

Hiện trạng sử dụng cây trồng chỉnh sửa gen trên thế giới và đề xuất cho Việt Nam

Lê Thị Ngọc Quỳnh¹, Chu Đức Hà², Lê Huy Hàm^{2,3}, Lê Tiến Dũng⁴, Phạm Xuân Hội²

¹Bộ môn Công nghệ sinh học, Khoa Hóa và Môi trường, Trường Đại học Thủy lợi

²Viện Di truyền Nông nghiệp (VAAS)

³Tổ chức Quốc tế về tiếp thu các ứng dụng công nghệ sinh học trong nông nghiệp

⁴Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

Những năm gần đây, chọn tạo giống cây trồng nhằm nâng cao tính chống chịu nhờ chỉnh sửa hệ gen đã có những bước tiến mới tại nhiều quốc gia. Nhiều nghiên cứu đã tạo được các dòng cây chỉnh sửa gen mang một số đặc tính nông sinh học có lợi, từ đó bước đầu tiến hành khảo nghiệm đồng ruộng và thương mại hóa.

Về nguyên tắc, chỉnh sửa gen không tạo ra protein hoàn toàn mới cũng như không đưa vào một gen lạ, vì vậy nên coi cây trồng chỉnh sửa gen là các dòng đột biến, không phải là sự kiện biến đổi gen, từ đó cần có cách tiếp cận và chiến lược phát triển đúng với đối tượng cây trồng mới này.

Hiện trạng canh tác cây trồng chỉnh sửa hệ gen trên thế giới

Kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen (genome editing) trên thực vật đã được phát triển mạnh và đạt nhiều kết quả trong chọn tạo giống cây trồng. Điều này đã thúc đẩy một loạt các khảo nghiệm đồng ruộng cho những giống cây trồng được chỉnh sửa gen, trong đó lúa gạo là cây trồng được quan tâm nhiều nhất.

Lúa gạo

Lúa gạo là cây trồng chỉnh sửa gen được trồng thử nghiệm nhiều nhất ngoài đồng ruộng, chủ yếu được tiến hành tại Trung Quốc. Một trong những nghiên cứu đầu tiên về công nghệ chỉnh sửa gen

đã phân tích bốn yếu tố điều hòa chính ảnh hưởng đến tính trạng năng suất trên lúa, thông qua loại bỏ hoàn toàn chức năng gen nhờ CRISPR/Cas9 [1]. Kết quả của nghiên cứu đã đưa ra một số đặc tính giúp cải thiện giống, như tăng số lượng hạt, độ cứng của thân cũng như tăng kích thước hạt. Một nỗ lực khác đã được ghi nhận trong việc loại bỏ chức năng của 8 gen quy định tính trạng năng suất trên lúa bằng kỹ thuật chuyển gen đa mục tiêu thông qua CRISPR/Cas9 đã thu được các kiểu hình khác nhau tương ứng với đơn và đa đột biến khi tiến hành thử nghiệm trên đồng ruộng [2]. Một nghiên cứu đáng chú ý của Zhou và cs (2018) đã sử dụng CRISPR/Cas9

để loại bỏ protein chứa domain lặp lại tetratricopeptide để tạo ra giống lúa kháng bệnh đạo ôn và vẫn giữ nguyên nền di truyền [3]. Gần đây nhất, hệ thống CRISPR/Cas9 cũng được sử dụng để can thiệp vào 3 locus tính trạng số lượng của các gen liên quan đến tính trạng hạt, từ đó giúp dòng đột biến tăng 68% năng suất, đồng thời không biểu hiện đặc tính nông sinh học có hại trong khảo nghiệm đồng ruộng [4]. Tương tự, một dòng lúa *Japonica* đột biến có nguồn gốc từ tổ hợp lai Huhan9/Huxiangjing//Huhan3/Huhan11 đã được tạo ra bởi chỉnh sửa gen *OsRR22* có khả năng chịu mặn 7,5‰ trong điều kiện nhà kính [5]. Các khảo nghiệm cơ bản của

dòng đột biến này đang tiếp tục được tiến hành trên đồng ruộng. Bên cạnh đó, 10 gen khác nhau liên quan đến tính trạng thời gian ra hoa đã được chỉnh sửa, và hầu hết các đột biến này biểu hiện mất năng suất, số còn lại có đặc tính nông học kém hơn so với đối chứng. Các nghiên cứu trên đã mở ra tiềm năng to lớn của việc sử dụng công cụ chỉnh sửa gen nhằm tác động đến đa gen liên quan đến các tính trạng có lợi, từ đó tạo ra các dòng lúa đột biến mang nhiều tính trạng phù hợp.

