tiến hành bồi dục thành hệ vô tính. Sau lúc thành lập ngân hàng gene có thể cho tiến hành sinh sản vô tính làm cho toàn bộ gene nhập vào tổ sinh sản vô tính, đó chính là ngân hàng gene.

Khi đã có ngân hàng gene, hễ cần đến gene nào hoặc đoạn nào có thể cắt ghép hoặc phục chế, chính vì vậy mà khi thực hiện sẽ dễ dàng hơn.

Nếu để gene ở gốc, lúc cần bắt buộc phải tách nó ra, việc tách cũng không phải dễ dàng. Nếu chúng ta thành lập sẵn ngân hàng gene của các sinh vật khác nhau thì công việc tiến hành sẽ thuận lợi.

Từ năm 1974, các nhà khoa học đã thành lập ngân hàng gene của trực khuẩn đại tràng, men giấm, ruồi giấm, gà, thỏ, đậu tương.

Số lượng gene chứa trong ngân hàng gene và độ lớn bé của tổ hợp gene có liên quan với độ dài của đoạn DNA của hệ sinh sản vô tính.

Sau khi thành lập ngân hàng gene thì vấn đề quan trọng là làm thế nào để giữ gìn nó. Để bảo quản tốt người ta thường dùng phương pháp sinh sản của vi khuẩn làm cho các vi khuẩn chứa nhiều DNA không ngừng tăng lên. Do sức sinh sản của vi khuẩn của các loài khác nhau thì giống nhau, loài sinh sôi nảy nở chậm thì phục chế ít.

Lúc đầu chỉ có một vi khuẩn chứa DNA định sẵn, sau thời gian nuôi cấy, số lượng vi khuẩn tăng lên đến hàng trăm triệu, nhờ thế số lượng DNA cũng tăng lên hàng trăm triệu. Chúng ta chỉ cần rửa, tách vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy, đặt nơi nhiệt độ thấp có thể bảo quản lâu dài. Khi cần sử dụng chỉ cần tách vi khuẩn ra là được.

Ngân hàng gene của thực vật bậc cao và động vật bậc cao dùng để cắt gene duy nhất là enzyme công cụ. Độ chuyển hóa của enzyme rất cao, mỗi loại enzyme mang tính đặc hiệu riêng cho một gốc base trong nucleotide mà không thể dùng chung cho 1 loại gốc base khác, tương tự như chia khóa và ổ khóa. Do enzyme cắt có đặc tính này nên nó trở thành công cụ chuyên dùng để cắt gene. Cho dù DNA dài bao nhiêu ta cũng có thể dùng enzyme cắt để lấy đoạn DNA mà ta cần.

Như thế gene đã được cắt, vậy làm thế nào để các gene liên kết lại với nhau, ta sử dụng enzyme liên kết tương tự như keo dán để nối 2 gene lại với nhau.

Sau khi 1 chuỗi DNA dài bị cắt, vết cắt có dịch dính gọi là đoạn cuối dính. Khi nối 2 đoạn của gene khác nhau lại thì chúng không thể gắn một cách nhanh chóng được. Phải dùng enzyme liên kết mới gắn 2 đoạn của gene khác nhau lại, tạo thành chuỗi chắc chắn. Như thế, một phân tử DNA tái tạo được ra đời.

Các phương pháp để bảo tồn và phát triển nguồn gene thực vật và động vật

Việt Nam là một nước nhiệt đới ẩm, gió mùa, thiên nhiên phong phú và đa dạng nguồn lợi động vật và thực vật. Chúng đã trở thành những nguồn gene quý hiếm và nhiều loài đã đưa vào Sách đỏ, có nguy cơ diệt chủng. Việc bảo tồn và phát triển nguồn gene trở nên vô cùng cấp bách đối với nước ta.

Chúng ta có thể nêu ra một vài ví dụ đơn giản để chứng minh cho tính chất độc đáo về di sản thiên nhiên của dãy đất miền Trung. Đó là sự xuất hiện đáng được bảo vệ của các loài cây bản địa quý hiếm như kim giao (*Podocarpus ananmensis*), kiền kiền (*Hopea pierrei* Hance), gụ lau (*Sindora tonkinensis* A.Chev), chò đen (*Parashorea stellara* Kurz), huỳnh (*Tarrietia cochinchinensis* Pierre), cẩm lai (*Dalbergia bariaensis*), trắc (*Dalbergia cochinchinensis*), trầm hương (*Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte), dầu Hasel còn gọi là dầu rái (*Dipterocarpus hasseltii* Blume), uoi bay (*Sterculia lychnophora* Hance), re hương còn có tên khác dẻ hương, xà xị (*Cinamomum parthenoxylon* (Jack) Meissn.), lim xanh (*Erythrophloeum fordii* Oli in Hook), lá khổi (*Ardisia silvestris* Pit.), bầy lá một hoa (*Paris polyphylla* (Smith) Raf.), vàng đắng (*Coscinium fenestratum* (Gaertn.) Colebr.), v.v. Về động vật thì có: chim trĩ (*Lophura edwardsi*), gà gô (*Arbolophila merlini*), trĩ sao (*Kheinaridia oehlata*), gà lôi lam màu trắng (*Lophiera edwardsi*), gà lôi lam màu đen (*Lophiera imperialis*), voọc chà vá, (*Lygethrix nemanneus*), voọc Hà Tĩnh (*Presbitis fracoisi hatinh*), vượn (*Hylobates concolor gabrrella*), chó sói (*Cuon alpinus*), báo gấu (*Neofelis nebulosa*), báo hoa mai (*Panthera pardus*), hổ (*Panthera tigris*), v.v. Những nguồn gene quý hiếm này không những cần thiết phải giữ gìn bảo vệ mà còn cần nhân lên diện rộng để nuôi trồng trên các vùng đồi núi.

Các phương pháp phát triển nguồn gene

Về thực vật:

Nhân giống *in vitro* là một trong 4 lĩnh vực ứng dụng chính của công nghệ tế bào thực vật, đó là làm sạch virus, nhân nhanh các giống cây trồng quý, sản xuất và chuyển hóa sinh học các hợp chất tự nhiên cải tiến về mặt di truyền các giống cây mang lại hiệu quả kinh tế cao.

Kỹ thuật nhân nhanh được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực:

- Duy trì và nhân nhanh các kiểu gene quý hiếm làm vật liệu cho công tác chọn giống.

- Nhân nhanh và duy trì các cá thể đầu dòng tốt để cung cấp hạt giống các loại cây trồng khác nhau như cây lương thực có củ, các loại cây rau, hoa, cây cảnh, cây dược liệu thuộc nhóm thân thảo.

- Nhân nhanh các kiểu gene quý hiếm của giống cây lâm nghiệp, gốc ghép trong cây ăn quả, cây cảnh.

- Nhân nhanh ở điều kiện vô trùng, cách li tải nhiễm kết hợp với làm sạch virus.

- Bảo quản tập đoàn nhân giống vô tính, các loài cây giao phấn trong ngân hàng gene.

Các phương pháp nhân giống vô tính bằng giâm cành, chiết, ghép, tách cây con từ cơ thể mẹ đều là những kỹ thuật tạo ra dòng vô tính.

- Thụ phấn và nuôi cấy phôi *in vitro*

Tính bất hợp của giao tử có thể vượt qua được bằng nội dung kỹ thuật thụ phấn trong ống nghiệm:

- . Tách bầu quả và noãn ra nuôi cấy trong điều kiện vô trùng. Hạt phấn được lấy và đặt lên bầu nhụy. Thụ phấn thành công, phôi sẽ sinh trưởng và phát triển trên môi trường nuôi cấy. (Kích thích hạt phấn nảy mầm, kích thích sinh trưởng của hạt phấn, nuôi noãn và thụ tinh noãn, nuôi hợp tử thành hạt)

- . Điều kiện cơ bản là nuôi cấy thành công bầu quả, noãn phân lập chủ động điều khiển quá trình nảy mầm của hạt phấn trong môi trường nuôi cấy vô trùng.

- Ngoài ra người ta còn dùng phương pháp tạo cây đơn bội *in vitro*, tách và nuôi cấy tế bào callus, biến nạp gene vào tế bào callus, tạo đột biến và chọn dòng tế bào, sử dụng khối u crown gall và plasmid Ti, biến nạp thông qua *Agrobacterium tumerfaciens*, nhân giống và sản xuất hạt nhân tạo, tạo giống mới bằng phương pháp chọn dòng soma trong nuôi cấy mô tế bào, v.v.

Bảo quản in vitro nguồn gene thực vật

Mục đích cơ bản của bảo quản nguồn tài nguyên di truyền thực vật là duy trì sự phong phú đa dạng “di truyền” trong loài, giữa các loài trong hệ sinh thái nói chung để làm cơ sở cho việc khai thác sử dụng trong hiện tại hoặc trong tương lai. Dựa vào đặc tính sinh sản các loài cây trồng được xếp thành:

- Cây sinh sản hữu tính bảo quản ở nhiệt độ ẩm và độ ẩm thấp.

- Cây sinh sản hữu tính mất sức nảy mầm bảo quản ở nhiệt độ thấp khô.

- Cây nhân giống vô tính mất khả năng sinh sản hữu tính hoàn toàn

- Bảo quản tại chỗ cho phép cây trồng sinh trưởng trong điều kiện sinh thái tự nhiên là những cây sinh sản vô tính cây hoang dại.

- Các cơ quan sinh sản của cây trồng được bảo quản trong điều kiện nhân tạo tối ưu:

- . Trên vườn ươm
- . Trong kho lạnh
- . Bảo quản *in vitro*
- . Bảo quản DNA

Việc lựa chọn các phương pháp bảo quản phụ thuộc vào bản chất cây trồng.

Bản chất cây trồng quyết định các giải pháp bảo quản :

Yếu tố sinh học	Những phương pháp bảo quản thích hợp
1. Cây lâu năm	Ngân hàng gene đông ruộng, bảo quản <i>in vitro</i> hạt và hạt phần
2. Các cây hàng năm	- Bảo quản hạt-hạt phần - Ngân hàng gene đông ruộng và <i>in vitro</i> bảo quản hạt
3. Hạt orthodox	Ngân hàng gene <i>in vitro</i> , tại chỗ và trên đông ruộng
4. Hạt recalcitrant	Ngân hàng gene đông ruộng <i>in vitro</i> và bảo quản đông khô
5. Cây nhân vô tính với hạt vô sinh	Ngân hàng gene đông ruộng
6. Cây nhân vô tính với hạt có vô tính thường	- Bảo quản hạt-hạt phần - Bảo quản <i>in vitro</i> – đông khô
7. Cây có hạt phần với sức sống cao	Bảo quản hạt phần
8. Cây có điều kiện nuôi cây mô	Tìm các phương pháp bảo quản thay thế
9. Cây mức độ ổn định di truyền cao	Tìm phương pháp bảo quản thích hợp

Ngân hàng gene in vitro

Để bảo quản thường sử dụng 2 phương pháp:

- Nuôi cây bảo quản đông khô. Giải pháp này được phát triển trong vòng 10-15 năm trở lại đây được bắt đầu bằng bảo quản callus, phụ thuộc vào mục đích nghiên cứu sinh lí hóa sinh. Dựa vào nguyên tắc đó, chúng được chuyển sang nuôi cây bảo quản chồi mầm phôi và cây con hoàn chỉnh phục vụ công tác nhân nhanh sản xuất cây giống, xây dựng nguồn gene của cây trồng.

- Bảo quản *in vitro* xuất hiện đồng thời với việc sử dụng phương pháp truyền thống. Trong thời gian tới, bảo quản *in vitro* sẽ cho ra đời các ngân hàng gene *in vitro*.

Bảo quản *in vitro* xây dựng nguồn gene thực hiện 2 nhiệm vụ:

. Bảo quản các tập đoàn hoạt động nhằm cung cấp vật liệu phục vụ công tác nghiên cứu và trao đổi nguồn gene giữa các ngân hàng gene.

. Bảo quản tập đoàn cơ bản bảo tồn nguồn gene lâu dài bổ sung vật liệu cho các tập đoàn hoạt động.

Về động vật:

Hiện trạng sinh sản vô tính ở động vật trong tự nhiên không lớn ở động vật và ở người. Chúng ta thường gặp những tập hợp gồm 2-3-4 người giống nhau. Đó là hiện tượng song sinh cùng trứng, năm chị em Dionne sinh năm 1934 ở Canada hoàn toàn giống nhau. Một người chết vì bệnh động kinh, 1 người đi tu, 3 người lấy chồng và có con. Như vậy, chúng là bản sao của nhau nhưng vẫn là con người khác nhau. Để xem xét 2 cá thể, người ta sử dụng phương pháp xét nghiệm DNA, chỉ cần ghép da cho nhau là có thể biết được.

Hiện tượng 1 phôi tách làm nhiều phôi và sau đó mỗi phôi chính thành 1 cơ thể được thấy ở nhiều loài như ong kí sinh.

Cũng như trong trồng trọt, ở chăn nuôi, giống là khâu quan trọng hàng đầu quyết định sức sản xuất, năng suất, chất lượng của vật nuôi. Như vậy, để nâng cao năng suất, phẩm chất của vật nuôi cần cải tạo giống và cần có giống tốt. Có nhiều biện pháp cải tạo giống: phương pháp cổ điển là chọn lọc, lai tạo giống tạo ra giống tốt, phương pháp hiện đại là chuyển phôi, chuyển gene.

