

PTS. NGUYỄN THỊ TRÂM

CHỌN GIỐNG LÚA LAI



NHÀ XUẤT BẢN
NÔNG NGHIỆP

TS. NGUYỄN THỊ TRÂM

CHỌN GIỐNG LÚA LAI

(Tái bản lần thứ nhất có sửa chữa bổ sung)

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
Hà nội 2001

TS. NGUYỄN THỊ TRÂM

CHỌN GIỐNG LÚA LAI

(Tái bản lần thứ nhất có sửa chữa bổ sung)

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
Hà nội 2001

LỜI GIỚI THIỆU

Tôi rất hân hạnh được đọc tài liệu *Chọn giống lúa lai* của TS. Nguyễn Thị Trâm biên soạn trong những ngày đầu xuân năm 1995, với nhiều tư liệu phong phú đã được hệ thống hóa, mong muốn giới thiệu với bạn đọc những kiến thức bổ ích về chọn giống lúa lai.

Như chúng ta đã biết, ưu thế lai là hiện tượng phổ biến trong giới sinh vật. Lịch sử của trên 100 năm nay, các nhà khoa học của thế giới đã nghiên cứu để khai thác hiệu ứng ưu thế lai, tạo ra các giống cây trồng, vật nuôi có năng suất sinh học cao, chất lượng sản phẩm tốt, giá thành sản phẩm thấp, góp phần làm nên những biến đổi kỳ diệu của ngành sản xuất nông nghiệp toàn thế giới.

Lúa gạo là một trong những ngành lương thực chủ yếu của loài người, nhất là của các nước châu Á, trong đó có Việt Nam.

Hơn 5 tỉ người trên thế giới hiện nay tiếp nhập bức thông điệp về nguy cơ khủng hoảng lương thực toàn cầu, khi dân số trên hành tinh tiếp tục tăng lên, sản lượng lương thực khó đáp ứng nổi, cuộc sống đói nghèo đang đe dọa số phận của 800 triệu

người hiện nay và có thể đe dọa cuộc sống của trên 1 tỉ người vào những năm đầu thập kỷ 21.

Đứng trước nguy cơ đó, các nhà khoa học nhiều nước trên thế giới đã tìm tòi khai phá con đường tăng trưởng nhanh sản xuất lương thực, trước hết là sản xuất lúa.

Nhiều thập kỷ nay, với thành tựu tạo giống lúa thấp cây, sử dụng có hiệu quả về nước và phân bón, đã tạo ra cục diện mới về sản xuất lúa trong nhiều nước. Tuy vậy, với giống lúa thấp cây hiện nay, năng suất ở nhiều nước đã đạt tới đỉnh cao, khó vượt qua "ngưỡng" giới hạn để tiếp tục tạo ra năng suất cao hơn. Trước tình hình đó, các nhà khoa học nhiều nước đã tập trung nghiên cứu sử dụng ưu thế lai của lúa, là loại cây trồng tự thụ phấn điển hình, việc sử dụng ưu thế lai có khó khăn, nhất là trong khâu sản xuất hạt lai.

Vài thập kỷ nay, với thành tựu mới về công nghệ sản xuất hạt lúa lai được nghiên cứu, việc ứng dụng ưu thế lai của lúa đã thành công lớn ở Trung Quốc và đang được ứng dụng ở một số nước, trong đó có Việt Nam mở ra một hướng đi mới để tăng nhanh sản lượng lúa của thế giới.

Nước ta đã áp dụng thành tựu khoa học về lúa lai có kết quả bước đầu. Năng suất lúa lai so với lúa thường tăng 20-30%, đang hứa hẹn nhiều triển vọng.

Tuy vậy, để áp dụng rộng rãi công nghệ sản xuất lúa lai ở Việt Nam, còn rất nhiều việc phải làm, trong đó có rất nhiều việc đang trông chờ sự nỗ lực vượt bậc của các nhà khoa học nước ta.

Tác giả cuốn sách này là một nhà khoa học nữ đã giành nhiều công sức trong nhiều năm nay nghiên cứu chọn tạo giống lúa và lúa lai ở Việt Nam. Tôi hy vọng cuốn sách này sẽ đến với đông đảo bạn đọc và cũng mong tác giả tiếp tục có nhiều đóng góp hơn nữa với nhiều công trình khoa học phục vụ chương trình phát triển lúa lai ở Việt Nam.

Hà Nội, ngày 7-2-1995

NGUYỄN CÔNG TẠM

BỘ TRƯỞNG BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ CNTP

LỜI TÁC GIẢ

Cuốn sách "Chọn giống lúa lai" biên soạn dựa trên tài liệu của các nhà nghiên cứu di truyền tế bào học và chọn giống lúa lai - Trung tâm lúa lai Hồ Nam- dùng để giảng dạy cho các lớp đào tạo sau đại học quốc tế và trong nước. Tài liệu này còn tập hợp rất nhiều tư liệu quý, được công bố ở các hội nghị quốc tế về lúa lai, lúa vô phôi và hội nghị di truyền lúa.

Cuốn sách sẽ cung cấp cho bạn đọc các phương pháp và thủ thuật chọn tạo các vật liệu khởi đầu làm bố mẹ để tạo ra các tổ hợp lai siêu cao sản, phẩm chất tốt, chống chịu sâu bệnh và thích ứng rộng thuộc hệ thống lúa lai "ba dòng", "hai dòng" và "một dòng".

Hy vọng cuốn "Chọn giống lúa lai" sẽ giúp cho các bạn sinh viên, nghiên cứu sinh các ngành sinh học và nông nghiệp mở rộng tư duy và phương pháp luận khoa học để hoàn thành các đề tài nghiên cứu; làm tài liệu tham khảo cho các cán bộ giảng dạy, nghiên cứu viên, các nhà chọn giống và những người làm công tác nhân giống cây trồng...

Chúng tôi bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc đối với sự động viên và tài trợ của ông Nguyễn Công Tạn, Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và CNTP, sự hợp tác giúp đỡ toàn diện, chặt chẽ của Cục Khuyến nông.

Trong quá trình biên soạn, chúng tôi đã nhận được nhiều ý kiến đóng góp quý báu của các thầy cô giáo và các bạn đồng nghiệp về nội dung và hình thức diễn đạt. Xin chân thành cảm ơn và mong nhận được nhiều ý kiến hơn nữa.

1. ƯU THỂ LAI Ở LÚA

1.1. Quá trình nghiên cứu phát triển ưu thế lai ở lúa

Hiện tượng ưu thế lai được các nhà khoa học phát hiện khá sớm trên các giống cây trồng và vật nuôi (Beall, 1878; Shull, 1904). Người ta đã khai thác hiệu ứng ưu thế lai, tạo ra các giống cây trồng cao sản như ngô lai, bắp cải, hành tây, cà chua..., các giống vật nuôi lớn nhanh như lợn lai kinh tế, vịt lai, gà công nghiệp... sử dụng ưu thế lai thương phẩm đã đem lại lợi ích kinh tế vô cùng lớn lao cho ngành chăn nuôi và trồng trọt.

Ở cây lúa, J.W.Jones (1926) lần đầu tiên báo cáo về sự xuất hiện ưu thế lai trên những tính trạng số lượng và năng suất. Sau Jones có nhiều công trình nghiên cứu khác xác nhận sự xuất hiện ưu thế lai về năng suất, các yếu tố cấu thành năng suất (Anonymous, 1977; Li, 1977; Lin và Yuan, 1980...), về sự tích lũy chất khô (Rao, 1965; Jennings, 1967; Kim, 1985...), về sự phát triển của bộ rễ (Anonymous, 1974; Tian và cộng sự, 1980...), về một số đặc tính sinh lý như cường độ quang hợp, cường độ hô hấp, diện tích lá... (Lin và Yuan, 1980; Deng, 1980, MC Donal và cộng sự, 1971; Wu và cộng sự, 1980...) v.v...

Virmani và cộng sự (1981) tổng kết nhiều công trình nghiên cứu chứng minh rằng ưu thế lai ở lúa có

những biểu hiện đa dạng. Ưu thế lai thực diễn biến từ 369 đến 91% ở giá trị năng suất hạt, 55 đến 70% giá trị số hạt trên bông, 14 đến 31% giá trị khối lượng hạt, 505 đến 45% giá trị số bông trên khóm v.v...

Lúa là cây tự thụ phấn điển hình, khả năng nhận phấn ngoài rất thấp do đó khai thác ưu thế lai ở lúa gặp khó khăn chủ yếu ở khâu sản xuất hạt lai. Đề xuất đầu tiên về vấn đề mở rộng sản xuất lúa lai thương phẩm là nhóm các nhà khoa học Ấn Độ (Kadam 1937, Amand và Murty BR 1968, Richharia 1962, Swaminathan và cộng sự 1972), các nhà khoa học Mỹ (Stansel và Craigmiles 1966, Craigmiles và cộng sự 1968, Carnahan và cộng sự 1972), Nhật Bản (Shinryo và Omura 1966), Viện lúa quốc tế (Athwal và Virmani 1972), song vì chưa tìm ra phương pháp sản xuất hạt lai thuận lợi nên họ đã không thành công.

Trung Quốc bắt đầu nghiên cứu lúa lai muộn hơn. Năm 1964, Yuan LP cùng nhóm nghiên cứu của ông bắt đầu nghiên cứu lúa lai ở đảo Hải Nam (18° vĩ Bắc). Họ tìm ra dạng lúa đại bất dục đực di truyền tế bào chất và cho rằng đây là công cụ di truyền quan trọng để nghiên cứu phát triển lúa lai. Sau đó 9 năm họ đã thành công trong việc chuyển gen bất dục đực dạng đại vào lúa trồng bằng phương pháp lai lại (Back-cross) tạo ra các dòng bất dục đực di truyền tế bào chất tương đối ổn định. Năm 1973 đã sản xuất được hạt lai F_1 của ba dòng bố mẹ là: Dòng bất dục đực di truyền tế bào chất (Cytoplasmic Male Sterile: CMS), dòng duy trì bất dục

(Maintainer) và dòng phục hồi hữu dục (Restorer). Năm 1974 đã giới thiệu tổ hợp lai cho ưu thế lai cao, đồng thời qui trình kỹ thuật sản xuất hạt lai "ba dòng" được giới thiệu ra sản xuất vào năm 1975.

Năm 1976 Trung quốc đã sản xuất được hạt lai F_1 để gieo cấy 140.000 ha. Từ đó diện tích trồng lúa lai tăng lên liên tục kéo theo năng suất lúa bình quân của cả nước tăng với tốc độ cao (bảng 1).

Quy trình kỹ thuật nhân dòng bố mẹ và sản xuất hạt lai ngày càng hoàn thiện, năng suất ruộng nhân dòng mẹ và ruộng sản xuất F_1 tăng lên tương đối vững chắc (bảng 2).

Việt Nam bắt đầu nghiên cứu lúa lai vào giữa những năm 80 tại Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp, Viện Di truyền Nông nghiệp, Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long. Nguồn vật liệu dùng cho nghiên cứu được nhập chủ yếu từ Viện lúa quốc tế. Năm 1989, lúa lai F_1 được nhập qua biên giới Việt - Trung gieo trồng ở một số xã miền núi đã cho năng suất cao đáng ngạc nhiên. Năm 1990, Bộ Nông nghiệp đã nhập một số tổ hợp lai gieo trồng thử ở đồng bằng Bắc bộ, đa số các tổ hợp này cho năng suất cao hơn lúa thường đáng tin cậy (hơn CR203 từ 700-1500 kg/ha). Vì thế diện tích gieo cấy lúa lai Trung Quốc ở các tỉnh miền núi, trung du và đồng bằng Bắc bộ tăng lên nhanh chóng, từ 10 ha năm 1990 lên 5.000 ha năm 1992 và đến năm 1998 lên tới 200.000 ha (bảng 3). Dùng hạt lai F_1 trong sản xuất đã trở thành nhu cầu thực sự của nông dân ta hiện nay.

**Bảng 1: Diễn biến diện tích năng suất lúa lai và
lúa thường ở Trung Quốc 1976-1993**

Năm	Tổng DT lúa (1.000ha)	Diện tích lúa lai (1.000ha)	Tỷ lệ DT lúa lai (%)	Năng suất (ta/ha)		Năng suất tăng hơn lúa thường (%)
				Lúa lai	Lúa thường	
1976	36200	133,3	0,4	42,0	34,7	21,1
1977	35533	2066,6	5,8	53,8	35,4	53,2
1978	34400	4266,6	12,4	53,5	37,8	41,6
1979	33866	5000,0	14,8	52,6	40,7	26,3
1980	33866	4813,3	14,2	52,9	29,4	34,4
1981	29933	5133,3	17,1	53,1	41,1	29,3
1982	33066	5600,0	16,9	58,7	44,5	31,9
1983	33133	6733,3	20,3	63,8	47,7	33,5
1984	33133	8866,6	26,8	64,1	49,9	28,8
1985	32066	8400,0	27,7	64,7	48,2	34,4
1986	32266	8933,3	33,8	66,0	48,6	35,9
1987	32333	10933,3	39,6	66,2	47,8	38,4
1988	32000	12666,6	39,6	66,0	45,4	45,5
1989	32600	13000,0	39,8	66,2	45,3	45,9
1990	33066	15933,3	49,8	66,8	46,4	43,8
1991	32400	17600,0	55,0	66,6	45,4	46,8
1992	-	15466,0	-	-	-	-
1993	-	15400,0	-	-	-	-

Nguồn: (Yuan LP. Trung tâm nghiên cứu lúa lai Hồ Nam 1994.

**Bảng 2: Diễn biến diện tích và năng suất
hạt lai F1 1981-1991**

Năm	Diện tích (1000 ha)	Năng suất (kg/ha)	Năm	Diện tích (1000 ha)	Năng suất (kg/ha)
1981	110,4	669,0	1986	100,5	1995,0
1982	154,6	909,0	1987	154,1	2010,0
1983	138,8	1290,0	1988	138,5	1626,0
1984	104,7	1414,5	1989	179,5	1985,1
			1990	197,4	2247,5
1985	100,5	1654,5	1991	124,7	2252,3

Nguồn: Yuan LP. Trung tâm nghiên cứu lúa lai Hồ Nam 1994.

Bảng 3: Diễn biến diện tích và năng suất lúa lai từ năm 1991-1998 của Việt Nam

Năm	Vụ xuân		Vụ mùa		Cả năm	
	Diện tích (ha)	Năng suất (tạ/ha)	Diện tích (ha)	Năng suất (tạ/ha)	Diện tích (ha)	Năng suất (tạ/ha)
1991	-	-	100	68,0	100	68,0
1992	1.317	57,6	9.820	67,8	11.137	66,6
1993	17.205	69,4	17.623	64,9	34.828	67,1
1994	45.430	62,5	14.647	45,4	60.007	58,4
1995	39.598	63,5	33.905	59,1	73.503	61,4
1996	60.616	67,1	67.327	50,6	137.700	63,5
1997	110.802	66,7	76.898	58,8	187.700	63,5
1998	120.000	67,0	80.000	63,0	200.000	65,0

Nguồn: Cục Khuyến nông và Khuyến lâm Bộ Nông nghiệp và PTNT (1999).

Mặc dù giá hạt giống khá cao (biến động từ 10.000-30.000 đ/kg tùy từng vụ) nhưng vì năng suất lúa lai cao nên vẫn đem lại hiệu quả kinh tế lớn. Theo đánh giá của Bộ Nông nghiệp và PTNT vụ xuân 1993 lai suất do cấy lúa lai cao hơn cấy giống thuần CR203 là 59% trong cùng điều kiện. Năng suất lúa lai cao hơn lúa thuần ở tất cả các trà lúa vụ xuân trên nhiều vùng sinh thái khác nhau (bảng 4, 5).

Bảng 4: Năng suất lúa ở các trà vụ xuân 1993 (tạ/ha)

Giống lúa	HTX Phùng Thượng	HTX Quế Dương
DT 10 (sớm)	53,0	62,0
NN8 (chính vụ)	51,0	-
CR203 (chính vụ)	43,0	43,0
Lúa lai (muộn)	64,0	78,0

Nguồn: Ngô Thế Dân và cộng sự, 1993.

Chương trình lúa lai dưới sự chỉ đạo của Bộ Nông nghiệp và CNTP và sự trợ giúp của tổ chức Nông lương thế giới (FAO) đã hình thành mạng lưới nghiên cứu sản xuất và triển khai gồm các Viện nghiên cứu nông nghiệp, các trường Đại học, Trung học, các Trạm, Trại và hệ thống triển khai mở rộng sản xuất của Cục khuyến nông, Công ty giống các tỉnh thành...

1.2. Đánh giá sự biểu hiện ưu thế lai ở lúa

Muốn đánh giá tính ưu việt của con lai so với bố mẹ và các giống đang phổ biến trong sản xuất phải dựa vào các chỉ tiêu sau:

- Ưu thế lai trung bình (Heterosis) còn gọi là ưu thế lai giả định: Là sự hơn hẳn của con lai so với giá trị trung bình của bố mẹ. Công thức tính như sau:

$$H_m = \frac{F_1 - \frac{P_1 + P_2}{2}}{\frac{P_1 + P_2}{2}} \times 100\% \quad (H_m = \text{ưu thế lai trung bình})$$

- Ưu thế lai thực (Heterobeltiosis) là sự hơn hẳn của con lai so với bố mẹ tốt nhất:

$$H_B = \frac{F_1 - P_B}{P_B} \times 100\% \quad (H_B = \text{ưu thế lai tốt nhất})$$

- Ưu thế lai chuẩn (Standar Heterosis) biểu thị tính ưu việt của con lai về một hay một số tính trạng nào đó so với giống lúa thường dùng tốt nhất ở một vùng nhất định.

$$H_s = \frac{F_1 - S}{S} \times 100\% \quad (H_s = \text{ưu thế lai chuẩn}).$$

Trong đó:

F_1 chỉ giá trị tính trạng cần quan tâm của con lai F_1 .

P_1 , P_2 chỉ giá trị tính trạng tương ứng của bố mẹ đem lai.

P_B chỉ giá trị tính trạng tương ứng của bố mẹ tốt nhất.

S chỉ giá trị tính trạng của giống chuẩn tốt nhất của vùng, có thể là giống thuần, giống lai.

- Ưu thế lai có thể có giá trị dương (F_1 tốt hơn bố mẹ hoặc giống chuẩn), hoặc giá trị âm (F_1 xấu hơn bố mẹ hoặc giống chuẩn).

Bảng 5: Năng suất lúa lai ở các vùng sinh thái miền Bắc Việt Nam

Địa danh	Đại diện cho vùng sinh thái	Năng suất (tạ/ha)
Hòa Bình	Vùng núi Tây Bắc	68-70
Bắc Thái	Vùng núi Việt Bắc	50-58
Quảng Ninh	Vùng núi Đông Bắc	47-66
Vĩnh Phú	Vùng trung du đôi gò	62-65
Hải Phòng (Vĩnh Bảo)	Vùng đồng bằng Sông Hồng chịu ảnh hưởng mặn	75-76
Nam Hà (Thanh Liêm)	Vùng chiêm trũng đồng bằng sông Hồng loại đất trung bình	60-70
Hà Tây (Phú Xuyên)	Vùng chiêm trũng thâm canh cao	74-78
Nghệ An	Khu 4 cũ nóng	72-73
Đắc Lắc (Buôn Mê Thuột)	Vùng núi Tây Nguyên	74-75
Bến Lức (Long An)	Đồng bằng sông Cửu Long	80-85

Nguồn: Ngô Thế Dân và Quách Ngọc Ân-Bộ Nông nghiệp và PTNT.

1.3. Sự biểu hiện ưu thế lai ở lúa

Ưu thế lai thể hiện ngay từ khi hạt mới nảy mầm cho đến khi hoàn thành quá trình sinh trưởng phát

triển của cây.
triển của cây.

F_1 chỉ giá trị tính trạng cần quan tâm của con lai F_1 .

P_1 , P_2 chỉ giá trị tính trạng tương ứng của bố mẹ đem lai.

P_B chỉ giá trị tính trạng tương ứng của bố mẹ tốt nhất.

S chỉ giá trị tính trạng của giống chuẩn tốt nhất của vùng, có thể là giống thuần, giống lai.

- Ưu thế lai có thể có giá trị dương (F_1 tốt hơn bố mẹ hoặc giống chuẩn), hoặc giá trị âm (F_1 xấu hơn bố mẹ hoặc giống chuẩn).

Bảng 5: Năng suất lúa lai ở các vùng sinh thái miền Bắc Việt Nam

Địa danh	Đại diện cho vùng sinh thái	Năng suất (tạ/ha)
Hòa Bình	Vùng núi Tây Bắc	68-70
Bắc Thái	Vùng núi Việt Bắc	50-58
Quảng Ninh	Vùng núi Đông Bắc	47-66
Vĩnh Phú	Vùng trung du đồi gò	62-65
Hải Phòng (Vĩnh Bảo)	Vùng đồng bằng Sông Hồng chịu ảnh hưởng mặn	75-76
Nam Hà (Thanh Liêm)	Vùng chiêm trũng đồng bằng sông Hồng loại đất trung bình	60-70
Hà Tây (Phú Xuyên)	Vùng chiêm trũng thâm canh cao	74-78
Nghệ An	Khu 4 cũ nóng	72-73
Đắc Lắc (Buôn Mê Thuột)	Vùng núi Tây Nguyên	74-75
Bến Lức (Long An)	Đồng bằng sông Cửu Long	80-85

Nguồn: Ngô Thế Dân và Quách Ngọc Ân-Bộ Nông nghiệp và PTNT.

1.3. Sự biểu hiện ưu thế lai ở lúa

Ưu thế lai thể hiện ngay từ khi hạt mới nảy mầm cho đến khi hoàn thành quá trình sinh trưởng phát triển của cây.

1.3.1. Sự biểu hiện ưu thế lai trên các cơ quan sinh dưỡng (Ưu thế lai sinh dưỡng)

a) Hệ rễ:

Các kết quả nghiên cứu xác nhận rằng ở con lai số lượng rễ ra sớm, ra nhiều và nhanh hơn bố mẹ chúng. Chất lượng rễ được đánh giá thông qua độ dày của rễ, trọng lượng khô, số lượng rễ phụ, số lượng lông hút và hoạt động hút chất dinh dưỡng từ rễ lên cây (Anonymous 1977, Lin và Yuan 1980, Tian và cộng sự 1980 v.v...).

Theo dõi sự phát triển của bộ rễ trong từng thời kỳ. Viện Hàn lâm khoa học Triết Giang công bố rằng: Sau khi gieo 10 ngày, mạ của giống lai Nam ưu 2 nhiều rễ hơn giống lúa thường Quang lộ 4 là 13%. Số liệu theo dõi của Viện Hàn lâm khoa học Quảng Tây trên 2 giống Shan ưu (lai) và Quý giao 2 (lúa thường) cho thấy hiệu ứng ưu thế lai đối với chỉ tiêu số lượng rễ biểu hiện ngay từ khi lúa chưa đẻ, cao nhất khi lúa đẻ 3 nhánh và các thời kỳ khác cũng đều cao hơn lúa thường (bảng 6).

Bảng 6: So sánh số lượng rễ của lúa lai và lúa thường trong thời kỳ sinh trưởng sinh dưỡng (Viện Hàn lâm khoa học Quảng Tây, 1986)

Giống	Số lượng rễ ở các thời kỳ (cái)						
	Chưa đẻ	2 nhánh	3 nhánh	4 nhánh	5 nhánh	10 nhánh	T. bình
Shan ưu 2 (lúa lai)	10,3	30,0	54,7	65,0	75,0	150,0	-
Quý giao 2 (lúa thường)	8,4	23,5	23,5	38,0	72,0	103,0	-
Ưu thế lai chuẩn (%)	122,6	127,7	185,4	171,1	104,2	145,6	142,7

b) Sự đẻ nhánh:

Con lai F_1 đẻ nhánh sớm, sức đẻ nhánh mạnh. Thí nghiệm cấy 1 dảnh của trường ĐHNN Hồ Nam cho nhận xét: 23 ngày sau khi cấy giống lai Nam ưu 2 đẻ 15,75 dảnh còn Quảng xuân (giống lúa thường tốt nhất trong vùng) đẻ 10,12 dảnh, ưu thế lai 155,6%. Sau cấy 37 ngày Shan ưu 2 đẻ 11 dảnh, Quý giao 2 (lúa thường) đẻ 8 dảnh, ưu thế lai là 137,5%. Con lai vừa đẻ khỏe vừa có tỉ lệ hữu hiệu cao. Số lượng hạt trên bông cũng nhiều hơn lúa thường (Chang và cộng sự 1971, 1973).

c) Chiều cao cây:

Chiều cao cây của lúa lai cao hay thấp hoàn toàn phụ thuộc vào đặc điểm của bố mẹ. Tùy từng tổ hợp, chiều cao của F_1 có lúc biểu hiện ưu thế lai dương (Pillai, 1961; Singh, 1978), có lúc nằm trung gian giữa bố mẹ, có lúc xuất hiện ưu thế lai âm. Vì chiều cao liên quan đến tính đổ trên đồng ruộng nên khi chọn bố mẹ phải chú ý đúng mức để con lai F_1 cao tương đương với giống nửa lùn cải tiến là thích hợp.

d) Thời gian sinh trưởng:

Đa số con lai F_1 có thời gian sinh trưởng khá dài và thường dài hơn bố mẹ sinh trưởng dài nhất (Deng, 1980; Lin và Yuan, 1980). Xu và Wang (1980) nhận xét rằng thời gian sinh trưởng của con lai phụ thuộc vào thời gian sinh trưởng của dòng bố phục hồi (dòng R). Ponnuthurai (1984) xác định thời gian sinh trưởng của con lai gần giống thời gian sinh trưởng của dòng bố hoặc mẹ chín muộn.

Kết quả thí nghiệm của chúng tôi ở vùng Gia Lâm - Hà Nội cho thấy thời gian sinh trưởng của F_1 dài hơn dòng mẹ và dòng phục hồi ở cả 2 vụ xuân và mùa (bảng 7).

Bảng 7: Thời gian sinh trưởng của các dòng bố mẹ và con lai F_1

(Đại học Nông nghiệp I; 1992 - 1993)

Tên dòng và tổ hợp	TGST vụ mùa (ngày)	TGST vụ xuân (ngày)
Zhen Shan 97A (dòng A)	86	105
Zhen Shan 97B (dòng B)	83	102
Minhui 63 (dòng R)	105	130-135
Shan ưu 63 (F_1)	125	150-160
Quế 99 (dòng R)	95	125-130
Shan ưu quế 99 (F_1)	110	135-145

e) Ưu thế lai ở các đặc tính sinh lý:

Hệ rễ lúa lai hoạt động mạnh ngay từ thời kỳ cây lúa mới bắt đầu đẻ nhánh. Tiến hành cắt rễ của cây rồi hứng dịch rễ trong một thời gian nhất định thấy rằng giống Nam ưu 2 có nhiều dịch chảy ra hơn Quảng xuân (lúa thường) tới 50% thời kỳ lúa đẻ rộ và 46% thời kỳ chín sấp (Yuan, 1985).

