

CHƯƠNG 4

SỬ DỤNG THỂ ĐA BỘI VÀ ĐƠN BỘI TRONG CHỌN GIỐNG CÂY TRỒNG

Giới thiệu:

Đa bội và đơn bội là loại đột biến NST, mỗi loại đột biến sẽ có ý nghĩa và đóng vai trò góp phần tạo nên sự đa dạng loài ở thực vật.

Mục tiêu:

Kiến thức:

- + Trình bày được khái niệm thể đa bội, đơn bội
- + Trình bày được vai trò của thể đa bội trong chọn giống cây trồng
- + Trình bày được ý nghĩa của thể đơn bội

Kỹ năng:

- + Biết được một số phương pháp xử lý đa bội

Năng lực tự chủ và trách nhiệm:

- + Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ham học hỏi
- + Vận dụng các ưu điểm của thể đa bội, đơn bội vào thực tế sản xuất

* Nội dung chương:

1. Thể đa bội

1.1 Khái niệm và giá trị của thể đa bội trong chọn giống

Hiện tượng đa bội khá phổ biến trong tự nhiên và có thể phân ra làm hai nhóm chính : đa bội cân (Euploid) và đa bội lệch (Aneuploid). Đa bội lệch là thể đa bội mà số nhiễm sắc thể không trùng hợp với bội số của bộ nhiễm sắc thể đơn (x). Nếu bộ nhiễm sắc thể đơn của loài nào đó là x và số nhiễm sắc thể của tế bào xôma là $2x$ thì thể đa bội lệch sẽ có một hoặc vài nhiễm sắc thể nhiều hơn hoặc ít hơn $2x$. Sự thừa hoặc thiếu một số nhiễm sắc thể này gây ra tình trạng mất cân bằng của kiểu gen nên các thể đa bội lệch thường có sức sống kém. Trái lại, thể đa bội cân có ý nghĩa quan trọng trong sự tiến hóa của sinh vật và trong chọn giống cây trồng. Vì lý do đó chương này chỉ đề cập đến trường hợp đa bội cân. Đa bội hóa là một trong những hướng tiến hóa chính của thực vật nói chung, cũng như cây trồng nói riêng. Nhìn chung, gần phân nửa số chỉ thực vật có các dạng đa bội. Cây thân gỗ có ít loại hình đa bội hơn cây thân thảo. Cây song tử diệp có ít loại hình đa bội hơn cây đơn tử diệp. Trong số cây thân thảo thì cây lâu năm có nhiều loại hình đa bội hơn cây sống một năm. Một số loài thực vật có họ hàng với nhau hợp thành một dãy đa bội, có thể xếp theo trình tự tăng dần các bội số của bộ nhiễm sắc thể cơ bản. Việc nghiên cứu các thể đa bội trong tự nhiên cho thấy hầu như tất cả các dạng đa bội sinh sản bằng hạt là thể dị đa bội chứ không phải tự đa bội. Dãy đa bội của chi *Triticum* là một dẫn chứng điển hình về mặt này. Chi này gồm ba nhóm có số nhiễm sắc thể cơ bản $n = 7, 14$ và 21 . E. R. Sears đã chứng minh là các thể nhiễm sắc trong giao tử của lúa mì lục bội ($n = 21$) tạo thành bảy nhóm ba nhiễm sắc thể. Dạng đa bội cân gồm hai nhóm nhỏ : tự đa bội (autopolyploid), có bộ nhiễm sắc thể đơn cơ bản được lặp lại nhiều lần : và dị đa bội (allopolyploid), khi bộ nhiễm sắc thể đơn của thể đa bội gồm các bộ nhiễm sắc thể cơ bản có nguồn gốc

