

chống chịu tốt với các điều kiện thời tiết bất thuận, chống đổ, chịu hạn, ít nhiễm sâu bệnh, bắp chắc, kín lá bi, năng suất cao (58,6 tạ/ha) và ổn định ở nhiều vùng, có thể bổ sung cho bộ giống tại các vùng trồng ngô hàng hóa.

2. Đề nghị

Đề nghị Bộ Nông nghiệp và PTNT cho phép sản xuất thử trong thời gian tới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Hữu Tình, Nguyễn Đình Hiền (1996). "Các phương pháp lai thử và phân tích khả năng kết hợp trong các thí nghiệm về ưu thế lai." NXB Nông nghiệp, HN.
2. Ngô Hữu Tình (2005), "Kết quả nghiên cứu chọn tạo giống ngô lai thích

hợp cho các vùng sinh thái", Kỷ yếu hội nghị khoa học công nghệ nông nghiệp 2001 - 2005, Tr, 333. NXB Nông nghiệp.

3. Ngô Hữu Tình (2009). "Chọn lọc và lai tạo giống ngô." NXB Nông nghiệp, HN.
4. Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia. Báo cáo kết quả khảo nghiệm cơ bản giống ngô lai ở phía Bắc vụ Đông năm 2012, ngày 27 tháng 3 năm 2013.

Ngày nhận bài: 1/3/2013

Người phản biện: TS. Mai Xuân Triệu,
ngày 5/4/2013

Ngày duyệt đăng: 15/4/2013

CÔNG NGHỆ TẠO DÒNG NGÔ THUẦN BẰNG CÂY KÍCH TẠO ĐƠN BỘI

Nguyễn Đức Thành, Nguyễn Hữu Hùng,
Lương Thái Hà, George Mahuku,
Vijay Chaikam

SUMMARY

Double haploid technology

In vivo haploid induction in maize was learnt at CIMMYT (International Maize and Wheat improvement Center) from december of 2011 to may of 2012. Haploids were generated in maize by using haploid inducer line as a pollinator. Haploid inducers contain R1-nj gene which imparts purple coloration on the embryo and endosperm (facilitates haploid seed identification). All the seedlings were cut root and coleoptile. The seedlings were treated in 0.06% colchicine solution plus 0.05% DMSO (dimethyl sulfoxide) for 12 hours at room temperature. After the seedlings were carefully washed 2 to 3 times with water and transplanted to trays in the greenhouse. When the seedlings grew three to five leaves they were transplanted in the field.

Keywords: Maize; double haploid; in vivo double haploid

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngoài việc tạo dòng ngô thuần bằng tự phối cưỡng bức, nuôi cấy bao phấn và noãn chưa thụ tinh, CIMMYT đã bắt đầu nghiên cứu và ứng dụng phương pháp chọn tạo dòng

bằng cây kích tạo đơn bội từ năm 2007, đến nay mỗi năm tạo ra hàng nghìn dòng ngô thuần phục vụ hiệu quả cho nhiều chương trình, dự án nghiên cứu di truyền và chọn tạo giống ngô lai ở vùng châu Phi, châu Mỹ, châu Á và châu Âu. Cùng với việc nghiên

cứu ứng dụng thành công quy trình tạo dòng đơn bội kép, CIMMYT đã nghiên cứu và chọn tạo ra 5 dòng inducer nhiệt đới (TAIL 5, TAIL6, TAIL7, TAIL8, TAIL9) trong đó 2 dòng TAIL5, TAIL6 cây sinh trưởng phát triển tốt, cây khỏe, sạch bệnh, bông cò to nhiều phần nhưng cho tỷ lệ đơn bội thấp từ 3 - 4% và 3 dòng còn lại cho tỷ lệ đơn bội cao từ 8 - 12% nhưng cây sinh trưởng phát triển yếu hơn và dễ nhiễm sâu bệnh.