Các giống cây khác

Ở ngô (*Zea mays*), promoter tự nhiên của *ARGOS8* - một yếu tố điều hòa âm tính với phản ứng ethylene đã được chỉnh sửa nhờ CRISPR/Cas9 [6]. Kết quả cho thấy, dòng ngô đột biến được tăng cường năng suất hạt trong điều kiện bất lợi ngoài đồng ruộng. Cà chua bị đột biến gen *SP5G* (self-pruning 5G, tham gia vào đáp ứng với chu kỳ sáng) dùng CRISPR/Cas9 có thể làm tăng khả năng thích ứng với các điều kiện tự nhiên trong canh tác, giúp mở rộng diện tích gieo trồng [7]. Hơn nữa, các dòng đột biến này mặc dù có năng suất giảm, nhưng thời gian ra hoa sớm hơn so với giống đối chứng [8]. Bên cạnh đó, các ghi nhận khác cũng được báo cáo trong việc thuần hóa một số giống cà chua dại có mối quan hệ gần gũi với *Solanaceae*, tuy nhiên vẫn chưa có báo cáo khảo nghiệm đồng ruộng [9-11].

Kannan và cs (2018) sử dụng hệ thống TALEN (Transcription activator like effector nuclease), một dạng nuclease giống nhân

tổ kích hoạt phiên mã để loại bỏ hiện tượng nhiễu bản sao chép trên một họ gen lớn ở mía đường [12]. Cụ thể, một vùng bảo thủ của gen *caffeic acid O-methyltransferase (COMT)* đã được chỉnh sửa bằng TALEN. Kết quả đã thành công khi đồng chỉnh sửa được hầu hết các gen *COMT* (107/109 bản sao chép). Trong lần đầu khảo nghiệm, các dòng đột biến có thành phần tích lũy trong thành tế bào tăng 44%, giúp cải thiện quá trình đường hóa mía đường trong sản xuất xăng sinh học. Thí nghiệm này được xem là một ví dụ thành công nhất trong chỉnh sửa hệ đa gen ở thực vật.

Tác động của chỉnh sửa gen đến nông nghiệp và môi trường

Không chỉ lúa gạo mà những cây trồng được chỉnh sửa gen khác cũng đã bắt đầu được đưa ra canh tác và chưa ghi nhận bất kỳ mối nguy hại nào đến môi trường [3-6]. Chỉnh sửa nhằm loại bỏ một hoặc một vài gen có thể tạo ra những kết quả trung tính, một số khác gây hại cho cây, tuy nhiên không có báo cáo nào cho thấy gây hại đến môi trường xung quanh. Ví dụ, phá vỡ chức năng của gen *LHT1* trong lúa dẫn đến ức chế sinh trưởng và giảm năng suất của dòng đột biến. Nhìn chung, các đánh giá khảo nghiệm đồng ruộng đều cho kết quả là cây trồng chỉnh sửa gen không gây hại cho môi trường.

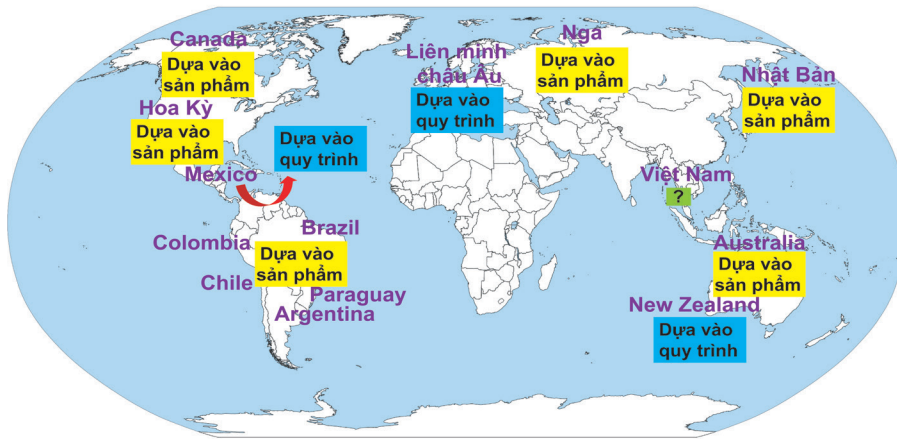
Ở châu Âu, trong 3 năm gần đây, chỉ một vài thử nghiệm về cây trồng chỉnh sửa gen được tiến hành ngoài đồng ruộng. Tiêu biểu nhất gồm có canh tác ngô chỉnh