khác nhau. Ví dụ, một thể dị tứ bội nào đó có nguồn gốc từ hai loài A và B. Bộ nhiễm sắc thể cơ bản của loài A là x_1 , còn bộ nhiễm sắc thể cơ bản của loài B là x_2 , bộ nhiễm sắc thể của giao tử thể dị đa bội n sẽ là X_1x_2 còn bộ nhiễm sắc thể của thể dị tứ bội là $x_1x_1x_2x_2$. Sự hình thành thể tứ bội thường là do kết quả của quá trình lưỡng bội hóa cây nhị bội hay giao phối giữa hai thể tứ bội khác nhau. Hiện tượng lưỡng bội hóa có thể xảy ra ở một tế bào sinh dưỡng. Nếu tế bào ấy sau đó phân chia bình thường thì sẽ hình thành một nhóm tế bào hoặc mô tế bào. Trong trường hợp cây có khả năng sinh sản vô tính, thì từ các mô này có thể hình thành một cơ thể mới hoàn toàn tứ bội. Hạt từ bộ phận tứ bội có thể cho đời sau tứ bội ổn định. Trong tự nhiên các chi thực vật gồm thể lưỡng bội và thể đa bội, thì các thể đa bội thường ở mức tiến hóa cao hơn. Đối với các loại cây trồng có nhiều thể bội khác nhau, thì thường dạng nào có số lượng nhiễm sắc thể lớn hơn sẽ có giá trị cao hơn. Ví dụ, lúa mì mềm lục bội có sản lượng cao hơn và được phổ biến rộng nhất, chiếm hơn 80% tổng diện tích trồng lúa mì trên thế giới. Lúa mì tứ bội thường kém hơn về năng suất, chỉ được gieo trồng trên 10-11% tổng diện tích lúa mì. Dạng nhị bội chỉ được trồng trên diện tích nhỏ. Một điển hình khác về mặt này là dây đa bội của khoai tây, gồm các dạng nhị bội, tam bội và tứ bội. Các giống khoai tây được trồng rộng rãi hiện nay thuộc dạng tứ bội. Bộ gen của thể tứ bội không có thêm gen mới nào so với bộ gen của dạng lưỡng bội gốc, tính trạng thường có cùng dạng như ở thể lưỡng bội, nhưng cách biểu hiện ra kiểu hình có mạnh hơn. Ở thể nhị bội, tuy cũng không có thêm gen nào khác hơn hai bộ gen lưỡng bội của các dạng cha mẹ, nhưng ở đây nhờ sự chọn lọc trên cơ sở của sự hình thành các tổ hợp và cân bằng gen mới, nên cây dị tứ bội thường có tính thích ứng cao hơn. Về mặt hình thái, so với cây nhị bội, các dạng đa bội thường có thân cao hơn, lá to dày hơn có màu sắc xanh đậm hơn, hạt phấn, hoa quả, hạt và kích thước khí khổng, tế bào lớn hơn. Người ta thường dựa vào kích thước khí khổng và hạt phấn để phân biệt dạng đa bội với dạng nhị bội. Việc gia tăng số nhiễm sắc thể cơ bản ở các dạng đa bội cũng gây ra những biến đổi sinh lý, hóa sinh, như áp suất của dịch tế bào giảm, nhịp độ phân chia tế bào bị chậm lại, độ dài của thời kỳ sinh trưởng sinh dưỡng tăng lên. Trong một số trường hợp, thành phần hóa sinh của một số dạng đa bội thay đổi theo hướng có lợi, như gia tăng hàm lượng đường (trong các dạng củ cải đường tam bội, tứ bội) hàm lượng vitamin (như ở cà chua, nho đa bội), hàm lượng dược liệu. Thông thường tính hữu thụ của các dạng tứ bội bị giảm mạnh hơn các dạng dị đa bội. Nguyên nhân của sự giảm sút mạnh tính hữu thụ ở các dạng tứ bội là sự rối loạn trong quá trình tiếp hợp và phân ly các thể nhiễm sắc tương đồng với số lượng lớn hai khi phân bào giảm nhiễm. Điều đó dẫn đến sự hình thành số lớn giao tử với số nhiễm sắc thể không cân bằng, có sức sống yếu. Trong trường hợp này tính bất dục của hạt phấn biểu hiện mạnh hơn tế bào trứng. Một nguyên nhân khác cũng làm giảm tính hữu thụ ở các dạng tứ bội là sự thiếu cân bằng giữa cấu trúc nguyên sinh chất và nhân tế bào, đưa đến sự rối loạn sinh lý. Vì tính bất thụ cao mà số lượng các thể tứ bội trong tự nhiên tương đối ít. Một số loài mà lúc đầu người ta tưởng là những thể tứ bội vì dựa trên cơ sở chung giống những thể nhị bội đã biết, thì trong quá trình nghiên cứu tiếp theo đã tỏ rõ là những loài được tạo thành từ một số dạng ban đầu không thân thuộc với nhau về mặt di truyền. Tuy những loài tứ bội trong tự nhiên không nhiều như người ta nghĩ trước kia, nhưng tần số cao của các loài có số nhiễm sắc thể khác nhau trong cùng một chi cho thấy vai trò của hiện tượng tứ bội trong sự tiến hóa

của thực vật. Cây lai khác loài thường có tính bất thụ cao, vì các thể nhiễm sắc nhận được từ các loài cha mẹ không tương đồng với nhau nên dẫn đến sự rối loạn trong quá trình phân bào giảm nhiễm. Tuy nhiên những dạng tứ bội khác nguồn chứa hai bộ nhiễm sắc thể của mỗi một trong hai cha mẹ nhị bội, trong quá trình phân bào giảm nhiễm, sự tiếp hợp giữa những cặp nhiễm sắc thể tương đồng nói trên vẫn diễn ra bình thường, vì vậy cây có tính hữu thụ đầy đủ. Ngày nay ngoài những loại cây mà bộ phận kinh tế là các cơ quan sinh dưỡng như củ làm thức ăn gia súc, rau, củ cải đường, dâu tằm . . . các nhà chọn giống đã tạo ra được một số giống cây lấy hạt đa bội có giá trị. Trong giai đoạn đầu, thành công tiêu biểu nhất trong việc xử lý Colchicine để tạo giống cây lấy hạt là những trường hợp đối với lúa mạch đen. Các giống lúa mạch đen tứ bội $2n = 28$ (thay vì $2n = 14$), có kích thước hạt to lớn, có khả năng nảy mầm tốt trong những điều kiện bất lợi của môi trường và có hàm lượng protein cao. Các giống lúa mạch đen tứ bội được tạo ra ở Cộng hòa dân chủ Đức, Thụy Điển có thân ngắn, không đổ ngã đã có phẩm chất hạt cao. Viện Hàn Lâm Khoa học Liên Xô đã tạo ra giống lúa mạch đen tứ bội có năng suất cao.