Theo Geiger (2010) phương pháp tạo dòng bằng cây kích tạo đơn bội có rất nhiều ưu điểm so với các phương pháp tạo dòng khác như: 1) Thời gian tạo ra dòng thuần nhanh (chỉ mất 2 vụ), tiết kiệm được 2/3 thời gian tạo dòng so với phương pháp truyền thống (tạo dòng theo phương pháp tự phối mất từ 6 - 8 vụ), giảm thời gian để tạo ra một giống ngô lai thương mại; 2) Các dòng được tạo ra là dòng đơn bội kép, có độ thuần 100%; 3) Từ một nguồn vật liệu ban đầu có thể tạo ra một số lượng dòng lớn, có nhiều tính trạng nông sinh học quý; 4) Quy

trình thực hiện đơn giản, các bước thực hiện chủ yếu ngoài đồng ruộng.

Công nghệ tạo dòng ngô thuần bằng cây kích tạo đơn bội là một tiến bộ mới trong chọn tạo giống ngô ở các nước tiên tiến, Việt Nam mới tiếp cận phương pháp này nhưng đã đạt được kết quả bước đầu đáng ghi nhận. Việc tiếp tục tiếp cận, nghiên cứu và ứng dụng công nghệ này trong chương trình chọn tạo giống ngô trong những năm tới là một hướng đi có nhiều triển vọng, nhằm nhanh chóng tạo ra những giống ngô lai mới có tiềm năng cho năng suất cao, khả năng chống chịu tốt.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

- Sử dụng 5 nguồn kích tạo đã được nhiệt đới hóa tại Trung tâm Nghiên cứu Ngô và Lúa mì Quốc tế (CIMMYT) - Mexico và 1 dòng kích tạo ôn đới từ trường Đại học Hoheinheim - Đức như bảng sau:

STT	Tên nguồn kích tạo	Nguồn gốc	Tỷ lệ gây kích tạo đơn bội
1	TAIL5 (Tropical adapted inducer line)	CIMMYT	4 - 6%
2	TAIL6 (Tropical adapted inducer line)	CIMMYT	4 - 6%
3	TAIL7 (Tropical adapted inducer line)	CIMMYT	6 - 8%
4	TAIL8 (Tropical adapted inducer line)	CIMMYT	8 - 10%
5	TAIL9 (Tropical adapted inducer line)	CIMMYT	8 - 12%
6	RWS × UH400	Hoheinheim	8 - 10 %

(TAIL: Dòng kích tạo thích ứng vùng nhiệt đới)

- Vật liệu sử dụng để lai với cây kích tạo là các giống ngô lai đơn thương mại, giống lai kép, lai ba, giống hỗn hợp

2. Phương pháp nghiên cứu

- *Tạo hạt đơn bội:* Thí nghiệm được bố trí 4 hàng ngô mẹ (là các quần thể ưu tú) trồng xen 2 hàng ngô bố (cây kích tạo đơn bội). Trồng với mật độ khoảng cách, hàng

cách hàng 70cm, cây cách cây 25cm. Khi cò mẹ trở tiến hành khử bỏ, lấy phần cây ngô bố thụ sang râu cây ngô mẹ từ 2 - 3 lần/bấp

- *Phân loại hạt đơn bội:* Sử dụng đèn soi hạt chuyên dụng có hỗ trợ kính lúp để nhận biết hạt đơn bội, những hạt có phôi màu trắng nội nhũ màu tím.

- *Lưỡng bội hóa NST cây đơn bội và chăm sóc cây Do*

+ Lưỡng bội hóa NST cây đơn bội: Ủ hạt nảy mầm cho đến khi đạt đúng kích thước, cắt rễ và ngâm trong dung dịch Colchicine 0,06% + DMSO 0,5% trong thời gian 12 giờ.