Như vậy, để bảo tồn và phát triển nguồn gene động vật, người ta dùng một số phương pháp sau:

- Công nghệ chuyển phôi tạo giống mới bao gồm thụ tinh trong ống nghiệm (ngày 29 tháng 11 năm 2002, 2 con Bê con ở Việt Nam lần đầu tiên ra đời trong ống nghiệm do các nhà khoa học viện Công nghệ Sinh học Hà Nội cho thụ tinh ống nghiệm sau đó chuyển phôi vào bò cái lai Sind), thụ tinh nhân tạo, chuyển phôi (xử lí con cái cho phôi, gây hiện tượng siêu noãn: cho rụng nhiều trứng, kĩ thuật thao tác phôi, kĩ thuật xử lí với con cái nhận phôi).

- Công nghệ gene tạo giống mới (thay đổi bộ gene của tế bào động vật bằng cách gắn DNA ngoại lai vào noãn bào đã được thụ tinh, bộ gene của phôi sẽ thay đổi do đoạn DNA ngoại lai hòa nhập vào bộ gene sẵn có của phôi).

Để bảo tồn và phát triển nguồn gene động vật, ngoài kĩ thuật phôi, kĩ thuật gene, người ta xây dựng được một số qui trình kĩ thuật khác để tạo giống mới.

Tháng 2 năm 1997, Ian Wylmut và các đồng nghiệp tại viện Roslin, Scotland thành công trong việc nhân bản vô tính từ 1 tế bào tuyến vú. Từ 1 tế bào của con cừu cái có tên là Finn Dorset tiến hành nuôi cấy

trong phòng thí nghiệm. Lấy trứng của con cừu cái khác hút nhân chỉ còn lại tế bào chất sau đó cho kết hợp tế bào tuyến vú với trứng không nhân. Kỹ thuật này gọi là *truyền nhân tế bào cơ thể* (somatic cell nuclear transfer). Sau 6 ngày cấy hợp tử vào tử cung con cừu cái khác mang hộ thai. Con cừu này sinh ra cừu Dolly (lấy theo tên diễn viên Dolly Parton) mang đặc tính giống cừu cái mẹ. Như vậy, từ 1 tế bào trưởng thành tạo ra bào thai rồi tạo ra cơ thể mới.. Có nghĩa là từ 1 tế bào có thể tái bản lại toàn bộ cơ thể nhờ kỹ thuật nhân bản gene.

SƠ ĐỒ MINH HỌA KỸ THUẬT SINH SẢN VÔ TÍNH ĐỘNG VẬT



Hình X. Sinh sản vô tính ở động vật

Như vậy, cũng như ở thực vật, tế bào động vật cũng mang tính toàn năng. Ở động vật cũng có thể lai vô tính, sinh sản vô tính, tuy nhiên có phức tạp hơn so với tế bào thực vật. Các nhà khoa học còn tìm các biện pháp mới để tăng năng suất vật nuôi. Tháng 2 năm 1994, tại Mỹ một loại hormone tăng trưởng tái tổ hợp ra đời.

Tại trường Đại học Cambridge (Anh) thành công trong việc tạo ra bê đực, cái theo ý muốn. Vừa qua tại viện Công nghệ Sinh học Hà Nội cũng đã tạo ra những con bê đực bê cái theo ý muốn.

Các nhà khoa học ở Cambrige đã tạo ra trong cơ thể con lợn có gene người nhằm mục đích lấy phũ tạng của chúng để cấy ghép thay thế các bộ phận hư hỏng của con người.

Ngày 24/11/1999, chú mèo Jazz giống hoang dã châu Phi chào đời tại New Orleans (Mỹ), mèo mẹ Cayenne lại rất giống mèo nhà. Đây là kết quả nhân giống thú quý hiếm của trung tâm Nghiên cứu các loài bị đe dọa ở Audubon-New Orleans. Các nhà khoa học đã lấy tinh dịch và trứng của mèo đực và mèo cái giống hoang dã châu Phi đang có nguy cơ tuyệt chủng, sau đó cho thụ tinh trong ống nghiệm. Đầu tiên, phôi thai thụ tinh trong ống nghiệm được nuôi 5 ngày trong lòng ủ, sau đó được bảo quản 1 tuần ở -196°C . Kế tiếp các nhà khoa học giải đông phôi thai rồi cấy 8 phôi vào tử cung con Mèo cái nhà Cayenne, 70 ngày sau Mèo Jazz chào đời.

Năm 2000, trên thế giới còn chưa tới 1.000 con gấu trúc lớn, trong đó có khoảng 100 con đang sống trong vườn thú. Một gấu trúc cái vừa chết. Các nhà khoa học Trung Quốc cất lấy một mẫu da của nó và ngâm vào azote lỏng ở -196°C . (Theo một số ý kiến cho rằng cách tốt nhất là đông lạnh tinh dịch con đực và trứng con cái để mẫu vật lưu giữ được toàn bộ hệ di truyền). Hiện nay một số loài gia súc như cừu, bò, dê, lợn và loài chuột đã nhân bản vô tính. Nếu chúng ta bảo quản mẫu vật thú có nguy cơ tuyệt chủng, biết đâu, một ngày nào đó có thể cứu lấy giống nòi số thú này. Ý tưởng của các nhà khoa học Trung Quốc đang phổ biến nhiều nơi trên thế giới với nhiều cách làm khác chứ không hẳn chỉ là nhân bản vô tính.

Ví dụ một giải pháp mới bảo tồn động vật quý hiếm Sư Tử vùng núi Atlas, Bắc Phi, chó sói ở Tasman (châu Úc), hải cẩu trên quần đảo Antilles, ngựa vằn đầu, dê rừng núi Pyrenees, Rùa quần đảo Seychelles (Ấn Độ Dương),... đều đã tuyệt chủng. Chim cu lưới trên đảo Mauritius được phát hiện năm 1658. Chỉ trong vòng 80 năm loài chim có thân hình béo tròn trọc đã lần lượt “hạ cánh” xuống bàn ăn của thủy thủ thương qua lại Ấn Độ Dương. Trong 500 năm qua, hơn 720 loài động vật đã tuyệt chủng do con người săn bắt lấy thịt, lấy lông hoặc phá rừng. Từ hơn một thế kỷ nay, không còn con ngựa vằn đầu nào sống sót trên trái đất. Một dự án khôi phục giống ngựa vằn đầu quý này sắp có kết quả. Cùng lúc đó dự án thành lập các khu bảo tồn Hòa Bình ở châu Phi cũng đang ráo riết được thực hiện để đón tiếp du khách.

Ngựa vằn đầu có thân hình màu hạt dẻ, không tạo vằn đen trắng toàn thân mà chỉ có chút ít vằn màu hơi trắng ở đầu và cổ. Chúng sống ở Karoo (Nam Phi). Do hiếm cỏ nhân dân bản địa ra sức tiêu diệt loại thú hoang dã này để bày gia súc của họ có cỏ để ăn. Chúng đã bị tuyệt chủng. Hiện nay chỉ còn 20 hiện vật ngựa đầu vằn nhồi rơm được bảo quản trong

một số bảo tàng trên thế giới. Reinhold Rau (chuyên gia nhồi da động vật ở bảo tàng Nam Phi) chợt nhớ ra trong sách của nhà động vật học người Đức Lutz Heck có viết: khi ngựa vằn đồng bằng có chọn lọc lai với nhau sẽ cho ra động vật giống như ngựa vằn đầu (NVĐ) đã tuyệt chủng. Reinhold Rau cho rằng NVĐ không phải một loài riêng biệt mà chỉ là phân loài của ngựa vằn đồng bằng. Khi 2 loài khác nhau lai với nhau thế hệ đời con sẽ vô sinh. Ngược lại hai phân loài khác nhau trong cùng một loài lai với nhau sẽ cho ra thế hệ lai mang gene của bố mẹ. Reinhold Rau suy luận: giống ngựa vằn đồng bằng đang sống ở Karoo sẽ mang ít nhiều gene gốc của NVĐ và chỉ cần cho lai chéo sẽ tập trung được đầy đủ bộ gene đặc trưng của NVĐ, từ đó việc khôi phục giống ngựa này chỉ là trong tầm tay. NVĐ và ngựa vằn tương cận với nhau có nhiều đặc tính trung gian trên bộ lông. Từ những suy đoán đó được nhiều người ủng hộ và dự án ngựa vằn đầu ra đời. Từ phân tích mẫu DNA của NVĐ, Ngựa không vằn, ngựa vằn núi, ngựa vằn đồng bằng thấy rằng NVĐ là phân loài của ngựa vằn đồng bằng như Reinhold Rau đã dự đoán. Các nhà khoa học đã tiến hành tuyển chọn và cho lai tạo từ năm 1987. Hiện bầy Ngựa thí nghiệm đang sống ở 7 nơi tại Nam Phi. Nhà sinh học Eric Harley thuộc Đại học Cap (Nam Phi) có tham gia dự án NVĐ nhận định: Kết quả sẽ đạt được khi thế hệ ngựa thứ tư ra đời vào năm 2003 và phải mất 30 năm nữa để chọn gene đặc trưng của ngựa vằn đầu.

Tháng 7 năm 2004, lần đầu tiên trên thế giới, ở Anh đã thành lập ngân hàng gene của những động vật hoang dã. Từ cơ sở này người ta không những có khả năng lưu giữ những động vật có nguy cơ tuyệt chủng hiện nay mà còn có thể nhân bản lại những động vật đã tuyệt chủng, kể cả những động vật đã mất đi từ thời xa xưa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Mộng Hùng. 2004. Công nghệ tế bào phôi động vật. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, Hà Nội.
2. Đặng Hữu Lanh. Trần Đình Miên. Trần Đình Trọng. 1999. Công nghệ sinh học với công tác giống vật nuôi, bò. Trong: “Cơ sở di truyền chọn giống động vật” (Đặng Hữu Lanh, chủ biên). Nxb Giáo dục Hà Nội, tr: 433-469
3. Lê Đình Lương, Quyền Đình Thi. 2003. Kỹ thuật di truyền và ứng dụng. Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội, Hà Nội.

4. Sasson Albert, 1988. Biotechnologies and development Công nghệ sinh học và phát triển. Người dịch: Nguyễn Hữu Thước, Nguyễn Lâm Dũng và một số dịch giả khác. Nxb Khoa học & Kỹ thuật Hà Nội.
5. Bernard R.Glick, Jackj Pasternak. 1994. Molecular Biotechnology- Principles and Application of Recombinant DNA. ASM Press. Washington D.C.
6. Chopra V.L, Anwan Nasin. 1990. Genetic Engineering and Biotechnology, Oxford and IBH Publishing CO.PVT, Ltd.
7. Dalton. D.C. 1982. An Introduction to Practical Animal Breeding. Granada Publishing Limited, Great Britain.
8. Peregrino G. Duran. 2002. Technical aspects of the recovery, handling and transfer of embryos. Copyright FFTC1970-2002. (<http://www.fftc.agnet.org/library/article/tb151a.html>).

CNSH VỚI SỰ PHÁT TRIỂN BỀN VỮNG

Chương XI

Công nghệ sinh học với việc hợp tác quốc tế và khu vực

1. Tác động của tiến bộ CNSH đối với các nước đang phát triển

Nhiều nước đang phát triển có cả một tài sản công nghệ và kinh nghiệm để phát triển công nghệ sinh học, song nhiều nước đã không tạo được thế mạnh của mình bởi sự lớn mạnh vượt bậc của các nước công nghiệp phát triển.

Có lẽ các ngành nông nghiệp và công nghiệp thực phẩm chịu ảnh hưởng nhiều nhất bởi việc thương mại hóa các sản phẩm công nghệ sinh học cạnh tranh với mặt hàng thực phẩm do các nước đang phát triển sản xuất. Xu hướng tập trung hóa trong sản xuất và thương mại hóa giống một số cây ngũ cốc được thể hiện khá rõ. Hiện đã có khoảng 20 công ti đa quốc gia (chủ yếu là công ti Hóa dầu và Dược phẩm) nắm gần hết cổ phần của các công ti sản xuất hạt giống, cung cấp phân bón, chế phẩm bảo vệ thực vật và thuốc thú y. Lợi nhuận của việc kinh doanh các sản phẩm này gia tăng nhanh và chính các công ti này là người hướng dẫn phần lớn. Ngoài việc kiểm soát các công ti sản xuất giống, các công ti đa quốc gia đầu tư rất mạnh vào việc nghiên cứu những vấn đề về CNSH mũi nhọn áp dụng cho cây trồng. Do vậy, cũng có thể nói các công ti đa quốc gia nói trên chính là những người tiên phong trong cuộc “cách mạng CNSH”.

Hiện ở các nước đang phát triển đang có xu thế sử dụng ồ ạt giống mới. Tuy nhiên, ngoài hiệu quả không thể chối cãi về kinh tế thì việc lạm dụng giống mới một cách thái quá và không có định hướng đúng đắn sẽ làm cho nguồn tài nguyên di truyền nói chung của các nước đang phát triển bị suy giảm.