1.2. Phương pháp xử lý đa bội hóa

*** Gây chấn thương cơ giới**

Cách xử lý theo phương pháp này là gây chấn thương bằng cách cắt ngọn, cắt cành, cắt ngang chỗ ghép . . . Phương pháp này đơn giản dễ làm, ít tốn kém, nhưng chỉ có hiệu quả tốt ở một số loài thực vật. Hiệu quả tốt nhất thu được ở các loài thuộc chi Solanum. Đặc biệt đối với cà chua, hiệu quả có thể đạt đến trên 10%.

Cơ sở của phương pháp này là chỗ vết thương sau khi xử lý thường hình thành mô sẹo, từ đó phát sinh các tế bào đa bội hóa và sau cùng là những mầm đa bội. Cắt những mầm đa bội này đem nhân vô tính sẽ thu được cây đa bội hoàn chỉnh. Nguyên nhân gây chấn thương làm phát sinh các tế bào đa bội là sự phân chia tế bào chất chỗ vết thương bị chậm lại so với sự phân chia nhân, dẫn đến kết quả là hình thành tế bào có hai nhân, sau đó chuyển thành dạng đa bội. Trong trường hợp ghép cây, chỗ tiếp giáp giữa gốc ghép và cành ghép cũng có thể phát sinh các chồi đa bội. Nếu các chồi này được tách và nhân ra theo con đường sinh sản sinh dưỡng thì cũng có thể tạo ra các dòng đa bội. Việc xử lý phải tiến hành lúc cây còn non. Sau khi cắt cành ngọn, để cho cây tập trung chất dinh dưỡng nuôi mô sẹo chỗ xử lý cần cắt bỏ các mầm nách.

*** Tạo sốc nhiệt**

Theo phương pháp này cây xử lý được đưa vào môi trường nhiệt độ cao đột ngột và giữ trong điều kiện đó một thời gian nhất định. Sự tăng nhiệt độ đột ngột này có thể ảnh hưởng đến cả sự phân bào nguyên nhiễm và phân bào giảm nhiễm, dẫn đến việc hình thành tế bào đa bội. Để tạo dòng bắp đa bội L.F. Randolph (1932) đã tạo sốc nhiệt ở lần phân bào đầu tiên của hợp tử sau khi thụ tinh. Thời gian xử lý kéo dài 24 giờ ở nhiệt độ 43 - 45°C. Trong quá trình phân bào giảm nhiễm để tạo thành hạt phấn cây lúa, nếu xử lý nhiệt độ 43°C thì có thể thu được hạt phấn lưỡng bội hoặc đa bội.

*** Xử lý bằng các chất hóa học**

Người ta đã xác định một số hóa chất có khả năng gây đa bội hóa như colchicine, gamexan, hyprit, acenaphthene, sulfamidamide, chloral hydrate, ethyl mercury chloride . Trong số đó Colchicine là chất cho hiệu quả cao nhất, nên là chất chủ yếu

được sử dụng vào mục đích này. Khi ngưng sự tác động của hóa chất thì tế bào lại có khả năng phân chia bình thường và tạo nên các tế bào tứ bội. Từ khối tế bào tứ bội này sẽ phát sinh các chồi tứ bội và các chồi này có thể cho hạt mà từ đó sẽ mọc lên cây tứ bội. Để cho các mô đa bội không bị các mô lưỡng bội cạnh tranh, cần cắt bỏ những phần ngi là lưỡng bội. Hiệu quả của phương pháp xử lý bằng colchicine phụ thuộc vào nhiều yếu tố như đặc điểm sinh học của loài, giai đoạn xử lý, bộ phận xử lý, thời gian, nồng độ dung dịch, nhiệt độ của môi trường. v . . v . Tác động gây đa bội của colchicine diễn ra vào lúc tế bào đang phân chia, vì vậy bộ phận xử lý có hiệu quả nhất là mô phân sinh, nơi có quá trình phân chia tế bào mạnh nhất. Thường người ta xử lý lấy hạt nảy mầm, điểm sinh trưởng của cây con, mầm mới nứt, nụ hoa. v . . v . Tính cảm ứng của các loại cây trồng với colchicine biểu hiện không giống nhau, vì vậy mà điều kiện xử lý thích hợp đối với từng loại cây trồng cần được xác định bằng thực nghiệm. Thông thường đối với những cây có tế bào phân chia nhanh thì dùng nồng độ colchicine thấp, thời gian xử lý ngắn, ngược lại, cây có tế bào phân chia chậm, thì dùng nồng độ cao với thời gian xử lý dài. Nồng độ dung dịch colchicine thường dùng để xử lý hạt thay đổi trong khoảng 0,01 - 0,2%, còn khi xử lý điểm sinh trưởng của cây dùng nồng độ cao hơn, khoảng 0,5 - 2%. Thời gian xử lý có thể kéo dài từ vài giờ đến 10 ngày. Nhiệt độ thích hợp cho việc xử lý nằm trong khoảng 15 - 25°C. Nhiệt độ xử lý càng thấp thì càng phải tăng nồng độ colchicine và thời gian xử lý.