sửa gen tại Bỉ, sau đó là khảo nghiệm tại Thụy Điển và Anh. Đến nay, dòng ngô này đã được coi là dòng đột biến, được khảo nghiệm và đăng ký bảo hộ theo luật châu Âu (<http://www.vib.be/en/news/Pages/Permit-for-crispr-field-trial.aspx>). Đây được xem là một tín hiệu đáng mừng khi các nhà làm chính sách ở châu Âu bắt đầu chấp thuận và xem sự kiện chỉnh sửa gen như một dạng tạo đột biến.

Đến nay, nhiều công ty nông nghiệp đã tiến hành canh tác các giống cây chỉnh sửa gen ngoài đồng ruộng. Thử nghiệm đầu tiên được tiến hành bởi CIBUS (Hoa Kỳ) - Công ty hàng đầu về tạo ra các sự kiện chỉnh sửa gen chính xác bằng công nghệ gây đột biến trực tiếp nhờ oligonucleotide. Dòng cải dầu đột biến nhờ kỹ thuật này đã được đánh giá khảo nghiệm đồng ruộng và trở thành giống chỉnh sửa gen đầu tiên được thương mại hóa. Một công ty khác là CALYXT cũng tiến hành trồng thử nghiệm cây trồng chỉnh sửa gen bằng TALEN ngoài đồng ruộng. Thành công của CALYXT được ghi nhận trong việc canh tác các dòng đậu tương chỉnh sửa gen ở Argentina từ năm 2015, sau đó được công nhận và thương mại hóa chính thức vào năm 2018. Công ty này cũng đang có kế hoạch tiếp tục khảo nghiệm và đăng ký các dòng lúa mì với hàm lượng chất xơ cao vào năm 2022.

Hành lang pháp lý và quy chế quản lý các sự kiện chỉnh sửa gen

Phải nói rằng, khung pháp lý cho quản lý các sự kiện chỉnh sửa



Hình 1. Hiện trạng ban hành hệ thống quản lý cây trồng chỉnh sửa gen trên thế giới.

gen trên thế giới vẫn là những mảnh ghép chông chéo do thiếu sự nhất quán giữa các nước. Các sự kiện chỉnh sửa gen nên được xem tương tự như những đột biến vì bản chất của hai phương pháp này giống nhau và đều không chứa gen ngoại lai. Tuy nhiên, hiện trạng quản lý các sự kiện chỉnh sửa gen ở cây trồng hiện nay có thể được chia theo hai xu hướng, dựa vào quá trình (process-based) và sản phẩm (product-based), tương tự như với khung quy định cho GMO [13]. Ví dụ, Hoa Kỳ và Australia có xu hướng lựa chọn khung quản lý dựa vào sản phẩm, trong khi Liên minh châu Âu và New Zealand lại quy định các chế tài cho các sự kiện chỉnh sửa gen dựa vào quá trình hay kỹ thuật (hình 1).

Việc có cái nhìn tích cực hơn về các sự kiện chỉnh sửa gen sẽ thúc đẩy những cuộc khảo nghiệm trên đồng ruộng diễn ra nhiều hơn. Mới đây, Nga là một quốc gia điển hình cho việc tăng cường các nghiên cứu về chỉnh

sửa gen trên đối tượng cây trồng và vật nuôi với mục tiêu tạo ra khoảng 30 dòng/giống chỉnh sửa gen trong 10 năm tới [14]. Ngoài ra, Thụy Sĩ, Paraguay và Nhật Bản cũng là những nước đang chủ động sửa đổi các quy định về quản lý cây trồng chỉnh sửa gen, từ đó mở cửa cho công tác khảo nghiệm và đưa ra sản xuất trong tương lai gần [15].