Quang hợp, hô hấp và tích lũy chất khô: Nhiều nghiên cứu phát hiện thấy lúa lai có diện tích lá lớn, hàm lượng diệp lục trên một đơn vị diện tích lá cao do đó hiệu suất quang hợp cao. Trái lại cường độ hô hấp của lúa lai lại thấp hơn lúa thường. Yuan (1985) so sánh giống Nam ưu 2 với dòng phục hồi của nó thấy con lai F_1 có diện tích lá $6913,5 \text{ cm}^2/\text{cây}$ lúc trổ, $4122,8 \text{ cm}^2/\text{cây}$ ở thời kỳ chín trong khi dòng bố phục hồi có

diện tích lá tương ứng là 4254,2 cm²/cây và 2285,1 cm²/cây. Vì vậy, cường độ quang hợp của con lai F₁ cao hơn dòng bố là 35%. Cường độ hô hấp thì trái lại thấp hơn lúa thường đáng kể (từ 5,6-27,1%) ở các giai đoạn sinh trưởng phát triển.

Hiệu suất tích lũy chất khô của lúa lai có ưu thế hơn hẳn lúa thường nhờ vậy mà tổng lượng chất khô trong 1 cây tăng, trong đó lượng vật chất tích lũy vào bông hạt tăng mạnh còn lượng tích lũy ở các cơ quan sinh dưỡng như thân lá giảm mạnh.

Kim (1985), Ponnuthurai và cộng sự (1984), Virmani (1981) đã xác định con lai có ưu thế lai thực và ưu thế lai giả định cao hơn đáng tin cậy ở chỉ tiêu tích lũy chất khô và chỉ số thu hoạch. Lin và Yuan (1980), Wang và Yoshida (1984) cho rằng sức sinh trưởng của con lai mạnh hơn hẳn bố mẹ ở thời kỳ đầu của quá trình sinh trưởng.

Kết quả theo dõi của trường DHNN Quảng Tây chỉ ra: Các loại aminoaxit chuyển từ rễ lên thân lá ở thời kỳ trổ bông của lúa lai đạt trị số 13 thì ở lúa thường là 8.

1.3.2. Ưu thế lai trên các cơ quan sinh sản (Ưu thế lai sinh sản)

Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất:

Đánh giá ưu thế lai của nhiều tổ hợp lai khác nhau người ta đều thấy con lai có năng suất cao hơn bố mẹ từ 20-70% khi gieo cấy trên diện tích rộng. Trong sản xuất nhiều năm trên nhiều vùng sinh thái khác nhau ở Trung Quốc, lúa lai ưu việt hơn hẳn lúa lùn cải tiến tốt nhất từ 20-30%.

Các kết quả nghiên cứu ở Viện nghiên cứu lúa quốc tế của Virmani (1981, 1982) xác định ưu thế lai giả định về năng suất là 73%, ưu thế lai thực là 57%, ưu thế lai chuẩn là 34%. Ở mùa mưa, ưu thế lai chuẩn là 22% thấp hơn ở mùa khô là 34%.

Yuan (1985) đánh giá 29 tổ hợp lai thì 28 tổ hợp chiếm 96,5%) có ưu thế lai thực dương ở tính trạng năng suất hạt, trong đó có 18 tổ hợp có năng suất cao hơn đáng tin cậy. Có những tổ hợp lai đạt năng suất siêu cao - tới 15,30 tấn/ha (con lai Indica với Indica), 15,65 tấn/ha (con lai Japonica với Japonica) (Yuan, 1993).

Các yếu tố cấu thành năng suất biểu hiện ưu thế lai cao hơn rõ rệt, trong đó nhiều tổ hợp có ưu thế lai cao ở chỉ tiêu số bông trên khóm. Trọng lượng trung bình bông cũng thường cho ưu thế lai cao do hạt nặng, tỉ lệ hạt chắc cao (Chang và cộng sự (1971, 1973), Carnahan và cộng sự (1972), Karunakaran (1968), Murayama (1973), Virmani (1981, 1982) v.v...).

Khối lượng 1.000 hạt có giá trị trung gian giữa 2 bố mẹ, đôi khi cũng biểu hiện ưu thế lai dương hoặc âm với giá trị thấp. Còn số hạt chắc trên bông thường có ưu thế lai giảm khi bón lượng phân đạm cao từ 120-240 kgN/ha (Virmani, 1981).

1.4. Tiến bộ của chọn giống lúa lai

Khai thác ưu thế lai ở lúa đạt được những tiến bộ quan trọng về các mặt sau đây:

- Cải tiến đặc tính hình thái ở con lai F_1 đã nâng cao chức năng hoạt động sinh lý sẵn có do lai hai bố mẹ

có những tính trạng bổ sung cho nhau và sự khác biệt di truyền tạo nên. Vì thế mà tương đối dễ dàng đạt được năng suất cao hoặc siêu cao.

- Đặc tính chống chịu sâu bệnh ở lúa đa số do gen trội hoặc trội không hoàn toàn kiểm tra. Nếu có một bố mẹ mang gen chống chịu sâu bệnh thì tính trạng đó được truyền cho con lai F_1 và dễ dàng mất đi ở các thế hệ phân ly. Vì vậy tiềm năng năng suất cao dễ dàng kết hợp với khả năng chống chịu nhiều dòng tạo cho con lai chống chịu sâu bệnh tốt.

- So với giống thuần, con lai F_1 có nền di truyền rộng hơn, thích ứng tốt hơn với điều kiện ngoại cảnh luôn biến đổi. Do đó các tổ hợp lai tốt có thể gieo trồng khá rộng trên nhiều vùng sinh thái, nhiều mùa vụ hơn so với một giống lúa thuần tốt.

1.5. Chiến lược khai thác ưu thế lai ở lúa

Khai thác ưu thế lai ở lúa mang lại lợi ích cho người sản xuất, lúa lai đã góp phần xóa đói giảm nghèo ở những vùng đất chật người đông. Tại Hội nghị lúa lai quốc tế lần thứ nhất (năm 1986) Yuan LP - người khởi xướng phát triển lúa lai ở Trung Quốc đã đề ra chiến lược phát triển lúa lai theo ba bước:

Bước 1: Phát triển lúa lai "ba dòng" với công cụ di truyền chủ yếu là các dòng bất dục đực di truyền tế bào chất (CMS), dòng duy trì bất dục (B) và dòng phục hồi hữu dục (R). Cho đến nay đã tìm được hàng trăm dòng CMS và dòng B tương ứng, hàng ngàn dòng phục hồi (R) và nhiều tổ hợp lai cho ưu thế lai cao ở nhiều vùng

sinh thái khác nhau. Qui trình sản xuất hạt giống lai ba dòng đã khá hoàn thiện. Giá thành hạt giống đã từng bước giảm dần, tỉ lệ các ruộng sản xuất đã thay đổi: Tỉ lệ ruộng A/B : A/R : F₁ trước năm 1990 là 1 : 50 : 2500, năm 1993 là 1 : 50 : 5000.

Bước 2: Lúa lai "hai dòng" đang mở ra một triển vọng lớn trong tương lai gần vì đã đơn giản bớt các khâu trong công nghệ sản xuất, hạ giá thành hạt giống lai. Công cụ di truyền chủ yếu là các dòng bất dục đực chức năng di truyền nhân phản ứng với chu kỳ ánh sáng (PGMS) và phản ứng với nhiệt độ (TGMS). Giá trị các dòng này là trong những điều kiện nhiệt độ hoặc độ dài ngày nhất định có thể sản xuất hạt lúa tự thụ bình thường và trong những điều kiện ngược lại thì chúng bất dục đực để có thể sản xuất hạt lai. Nghiên cứu phát triển lúa lai hai dòng không những làm giảm giá thành hạt lai mà còn mở rộng phạm vi lai, nâng cao giá trị ưu thế lai, cải tạo chất lượng hạt và tính chống chịu sâu bệnh.

Bước 3: Lúa lai "một dòng" được bắt đầu nghiên cứu và trong tương lai khi thành công sẽ có thể sản xuất được "hạt lai thuần" nhờ sử dụng công cụ di truyền mới là dòng vô phôi (apomixis).

2. PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG LÚA LAI "BA DÒNG"

2.1. Khái niệm về "ba dòng"

"Ba dòng" bao gồm ba loại dòng có đặc điểm di truyền khác nhau:

(1) Dòng bất dục đực di truyền tế bào chất (Cytoplasmic Male Sterile - viết tắt là dòng CMS) gọi là dòng A dùng làm mẹ để lai.

(2) Dòng duy trì bất dục (Maintainer) - dòng B dùng làm bố để giữ cho dòng A bảo toàn được tính bất dục.

(3) Dòng phục hồi tính hữu dục (Restorer) gọi tắt là dòng phục hồi - dòng R, dùng làm bố để sản xuất hạt lai F_1 .

2.1.1. Đặc điểm các dòng

a) Dòng A (CMS):

Là loại dòng có bao phấn lép, khi nở hoa bao phấn không mở, trong bao chứa các hạt phấn bị thoái hóa sớm do không tích lũy được tinh bột. Nhìn bằng mắt thường thấy bao phấn vàng ngà hay trắng sữa, rung cây lúc hoa nở không có hạt phấn tung ra. Nếu nhuộm hạt phấn bằng Iốt (trong dung dịch KI 1%) và quan sát trên kính hiển vi thì hạt phấn không nhuộm màu. Hình thái hạt phấn bất thường: Hình tam giác, hình thoi, cầu khuyết v.v..., vỏ hạt phấn nhăn nheo. Nếu bao cách ly một bông lúa sao cho các hoa không tiếp xúc được với hạt phấn của các giống xung quanh thì hạt hoàn toàn lép.

Cơ quan sinh sản cái của dòng A hoàn toàn khỏe mạnh, có những bộ phận tổ ra có sức sống cao hơn giống bình thường. Vòi nhụy của dòng A to, dài, vươn ra ngoài vỏ trấu sau khi hoa khép lại, và có khả năng tiếp nhận hạt phấn để thụ tinh sau khi hoa nở đến 5 ngày.

Khi rũ phấn của giống lúa khác vào dòng A, khả năng tiếp nhận phấn để hình thành hạt dễ dàng.

Một dòng A muốn dùng để sản xuất hạt lai cần có những yêu cầu sau đây:

- Phải bắt dục phấn hoàn toàn và ổn định qua các vụ, nghĩa là tỉ lệ hạt phấn bị thoái hóa đạt 100%, tỉ lệ này không thay đổi khi điều kiện thời tiết biến động cũng như không biến đổi sau các lần gieo lại.

- Phải tương đối dễ phục hồi, thể hiện ở:

- + Có phổ phục hồi rộng, nghĩa là nhiều giống lúa thường có thể phục hồi cho dòng A nhờ vậy mà dễ tìm được tổ hợp lai tốt.

Khả năng đậu hạt khi lai với dòng phục hồi phải cao và ổn định trong các điều kiện ngoại cảnh khác nhau.

- + Có cấu trúc hoa và tập tính nở hoa tốt, cụ thể là thời gian nở hoa sớm tương tự như lúa thường, góc mở của hoa rộng, thời gian mở vỏ trấu lâu, vòi nhụy dài, vươn ra ngoài vỏ trấu. Bông trổ thoát khỏi bẹ lá dòng.

b) Dòng B:

Dòng duy trì bắt dục là dòng cho phấn dòng A để tạo ra hạt, cây lúa mọc từ các hạt này bắt dục phấn, nghĩa là dòng B làm nhiệm vụ duy trì tính bắt dục dục của dòng A. Dòng B có nhiều đặc điểm nông sinh học tốt, có thời gian sinh trưởng phù hợp với yêu cầu của nhà chọn giống.

Trừ tính bắt dục còn tất cả các tính trạng khác của dòng A được xác định bởi dòng B tương ứng. Dòng B

cần được chọn lọc cẩn thận, phải là dòng thuần có nhiều hạt phấn, sức sống của hạt phấn cao giúp cho việc nhân nhanh dòng A.

A và B là một cặp sinh đôi, giống nhau về các tính trạng hình thái, khác nhau về cấu tạo hoa, tập tính nở hoa, bao phấn và hạt phấn (bảng 8).

c) Dòng R:

Là dòng cho phấn dòng A để sản xuất hạt lai F_1 , cây lai F_1 hoàn toàn hữu dục, đồng nhất về các tính trạng nông sinh học và có ưu thế lai cao.

Dòng R phải là dòng thuần có nhiều đặc tính tốt, năng suất phẩm chất tốt, thời gian sinh trưởng phù hợp.

Bảng 8: So sánh đặc điểm của dòng A và B

Đặc điểm	Dòng A	Dòng B
Khả năng dễ nhánh	Đẻ khỏe, thời gian kéo dài	Bình thường
Trổ bông	Trổ muộn hơn B từ 3 - 5 ngày	Bình thường
Bông	Trổ không thoát	Trổ thoát bình thường
Tập tính nở hoa	Nở rải rác từ sáng đến chiều. Thời gian mở vỏ trấu dài, vòi nhụy phát triển thò ra ngoài sau khi vỏ trấu khép	Nở tập trung buổi sáng, thời gian mở vỏ trấu ngắn
Hình dạng bao phấn	Thon mảnh rộng, rất ít hạt phấn, màu trắng	Tròn mẩy dẹt dày hạt phấn, màu vàng
Hạt phấn	Hình dạng bất thường không nhuộm màu trong dung dịch I - KI 1% Tròn, không nhuộm màu I - KI 1% Tròn và bất màu nhẹ trong I-KI 1%	Tròn Nhuộm màu xanh trong dung dịch I-KI 1%

Dòng phục hồi tốt cần phải có các đặc điểm sau:

- Có khả năng phục hồi mạnh, tỉ lệ đậu hạt của con lai cao ngang với lúa thường hoặc cao hơn 80%.

- Có đặc tính nông sinh học tốt, có khả năng phối hợp cao, cho ưu thế lai cao đáng tin cậy.

- Cây cao, khỏe hơn dòng A, thời gian sinh trưởng xấp xỉ hoặc dài hơn dòng A.

- Bao phấn mẩy, chứa nhiều hạt phấn, tập tính nở hoa tốt, bao phấn mở, lượng phấn tung tập trung. Những dòng R tốt trong 1 bao phấn chứa tới 3.000 hạt phấn, trong khi các giống lúa thường chỉ chứa khoảng 600 - 1.000 hạt phấn.



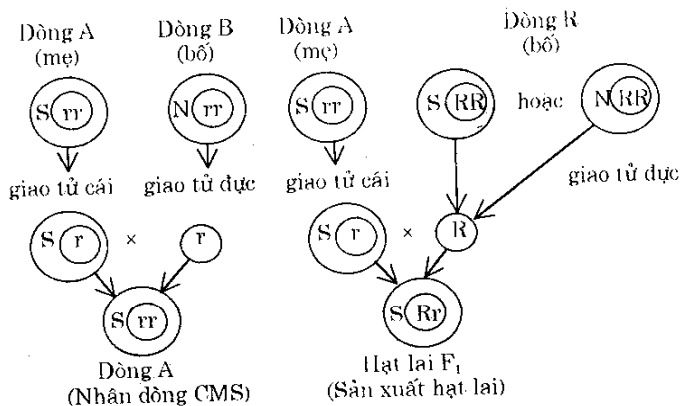
Dòng B Dòng A
Hình 1: Hình thái bông, bao phấn, hạt phấn dòng A và dòng B

2.1.2. Quan hệ di truyền giữa các dòng vật liệu

Kiểu gen của dòng bất dục được di truyền tế bào chất có nhân tố S (sterile) kiểm tra tính bất dục trong tế bào chất, còn trong nhân chứa các gen phục hồi dạng lặn đồng hợp thể rr. Dòng B chứa nhân tố hữu dục trong tế bào chất N (normal) kiểm tra khả năng hữu dục của cây, trong nhân tế bào chứa các gen phục hồi dưới dạng đồng hợp thể lặn rr. Dòng R có thể chứa nhân tố S (bất dục) hoặc N (bình thường) trong tế bào chất, nhân chứa-gen phục hồi ở dạng trội đồng hợp thể RR. Trong điều kiện bình thường không thể phân biệt được dòng B và R. Khi lai chúng với một dòng CMS nào đó mới phân biệt được thông qua việc đánh giá con lai F_1 .

Hình 2 mô tả mối quan hệ giữa 3 dòng: Tế bào chất của dòng mẹ A di truyền cho các thế hệ sau. Cây bố B truyền sang con lai gen nhân r không phục hồi vì thế $A/B \rightarrow A$. Các tính trạng nông sinh học khác của B tích lũy vào A ngày càng tăng do lai lại nhiều lần. Cây A luôn có sức sinh trưởng mạnh hơn cây B vì A là cây lai, còn B là dòng thuần.

Khi lai $A/R \rightarrow F_1$ (AR) cấu trúc gen dị hợp thể 100% S(Rr). Gen phục hồi R trội hoạt động làm biến đổi nhân tố S trong tế bào chất của cây A nên các cây F_1 đều hữu dục và đồng nhất về kiểu hình, cho năng suất cao, sức sinh trưởng mạnh, chống chịu khỏe, phẩm chất tốt...



Hình 2: Quan hệ di truyền giữa ba dòng trong hệ thống nhân dòng CMS và sản xuất hạt lai

Ghi chú: S: Gen bất dục đực trong tế bào chất

N: Gen hữu dục đực trong tế bào chất

R: Gen phục hồi phần trong nhân (trội)

r: Gen lặn không có khả năng phục hồi phần trong nhân

2.2. Bất dục đực di truyền tế bào chất (Cytoplasmic Male Sterility: CMS)

2.2.1. Đặc điểm di truyền tế bào chất và cơ chế gây bất dục ở lúa

Di truyền tế bào chất là sự truyền đạt tính trạng của thực vật thông qua bộ gen trong tế bào chất. Vật liệu di truyền tế bào chất không trải qua quá trình phân chia giảm nhiễm, vì vậy những tính trạng được kiểm tra bởi các gen trong tế bào chất không phân ly theo qui luật di truyền của Mendel mà di truyền qua tế bào sinh sản cái. Các tính trạng của dòng mẹ (hiệu

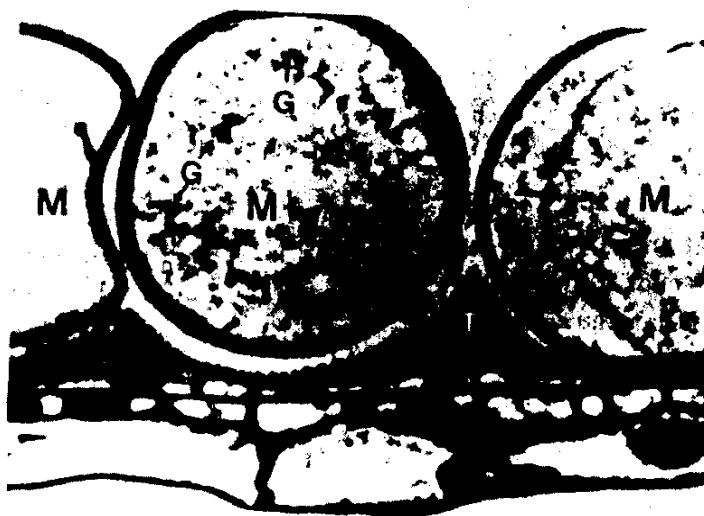
ứng dòng mẹ) được di truyền ổn định từ thế hệ này sang thế hệ khác.

Hiện tượng bất dục được di truyền tế bào chất được phát hiện trên nhiều loại cây trồng, dòng bất dục tế bào chất được coi là một công cụ di truyền quan trọng để khai thác ưu thế lai. Laser (1972) cho rằng hầu hết cây trồng nếu được nghiên cứu đầy đủ, đều có thể tìm ra các kiểu bất dục được di truyền tế bào chất.

Bất dục được di truyền tế bào chất ở lúa được sử dụng khá rộng rãi, nhưng hiểu biết về cơ chế tác động gây nên bất dục còn nhiều hạn chế. Những nghiên cứu về sinh học phát triển đã bước đầu giúp cho việc hiểu biết này. Theo Fu Xiqin (1993) có 2 kiểu cơ chế làm cho hạt phấn mất khả năng thụ tinh (bất thụ).

- Kiểu thứ nhất: Tiểu bào tử thoái hóa nhanh. Khi bắt đầu vào thời kỳ cuối của tiểu bào tử, một số lỗ nhỏ hợp nhất với nhau thành một lỗ trung tâm, các tiểu bào tử xuất hiện không bình thường, chúng bị mất đi lớp tế bào chất dày đặc ở xung quanh. Những hạt nhỏ nằm trong tiểu bào tử của dòng bất dục nhuộm màu nhạt hơn hạt của các tiểu bào tử ở bao phấn của dòng hữu dục. Một số tiểu bào tử khác lại chứa các hạt nhỏ và có cấu trúc màng ở xung quanh (ảnh 1).

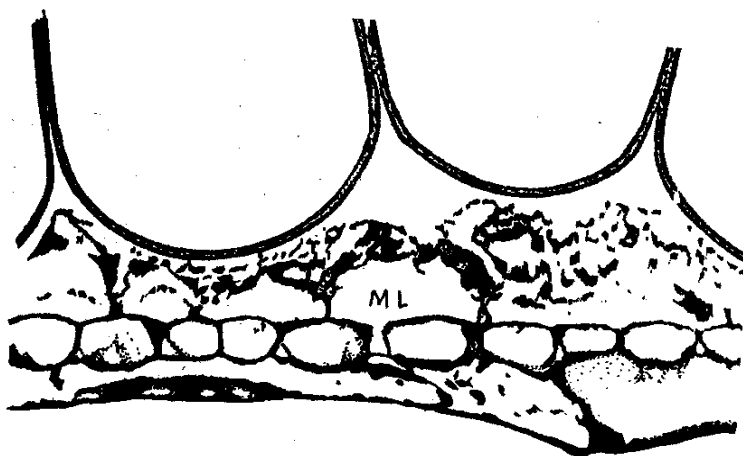
Quan sát dưới kính hiển vi thấy lớp sắc tố của bao phấn dòng CMS có cấu tạo gần giống với lớp sắc tố của bao phấn dòng hữu dục từ khi bắt đầu đến cuối giai đoạn tiểu bào tử (ảnh 1).



Ảnh 1: Lát cắt dọc bao phẩn của dòng $V_{20}A$
 ở cuối giai đoạn tiểu bào tử (M); tiểu bào tử
 không bình thường xuất hiện một số hạt
 hoặc cấu trúc màng bất thường xung quanh.
 Tầng nuôi (T) vẫn nhuộm màu tương tự như $V_{20}B$.
 Ảnh hiển vi 1500× (Xi-qin-Fu, 1987)

Nhưng ngay sau đó mô của lớp sắc tố ở bao phẩn
 của dòng CMS bị mất đi nhanh chóng một số tế bào,
 trong khi đó một số tế bào ở lớp giữa đột ngột trương
 lên lấn át lớp sắc tố (ảnh 2). Vì vậy tầng nuôi bị thoái

hóa, hầu hết tiểu bào tử bị ngừng các hoạt động trao đổi chất. Do đó các tiểu bào tử tự phân giải hoặc là không tiếp tục phân chia nguyên nhiễm để hình thành hạt phấn hai nhân. Sự rối loạn trao đổi chất xảy ra trong quá trình phát triển tiểu bào tử gây nên hạt phấn bất dục.



Ảnh 2: Lát cắt dọc bao phấn dòng $V_{20}A$ ở cuối giai đoạn tiểu bào tử. Tầng nuôi (T) đã mất rất nhiều vật chất trong tế bào trong khi các tế bào tầng giữa (ML) bắt đầu trương lên

Ảnh hiển vi 1500 $\times$ (Xi-qin-Fu, 1987)

- Kiểu thứ hai: Tiểu bào tử thoái hóa chậm hay nói cách khác là tiểu bào tử thoái hóa ở giai đoạn cuối của quá trình phát triển: Quan sát quá trình phát triển của tiểu bào tử từ đầu đến cuối thấy mọi sự diễn biến tương đối bình thường tương tự như dòng B. Dấu hiệu đầu tiên của sự thoái hóa được phát hiện ở lớp sắc tố vào cuối giai đoạn tiểu bào tử: Các tế bào của lớp sắc tố đột ngột phân giải hầu hết thành phần trong tế bào, biến thành một lỗ lớn (giống như không bào) (ảnh 3).

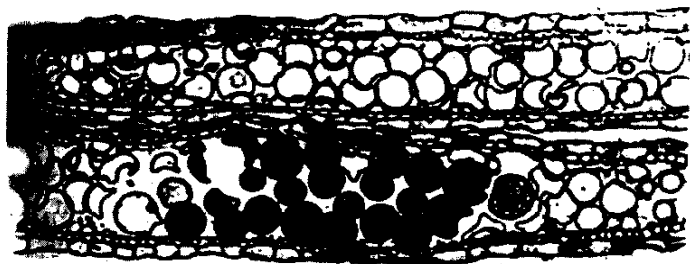


Ảnh 3: Lát cắt dọc bao phấn dòng V_{20A} ở cuối giai đoạn tiểu bào tử. Chú ý tiểu bào tử vẫn bình thường trong khi tầng nuôi (T) đã bị phân giải hầu hết vật chất chứa trong tế bào

Ảnh hiển vi 1500× (Xi-qin-Fu, 1987)

Sự phân giải thành phần tế bào lớp sắc tố có thể bắt đầu từ khi hình thành lỗ do tế bào chất của lớp sắc tố bị mất đi. Sự biến mất đột ngột của lớp sắc tố đương nhiên đã cắt nguồn cung cấp dinh dưỡng cho các quá trình trao đổi chất làm cho tầng nuôi bị chết các tiểu bào tử còn tồn tại một thời gian lâu hơn so với kiểu 1.

Có thể quan sát được sự suy thoái quá trình phân hóa mô gỗ trong chỉ nhị bắt đầu từ giai đoạn hình thành tế bào mẹ hạt phấn. Hiện tượng suy thoái này gây ảnh hưởng lên quá trình vận chuyển nước và dinh dưỡng qua chỉ nhị cung cấp cho tầng nuôi là nguyên nhân chính gây cản trở các quá trình phân hóa tiếp sau.



Ảnh 4: Lát cắt dọc bao phấn V_{2A} chỉ ra 2 kiểu bào tử cùng xuất hiện trong một ngăn (phía dưới).

Ở vị trí 2 đầu của ngăn, tiểu bào tử bị thoái hóa theo kiểu thứ nhất, các tế bào tầng giữa phồng lên.