Cần lưu ý nếu thời gian xử lý vượt quá một chu kỳ phân chia tế bào, thì số lượng nhiễm sắc thể trong tế bào không chỉ tăng lên gấp đôi, mà có thể là gấp 4 hay hơn nữa. Ví dụ, chu kỳ phân chia tế bào ở rễ hành là 4 giờ; sau khi xử lý 7 phút thì colchicine thấm vào mô và sau 30 phút đã ảnh hưởng đến sự phân chia tế bào, vì vậy nếu thời gian xử lý chỉ 30 phút thì sẽ xuất hiện một số tế bào tứ bội ($2n = 4x$), còn nếu thời gian xử lý kéo dài 1- 2 giờ thì sẽ xuất hiện một số tế bào $2n = 8x$, xử lý 72 giờ xuất hiện số tế bào $2n = 32x$. Khi kết thúc xử lý, cần rửa kỹ các đối tượng xử lý bằng nước để tránh ảnh hưởng của lượng colchicine còn dính lại .

1.3 Sử dụng thể đa bội trong chọn giống

Sau khi phát hiện ra tác động gây đa bội hóa của colchicine vào năm 1937, không ít nhà chọn giống hy vọng nó sẽ mở ra con đường dẫn đến một cuộc cách mạng mới trong nông nghiệp. Trong những năm tiếp sau đó, các nhà khoa học đã dành nhiều công sức để tạo giống đa bội trên nhiều loại cây trồng khác nhau. Hai mươi năm sau bước bực phát ban đầu, nhiệt tình đối với hướng nghiên cứu này đã giảm nhiều vì số dạng đa bội tạo được có giá trị nông nghiệp quá ít ỏi. Phần lớn các dạng đa bội thu được hoặc bất dục, hoặc có khả năng sinh sản thấp và không ổn định về mặt di truyền. Nguyên nhân của hiện tượng trên có thể là do bản thân nhiều loại cây trồng hiện nay đã là đa bội, vì vậy việc nhân đôi số lượng nhiễm sắc thể thường vượt quá mức tối thích của loài, nên các dạng thu được có sức sống kém hơn dạng ban đầu. Quan điểm về hướng tạo giống đa bội. Phần lớn các dạng đa bội nhân tạo không ứng dụng được trực tiếp trong sản xuất, vì vậy việc tạo ra các dạng đa bội mới chỉ là bước đầu. Muốn phát huy tác dụng của các dạng đa bội thu được, thường cần phải qua các khâu lai tạo và chọn lọc đòi hỏi nhiều thời gian và công sức. Việc sử dụng các thể đa bội phụ thuộc rất lớn vào đặc điểm sinh sản và bộ phận nào là bộ phận kinh tế của cây trồng. Thường tính hữu thụ của các dạng đa bội, nhất là các dạng tự đa bội bị giảm thấp so với dạng