Gần đây, Ấn Độ là một trong những quốc gia đầu tiên đã đưa ra bản dự thảo về khung pháp lý và hướng dẫn đánh giá rủi ro đối với cây trồng chỉnh sửa gen dựa trên sự kế thừa của “Khung đánh giá rủi ro và hướng dẫn về đánh giá rủi ro của môi trường đối với cây trồng biến đổi gen 2016”. Các đánh giá an toàn sinh học đối với cây trồng chỉnh sửa gen được tiến hành dựa trên hiệu quả của tính trạng cải biến và tác động của hiện tượng off-target dẫn đến những sai khác không mong muốn trong kiểu gen và/hoặc kiểu hình. Cây trồng chỉnh sửa gen có thể được chia làm 3 nhóm dựa

theo mức độ cải biến thông tin di truyền. Nhóm 1 (SDN-1) được quy định là trường hợp do đột biến điểm (sửa/mất/thêm) một hoặc một vài cặp bazơ, tương tự như dạng đột biến do hóa chất hay phóng xạ. Đánh giá an toàn sinh học cho nhóm SDN-1 chủ yếu dựa trên việc xác nhận sự chỉnh sửa có định hướng có chính xác không, cũng như xem xét một cách kỹ lưỡng các tác động không mong muốn của dòng đột biến có thể xảy ra do hiện tượng off-target. Trong khi đó, nhóm 2 (SDN-2) là những cải biến ở một vài cặp bazơ dẫn đến sự hình thành của một phần protein/ARN mới. Tương tự như nhóm SDN-1, đánh giá an toàn sinh học cho các sự kiện thuộc nhóm SDN-2 phải được xem xét từng trường hợp cụ thể, đồng thời kiểm chứng hiệu quả của chỉnh sửa gen cũng như phân tích các thay đổi hình thái do hiện tượng off-target (có thể có). Bên cạnh đó, các sự kiện chỉnh sửa gen phải được đánh giá thông qua khảo nghiệm hạn chế trên đồng ruộng. Nhóm 3 (SDN-3) được quy ước là việc cài thêm gen lạ nhằm tạo ra protein/ARN hoàn toàn mới (tương tự như GMO). Như vậy, quy trình đánh giá an toàn của các dòng chỉnh sửa gen thuộc nhóm SDN-3 phải được tuân thủ chặt chẽ như việc kiểm soát sự kiện biến đổi gen.

Một số đề xuất cho Việt Nam

Rất nhiều tính trạng “ưu việt” đã được tạo ra thông qua sử dụng hệ thống CRISPR/Cas, như nâng cao chất lượng nông sản, tăng tính kháng virus, vi khuẩn, nấm, thuốc trừ cỏ, tăng khả năng chống

chịu điều kiện ngoại cảnh bất lợi (hạn hán, lạnh, mặn, thiếu dinh dưỡng...) [16]. Tại Việt Nam, công nghệ chỉnh sửa gen có thể mở ra vô số hướng ứng dụng tiềm năng trên các đối tượng cây trồng. Về vấn đề này, chúng tôi xin có một số đề xuất như sau:

Thứ nhất, quá trình đưa ra một sự kiện biến đổi gen thường kéo dài 15-20 năm, từ giai đoạn phòng thí nghiệm ra khảo nghiệm đồng ruộng. Vì vậy, nghiên cứu về cây trồng chỉnh sửa gen cũng nên xem là một quá trình đầu tư lâu dài và tập trung rất nhiều chất xám và cơ sở vật chất. Ở Việt Nam, các đề tài, dự án liên quan đến cây trồng chỉnh sửa hệ gen cũng đã bắt đầu thực hiện được những bước cơ bản đầu tiên nhằm tăng cường khả năng chịu mặn và kháng sâu bệnh trên cây lúa.