+ Chăm sóc cây con Do: Sử dụng các loại phân qua lá, phân bón hữu cơ, vô cơ bón cho cây qua từng giai đoạn và phun phòng trừ các loại sâu bệnh hại cho cây.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tạo và phân loại hạt đơn bội

1.1. Lai tạo hạt đơn bội

Nguồn vật liệu sử dụng rút dòng là các quần thể, giống lai đơn, lai ba, lai kép, OPVs và giống địa phương nên có khả năng sinh trưởng và chống chịu sâu bệnh tốt do đó chế độ chăm sóc cho những cây ngô mẹ như sản xuất ngô thông thường. Tuy nhiên, đối với cây ngô bố (inducer) do vẫn có một phần nguồn gốc ôn đới, khi trồng trong môi trường nhiệt đới cây sinh trưởng và phát triển kém hơn, dễ nhiễm các loại sâu bệnh nên cần chăm sóc cẩn thận hoặc lựa chọn vùng sinh thái thích ứng cho cây.

Để nâng cao hiệu quả của quá trình thụ phấn, thụ tinh và tỷ lệ kết hạt, các nguồn vật liệu cho rút dòng (cây mẹ) được phân nhóm theo thời gian sinh trưởng. Cây bố gieo làm 2 đến 3 đợt để có thể cung cấp đủ phấn cho cây mẹ. Trong quá trình tung phấn phun râu, thụ phấn bổ khuyết bằng tay là việc làm cần thiết nhằm tăng tỷ lệ kết hạt.

Chọn thời điểm thu hoạch đối với sản xuất hạt đơn bội là vấn đề được quan tâm, đặc biệt với vùng khí hậu nóng ẩm thu hoạch đúng thời điểm giúp cho quá trình phân loại hạt đơn bội dễ dàng hơn.

1.2. Phân loại hạt đơn bội

Mục tiêu của phân loại hạt đơn bội là lựa chọn đúng những hạt đơn bội, loại bỏ những hạt lai và hạt lẫn tạp. Việc phân loại hạt dựa trên cơ sở biểu hiện sắc tố màu tím trên nội nhũ (endosperm) và trong phôi (embryo) quy định bởi gen R1- n_j. Độ đậm nhạt, độ lớn của các điểm nhuộm phụ thuộc vào nền di truyền của cây ngô mẹ (H.H.Geiger; G.A.Gordillo, 2010 - Maize GDB at <http://maizegdb.org>).

Theo Geiger 2009, khi lai cây inducer với nguồn vật liệu cần rút dòng thu được các hạt với màu sắc khác nhau được phân ra như sau:

+ Những hạt được nhuộm màu ở phôi và nội nhũ là hạt lai bình thường.

+ Những hạt chỉ nhuộm màu ở nội nhũ phôi không nhuộm màu là hạt đơn bội.

+ Những hạt không nhuộm màu ở phôi và nội nhũ là những hạt tự thụ của cây ngô mẹ do bẻ cờ chưa sạch hoặc do thụ phấn với cây ngô khác ngoài ruộng đơn bội.

+ Trong một số trường hợp khi nguồn vật liệu rút dòng có chứa gen ức chế anthocyanine như C1-I thì hạt không biểu hiện màu.

2. Kỹ thuật lưỡng bội nhiễm sắc thể (NST) và chăm sóc cây Do

2.1. Kỹ thuật lưỡng bội nhiễm sắc thể

Lưỡng bội NST nhân tạo là một hạn chế của phương pháp chọn tạo dòng bằng cây kích tạo đơn bội ở cây ngô. Hiện tượng tự lưỡng bội NST trong tự nhiên xảy ra rất ít ở một số nguồn gen (Chase, 1964; Shatskaya và các cộng sự, 1994a). Tìm ra phương pháp lưỡng bội bằng colchicine là một thành công trong chọn tạo dòng bằng cây kích tạo đơn bội. Colchicine phá vỡ quá trình nguyên phân bởi ngăn việc hình thành bộ máy phân bào, ở đây là ngăn hình thành các vi ống (sợi tơ vô sắc) do đó NST không

di chuyển về 2 cực ở pha sau, kết quả là một tế bào được lưỡng bội NST (Hancock, 1997).