ở chính giữa ngăn, tiểu bào tử thoái hóa chậm theo kiểu thứ hai, lớp tế bào giữa không bị phồng

Ảnh hiển vi 300× (Xi-qin-Fu, 1987)

2.2.2. Phân loại bất dục đực tế bào chất ở lúa

Có thể phân loại bất dục đực tế bào chất ở lúa th ba cách sau:

a) Phân loại dựa theo đặc điểm di truyền: có 2 loại:

* Bất dục đực bào tử thể (Sporophytic):

Sơ đồ 1:

	S(rr)	×	N(RR)
		↓	
	F ₁	S(Rr)	hữu dục
		↓ ×	
		F ₂	
F ₂	Giao tử đực ♂	S(R) Hữu dục	S(r) Hữu dục
	Giao tử cái ♀	S _(R) hữu dục	S _(Rr) hữu dục
		S _(rr) hữu dục	S _(rr) bất dục

Hạt phấn bất dục được xác định bởi kiểu gen củ cây lúa. Khi kiểu gen của cây có cấu trúc di truyền S(rr) thì tất cả hạt phấn sinh ra đều bất dục, nếu kiế gen của cây là N(RR) hoặc S(RR) thì hạt phấn sinh ra đều hữu dục. Kiểu gen của cây F₁ là S(Rr) sẽ sinh ra hai loại giao tử đực R và r nhưng các hạt phấn này vẫn hữu dục, vì sự hữu dục của hạt phấn được xác định b gen trội hữu dục trong cây. Khi nhuộm màu và quan sát trên kính hiển vi hạt phấn của con lai F₁ (A/R) khoảng 90% số lượng hạt phấn bình thường. Ở quế

thể F_2 có khoảng 1/4 số cá thể bất dục phấn như sơ đồ dưới đây, do vậy không bao giờ dùng hạt F_2 để sản xuất vì quần thể F_2 sẽ phân ly theo tỷ lệ 3 hữu dục : 1 bất dục (sơ đồ 1).

Đặc điểm của dòng CMS bào tử thể:

- Tính bất dục ổn định, ít chịu ảnh hưởng của điều kiện môi trường: phổ phục hồi hẹp nghĩa là ít giống trở thành dòng R và nhiều giống có thể trở thành dòng B.

- Lóng sát cổ bông ngắn hơn bình thường hoặc ngắn hơn bẹ lá đòng, do vậy một phần bông khi trở không thể thoát ra khỏi bẹ lá đòng ở mức độ khác nhau.

Kiểu bất dục hoang dại "WA" và kiểu "G" là bất dục bào tử thể.

** Bất dục được giao tử thể (Gametophytic):*

Hạt phấn bị thoái hóa do kiểu gen của chính hạt phấn (giao tử) điều khiển mà không lệ thuộc vào kiểu gen của cây. Gen nhân R và r trong giao tử điều khiển tính hữu dục và bất dục, giao tử S(r) bất dục (không có khả năng thụ phấn). Con lai F_1 (A/R) có hai kiểu gen của hạt phấn là S(R) và S(r) với tỉ lệ ngang nhau (khoảng 50% số lượng hạt phấn hữu dục và 50% bất dục). Tuy vậy, tỷ lệ đậu hạt của cây F_1 vẫn cao như bình thường. F_2 không phân ly bất dục và hữu dục như trường hợp trên. Có thể giải thích hiện tượng này qua sơ đồ 2.

Sơ đồ 2:

	S(rr)	×	N(RR)
		↓	
	F ₁	S(Rr)	hữu dục
		↓ ×	
		F ₂	
F ₂	Giao tử đực ♂	S(R) hữu dục	S(r) bất dục
	Giao tử cái ♀		
	S(R) hữu dục	S(RR) hữu dục	không thụ tinh
	S(r) hữu dục	S(Rr) hữu dục	không thụ tinh

Sở dĩ F₂ không có cây bất dục vì những giao tử đực mang gen S(r) của cây F₁ đã bị thoái hóa không còn khả năng thụ tinh.

Sự thoái hóa hạt phấn diễn ra vào cuối quá trình phát triển bào tử nên hạt phấn đã tròn, tinh bột đã được tích lũy một ít, khi nhuộm iốt (trong dung dịch KI 1%) hạt phấn có màu xanh nhạt hoặc chỗ đậm chỗ nhạt. Bao phấn lép, màu vàng úa hoặc trắng sữa, không mở. Khi gặp nhiệt độ cao, độ ẩm không khí thấp, một số bao phấn có thể mở và trên cây có một ít hạt tự thụ phấn được hình thành.

Dòng bất dục giao tử thể dễ phục hồi hữu dục, phổ phục hồi rộng nên dễ tìm được dòng phục hồi tốt.

Bông lúa trỗ thoát hơn so với kiểu bất dục bào tử thể. Các kiểu bất dục "BT", "Dian 1", "Hong liên" thuộc hệ thống này.

b) *Phân loại bất dục dựa theo quan hệ giữa dòng phục hồi và dòng duy trì*: có 3 loại

* *Bất dục dạng đại (Wild Aborted "WA")*:

Bất dục dạng đại thuộc hệ thống bất dục bào tử thể, các dòng bất dục được hình thành do lai giữa lúa đại với giống Indica chín sớm như Er-Jiu-nam 1, Zhen shan 97, V20, V41. Các dòng giống Indica chín sớm của Trung Quốc có thể dùng làm dòng duy trì và các giống của vùng Đông Nam Á có thể phục hồi hữu dục cho kiểu "WA" như: Tai yin 1, IR24, IR26, Indônêxia 6 và một số giống Indica chín muộn ở miền Nam Trung Quốc như Xue-gu-zao, Zhu - ai.

Nghiên cứu bản chất di truyền của kiểu bất dục "WA" Gao (1981), Hu và Li (1985), Lei và cộng sự (1984) đã xác định tính bất dục của kiểu này được kiểm tra bởi gen bất dục trong tế bào chất liên kết với 2 cặp gen lặn trong nhân.

* *Bất dục được kiểu "Hong liên"*:

Thuộc hệ thống bất dục giao tử thể được hình thành do lai giữa lúa đại râu đỏ với lúa trồng giống Liên-tang-zao. Mối quan hệ giữa dòng phục hồi và dòng duy trì kiểu "Hong liên" ngược với kiểu "WA". Các dòng duy trì kiểu "WA" như Zhen shan 97, Zinnamte 43, Xianfeng 1 lại phục hồi cho kiểu "Hong liên". Trái lại một số dòng phục hồi mạnh cho kiểu "WA" như Taiyin 1 lại duy trì được kiểu "Hong liên", các giống của Viện nghiên cứu lúa quốc tế như IR24, IR26 thì phục hồi một phần kiểu này.

Tính bất dục kiểu "Hong liên" được kiểm tra bởi bộ gen nằm trong tế bào chất và một cặp gen lặn cùng với một số gen cải tiến nằm trong nhân tế bào (Hu và Li 1985, Zhu và cộng sự 1985).

** Bất dục kiểu "BT":*

Là kiểu bất dục đặc trưng cho loài phụ Japonica. Kiểu này bao gồm nhiều dòng CMS như: Tai chung 65, Li ming, Feng jin, Tien 1, Tien 3. Hầu hết các giống lúa Japonica có thể duy trì kiểu bất dục "BT". Các gen phục hồi đều có nguồn gốc từ Indica nhưng đã được lai chuyển sang Japonica. Một số giống Indica của vùng núi cao Vân Nam - Trung Quốc, của vùng Đông Nam Á, của IRRI cũng có thể phục hồi hữu dục cho kiểu "BT".

Tính bất dục được một cặp gen lặn trong nhân và gen trong tế bào chất điều khiển (Hu và Li 1985, Shinjo 1975).

c) Phân loại dòng CMS theo hình thái hạt phấn: Có 3 kiểu:

** Kiểu bất dục điển hình:*

Hạt phấn bất dục có hình dạng bất thường như hình tam giác, hình thoi, hình cầu khuyết, vỏ hạt nhăn nheo. Khi nhuộm màu trong dung dịch KI 1% các hạt không chuyển màu xanh vì không tích lũy được tinh bột (ảnh 5).

Hạt phấn bị thoái hóa chủ yếu vào thời kì đơn nhân nên kiểu bất dục này được gọi là kiểu "bất dục đơn nhân". Các dòng bất dục kiểu "WA" đều có dạng bất dục điển hình.



- Ảnh 5: Kiểu bát dục phấn điển hình

Ảnh hiển vi $\times 130$ (Lương chengye và cộng sự, 1990)

** Bát dục phấn hình cầu:*

Hạt phấn hình cầu, kích thước các hạt trong cùng bao phấn không đều nhau, không chuyển màu khi nhuộm KI 1%. Hạt phấn thoái hóa ở thời kỳ hai nhân nên gọi là kiểu "bát dục hai nhân". Các dòng CMS "Hong liên" thuộc kiểu này.

** Bát dục nhuộm màu:*

Hạt phấn hình cầu, nhuộm từng phần hoặc nhuộm nhẹ trong dung dịch KI 1%. Hạt phấn bị thoái hóa vào thời kỳ 3 nhân nên gọi là kiểu "bát dục ba nhân". Các dòng CMS kiểu "BT" được xếp vào loại này (ảnh 6).

2.2.3. Cách nhận biết cây lúa bát dục

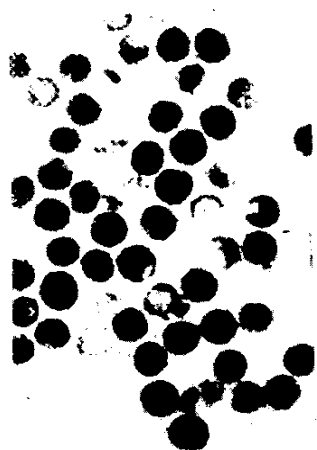
Có 3 cách nhận biết cây lúa bát dục:

a) Quan sát bằng mắt:

Căn cứ vào đặc điểm hình thái của cây lúa lúc trổ bông, tìm các cá thể trổ nghẹn đồng, quan sát kỹ màu sắc, hình dạng bao phấn. Nếu bao phấn trắng sữa hoặc vàng ngà đầu bao phấn nhọn, khi nở hoa thừ rung mạnh mà không có hạt phấn rơi trên tay tức là bao phấn không mở, hạt phấn lép không tung ra được. Cây lúa như vậy có khả năng bất dục.

b) Bao cách ly:

Khi quan sát thấy cây lúa nghi là bất dục, tìm 1-2 bông vừa mới nhú, cách ly bằng bao giấy để ngăn hạt phấn ngoài rơi vào. Sau khi bao 10-15 ngày n, bao ra quan sát nếu không có hạt mấy chứng tỏ cá lúa đó bất dục.



Ảnh 6: Bất dục nhuộm màu

Ảnh hiển vi $\times 135$

(Ligang C.Y và cộng sự, 1990.)

c) Quan sát trên kính hiển vi:

Trên bông lúa mới trổ chưa tung phấn, lấy ngẫu nhiên 5 hoa phấn đầu, 5 hoa phấn giữa, 5 hoa phấn cuối bông, gắp bao phấn của các hoa để trên lam kính, nhỏ 1-2 giọt dung dịch KI 1%, dùng panh xé các bao phấn để hạt phấn thoát ra ngoài, gắp bỏ vỏ bao, đưa lên kính để soi. Nếu quan sát thấy hạt phấn bất dục như mô tả ở các kiểu kể trên thì đó là cây bất dục (hạt phấn bình thường nhuộm màu xanh đậm, tròn căng và đều nhau về kích thước).

2.2.4. Một số dòng CMS được phát hiện, cải tiến và sử dụng

Phát hiện đầu tiên về dòng bất dục được di truyền tế bào chất ở lúa do Weeraratne 1954 ở Colombô, Sampath và Mohanty 1954 ở Ấn Độ (theo Virmani và cộng sự. 1986). Katsuo và Misushima (Nhật) thu được cây lúa bất dục hoàn toàn trong cặp lai lúa đại với lúa trồng (O.S. Fatua. Spontanea/O.S. Cultivar giống Fujisaka 5).

Năm 1964 Yuan tìm được cây bất dục được ở giống Indica chín muộn có tên là Đồng-tình-vạn-tiên. 1970 Li-Bihu tìm ra cây lúa bất dục được dạng đại tự nhiên ở đảo Hải Nam là tiền thân của kiểu bất dục "WA" phổ biến hiện nay.

Sau 30 năm nghiên cứu, các nhà khoa học Trung Quốc tìm ra hàng trăm dòng CMS từ nhiều nguồn khác nhau do lai giữa lúa đại với lúa trồng, lai giữa các loài phụ lúa trồng, lai xa địa lý, gây đột biến, chuyển gen v.v...

Viện nghiên cứu lúa quốc tế và các Viện nghiên cứu của nhiều nước khác như Nhật bản, Triều Tiên, Đài Loan, Mỹ, Ấn Độ. Việt Nam cũng tìm được nhiều dòng CMS.

Tuy số lượng dòng CMS tìm ra khá nhiều nhưng theo tổng kết của Yuan và Virmari (1988), Zhoukulu (1994) thì đến nay mới chỉ sử dụng một số rất ít dòng CMS để sản xuất lúa lai (bảng 9), vì các dòng này tương đối ổn định và cho ưu thế lai cao. Đa số dòng khác còn đang nghiên cứu và cải tiến về nhiều mặt.

Bảng 9: Các dòng CMS được sử dụng ở Trung Quốc từ năm 1970 đến nay

(Yuan 1988 và Zhou, 1994)

Kiểu bất dục	Nguồn tế bào chất		Giống đại diện	Tỉ lệ % so với lúa lai nói chung
	Loài	Giống, dạng		
1. "WA" Indica sporophytic	O. Sativa spontanea	Lúa đại bất dục	Zhen Shan 97A V ₂₀ A Te A BobeA	65,9 18,1 2,6 3,3
2. "GA" Indica sporophytic	O.Sativa L.	Gambiaca	Chaoyang 1A	3,6
3. "Di" Indica sporophytic	O.Sativa L.	Dissi	II-32A U 1-A	0,13 2,36
4. "DA" Indica sporophytic	O.Sativa L. spontanea	Lúa đại lùn	Xuequing ZaoA	ft
5. "D" Indica sporophytic	O.Sativa L. spontanea		D Shan A	ft
6. "Hi" Indica gametophytic	O.Sativa L. spontanea	Lúa đại thường	Qing Siai A	ft
7. "BT" Japonica gametophytic	O.Sativa L.	chinsu rah Boroll	Liming A	ft
8. "Ti" japonica gametophytic	O.Sativa L.	Eshan-ta-bai	Liu qiansinA	ft

2.2.5. Các phương pháp tạo dòng CMS mới

a) Phương pháp tạo dòng CMS mới đồng tế bào chất có các nguồn nhân khác nhau:

* Lai thử và lai lại:

Phương pháp tạo dòng CMS mới bằng lai thử tương đối đơn giản, dễ thực hiện. Những cơ sở mới bắt đầu nghiên cứu chọn giống lúa lai cần chọn phương pháp này, cách làm như sau: Thu thập các dòng CMS sẵn có trong nước và nhập nội làm vật liệu khởi đầu. Chọn các dòng giống trong tập đoàn lúa thuần có những đặc tính nông sinh học mong muốn như: Năng suất cao, phẩm chất tốt, chống chịu sâu bệnh tốt v.v... Tiến hành lai thử hàng loạt tổ hợp, mỗi tổ hợp lai từ 50-100 hạt. Gieo hạt lai thành hàng có kèm cây bố để tiện quan sát so sánh đặc điểm của con lai trong quá trình sinh trưởng phát triển.

Khi lúa trổ, quan sát bao phấn và hạt phấn của cây F_1 . Chọn các tổ hợp F_1 có số lượng hạt phấn bất dục 90-100%, tìm những cá thể mang nhiều tính trạng nông sinh học giống cây bố, lai lại với chính cây bố. Hạt lai B_1F_1 (lai lại lần thứ nhất: BC1) được gieo lại đúng như vụ trước. Khi lúa trổ tiến hành kiểm tra hạt phấn của con lai, nếu tỉ lệ hạt phấn bất dục tăng lên hoặc ổn định 100% thì lai lại lần thứ hai. Tiếp tục như vậy 5-6 vụ liên sẽ thu được con lai BC5 hoặc BC6 thuần về các tính trạng nông sinh học, ổn định về tính bất dục (tỉ lệ hạt phấn bất dục đạt 100%). Khi đó có dòng A-mới đồng

tế bào chất với dòng A khởi đầu. Dòng bố lai lại là dòng B mới duy trì bất dục. Tiếp tục nhân các cặp mới chọn và tìm các dòng phục hồi cho tổ hợp lai có ưu thế lai cao.

** Cải tiến tính trạng của dòng B, lai lại để tạo dòng CMS có một số tính trạng mới bổ sung:*

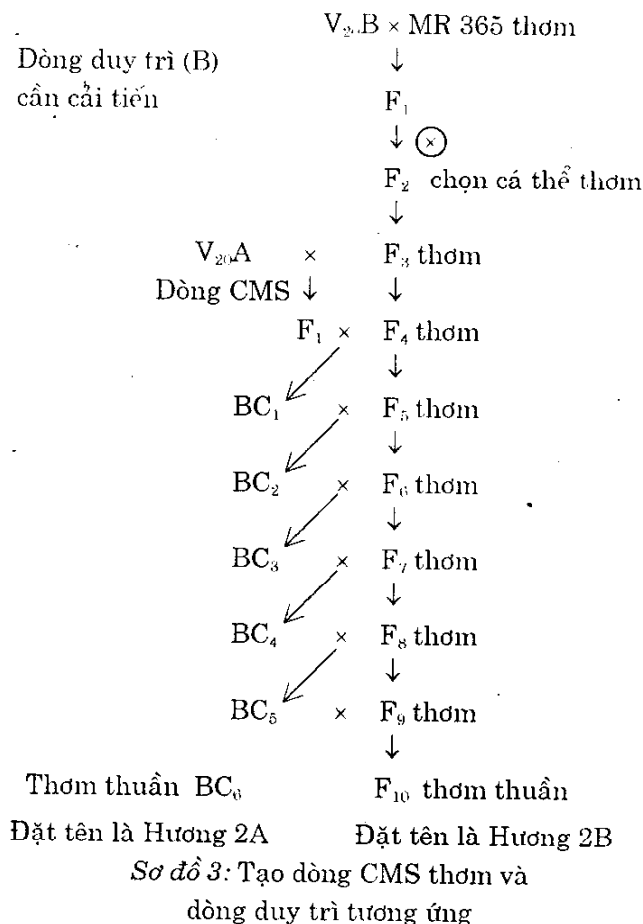
Nhiều giống lúa có các tính trạng nông sinh học tốt, nhà chọn giống muốn đưa các tính trạng đó vào dòng CMS nhưng khi lai với các dòng A sẵn có lại không thu được F_1 bất dục vì dòng, giống đó không mang gen duy trì bất dục $N(rr)$. Zhou và Yang (1993) đã dùng các giống có các tính trạng mong muốn để cải tiến dòng B bằng cách lai giống đó với dòng B, chọn lọc cá thể 2-3 thế hệ thu được cây tốt mong muốn. Dùng cây đó làm bố lai với dòng A để cải tiến dòng A. Sơ đồ 3 trình bày quá trình tạo dòng CMS thơm đồng tế bào chất với $V_{21}A$ qua 10 vụ.

** Thay đổi cây bố:*

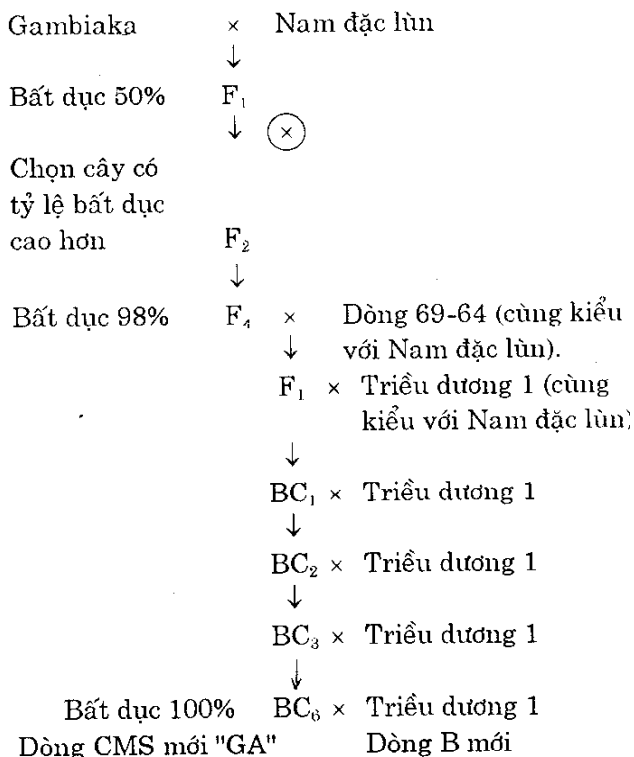
Trong quá trình lai lại để tạo dòng bất dục được đồng tế bào chất thường xảy ra hai trường hợp: Một là độ bất dục tăng lên sau mỗi lần lai và tiến tới bất dục hoàn toàn ổn định. Hai là độ bất dục đột nhiên giảm đi ở một lần lai lại nào đó.

Khi gặp trường hợp một chỉ cần lai lại 5-6 lần là thu được dòng CMS mới. Nếu gặp trường hợp thứ hai có thể tìm cách khắc phục bằng biện pháp "đổi bố" duy trì. Trình tự thực hiện như sau:

Trước hết để F_1 tự thụ phấn, gieo hạt F_2 . Tìm trong quần thể phân ly F_2 các cá thể bất dục có những tính trạng mong muốn lấy làm cây mẹ (Sơ đồ 3).



Chọn một dạng có cùng loại hình sinh thái với cá bố khởi đầu để thay thế, lai dạng được chọn với cây bố dục chưa hoàn toàn, ví dụ: Sơ đồ 4: tạo dòng CMS kiểu GA: đã tiến hành thay cây bố 2 lần, cuối cùng thu được dòng CMS mới và dòng B mới: Triều dương 1.



Sơ đồ 4: Tạo dòng CMS "GA" thay cây bố 2 lần

b) Phương pháp lai xa để tạo dòng CMS có tế bào chất mới và dòng duy trì tương ứng.

* Tạo vật liệu khởi đầu:

- Chọn tổ hợp lai xa: Thông thường chọn lúa đại, lúa nửa đại hoặc các dạng Indica nguyên thủy chín muộn (Indica điển hình) làm cây mẹ, lai với dạng bố đã được cải tiến nhiều hơn như các giống Japonica, các giống Indica chín sớm và chín trung bình. Thực hiện lai, nếu thu được cây bất dục thì lai lại liên tục với dạng bố, cuối cùng sẽ thu được dạng bất dục với nguồn tế bào chất mới, cây bố là dòng duy trì mới. Nếu lai nghịch thì khó tìm được dòng CMS. Các kiểu bất dục thông dụng hiện nay như kiểu "WA" kiểu "Hồng liên"... đều chọn từ các tổ hợp lai xa giữa các loài trong họ lúa như: *Oryza Perennis*, *O. Sativa fatua Spontanea* v.v... lai với lúa trồng, hoặc *O. glaberrima/O. Sativa* L.

Lai xa giữa các loài phụ lúa trồng: Indica/Japonica; Indica/Javanica, Japonica/Javanica có khả năng chọn được con lai bất dục ở thế hệ phân ly, kiểu bất dục "BT" của Nhật, Tien 3 của Trung Quốc được chọn từ các cặp lai loại này.

Lai giữa các giống cùng loài phụ ít có cơ hội chọn ra các dạng bất dục. Tuy nhiên nếu chọn bố mẹ là các giống địa phương cổ truyền chưa được cải tiến vẫn có thể tạo được các dạng bất dục mới. Kiểu bất dục "G" và "ZhenDin 28A" thu được từ các tổ hợp lai trong loài.

c) Phương pháp tạo dòng CMS bằng gây đột biến:

Xử lý đột biến vật lý hay hóa học cũng có khả năng làm xuất hiện dạng CMS mới. Để duy trì được dạng CMS chọn từ thể đột biến người ta thường đem lai thử chúng với chính vật liệu khởi đầu chưa xử lý. Nếu thấy con lai tiếp tục bất dục chứng tỏ rằng vật liệu khởi đầu là dòng duy trì của thể đột biến mới chọn ra.

d) Phương pháp chọn lọc:

Sử dụng phương pháp chọn lọc phả hệ (Pedigree) trước hết chọn cây lúa bất dục, sau đó lai thử để tìm dòng duy trì. Sau khi tìm được dòng duy trì thì lai trở lại với dòng duy trì để tạo ra cặp A/B mới.

Cần chú ý, khi lai lại có thể gặp hiện tượng bất dục nhiễm sắc thể nghĩa là con lai ở lần lai lại sau có tỉ lệ hạt phấn bất dục thấp hơn ở lần trước đó. Trường hợp này cần loại bỏ tổ hợp để đỡ tốn thời gian và công sức.

2.3. Duy trì bất dục (Maintenance)

2.3.1. Khái niệm

Gen duy trì bất dục nằm trong nhân tế bào là dạng lặn, ký hiệu là (rr), tế bào chất không chứa gen bất dục N nên cây duy trì có phấn bình thường. Chỉ khi lai với dòng CMS thì con lai F_1 mới biểu hiện bất dục:

$$\begin{array}{ccc} A \times B & & S(rr) \times N(rr) \\ \downarrow & \text{hoặc} & \downarrow \\ A & & S(rr) \end{array}$$

Con lai giữa A/B được gọi là A thực chất là F_1 nhưng không gọi là F_1 vì cấu trúc di truyền trong nhân của con lai vẫn giống A về đặc điểm bất dục.

2.3.2. Phương pháp chọn tạo dòng duy trì

Muốn tìm được dòng duy trì nhất thiết phải có dòng bất dục. Một dòng duy trì chỉ có khả năng duy trì một hay một số dòng bất dục dục cùng kiểu.

Phương pháp chọn tạo dòng duy trì như sau: Lấy các dòng CMS làm mẹ, chọn nhiều dòng giống có những đặc tính mong muốn của tập đoàn giống lúa làm bố để lai. Hạt lai thu được đem gieo mỗi tổ hợp 20-30 cây thành hàng. Khi lúa trổ kiểm tra hạt phấn, tổ hợp nào có số hạt phấn bất dục cao trên 90% chọn để lai lại với cây bố. Tiếp tục gieo hạt lai, kiểm tra hạt phấn của cây lai, chọn cây có tỷ lệ bất dục cao để tiến hành lai lại đến khi được dòng bất dục có tỷ lệ hạt phấn bất dục 100% thì ngừng. Dòng bố đó chính là dòng duy trì bất dục (dòng B).