Bên cạnh đó, tác động của việc sản xuất các chất tự nhiên hữu ích bằng sản phẩm CNSH cũng có ảnh hưởng rất lớn đối với các nước đang phát triển. Vì trước đây, các nước công nghiệp vẫn phải nhập nguyên liệu thực vật chứa chất thứ cấp từ các nước đang phát triển. Tuy nhiên, trong thời gian gần đây, các công ti Hóa chất và Dược phẩm ở các nước phát

triển (đặc biệt là Nhật Bản, Đức và Mỹ) đã bắt đầu sử dụng kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào thực vật để sản xuất ở qui mô lớn các chất trao đổi thứ cấp, ví dụ chất giảm đau codeine, thuốc trừ sâu pyrethrin, tinh dầu Hoa nhài, vinblastin và vincristin từ cây Dừa cạn *Catharauthus roseus* để chữa bệnh máu trắng, chất bổ ginsenoside trong rễ cây Nhân sâm,... Vấn đề này sẽ đe dọa nghiêm trọng các phương pháp trồng và thu hái các hợp chất ở các nước đang phát triển.

Cũng bằng các phương pháp CNSH sản xuất các chất ngọt không phải đường, và hiện trên thế giới đang thịnh hành xu hướng tiêu thụ các chất ngọt không phải đường chứa ít calo làm cho giá đường giảm liên tục từ năm 1985 đến nay. Ngoài ra, người ta còn biết khá nhiều chất ngọt ít calo khác đang hoàn thiện công nghệ sản xuất chúng, đặc biệt là công nghệ sản xuất sirofructose từ tinh bột. Trong tương lai gần, sirofructose sẽ thống trị thị trường chất ngọt thế giới và như vậy sẽ ảnh hưởng tiêu cực đối với các nước đang phát triển xuất khẩu đường truyền thống.

Hiện nay khá nhiều loại thực phẩm vẫn chủ yếu được sản xuất bằng công nghệ truyền thống, nhưng trong tương lai gần chúng được sản xuất bằng công nghệ mới. Ví dụ: hiện nay các chuyên gia CNSH của hãng Nestle (Thụy Sĩ) và CPC (Mỹ) đang nghiên cứu công nghệ sản xuất bơ ca cao từ dầu cọ, chất tạo vị xaffron, vị cay chilli, chất tạo mùi các loại,...

Mặc khác, CNSH cũng như khoa học hạt nhân, bên cạnh những ứng dụng cực kì to lớn cho lợi ích và phát triển của loài người, có thể mang lại nhiều hiểm họa không thể lường trước hậu quả như những lo lắng về sản phẩm công nghệ gene, vấn đề nhân bản, vũ khí sinh học, môi trường, đa dạng sinh học,...

Chính những điều đó, quan hệ quốc tế và khu vực không chỉ là sự chuyển giao công nghệ để phát triển khoa học và công nghệ của mỗi quốc gia mà còn tạo cho sự phát triển bền vững của thế giới.

2. Quan hệ quốc tế và khu vực trong công nghệ sinh học

2.1. Hướng tiếp cận hợp tác

Hợp tác quốc tế và khu vực là một trong những biện pháp thúc đẩy chuyển giao CNSH và biến những khả năng của nó thành hiện thực ở các nước đang phát triển. Sự hợp tác quốc tế và khu vực được thiết lập nhằm nghiên cứu những vấn đề chung, tiến hành những dự án liên doanh nghiên cứu và đem lại những kết quả có thể áp dụng được cho các nước trong khu vực hoặc tiểu khu vực.

Việc hợp tác cũng có thể lôi cuốn được cả các quốc gia công nghiệp phát triển trong khuôn khổ các thỏa thuận tay đôi, cũng như các tổ chức tư nhân, kể cả các công ti đa quốc gia. Các liên doanh và cung cấp kinh phí của các tổ chức tư nhân hay nhà nước và các tổ chức quốc tế cho

các dự án cũng sẽ góp phần chia sẻ công nghệ và gia tăng trao đổi kinh tế giữa các nước phát triển và đang phát triển.

Thời gian vừa qua, các nước ASEAN thành lập tiểu ban CNSH (SCB) thuộc Ủy ban Khoa học và Công nghệ (COST) của ASEAN. Trưởng tiểu ban SCB nhiệm kỳ của phiên họp lần thứ 20 là GS Abdul Latifibrahim, MOSTE Malaysia. Cho đến ngày 15/6/1999 do PGS.TS. Nguyễn Văn Uyển, viện Sinh học Nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh đảm nhận. Hiện nay được giao cho PGS. TS. Lê Trần Bình viện Công nghệ Sinh học Hà Nội đảm nhận.

SCB có 5 nội dung chính ưu tiên nghiên cứu:

- Phát triển thuốc chữa bệnh, kit chẩn đoán và vaccine
- Cải tiến và sản xuất vật liệu sinh học cho nông nghiệp và công nghiệp.
- Ứng dụng CNSH nhằm cải thiện chất lượng và sản lượng cây trồng vật nuôi và các sản phẩm của chúng.
- Thiết lập qui mô pilotte và điều khiển bằng vi tính các bình phản ứng sinh học.
- Bảo vệ đa dạng sinh học và môi trường.

Các dự án đã được triển khai giữa SCB với các nước trong khu vực.

Ví dụ:

- + SCB với Singapore: về sinh vật chuyển gene GMOs
- + SCB với Ấn Độ:
 - . Công nghệ sinh học thực vật, nuôi cấy mô nhằm cải biến giống cây trồng và sử dụng có hiệu quả tài nguyên sinh học.
 - . Cây chuyển phôi động vật tập trung trên đối tượng là giống bò thịt và bò sữa.
 - . Công nghệ thông tin sinh học.
- + SCB với Hàn Quốc:

Triển khai về bản đồ công nghệ sinh học của các nước ASEAN có sự tham gia hỗ trợ tài chính của ESCAP, nghiên cứu về đa dạng sinh học.

Ở Brazil công ti Vallec Nordeste SA (Montes Claris, Minas Gerais) kí hợp đồng với viện Merieux của Pháp và với São Paulo Based Instituto Veterinario Rhodia-Merieux (Paulina), nhằm sử dụng CNSH vào việc chế vaccine, thuốc thú y và huyết thanh người. Những sản phẩm này sẽ được bán trong nước. Tổng số vốn đầu tư trị giá 70 triệu USD. Vallec Nordeste SA đang sẵn sàng hoàn thành một dự định được SUDENE (Tổ chức Phát triển của Đông Nam Brazil) tán thành với mục đích tạo vaccine chống bệnh uốn ván, bạch cầu, ho gà và huyết thanh chống nọc độc rắn.

Đặc biệt sự hợp tác giữa Brazil và các nước đang phát triển về dự án sản xuất năng lượng kết hợp với thức ăn. Chẳng hạn:

Brazil với Senegal:

Sản xuất methan từ bã chuối, methan hóa và cải tiến việc sản xuất năng lượng và thực phẩm.

Brazil với châu Phi: hợp tác và mở rộng việc sản xuất và sử dụng củi, chế tạo than, làm khí đốt từ bã hoa màu, xây dựng nhà máy chưng cất nhỏ để sản xuất ethanol từ rỉ đường mía và cao lương ngọt hoặc từ dịch thủy phân của tinh bột Sắn, sản xuất methan từ bã hoa màu, phân gia súc và chất thải ở gia đình, phân giải bằng enzyme và chế tạo sinh khối (biomas) từ nguyên liệu ligno-cellulose.

Brazil với Ấn Độ:

Sản xuất và sử dụng năng lượng như sản xuất ethanol và biogas, sử dụng chất thải nông nghiệp, lâm nghiệp và bèo lục bình, tái tạo rừng với những cây chóng lớn và phát triển các hệ thống kết hợp nông nghiệp với năng lượng (La Rovere, 1985)

Công ti phát triển quốc tế Hoa Kỳ (USAID) và quỹ Rockefeller bảo lãnh cho Tổ chức Bất vụ lợi gọi là công ti Phát triển Tài nguyên (RDF) kể từ năm 1984, RDF tham dự vào một số công ti thuộc ngành CNSH trong nhóm CNSH quốc tế (IBG). Mục đích hợp tác giữa các công ti RDF và IBG là thu hút những hội viên địa phương thuộc các nước đang phát triển vào các dự án chuyển giao công nghệ. Những dự án này cũng có mục đích thương mại vì thị trường quốc gia đang phát triển rất quyền rũ đối với các công CNSH. Chẳng hạn, các chuyên gia khoa Thương mại Hoa Kỳ đã tuyên bố rằng: các nước Trung Đông và Bắc Phi là thị trường có lợi nhất cho các sản phẩm CNSH. Họ dự kiến rằng, các quốc gia xuất khẩu dầu trong những vùng này bỏ vốn khoảng 50 tỉ USD cho sự phát triển nông nghiệp của họ trong những năm sắp tới với sự tin cậy sau này của ngành CNSH (Zolty, 1987). Vì vậy người ta hi vọng rằng, mục tiêu tổng quát của sự đầu tư là việc chuyển giao kỹ thuật và kiến thức nhằm tạo điều kiện cho các nhà khoa học và kỹ thuật của các nước đang phát triển sáng tạo và cải thiện nền công nghiệp riêng của họ.

Việc chế tạo vaccine chống lở mồm long móng ở Boswana với sự cộng tác của viện Merieux Pháp, chương trình tiêm chủng chống viêm gan B (hepatit B) ở Senegal và Đài Loan, cũng còn mục đích ngăn cản bệnh ung thư gan sơ khởi, với sự giúp đỡ của các nước phát triển và các cơ quan có thẩm quyền của các nước này; việc tạo dòng cây cọ dừa và xây dựng các đồn điền mới cho loại cây này ở Côte d'Ivoire, Malaysia và Indonesia liên doanh với các tổ chức nghiên cứu và phát triển của Pháp (ORSTOM và IRNO) hoặc các công ti đa quốc gia.

Sự hợp tác nghiên cứu và phát triển giữa các nước công nghiệp hóa và các nước vùng Đông Nam Á hứa hẹn khả năng tiến đến những kỹ thuật tiên tiến nhất. Chẳng hạn, khi hiệp ước cứu trợ hai bên về nghiên cứu và phát triển trong ngành công nghệ cao cấp được kí giữa bộ Ngoại giao Hoa Kỳ và Thái Lan năm 1985, ngành CNSH được nêu lên như một lĩnh vực quan trọng nhất, với tiền đầu tư là 50 triệu USD (Yenchinski, 1987).

Ở Singapore ngành CNSH về chẩn đoán bệnh, liên doanh đầu tư giữa các phòng thí nghiệm nghiên cứu Biotech (Marylan, USA) và các nhà đầu tư ở địa phương để nhận thông tin từ các công ti mẹ về miễn dịch học, hóa miễn dịch Hybrodome và kỹ thuật di truyền. Nó sẽ sản xuất và bán những mẫu thử nghiệm chẩn đoán virus HTLV và HIV (AIDS). Biotech Pte Ltd. của Singapore đã mua bản quyền vaccine chống viêm gan B theo kỹ thuật di truyền của công ti Mĩ Morck Co. Inc và bán cho các quốc gia châu Á, Hồng Kông, Brunei, Myanmar, cũng có kế hoạch phát triển những kit chẩn đoán bệnh kể cả AIDS.

Đặc biệt dạng kết hợp của các tổ chức nghiên cứu và giáo dục đại học sẽ được khuyến khích, việc thành lập mạng lưới quốc tế CNSH theo sáng kiến của Pháp, việc hợp tác liên quan đến 3 lĩnh vực: sử dụng sinh khối thực vật, cố định N₂ sinh học và năng lượng sinh học.

Các nước đang phát triển ở châu Âu hợp tác về CNSH với tiêu đề “khoa học và công nghệ cho sự phát triển” chủ yếu trong lĩnh vực nông nghiệp nhiệt đới và y tế.

Ở châu Mĩ Latinh, phát triển liên hợp (UNDP) thành lập chương trình địa phương của ngành CNSH, hoạch định và bổ sung những kế hoạch nghiên cứu và phát triển ở địa phương, ở mức độ phòng thí nghiệm sản xuất thử và qui mô công nghiệp có liên quan đến những vấn đề đa quốc gia.

UNESCO và UNIDO (Tổ chức Phát triển Kỹ nghệ Liên hiệp quốc) gồm các quốc gia Argentina, Chilé, Colombia, Costa Rica. Cuba, Guatemala. Mexico, Péru, Uruguay và Venezuela đã có chương trình “Phát triển công nghệ và ứng dụng công nghiệp CNSH”. Những dự án đã được thực hiện như chẩn đoán bệnh trypanosoma và leishmania trong những địa phương có bệnh khác nhau của châu Mĩ Latinh. Sự phát triển của những thử nghiệm chẩn đoán với bệnh virus thực vật, phân giải bằng enzyme các chế phẩm công nghiệp thực phẩm, sản xuất công nghiệp penicilline-amidase và sử dụng chúng để tổng hợp 6-amino-penicillanic acid (6-APA), phát triển hệ thống chẩn đoán kiểm mới có đánh dấu với bệnh sốt rét... Mỗi dự án có Giám đốc điều hành và 3 đến 6 nước tham gia. Nhiều dự án có liên quan đến việc nhân giống trong ống nghiệm và kỹ thuật di truyền thực vật đã được chuẩn bị từ năm 1988.