nhị bội ban đầu. Tuy nhiên đối với cây sinh sản vô tính, mà bộ phận kinh tế là các cơ quan sinh dưỡng thì tính bất dục lại có lợi, nên trong trường hợp này hướng tạo giống đa bội có nhiều triển vọng. Ví dụ, giống bạc hà Mitham tứ bội có năng suất tinh dầu vượt gấp đôi so với dạng nhị bội ban đầu, nhờ năng suất sinh học tăng 85% và hàm lượng dầu tăng 16%. Hướng tạo giống tam bội cũng đạt được nhiều kết quả khả quan đối với một số loại cây trồng như củ cải đường khoai tây, dưa hấu. Những cố gắng nhằm nâng hàm lượng đường trong các giống củ cải đường lên trên 20% trong một thời gian dài không đạt được kết quả mong muốn. Các dạng tứ bội được tạo ra cũng không có ưu thế gì hơn so với dạng nhị bội ($2x = 18$). Tuy nhiên, khi lựa chọn cặp cha mẹ tứ bội và nhị bội thích hợp để lai thì người ta đã thu được dạng tam bội ($3n = 27$) vừa có năng suất củ cao vừa có hàm lượng đường trong củ trên 20%. Với các giống tam bội này, sản lượng đường trên một đơn vị diện tích gia tăng 15-20% so với giống nhị bội. Giống dưa hấu tam bội đầu tiên do Kihara và các cộng tác viên tạo ra ở Nhật, năm 1957. Để tạo giống tam bội, đầu tiên người ta xử lý colchicine các dạng nhị bội ($2n = 22$) để tạo ra dạng tứ bội ($4x = 44$). Lai dạng tứ bội với dạng nhị bội sẽ thu được hạt lai tam bội có sức sống bình thường. Cây dưa hấu tam bội cho trái không hạt, hay nói đúng hơn là chỉ có hạt lép, nhỏ, trắng, mềm giống như hạt dưa chuột non. Đối với những cây sinh sản bằng hạt, nhưng bộ phận kinh tế là các cơ quan sinh dưỡng, thì cũng không gặp trở ngại lớn và sự giảm thấp tính hữu thụ ở các dạng đa bội. Người ta sẽ tạo được nhiều giống củ ba lá tứ bội, làm thức ăn cho gia súc, có năng suất cao, chịu lạnh khá, ít bị sâu phá hại. Một hướng có triển vọng trong chọn giống khoai tây là tạo các thể song lưỡng bội bằng cách đa bội hóa các tổ hợp lai khác loài, như lai khoai tây trồng *Solanum tuberosum* với khoai tây dại, *S. macolae* để tạo giống có sức đề kháng cao với tuyến trùng.

2. Thể đơn bội và ý nghĩa của nó trong chọn giống

2.1 Khái niệm thể đơn bội

Thể đơn bội là một cây được hình thành từ giao tử, có số nhiễm sắc thể bằng số nhiễm sắc thể của giao tử đặc trưng của loài. Nhìn chung, các thể đơn bội trong tự nhiên khá phổ biến ở nhiều loài thực vật, tuy xuất hiện với tần số rất thấp. Có ba trường hợp chính có thể dẫn tới sự hình thành thể đơn bội trong tự nhiên là: Trinh sinh (parthenogenesis), mẫu sinh (gynogenesis), và phụ sinh androgenesis).

2.2 Ý nghĩa thể đơn bội trong chọn giống

Việc ứng dụng ưu thế lai ở cây gi-ô phần chủ yếu dựa trên cơ sở của sự kết hợp giữa các dòng đồng hợp tử. Đối với các cây tự thụ phấn, cho đến nay, các giống mới được chọn tạo và đưa vào sản xuất phần lớn là các dòng thuần từ các tổ hợp lai. Quá trình tạo dòng đồng hợp tử ở cây giao phấn cũng như tạo dòng thuần của cây tự thụ phấn đòi hỏi một thời gian dài, thường là 7 đến 10 vụ. Đây là khâu đòi hỏi nhiều thời gian và công sức nhất trong quá trình chọn giống. Để khắc phục khó khăn này, người ta nghiên cứu phương pháp rút ngắn thời gian tạo dòng đồng hợp tử thông qua thể đơn bội.

Trong một trường hợp sự thụ tinh có xảy ra, nhưng các nhân sinh sản đực và cái của các giao tử không dung hợp với nhau được. mặc dù sự thụ tinh thứ cấp vẫn dẫn tới sự tạo thành phôi nhũ một cách bình thường; nếu nhân sinh sản đực bị tiêu đi