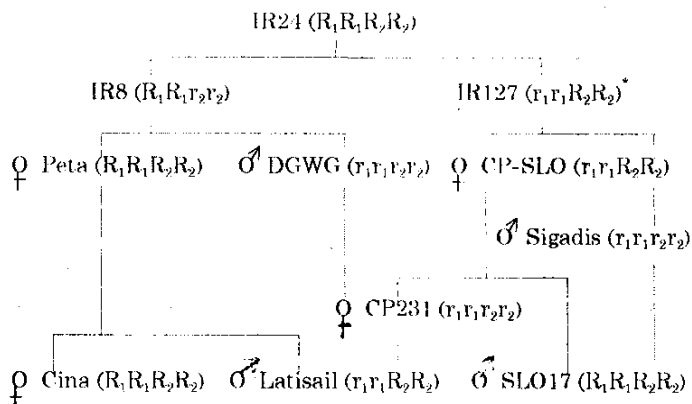
2.4. Phục hồi hữu dục (Restoration)

2.4.1. Khái niệm và nguồn gốc gen phục hồi

Phục hồi hữu dục đóng vai trò hết sức quan trọng trong chương trình chọn giống nhằm khai thác tính bất dục dục di truyền tế bào chất.

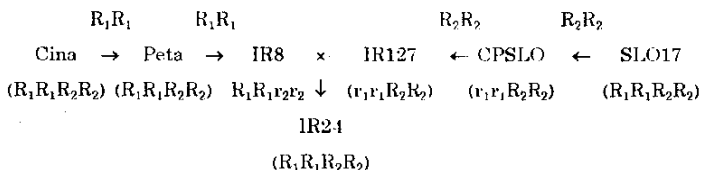
Gen phục hồi tính hữu dục là gen trội trong nhân tế bào. Một giống lúa nào đó chứa nhân tố bất dục dục trong tế bào chất mà nhân có gen trội phục hồi thì đặc điểm sinh dục của nó giống như mọi cây lúa bình thường. Tính bất dục tế bào chất chỉ thể hiện trong

trường hợp giống nào đó mang gen phức hồi trong nhân dưới dạng đồng hợp thể lặn mà thôi.



(* r₁r₁R₂R₂ và r₁r₁r₂r₂ có thể tồn tại ở IR127)

Sơ đồ 5: Phả hệ của IR24 trong mối quan hệ với gen phức hồi (Li và Yuan, 1986)



Sơ đồ 6: Sơ đồ chuyển dịch hai cặp gen phức hồi hữu dụng của IR24 (Li và Yuan, 1986)

Các kết quả nghiên cứu cho rằng những giống lúa nguyên thủy chứa một hoặc một số gen trội phức hồi.

các giống lúa có nguồn gốc ở vĩ độ thấp thuộc vùng Nam và Đông Nam Á như IR24, Indônêxia 6 và một số giống địa phương có khả năng phục hồi kiểu bất dục "WA".

Lúa nguyên thủy chứa cải tiến hoặc các giống lai có các giống nguyên thủy làm bố mẹ thường chứa gen phục hồi trội. Một số giống Indica chín muộn, giống phản ứng với chu kỳ ánh sáng ngày ngắn, giống Indica trung ngày đều có khả năng phục hồi ở những mức độ khác nhau. Các giống Indica chín sớm rất khó tìm được dòng phục hồi hoặc có thì khả năng phục hồi yếu. Các giống thuộc loài phụ Japonica hầu như không tìm được gen phục hồi.

Sau khi nghiên cứu chi tiết phả hệ của gen phục hồi hữu dục bằng việc lai thử tất cả các dạng bố mẹ của IR24, Li và Yuan (1986) đã xác định nguồn gốc 2 cặp gen phục hồi của IR24 qua sơ đồ 5 và 6.

2.4.2. Các nhóm lúa mang gen phục hồi và sự di truyền của chúng

a) Phân nhóm:

Theo thống kê các kết quả nghiên cứu thì hiện nay quỹ gen lúa của Trung Quốc giữ tới 3.000 dòng phục hồi có nguồn gốc khác nhau (Xie và cộng sự, 1994). Các dòng phục hồi được chia thành 4 nhóm:

- Nhóm 1: Đại diện là giống IR24 chứa 2 cặp gen phục hồi trội $R_1R_1R_2R_2$, nhóm này phục hồi mạnh cho kiểu bất dục "WA" và "G" phục hồi yếu cho "Hong liên" và "Tian 1".

- Nhóm 2: Đại diện là Taiying 1, Peta, IR8, Indônêxia 6, Xueqingzao phục hồi kiểu "WA", duy trì kiểu "Hong liên", "BT", "Tian 1" và "G".

- Nhóm 3: Có Zhen shan 97, Longzi 1; duy trì kiểu "WA" phục hồi kiểu "Hong liên", "BT" và "Tien 1".

- Nhóm 4: Gồm các giống 5350; 75-P₁₂; 85661; 300 được tạo ra bằng phương pháp lai có khả năng phục hồi hầu hết các kiểu "WA", "G", "Hong liên", "BT", "D".

Wang (1983) phân chia dòng phục hồi làm 3 nhóm dựa theo khả năng phục hồi của chúng là: Phục hồi mạnh ký hiệu là R^S, phục hồi yếu là R^W và gen lặn rr không có khả năng phục hồi.

b) Các vùng phân bố:

Kết quả nghiên cứu địa lý sinh thái của các dòng phục hồi cho nhận xét rằng:

- Trong loài phụ Indica có ba kiểu hình sinh thái là Aman, Aus và Boro, gen phục hồi có ở kiểu Aman và Boro, còn Aus có gen phục hồi yếu và không phục hồi. Ở Đảo Jawa có 2 kiểu sinh thái là Bulu và Tjereh thì kiểu Tjereh có 1 gen phục hồi, kiểu Bulu không có gen phục hồi.

- Ở châu Á gen phục hồi phân bố ở lúa vùng Nam Trung Quốc, Nam và Đông Nam Á.

- Ở châu Âu không tìm được gen phục hồi. Ở Mỹ bang California trồng lúa Japonica không tìm được gen phục hồi, còn ở bang Texas và bang Louisiana trồng

Tóm lại gen phục hồi tính hữu dục ở lúa dễ tìm thấy ở vùng trồng lúa nhiệt đới, không thể tìm được ở vùng ôn đới (Shinjyo, 1975).

c) Sự di truyền các gen phục hồi:

- Phục hồi thể bào tử: IR24 là dòng phục hồi cho kiểu bất dục "WA" và "G" có 2 cặp gen trội độc lập, chúng có thể tác động riêng rẽ nhau hoặc kết hợp với nhau, có thể sử dụng chúng để chọn dòng phục hồi và mở rộng phạm vi của nguồn phục hồi. Ở các giống chứa 2 cặp gen phục hồi trội ($R_1R_1R_2R_2$) thì khả năng phục hồi mạnh, các giống có một cặp R_1R_1 hoặc R_2R_2 phục hồi yếu hoặc phục hồi không hoàn toàn. Do đó để tạo dòng phục hồi có thể lai giữa dòng phục hồi mạnh với các giống có đặc tính nông sinh học tốt, cũng có thể lai giữa hai dòng phục hồi không hoàn toàn với nhau.

- Phục hồi thể giao tử: Sự di truyền tính phục hồi ở kiểu bất dục "BT", "Tian 1" và "Hong liên" thuộc thể giao tử. Shinjyo (1972), đã tiến hành lai một số cặp và mô tả như sau:

+ Nếu kiểu gen của dòng bất dục BT là $S(rr)$ và dòng duy trì tương ứng là $N(rr)$, dòng phục hồi hữu dục cho BT-A là $S(RR)$ cho BT-X là $N(RR)$. Tiến hành lai $S(rr)/S(RR) \rightarrow F_1: S(Rr)$. Kiểm tra hạt phấn F_1 trên kính hiển vi có tỷ lệ hạt phấn hữu dục là 50% và tỷ lệ đậu hạt là 90%. Thế hệ F_2 phân ly theo tỷ lệ số cây có 100% phấn hữu dục và số cây có 50% phấn hữu dục là 1:1. Nhưng khi đậu hạt thì ở cả 2 loại đều có tỷ lệ hạt nảy 90%.

+ Khi lai dòng phục hồi S(RR) (làm mẹ) với dòng duy trì bất dục N(rr) (làm bố), kiểu gen của F_1 là S(Rr) giống như trường hợp trên thì sự phân ly ở F_2 cũng giống như trường hợp trên.

+ Khi lấy dòng duy trì làm mẹ N(rr) lai với cây bố phục hồi N(RR) con lai F_1 là N(Rr) hoàn toàn hữu dục F_2 không có sự phân ly cả về hạt phấn lẫn sự đậu hạt.

Do đó có thể kết luận rằng sự di truyền tính phục hồi kiểu bất dục "BT" được kiểm tra bởi 1 cặp gen có hiệu quả đối với kiểu bất dục giao tử thể. Phân tích liên kết gen để định vị cho thấy gen phục hồi nằm ở nhiễm sắc thể số 7.

2.4.3. Các phương pháp chọn tạo dòng phục hồi

a) Phương pháp lai thử (Testcrossing):

Chọn các dòng giống lúa tốt trong tập đoàn còn tác làm bố lai với các dòng CMS. Mỗi tổ hợp là khoảng 30-35 hạt. Gieo các tổ hợp lai thành hàng kèm bên cạnh là hàng cây bố. Quan sát bông lúa màu sắc bao phấn và hạt phấn, sự tung phấn và sự đậu hạt. Các tổ hợp có bông trổ thoát, bao phấn vàng chứa nhiều hạt phấn, có số hạt chắc trên bông đạt trên 80%, chứng tỏ dòng bố có khả năng phục hồi. Những tổ hợp có tỷ lệ hạt đậu hạt từ 30 đến 70% thì dòng bố đó phục hồi một phần.

Bằng cách lai thử như trên người ta đã tìm ra nhiều dòng phục hồi tốt.

b) Phương pháp lai và chọn dòng (Cross breeding):

Có thể thực hiện các phương thức lai sau đây để tạo dòng phục hồi có những tính trạng nông sinh học mong muốn:

- Lai các dòng phục hồi với nhau: R/R có thể là:
 - + Dòng phục hồi mạnh $\times$ Dòng phục hồi mạnh.
 - + Dòng phục hồi mạnh $\times$ Dòng phục hồi yếu hoặc ngược lại.
 - + Dòng phục hồi yếu $\times$ Dòng phục hồi yếu.
- Lai dòng phục hồi với dòng duy trì ($R \times B$) hoặc ($B \times R$).
 - Lai dòng R với nhiều dòng giống khác để cải tạo tính trạng nông sinh học của R.

Sau khi lai, chọn bằng phương pháp phả hệ (Pedigree) rồi thử khả năng phục hồi sớm. Sau 6-8 thế hệ sẽ thu được dòng thuần vừa có các tính trạng nông sinh học tốt lại vừa có khả năng phục hồi tính hữu dục.

Cần chú ý rằng nếu chọn cặp bố, mẹ ngẫu nhiên không chú ý đến tính phục hồi thì khả năng chọn được con lai phục hồi sẽ rất thấp. Trong một thí nghiệm theo dõi 375 cặp lai ngẫu nhiên, từ các cặp này chọn 2.617 cá thể tốt, đem chúng lai với dòng CMS để đánh giá khả năng phục hồi thu được 260 cá thể thuộc 34 tổ hợp có khả năng phục hồi, chiếm 9,93% số cá thể chọn và 9,06% số tổ hợp chọn (Wang và Liao, 1993).

c) Tạo dòng phục hồi bằng gây đột biến:

Dùng đột biến vật lý và hóa học có thể tạo được dòng phục hồi. Tại Trung tâm lúa lai Hồ Nam chiếu tia

γ với liều lượng 30 Krad lên dòng phục hồi IR24 và IR26. Đã chọn ra 27 đột biến từ IR24 và 22 đột biến từ IR26. Dem các dạng đột biến lai thử với $V_{20}A$ thu được dòng duy trì và 45 dòng phục hồi có nhiều tính trạng nông sinh học quý như: lùn, chín sớm, lá hẹp, bông to hạt nặng v.v... như Fu26, Fu36, Fu63, Wan 3...

2.5. Đánh giá khả năng tổ hợp của A và R

Khi đã có các vật liệu "ba dòng" cần tiến hành đánh giá khả năng tổ hợp của các dòng A và các dòng R. Tiến hành gieo tất cả các dòng A, R cần đánh giá, thực hiện lai theo sơ đồ của Kempthorne (1975) hoặc theo sơ đồ thực nghiệm của Trung tâm lúa lai Hồ Nam.

Ví dụ, nếu ta có n dòng CMS, n dòng R cần bố trí lai như sơ đồ (bảng 10).

Bảng 10: Sơ đồ đánh giá khả năng tổ hợp của các dòng A và R

$\begin{matrix} \nearrow R \\ Q \text{ CMS} \end{matrix}$	R_1	R_2	R_3	R_4	...	R_n	Tổng giá trị của con lai F_1
A_1	x	x	x	$\underline{x}$	...	x	x_1
A_2	x	x	x	$\underline{x}$	...	x	x_2
A_3	x	x	x	x	...	x	x_3
...	...	...	...	...	...	...	...
A_n	x	x	x	x	...	x	x_n
Tổng giá trị của con lai F_1	y_1	y_2	y_3	$\underline{y_4}$	...	y_n	

Sau khi đánh giá các tính trạng của con lai F_1 , dự đánh giá năng suất: Theo dõi năng suất của từng hợp ghi vào sơ đồ năng suất của từng dòng A với tất cả các R (theo chiều ngang: A_1/R_1 , A_1/R_2 , $A_1/R_3...$) và nă

suất của từng dòng R với tất cả các dòng A (theo chiều dọc: A_1/R_1 , A_2/R_1 , $A_3/R_1, \dots$). Nếu so sánh các giá trị x_1 , $x_2, \dots, x_n$ giả sử có x_2 lớn nhất, khi ấy có thể xác định A_2 có khả năng tổ hợp chung cao nhất với các R. Nếu so sánh các giá trị y_1 , $y_2, \dots, y_n$, giả sử thấy giá trị của y_4 lớn nhất tức là R_4 có khả năng tổ hợp chung cao nhất với tất cả các dòng A. Nếu tìm được tổ hợp nào đó ví dụ A_2/R_4 có năng suất cao nhất tức là A_2 và R_4 có khả năng tổ hợp riêng cao. Tiến hành lai thử lại để thu hạt F_1 đưa đi khảo nghiệm, nếu kết quả vẫn cao là có thể giới thiệu để sản xuất hạt F_1 trên qui mô lớn cung cấp cho sản xuất.

2.6. Trình tự chọn giống lúa lai "ba dòng"

2.6.1. Trình tự (sơ đồ 7)

2.6.2. Bố trí các vườn chọn giống

a) Vườn vật liệu bố mẹ ba dòng hay còn gọi là vườn nguồn:

Gieo các vật liệu bố mẹ nhập nội và tự tạo, các giống thuần có nhiều đặc điểm tốt. Các dòng CMS phải trồng cách ly để duy trì A/B, các R gieo cấy như lúa thuần, các mẫu giống khác gieo khoảng 20-30 cá thể thành hàng để lấy phần lai khi cần thử.

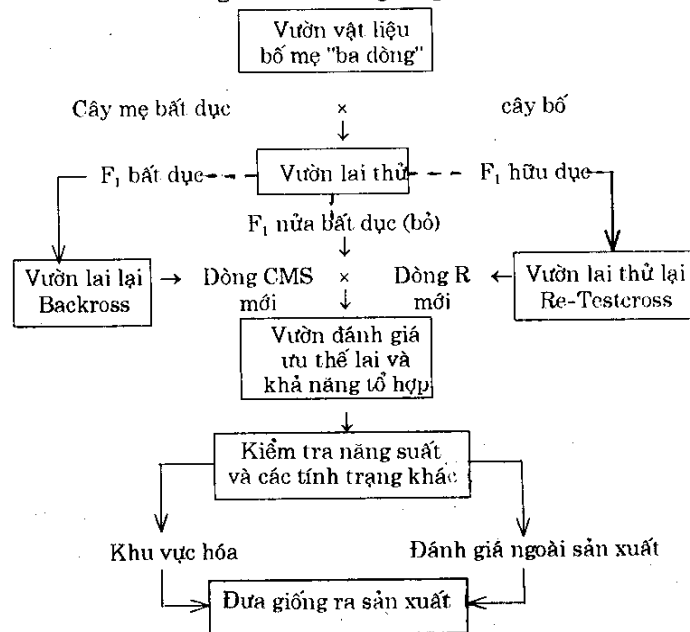
b) Vườn lai thử:

Lai các dòng CMS với các dòng giống lúa thường để tìm B và R. Gieo hạt lai F_1 để xác định các F_1 bất dục, F_1 trung gian, F_1 hữu dục. Sau khi phân loại chuyển F_1 bất dục sang vườn lai lại. F_1 hữu dục thì lấy các bố mẹ chúng lai thử lại, loại bỏ các tổ hợp trung gian.

c) *Vườn lai lại:*

Nhằm xác định các dòng duy trì bất dục (B) và tạo các dòng A mới.

Các cây F_1 bất dục cao hoặc bất dục hoàn toàn được chọn để lai lại với cây bố khởi đầu đến khi thuần và ổn định bất dục. Lai lại tiến hành 5-6 lần khi con lai bất dục 100% và số lượng cá thể trong mỗi quần thể có khoảng 1.000 cây đồng nhất thì có thể coi là có dòng CMS mới và dòng B mới tương ứng.



Sơ đồ 7: Trình tự chọn giống lúa lai ba dòng

(Li, 1993)

d) Vườn lai thử lại:

Nhằm xác định lại khả năng phục hồi phần của cây bố, xác định ưu thế lai của F_1 về các tính trạng năng suất, phẩm chất v.v...

Cách bố trí: Gieo mỗi tổ hợp 100 cây lai có kèm theo một hàng bố và giống đối chứng. Có thể bố trí nhắc lại 3-4 lần để đánh giá chính xác. Nếu số lượng hạt lai nhiều có thể bố trí thí nghiệm so sánh các tổ hợp F_1 với nhau và với giống đối chứng.

e) Vườn đánh giá ưu thế lai và khả năng tổ hợp:

Mục đích: Đánh giá ưu thế lai của các tổ hợp hữu dục và đánh giá khả năng tổ hợp của các dòng CMS và R.

Cách bố trí: Mỗi tổ hợp gieo 300-500 cây lai có giống đối chứng kèm theo. Thí nghiệm phải nhắc lại 3-4 lần và theo dõi đầy đủ, so sánh giống như thí nghiệm so sánh giống chính qui, giống đối chứng có thể là lúa thuần tốt nhất trong vùng hoặc giống lai được sử dụng năng suất và các tính trạng khác.

g) Vườn kiểm tra:

Mục đích: Kiểm tra lại tất cả các tổ hợp có triển vọng trước khi đưa đi thử nghiệm rộng.

Cách bố trí: Các tổ hợp có triển vọng được bố trí so sánh năng suất, tính chống chịu và những đặc điểm nông sinh học, sinh lý khác. Thí nghiệm nhắc lại 3-4 lần, diện tích ô từ 8-10m² có đối chứng, được lặp lại ít nhất 2 vụ cùng tên gọi.

h) Khu vực hóa:

Mục đích: Xác định năng suất và khả năng thích ứng ở các khu vực.

Cách bố trí: Tương tự như ở vườn kiểm tra, bố trí trên nhiều vùng sinh thái điển hình. Số liệu thu thập theo mẫu thống nhất và xử lý tại một trung tâm để tránh sai sót chủ quan.

2.7. Chọn lọc bố mẹ nâng cao giá trị ưu thế lai

Sử dụng ưu thế lai ở lúa đã và đang mang lại rất nhiều lợi ích cho xã hội nói chung và cho sản xuất nông nghiệp nói riêng, bởi vì lúa lai có năng suất cao, có thời gian sinh trưởng ngắn đã giải phóng đất nhanh làm tăng hệ số sử dụng ruộng đất, tăng tổng sản phẩm trên đơn vị diện tích đất. Lúa lai sử dụng phân bón có hiệu quả, có khả năng thích ứng khá rộng và nhiều tổ hợp lai có chất lượng cao. Tuy nhiên lúa lai cũng còn nhiều hạn chế như do sinh trưởng mạnh nên chống chịu chưa cao (bao gồm chống đổ, chống rét, chống sâu bệnh); tổ hợp có năng suất rất cao thì chất lượng lại chưa tốt hoặc ngược lại v.v...

Muốn tạo ra được các tổ hợp lai ngày càng hoàn thiện thì nhà chọn giống phải tìm tòi bổ sung, cải tiến tính trạng của các dòng vật liệu bố mẹ. Trong quá trình đó cần quan tâm đến 4 yếu tố quan trọng sau đây.

2.7.1. Nâng cao tính khác biệt di truyền (genetic diversity) giữa các bố mẹ

Đa dạng di truyền là cơ sở gây nên ưu thế lai. Trong phạm vi nhất định tính khác biệt di truyền giữa dòng bố và dòng mẹ càng lớn thì ưu thế lai càng cao.

Tất nhiên, đa dạng di truyền trong trường hợp này chỉ bao gồm nền di truyền của 2 bố mẹ có nguồn gốc địa lý sinh thái khác nhau hoặc thuộc các loài phụ khác nhau. Các tổ hợp lai Indica hiện nay đều có bố mẹ thuộc các kiểu sinh thái khác nhau hoặc xuất phát từ các vùng địa lý xa nhau. Trong một số trường hợp người ta đã lai chuyển một phần nhất định vật chất nhân của các loài phụ khác vào một trong hai bố mẹ Indica để nâng cao tính khác biệt di truyền.

2.7.2. Chọn bố mẹ có các tính trạng bổ sung

Nếu các bố mẹ có những đặc điểm tốt được lai với nhau có thể giữ lại tính trạng đó ở đời sau làm cho con lai F_1 hoàn thiện hơn, ví dụ dòng mẹ Shan ưu 6 có một số đặc điểm nổi bật như chống bệnh đạo ôn, thời gian sinh trưởng ngắn, đẻ nhánh yếu, khối lượng 1000 hạt nặng. Dòng bố IR26 chống bạc lá, thời gian sinh trưởng dài, đẻ nhánh khỏe, khối lượng 1000 hạt nhẹ. Khi lai cho con lai F_1 có các tính trạng được bổ sung khá hoàn thiện là: vừa chống đạo ôn, vừa chống bạc lá, có thời gian sinh trưởng trung bình, đẻ nhánh khỏe, khối lượng 1000 hạt nặng. Trường hợp con lai F_1 tổng hợp được tất cả các tính trạng ưu việt của bố mẹ như vậy ít khi gặp trong chọn giống. Tuy vậy khi chọn bố mẹ luôn phải tính toán cẩn thận và hy vọng đạt được sự bổ sung hoàn hảo trong thế hệ F_1 .

2.7.3. Chọn các tính trạng có khả năng tổ hợp và khả năng di truyền cao

Khi tạo ra dòng CMS hoặc dòng R mới cần đánh giá khả năng tổ hợp của các tính trạng nông sinh học

quan trọng để khi sử dụng các dòng này không gặp những sai lầm nghiêm trọng gây lãng phí thời gian công sức.

Đánh giá khả năng tổ hợp chung (GCA) tiến hành như mục 2.5. Nếu trong vườn vật liệu khởi đầu đã xác định được các dòng có khả năng tổ hợp chung cao thì khi có dòng mới có thể chỉ lai thử với dòng có khả năng phối hợp chung cao đó. Trên cơ sở đó rút ra những tính trạng có khả năng tổ hợp và khả năng di truyền cho con lai. Tập trung theo dõi những tính trạng tạo thành năng suất như: sức đẻ nhánh, số bông hữu hiệu, số hạt mẩy, khối lượng 1.000 hạt v.v...

Có một số tính trạng thường không có khả năng tổ hợp chung mà chỉ có khả năng tổ hợp riêng, cần phải quan sát đánh giá trên nhiều tổ hợp lai ví dụ như tính trạng khối lượng 1000 hạt.

Cần phát hiện khả năng di truyền trội hoặc lặn của các tính trạng nông sinh học quan trọng. Nắm vững đặc điểm này giúp cho việc chọn các dòng A và dòng R có những tính trạng bổ sung có thể biểu hiện ở con lai F_1 . Trong thực tế có những tính trạng di truyền độc lập và rất bền vững, trái lại có những tính trạng di truyền yếu và dao động, sau khi lai có thể bị mất đi. Sự biểu hiện của chúng ở mỗi tổ hợp lai đều khác nhau nên việc chọn lọc là rất khó khăn và hiệu quả thấp.

2.7.4. Nâng cao năng suất của các tổ hợp lai

Các kết quả nghiên cứu trước đã chỉ ra rằng muốn cho giống lai có năng suất cao hơn thì phải chọn ít nhất một trong hai bố mẹ có năng suất cao hoặc các bố mẹ

phải có các yếu tố cấu thành năng suất tương phản nhau ở mức cao. Các tổ hợp lai có năng suất cao hiện nay đều được gây tạo theo hướng này ví dụ như San ưu 63, Nhị ưu 63, Te ưu 63, Bạc ưu 64, Bạc ưu 903 v.v... Các tính trạng quyết định năng suất cao có thể tồn tại độc lập, có thể liên kết ở những mức độ nhất định.

Mỗi chương trình chọn giống đều có mục tiêu. Trên cơ sở của các mục tiêu phải định ra tiêu chuẩn cụ thể. Ví dụ năm 1997 Yuan LP đề xuất tiêu chuẩn năng suất lúa lai siêu cao sản ở Trung Quốc cho giai đoạn từ 1996 - 2005 như bảng 11.

Bảng 11: Tiêu chuẩn năng suất lúa lai siêu cao sản của Trung Quốc

Thời kỳ	Lúa thường (tấn/ha)				Lúa lai (tấn/ha)			Mức tăng năng suất (%)
	Indica sớm	Indica 3 vụ	Japonica miền Nam	Japonica miền Bắc	Indica sớm	Indica một vụ	Indica muộn	
Hiện tại	6.75	7.50	7.50	8.25	7.50	8.25	7.50	0
1996-2000	9.00	9.75	9.75	10.50	9.75	10.50	9.75	≥ 15
2001-2005	10.50	11.25	11.25	12.00	11.25	12.00	11.25	≥ 30

- Nguồn: Yuan LP. *Hybrid rice*, 1997.

Để đạt được năng suất siêu cao như trên Yuan LP. cho rằng cần quan tâm nhiều đến việc cải tiến các tính trạng hình thái đặc biệt là phải nâng cao sức đồng hóa của cây. Muốn vậy phải tạo ra một kiểu hình lý tưởng đạt đến sự hài hòa giữa "sức chứa" và "nguồn". Các nhà chọn giống nhiều khi mắc sai lầm là luôn tìm tòi các dạng mới có "sức chứa" lớn tức là các dạng có nhiều bông, bông to, hạt lớn, nhưng chưa quan tâm đúng mức đến việc cải tiến các tính trạng "nguồn" vì thế mà khi hiện thực hóa một dạng mới sẽ gặp khó khăn, có khi họ

lại nghĩ rằng năng suất giống mới chưa đạt đến mức tiềm năng vì kỹ thuật canh tác, nhưng trong thực tế chính là do sự không cân đối của bản thân vật liệu mới chọn ra. Nếu có cách nhìn đúng về vấn đề này tất nhiên giống mới sẽ đạt năng suất cao như dự định.