Thứ hai, hiện nay thế giới vẫn còn đang dẫn đo và xem xét sự khác biệt giữa kỹ thuật di truyền và sử dụng công cụ chỉnh sửa gen để tạo ra những thay đổi một cách có chủ đích ở gen nội sinh, do đó mà cây trồng chỉnh sửa gen có thể là câu trả lời cho rất nhiều vấn đề nan giải hiện nay. Việt Nam cần có những hành lang pháp lý thông thoáng nhằm tạo điều kiện cho việc đón nhận cây trồng chỉnh sửa gen như một dạng của chọn giống đột biến. Hơn nữa, các nghiên cứu về cây trồng chỉnh sửa gen đều chứng minh sự hiệu quả và ưu điểm vượt trội của các dòng đột biến này trong thử nghiệm. Vì vậy, trước áp lực của biến đổi khí hậu và an ninh lương thực, việc đón nhận thành tựu này

là một tất yếu.

Cuối cùng, Việt Nam là một nước với tỷ trọng của ngành nông nghiệp đóng góp lớn trong GDP. Tuy nhiên, một xu hướng bất phá mới cần được xem xét, đó là giảm tỷ trọng và sức lao động tập trung vào lĩnh vực nông nghiệp. Chính vì vậy, canh tác cây trồng chỉnh sửa gen sử dụng làm thức ăn chăn nuôi nên được xem là một chiến lược trước mắt của ngành nông nghiệp nhằm giảm bớt chi phí đầu vào (công lao động, phân bón, thuốc bảo vệ thực vật...) mà vẫn giữ nguyên giá trị của nguồn nguyên liệu trong bối cảnh của biến đổi khí hậu

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] M. Li, et al. (2016), "Reassessment of the four yield-related genes *Gn1a*, *DEP1*, *GS3*, and *IPA1* in rice using a CRISPR/Cas9 system", *Front. Plant Sci.*, **7**, p.377.

[2] L. Shen, et al. (2017), "Rapid generation of genetic diversity by multiplex CRISPR/Cas9 genome editing in rice", *Sci. China Life Sci.*, **60**, pp.506-515.

[3] X. Zhou, et al. (2018), "Loss of function of a rice TPR-domain RNA-binding protein confers broad-spectrum disease resistance", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **115**, pp.3174-3179.

[4] J. Zhou, et al. (2019), "Multiplex QTL editing of grain-related genes improves yield in elite rice varieties", *Plant Cell Rep.*, **38**, pp.475-485.

[5] A. Zhang, et al. (2019), "Enhanced rice salinity tolerance via CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the *OsRR22* gene", *Mol. Breed.*, **39(3)**, p.47.

[6] J. Shi, et al. (2017), "ARGOS 8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions", *Plant Biotechnol. J.*, **15**, pp.207-216.

[7] S. Soyk, et al. (2017), "Variation in the flowering gene SELF PRUNING 5G promotes day-neutrality and early yield in tomato", *Nat. Genet.*, **49**, p.162.

[8] D. Rodriguez-Leal, et al. (2017), "Engineering quantitative trait variation for crop improvement by genome editing", *Cell*, **171**, pp.470-480.

[9] Z.H. Lemmon, et al. (2018), "Rapid improvement of domestication traits in an orphan crop by genome editing", *Nat. Plants*, **4(10)**, p.766.

[10] A. Zsögön, et al. (2017), "Genome editing as a tool to achieve the crop ideotype and de novo domestication of wild relatives: case study in tomato", *Plant Sci.*, **256**, pp.120-130.

[11] T. Li, et al. (2018), "Domestication of wild tomato is accelerated by genome editing", *Nat. Biotechnol.*, **36**, pp.1160-1163.

[12] B. Kannan, et al. (2018), "TALEN-mediated targeted mutagenesis of more than 100 *COMT* copies/alleles in highly polyploid sugarcane improves saccharification efficiency without compromising biomass yield", *Plant Biotechnol. J.*, **16**, pp.856-866.

[13] G.E. Marchant, Y.A. Stevens (2015), "A new window of opportunity to reject process-based biotechnology regulation", *GM Crops Food*, **6**, pp.233-242.

[14] O. Dobrovidova (2019), "Russia joins in global gene - editing bonanza", *Nature*, **569**, pp.319-320.

[15] J. Metje Sprink, et al. (2019), "DNA-free genome editing: Past, present and future", *Front. Plant Sci.*, **9**, pp.1-9.

[16] D. Jaganathan, et al. (2018), "CRISPR for crop improvement: An update review", *Front. Plant Sci.*, **9**, p.985.