thì thể đơn bội được hình thành theo cách mầu sinh, còn nếu nhân sinh cái bị tiêu đi (trường hợp này rất hiếm) thì thể đơn bội được hình thành theo cách phụ sinh. Thể đơn bội thường bất thụ nên hầu như không cho hạt, nhưng nếu phát hiện chúng được sớm ở giai đoạn cây con và xử lý đa bội hóa nhân tạo, thì sẽ thu được cây lưỡng bội hữu dục đồng hợp tử về tất cả các gen. Bằng cách tự phối thông thường thậm chí đến 10 thế hệ cũng không thu được những dòng đồng hợp tử như vậy. Giữa các thể đơn bội và các thể lưỡng bội thu được do nhân đôi số nhiễm sắc thể lên, có những mối tương quan về một số tính trạng. Điều đó cho phép tiến hành chọn lọc ngay từ giai đoạn đơn bội với khối lượng công việc ít hơn nhiều so với việc chọn lọc thông thường ở cây nhị bội. Lý thuyết về khả năng thu nhận những dòng đồng hợp tử thông qua thể đơn bội được Navasin và cacpêtrencô đề xuất từ hơn 30 năm trước. Theo phương pháp này người ta đã thu được một số dòng bắp đồng hợp tử. Tuy nhiên khó khăn trong việc này cũng không nhỏ. Do tỉ lệ cây đơn bội xuất hiện trong tự nhiên rất bé, nên phát hiện được cây đơn bội từ giai đoạn cây con thật không phải là một vấn đề dễ dàng. Đó là chưa nói đến khó khăn trong việc lưỡng bội hóa các cây đơn bội đã được phát hiện đó. Để gia tăng khả năng phát hiện những cây bắp đơn bội Traizor (1949) đã sử dụng những dòng bắp đặc biệt. Một số trong các dòng này đồng hợp tử theo hàng loạt gen lặn biểu hiện qua hình thái ở giai đoạn cây con; còn một số dòng khác đồng hợp tử theo hàng loạt gen trội. Lai những dòng này với nhau, lấy những dòng có nhiều gen đồng hợp lặn làm mẹ, còn những dòng kia làm cha. Con lai thu được sẽ mang tính trạng trội của dòng cha. Trong trường hợp hạt sinh sản đơn tính, tức không được thụ trước, thì cây lai sẽ tính trạng lặn của dòng mẹ, nhờ vậy mà người ta có thể phát hiện được dễ dàng những cây đơn bội này. Nếu việc kiểm tra nhiễm sắc thể ở tế bào rễ xác nhận đúng là cây đơn bội thì tiến hành xử lý colchicine để thua nhận cây nhị bội đồng hợp tử. Khả năng tạo các dòng thuần thông qua thể đơn bội chỉ trở thành hiện thực đối với việc chọn giống cây trồng khi con người có thể chủ động tạo ra hàng loạt cá thể đơn bội một cách dễ dàng. Kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào hiện đại đã mở ra những triển vọng rất sáng sủa cho việc tạo dòng đồng hợp tử thông qua thể đơn bội. Theo phương pháp này người ta nuôi cấy hạt phấn trong môi trường nhân tạo để hạt phấn phát triển thành những khối tế bào vô tổ chức (callus). Đây là các tế bào đơn bội được hình thành do quá trình phân bào nguyên nhiễm từ hạt phấn, có số lượng nhiễm sắc thể bằng 1n. Thông qua thành phần hóa học của môi trường và các yếu tố ngoại cảnh khác người ta điều khiển cho hình thành những cây đơn bội từ những khối tế bào kể trên. Sau khi dùng colchicine để xử lý các cá thể đơn bội này, người ta thu được những cây nhị bội đồng hợp tử ở tất cả các locus. Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô và tế bào kể trên người ta có thể rút ngắn đáng kể quá trình, chọn giống cây trồng. Đối với cây thụ phấn, thay vì phải mất nhiều năm để tuyển chọn được các dòng thuần từ những tổ hợp lai thì với phương pháp mới kể trên người ta chỉ cần nuôi cấy hạt phấn của cây lai F1 để tạo cây đơn bội, sau đó xử lý colchicine và thu được cây nhị bội đồng hợp tử. Vấn đề hiện nay là hoàn chỉnh kỹ thuật nuôi cấy hạt phấn đối với từng loại cây trồng. Các nhà khoa học Trung Quốc đã tạo được một số giống lúa thông qua thể đơn bội theo phương pháp kể trên. Các giống lúa này có ưu điểm nổi bật về độ đồng nhất cao giữa các cá thể. việc nghiên cứu tạo giống lúa thông qua thể đơn bội ở nước ta đang được tiến hành ở Phân Viện Khoa học Việt Nam tại thành phố Hồ Chí Minh.

CÂU HỎI ÔN TẬP

Câu 1: Tầm quan trọng của thể đa bội trong chọn giống cây trồng?

Câu 2: Các phương pháp xử lý đa bội?

Câu 3: Ứng dụng của thể đa bội trong chọn giống?

Câu 4: Thể đơn bội là gì? Ý nghĩa của thể đơn bội trong chọn giống cây trồng?

Tailieu.vn

CHƯƠNG 5

ĐỘT BIẾN CẢM ỨNG VÀ CÁC DẠNG ĐỘT BIẾN TRONG CHỌN GIỐNG

Giới thiệu:

Nội dung bài nêu ý nghĩa, cách chọn lọc các đột biến trong chọn giống cây trồng

Mục tiêu:

Kiến thức:

- + Trình bày khái niệm và ý nghĩa của đột biến
- + Trình bày được cách phát hiện và chọn lọc đột biến

Kỹ năng:

- + Biết các phương pháp gây loại đột biến
- + Chọn lọc các đột biến có lợi

Năng lực tự chủ và trách nhiệm:

Biết vận dụng các cá thể đột biến có lợi để áp dụng vào thực tế.

* Nội dung chương:

1. Đột biến gen và ý nghĩa của nó trong chọn giống

1.1 Khái niệm đột biến gen

Đột biến gen là sự biến đổi cấu trúc của gen dẫn tới sự xuất hiện alen mới có chức năng biến đổi. Đột biến gen liên quan đến sự thay đổi hóa học trong thành phần của gen.