2.8. Cải tiến chất lượng hạt lúa lai

2.8.1. Khái niệm về chất lượng hạt lai

Chất lượng gạo được đánh giá thông qua nhiều chỉ tiêu. Các chỉ tiêu đó có thể xếp thành 3 nhóm thuộc 3 lĩnh vực chất lượng:

- Chất lượng dinh dưỡng gồm các chỉ tiêu hóa sinh của hạt gạo như: tinh bột, amylose, protein, độ bền thể gen, nhiệt độ hóa hồ v.v...

- Chất lượng thương phẩm hay chất lượng kinh tế được đánh giá thông qua các chỉ tiêu cơ lý và hình thái như: tỷ lệ gạo xay xát, tỷ lệ hạt nguyên, gạo trắng trong, tỷ lệ tấm, bạc bụng, độ đồng đều hạt, chiều dài, chiều rộng hạt và tỷ lệ dài/rộng v.v...

- Chất lượng ăn uống và chế biến gồm các chỉ tiêu: tỷ lệ cơm, sức hút nước, độ nở, độ xốp, độ dẻo, độ bóng cơm, mùi thơm, vị đậm v.v...

Lúa lai có năng suất cao nhờ sự khác biệt di truyền của các dòng bố mẹ. Các tính trạng hình thái, sinh trưởng phát triển và năng suất biểu hiện ưu thế lai cao vì hoàn toàn đồng nhất ở thế hệ F_1 . Hạt thương phẩm để sử dụng thu trên cây F_1 lại là F_2 nên không còn đồng đều nữa mà đã phân ly về mọi tính trạng ở mức đa dạng nhất. Vì vậy, giả sử tiến hành lai giữa lúa nếp với

lúa tẻ, ở F_2 ta dễ dàng quan sát thấy sự phân ly đa dạng về nội nhũ: đục, trong, mờ, sấp và trung gian (bạc bụng). Chính vì thế khi ăn gạo lai sẽ thấy không ngon, đem bán thì giá hạ, xay xát thì tỷ lệ gạo thấp v.v... Để khắc phục tình trạng trên cần phải cải tiến toàn diện các tính trạng chất lượng của các dòng bố mẹ tham gia tổ hợp lai.

2.8.2. Cải tiến chất lượng hạt lai

Muốn cải tiến chất lượng lô hạt F_2 cần phải cải tiến chất lượng của các dòng bố mẹ ở các chỉ tiêu cơ bản sau:

a) Cải tiến tỉ lệ gạo xát và gạo nguyên:

Thông thường tỉ lệ gạo xát của lúa lai bằng hoặc cao hơn cả hai bố mẹ.

Tỉ lệ gạo nguyên có quan hệ với giá trị hàng hóa. Tỉ lệ gạo nguyên là một đặc điểm di truyền của giống nhưng chịu ảnh hưởng nhiều của điều kiện môi trường trong thời kỳ lúa chín và chịu tác động của điều kiện sơ chế, bảo quản sau thu hoạch như máy tuốt, quá trình phơi, cất giữ trong kho, xay xát...

Tỉ lệ gạo nguyên quan hệ với độ cứng, độ bạc bụng, kích thước, hình dạng hạt. Trong khi chọn dòng bố mẹ cần chú ý cải tiến tính trạng này từ giai đoạn sớm, cụ thể là cải tiến dòng B để cải tiến A và cải tiến dòng R. Việc cải tiến song song như vậy sẽ thu được con lai có tỉ lệ gạo nguyên cao.

b) Cải tiến kích thước, hình dạng và độ đồng đều của hạt:

Giá trị thương phẩm phụ thuộc khá nhiều vào độ dài và thon của hạt. Kích thước, hình dạng hạt được xác định bởi kích thước và hình dạng vỏ trấu. Hạt F_2 sinh ra trên các cây F_1 đồng nhất nên các hạt cũng tương đối đồng nhất về hình dạng cho dù cây bố và cây mẹ có hình dạng và kích thước hạt khác xa nhau. Theo dõi nhiều tổ hợp thấy rằng chiều dài, chiều rộng, trọng lượng hạt F_2 tương đương nhau và bằng giá trị trung bình giữa hai bố mẹ. Vì thế muốn cho hạt F_2 thon dài nên chọn cả hai bố mẹ A và R thon dài.

c) Cải tiến độ trong của nội nhũ:

Nội nhũ là phần quan trọng nhất của năng suất và chất lượng hạt. Trong nhân tế bào nội nhũ có 2 phần vật chất di truyền từ cây mẹ và một phần từ cây bố. Nếu bố và mẹ khác biệt nhau về chất lượng nội nhũ thì hạt F_2 sẽ phân ly đa dạng (Kumar và Khush, 1986).

Khi lai một giống có nội nhũ sáp (Waxy: Wx) hàm lượng Amyloza thấp với giống có nội nhũ trong (Translucent: T) hàm lượng Amyloza thấp thì con F_2 có 3 kiểu phân ly chính là: sáp W : đục mờ (Dull: D): trong T với tỉ lệ 1:1:2.

Nếu lai giống có nội nhũ W hàm lượng Amyloza thấp với giống có nội nhũ T hàm lượng Amyloza trung bình đến cao thì F_2 có tỉ lệ gạo W:T = 1:3.

Lai giống có nội nhũ mờ D hàm lượng Amyloza thấp với giống có nội nhũ trong Amyloza thấp thì F_2 có tỉ lệ gạo D:H:T = 1:1:2 (H = hazy - trắng trong).

Lai các giống có nội nhũ trong với nhau thì gạo F_2 tương đối đồng nhất về độ trong. Do đó khi chọn bố mẹ để lai không nên chọn những giống có nội nhũ khác biệt nhau, càng không nên lai nếp với tẻ sẽ làm giảm độ đều đẹp của hạt gạo.

Gạo bạc bụng làm giảm giá trị thương phẩm, có 3 loại bạc theo mức độ khác nhau là: Lõi trắng đục, bụng trắng đục và lưng trắng đục. Nghiên cứu di truyền của tính trạng bạc bụng xác định rằng có một cặp gen lặn kiểm tra tính trạng (USDA, 1963). Một số nghiên cứu khác cho rằng tính trạng này được 1 cặp gen trội (Chalam và Venkateswarlu 1965, Nagai 1958) hoặc nhiều gen kiểm tra (Nakatani, Jackson 1973).

Gạo bạc bụng làm cho tỉ lệ gạo gãy tăng, gạo nguyên giảm. Tuy thế chất lượng nấu nướng thì không bị ảnh hưởng nhiều.

d) Cải tiến hàm lượng Amyloza và chất lượng ăn uống:

Chất lượng nấu nướng và nếm thử được xác định bởi hàm lượng Amyloza và nhiệt độ hóa hồ mà ít phụ thuộc vào hàm lượng Protein. Dân Việt Nam thường thích cơm mềm nhưng lại ráo và đậm. Nếu hàm lượng Amyloza trung bình từ 22-24% thì nhiệt độ hóa hồ cũng trung bình và cơm sẽ mềm, nếu hàm lượng Amyloza 25-26% thì cơm hơi khô nhưng lại đậm, hàm lượng Amyloza nhỏ hơn 20-22% cơm hơi ứot và nhạt.

Khi lai hai giống có hàm lượng Amyloza khác nhau thì gạo F_2 thường mang giá trị trung gian giữa hai bố mẹ và thấp hơn giá trị của gạo F_1 (phân tích mẫu trung

bình của cả hỗn hợp). Nếu phân tích phổ phân ly của F_2 thì thấy hàm lượng Amyloza của các cá thể khác nhau khá nhiều. Ví dụ: Hàm lượng Amyloza của IR29 là 0% của IR37307-8 là 7,4%; hàm lượng Amyloza của F_2 (IR29/IR37307-8) biến thiên từ 0% đến 11%; F_2 của tổ hợp IR29/IR8 (Amyloza của IR8 = 27,3%) biến thiên từ 0-33%; tương tự IR37307-8/IR24 từ 1-18% (Amyloza của IR24 là 15,1%); IR37307-8/IR8 từ 2-34%. Sự phân ly về hàm lượng Amyloza vượt ngạch cả hai chiều âm và dương tạo nên một hỗn hợp gạo từ rất cứng đến rất mềm nên khi nấu sẽ chín không đều (Khush và cộng sự, 1986).

Muốn cho gạo lúa lai ngon phải chọn bố và mẹ có chứa Amyloza gần bằng nhau và gần giá trị trung bình (22-24%) để thu hẹp phổ phân ly của F_2 .

Chọn giống lúa lai chất lượng cao cần phải cải tiến cả dòng CMS lẫn dòng R, mà thực chất của việc cải tiến dòng CMS là cải tiến dòng B tương ứng. Chương trình chọn giống lúa lai chất lượng cao ở Trung Quốc, Ấn Độ, IRRI v.v... hiện nay đã đạt được nhiều thành công lớn. Người ta đã tạo ra những tổ hợp lai vừa có dạng hạt dài, thon, gạo trong, chất lượng nấu nướng vừa ngon lại vừa có mùi thơm hấp dẫn. Kết quả đó là nhờ quá trình cải tiến rất công phu các dòng CMS và các dòng phục hồi. Các dòng CMS điển hình có chất lượng cao hiện nay là: D90A, D44A, D62A, II-32A, D161A, XiaqinzaoA, Zim23A, Xiang2A, BoA, IR58025A, PMS10A... Các dòng phục hồi có chất lượng cao là: Duohui 1, C166, Minhui 63, CDR22, 6326, Ce64, Quế 99, 838, M477 v.v...

2.9. Vai trò của gen tương hợp rộng (Wide-Compatibility Gene: WCG) trong chọn giống lúa lai

Khi lai giữa các giống thuộc hai loài phụ khác nhau (Indica/Japonica; Indica/Javanica hoặc Japonica/Javanica) có nhiều khả năng tìm được tổ hợp cho ưu thế lai cao hơn so với các tổ hợp lai giữa các giống cùng loài phụ. Tuy nhiên, đến nay chưa tìm được cặp lai nào mà dòng R thuộc một loài phụ này lại có thể phục hồi phần cho dòng CMS thuộc loài phụ khác. Araki và cộng sự (1988) đã xác định gen tương hợp rộng $S-5^n$ có khả năng khắc phục được hiện tượng bất dục của con lai F_1 trong những tổ hợp lai xa đó.

Tác giả đã tiến hành chuyển gen tương hợp rộng $S-5^n$ vào một dòng thuộc loài phụ Indica hoặc Japonica làm bố mẹ trước khi lai, sau đó đem lai, đã cải tiến rất tốt độ nảy hạt. Những tổ hợp này cho ưu thế lai rất cao, không có hạt F_1 bất dục.

Cơ sở di truyền của sự bất dục F_1 và tính tương hợp rộng có thể giải thích như sau: Có một dãy allen xuất hiện giữa locut C và Wx, gen $S-5^n$ ký hiệu chung cho các giống tương hợp rộng $S-5^i$ cho Indica, $S-5^j$ cho Japonica. Kiểu gen $S-5^n/S-5^i$ và $S-5^n/S-5^j$ và kiểu đồng hợp thể của tất cả các allen thì hữu dục, nhưng kiểu gen $S-5^i/S-5^j$ thì nửa bất dục vì bị thoái hóa một phần giao tử cái mang gen $S-5^i$. Một số giống Javanica nguyên bản hoặc Javanica cải tiến như Ketan Nangka, Calotoc, CPSL017 v.v... mang gen tương hợp rộng $S-5^n$ và cả những gen bổ sung (complementary) cho C và A. Nhiều

dạng Indica hoặc Japonica có năng suất cao, nhưng không mang locut C liên kết chặt với locut S-5, con lai của các giống có gen tương hợp rộng có màu ở đỉnh sinh trưởng nên dễ phát hiện.

2.10. Ưu điểm và hạn chế của phương pháp "ba dòng"

2.10.1. Ưu điểm của phương pháp

- Chọn giống và sản xuất giống lai "ba dòng" là phương pháp mở đầu giúp cho các nhà chọn giống khai thác tiềm năng ưu thế lai ở lúa và sử dụng rộng rãi lúa lai trong sản xuất, góp phần nâng cao năng suất, tổng sản lượng lúa, giải quyết thiếu đói ở những vùng trồng lúa đất chật người đông.

- Đã khai thác và sử dụng có hiệu quả tính bất dục di truyền tế bào chất ở lúa. Bằng lai lại liên tục đã cải tiến nhanh chóng các dạng lúa đại, lúa nửa đại thành lúa trồng.

- Do sử dụng tính đa dạng di truyền trong các tổ hợp lai nên đã tạo ra nhiều tổ hợp có năng suất siêu cao trên 100kg hạt/ha/ngày như tổ hợp 10120A/HOi 73-28 (Japonica) đạt năng suất 15,65 tấn/ha/vụ ở tỉnh Kiên Giang; tổ hợp Zhenshan 97A/Minhui63 (Indica) đạt 15,3 tấn/ha/vụ ở Vân Nam.

- Lúa lai ba dòng ngày nay không những chỉ có năng suất cao mà còn có phẩm chất tốt, chống chịu sâu bệnh tốt và đặc biệt là có thời gian sinh trưởng ngắn, rất thuận lợi trong việc sắp xếp thời vụ gieo trồng để tăng hệ số sử dụng ruộng đất. Lúa lai không

chỉ thích ứng cho vùng thâm canh mà còn có thể mở rộng ra những vùng khó khăn như hạn, lạnh, nghèo dinh dưỡng v.v...

2.10.2. Những hạn chế của phương pháp "ba dòng"

Số lượng dòng CMS được tìm ra đến nay tương đối nhiều nhưng số dòng được sử dụng còn ít, có tới 95% số dòng CMS đang dùng thuộc kiểu "WA". Hiện tượng đồng tế bào chất có thể dẫn đến nguy cơ bị sâu bệnh gây hại hàng loạt trong những điều kiện nhất định.

- Các tổ hợp lai "ba dòng" mới xác định trong thời gian gần đây tuy có một số ưu điểm như chất lượng hạt được cải tiến, khả năng chống chịu sâu bệnh và điều kiện sinh thái khó khăn rộng hơn nhưng năng suất tăng không đáng kể so với trước, có hai lý do sau: Một là những tính trạng kinh tế thường do gen lặn điều khiển nên sử dụng con lai F_1 không thể khai thác được tiềm năng này. Hai là phạm vi lai của các tổ hợp "ba dòng" còn hẹp mới chỉ lai giữa giống trong cùng loài phụ mà chưa tìm được tổ hợp lai xa.

- Các tổ hợp lai "ba dòng" trong loài phụ Japonica còn ít, năng suất trên diện rộng chỉ cao hơn giống thuần Japonica 5-10% nên không hấp dẫn. Mặt khác, kiểu bất dục "BT" là chủ yếu của loài phụ Japonica lại không ổn định bằng kiểu "WA" của loài phụ Indica, do đó hạt lai không thuần làm hạn chế năng suất của F_1 ở các tổ hợp này.

- Quy trình duy trì dòng CMS và sản xuất hạt F_1 rất khắt khe, chỉ cần sơ xuất nhỏ cũng gây thiệt hại lớn

cho cả chu kỳ sản xuất. Việc duy trì dòng CMS và sản xuất F_1 phải làm hàng vụ, năng suất phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện khí hậu thời tiết lúc lúa trổ bông. Vì vậy các cơ sở sản xuất, các nhà điều hành luôn luôn bị động trong kế hoạch sản xuất và cung ứng hạt giống. Tổ chức sản xuất hạt giống công kênh tốn nhiều lao động thủ công, giá thành hạt giống cao. Ví dụ: ở Trung Quốc vụ sản xuất lúa lai mùa thu năm 1988, do thời tiết xấu xảy ra vào đúng lúc lúa trổ bông nở hoa làm cho năng suất và sản lượng hạt F_1 giảm. Để đảm bảo kế hoạch sản xuất các Công ty giống phải ra đảo Hải Nam tổ chức sản xuất hạt F_1 trong vụ đông, đã thu được 30.000 tấn với giá thành khá cao nhưng phải bán hạ hơn cho nông dân nên Công ty bị lỗ vốn. Năm 1990 thời tiết thuận lợi năng suất hạt lai tăng cao làm thừa ra 25.000 tấn thóc giống các kho không đủ chỗ chứa đúng tiêu chuẩn nên hạt giống bị giảm sức nảy mầm, các Công ty lại bị lỗ vốn.

2.11. Thiết lập qui trình công nghệ để sản xuất hạt lúa lai

Để có thể xây dựng quy trình công nghệ sản xuất hạt lai F_1 của một tổ hợp lai nhất định thuộc hệ thống lai ba dòng hay hai dòng đều cần một số hiểu biết về các vấn đề sau:

☛ - Hiểu biết điều kiện thời tiết khí hậu của vùng đặt điểm sản xuất, cụ thể là có những số liệu cơ bản được một Trạm Khí tượng gần nhất theo dõi trong nhiều năm (ít nhất là 20 năm gần đây) số liệu phải có các chỉ

tiêu cơ bản: nhiệt độ trung bình ngày, độ dài ngày, lượng mưa, số ngày có mưa, hướng gió thịnh hành, quy luật gió bão và những hiện tượng thiên tai bất thường.

- Tìm khu cách ly không gian đảm bảo những qui định tối thiểu cho sản xuất hạt lai là cách ruộng lúa khác ít nhất 100m hoặc được ngăn cách bởi núi đồi, làng mạc, hồ nước lớn v.v... Ở khu cách ly phải có đủ điều kiện cho một ruộng lúa tốt là đất đai màu mỡ, có bờ, có mương tưới tiêu thuận lợi. Có đủ điều kiện nhân lực để tổ chức sản xuất, có vốn đầu tư.

Sau khi thỏa mãn các điều kiện kể trên có thể tiến hành dự thảo quy trình sản xuất với 9 nội dung cơ bản sau:

2.11.1. Xác định vụ sản xuất và tổ hợp sản xuất

Để có cơ sở xác định tổ hợp cần sản xuất thì phải tiến hành trình diễn trước một bước, ví dụ nếu trong vụ mùa tiến hành trình diễn một số tổ hợp lai thấy tổ hợp Bac ưu 64 là tốt nhất có khả năng tiêu thụ được hạt lai thì vụ xuân tiếp theo sẽ bố trí sản xuất hạt lai Bac ưu 64. Vụ xuân tiếp tục trình diễn một số tổ hợp khi tìm ra tổ hợp tốt thì tổ hợp đó lại bố trí sản xuất hạt lai vào vụ mùa. Sau khi xác định được tổ hợp cho mỗi vụ sẽ tiến hành các bước tiếp sau:

2.11.2. Xác định thời vụ gieo dòng bố mẹ để chúng trở bóng nở hoa trùng khớp

a) Tìm thời gian lúa trở an toàn:

Sản xuất hạt lai có năng suất cao hay thấp phụ thuộc chặt chẽ vào thời kỳ lúa trở. Các dòng bố mẹ phải trở khớp nhau vào thời gian an toàn nhất nghĩa là từ

lúc lúa bắt đầu trổ trời không có mưa liên tục từ 12-15 ngày, nắng nhẹ, trời quang mây, gió nhẹ, nhiệt độ thích hợp từ 25-28°C, ẩm độ không khí từ 75-90%. Ở vùng đồng bằng Bắc bộ từ 30/4 đến 10/5 (vụ xuân) và từ 5-20/9 (vụ mùa) thường có điều kiện tương tự như vậy cho nên có thể điều chỉnh cho lúa trổ vào thời kỳ đó.

b) Xác định lịch gieo A và R để đạt yêu cầu nở hoa trùng khớp:

Hạt lai thu trên cây mẹ bất dục dục nên năng suất phụ thuộc hoàn toàn việc giao phấn. Do đó các dòng bố mẹ trổ trùng khớp là yếu tố hết sức quan trọng quyết định năng suất hạt lai. Đối với các tổ hợp lai mà các dòng R và A khác xa nhau về thời gian sinh trưởng thì vấn đề xác định thời gian gieo phải được tính toán hết sức nghiêm túc, sao cho ngày tung phấn đầu tiên của dòng bố phải trùng với ngày nở hoa đầu tiên của dòng mẹ, đồng thời phải kéo dài thời gian cung cấp phấn đến khi các bông dòng mẹ nở hoa hết. Để thực hiện được việc đó thường phải gieo dòng R hai ba lần, mỗi lần cách nhau 5-7 ngày, mỗi khóm R cấy 2-3 dảnh.

Có ba phương pháp khác nhau giúp cho việc xác định thời gian gieo dòng R và A để đạt được yêu cầu trổ bông nở hoa trùng khớp.

- Phương pháp dựa vào thời gian sinh trưởng: Phải nắm vững thời gian từ gieo đến trổ của hai dòng R và A qua các năm. Ví dụ ở vụ xuân thời gian từ gieo đến trổ bông của dòng R Trắc 64 biến động từ 95-100 ngày, và

dòng BoA từ 75-80 ngày. Muốn tính ngày gieo phải xác định ngày trỗ đầu tiên của 2 dòng bố mẹ. Ví dụ lấy ngày 1/5 là ngày bắt đầu trỗ thì gieo R đầu tiên phải là ngày 20/1 và dòng A phải gieo vào ngày 9-14/2.

Tuy nhiên ở những vụ (như vụ xuân ở miền Bắc Việt Nam) nhiệt độ biến đổi rất lớn ở thời kỳ mạ và thời kỳ sinh trưởng sinh dưỡng của lúa, nếu chỉ dựa vào thời gian từ gieo đến trỗ thì dễ xảy ra hiện tượng trỗ không trùng khớp. Vì vậy phương pháp này chỉ nên ứng dụng ở những vụ những vùng có nhiệt độ ít biến đổi. Còn ở vụ xuân thì phải kết hợp với các phương pháp khác.

- Phương pháp tính tuổi lá: Số lá trên thân chính của mỗi giống lúa là cố định. Đếm số lá trên thân chính giúp ta biết tương đối chính xác từng giai đoạn sinh trưởng của cây. Đếm số lá trên thân chính của dòng R gieo lần đầu trên cơ sở đó xác định ngày gieo R lần 2 và ngày gieo mẹ. Cách làm cụ thể như sau: Trên luống mạ R gieo lần 1 (R_1) theo dõi 10-20 cây mạ, 3 ngày ghi số lá một lần. Sự xuất hiện lá được ghi theo 3 mức: 0,2 lá tính cho lá vừa nhú lên nhưng chưa mở; 0,5 lá tính cho lá mở một nửa; 0,8 lá tính cho lá mở hoàn toàn. Ví dụ đối với tổ hợp Bac ưu 64 khi R_1 đạt bình quân 3,2-3,5 lá, bố R_2 đạt 2-2,2 lá thì gieo A.

- Phương pháp tính tổng tích ôn hữu hiệu (EAT): Tổng tích ôn hữu hiệu từ gieo đến trỗ của mỗi giống khá ổn định qua các năm mặc dù ngày gieo có thể khác nhau. Nhìn chung các kết quả nghiên cứu đều thống nhất 12°C là giới hạn dưới nhiệt độ sinh học và 27°C là nhiệt độ sinh học giới hạn trên.

Căn cứ vào đó tính tổng tích ôn hữu hiệu (EAT) theo công thức:

$$A = \Sigma(T-H-L)$$

Trong đó:

A = EAT của một giai đoạn sinh trưởng nhất định ($^{\circ}\text{C}$).

T = nhiệt độ trung bình ngày ($^{\circ}\text{C}$)

H = nhiệt độ cao hơn giới hạn trên (27°C).
H được tính cho những ngày mà nhiệt độ cao hơn 27°C . Ví dụ khi nhiệt độ trung bình ngày = 28°C thì $H = 28 - 27 = 1$.

L = nhiệt độ giới hạn dưới (12°C). Tổng tích ôn chỉ tính cho những ngày có nhiệt độ trung bình cao hơn 12°C mà thôi.

Σ = nhiệt độ tính từ ngày bắt đầu đến khi kết thúc một giai đoạn sinh trưởng nhất định cần quan tâm.

Khi có số liệu EAT của dòng R và A, tính sự chênh lệch EAT giữa chúng. Ví dụ dòng R có EAT từ gieo đến trổ = 1133°C , dòng A có EAT = 791°C chênh lệch là: $1133 - 791 = 342^{\circ}\text{C}$. Gieo dòng R và ghi nhiệt độ bắt đầu từ ngày gieo, cộng nhiệt độ hữu hiệu từng ngày đến khi vừa đủ 342°C thì gieo dòng A.

Trong sản xuất cần theo dõi đồng thời cả 3 phương pháp trên lấy một phương pháp làm chính còn 2 phương pháp kia để tham khảo thì chắc chắn sẽ đạt được bố mẹ nở hoa trùng khớp.

Trên cơ sở tính toán ngày gieo bố mẹ, lượng hạt giống gieo được phân bố như sau:

- Nếu gieo bố 2 lần: chia đôi lượng giống $R_1 = R_2$.
- Nếu gieo bố 3 lần thì R_1 gieo 25%, R_2 gieo 50%, R_3 gieo 25%.
- Mẹ gieo 1 lần toàn bộ lượng hạt giống.

2.11.3. Kỹ thuật làm mạ

a) Đãi giống và ngâm ủ:

- Dòng bố (R) là lúa thường do đó cần đãi sạch vớt bỏ lép lửng rồi ngâm đến no nước, sau đó vớt lên đãi sạch, ủ nứt nanh rồi gieo.

- Dòng mẹ (A) là dòng bất dục nên vỏ trấu hỏ: số lượng hạt có vỏ trấu hỏ nhiều cho nên khi đãi phải phân chia riêng 2 loại: hạt nổi ngâm riêng, loại này hút nước nhanh, loại hạt chìm hút nước chậm hơn ngâm riêng. Trong quá trình ngâm cứ 6-8 giờ thay nước 1 lần. Khi hạt no nước đãi thật sạch rồi ủ đến nứt nanh. Loại hạt nổi nảy mầm sớm hơn gieo trước, loại hạt chìm nảy mầm sau gieo sau.

b) Lượng giống và mật độ gieo:

- Để cấy được 1 ha cần lượng hạt $R = 10-15$ kg tỉ lệ nảy mầm trên 90%. Dòng A cần 40-60 kg tỉ lệ nảy mầm trên 85%, tùy theo khối lượng 1000 hạt nặng hay nhẹ.

- Mật độ gieo: dòng R và A đều cần gieo thưa để cho mạ đẻ trên ruộng, lượng hạt giống gieo từ 25-30g/m² mật luống hoặc 30-40g mạ đã mọc mầm/m² cho cả 2 loại dòng bố và dòng mẹ.

c) Đất mạ:

- Đất ruộng mạ nên làm ngay trên ruộng cấy để giảm công vận chuyển. Đất cần có độ phì tốt, tưới tiêu chủ động, dễ bảo vệ.