Bước đột phá trong quá trình xử lý colchicine thực hiện bởi Gayen và cộng sự (1994). Cắt mầm, rễ cho vào dung dịch colchicine 0,06% và DMSO 0,5% (dimethyl sulfoxid) trong 12 giờ ở 18°C. DMSO có tác dụng làm tăng tính thấm và tăng khả năng hấp thu hóa chất của tế bào (Hamill và các cộng sự, 1992).

Tỷ lệ lưỡng bội NST trung bình 49%, khoảng 50 - 60% cây được lưỡng bội cho phần và có thể tự thụ thành công. Cứ 3 cây xử lý colchicine có một cây kết hạt (Eder và Chalyk, 2002). Colchicine rất độc với con người, giá thành đắt nên hiện nay một số công ty đã chuyển hướng sang nghiên cứu sử dụng hóa chất khác thay thế để lưỡng bội NST bằng cách phun hóa chất lên cây con đơn bội ở giai đoạn cây có từ 3 - 5 lá.

2.2. Chăm sóc cây đơn bội kép (D_0) ở vườn ươm

Sau khi xử lý colchicine cây con được trồng trong nhà lưới, ở điều kiện đủ ẩm độ để cây phát triển tốt. Thời gian trong nhà lưới dao động từ 20 - 25 ngày, trong thời gian này cây được chăm sóc cẩn thận để có đủ sức sống trước khi trồng trên đồng ruộng.

2.3. Kỹ thuật trồng và chăm sóc cây đơn bội kép (D_0) trên đồng ruộng

Cây con chuyển ra đồng ruộng có độ tuổi từ 4 - 5 lá, sau khi xử lý colchicine cây rất mẫn cảm với điều kiện thời tiết và sâu bệnh hại, nếu chuyển ra quá sớm tỷ lệ cây sống sẽ thấp. Để tăng tỷ lệ sống của cây nên chọn những ngày râm mát với ẩm độ không khí cao để ra bầu và cung cấp đủ nước cho cây ngay sau đó.

Cũng như tạo hạt đơn bội, địa điểm và thời vụ gieo trồng là nhân tố quan trọng tạo

thành công. Địa điểm và thời vụ gieo trồng được bố trí sao cho giai đoạn trở cò tung phấn phun râu gặp nhiệt độ trong khoảng 27 - 30°C, nếu nhiệt độ cao quá hay thấp quá đều ảnh hưởng đến tỷ lệ kết hạt.

Chăm sóc, phòng trừ sâu bệnh được quan tâm trong suốt thời gian sinh trưởng và phát triển của cây. Hầu hết cây đơn bội kép thường mẫn cảm với các loại sâu bệnh hại và cho rất ít phần trong giai đoạn trở cò, cần cung cấp đủ nước, dinh dưỡng, phun phòng các loại sâu bệnh hại giúp cho cây có bộ lá, bộ rễ khỏe mạnh, sinh trưởng tốt trước khi bước vào giai đoạn tung phấn phun râu.

Trong quá trình trồng và quản lý cây, việc loại trừ cây lẫn (cây lai) cũng rất cần thiết. Cây lai được loại bỏ để tránh việc cạnh tranh dinh dưỡng, ánh sáng với cây đơn bội kép cũng như lẫn tạp phần trong quá trình thụ phấn thụ tinh. Phân biệt giữa cây đơn bội kép và cây lai được dựa trên hình thái của chúng như kích thước, hình dáng, màu sắc thân và lá, sức sống.

Cây đơn bội thường không có phần, sau khi lưỡng bội bằng colchicine chúng mới có khả năng hữu thụ, chỉ một số ít cây cho nhiều phần còn lại đa số có lượng phần rất ít, thời gian tung phấn và phun râu thường không trùng nhau. Trong suốt quá trình tung phấn phun râu, hàng ngày cần phải theo dõi, cách ly và cắt đầu bắp rút ngắn thời gian chênh lệch giữa tung phấn và phun râu. Để tăng tỷ lệ kết hạt/bắp cần thụ phấn bổ khuyết từ 2 đến 3 lần.