Vào tháng 4 năm 1987, trung tâm CNSH Brazil-Argentina được thành lập. Lần đầu tiên ở châu Mỹ Latinh hai quốc gia cùng nhau thành lập trung tâm nhằm mục đích phát triển và cùng điều hành nghiên cứu khoa học và đầu tư vào lĩnh vực CNSH. Các nhà cầm quyền quốc gia cả hai nước nhấn mạnh rằng ngành CNSH không những được sự giúp đỡ của Brazil và Argentina mà còn có những quốc gia khác của lục địa cùng giải quyết những khó khăn do sự phụ thuộc vào các trung tâm lớn và đáp ứng với những thách thức gia tăng trong lĩnh vực cạnh tranh kinh tế quốc tế gay gắt này. Trung tâm hai quốc gia này tổ chức lại, có sự tham gia của tổ chức nhà nước, các trường đại học, các trung tâm nghiên cứu và các hội đồng của 2 nước tham gia vào việc tìm kiếm các giải pháp mới và phát triển những loại thuốc mới, thực phẩm và năng lượng. Hai bên thỏa thuận thành lập một trường CNSH nhằm đào tạo các chuyên gia trung và cao cấp.

Tháng 8 năm 1987, trung tâm Brazil-Argentina nghiên cứu và phát triển thuộc các lĩnh vực sau: cải thiện và đổi mới các vaccine chống uốn ván, bạch hầu, ho gà; chẩn đoán và sản xuất vaccine viêm gan B, sản xuất kháng sinh bằng enzyme; cải thiện cây lương thực qua đường CNSH.

Việc hợp tác giữa các quốc gia đang phát triển và các quốc gia phát triển hầu như đã được chứng minh. Cả hai nhóm quốc gia đều quan tâm đến hai sắc thái chủ yếu của CNSH về tác động xã hội và sự tồn tại tính đa dạng di truyền.

2.2. Vai trò của các tổ chức chính phủ quốc tế

Những thành công đã đạt được về thương mại và số vốn đầu tư khổng lồ trong các lĩnh vực khác nhau của công nghệ sinh học đã làm cho sức sống của cuộc “cách mạng CNSH” được tăng tiến và không thể đảo ngược. Chỉ riêng lĩnh vực nông nghiệp và công nghiệp thực phẩm doanh số các sản phẩm thu được do áp dụng CNSH mang lại có thể lên tới 50 đến 100 tỉ USD năm 2000.

Ưu thế và lợi ích của cuộc cách mạng CNSH đã kéo theo các hậu quả xã hội và có ảnh hưởng không thể giống nhau đối với từng nước và từng nhóm tổ chức xã hội trong cùng một nước. Vì vậy, phải tìm ra hướng khắc phục các hậu quả không có lợi cho áp dụng CNSH và thiết kế chiến lược thích hợp để phân tích một cách công bằng các nguồn lợi mang lại dưới sự giúp đỡ của các tổ chức chính phủ. Nhận thức về sự cần thiết bảo vệ các giống cây trồng đã dẫn đến việc kí hiệp ước của Liên đoàn quốc tế bảo vệ giống mới (hiệp ước UPOV – International Union for the Protection of New Varieties of Plants) của Bỉ, Pháp, Italia, Hà Lan, và Cộng hòa Liên bang Đức dưới sự bảo trợ của Tổ chức Sở hữu Trí thức thế giới WIPO (World Intellectual Property Organization), một cơ quan

chuyên trách của Liên hợp quốc về sáng chế. Đây là kết quả của một số hội nghị quốc tế từ năm 1957 đến năm 1961. Hiệp ước này đã được sửa lại từ năm 1978 và được coi là bộ khung luật thích hợp để bảo vệ giống cây mà các thành viên có thể củng cố thêm thông qua pháp chế. Từ năm 1978, quyền tham gia UPOV đã được mở rộng cho các nước không thuộc châu Âu. Đến năm 1987, đã có 17 nước thành viên là Bỉ, Đan Mạch, CHLB Đức, Pháp, Nam Phi, Tây Ban Nha, Thụy Điển, Thụy Sĩ, Hungarie, Ireland, Israel, Italia, Nhật Bản, Hà Lan, New Zealand, Mỹ và Anh.

Mặt khác, do sự phụ thuộc lẫn nhau về khoa học, công nghệ, kinh tế và tài chính đang ngày càng tăng lên trên thế giới, nên khó có nước nào tự cô lập mình. Mặt khác sự bất bình đẳng về sức mua giữa các nước giàu và nước nghèo, giữa các nước đang phát triển và phát triển làm cho ngày càng khó đạt được các thỏa thuận công bằng có lợi cho cả hai bên.

Chính vì vậy, vấn đề bảo vệ các sáng chế về CNSH là rất quan trọng và được tiếp cận bằng một phương pháp thực dụng. Hiện có hai hướng tiếp cận khác nhau về hệ thống quốc tế bảo vệ sáng chế công nghệ sinh học. Ngoài hiệp định của UPOV nói trên có ý kiến của tiểu ban chuyên gia về sáng chế CNSH và sở hữu công nghiệp của WIPO: bảo vệ các qui định hoặc sản phẩm bằng cách cấp bằng sáng chế. Các cây trồng, gia súc, vi sinh vật đã được biến nạp đều được bảo vệ thông qua bằng sáng chế.

Vấn đề bảo vệ tài nguyên di truyền thực vật và tiếp cận nó đã trở thành vấn đề chính trị toàn cầu. Khóa họp đầu tiên của Ủy ban liên chính phủ về tài nguyên di truyền thực vật đã họp vào tháng 3 năm 1985 tại trụ sở FAO ở Roma, việc tham gia khóa họp gồm 67 nước thành viên của FAO và 27 nước thành viên khác với tư cách quan sát viên (đa số trong đó là các nước công nghiệp) đã kéo theo 74 nước thành viên ủng hộ cam kết, trong đó 57 nước không bảo lưu và 17 nước có bảo lưu.

Tháng 3 năm 1985, mạng lưới công tác giống được thành lập. Liên minh quốc tế về sự phát triển (ICDA) chiến dịch hạt giống.

Ngoài ra, các tổ chức quốc tế đóng vai trò quan trọng trong dịch vụ tư vấn cho chính phủ nhằm hình thành các chính sách và các chương trình quốc gia trong ngành CNSH nhằm phát triển và sau đó, việc phối hợp các dự án nghiên cứu hoặc đầu tư giữa quốc gia đang phát triển và các quốc gia công nghiệp phát triển. Việc đẩy mạnh sự tham gia của các nhà nghiên cứu và các nhà kỹ thuật của các quốc gia trong việc đầu tư này đã củng cố năng lực của các quốc gia trong việc nghiên cứu, huấn luyện.

Vì vậy, từ nhiều năm qua, các chương trình UNESCO, FAO và WHO đã phát triển và mở rộng hợp tác quốc tế về vi sinh vật ứng dụng và CNSH trong lĩnh vực y tế nông nghiệp và chăn nuôi.

Chẳng hạn, năm 1962, UNESCO tài trợ cho sự thành lập tổ chức nghiên cứu tế bào quốc tế (ICRO). Năm 1972, tiếp theo hội nghị Liên hiệp quốc tế về con người, môi trường (Stockholm) tháng 6 năm 1972, UNESCO phối hợp với ICRO và UNEP, chương trình môi trường giữ gìn bảo vệ tài sản di truyền gồm các nguồn vi sinh vật và làm cho các nước đang phát triển có thể tiếp cận được những công việc đó.

Giai đoạn đầu tiên trong việc thành lập mạng lưới MIRCEN là sự thành lập trung tâm Tư liệu thế giới về các vi sinh vật ở Brisbane, Australia. Gần đây, trung tâm này đã chuyển sang Nhật Bản, cơ sở MIRCEN khác đặt tại Bangkok (viện Nghiên cứu Khoa học và Kỹ thuật Thái Lan) cho vùng Đông Nam Á, tại Osaka (viện CNSH và Đại học Osaka) và Saitama, Nhật Bản (Rikagaku phòng Sinh học), ban Thông tin, Bambey, Senegal (trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp quốc gia) và Nairobi, Kenya (bộ môn Thực vật Thỏ nhưỡng, Đại học Nairobi) cho châu Phi, Porto Alegre, Brazil (Instituto de Pesquisas Agronomicas) Tucuman, Argentina (Plata Piloto de Procesos Industriales Microbiologicos, PROIMI) cho Nam Mỹ, Cindad Guatemala cho Trung Mỹ và Cairo, Ai Cập (Đại học Ain Shams cho các nước A Rập). MIRCEN ở Hawaii (dự án NifTAL, khoa Nông nghiệp Nhiệt đới, Đại học Hawaii) dành hầu hết hoạt động của mình cho việc cố định N_2 của các loại rau nhiệt đới. Mạng lưới MIRCEN còn được các trung tâm ở Đại học Maryland, Mỹ (bộ môn Vi sinh), các Đại học Waterloo và Guelph, Ontario, Canada, các Đại học Kent và Centerbury, nước Anh, viện Karoliska (Stockholm, Sweden) hỗ trợ và nâng đỡ, kể cả MIRCEN Pháp (Centre de transfert en Microbiologie, Toulouse) nơi có nhiều viện và phòng thí nghiệm tham gia.

Năm 1981, cơ quan Phát triển Kỹ nghệ Liên hiệp quốc (UNION) thành lập trung tâm quốc tế Kỹ thuật di truyền và CNSH (ICGEB) ở Trieste và New Delhi với ngân sách 40,7 triệu USD. Nguồn quỹ quá hạn hẹp, song các tổ chức chính phủ quốc tế cũng đã đóng góp đáng kể để hỗ trợ cho các quốc gia đang phát triển trong lĩnh vực CNSH.

2.3. Việt Nam với hợp tác quốc tế và khu vực trong công nghệ sinh học

Việt Nam là một nước nông nghiệp đang trên bước đường công nghiệp hóa và hiện đại hóa, cùng nằm trong bối cảnh chung của toàn khu vực. Cuộc cách mạng công nghệ sinh học sẽ là động lực góp phần to lớn đối với sự phát triển kinh tế-xã hội. Thấy được tầm quan trọng đó, Chính phủ Việt Nam đã ra nghị quyết 18/CP ngày 11 tháng 3 năm 1994 về phương hướng phát triển khoa học và công nghệ nước ta. Trong đó, Nhà nước đã nhấn mạnh việc hợp tác quốc tế và khu vực trong khoa học và

công nghệ, đặc biệt là trong CNSH. Việt Nam là thành viên chính thức tham gia vào Hiệp hội các quốc gia Đông Nam Á về Khoa học và Công nghệ vào năm 1995.

Tuần lễ Khoa học và Công nghệ ASEAN lần thứ V được tổ chức tại thủ đô Hà Nội từ ngày 5 đến ngày 15 tháng 10 năm 1998 với chủ đề “Khoa học và Công nghệ - nguồn động lực hướng tới phát triển bền vững của ASEAN”. Với sự tham gia của hàng trăm đại biểu và trên 500 nhà khoa học Việt Nam, các nước thành viên ASEAN khác cũng như các nước đối thoại của ASEAN mang đậm dấu ấn Việt Nam với tinh thần xây dựng ASEAN thành cộng đồng các quốc gia phát triển bền vững, hợp tác và đồng đều, được cộng đồng các nhà khoa học trong nước và quốc tế đánh giá cao. Một sự kiện được coi là hoạt động về khoa học và công nghệ có nhiều ý nghĩa và lớn nhất về qui mô từ trước đến nay.

Việt Nam mở rộng hợp tác với Cuba trong lĩnh vực quản lý khoa học và công nghệ, môi trường, công nghệ thông tin, công nghệ sinh học và đào tạo cán bộ (tháng 9 năm 1998).

Chúng ta cũng đã hợp tác với Liên bang Nga trong việc nghiên cứu khoa học thử nghiệm nhiệt đới, nghiên cứu hậu quả về sinh thái và y sinh học của chiến tranh hóa học do Hoa Kỳ tiến hành ở Việt Nam.

Với Hàn Quốc, chúng ta hợp tác về kỹ thuật thành lập trung tâm hợp tác công nghệ Việt Nam-Hàn Quốc (ViKotech) với tổng số vốn là 2.880.000 USD, viện trợ không hoàn lại của Chính phủ Hàn Quốc, Việt Nam đóng 500.000 USD.

Hợp tác với Hoa Kỳ: trao đổi về kỹ thuật và hợp tác trong lĩnh vực khoa học vật liệu, công nghệ thông tin và công nghệ sinh học vào tháng 1 năm 1998.

Hợp tác với Thụy Điển: cử chuyên gia Thụy Điển vào Việt Nam để đào tạo cán bộ về công nghệ sinh học, cung cấp một số trang thiết bị cơ bản nhằm tăng cường cơ sở vật chất cho vệ sinh dịch tễ học Hà Nội, xây dựng phòng thí nghiệm chuẩn thức quốc gia về vi khuẩn đường ruột, vaccine lỵ Shigella, cơ chế giám định tình hình kháng thuốc ở Việt Nam, cải thiện cây trồng rừng, kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào, kỹ thuật chuẩn đoán nhanh kí sinh trùng sốt rét.

Việt Nam ngày càng chú trọng đến quan hệ hợp tác quốc tế và khu vực để chuyển giao công nghệ, đào tạo đội ngũ nghiên cứu khoa học trong lĩnh vực công nghệ sinh học, thu hút vốn đầu tư để phát triển khoa học và công nghệ góp phần vào việc phát triển kinh tế xã hội của đất nước.