- Đất mạ cần cày bừa nhuyễn, sạch cỏ dại, làm luống và trang phẳng, ở vụ xuân cần chống rét lên luống rộng chừng 1.2m sẽ dễ che ni lông, có rãnh tưới và tiêu nước.

- Dòng mạ có thể gieo ngay trên ruộng cấy nên khi làm luống mạ cần tính ngay đến độ rộng luống cấy để thuận lợi khi tổ chức cấy hàng bố.

- Mầm mạ được chia và gieo đều. Sau khi gieo che ni lông chống rét và tránh chim, chuột phá ở vụ xuân, vụ mùa cần chú ý khi gieo hay gặp mưa to nên phải chọn chỗ cao để tiêu nước, ấn cho mộng mạ chìm xuống bùn.

d) Phân bón:

- Lượng phân: phân chuồng 5-10 tấn/ha.

N:P:K theo tỉ lệ 1:1:0,5 ở vụ xuân đối với đất đồng bằng sông Hồng, các vùng khác căn cứ vào đó để thay đổi, liều lượng 40:40:20 kg nguyên chất/ha.

- Cách bón: trước khi bừa phẳng lót toàn bộ phân chuồng.

+ Sau khi cất luống lót toàn bộ phân lân + 1/2 lượng đạm và kali.

+ Khi mạ được 2,1 - 2,5 lá thúc 1/2 số (N+K) còn lại.

+ Khi mạ được 4,1-4,5 lá thúc toàn bộ số phân còn lại theo định mức.

e) Chăm sóc mạ:

* Tưới nước: sau khi gieo giữ mặt luống ẩm cho mạ mọc thuận lợi. Khi mạ có 1,5 lá tưới nhẹ để mặt luống có lớp nước 1 cm, không để luống khô và nứt nẻ.

* Phun điều hòa sinh trưởng để kích thích đẻ nhánh: dùng MET 20% phun khi mạ có 1,5-2 lá.

Mỗi bình hòa 10-12gam phun thật đều. Khi phun ruộng mạ phải ẩm đều.

* Trừ sâu bệnh: trên ruộng mạ thường hay có bọ trĩ, cần phát hiện và trừ kịp thời.

2.11.4. Kỹ thuật cấy

a) Tuổi mạ:

- Dòng R nếu gieo 2 lần thì tuổi mạ của bố gieo lần 2 phải đạt 5 lá mới cấy, nếu gieo 3 lần thì tuổi mạ của bố lần 3 phải đạt 4,5 lá mới cấy.

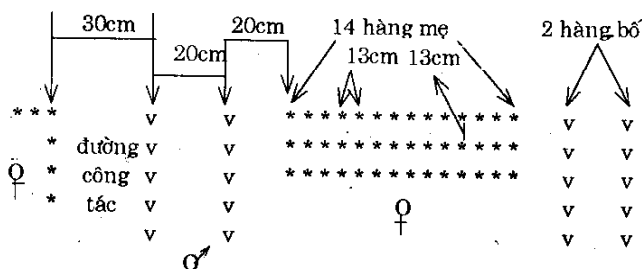
- Dòng A cấy khi mạ đạt 5,5 - 6 lá.

b) Tỷ lệ hàng bố mẹ:

Tùy từng tổ hợp để xác định tỷ lệ hàng bố mẹ, nguyên tắc chung là phải tăng số hàng dòng A trên cơ sở dòng R cung cấp đủ phấn, thường ứng dụng tỷ lệ sau:

1 hàng bố : 8 hàng mẹ; 2 hàng bố : 14 hàng mẹ; 2 hàng bố : 16 hàng mẹ...

Một băng lúa gồm cả bố và mẹ thường rộng 2,4-2,7m được sắp xếp như sau:



Có thể đưa đường công tác vào giữa hàng bố với hàng mẹ hoặc giữa hai hàng bố để khi đi thụ phấn bổ sung có thể gạt phấn về cả 2 phía của luống mẹ.

c) Số dặm và kỹ thuật cấy:

Mỗi khóm bố cấy 2-3 cây mạ, mẹ cấy 3-4 cây mạ, vì mạ đẻ nhánh trên ruộng nên mỗi khóm có thể có từ 6-9 dặm.

Nếu gieo bố 3 đợt nên cấy bố gieo đợt 2 riêng 1 hàng, bố đợt 1 và đợt 3 trên 1 hàng tỷ lệ ngang nhau. Nếu gieo bố 2 đợt có thể bố trí mỗi đợt 1 hàng hoặc xen kẽ theo kiểu nanh sấu, mạ nhổ lên không rửa rễ vận chuyển nhẹ nhàng và cấy nông tay, nhổ đến đâu cấy luôn đến đấy.

Mạ mẹ cũng làm tương tự như mạ bố: nhổ lên cấy ngay không để qua đêm, cấy nông và đều.

d) Phân bón trên ruộng cấy:

* Lượng phân: 10 tấn phân chuồng.

Phân hóa học bón theo tỉ lệ: NPK 150:100:100 kg/ha.

* Phương pháp bón:

Bón lót phân chuồng trước khi bừa nhuyễn lần cuối, nếu gieo mạ mẹ trên ruộng cấy thì phân chuồng bón trước khi gieo.

- Khi chuẩn bị cấy bố: chia lô định vị trí hàng bố, rồi rắc phân hóa học theo hàng (nên căng dây cho chính xác). Lượng bón như sau: supelân 50kg, urê 15kg, kali 12kg/ha. Sau khi bón xong mới cấy để phân chìm theo gốc lúa.

- Khi chuẩn bị cấy mẹ, bón lót trên các luống đất sắp cấy đồng thời bón thúc cho bố, do vậy rắc đều trên mặt ruộng lượng phân như sau: supelân 400kg/ha, urê 150-180kg/ha, kali 70kg/ha.

- Bón thúc: lần 1 cho mẹ đồng thời là lần 2 cho bố sau khi cấy mẹ 6-7 ngày. Lượng bón 120kg urê/ha.

- Lần 2: sau khi bón lần 1 nếu thấy ruộng xấu không đều thì bón 60kg urê + 90kg kali/ha.

e) Tưới nước:

Sau khi cấy giữ lớp nước nông 1-2cm. Khi dòng mẹ đạt số nhánh 350-400 dảnh/m², rút cạn nước phơi ruộng đến khi nẻ chân chim, sau đó tưới ẩm bằng biện pháp tưới rút xen kẽ. Khi lúa phân hóa dòng bước 2-3 tước và giữ mức nước 3-5cm² liên tục đến khi lúa vào chắc, trước khi thu hoạch 10 ngày rút cạn nước.

g) Phòng trừ sâu bệnh:

Tăng cường kiểm tra phát hiện kịp thời sâu bệnh phòng trừ triệt để.

2.11.5. Dự đoán và điều chỉnh lúa trổ bông trùng khớp

Khi bố mẹ bước vào thời kỳ phân hóa dòng cần theo dõi chặt chẽ để dự đoán sự trổ bông trùng khớp và điều chỉnh nếu cần. Cách 3 ngày bóc dòng 1 lần để kiểm tra, chú ý tìm dảnh chính để bóc. Ba bước đầu dòng bố nhanh hơn mẹ một bước thì không cần điều chỉnh. Đến ba bước tiếp theo mẹ sẽ vượt kịp bố. Hai bước cuối cùng mẹ sẽ nhanh lên và cuối cùng mẹ sẽ trổ trước bố 1-2 ngày là phù hợp nhất vì bông mẹ trổ lên sau 2 ngày mới nở hoa còn bông bố trổ lên sẽ nở hoa ngay hôm sau cung cấp phấn cho mẹ.

Khi bóc dòng dự đoán thấy không khớp thì phải tiến hành điều chỉnh. Có một số biện pháp điều chỉnh sau đây:

- Dùng nước: nếu dòng bố phát triển nhanh thì rút cạn nước khi dòng bố phát triển chậm thì tưới thêm nước.

- Dùng hóa chất:

+ KH_2PO_4 có tác dụng thúc đẩy dòng phát triển chậm. Khi dòng nào phát triển chậm sẽ phun lên lá 2 lần dung dịch KH_2PO_4 pha 25g/10lít nước phun đều, ngày hôm sau lại phun tiếp.

+ MET là thuốc kìm hãm có thể phun cho dòng phát triển nhanh. Hòa từ 30-50g/10 lít phun đều cho dòng phát triển nhanh có thể làm chậm lại 3 ngày.

- Dùng phân bón:

+ Bón phân kali 50-70kg/ha cho dòng phát triển chậm để thúc đẩy phát triển nhanh hơn.

+ Bón lượng urê cao 75kg/ha cho dòng phát triển nhanh để thúc đẩy thêm nhánh mới và phân hóa dòng chậm lại.

2.11.6. Phun GA3

Quan sát khi dòng mẹ trở 10-15% số bông thì phun GA3 giúp cho lúa trở thoát cổ bông, giúp vòi nhụy vươn dài, lá dòng xòe ngang ra không cản trở đường bay của hạt phấn, ngoài ra GA3 còn có nhiều tác dụng khác:

- Lượng phun từ 150-230g/ha tùy theo từng tổ hợp.

- Thời gian phun 8-10 giờ sáng nếu trời mù sương phải gạt lá lúa cho ráo sương rồi mới phun.

- Phun 2 đến 3 ngày liên tục nồng độ ngày sau cao hơn ngày trước 1,5 lần. Có tổ hợp chỉ cần phun hai lần như BoA/Trắc 64.

- Cách phun: bình phun phải tốt bụi tung ra càng nhỏ càng tốt, người đi phải thật đều đặn, lượt đầu phun đều cho cả bố và mẹ, sau đó đi lại 1 lần chỉ phun riêng cho hàng bố.

Khi phun GA3 ruộng phải có nước, nếu phun xong chưa được 4 giờ mà bị mưa thì phải phun lại.

2.11.7. Thụ phấn bổ sung

Khi dòng bố nở hoa rộ dùng gậy tre dài từ 3-4m lộn vào đường công tác và gạt ngang cây lúa, phấn tung lên đậu vào nhụy hoa của dòng mẹ, tiến hành làm 3-4 lần trong ngày thường từ 10 giờ đến 12 giờ trưa. Thời gian thụ phấn bổ sung từ ngày phun GA3 lần cuối đến khi cây bố hết phấn (kéo dài 7-10 ngày tùy tổ hợp).

2.11.8. Khử lẫn

Là khâu quan trọng để đảm bảo độ thuần, cần tiến hành nhổ bỏ cây lẫn và cỏ lồng vực trước khi lúa trổ.

Khi bắt đầu trổ phải kiểm tra những cây mẹ trổ trước nếu có bao phấn vàng (là cây B) cần nhổ triệt để, đồng thời nhổ bỏ cây khác dạng.

Khi thu xong dòng bố phải đi kiểm tra lại, khử bỏ toàn bộ cây B còn trong A và nhặt sạch những bông lẫn còn sót lại.

2.11.9. Thu hoạch

Khi lúa chín thu dòng bố trước không được làm giống mà để ăn hoặc chăn nuôi.

- Chọn ngày nắng thu dòng mẹ, đó chính là hạt lai nên cần tuốt sạch, phơi và bảo quản cẩn thận để bán

cho người sản xuất. Dòng mẹ có vỏ trấu hở nên dễ nảy mầm trên bông, vì vậy không nên để lúa chín già như lúa thường. Khi quan sát thấy lúa chín vàng, tính từ lúc bắt đầu thụ phấn bổ sung, nếu được 25-26 ngày nên tổ chức gặt để phòng mưa hoặc sương mù gây nên độ ẩm cao kích thích hạt nảy mầm trên bông.

3. PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG LÚA LAI "HAI DÒNG"

3.1. Phương pháp dùng hóa chất gây bất dục

Chọn tạo và sản xuất hạt lai F_1 ba dòng bộc lộ một số hạn chế rất khó khắc phục đã thúc đẩy các nhà nghiên cứu tìm tòi phương pháp mới đơn giản hơn để sản xuất hạt lai với giá thành thấp hơn. Năm 1970 Shao Kaoxiang và Hu Dawen đề xuất phương pháp sản xuất hạt F_1 không sử dụng dòng mẹ bất dục di truyền tế bào chất. Các tác giả này cho rằng cần lai thử thật nhiều để tìm ra những tổ hợp có ưu thế lai ưu việt nhất. Khi đã xác định chắc chắn tổ hợp có ưu thế lai cao không cần chuyển tính bất dục vào dòng mẹ mà có thể gieo cấy dòng mẹ rồi khử dục bằng hóa chất. Hai loại hóa chất MG1 và MG2 được tìm ra có hoạt tính khử dục cao, triệt để nhưng hoàn toàn không gây hại cho các cơ quan bộ phận khác của cây mẹ.

3.2. Phương pháp dùng hóa chất gây bất dục dục dòng mẹ

3.2.1. Nguyên lý của phương pháp

- Phải tìm được hóa chất có khả năng gây thoái hóa hoặc gây chết nhị nhưng không gây tổn thương cho nhụy và các cơ quan khác của cây.

- Khi xác định được tổ hợp lai ưu tú phải nghiên cứu kỹ thời gian từ gieo đến trổ, thời kỳ trổ, thời gian nở hoa, đặc điểm cấu trúc hoa của dòng bố mẹ, rồi bố trí gieo cấy bố mẹ để cho hoa lúa nở trùng nhau.

- Xác định thời kỳ phun thuốc thích hợp, liều lượng nồng độ thuốc, sự tiếp thu thuốc của cây, cơ chế gây hại nhị và không gây hại nhụy.

- Khử độc bằng hóa chất là một phương pháp tạo bất dục đực không di truyền, nên bất kỳ giống nào cũng có thể trở thành vật liệu lai miễn là chúng cho ưu thế lai cao đáng tin cậy hơn các giống tốt nhất đang dùng và khi sử dụng hạt lai thương phẩm phải cho hiệu quả kinh tế cao.

3.2.2. Hóa chất gây bất dục

Hóa chất có thể gây bất dục đực cho nhiều loại cây trồng. Tuy nhiên, không phải tất cả các hóa chất gây chết hoặc làm chậm sự phát triển của hạt phấn đều là chất khử đực lý tưởng. Một hóa chất khử đực tốt cần có những yêu cầu sau:

- Gây thoái hóa nhị nhưng không ảnh hưởng đến mọi hoạt động của các bộ phận khác của cây, đảm bảo số lượng và chất lượng hạt lai trên cây mẹ.

- An toàn cho người, gia súc, không hủy hoại môi trường.

- Ổn định và tồn lưu trong cây một thời gian nhất định, không chịu ảnh hưởng của điều kiện thời tiết.

- Sử dụng dễ dàng thuận lợi, hiệu quả kinh tế cao.

Năm 1970 các nhà nghiên cứu lúa Quảng Đông tìm ra

khoảng 150 loại hóa chất gây bất dục đực. Nhưng hai loại MG1 và MG2 vẫn là hóa chất lý tưởng nhất. Công thức hóa học của chúng là $\text{CH}_3\text{AsO}_3\text{Zn}$ và $\text{CH}_3\text{AsO}_3\text{Na}_2$. Người ta cho rằng hóa chất có gốc CH_3AsO_3 là loại lý tưởng nhất.

Tính độc dư của As trong hạt lúa, rơm rạ và trong đất là điều cần quan tâm. Trong tự nhiên As vẫn xuất hiện ở các loại lương thực (Anonymous, 1980). Phân tích hạt lai F_1 dư lượng nguyên tố As là: 0,214-0,765mg As_2O_3 /1 kg, dư lượng này ở dưới mức độc hại cho phép của quốc tế nên không gây hại cho người.

3.2.3. Cơ chế khử độc bằng hóa chất

Dùng nguyên tử đánh dấu để nghiên cứu cơ chế của quá trình khử độc bằng MG1 và MG2. Phun ^{74}As qua lá thấy rằng sau khi phun 30 phút As vào đến bông 0,001% tổng lượng phun; sau 6 giờ các bông tích lũy 0,01%. ^{74}As thấm vào vỏ hoa rồi phân bố đến các phần của hoa, bằng phóng xạ, hóa chất phân tán lên nhụy, nhị và các mày nhỏ theo tỉ lệ 2:1:1.

Hóa chất đi đến đâu làm giảm hoạt tính của các men đến đấy, cường độ hô hấp giảm đi 1/2 đến 1/3, thậm chí ngừng hẳn dẫn đến kích thước bao phấn giảm gây ra rối loạn trao đổi chất trong các tế bào mẹ hạt phấn và tiểu bào tử. Hạt phấn không tiếp tục sinh trưởng mà bị thoái hóa mất khả năng thụ tinh.

3.2.4. Kỹ thuật khử độc bằng hóa chất

Khi tiến hành khử độc bằng hóa chất trên diện tích rộng để sản xuất hạt lai F_1 cần chú ý các nguyên tắc sau đây:

- Liều lượng hợp lý, đảm bảo chỉ tiêu diệt nhện mà không gây hại cho nhụy.

- Phủ đều: Mỗi cá thể mẹ phải nhận được số lượng thuốc ngang nhau trong suốt thời gian khử đực hữu hiệu. Tránh việc khử quá mức sẽ gây ảnh hưởng đến sức sinh trưởng của cây.

- Sử dụng đúng lúc: Thuốc khử phải phun đúng thời kỳ, phải chuẩn bị đủ số lượng cho toàn bộ kế hoạch sản xuất hạt lai.

- Tính toán phun vào lúc có điều kiện thời tiết thuận lợi nhất và quản lý tốt kỹ thuật phun.

Thời kỳ khử đực hữu hiệu cho hầu hết các giống lúa là từ giai đoạn hình thành tế bào mẹ hạt phấn đến giai đoạn đơn nhân. Do sự phân hóa không đều nhau giữa các hoa trên nhánh, các nhánh trên bông và giữa các bông trên khóm, nên không thể tiến hành phun một lần mà khử được hết mọi hạt phấn. Quần thể lúa càng đồng đều thì thời kỳ khử đực hữu hiệu càng ngắn, có thể từ 1-3 ngày, thông thường là 7-10 ngày. Nên phun trước khi kết thúc thời kỳ khử đực hữu hiệu 3 ngày, phải phun lặp lại để cho các hoa đều được tác động đúng lúc.

Ánh nắng, nhiệt độ, gió mưa, độ ẩm mặt lá, mật độ lá có liên quan đến nồng độ thuốc dùng cho cây mẹ. Các giống Indica thích hợp với nồng độ 0,01-0,02% và liều lượng 2,3-2,6 tấn dung dịch/ha (10^6 /1 cây lúa). Lượng thuốc được chia để phun 2 lần: Lần đầu phun vào lúc đa số bông non bước vào thời kỳ phân chia giảm nhiễm tế bào mẹ hạt phấn (phun $2/3$ lượng thuốc). Sau 7 ngày phun số thuốc còn lại, nên phun vào buổi chiều.

Sau khi phun 72 giờ xén bớt lá dòng của dòng mẹ, nhổ bỏ hết những bông trĩ vì các bông này hạt phấn chưa kịp thoái hóa nên vẫn cho hạt tự thụ.

Sau khi phun 4 giờ nếu gặp mưa thì thuốc bị mất tác dụng phải phun lại ngay ngày hôm sau.

Cây lúa được phun thuốc khử đực yếu hơn bình thường nên khi cây bố tung phấn cần tiến hành thụ phấn bổ khuyết.

3.2.5. Ưu nhược điểm của phương pháp

a) Ưu điểm:

- Có thể sản xuất hạt lai F_1 của bất kỳ tổ hợp nào có ưu thế lai cao mà sản xuất chấp nhận.

- Quy trình sản xuất hạt lai F_1 tương đối đơn giản vì chỉ cần trồng 2 dòng bố mẹ sao cho chúng trĩ bông cùng nhau là được.

- Nếu trong quá trình gieo cấy hàng bố mẹ do sơ xuất để chúng trĩ không trùng nhau hoặc ở thời kỳ trĩ gặp thời tiết xấu không thể lai được thì không phun thuốc khử đực để thu thóc ăn, giảm bớt thiệt hại.

Nếu tổ hợp lai được chọn có thời gian sinh trưởng của giống bố mẹ xấp xỉ nhau thì có thể dùng tiếp hạt F_2 để sản xuất thêm 1 vụ. Ưu thế lai ở F_2 thấp hơn F_1 nhưng cao hơn bố mẹ và đối chứng tốt nhất khoảng 10%.

b) Nhược điểm:

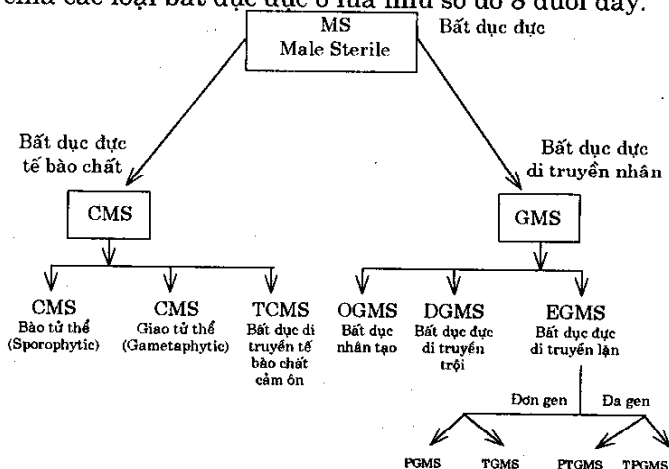
- Hạt F_1 sản xuất bằng phương pháp này không thuần bằng F_1 của hệ ba dòng nên giá trị của ưu thế lai sẽ thấp hơn giá trị thật của tổ hợp do những cây lẫn gây ra.

- Hoá chất đất, nếu dùng liên tục hàng vụ thì lượng dư trong đất và trong rơm rạ sẽ gây thiệt hại cho đất trồng, người và gia súc.

3.3. Phương pháp chọn giống lúa lai hai dòng sử dụng bất dục đực di truyền trong nhân tế bào

3.3.1. Các loại bất dục đực ở lúa

Trong quá trình gây tạo biến dị bằng các phương pháp khác nhau để chọn tạo giống lúa, song song với việc xuất hiện những dạng mới có những tính trạng nông sinh học, đặc tính kinh tế quan trọng người ta còn thu được nhiều loại vật liệu mới khác được hình thành do đột biến, do tái tổ hợp hoặc các quá trình khác. Trong số các vật liệu mới đó thì các dòng bất dục là loại vật liệu đặc biệt cần quan tâm khai thác. Có thể phân chia các loại bất dục đực ở lúa như sơ đồ 8 dưới đây.



Sơ đồ 8: Các loại bất dục đực ở lúa

3.3.2. Sử dụng bất dục đực di truyền nhân cảm ứng với điều kiện môi trường để phát triển lúa lai hai dòng

3.3.2.1. Khái niệm và phân loại EGMS:

Bất dục đực di truyền nhân cảm ứng với điều kiện môi trường (Environmental-sensitive Genic Male Sterile: EGMS) là những dòng lúa biểu hiện bất dục hạt phấn khi sinh trưởng phát triển ở điều kiện nhất định nào đó và biểu hiện hữu dục hạt phấn (có thể tự thụ phấn) ở điều kiện khác. Bất dục đực di truyền nhân cảm ứng với điều kiện môi trường là một thuật ngữ để chỉ tất cả các dòng bất dục mà gen gây bất dục có hai chức năng là vừa gây bất dục vừa phục hồi tính hữu dục.

Hiện nay người ta đã phát hiện và nghiên cứu các dòng EGMS để phát triển lúa lai hai dòng sau đây:

- Dòng bất dục đực di truyền nhân cảm ứng quang chu kỳ (Photoperiod-sensitive Genic Male Sterile: PGMS).

- Dòng bất dục đực di truyền nhân cảm ứng nhiệt độ (Themo-sensitive Genic Male Sterile: TGMS).

- Các dòng bất dục đực di truyền nhân vừa cảm ứng quang chu kỳ vừa cảm ứng nhiệt độ: PTGMS hoặc TPGMS.

3.3.2.2. Đặc điểm của các dòng bất dục EGMS trong hệ thống lai hai dòng

a) Đặc điểm của dòng PGMS:

Là dòng bất dục đực di truyền nhân cảm ứng quang chu kỳ. Vào mùa hè năm 1973 tại Hồ Bắc Trung Quốc (vĩ độ $30^{\circ}27'N$) Shi Ming Song phát hiện được cây

lúa bất dục hạt phấn trong quần thể giống Nongken 58 khi trỗ bông trước 1/9. Khi các chồi mọc từ gốc rễ của cá thể này trỗ bông sau 5/9 lại cho hạt tự thụ. Sau đó người ta tiến hành làm thí nghiệm thời vụ trong 3 năm liền (1982-1985) đều cho kết quả thống nhất là: Những thời vụ trỗ trước 1/9 hàng năm đều bất dục từ 99,5-100%, trỗ đúng ngày 2/9 tỉ lệ bất dục bắt đầu giảm còn 98,3%, ngày 5/9 còn 74,5% và đến 6/9 chỉ còn 20% hạt phấn bất dục và tỉ lệ đậu hạt cao bình thường như lúa trỗ vào những ngày sau đó.

Tỉnh Hồ Bắc nằm ở vĩ độ cao nên thời gian chiếu sáng trong mùa hè dài 16-14h/ngày vì thế dòng PGMS bất dục. Khi gieo muộn lại lúa trỗ bông gặp chu kỳ sáng ngắn hơn nên hữu dục.

Để đánh giá chính xác thời kỳ cảm ứng và độ dài pha sáng đã tiến hành xử lý chiếu sáng nhân tạo. Kết quả xử lý cho thấy dòng PGMS Nongken 58^s bất dục khi pha sáng kéo dài 14^h và hữu dục khi pha sáng là 13^h45'. Như vậy dòng này chắc chắn có mang gen di truyền cảm ứng với quang chu kỳ.

Để phát hiện bản chất di truyền của gen cảm ứng quang chu kỳ người ta tiến hành lai dòng PGMS với các giống lúa thường thuộc loài phụ Japonica. Hạt lai thu được đem gieo trong một số thời vụ khác nhau sao cho có thời vụ trỗ vào thời kỳ bất dục của dòng mẹ (quang chu kỳ dài) và có thời vụ trỗ vào thời kỳ hữu dục của dòng mẹ (quang chu kỳ ngắn). Kết quả thí nghiệm cho thấy con lai F₁ gieo các thời vụ khác nhau đều hữu dục bình thường nghĩa là quang chu kỳ dài hay ngắn đều

không gây ảnh hưởng đến tỉ lệ hữu dục của F_1 . Như vậy rõ ràng là tính bất dục phải được kiểm soát bởi gen lặn trong nhân mà không có quan hệ với tế bào chất.