IV. KẾT LUẬN

Công nghệ tạo dòng ngô thuần bằng cây kích tạo đơn bội là công nghệ tạo dòng đơn bội kép mới (In Vivo Double Haploid in Maize) có nhiều ưu điểm hơn so với các phương pháp tạo dòng khác. Công nghệ này đã và đang được ứng dụng rộng rãi ở các

nước phát triển, đặc biệt là ở một số công ty giống đa quốc gia.

Cây kích tạo đơn bội đã được trồng thí điểm ở một số vùng sinh thái khác nhau tại Việt Nam như: Đức Trọng - Lâm Đồng, Hà Nội. Qua theo dõi đánh giá sinh trưởng phát triển, duy trì và tỷ lệ đơn bội của cây kích tạo cho thấy cây sinh trưởng, phát triển tốt và cho tỷ lệ đơn bội từ 6 - 8% ở một số nguồn vật liệu ưu tú, số hạt đơn bội thu được đã được xử lý đa bội đang được trồng, theo dõi và đánh giá tại Viện Nghiên cứu Ngô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. B.M. Prasanna, Vijay Chaikam and George Mahuku(eds), 2012. *Doubled Haploid Technology in Maize Breeding: Theory and Practice*. Mexico, D.F.: CIMMYT.
2. Vanessa Prigge, Ciro Sánchez, Baldev S. Dhillon, Wolfgang Schipprack, José Luis Araus, Marianne Bänziger, and Albrecht E. Melchinger (2011a) *Doubled haploids in tropical maize: I. Effects of Inducers and Source Germplasm on in vivo Haploid Induction Rates*. *Crop Sci* 51:1498 - 1506.
3. H.H. Geiger, G.A. Gordillo, 2009. *Double haploids*. P. 641 - 657 in Bennetzen, J.L, and S. Hake (eds.), *Maize Handbook - Volume II: Genetics and Genomics*, Springer Science and Business Media LLC.
4. F.K. Röber, G.A. Gordillo, H.H. Geiger, 2005. *In vivo haploid induction in maize performance of new inducers and significance of doubled haploid lines in hybrid breeding*. *Maydica* 50: 275 - 283.
5. George Mahuku, 2011. *Double haploids in plant improvement: Induction strategies and applications*.
6. Vanessa Prigge, Wolfgang Schipprack, George Mahuku, Gary N. Atlin, and Albrecht E. Melchinger, 2011. *Development of in vivo haploid inducers for tropical maize breeding programs*.

Ngày nhận bài: 18/3/2013

Người phản biện: TS. Mai Xuân Triệu,
ngày 25/3/2013

Ngày duyệt đăng: 15/4/2013

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG CHỊU MẶN CỦA CÁC TỔ HỢP NGÔ LAI Ở GIAI ĐOẠN CÂY CON

Nguyễn Hữu Hùng, Lương Văn Vàng,
Ngô Thị Minh Tâm, Vũ Hoài Sơn.

SUMMARY

Evaluation of salt tolerance ability on maize hybrids at seedling stage

The study was conducted at National Maize Research Institute with 24 named maize hybrids as STM1 to STM24 at five different salt concentrations were 0; 50; 100; 150; 200 mM NaCl. After 7 days germinated in room temperature, seedlings were transplant to nutrient solutions salinized with salt. 17 days old seedlings were harvested for calculating of growth parameters as day to seedlings fully wilt and degradation, root and shoot length, seedling dry matter production, content. As the study results, salt stress reduced plant growth of all hybrids but the STM10 and STM21 were showed better salt tolerance, while STM17 and STM18 presented salt-sensitive. The analysed