Sự hợp tác công nghệ sinh học trong khu vực và quốc tế không những là biện pháp thúc đẩy chuyển giao công nghệ để phát triển khoa học và công nghệ trong mỗi quốc gia mà còn nhằm nghiên cứu những vấn đề

chung; tiến hành những dự án liên doanh nghiên cứu và đem lại hiệu quả có thể áp dụng chung cho các nước trong khu vực.

Ngoài ra, hợp tác quốc tế và khu vực không làm trầm trọng thêm sự chênh lệch giữa các nước trong lĩnh vực khoa học và công nghệ, ngăn ngừa và giải quyết những hậu quả nguy hại cho sự phát triển của công nghệ sinh học như: các sản phẩm từ việc chuyển gene, vấn đề nhân bản, môi trường, đa dạng sinh học, vũ khí sinh học,...

Văn kiện Hội nghị lần thứ 7 BCHTW Đảng khóa VII (tháng 7 năm 1994) của đảng ta cũng đã nhấn mạnh tầm quan trọng của CNSH trong việc phát triển nông, lâm, ngư nghiệp, công nghệ chế biến thực phẩm, dược phẩm và bảo vệ môi trường sinh thái. Các chủ trương cụ thể là:

“Thực hiện cơ cấu công nghệ kết hợp nhiều trình độ, các giải pháp về công nghệ phải lấy hiệu quả kinh tế-xã hội gắn với bảo vệ môi trường sinh thái làm tiêu chuẩn cao nhất. Hướng chính để đổi mới nhanh công nghệ và nhập công nghệ tiên tiến và hiện đại, đồng thời khuyến khích, cải tiến và sáng tạo công nghệ mới. Trong các dự án có vốn đầu tư nước ngoài, cần chú ý yếu tố chuyển giao công nghệ.

Chú trọng các công nghệ đòi hỏi suất đầu tư thấp, thu hồi vốn nhanh, có khả năng tạo thêm nhiều chỗ làm việc trực tiếp và gián tiếp, tranh thủ đổi mới các thiết bị, hiện đại hóa công nghệ trước hết ở một số khâu có ý nghĩa quyết định đối với việc nâng cao chất lượng sản phẩm, nhất là hàng xuất khẩu ở một số ngành có tác dụng trực tiếp với việc nâng cao trình độ công nghệ của nhiều ngành khác và ở một số lĩnh vực và địa bàn đòi hỏi sớm vươn lên ngang trình độ với khu vực và quốc tế, ...”

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trần Bình, 1999. Hợp tác về công nghệ sinh học của các nước ASEAN. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc ngày 9-10 tháng 12 năm 1999. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr: 52-56.
2. Trương Văn Lung, 1995. Chuyên đề công nghệ sinh học. Tủ sách Đại học Khoa học Huế
3. Nguyễn Văn Uyên, Nguyễn Tiến Thắng, 1996. Những kiến thức cơ bản về công nghệ sinh học, Nxb Giáo dục Hà Nội.
4. Tạp chí Hoạt động khoa học, Số 2, Số 21/1999.
5. Văn kiện Hội nghị lần thứ 7 BCHTW Đảng, khóa VII, trang 53-64.
6. Albert Sasson, 1988. Biotechnologies and development Công nghệ sinh học và phát triển. Người dịch: Nguyễn Hữu Thước, Nguyễn Lâm Dũng và một số dịch giả khác. Nxb Khoa học & Kỹ thuật Hà Nội.

Chương XII:

Những định hướng chính về sự phát triển CNSH hiện nay ở thế giới cũng như ở Việt Nam.

Trong lĩnh vực công nghệ sinh học, việc nghiên cứu khoa học cần có những định hướng để không ngừng khám phá những điều mới lạ xảy ra trong cơ thể sinh vật mà con người chúng ta cần biết nhằm không ngừng phục vụ cho đời sống kinh tế xã hội của con người hiện nay. Sau đây là một số định hướng chính về sự phát triển công nghệ sinh học hiện nay ở trên thế giới cũng như ở Việt Nam.

1. Giải mã bộ gene của các sinh vật khác nhau và ngành genome học

Với sự tiến bộ của máy móc và thiết bị kỹ thuật, từ chỗ đọc trình tự nucleotide của một đoạn DNA được tiến hành theo phương pháp thủ công mỗi tuần mỗi người chỉ thực hiện được một vài phản ứng với năng suất 300 bp/phản ứng, đến nay với hệ thống máy mao mạch có thể xác định tự động đồng thời 96 phản ứng với độ dài trên 1000 bp/phản ứng thì các đề án xác định toàn bộ trình tự nucleotide của bộ gene nhiều sinh vật được thực hiện, trong đó có đề án xác định trình tự genome người dài 3,3 tỷ nucleotide đã hoàn thành vào tháng 2 năm 2002, đúng 50 năm sau khi Watson và Crick phát minh ra mô hình cấu trúc xoắn kép của phân tử DNA tạo ra bước thay đổi cách mạng trong nghiên cứu sinh học phân tử. Đến nay đã có tới hàng chục đề án xác định trình tự nucleotide bộ gene của nhiều sinh vật đã được hoàn thành. Thành tựu về giải mã bộ gene người (99% genome người đã được đọc với độ chính xác 99,99% với 30.000 gene) và nhiều sinh vật khác như cây lúa nước (*Oryza sativa* L. là 50.000 gene), *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *C. elegans*, *Drosophila melanogaster* và bản nháp toàn bộ hệ gene của vài loài khác như *C. briggsae*, *D. pseudoobscura*, chuột. Ở Việt Nam cũng đã giải mã thành công virus gây dịch cúm gia cầm H₁N₅

Genome học đối với các nước đang phát triển như các nước trong khu vực ASEAN trong đó có Việt Nam định hướng vào việc xác định các đặc điểm của hệ gene các nhóm dân tộc đang sinh sống trên cùng lãnh thổ và cùng khu vực, phục vụ cho việc khám chữa bệnh và ứng dụng vào lĩnh vực xã hội học.

2. Phân tích tổng thể các biến động của hệ protein tế bào và ngành protein học

Một người trong cuộc đời phải trải qua một quá trình phát triển từ khi còn trẻ đến lúc về già, lúc ốm đau, khi khỏe mạnh. Trong quá trình đó bộ gene luôn luôn cố định, còn protein thì lại thay đổi tùy theo từng trạng thái, giai đoạn phát triển của con người. Hiểu được protein có nghĩa là nắm được cơ chế điều khiển của một chu trình sống trong con người chúng ta. Bản đồ gene người mới chỉ là bước đi đầu tiên trong quá trình nghiên cứu. Bước tiếp theo, các nhà khoa học theo đuổi một công trình có thể kéo dài trong nhiều thập niên mang một cái tên còn rất lạ lẫm ngay trong giới khoa học: *Proteomics*- nghiên cứu bộ gene của con người.

Khó khăn nhất của các khoa học gặp phải trong khi nghiên cứu protein là quá trình biến đổi phức tạp trong tế bào, chỉ một gene thôi có thể tương ứng với 20 protein khác nhau. GS. Angelika Goerg (trường Đại học Tổng hợp Munich-Đức), một trong những nhà khoa học đi tiên phong trong công cuộc nghiên cứu protein cho biết, trong khi bộ gene không thay đổi thì thành phần của các protein lại biến đổi theo tuổi tác, tác động của môi trường ngoại cảnh, thuốc men và bệnh tật. Mỗi loại tế bào trong tổng số 270 loại tế bào khác nhau của con người khi “dịch” bộ gene (gồm từ 30.000 đến 35.000 gene) luôn luôn giống nhau đều tạo nên những protein hoàn toàn khác nhau. Chúng ta có thể lấy những thực tế sau đây làm ví dụ cho tính biến đổi này: một con nhộng và một con bướm; một bàn tay con trẻ và một bàn tay người già hoặc một hạt giống và một bông hoa. Tất cả những cặp đó đều có cùng một bộ gene, nhưng lại mang những protein, hoặc nói chính xác hơn: những nhóm protein khác nhau. Cho đến nay, con người còn biết quá ít về hơn 400.000 protein của chúng ta. Số lượng protein nhiều như vậy được hình thành khi mã di truyền được dịch ra theo những trật tự sắp xếp của các acid amin trong protein. Tuy nhiên, trật tự sắp xếp các acid amin được mô tả trong không gian một chiều hoàn toàn không nói lên điều gì về chức năng của protein cả. Yếu tố quyết định là sự sắp xếp của chúng trong không gian ba chiều. Các hình thức sắp xếp khác nhau của protein, hình xoắn, hình cuộn lại thành bó hoặc hình gấp nếp (cấu trúc bậc I, bậc II, bậc III, bậc IV) quyết định chức năng của nó. Một cấu tạo theo hình gấp nhưng bị sai lệch đi của protein có thể gây ra những hậu quả ghê gớm, ví dụ như bệnh bò điên. Mãi đến năm 1995, nhà khoa học người Anh Frederick Sanger lần đầu tiên mới tìm ra cấu tạo của protein trong insulin.

GS. Sam Hanasch, một chuyên gia về ung thư của trường Đại học Tổng hợp Michigan (Mỹ) và đồng thời là chủ tịch Tổ chức Quốc tế Nghiên cứu protein của người (HUPO) được thành lập năm 2001 cho rằng, có lẽ

trong suốt cuộc đời mình, con người phải có đến hàng triệu protein khác nhau. Ông nhận xét: “Nhiều phòng thí nghiệm đã nghiên cứu protein từ nhiều năm nay, nhưng mãi gần đây mới nhận thấy rằng, giờ đây với sự phát triển của công nghệ thì thời đại của protein mới bắt đầu”.

Hiện nay, các trung tâm nghiên cứu của các trường đại học và các tập đoàn kinh tế lớn, mỗi ngày, hàng ngàn protein được đem ra mổ xẻ để phân tích. Những thông số của chúng được so sánh với thông số của ngân hàng gene.

Chúng ta cũng đã biết, trình tự nucleotide của bộ gene mới là sự khởi đầu trong quá trình nghiên cứu về bộ gene. Việc nghiên cứu toàn bộ hệ protein do các gene mã hóa và điều khiển sinh tổng hợp trong từng giai đoạn phát triển và trong từng trạng thái sinh lí, bệnh lí của sinh vật và đặc biệt là của con người đang là lĩnh vực thu hút sự đầu tư ở qui mô tới hàng trăm tỉ USD, nhất là trong nghiên cứu hệ protein của người. Với các kĩ thuật sắc kí, điện di trước đây, người ta chỉ nghiên cứu được từng loại protein riêng rẽ. Hiện nay, khi phối hợp sắc kí đa chiều và khối phổ, người ta có thể phân tích được 5.000 loại protein cùng một lần và kết quả cho phép chẩn đoán sớm những bệnh hiểm nghèo như ung thư máu,... Mục tiêu lâu dài của những nghiên cứu proteomics là giải mã được chức năng sinh học của hệ gene. Song, trước mắt những biến đổi hoạt động của các nhóm gene trong điều kiện bệnh lí sẽ cung cấp thông tin cho việc chẩn đoán sớm, phòng trừ và điều trị nhiều loại bệnh. Bởi vì, 98% các loại bệnh tật là do protein điều khiển. Gene và sự sai lệch về gene chỉ gây ra khoảng 2% tổng số các loại bệnh tật mà thôi. Cho dù là viagra hay aspirine hiện có đến hơn 90% các loại thuốc tác dụng đến protein. Hiện nay, một trong mục tiêu ứng dụng hàng đầu được đặt ra là dựa trên những hiểu biết mới nhất về protein tìm kiếm những loại biệt dược mới và được các công ty Dược chất chú trọng bảo vệ bí mật thông qua đăng kí phát minh sáng chế.

GS. Patterson – Giám đốc công ty Celera nổi tiếng trong lĩnh vực gene cho biết, các nhà khoa học của ông đang một mặt muốn chẩn đoán được rất sớm bệnh ung thư hoặc co thắt cơ tim dựa trên việc phân tích protein trong nhóm máu, tìm kiếm những biệt dược hữu hiệu có khả năng đón bắt các protein gây bệnh, một mặt hợp tác với các chuyên gia máy tính của tập đoàn Compaq và chiếc máy tính Red Storm khổng lồ của họ đang ngày đêm tính toán để tìm hiểu những bí mật trong thế giới protein.

3. Cây trồng chuyển gene

Như trên ở phần ba, chương VIII, mục 2.4. “Chế biến thực phẩm chuyển gene” chúng tôi đã có dịp đề cập đến vấn đề này. Ở đây, vì là sự định hướng chung của thế giới nên chúng tôi lại nhắc đến lần nữa.