Muốn kiểm tra xem có bao nhiêu gen lặn qui định tính trạng trên người ta gieo 18 tổ hợp lai sang thế hệ F_2 . Quần thể phân ly F_2 được bố trí trồng đúng vào thời kỳ bất dục của dòng mẹ. Theo dõi thống kê số cây bất dục và hữu dục ở các quần thể F_2 đều thu được tỉ lệ phân ly 3 hữu dục: 1 bất dục đúng như định luật Mendel. Để kết luận thêm chặt chẽ người ta tiến hành lai trở lại với con lai F_1 . Kết quả thống kê tỉ lệ phân ly ở quần thể F_1 lai lại thu được 1 hữu dục : 1 bất dục.

Như vậy có thể kết luận chắc chắn rằng gen kiểm tra tính cảm ứng quang chu kỳ là một cặp gen lặn trong nhân tế bào. Tiếp tục gieo các thế hệ F_3 , F_4 ... và thu cây bất dục người ta đã tạo được các dòng bất dục được cảm quang mới.

Các dòng bất dục được cảm quang có thể nhân giống như lúa thường trong điều kiện có quang chu kỳ ngắn, đồng thời có thể dùng làm dòng mẹ bất dục để sản xuất hạt lai trong điều kiện ngày dài. Ở những vùng có vĩ độ cao vào mùa hè ngày rất dài nên dễ dàng sử dụng dòng PGMS để sản xuất hạt lai. Khi cần nhân dòng mẹ thì bố trí ở những vùng có vĩ độ thấp hơn (từ xích đạo đến đường chí tuyến không bao giờ có ngày dài $\geq 14^h$). Nước Việt Nam nằm ở vùng có vĩ độ thấp (từ 8 đến 23°N) nên không thể sử dụng các dòng PGMS kể trên.

Cơ chế hoạt động của gen cảm ứng quang chu kỳ: Như trên đã trình bày gen cảm ứng quang chu kỳ của

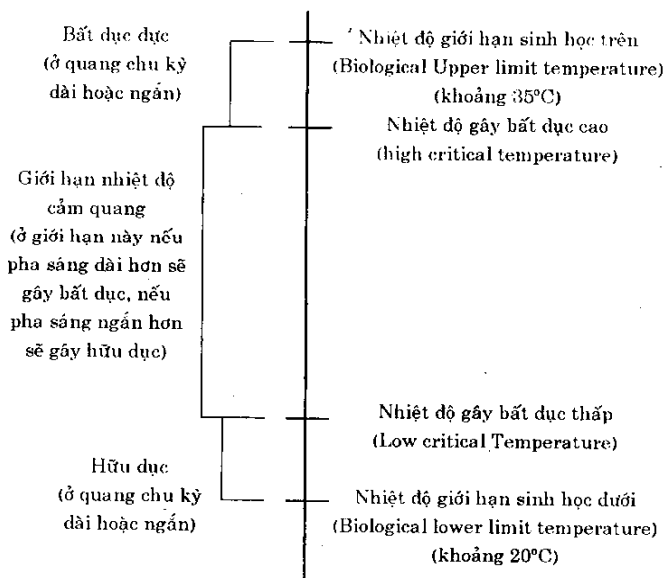
dòng PGMS có 2 chức năng. Thời gian cảm ứng được biểu hiện tương đối ngắn. Khi xử lý chiếu sáng nhân tạo thấy rằng thời điểm mẫn cảm quang chu kỳ bắt đầu từ khi dòng non phân hóa gié cấp 2 (cuối bước 3 đầu bước 4) đến khi hình thành tế bào mẹ hạt phấn (cuối bước 5). Thời gian xử lý phải kéo dài từ 4-6 ngày liên tục. Sau khi xử lý có thể để cây ở điều kiện quang chu kỳ dài hay ngắn đều không có tác dụng ngược lại.

Thời gian dài hay ngắn của pha sáng là yếu tố chính gây nên sự biến đổi hoạt động của gen pgms theo hướng bất dục hay hữu dục. Pha sáng chỉ được tính khi cường độ ánh sáng phải đạt ít nhất là 50 lux.

Nhiệt độ cũng đóng vai trò quan trọng trong thời kỳ mẫn cảm của dòng PGMS. Mỗi dòng PGMS khác nhau có giới hạn nhiệt độ trong thời kỳ cảm quang khác nhau, ví dụ dòng 7001^S có giới hạn nhiệt độ cảm quang là 24-30°C, dòng Nongken 58^S có giới hạn nhiệt độ cảm quang là 26,5-30°C (Yuan LP, 1995). Sơ đồ 9 giúp ta hiểu rõ thêm vấn đề này.

Sơ đồ 9 được giải thích như sau: Khi nhân dòng pgms cần tìm thời kỳ có nhiệt độ thích hợp để điều chỉnh cho thời gian mẫn cảm của lúa vào đúng thời kỳ đó. Tất nhiên khi nhân thì yếu tố quang chu kỳ ngắn là quan trọng hơn. Nhưng nếu thời kỳ mẫn cảm đã trùng vào thời gian có chu kỳ chiếu sáng ngắn rồi nhưng đột nhiên nhiệt độ lại tăng vượt quá giới hạn trên thì dòng PGMS sẽ bị bất dục. Tương tự như vậy khi bố trí sản xuất hạt lai phải điều khiển lúa trở vào lúc có pha sáng dài nhưng có thể đúng vào thời điểm cảm ứng thời tiết thay đổi đột ngột, nhiệt độ hạ thấp hơn giới hạn dưới sẽ

làm cho xuất hiện nhiều hạt phấn hữu dục và hạt tự thụ, lô hạt lai F_1 sẽ không thuần.



Sơ đồ 9: Sự biến đổi tính hữu dục của dòng PGMS dưới ảnh hưởng của độ dài ngày và nhiệt độ

Trên cơ sở đó thấy rằng một dòng PGMS tốt cần phải có giới hạn nhiệt độ cảm quang rộng và nhiệt độ gây bất dục giới hạn dưới thấp.

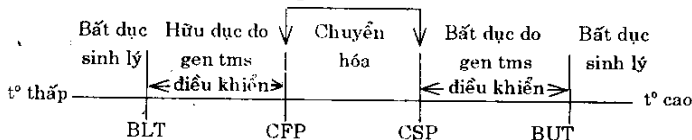
b) Đặc điểm của dòng TGMS:

- Đặc điểm di truyền: Dòng TGMS là dòng bất dục đực cảm ứng nhiệt độ. Gen kiểm tra tính bất dục nằm trong nhân tế bào là một cặp gen lặn: tms. Cặp gen lặn tms cũng có 2 chức năng tương tự như gen pms. Ở vào

thời kỳ mẫn cảm nếu nhiệt độ môi trường tăng cao thì gen tms hoạt động gây bất dục, nếu nhiệt độ môi trường giảm xuống thấp thì gen tms hoạt động theo hướng ngược lại là gây nên tính hữu dục.

Quá trình hoạt động của gen tms luôn có liên kết với một số gen khác ví dụ như khi nhiệt độ cao gen tms biểu hiện chức năng gây bất dục mạnh đồng thời liên kết hoạt động với gen khống chế chiều dài lông cuối cùng. Vì vậy trong điều kiện bất dục dòng TGMS trở nên đồng như các dòng CMS. Trái lại trong điều kiện hữu dục cũng dòng TGMS đó nhưng trở thoát hoàn toàn nghĩa là mối liên kết với gen khống chế chiều dài lông cuối cũng hoạt động theo hướng khác.

Thời kỳ cảm ứng nhiệt độ của dòng TGMS tương đối ngắn và muộn. Nhiệt độ tới hạn gây bất dục và hữu dục của các dòng rất khác nhau. Sơ đồ 10 minh họa ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự biến đổi chức năng gây hữu dục và bất dục của dòng TGMS.



Sơ đồ 10: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự biến đổi chức năng hoạt động của gen tms

Ghi chú: BLT: Biological Lower Temperature: nhiệt độ giới hạn sinh học dưới.

BUT: Biological Upper Temperature: nhiệt độ giới hạn sinh học trên.

CFP: Critical Fertility point: điểm nhiệt độ tới hạn gây hữu dục.

CSP: Critical Sterility point: điểm nhiệt độ tới hạn gây bất dục.

Sơ đồ 10 được giải thích như sau: Khi cây lúa sinh trưởng phát triển trong điều kiện nhiệt độ thấp (dưới giới hạn thấp của nhiệt độ sinh học) nếu dòng TGMS trở bông cũng không đậu hạt được. Trường hợp này lúa bất dục do chức năng sinh lý bị tổn hại chứ không phải do cơ chế di truyền.

Nếu lúa phát triển trong điều kiện nhiệt độ cao hơn nhiệt độ giới hạn sinh học dưới (BLT) nhưng lại thấp hơn điểm nhiệt độ tối hạn gây bất dục (CSP) thì sẽ đậu hạt bình thường, cho năng suất cao.

Nếu phát triển trong điều kiện nhiệt độ cao trên điểm tối hạn gây bất dục (CSP) và dưới ngưỡng nhiệt độ giới hạn sinh học trên (BUT) thì dòng TGMS bất dục di truyền.

Khoảng nhiệt độ giữa CFP và CSP gọi là giới hạn nhiệt độ chuyển hóa, khi thời kỳ mẫn cảm của dòng TGMS chịu ảnh hưởng của nhiệt độ dao động trong khoảng này thì bất dục không hoàn toàn (bán bất dục) hay nói cách khác tỉ lệ đậu hạt thấp, tỉ lệ lép cao. Vì vậy khi nhân dòng TGMS phải điều chỉnh cho thời kỳ mẫn cảm không rơi vào khoảng nhiệt độ chuyển hóa để nâng cao năng suất. Nếu sản xuất hạt lai mà thời kỳ mẫn cảm gặp nhiệt độ ở khoảng đó thì lô hạt giống sẽ bị lẫn hạt tự thụ phấn làm giảm chất lượng.

Có một số kết quả nghiên cứu về thời kỳ cảm ứng nhiệt độ của các dòng TGMS. Borkakati (1994) cho rằng thời kỳ cảm ứng bắt đầu từ ngày thứ 15 đến ngày thứ 6 trước khi lúa trở bông Wu XJ (1997) cho rằng thời kỳ cảm ứng mạnh xảy ra trước khi lúa trở 15-11 ngày.

Trong thời kỳ cảm ứng có những dòng chỉ cần xử lý nhiệt độ 1 giờ đã bị thay đổi (Borkakati, 1994) có những dòng phải xử lý 3 ngày mới có biến đổi. Đa số dòng phải xử lý 4-6 ngày mới có kết quả rõ.

Nghiên cứu vấn đề này chúng tôi đã xử lý 8 dòng TGMS (2 dòng Trung Quốc và 6 dòng Việt Nam mới tạo) cho nhận xét như sau: Dòng Hương 125^S (Hồ Nam-Trung Quốc) có thời gian cảm ứng dài 8 ngày (19-12 ngày trước trổ) tương ứng với thời kỳ bắt đầu phân hóa đòng bước 4 đến hết bước 5. Dòng SE21 nhập từ Phúc Kiến cảm ứng nhiệt độ từ 21-16 ngày trước trổ. Các dòng chọn tạo tại Việt Nam (bằng phương pháp lai với các TGMS của Trung Quốc) cảm ứng nhiệt độ ngắn hơn (bảng 12).

Bảng 12: Ảnh hưởng của 4 ngày nhiệt độ thấp (21,6-23,5°C) lên các bước phân hóa đòng và sự hình thành hạt phấn hữu dục của các dòng TGMS

Ngày nở hoa (ngày/tháng)	Từ bắt đầu xử lý đến (trổ (ngày))	Bước phân hóa đòng khi rộ thấp	Tỉ lệ hạt phấn hữu dục xuất hiện của các dòng (% tổng số)							
			T ₂₄ ^S	T ₂₅ ^S	T ₂₆ ^S	T ₂₇ ^S	T ₂₉ ^S	T ₁ ^S	Hương 125 ^S	SE ₂₁
16/5	11	6	0	0	0	0	0	0	0	0
17/5	12	5	7	5	8	0	0	0	5	0
18/5	13	5	24	25	33	0	0	0	27	0
19/5	14	5	33	48	36	24	0	0	34	0
20/5	15	4	48	21	49	23	0	11	32	0
21/5	16	4	47	0	13	17	0	25	18	1
22/5	17	4	24	0	2	0	0	14	15	3
23/5	18	4	8	0	0	0	0	0	8	7
24/5	19	4	0	-	0	0	0	0	2	28
25/5	20	3	0	-	0	-	0	0	0	14
26/5	21	3	0	-	-	-	0	-	0	2
27/5	22	3	-	-	-	-	0	-	0	0
28/5	23	2	-	-	-	-	0	-	-	0

Nguồn: Nguyễn Thị Trâm, Lê Hữu Khang 1999.

- Phân loại bất dục các dòng TGMS.

Các dòng TGMS có 2 kiểu bất dục hạt phấn sau đây:

+ Kiểu thứ nhất: Bất dục điển hình: hạt phấn của kiểu bất dục điển hình có hình dạng giống như dòng CMS có hình dạng không bình thường: hình thoi, hình tam giác, vỏ hạt nhẵn nhéo, hoàn toàn không tích lũy tinh bột vì vậy khi nhuộm màu trong dung dịch I-KI 1% không chuyển màu xanh đen. Khi lúa trở nhìn vỏ bao phấn có màu vàng nhạt.

+ Kiểu thứ 2: Bất dục không hạt phấn: các dòng bất dục không hạt phấn có quá trình diễn biến từ từ khi nhiệt độ tăng cao khoảng 2-3 ngày đầu trong bao phấn còn có hạt phấn bất dục. Sau đó bao phấn rụng hoàn toàn không còn hạt phấn. Khi lúa trở nhìn mắt thường thấy bao phấn trắng vì vậy nếu dùng kiểu này để sản xuất hạt lai rất dễ chọn loại bỏ những cá thể hữu dục lẫn vào.

- Dòng TGMS có một số đặc điểm quý khác như: vòi nhụy dài, đầu nhụy to phân ra rất nhiều nhánh. Vì vậy sau khi nở hoa, vỏ trấu khép lại, đầu nhụy vẫn nằm ngoài vỏ trấu nên những ngày sau vẫn có thể nhận phấn để thụ tinh. Thời gian nhận phấn của núm nhụy các dòng TGMS tốt nhất vào ngày thứ nhất, thứ hai sau nở hoa, sau đó tỷ lệ đậu hạt giảm đi nhưng đến ngày thứ sáu vẫn còn khoảng 3-5% núm nhụy có khả năng nhận phấn.

Tỷ lệ núm nhụy thò của các dòng TGMS thường cao hơn các dòng CMS đây là một tính trạng giúp ích cho việc sản xuất hạt lai.

Các dòng TGMS có thể sử dụng tốt trong điều kiện Việt Nam để phát triển lúa lai hai dòng.

c) Đặc điểm của các dòng T(P)GMS và P(T)GMS

Đồng thời với việc phát hiện ra các dòng PGMS và TGMS do 1 cặp gen lặn kiểm tra tính bất dục, người ta còn phát hiện ra các dòng EGMS do hai cặp gen điều khiển đó là các dòng TPGMS hoặc PTGMS. Có 4 kiểu dòng EGMS thuộc loại này (bảng 13).

Các kiểu dòng kể dưới đây thường do 2 cặp gen lặn kiểm tra, ngoài ra có một số gen hỗ trợ hoặc liên kết.

Bảng 13: Các kiểu bất dục đực chức năng do hai gen điều khiển và điều kiện biểu hiện tính trạng của chúng

Kiểu bất dục Điều kiện bất dục	LDHT	SDHT	LDLT	SDLT
Nhiệt độ cao gây bất dục HT	S	S	F	F
Nhiệt độ thấp gây bất dục LT	F	F	S	S
Ngày dài gây bất dục LD	S	F	S	F
Ngày ngắn gây bất dục SD	F	S	F	S

Ghi chú: F: Fertile: hữu dục, S: Sterile: bất dục.

HT: High temperature: nhiệt độ cao,

LT: low temperature: nhiệt độ thấp,

LD: Long day length: ngày dài,

SD: Short day length: ngày ngắn,

LDHT: ngày dài nhiệt độ cao,

SDHT: ngày ngắn nhiệt độ cao,

LDLT: ngày dài nhiệt độ thấp,

SDLT: ngày ngắn nhiệt độ thấp.

Hiện nay các dòng này đang được nghiên cứu gây tạo ở nhiều trung tâm chọn tạo giống lúa lai. Trong điều kiện Việt Nam cần tìm các dòng vừa cảm quang

vừa cảm ơn với điều kiện là yêu cầu độ dài pha sáng tới hạn gây bất dục không quá dài (khoảng $>12h30'$) và giới hạn độ dài ngày chuyển hóa không lớn.

d) Các dòng kháng PGMS và TGMS

Có nhiều dòng bất dục được chức năng di truyền nhân khác được phát hiện mà cơ chế hoạt động của gen điều khiển các chức năng gây bất dục và hữu dục ngược lại với sự hoạt động của các gen trong các dòng PGMS và TGMS đã mô tả trên. Các dòng này được gọi là dòng kháng PGMS hoặc kháng TGMS.

Dòng kháng PGMS hữu dục trong điều kiện quang chu kỳ dài hơn, và khi điều kiện chiếu sáng ngắn thì dòng sẽ bất dục. Dòng kháng TGMS có hạt phấn hữu dục bình thường khi nhiệt độ cao và bất dục khi nhiệt độ giảm thấp. Các dòng vật liệu mới này có thể nghiên cứu sử dụng ở những vùng có điều kiện sinh thái khí hậu đặc biệt.

3.3.2.3. Các phương pháp chọn tạo dòng EGMS

a) Nhập nội:

Nhập các dòng EGMS sẵn có từ các trung tâm nghiên cứu quốc tế hoặc từ các quốc gia, các vùng lân cận để hình thành một tập đoàn vật liệu khởi đầu.

Các dòng nhập nội được gieo trồng cẩn thận trong nhà lưới, theo dõi đặc điểm sinh trưởng phát triển, khả năng chống chịu sâu bệnh và khả năng thích ứng. Bố trí các thí nghiệm thời vụ để xác định thời kỳ bất

dục, thời kỳ hữu dục, ngưỡng nhiệt độ chuyển hóa, ngưỡng cảm ứng quang chu kỳ v.v... Khi tìm được các dòng có triển vọng tiến hành lai thử với các giống lúa thường trong tập đoàn công tác để tạo ra các tổ hợp lai hai dòng mới.

b) Lai và chọn lọc phả hệ (pedigree):

Dùng nguồn EGMS sẵn có trong tập đoàn lai với các giống lúa thường, chỉ tiến hành lai đơn. Thu hạt F_1 và gieo để tạo lập một quần thể F_2 có ít nhất 1000 cá thể. Thời vụ trồng F_2 phải điều chỉnh sao cho lúa trở vào thời kỳ có quang chu kỳ dài nhất hoặc nhiệt độ cao nhất trong năm. Chỉ có điều kiện như vậy mới xuất hiện các cá thể hoàn toàn bất dục. Thu các cây bất dục có kiểu hình đẹp, trồng gốc rạ để mọc các chồi chết.

Các chồi chết được trồng cẩn thận trong chậu và xử lý ở điều kiện độ dài ngày và nhiệt độ khác nhau để thu hạt tự thụ trên cây F_2 bất dục được chọn lọc đó.

Gieo lại hạt tự thụ riêng từng cá thể trong điều kiện quang chu kỳ dài hoặc nhiệt độ cao để chọn cây bất dục ở F_3 . Cây được chọn lại tiếp tục làm như đối với cây F_2 . Tiếp tục thực hiện như vậy trong 4-5 vụ nữa sẽ thu được dòng thuần về kiểu hình và ổn định về đặc tính phản ứng với điều kiện môi trường.

c) Lai trở lại (backcross):

Lai trở lại để tạo dòng EGMS mới được sử dụng khi chỉ cần dùng một tính trạng bất dục của dòng EGMS còn các tính trạng khác đã có sẵn ở dòng bố rồi. Trong quá trình lai lại vì tính cảm ứng của dòng EGMS do

gen lặn kiểm tra nên cây F_1 không có bất kỳ biểu hiện nào giúp ta đánh giá được rằng tính trạng cần thiết đã được chuyển vào con lai hay chưa. Do đó không dùng cây bố lai lại ngay với F_1 mà phải cho F_1 tự thụ, thu hạt gieo sang F_2 . Chọn cá thể bất dục ở F_2 để lai với cây bố và tiếp tục làm như vậy đến khi mọi tính trạng nông sinh học mong muốn là của dòng bố, riêng tính bất dục là của dòng EGMS khởi đầu.

Thời gian tạo được dòng EGMS theo phương pháp này kéo dài gấp 2 lần so với việc tạo giống bình thường.

d) Tạo dòng EGMS bằng phương pháp gây đột biến:

Đột biến là phương pháp rất có hiệu quả gây nên những biến động di truyền. Đột biến vừa có thể cải tiến một số tính trạng chưa hoàn hảo của các dòng EGMS sẵn có vừa có thể tạo ra các dòng EGMS mới. Rất nhiều dòng EGMS được xác nhận của Trung Quốc, Nhật, Mỹ, Ấn Độ và Việt Nam được tạo ra nhờ đột biến tự nhiên hay nhân tạo (bảng 14).

Xử lý đột biến có thể rút ngắn thời gian tạo dòng EGMS ví dụ dòng Norin PL12 của Nhật Bản được xác nhận ở thế hệ M7, hoặc dòng H89-1^s được xác nhận ở thế hệ M5.

Các tác nhân vật lý như tia γ hoặc tác nhân hóa học EMS đều có tác dụng tạo ra các dòng bất dục. Sau khi xử lý đột biến có thể thu được nhiều kiểu bất dục khác nhau. Muốn xác định được dòng EGMS cần phải đánh giá trong những điều kiện môi trường (quang chu kỳ và nhiệt độ) khác nhau giống như cách chọn và đánh giá ở quần thể F_2 đã mô tả trên.

Bảng 14: Một số dòng EGMS gây tạo bằng các phương pháp khác nhau được xác nhận và sử dụng ở một số nước

S TT	Tên dòng	Điều kiện bãi dục	Nguồn gốc	Thuộc loài phụ	Phương pháp gây tạo	Năm xác nhận	Nơi chọn tạo
1	Nongken 58 ^s	Ngày dài, t ^o cao	Nongken 58	Japonica	Đột biến tự nhiên	1981	Hồ Bắc
2	5460 ^s	t ^o cao	IR 54	Indica	Đột biến bằng γ	1989	Phúc Kiến
3	Annonng S	t ^o cao	Chao 40B/285/6209-3	Indica	Đột biến tự nhiên	1988	An Giang
4	87N123 ^s	t ^o cao	Lúa dài râu dài/R ₁₈₃ /Ce64		Lai xa	1989	Hồ Nam
5	Norin PL12	t ^o cao	Reimei		Đột biến bằng γ	1989	Nhật Bản
6	M201 ^s	Ngày dài, t ^o cao			Đột biến bằng EMS	1990	Mỹ
7	Calrose 76 ^s	Ngày dài, t ^o cao	Calrose 76	Indica	Nuôi cấy bao phấn		Mỹ
8	822 ^s	t ^o cao	Lúa Ấn Độ	Indica	Đột biến tự nhiên	1992	Hồ Nam
9	IR 32364 ^s	t ^o cao	IR32364-20-1-3-28	Indica	Đột biến bằng γ		IRRI
10	Pejai 64 ^s	t ^o cao	Nongken 58 ^s	Javanica	Lai	1991	Hồ Bắc
11	7001 ^s	Ngày dài, t ^o cao	Nongken 58 ^s	Japonica		1989	Hồ Bắc
12	Anxiang ^s	t ^o cao	Annonng S	Indica		1994	Hồ Nam
13	Hương 125 ^s	t ^o cao	Annonng S	Indica		1994	Hồ Nam
14	Ce64 ^s	t ^o cao	Annonng S	Indica		1996	Hồ Nam
15	GD-2 ^s	t ^o cao	Nongken 58 ^s	Indica			Hồ Nam
16	K9 ^s	t ^o cao		Indica		1995	Quảng Đông
17	K14 ^s	t ^o cao		Indica			Quảng Tây
18	VN01	t ^o cao		Indica			Quảng Tây
19	TC:MS-VN ₁	t ^o cao	Chiem bâu	Indica	Nhập nội	1997	Viện di truyền
20	T1 ^s	t ^o cao	T24 ^s /Japonica 5	Indica	Đột biến bằng γ	1999	Viện di truyền
21	T29 ^s	t ^o cao	T25 ^s /R ₁	Indica	Lai	1998	ĐHNH I
22	7 ^s	t ^o cao		Indica	Lai	1998	ĐHNH I
23	11 ^s	t ^o cao		Indica	Nhập nội	1998	Viện KHNNVN
					Nhập nội	1998	Viện KHNNVN

3.3.2.4. Tiêu chuẩn của dòng EGMS tốt :

Một dòng EGMS tốt đòi hỏi phải có một số tính trạng và đặc tính sau đây (Theo Yuan LP. 1995).

- Phải có một số lượng cá thể đủ lớn ít nhất là 1.000 cây đồng nhất, ổn định về các tính trạng nông sinh học.

- Số cây bất dục trong quần thể phải đạt 100% khi kiểm tra hạt phấn của từng cá thể bằng phương pháp hiển vi quang học hoặc bằng phương pháp bao bông thì các cá thể này cũng hoàn toàn bất dục hoặc tỉ lệ phấn bất dục phải đạt >99,5%.

- Trong điều kiện tự nhiên sự biến đổi hữu dục phải rõ ràng, phải có một thời kỳ bất dục kéo dài ít nhất 30 ngày liên tục. Trong điều kiện hữu dục thì dòng EGMS phải có tỉ lệ hạt mẩy ít nhất là 30%.

- Ở ruộng sản xuất hạt lai, tỉ lệ nhận phấn ngoài của dòng EGMS phải không thấp hơn các dòng CMS đang sử dụng trong sản xuất.

- Sự chuyển hóa hữu dục của dòng EGMS phải được kiểm tra chặt chẽ bằng xử lý nhiệt độ hoặc quang chu kỳ nhân tạo để sàng lọc những cá thể có phản ứng không đặc trưng khỏi dòng đang chọn lọc.

3.3.3. Tìm dòng phục hồi và đánh giá ưu thế lai hệ hai dòng

Trong hệ thống lai ba dòng việc tìm dòng phục hồi cho dòng CMS khá phức tạp do mối quan hệ giữa dòng phục hồi và dòng duy trì. Trái lại đối với hệ thống lai hai dòng có rất nhiều cơ hội để tìm dòng phục hồi hay

nói cách khác có tới 95% số giống lúa thường có khả năng phục hồi tính hữu dục đối với dòng EGMS. Đó là vì gen kiểm tra tính bất dục của EGMS di truyền lặn. Vì có nhiều giống có khả năng phục hồi nên cơ hội tìm ra những tổ hợp có ưu thế lai cao cũng nhiều hơn.