1.2 Ý nghĩa của đột biến gen

Đa số đột biến là có hại đối với sinh vật, thậm chí gây chết, nhưng cũng có một số ít đột biến có lợi, có ý nghĩa đối với sự tiến hóa của sinh vật hoặc trong chọn giống cây trồng. Điều này được giải thích bởi tính chất phức tạp và khá hoàn thiện của quá trình trao đổi chất điều khiển sự sinh trưởng và sinh trưởng đã được thiết lập qua quá trình chọn lọc tự nhiên lâu dài. Ngay các đột biến được xem là " có ích " cũng chỉ tỏ rõ những phẩm chất tích cực của chúng trong những điều kiện nhất định. Ngoài ra cũng cần lưu ý là ngay cả những đột biến gen có ích cũng thường có những tác dụng phụ làm hạn chế giá trị của chúng, thường gặp nhất là giảm năng suất.

Các loại cây trồng khác nhau, các gen khác nhau có tần số đột biến cũng khác nhau. Các cá thể F₁ dị hợp tử, nhờ sự chọn lọc sẽ có mức biểu hiện tối đa hoặc tối thiểu các alen đột biến mà ở các thế hệ sau đã tích lũy những nhân tố gây biến đổi bảo đảm hiệu quả của các alen xác định màu sắc khi chỉ có một liều lượng. Việc chọn lọc liên tục đã tích lũy những nhân tố gây biến đổi có tác động mạnh hơn và đã làm tăng tính trội hoặc tính lặn của những alen đột biến.

Tần số đột biến tự nhiên trung bình ở sinh vật thượng đẳng là $10^{-5} - 10^{-8}$.

Đột biến xuất hiện trong điều kiện tự nhiên gọi là đột biến tự phát. Mặc dù tần số đột biến của từng gen riêng biệt rất thấp, nhưng ở nhiều loại cây số lượng gen rất lớn nên tần số đột biến chung rất đáng kể. Các nhà chọn giống đã sử dụng những kết quả những dạng đột biến tự phát mang các tính trạng có lợi về kinh tế. Các dạng đột biến

này được dùng làm nguồn vật khởi đầu để lai tạo ra những giống cây trồng tốt. Ví dụ nhu dạng đột biến thấp cây lá đứng trên giống lúa Deegee Woogen đã được sử dụng để tạo ra các giống lúa cao sản.

Do tần số đột biến tự phát thường rất thấp, khó phát hiện, nên ngày nay các nhà chọn giống không thể chỉ trông chờ vào việc sử dụng các dạng đột biến tự phát. Các nhà khoa học đã xác định được một số tác nhân gây đột biến nhân tạo cho phép nâng tần số đột biến lên hàng trăm, hàng ngàn lần.

Hướng thứ nhất tỏ ra có triển vọng trong việc cải thiện từng đặc tính riêng lẻ của các giống đang dùng trong sản xuất, ví dụ như tính kháng bệnh, tính chống đổ ngã . . vì nó có khả năng giữ nguyên các đặc tính quý của giống. Song các dạng đột biến thường không đáp ứng được những đòi hỏi cao về nhiều mặt đối với giống cây trồng của nền nông nghiệp hiện đại. Các đột biến có ích thường đi kèm với những biến dị có hại. Vì lý do đó, trong phần lớn trường hợp các đột biến có lợi được sử dụng để đưa vào kiểu gen của giống mới thông qua con đường lai tạo. Tuy nhiên, cần nói là để cải tạo từng đặc tính riêng lẻ của một giống tốt nào đấy thì phương pháp hồi giao sẽ hứa hẹn những kết quả chắc chắn hơn nhiều. Riêng đối với cây ăn trái có khả năng nhân giống vô tính thì phương pháp đột biến có một số ưu thế đáng kể. Các loại cây ăn trái thường là những dòng vô tính (clone) có mức độ dị hợp tử cao, nên phương pháp hồi giao tỏ ra không thích hợp bằng.

Hướng chọn giống đột biến có một số ưu thế nhất định mà các phương pháp chọn giống khác không có được và đều không thể phủ nhận là các thành tựu chọn giống đột biến gia tăng với nhịp độ ngày càng nhanh. tuy nhiên, điều rất quan trọng là cần đánh giá đúng mức vai trò của phương pháp này trong chọn giống cây trồng nói chung.

2. Phương pháp gây đột biến nhân tạo

2.1 Gây đột biến bằng tác nhân lí học

Tác nhân vật lí được sử dụng để gây đột biến cảm ứng là các tia bức xạ, gồm hai loại : bức xạ ion hóa và không ion hóa.

*** Bức xạ không ion hóa**

Tia tử ngoại là bức xạ không ion hóa duy nhất có khả năng gia tăng tần số đột biến vượt xa tần số tự phát. Tia tử ngoại có bước sóng khá dài, từ 2.000 - 4.000 Å. Khi tác động lên đối tượng xử lý, tia tử ngoại không gây ra hiện tượng ion hóa mà chỉ kích thích hoạt tính của các phân tử. Tia tử ngoại có sức xuyên yếu, nên việc xử dụng nó để gây đột biến ở sinh vật bậc cao ít có hiệu quả, vì nó không có khả năng xuyên qua mô bao quanh các tế bào sinh dục. Tia tử ngoại được sử dụng có kết quả khi xử lý đột biến hạt phấn và vi sinh vật. Ít khi gặp những biến dị cấu trúc lớn trong thể nhiễm sắc khi xử lý bằng tia tử ngoại. Đối với hạt phấn và vi sinh vật tia tử ngoại gây ra tần số đột biến khá cao, nhờ có bước sóng trùng hợp với độ dài hấp thụ sóng của AND (2.650 Å). Điều này dẫn đến nhận định là tác động gây đột biến của tia tử ngoại được thực hiện thông qua sự hấp thụ bức xạ bởi AND của các thể nhiễm sắc.