Giữa những năm 1990, công nghệ gene bắt đầu đưa vào hơn 50 sản phẩm mới được ứng dụng ở 13 nước với diện tích 52,6 triệu ha năm 2001, tăng 50 lần so với năm 1996. Trong đó nhiều nhất là đậu tương 34,9 triệu ha, bằng 64% diện tích đậu tương thế giới, ngô 6,1 triệu ha và 3,3 triệu ha cây cải dầu. Người ta đã ra được hơn 10 giống cây trồng mang gene mới. Đến năm 2003, sau chưa đầy 15 năm, số diện tích trồng cây chuyển gene đã lên đến 67,7 triệu ha. Trong năm 2004, diện tích cây trồng chuyển gene đã tăng 20% so với 15% năm 2003 và đạt 81 triệu ha. Dự tính vào năm 2010, diện tích cây trồng công nghệ sinh học trên thế giới sẽ tăng lên đến 150 triệu ha với khoảng 15 triệu người trồng tại 30 nước trên thế giới (năm 2004 có 8,25 triệu nông dân tại 17 nước trồng cây chuyển gene). Những gene gì được đưa vào cây trồng? Đó là những loại gene tăng cường khả năng kháng sâu bệnh như gene kháng sâu nhóm cry/VIP, gene kháng virus nhóm CP/Nb, gene kháng thuốc diệt cỏ nhóm bar. Đến nay người ta đang tìm cách đưa gene sản xuất vaccine, gene sản xuất dược chất vào cây trồng để từ cây lương thực thực phẩm thành cây sản xuất dược liệu có giá trị kinh tế cao hơn. Trong số hơn 50 loài cây trồng mang gene chuyển đang được thử nghiệm thì cây bông vải kháng sâu, cây đậu tương, cây ngô kháng sâu, kháng chất diệt cỏ chiếm tổng số trên 90% diện tích gieo trồng nói trên. Ở nước ta, những nghiên cứu tạo bông kháng sâu, chịu hạn, tạo lúa gạo giàu β -caroten ... đang được tập trung giải quyết. Cùng với tiến bộ trong nghiên cứu, công tác chuẩn bị văn bản pháp lý cho việc nghiên cứu và sử dụng các sinh vật chuyển gene cũng đang được chuẩn bị rất thận trọng, phù hợp với tình hình trong và ngoài nước.

4. Sản xuất và ứng dụng chip DNA

Affymetrix là công ty hàng đầu thế giới trong việc sản xuất các loại chip DNA là một mảnh màng liên kết có kích thước 20×40 mm được in trên đó bằng các đoạn DNA ở dạng những điểm chấm vuông cực nhỏ, ví dụ chip genome người được in 20.000-25.000 gene. Vì có hình dáng giống như một con chip với những chấm DNA thay cho chấm điện tử gắn trên một lát thủy tinh cực nhỏ nên được gọi là chip DNA.

Ta biết rằng, trật tự sắp xếp base của một sợi DNA sẽ tiết lộ cấu trúc sợi DNA kết hợp với nó. Nhà khoa học trẻ Stephen Fodor tin rằng có thể giải mã DNA bằng cách cho nó liên kết với DNA biết trước cấu trúc gắn trên chip, nhờ đó đột biến về trình tự sắp xếp các base sẽ được phát hiện và biết bệnh gì hay cách điều trị. Một con chip có thể đọc hàng ngàn gene cùng lúc. Năm 1993, Fodor và 9 người khác của Affymax thành lập công ty Affymetrix (California, Mỹ) để thực hiện ý tưởng này.

Không chỉ ở Affymetrix các con chip mới ra đời mà ở Đại học Stanford, phòng thí nghiệm Palo Alto và Sunnyvale (bang California)

cũng nghiên cứu chế tạo loại chip này. Một robot đen sọc vàng đang chấm hàng ngàn chấm DNA lên một lát cắt thủy tinh cực nhỏ, các nhà nghiên cứu đánh màu xanh dạ quang cho phân tử RNA (RNA giữ nhiệm vụ truyền thông tin di truyền của DNA đến nơi sản xuất protein) của tế bào ung thư, còn RNA của tế bào thường được đánh màu đỏ dạ quang. Khi được trải lên con chip, các phân tử RNA này bám vào các đoạn gene tương thích với chúng; gene hoạt động mạnh hơn trong tế bào ung thư sẽ chớp xanh, gene hoạt động trong tế bào lành lặn chớp đỏ. Chính những biến đổi hoạt động của gene trong tế bào ung thư sẽ là mục tiêu cho những loại dược phẩm mới trị ung thư. Hoạt động của gene cũng cung cấp về trạng thái của bệnh ung thư đang di căn nhanh, cần điều trị ngay hay bệnh đang thoái triển chỉ cần theo dõi kỹ.

Như vậy, khi lai mảnh màng chip này với sản phẩm phiên mã của genome cơ thể cần nghiên cứu các chấm DNA sẽ đổi màu tương ứng với mức độ hoạt động của những gene trong cơ thể. Ở trạng thái và thời điểm nghiên cứu cho phép kết luận về tình trạng bệnh lý của đối tượng nghiên cứu. Bác sĩ có thể dùng một con chip DNA để chẩn đoán xem gene của bệnh nhân có mang “mầm mống” của bệnh tim hay bệnh alzheimer không. Hoặc giả bệnh nhân đã mắc bệnh ung thư thì con chip sẽ cho biết mức độ nghiêm trọng của bệnh và đề xuất loại thuốc hiệu quả nhất. Bệnh nhân có thể rời phòng mạch bác sĩ với danh sách bệnh có thể xảy đến cho mình trong vài năm tới, kèm theo là các thay đổi về lối sống, chế độ ăn uống và một số toa thuốc ngừa bệnh. Lúc đó con người có thể kiểm soát phần nào “định mệnh” của mình đã hằn sẵn trong gene. Kinh ngạc hơn nữa là con chip có thể dự đoán về sự khéo léo hay trí thông minh của một hài nhi mới chào đời. Ngày nay sự nghiên cứu các con chip sinh học đang được tiến hành ráo riết để biến những ứng dụng trên thành sự thật. Các kỹ sư chip sinh học tại Affymetrix đang “thi đua” với các đồng nghiệp bên ngành bán dẫn “nhồi nhét” đến 400.000 chuỗi DNA khác nhau lên một con chip để có thể giải mã cho đoạn DNA dài 100.000 đơn vị. Với đà tiến bộ đó, người ta hi vọng một thế hệ chip mới sẽ giải mã di truyền của một người chỉ sau một đêm.

Ngoài việc đọc gene người, con chip của công ty Nanogene ở San Diego (Mi) còn tìm kiếm dấu hiệu nhiễm khuẩn trong máu trong vòng 15 phút. Kỹ thuật này cũng dùng phát hiện mọi loại vi khuẩn đã được y học biết đến và có thể ứng dụng rộng rãi cho mô, dịch nhầy cũng như trong ngành tìm chất nhiễm bẩn ở nước và thực phẩm.

Chip DNA cũng đang dần dần trở thành công cụ chẩn đoán trong công nghiệp lên men vi sinh vật, trong y học dự phòng, trong kiểm dịch động thực vật và vệ sinh an toàn thực phẩm, trong theo dõi mức độ ô

niêm môi trường,... với tính năng nhanh nhạy và tự động hóa cao. Hiện tại thì giá thành của một con chip còn cao, nhưng khi nhu cầu sử dụng càng phát triển thì giá cả sẽ giảm dần.

5. Sinh tin học (bioinformatics)

Công nghệ thông tin là ngành khoa học nghiên cứu việc ứng dụng máy tính điện tử và kỹ thuật thống kê vào việc quản lý và xử lý các thông tin sinh học. Trong đề án genome công nghệ sinh tin học (CNSTH) bao gồm cả việc xây dựng phát triển các phương pháp tìm kiếm khai thác nhanh ngân hàng dữ liệu, phân tích trình tự và cấu trúc của DNA và protein. STH cũng bao gồm việc thu thập số liệu, phân tích, quản lý tệp số liệu và tìm kiếm khi cần. STH đang cải tiến phương pháp xử lý phân tích số liệu, cải thiện khả năng dự đoán vùng hoạt động, vùng ngưng nghỉ của bộ gene, cải tiến khả năng phỏng đoán phản ứng tế bào đối với tác nhân ngoại sinh, thiết lập nên các cấu trúc phân tử protein có hoạt lực cao và định hướng phân hóa tế bào một cách hiệu quả... Hiện tại ba ngân hàng dữ liệu gene lớn nhất thế giới là World Gene Bank (Mỹ), EMBL (Châu Âu) và JDDDB (Nhật Bản) lưu trữ trên 9 tỉ dữ liệu về gene. Ngoài ra còn có ngân hàng dữ liệu về protein của Thụy Sĩ (Swiss Protein Database) còn lưu giữ ngoài thông tin về trình tự acid amin, các tính chất và chức năng sinh học còn có cả phần mô hình cấu trúc phân tử của các loại protein nữa. Các ngân hàng trên đều thuộc loại công cộng, mọi người đều có thể sử dụng miễn phí. Ngành nghề trong STH bao gồm chuyên gia sinh tin học, chuyên gia lập trình STH và khai thác ngân hàng dữ liệu, cuối cùng là chuyên gia quản lý CNTTSTH. Một số thành tựu nổi bật của STH có thể là: chương trình NMR đa chiều để thiết lập cấu trúc không gian protein; chương trình FASTA so sánh trình tự gene và protein ra đời trước năm 1990 cho phép so sánh tự động, miễn phí trình tự một đoạn gene dài khoảng 1.000 bp với 9 tỉ trình tự đã công bố trong vòng vài chục phút; chương trình BLAST, trung tâm NCGR, chip DNA thiết lập trước năm 2000 và gần đây là đề án IBM Blue Gene được bắt đầu, hệ thống chương trình trọn gói EMBOSS được bán, chip DNA bộ gene người được đưa ra thị trường. Đến thời điểm này có trên 60 công ty lớn chuyên dịch vụ và kinh doanh trên lĩnh vực STH đang hoạt động, trong đó phải kể đến Celera Discovery System tham gia vào đề án xác định trình tự genome người. DNASTar hoặc GCG là hai trong những công ty thành công nhất trong lĩnh vực cung ứng phần mềm phân tích gene; InforMax hoạt động trong tập đoàn Invitrogene.

6. Nhân bản động vật

Nhân bản vô tính là kỹ thuật nhân sử dụng một cá thể, một mảnh mô hay một tế bào duy nhất để tạo ra hàng loạt cá thể hoàn toàn đồng nhất

về di truyền mà không thông qua quá trình thụ tinh hữu tính. Cơ sở khoa học của việc nhân dòng là *tính toàn năng* của tế bào (totipotency). Khái niệm *nhân dòng ở thực vật* đã trở thành thông dụng trong nghề trồng trọt các loại cây ăn quả, các loài hoa, cây cảnh, các loại cây công nghiệp bằng con đường nhân dòng vi phẩu (micropropagation). *Nhân dòng động vật* mặc dù kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào động vật ra đời trước cả nuôi cấy mô thực vật, nhưng kết quả lại chỉ mới hạn chế ở việc duy trì các dòng tế bào có khả năng phân chia liên tục và sản xuất ra những loại thuốc chữa bệnh quý hiếm. Mãi đến năm 1997, Jan Winmut bằng cách cấy nhân tế bào tuyến vú vào trứng cừu thụ tinh bị loại bỏ nhân đã thu được phôi và cấy phôi để được con cừu Dolly. Việc đổi nhân của tế bào trứng cừu bằng nhân của tế bào tuyến vú và việc nuôi cho tế bào thay nhân đó thành một cụm tế bào phôi bình thường là một bước tiến rất xa của khoa học. Thành tựu này một lần nữa minh chứng cho sự đúng đắn của học thuyết về tính toàn năng của tế bào. Bộ máy di truyền của mọi tế bào của cơ thể đều giống nhau. Bí quyết của sự thành công ở đây là người ta đã chọn ra điều kiện thích hợp cho các nhân tế bào bình thường phân chia và làm nhiệm vụ của nhân tế bào trứng, tức là tạo ra một khối tế bào phôi. Điều kiện đó chính là phần chất nguyên sinh còn lại của tế bào trứng khi bỏ mất nhân. Thực ra, PGS.TS. Nguyễn Mộng Hùng (cán bộ giảng dạy trường Đại học Khoa học Tự nhiên thuộc Đại học Quốc gia Hà Nội) từ phòng thí nghiệm của trường Đại học Tổng hợp Lomonosov ở Moskva cũng đã tạo dòng vô tính thành công trên đối tượng con cá chạch, cách 20 năm trước khi con cừu Dolly ra đời..

Thành công trong việc nhân dòng một loài động vật là sự kết hợp tài tình của 4 kỹ thuật: (1) nuôi cấy tế bào riêng rẽ tách từ các bộ phận khác nhau ví dụ tuyến vú, tủy xương, biểu bì, ... (2) vi phẩu tế bào loại bỏ nhân của tế bào trứng, thay vào đó là nhân của tế bào nuôi cấy. (3) nuôi cấy phôi bắt đầu từ trạng thái tế bào trứng tới phôi đa bào (4) cấy chuyển phôi vào dạ con của động vật mang, phôi phát triển thành thai và đẻ ra con vật non. Kết quả nhân dòng này thu được một con vật giống mẹ, nhưng không phải giống hoàn toàn vì DNA của tế bào cũng có trong ti thể còn lại trong phần tế bào chất của trứng sau khi loại bỏ nhân. Đến nay tuy rằng con cừu Dolly đã qua đời nhưng đã có hàng chục loài động vật đã nhân bản vô tính như bò, lợn, chó, mèo, thỏ, ngựa và đặc biệt là chuột chuyển gene,... chủ yếu định hướng phục vụ y học và các nghiên cứu vai trò của gene. Trên quan điểm kinh tế thì kỹ thuật nhân dòng hàng loạt một số giống cây trồng hay vật nuôi siêu sản đều mang lại hiệu quả rất lớn, nhưng xét theo khía cạnh an toàn sinh học thì tiềm ẩn mỗi hiểm họa làm giảm sự đa dạng kiểu gene sẽ bị đơn điệu hóa và thiếu mất sự phong phú đa dạng về tính chống

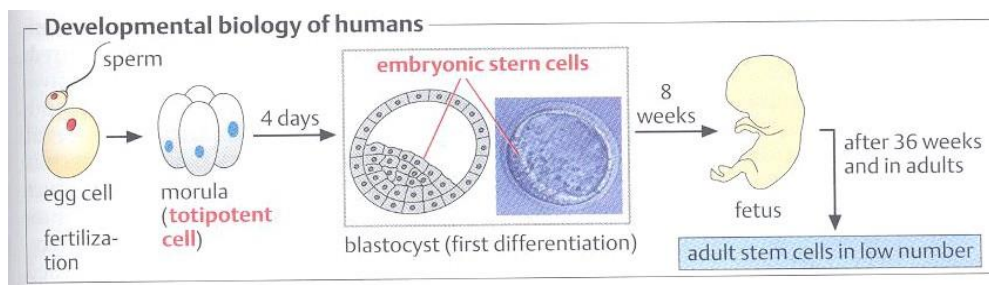
chịu. Nhưng cái lợi vẫn đang thắng thế. Bởi lẽ, nhiều động vật hoang dã đang có nguy cơ diệt chủng và những động vật đã diệt chủng cần có cách để phục hồi lại như ý tưởng của các nhà khoa học Trung Quốc cất lấy một mẫu da và ngâm vào azote lỏng ở nhiệt độ -196°C , mẫu vật lưu giữ được toàn bộ hệ di truyền. Người ta cho rằng, cách tốt nhất là đông lạnh tinh dịch con đực và trứng con cái để tiến hành việc tạo thành phôi thai. Phôi được ngâm trong azote lỏng chờ “bà mẹ” mang thai hộ (“bà mẹ” phải thuộc loài tương cận). (xem thêm trong chương XI: Bảo tồn và phát triển nguồn gene quý hiếm, mục 2, đoạn: về động vật trang 205).

7. Nuôi cấy tế bào gốc (stem cells)

Những năm gần đây, các nhà khoa học đã bắt đầu khám phá những gene, protein và cách thức dẫn đến khả năng tái sinh tự nhiên các bộ phận của động vật. Alejandro Sanchez Alvarado ở Đại học Salt Lake City (bang Utah-Mĩ) nhận xét: “Con người có đủ những gene mà loài giun dẹp sử dụng để tái tạo não, cơ bắp, đầu bị hủy hoại”. David Stoum ở ĐH Purdue (bang Indiana-Mĩ) nghiên cứu Nòng nọc loài cóc *Xenopus laevis* và cũng nhận xét giống như Sanchez Alvarado. Các loài động vật có khả năng có thể dự trữ suốt đời một ít tế bào gốc để mang ra sử dụng khi cần (giun dẹp, thủy tức, cua,...). Trong cơ thể, tế bào đã trưởng thành có trong mô ít có khả năng biến hóa thành nhiều loại tế bào khác nhau tạo nên hình dạng các cơ quan mà chỉ có tế bào gốc mới làm được việc này. Năm 2000, Thomas Holstein (Đại học Công nghệ Darmstadt, Đức) đã nhận dạng một loài thủy tức tiết ra protein Wnt vốn là các phân tử của động vật có xương sống và nhận thấy chỉ cần khoảng 10 tế bào cũng đủ tạo thành một các đầu mới.

Peter Schultz (viện Nghiên cứu Scripps ở San Diego – bang California, Mỹ) đã tìm cách tổng hợp được một số lượng lớn chất purine (gồm nhiều loại phân tử nhỏ thường liên kết với các protein để tác động vào quá trình phát triển của tế bào). Họ tìm những purine nào đã làm đảo lộn quá trình phân chia ống cơ của chuột và chọn lọc ra một loại purine gọi là hợp chất myoseuerine có chức năng chia tách tế bào để tế bào bắt đầu phân chia. Trong khi đó, Mark Keating (Đại học Y khoa Harvard bang Massachusetts, Mỹ) lại quan tâm đến một gene gọi tên là *msx1* vốn có chức năng sản xuất một protein kiểm soát hoạt động của các gene khác trong cơ bắp. Khi sa giông bị cắt một đầu chân, chính gene này đã kích thích cho đầu chân mọc lại như cũ. Gene *msx1* cũng giữ vai trò tạo thành các chi của phôi thai chuột. Có lẽ một protein nào đó nơi bộ phận bị cắt của sa giông đã có chức năng gọi lại các mạch tín hiệu đã ngủ yên. Nếu nhận dạng được protein này, chắc chắn các nhà khoa học có thể tạo ra tế bào gốc bất kì lúc nào và bất kì ở nơi nào trong cơ thể khi cần thiết.

TẾ BÀO GỐC- STEM CELLS



Hình XII. Tế bào gốc

Như vậy là, trong thế kỉ XXI, y học sẽ có được một công cụ chữa bệnh mới, hữu hiệu cho nhân loại, đó là *liệu pháp tế bào*. Khi phôi còn ở giai đoạn rất sớm mới có 8 tế bào thì một tế bào đều có khả năng phát triển thành một phôi hoàn chỉnh hoặc phân hóa thành bất kì loại tế bào nào của cơ thể sau này. Những tế bào này, như ta đã biết được gọi là tế bào gốc nguyên phát. Ở nhau thai một số tế bào cũng còn duy trì được khả năng phân hóa toàn năng và có thể nuôi cấy thành dòng tế bào gốc thứ phát. Tế bào gốc được dùng thành công trong việc tạo ra giác mạc mắt đang dùng trong việc điều trị ghép giác mạc, có thể nuôi thành tế bào cơ tim dùng trong điều trị vết thương tim sau tai biến, có thể thay tế bào tủy xương trong điều trị ung thư máu...và hi vọng trong tương lai không xa có thể giúp phục hồi được các mạch máu thần kinh bị hư hại trong điều trị bại liệt hoặc bệnh alzheimer. Người ta hi vọng có thể nuôi tế bào gốc thành các loại cơ quan như gan thận...phục vụ việc cấy ghép thay thế cơ quan. Ngân hàng tế bào gốc đầu tiên của nhân loại đã ra đời ở Anh với mục đích là thúc đẩy thật nhanh quá trình nghiên cứu loại tế bào thần kì này. Ngân hàng này đang là niềm hi vọng cho rất nhiều nhà nghiên cứu và người bệnh. Tế bào gốc có khả năng cho phép tạo ra một cơ quan hoàn chỉnh. Đó là tế bào ES mà ngân hàng ở Anh đang có từ những bào thai 6 ngày tuổi. Bằng những kĩ thuật tiên tiến nhất, ngân hàng này sẽ trích được ES, sau đó nhân chúng lên nhờ kĩ thuật ghép hay sinh sản vô tính.(Theo Lê Văn: “Ngân hàng tế bào gốc đầu tiên trên thế giới”), Tạp chí thế giới mới, số 595, tr: 56-59, ra ngày 26/7/2004.

Theo tin tức từ Seoul, Hàn Quốc (12/2/2004), các nhà khoa học Hàn Quốc đã nghiên cứu thành công việc nhân bản vô tính phôi người. Từ 245 trứng đã nhân thành 30 phôi. Phôi phát triển từ tế bào gốc và có khả năng phân chia thành tế bào cơ thể. Theo bác sĩ Moon, các nhà khoa học Hàn Quốc không có ý định nhân bản vô tính để hoàn chỉnh một con người mà trong quá trình phân chia phôi thành các cơ quan, các nhà khoa học dùng nó trong việc chữa trị một số bệnh hiểm nghèo. Họ đang thử nghiệm thay thế thần kinh cột sống cho một người đã bị hư hỏng thần kinh cột sống. Triền vọng người này có thể đi lại bình thường mà bao nhiêu năm họ đã nằm nguyên tại chỗ.

8. Điều tra hoạt chất sinh học (bioprospecting)

Điều tra thăm dò hoạt chất sinh học trong sinh vật sống có thể mang lại lợi ích to lớn về y dược học và thương mại. Đương nhiên đây là lĩnh vực đầu tư mạo hiểm, có thể thất bại và cũng có thể thu lợi nhuận rất lớn. Vì thế, các quốc gia đang phát triển thường không đủ tiềm lực về tài chính, về trang thiết bị và đặc biệt về chuyên gia để triển khai công việc này, mặc dù tài nguyên thiên nhiên và tính đa dạng sinh học của các nước

này hết sức phong phú và to lớn. Doanh thu lĩnh vực này ở qui mô toàn cầu lên đến 14 tỉ USD hàng năm. Hoạt động điều tra thăm dò hoạt chất đòi hỏi sự kết hợp chặt chẽ giữa kinh nghiệm cổ truyền trong việc sử dụng các động vật, thực vật, nấm và vi sinh vật làm thuốc cũng như những trang thiết bị hiện đại của phân tích hóa học và sinh học.

Công việc thường bắt đầu với những nhóm cây con được y học cổ truyền sử dụng, sau đó mở rộng một cách có hệ thống đến các khu vực vườn Quốc gia, tiếp đến là các hệ vi sinh vật sống trong các hệ sinh thái đặc biệt như rừng ngập mặn, kí sinh trên cây dược liệu, trên rong, tảo biển,... Về phương pháp tiến hành trước tiên là điều tra tìm hiểu kinh nghiệm sử dụng thuốc của người dân, sau đó tách chiết, thường là các loại dịch chiết, được đưa về phòng thí nghiệm để tiến hành sàng lọc qua các phép thử đặc trưng cho các nhóm thuốc như kháng khuẩn, kháng virus, chữa sốt rét, chữa rối loạn thần kinh, chữa bệnh lao, ức chế sinh trưởng của tế bào ung thư. Rất có thể phải phối hợp nhiều phòng thí nghiệm để tổ chức sàng lọc một cách có hệ thống và có hiệu quả. Những mẫu dương tính sẽ được phân tích hóa học như sắc kí cao áp, điện di, khối phổ để cuối cùng đi đến hoạt chất. Ví dụ, gần đây người ta tìm thấy chất chống HIV gọi là conocurvone trong rễ cây *Cotinus coggygria*. Rất nhiều quốc gia phát triển hoặc đã công nghiệp hóa (NICs) và các công ti hóa dược chất muốn đầu tư cho loại công việc này. Vì thế, nhiều tổ chức quốc tế đã cho ra đời những văn bản nêu nguyên tắc chung về bioprospecting.

9. Công nghệ nano sinh học (bionanotechnology)

Năm 1981, cùng với hai nhà khoa học khác, giáo sư Gerd Binnig (Đức) được trao giải thưởng Nobel Vật lí vì phát minh ra loại kính hiển vi mới không hoạt động bằng nguyên tắc quang học, mà có thể tiếp xúc trực tiếp với các nguyên tử bằng một đầu kim nhỏ xíu. Với phát minh này, GS Binnig đã mở ra cánh cửa dẫn loài người đến một công nghệ siêu nhỏ, còn gọi là công nghệ nano, mà sản phẩm của nó được đo bằng nanometer (phần triệu mm). Ngày nay kính hiển vi không “nhìn” nguyên tử nữa mà dùng đầu kim nhỏ li ti tiếp xúc trực tiếp và điều khiển các nguyên tử, di chuyển lắp ráp chúng với nhau và như vậy có thể tạo nên bất kì một cấu trúc nào. Mục tiêu lâu dài của các nhà khoa học đặt ra cho công nghệ nano là làm ra các sản phẩm theo cách các sinh vật được tự nhiên sản sinh ra. Trong khi nền công nghiệp hiện nay của chúng ta làm ra các sản phẩm bằng cách cưa, đục, đẽo, phay tiện, thì trong tự nhiên các sinh vật được hình thành theo chu trình nguyên tử-phân tử-protein-tế bào-cơ thể sinh vật. Trong vòng 50 năm nữa công nghệ siêu nhỏ nano sẽ đem lại cho loài người nhiều thay đổi hơn tất cả những thay đổi con người đã từng trải qua

từ thời trung cổ đến nay. Trong tương lai công nghệ nano sẽ cho phép chúng ta nạp lên một diện tích rộng bằng một chiếc móng tay lượng thông tin 10.000 gigabyte tương đương với khoảng 15.000 đĩa CD⁴. Ngày nay, các chi tiết siêu nhỏ đã có mặt trong rất nhiều các sản phẩm công nghệ cao, trong đó trước tiên phải kể đến các chip điện tử tí hon. Chúng ta có thể tìm thấy các sản phẩm của công nghệ siêu nhỏ, ví dụ như trong hệ thống phun nhỏ xíu trong máy in phun, được điều khiển bằng điện tử phun ra những giọt mực li ti dạng bụi lên giấy, hệ thống quang học còn gọi là “mắt thần” đọc thông tin trong máy CD, bộ phận cơ tinh xảo trong chiếc đồng hồ siêu mỏng của Thụy Sĩ hoặc đầu đọc siêu nhỏ trong ổ cứng của một máy vi tính.

Công nghệ nano sinh học là một lĩnh vực trong công nghệ nano - lĩnh vực đa ngành trong khai thác vật liệu, thiết bị hoặc sản xuất các chất ở phạm vi kích thước tới hạn nằm giữa chiều dài phân tử và bước sóng ánh sáng khả kiến từ 0,1 đến 500 nm. Công nghệ nano sinh học là phương hướng mới cho phép thu nhận những thông tin về hệ thống sinh học ở mức chấm lượng tử, đầu dò kích thước nano tới kích thước một phân tử riêng rẽ dùng trong chẩn đoán bệnh, là phương pháp *in situ* mới để cung cấp thông tin tốt hơn về chức năng tế bào, là công nghệ thao tác cải biến 2 chiều và 3 chiều đối với mô và tế bào và vận chuyển, phân phối thuốc hoặc gene vào mô và tế bào thông qua không chế kích thước hạt, hoạt hóa và giải phóng hoạt chất thuốc thông qua cơ chế và thiết bị như bơm kích thước nano, van tế bào và cơ quan nhân tạo.