*** Bức xạ ion hóa**

Khi xuyên qua tế bào sinh vật, các bức xạ ion hóa truyền năng lượng của mình cho các nguyên tử cấu trúc nên tế bào tạo nên các ion. Các ion chỉ được tạo nên dọc theo đường xuyên của bức xạ có những hạt mang điện tích đi qua. Những hạt này gây nên sự ion hóa khi chúng mất năng lượng lúc va chạm với các nguyên tử. Theo đà các

hạt cơ bản của tia bức xạ bị hãm chậm lại dần và khoảng cách giữa những ion được hình thành tiếp theo sẽ trở nên ngắn hơn, đến mức vào cuối đoạn đường đi thì các phân tử trên tạo nên "đuôi" ion hóa dày đặc. Mật độ của các ion được hình thành dọc theo đoạn đường đi thay đổi tùy theo những sự khác biệt về năng lượng ban đầu và tùy theo sự khác nhau về khối lượng của các phân tử trong tia bức xạ. Các bức xạ ion hóa làm hãm sự phân chia tế bào và sự tổng hợp axit nucleic, gây hiện tượng đứt thể nhiễm sắc và nhiễm sắc tử, làm thay đổi cấu trúc của thể nhiễm sắc, gây ra những biến đổi bên trong gen ở mức phân tử, cũng như tạo ra các sai lệch trong sự phân bào nguyên nhiễm và giảm nhiễm.

2.2. Gây đột biến bằng các tác nhân hóa học

Tác động hủy hoại lớn xảy ra ở liều lượng chiếu xạ cao, vì vậy để thu nhận được nhiều đột biến có giá trị, người ta dùng liều lượng chiếu xạ thấp hơn liều lượng tới hạn khoảng 1,5 đến 2 lần. Riêng đối với tia neutron nhanh thì liều lượng xử lý cần thấp hơn liều lượng tới hạn 10 - 30 lần. Do tính chất và tác dụng của một số hóa chất có thể thay thế một số gốc nhất định trong phân tử AND nên có triển vọng là trong tương lai có thể điều khiển được hướng đột biến, nếu phát hiện được các hợp chất phản ứng một cách có chọn lọc đối với nucleotit này hay nucleotit khác. Vì vậy trong những năm gần đây các nhà di truyền và chọn giống đánh giá cao triển vọng của phương pháp gây đột biến bằng các chất hóa học.

Cách phát sinh các đột biến do hóa chất gây ra, về căn bản không khác gì với đột biến cảm ứng do các tác nhân lí học gây ra. Ngày nay người ta đã xác định được những hóa chất mà khả năng gây đột biến không thua gì các tác nhân lí học. Nếu nồng độ hóa chất quá thấp thì hiệu quả xử lý kém ngược lại nồng độ quá cao sẽ làm giảm sức sống của đối tượng xử lý. Để đảm bảo hoạt tính của các chất gây đột biến chỉ nên chuẩn bị dung dịch trước lúc xử lý không quá 30 phút và giữ trong bóng tối suốt thời gian xử lý. Các cơ quan dinh dưỡng như chồi, đỉnh sinh trưởng của thân củ... có thể xử lý bằng cách nhúng vào dung dịch hóa chất gây đột biến, hay nhỏ giọt dung dịch mutagen hoặc đắp bông tẩm dung dịch lên các bộ phận đó.

3. Phát hiện và chọn lọc các đột biến

3.1 Phát hiện các đột biến

Các đột biến ở cây sinh sản sinh dưỡng biểu hiện qua thể khảm, tức là trên một cây mang những mô hình bình thường và mô đột biến. Nếu tách chồi hoặc mô đột biến và nhân vô tính ta sẽ thu được các dạng đột biến. Cách làm này gọi là giải khảm. Chồi giải khảm cần được trồng ở điều kiện được chăm sóc đặc biệt. Qua so sánh đánh giá nếu các dạng đột biến thu được trội hơn giống chuẩn thì được nhân ra để đưa vào sản xuất.

3.2 Chọn lọc đột biến

Trong vô số những đột biến có thể có, nhà chọn giống chọn ra những đột biến có giá trị nhất để sử dụng chúng trong việc tạo ra giống mới. Các đột biến thu được có thể mang những đặc tính mới chưa có trong tự nhiên. Vai trò của phương pháp chọn giống đột biến ngày càng gia tăng.