Trong y học, người ta hi vọng phẫu thuật gene, phẫu thuật tế bào, điều trị tế bào, điều trị gene, tổng hợp gene, chẩn đoán tại tế bào, các hệ thống cơ khí điện tử nano y học còn gọi là “các công cụ nano thông minh”, robot mô kích thước nano ... sẽ được đưa ra thực hành trong vòng 20 năm sắp tới. Tuy nhiên, hiện nay cũng đã có một số ứng dụng của công nghệ siêu nhỏ nano trong y học. Ví dụ như:

* Một chiếc “máy bào” nhỏ xíu bằng đầu một que diêm được đưa vào cơ thể người, luồn lách trong mạch máu và “nạo vét” lớp cặn bám trên thành mạch. Chiếc máy bào này chuyển động nhờ một động cơ chạy bằng tuốc bin nước có đường kính 2,5 mm. Tất cả chiếc máy kì diệu này được đặt gọn trên đầu một ống sợi tim mạch chuyên phục vụ cho các ca mổ nội soi.

* Kéo phẫu thuật từ sợi hợp kim titan và nickel mỏng 0,63 mm, được sử dụng trong ca phẫu thuật thần kinh. Khi thao tác, bác sĩ phẫu thuật không điều khiển kéo trực tiếp bằng tay mà thông qua một hệ thống các nút cảm ứng.

* Một “chíp điện tử sinh học” trên một lớp silic rộng chừng vài mm^2 có thể chứa đựng được hàng chục vạn phân tử mang những thông tin về gene. Chíp sinh học là một dụng cụ tối ưu phân tích nhanh các mẫu máu và mô để nhanh chóng chẩn đoán các khối u ác tính ngay từ khi trong giai đoạn sớm nhất.

* Videocamera siêu nhỏ kích thước $11 \times 30 \text{ mm}$. “Viên thuốc camera” này được bệnh nhân nuốt vào bụng và sẽ cung cấp cho bác sĩ những hình ảnh cụ thể và chính xác về tình trạng bộ máy tiêu hóa của bệnh nhân.

* Bằng công nghệ siêu nhỏ nano, các nhà khoa học có thể chế tạo các robot nano chuyên truy tìm các tế bào ung thư tiềm ẩn trong cơ thể người để tiêu diệt chúng.

Công nghệ nano sinh học tập trung cho các nghiên cứu sử dụng phân tử DNA dạng chíp làm phương tiện lưu giữ thông tin, tạo khung đỡ 2-3 chiều hỗ trợ sinh trưởng và liên sẹo của mô và tế bào cấy ghép, cung cấp thuốc đến tận điểm mô và tế bào trong điều trị ung thư. Công cụ nano khử chất độc ô nhiễm công nghiệp trong đất, vật liệu composit nano nối xương, dây dẫn bằng protein hay DNA trong động cơ nano. Công tắc DNA điều khiển mạch nano, bản nano trong nghiên cứu hậu giải mã bộ gene, xương nano chế tạo phân tử protein. Trong lĩnh vực môi trường các loại hạt nano vừa có thể làm đầu dò vừa xử lý ô nhiễm nguồn nước, theo dõi và báo động về vũ khí hóa học và sinh học một cách lí tưởng và hiệu quả.

Đối với Việt Nam, trong điều kiện thực tế về đội ngũ và cơ sở vật chất của mình, chúng ta không thể tiến hành được tất cả những định hướng chung của thế giới. Tuy nhiên, trong hoàn cảnh cụ thể của từng vùng, đặc biệt là thành phố Hà Nội, thành phố Hồ Chí Minh và viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long, tùy theo nhu cầu thực tế của địa phương mình có những hướng nghiên cứu cụ thể để phục vụ cho nhu cầu kinh tế xã hội của khu vực và của cả nước. Nhiều nơi cũng có thể nghiên cứu ứng dụng một số mặt sau:

* Công nghệ gene: nghiên cứu sự thay đổi genome của người và các sinh vật khác dưới tác động của môi trường, của chiến tranh hóa học. Nghiên cứu đặc điểm genome của các tộc người Việt Nam, trước mắt là các genome ti thể, NST giới tính, góp phần vào việc nghiên cứu y tế dự phòng và điều trị bằng liệu pháp gene. Mở rộng sự hợp tác giữa ngành sinh học và các ngành khác để góp phần hiện đại hóa những nghiên cứu về phân loại và đánh giá tài nguyên sinh vật. Đưa công nghệ gene vào việc nghiên cứu sản xuất vaccine thế hệ mới và sản xuất các kit chẩn đoán bệnh

ở người, động vật và thực vật. Từng bước đưa kỹ thuật DNA array vào nghiên cứu và ứng dụng.

* Công nghệ enzyme protein: ứng dụng enzyme công nghiệp vào việc chế biến sản phẩm nông lâm ngư nghiệp và làm thuốc chữa bệnh. Đồng thời, nhanh chóng việc nghiên cứu proteomics thành công cụ đắc lực cho việc đánh giá chức năng gene và tìm kiếm những protein có giá trị dược phẩm cao, sản xuất protein tái tổ hợp và chẩn đoán bệnh ở người và gia súc. Miễn dịch học phân tử là một nội dung nghiên cứu sẽ mang lại hiệu quả ứng dụng cao trong sản xuất vaccine và kit chẩn đoán, kháng sinh, vitamin từ công nghệ lên men vi sinh vật và vi sinh vật tái tổ hợp.

* Công nghệ vi sinh:

- Nghiên cứu tài nguyên vi sinh vật để đánh giá tính đa dạng của chúng ở các hệ sinh thái. Xây dựng bảo tàng vi sinh vật cấp quốc gia như một đơn vị có tư cách pháp nhân độc lập trong giao dịch và quản lý các chủng giống vi sinh vật.

- Đánh giá và khai thác tài nguyên vi sinh vật thông qua profiling các hoạt chất, xây dựng cơ sở dữ liệu về tài nguyên vi sinh vật. Nghiên cứu lân lập và tuyển chọn các giống có hoạt tính và sản lượng cao.

- Nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghiệp lên men vi sinh vật thành một ngành sản xuất các loại sản phẩm như nguyên liệu làm thuốc, kháng sinh, vitamin, acid amin, các phụ gia, các chất màu thực phẩm, mỹ phẩm.

* Công nghệ tế bào động vật: nghiên cứu công nghệ sinh sản cloning; công nghệ tế bào gốc và cơ sở khoa học của phương pháp trị liệu tế bào; lập bản đồ gene và các tính trạng tốt ở vật nuôi; chuyển gene ở động vật.

* Công nghệ tế bào thực vật: nghiên cứu hoàn thiện qui mô công nghiệp và chuyển giao công nghệ nhân giống vô tính cây trồng nông lâm nghiệp (cây ăn quả đặc sản, cây công nghiệp, cây hoa, cây cảnh và cây lâm nghiệp bản địa và cây lai cao sản); từng bước triển khai sử dụng chỉ thị phân tử và lập bản đồ gene vào công tác chọn giống trên cơ sở công nghệ truyền thống và công nghệ tế bào; đưa công nghệ tạo cây chuyển gene vào thực tiễn sản xuất; cải tiến giống cây trồng vật nuôi, phân bón, thuốc trừ sâu sinh học, kit chẩn đoán bệnh ở cây trồng và vật nuôi, bảo quản và chế biến các sản phẩm nông lâm ngư nghiệp để tăng giá trị sử dụng và thương mại.

* Công nghệ sinh học y dược, sản phẩm của chúng có hàm lượng CNSH cao, chất lượng tốt (nghệ đen, nhân sâm Ngọc Linh, v.v.), những chất có hoạt tính sinh học mạnh ở động vật, thực vật và vi sinh vật. Các vaccine thế hệ mới bao gồm vaccine tế bào, vaccine tái tổ hợp, vaccine

DNA. Các loại thuốc điều trị có nguồn gốc protein tái tổ hợp như kháng thể đa dòng và đặc biệt là kháng thể đơn dòng, các loại hormone dạng protein, các protein đặc trị. Các liệu pháp công nghệ cao như liệu pháp gene, liệu pháp tế bào dùng chữa những bệnh hiểm nghèo.

Trong thời gian tới CNSH sẽ chú trọng vào việc phục vụ lĩnh vực y dược và an ninh quốc phòng. Cần hợp tác giữa các trường đại học và các viện nghiên cứu để nghiên cứu vaccine tái tổ hợp, di truyền phân tử ở người và kit chẩn đoán bệnh truyền nhiễm và bệnh hiểm nghèo. Trong thời gian tới cần phối hợp với bộ Quốc phòng và bộ Công an để xác định hài cốt liệt sĩ.

* Công nghệ sinh học phục vụ môi trường là nâng cao chất lượng nghiên cứu khoa học trong làm sạch nước thải, khử nitrogen, làm sạch ô nhiễm dầu và kim loại nặng, các phương pháp tẩy các chất độc hóa học, xây dựng cơ sở vật chất trang thiết bị, đào tạo nhân lực nhằm triển khai các nghiên cứu chất lượng cao phục vụ an ninh quốc phòng và dân sinh.

* Công nghiệp sinh học (bioindustry). Những lĩnh vực sản xuất chính là: ① Công nghiệp sinh học y dược (biomedicine) có các nhóm sản phẩm như hormone, thuốc chống ung thư, kháng sinh, thuốc sinh trưởng, thuốc miễn dịch (vaccine). ② Công nghệ sinh học hóa chất (biochemicals) có các loại polymer sinh học, acid amin, acid hữu cơ, enzyme công nghiệp, chất màu, hoạt chất bề mặt. ③ Công nghiệp sinh học môi trường (bioenvironmental) bao gồm chế phẩm vi sinh vật dùng làm sạch môi trường, khử sulphate, khí thải, khử trùng và chất kết dính. ④ Công nghiệp sinh học thực phẩm (biofood). ⑤ Công nghiệp sinh học năng lượng và nguyên (bioenergy and resources) bao gồm khí methane sinh học, đông lạnh nhờ CO₂, sinh khối quang hợp, khí sinh học, bột giặt vi sinh. ⑥ Công nghiệp sinh học nông nghiệp và thủy sản (bioagriculture and ocean) tập trung cho giống lai, vaccine thú y, sinh phẩm chẩn đoán, phân bón vi sinh, tài nguyên sinh học biển, nhà máy thức ăn chăn nuôi. ⑦ Công nghiệp sinh học chế biến (bioprocessing) và kỹ nghệ sinh học (bioengineering) bao gồm quy trình công nghệ lên men, kỹ thuật nuôi cấy tế bào động vật, kỹ thuật nuôi cấy tế bào thực vật nhằm tăng hệ số nhân giống những cây đặc sản, bản địa, những cây có giá trị kinh tế cao, phục vụ cho sản xuất và đời sống. ⑧ Công nghệ sinh học kiểm định (bioevaluation and verification systems) bao gồm công nghệ đánh giá hiệu quả và độ bền vững, biosensor, biochip, công nghệ chẩn đoán, thiết bị kiểm định sinh học.

Rõ ràng, CNSH là cái chìa khóa mở đường cho sự phát triển nền kinh tế của đất nước. Cuộc cách mạng khoa học kỹ thuật nói chung và cuộc cách mạng CNSH nói riêng đã thu hút nhiều người trên trái đất này tham gia vào sự nghiệp cao cả đó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trần Bình, 2003. Định hướng nghiên cứu và triển khai của viện Công nghệ sinh học. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 16-17 tháng 12 năm 2003. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr: 48-51
2. Lê Trần Bình, 2004. Những thành tựu nổi bật trong nghiên cứu cơ bản của khoa học sự sống trong 10 năm qua. Báo cáo khoa học Hội nghị toàn quốc Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr: 17-22.
3. Phạm Hữu Giục, 1999. Định hướng phát triển công nghệ sinh học ở Việt Nam đến 2010. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 9-10 tháng 12 năm 1999. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr: 37-46.
4. Phạm Hữu Giục, Lê Minh Sắt, 2003. Các chính sách và định hướng phát triển công nghệ sinh học thời gian tới ở Việt Nam. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 16-17 tháng 12 năm 2003. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr: 44-47.
5. Nguyễn Ngọc Kính, 1999. Chương trình kỹ thuật – kinh tế về công nghệ sinh học đến năm 2010. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 9-10 tháng 12 năm 1999. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr: 47-51.
6. Trần Duy Quý, 2003. Chương trình nghiên cứu và phát triển công nghệ sinh học: thành tựu và thách thức. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 16-17 tháng 12 năm 2003. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr: 39-43.
7. Lê Văn, 2004. Ngân hàng tế bào gốc đầu tiên trên thế giới, Tạp chí Thế giới mới, số 595, tr: 56-59.
8. Đỗ Năng Vinh, 1999. Một số thành tựu và hướng phát triển của công nghệ tế bào thực vật có triển vọng ứng dụng ở nước ta. Báo cáo khoa học Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 9-10 tháng 12 năm 1999. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tr: 62-70.