- Chọn dòng phục hồi để phát triển các tổ hợp lai giữa giống: Có thể tiến hành lai thử hàng loạt tổ hợp lai giữa các dòng EGMS với các giống trong cùng loài phụ. Mỗi tổ hợp lai thử chỉ cần số lượng hạt ít khoảng 200-500 hạt. Gieo mỗi tổ hợp trong một ô nhỏ, có diện tích 3-5m² để quan sát năng suất, thời gian sinh trưởng và một số đặc điểm nông sinh học khác. Trong vườn quan sát có thể bố trí kèm hàng bố bên cạnh mỗi tổ hợp để đánh giá ưu thế lai. Từ vườn này hàng vụ tuyển chọn ra các tổ hợp ưu tú để lai thử lại. Các bước tiếp sau thực hiện như đối với hệ thống lai ba dòng.

- Chọn dòng phục hồi để phát triển các tổ hợp lai giữa loài phụ: Các nhà khoa học Trung Quốc chứng minh rằng sức mạnh ưu thế lai khác nhau giữa các phương thức tổ hợp. Có thể sắp xếp theo thứ tự như sau: Indica/Japonica > Indica/Javanica > Japonica/Javanica > Indica / Indica > Japonica/Japonica.

Lai xa giữa các loài phụ đặc biệt là giữa Indica/Japonica cho con lai có tiềm năng năng suất cao ở các tính trạng "nguồn" và "sức chứa". Vì vậy về mặt lý thuyết năng suất của các tổ hợp này sẽ cao vượt trội 30% so với các tổ hợp lai trong loài ưu tú nhất. Tuy nhiên để đạt được ưu thế lai cao, cần phải khắc phục bốn trở ngại do lai xa gây nên đó là:

- Hiện tượng bán bất dục - Tỷ lệ lép cao.
- Ưu thế lai cao về chiều cao cây - Cây cao dễ đổ.
- Ưu thế lai cao về thời gian sinh trưởng - Thời gian sinh trưởng dài, khó bố trí thời vụ.

- Hiện tượng không đầy hạt - Hạt lửng, tỷ lệ gạo thấp.

Những thành công mới trong nghiên cứu lúa lai đã từng bước khắc phục được những trở ngại nêu trên, cụ thể là:

- Sử dụng gen tương hợp rộng (WCG) thường có ở loài phụ Javanica (gen S-5¹) đưa vào một trong 2 dạng bố mẹ sẽ làm cho các tổ hợp lai xa giảm được tỷ lệ lép. Theo cách này có thể chuyển gen tương hợp rộng vào dòng EGMS làm cho hiệu ứng ưu thế lai về tính hữu dục cao lên. Theo thông báo của Yuan LP. 1995 thì dòng Peiai 64^S là dòng TGMS có gen WC.

- Chuyển gen lùn đồng allel vào dòng bố và dòng mẹ có thể hạ thấp chiều cao cây của con lai xa Indica/Japonica tương đương với giống bán lùn và như vậy vẫn giữ được sức mạnh ưu thế lai.

- Lai các dòng bố mẹ có thời gian sinh trưởng khác nhau (trừ các giống chín muộn cảm quang) tất nhiên sẽ chọn được tổ hợp có thời gian sinh trưởng ngắn hoặc trung bình.

- Đối với trở ngại cuối cùng là vấn đề hạt lửng do lai xa có thể tìm một số cách khắc phục như sau: chọn một trong hai bố mẹ có hạt rất mẩy; chọn các tổ hợp lai có bông to trung bình mà không nên chọn tổ hợp có bông quá to sẽ có thể nâng cao độ mẩy hạt vì như vậy là đã tạo ra được mức độ hài hòa giữa "nguồn" và "sức chứa".

Trong những năm gần đây Trung Quốc đã công bố một số tổ hợp lai hai dòng có năng suất rất cao như Peiai 64^S/Teqing năng suất kỷ lục đạt 17,113tấn/ha/vụ ở tỉnh Vân Nam (Yuan LP. 1995); Tổ hợp Peiai 64^S/E₃₂ đạt năng suất bình quân 13,26 tấn/ha = 100kg/ha/ngày (Yuan LP 1997).

Một số tổ hợp lai hai dòng khác có dòng mẹ là Peiai 64^S đã được nhập vào nước ta trồng thử nghiệm ở vụ xuân và vụ mùa đều cho năng suất cao ổn định, thời gian sinh trưởng ngắn, kiểu cây đẹp được nông dân ưa chuộng, đó là các tổ hợp lai: Peiai64^S/Sơn thanh, Peiai 64^S/R77, Peiai 64^S/R49 v.v...

Các nhà chọn giống Việt Nam đã gây tạo được một số dòng TGMS và đang tìm tổ hợp lai có ưu thế lai cao. Trong tương lai gần chắc chắn sẽ có những tổ hợp lai hai dòng ưu tú của Việt Nam đưa ra sản xuất.

3.3.4. Nhân dòng EGMS và sản xuất hạt lai F₁ hai dòng

a) Nhân dòng EGMS:

Nhân dòng EGMS tương đối đơn giản so với việc nhân dòng CMS. Thay cho việc phải nhân theo cặp A/B, việc nhân dòng EGMS được thực hiện như nhân giống bình thường. Tuy nhiên khi tiến hành nhân cần chú ý hai vấn đề sau:

- Phải điều khiển thời vụ gieo cấy hợp lý sao cho thời kỳ cảm ứng với điều kiện ngoại cảnh của dòng EGMS trùng khớp với thời gian có nhiệt độ hoặc độ dài ngày thuận lợi nhất cho phấn hữu dục để đảm bảo năng suất cao. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đối với các

dòng TGMS nhập nội từ Trung Quốc cũng như các dòng mới gây tạo ở Việt Nam cho thấy cần điều chỉnh thời kỳ cảm ứng của các dòng ở vụ xuân vào thời gian từ 20/3 đến 5/4 để lúa trổ từ 5-20/4 là thuận lợi nhất. Trong vụ xuân 1999 một số dòng TGMS trổ từ 10-17/4 đạt năng suất từ 2,3 đến 4,6 tấn/ha.

- Các dòng EGMS có vòi nhụy dài, đầu nhụy phát triển thò ra ngoài vỏ trấu và sống khá lâu, do đó khi nhân dòng vẫn phải cách ly tốt để tránh lẫn phấn đảm bảo độ thuần của mỗi dòng.

Hiện nay ngoài biện pháp điều chỉnh thời vụ người ta còn sử dụng biện pháp tưới nước lạnh vào thời kỳ cảm ứng của dòng TGMS để nâng cao năng suất. Nguồn nước lạnh có thể lấy từ vùng núi cao khoảng 1000m so với mặt biển hoặc khoan giếng ngầm sâu hút nước lên để tưới vào thời kỳ cảm ứng. Mức nước tưới phải sâu để ngập dòng non đang phân hóa trong thân đồng thời phải chảy liên tục để tránh nhiệt độ tăng cao. Nhiệt độ nước tưới cần giữ ở mức 19-21°C. Trong điều kiện như vậy thì nhiệt độ không khí có thể cao từ 24,5 - 35°C dòng TGMS vẫn cho hạt hữu dục.

b) Sản xuất hạt lai:

Sản xuất hạt lai của hệ hai dòng được tiến hành tương tự như sản xuất hạt lai ba dòng. Điểm khác biệt là vấn đề điều chỉnh thời kỳ mẫn cảm sao cho trùng khớp với điều kiện gây bất dục. Trong điều kiện miền Bắc Việt Nam chỉ nên sử dụng các dòng TGMS để sản xuất hạt lai vào mùa hè, đó là một khó khăn lớn vì mùa hè thường có mưa bão nếu gieo để đảm bảo cho dòng

TGMS bất dục thì phải điều khiển trở từ sau ngày 15/5 (vụ xuân) và từ 25/8 đến 10/9 (vụ mùa), thời kỳ này thường có mưa bão lụt. Nếu điều khiển trở sớm hơn 15/5 hoặc muộn hơn 10/9 có thể gặp một số ngày lạnh làm cho hạt phấn hữu dục hình thành, như vậy hạt lai sẽ bị lẫn hạt tự thụ phấn.

Muốn khai thác tốt hệ thống lai hai dòng có thể tổ chức nhân dòng TGMS ở phía Bắc vào vụ xuân sớm sau đó chuyển hạt giống vào phía Nam để sản xuất hạt F_1 vì ở phía Nam nhiệt độ luôn luôn cao, lại có mùa khô, không xảy ra mưa bão. Điều kiện đó đảm bảo cho sản xuất đạt kết quả cao.

3.3.5. Tiến bộ và hạn chế của phương pháp hai dòng

a) Tiến bộ của phương pháp:

- Hệ thống lai hai dòng sử dụng dòng EGMS mang gen lặn điều khiển tính cảm ứng với điều kiện môi trường vì thế có thể duy trì dòng bằng tự thụ phấn mà không cần dòng duy trì. Khả năng chọn dòng bố để tạo các tổ hợp lai rộng hơn vì có tới 95% số giống lúa thường có khả năng phục hồi phấn cho dòng EGMS trong khi chỉ có 5% số giống có thể phục hồi dòng CMS mà thôi.

- Tính bất dục được cảm ứng với điều kiện môi trường do một hoặc 2 gen lặn điều khiển, vì vậy có thể lai chuyển các gen này sang các giống có những tính trạng mong muốn khác làm đa dạng nền di truyền của các dòng EGMS. Nhờ vậy mà tránh được những tổn hại di truyền tiềm ẩn do hiện tượng đồng tế bào chất gây nên.

- Sử dụng dòng EGMS để sản xuất hạt lai sẽ giảm được một lần lai trong chu kỳ sản xuất hạt giống. Vì vậy có thể hạ giá thành hạt lai F_1 .

- Do phạm vi chọn bố mẹ rộng nên việc cải tiến chất lượng hạt thương phẩm, cải tiến khả năng chống chịu và thích ứng thuận lợi hơn so với phương pháp ba dòng. Mặt khác có thể dễ dàng chuyển gen tương hợp rộng vào các dòng EGMS để khắc phục một số khó khăn khi lai xa đặc biệt là hiện tượng lép cao. Nhờ vậy có thể tạo ra những giống lai siêu cao sản có năng suất bình quân từ 9-15,1 tấn/ha/vụ hoặc 100kg/ha/ngày.

b) Những hạn chế:

- Sản xuất hạt lai hai dòng vẫn phải tiến hành hàng vụ và phải đảm bảo qui trình nghiêm ngặt như sản xuất hạt lai ba dòng. Quá trình sản xuất tiêu tốn nhiều lao động thủ công nặng nhọc và thường xuyên chịu rủi ro vì điều kiện thời tiết thay đổi ngoài dự định.

- Dòng EGMS rất mẫn cảm với điều kiện ngoại cảnh mà điều kiện nhiệt độ thì biến đổi thất thường dẫn đến hạt lai có thể năng suất thấp, độ thuần kém không đạt tiêu chuẩn chất lượng làm cho sản xuất bị thua lỗ, ưu thế lai giảm gây thiệt hại cho sản xuất đại trà.

4. PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG LÚA LAI "MỘT DÒNG"

4.1. Khái niệm

Sản xuất hạt lai hữu tính hàng năm bằng phương pháp "ba dòng" hoặc "hai dòng" đều gặp những hạn chế không thể khắc phục được vì:

- Một số gen kiểm tra lợi ích kinh tế là gen lặn, không biểu hiện tác dụng ở con lai F_1 .

- Mức độ biểu hiện ưu thế lai tương đối thấp do giới hạn của thông tin di truyền chỉ có ở hai nguồn bố và mẹ tham gia lai.

- Sản xuất hạt lai phải làm hàng năm nên thường xuyên gặp rủi ro và giá thành hạt giống đắt (De Datta, 1981).

Để khắc phục những hạn chế trên đây năm 1992 Yuan Long Ping nêu ra khái niệm về lúa lai "một dòng", ông định nghĩa: Phương pháp một dòng là phương pháp sản xuất "hạt lai thuần" (True bred hybrid rice) nhờ sử dụng thể vô phôi (aponixis) để sản xuất hạt lai và cố định ưu thế lai.

Cho đến nay việc sản xuất "hạt lai thuần" nhờ sử dụng thể vô phôi mới chỉ được đặt cơ sở và đang bắt đầu nghiên cứu tại những Trung tâm kỹ thuật cao như các Viện nghiên cứu sinh vật học và di truyền học phân tử của các nước tiên tiến như Mỹ, Úc, Trung Quốc, Nhật Bản. Bước đầu đã ghi nhận được một số thành công trong việc chuyển các gen sinh sản vô phôi từ cỏ dại sang lúa, phát hiện lúa đa phôi v.v... Trước khi đạt được những thành công cụ thể về sản xuất lúa lai vô phôi, người ta đã tìm tòi nhiều phương pháp khác nhau để cố định ưu thế lai.

4.2. Một số phương pháp có thể cố định ưu thế lai ở lúa

4.2.1. Cố định ưu thế lai bằng nhân giống vô tính

Khi tạo được một số tổ hợp lai có ưu thế lai cao, để tiết kiệm hạt lai, một số nhà khoa học của tỉnh Quảng

Đông - Trung Quốc đã sử dụng phương pháp tận thu lúa chết theo phương pháp cổ truyền của nông dân. Kết quả thử nghiệm trên nhiều tổ hợp lai, người ta tìm ra các tổ hợp có khả năng tái sinh cao đến mức ruộng lúa chết thu được năng suất 4,5-6 tấn/ha, trong thời gian có 60-70 ngày kể từ sau vụ gặt chính. Trong thí nghiệm nếu sử dụng phương pháp chăm sóc tối ưu cho ruộng lúa chết có thể thu tới 10,6 tấn/ha (Luo và cộng sự, 1993). Những kết quả kể trên gợi mở một khả năng sử dụng các chồi lúa mọc từ gốc rạ để cố định ưu thế lai.

Trong thực tế sản xuất có những giống lúa sau khi thu hoạch, gốc rạ có khả năng tái sinh mạnh và có những giống khả năng tái sinh yếu. Có những giống chồi vô tính phát triển nhanh. Những hiện tượng kể trên liên quan đến tính di truyền của giống về sự hoạt động của các hoóc môn điều hòa sinh trưởng và sự hoạt hóa các gen điều khiển tổng hợp hoóc môn sinh trưởng.

Lê Văn Nhạ (1990) nêu ra khái niệm về chồi dạng mạ và chồi dạng lúa chết.

Chồi dạng lúa chết là các chồi mọc từ gốc rạ chỉ có 2-3 lá, ra bông sau khi cắt lúa từ 20-30 ngày, các bông này có ít hạt, tổng thời gian từ khi cắt lúa vụ chính đến khi thu hoạch lúa chết khá ngắn từ 55-75 ngày tùy theo độ cao hay thấp khi cắt gốc rạ. Sử dụng các chồi dạng lúa chết chỉ có ý nghĩa tận thu và được sử dụng phổ biến ở những vùng mà điều kiện thời tiết chỉ có thể cấy được một vụ trong năm. Không thể coi đây là phương pháp cố định ưu thế lai vì rằng: các chồi lúa chết nhận được hoóc môn sinh trưởng sinh thực từ cây

mẹ, đã phân hóa dòng non ngay từ khi lá chưa nhú ra, dinh dưỡng lệ thuộc hoàn toàn vào cây mẹ nên bông nhỏ, năng suất thấp.

Chồi dạng mạ là những chồi mọc ra từ gốc, có khả năng phát triển thành khóm lúa, có thời gian sinh trưởng tương đương như khóm lúa được mọc từ hạt thóc.

Chồi dạng mạ cũng được mọc ra từ gốc rạ nhưng có thể mọc từ những đốt rất thấp ít bị ảnh hưởng của hoóc môn cây mẹ nên các chồi này non về giai đoạn phát triển, có số lá cơ bản tương đương với cây mọc từ hạt do đó thời gian sinh trưởng tương đương, sức đẻ nhánh và các tính trạng khác đều không thua kém gì cây mọc từ hạt và đôi khi còn cao hơn. Sự cao hơn này có thể do hiệu ứng vô tính gây nên.

Nhìn chung những chồi dạng mạ có khả năng cố định ưu thế lai. Nếu như hoàn thiện quy trình công nghệ để sử dụng các chồi dạng mạ của các tổ hợp lai có ưu thế lai cao thì sẽ nâng cao hiệu quả của ngành sản xuất giống lúa lai đáng kể.

Một số kết quả nghiên cứu bước đầu của chúng tôi chỉ ra rằng có hai cách để thu được chồi dạng mạ:

- Tìm các giống có khả năng ra chồi dạng mạ cao ví dụ các giống có phản ứng ánh sáng ngày ngắn như Mộc tuyền, Tám thơm, Dự, Bao thai hoặc một số giống khác như: Mashuri, Nếp thơm 44, VL901...

- Tách liên tục các chồi lúa chết để cắt nguồn hoóc môn từ cây mẹ truyền sang, sau khi tách 2-3 lần (tùy giống) có thể thu được chồi dạng mạ.

Vấn đề nêu trên còn chưa có những nghiên cứu đầy đủ do vậy cần quan tâm đến nhiều quá trình khác xảy ra trong các thời kỳ sinh trưởng phát triển của cây lúa.

Sử dụng chồi vô tính để nhân giống ở lúa không những chỉ cố định được ưu thế lai ở F_1 , mà còn giữ được bản chất di truyền của bất kỳ cá thể nào đang trong thời kỳ phân ly mà tiềm năng kinh tế đã biểu hiện ở mức cao đủ hấp dẫn đối với nhà chọn giống.

4.2.2. Nuôi cấy mô tế bào Soma cây F_1

Các nhà nghiên cứu Ấn Độ trong khi nuôi cấy bao phấn lúa của cây F_1 đã tách riêng hai loại mạ: Một loại mọc lên từ hạt phấn có số lượng nhiễm sắc thể là $1n$. Loại này nếu được lưỡng bội hóa bằng Colchicine sẽ hình thành những dòng thuần tuyệt đối, từ đó chọn ra các giống lúa mới thuần để sử dụng hiệu ứng tái tổ hợp, hiệu ứng cộng và tăng tiến trong lai hữu tính.

Một số cá thể khác được mọc ra từ các mô sẹo của vỏ bao phấn hoặc từ các tế bào Soma có $2n$ nhiễm sắc thể. Những cá thể này mang đầy đủ bản chất của con lai F_1 nên có thể sử dụng hiệu ứng ưu thế lai giống như cây mọc từ hạt lai hữu tính.

Khi công nghệ nuôi cấy mô tế bào đạt đến trình độ có thể nuôi cấy hàng loạt tế bào Soma ở cây lúa để cố định ưu thế lai, thì sẽ chỉ cần sản xuất rất ít hạt lai của một số tổ hợp ưu tú nhất.

4.2.3. Lúa vô phôi - công cụ di truyền để phát triển "lúa lai thuần"

a) Khái niệm về vô phôi ở lúa và những kết quả nghiên cứu bước đầu:

Năm 1987, Yuan LP đề xuất chiến lược nghiên cứu lúa vô phôi, ông cho rằng mục tiêu cuối cùng rất quan trọng của chọn giống lúa lai là cố định ưu thế lai và sản xuất lúa lai thuần. Đề xuất này đã trở thành đề tài lớn chiếm vị trí quan trọng trong chương trình quốc gia phát triển khoa học và công nghệ cao (Zhou, 1993) cơ sở nghiên cứu phát triển lúa vô phôi dựa trên những thành công mới của thế giới trong các lĩnh vực kỹ thuật di truyền, kỹ thuật tế bào, nuôi cấy *Invitro* và công nghệ sinh học nói chung.

Hội nghị khoa học quốc tế về lúa vô phôi tháng 1-1992 đã tập hợp nhiều nhà khoa học của nhiều phòng thí nghiệm hiện đại trên thế giới báo cáo và thảo luận kết quả, đề ra phương hướng nghiên cứu lúa vô phôi trong tương lai.

Hiện tượng sinh sản vô phôi đã được xác nhận ở 35 họ thực vật, 350 loài cây trồng (Hanna và cộng sự, 1987), Rutger (1987) cho rằng có thể tuyển chọn lúa vô phôi căn cứ vào những đặc điểm khác thường của hạt và cây F_1 , cây F_2 và những dòng giống lúa đa phôi.

Có cơ sở lý thuyết vững chắc để sản xuất hạt vô phôi (Asexual Seed Production) nhưng vấn đề trước tiên là phải tạo vật liệu vô phôi. Có 4 khả năng chọn ra vật liệu vô phôi đó là:

- Tuyển chọn thể vô phôi trong các loài lúa trồng (*Oryza sativa* L.). Kỹ thuật tuyển chọn phải chú ý đến những cây lai không phân ly ở F_2 , quan sát hình thái F_2 giống như F_1 (Bashaw, 1980).

- Tuyển chọn vô phôi trong các loài đại có quan hệ gần gũi với cây trồng, dựa vào những kết quả nghiên cứu tế bào học các noãn vô phôi của loài đại (Young và cộng sự).

- Lai xa giữa chi, chuyển các gen vô phôi từ cỏ đại sang lúa trồng (Sun và cộng sự, 1993).

- Dùng kỹ thuật di truyền để chuyển các gen kiểm tra tính trạng vô phôi từ các loài vô phôi đã biết mà không thể lai hữu tính với lúa được.

Trung tâm Lúa lai Hồ Nam đã tìm được lúa vô phôi từ các giống lúa đa phôi. Có 4 giống lúa có tỉ lệ hạt nhiều mầm cao từ 5-32,4% được xác định là AP1, AP2, AP3, AP4. Ngoài ra còn 46 giống lúa khác có tỉ lệ mầm kép khác nhau trong đó đa số là các giống lúa thường và một số ít là con lai (Deng, 1993).

Viện Nghiên cứu lúa Trung Quốc, nghiên cứu 1.000 giống lúa có nguồn gốc từ 44 nước trên thế giới gồm 3 loài phụ lúa trồng: Indica, Japonica và Javanica đã tìm ra 20 giống lúa đa phôi chiếm 2% tổng số giống lúa theo dõi. Tỷ lệ giống có nhiều phôi trong loài phụ Indica là 2,05% trong Japonica là 1,25% và Indica là 2,22%. Đa số giống nhiều mầm có nguồn gốc nhiệt đới, châu Úc, châu Á, châu Phi, còn châu Mỹ và châu Âu không phát hiện được giống nào. Người ta hy vọng sẽ chọn được giống lúa vô phôi từ các giống nhiều mầm kể trên (Suan, 1993) (ảnh 8).



Ảnh 8: Mầm bất định và lúa đa phôi vật liệu để chọn giống lúa sinh sản vô phôi

- (6) Cây mạ được mọc ở vị trí bất thường từ phôi bất định*
(7) Hạt lúa mọc 2 mầm có rễ mầm, thân mầm riêng biệt: một mầm mọc ở giữa hạt, một mầm mọc ở vị trí thông thường, có thể có một mầm được mọc từ phôi bất định lưỡng bội.

Dòng SAR1 là dòng bất dục đực tế bào chất nhưng lại có tỉ lệ đậu hạt cao khi tiến hành cách ly tuyệt đối với nguồn cho phấn. Các nghiên cứu phôi

phôi có cơ chế vô phôi đa dạng. Nhiều kết quả nghiên cứu phôi sinh học, tế bào học đã xác định được các giống lúa vô phôi như 84-15; C1001, 1964, 818, C1001B, Alixisili, Lu52, Shuang 3, Shuang 13, HDAR v.v... các giống này đều tuyển chọn từ những giống có mạ sinh đôi sinh ba.

Quan trọng hơn là những phát hiện ra hiện tượng vô phôi ở F_1 khi lai xa. Zhao và cộng sự (1993) mô tả cây F_1 của tổ hợp lai Indica/Japonica hoàn toàn bất dục phấn nhưng trên bông lúa non lại mọc ra các chồi từ bên trong vỏ trấu vào thời gian trước tháng 6 và sau tháng 10 hàng năm (ảnh 9) (nghĩa là khi nhiệt độ thấp). Các chồi này không mọc từ những phôi được thụ tinh vì khi lúa trổ đã bao cách ly. Tách chúng khỏi bông lúa rồi cấy ra ruộng thì mọc thành cây lúa khỏe mạnh, giống nhau về kiểu hình, đồng nhất với cây mẹ F_1 . Nhưng nếu gieo hạt lai của tổ hợp trên sao cho lúa trổ từ tháng 7 đến tháng 9 thì không quan sát thấy các chồi mọc trong hoa lúa. Khi rũ phấn của giống lúa khác vào thì thu được hạt. Điều đó chứng tỏ rằng chồi mọc trong hoa là một thể vô phôi đặc biệt. Nếu tìm được phương thức sử dụng hợp lý thì có thể cố định được ưu thế lai.

Ở trường Đại học nông nghiệp Quảng Tây (Qì, 1993) phát hiện được một số tổ hợp lai mà F_2 không phân ly, có kiểu hình hoàn toàn đồng nhất với F_1 . Theo dõi tiếp sang F_3 vẫn cho kết quả tương tự. Nếu kết quả nghiên cứu tế bào phôi sinh học chứng minh chúng là thể vô phôi thì chắc chắn sẽ sản xuất được "hạt lai thuần".

Gustafsson và Stebins không xếp sinh sản vô phôi cùng với sinh sản vô tính trừ những trường hợp ở một số loài nào đó, sinh sản hữu tính bị ngăn cản hoặc không có. Trái lại một số nhà nghiên cứu khác coi hiện tượng sinh sản vô phôi ở lúa là sinh sản vô tính bằng hạt.

Trên quan điểm thực hành Sven Asker (1993) chia vô phôi làm hai loại là vô phôi bào tử thể (hay phôi bất định) và vô phôi giao tử thể.



Ảnh 9: Chồi mọc trong bông non của cây F₁ (Indica/Japonica) chồi bất định hoặc cây mẹ
 (1) Cây mẹ mọc trong vỏ trấu; (2) Chồi mọc trong hoa;
 (3) Hoa bình thường; (4) Thời kỳ hữu dục;
 (5) Phía trong vỏ trấu ở thời kỳ bất dục;
 (6) Nhiều chồi bất định sinh ra trong một hoa,
 Ảnh hiển vi điện tử (Zhao và cộng sự, 1993)

Phôi bất định được hình thành từ các tế bào sinh dưỡng của phôi tâm hoặc từ các tế bào màng. Phôi bất định xuất hiện cùng với sự hiện diện của sinh sản hữu tính bình thường nên có khi phôi bất định cùng tồn tại với phôi hữu tính trong túi phôi. Trong trường hợp ấy thì phôi bất định tìm thấy ở hạt đa phôi. Phôi bất



Ảnh 10: Phôi bất định xuất hiện ở giữa túi phôi

*Ảnh hiển vi điện tử
(Cai và cộng sự, 1993)*

định được hình thành trước khi hoa nở 1-2 ngày; nó là phôi vô phôi lưỡng bội và cố định được ưu thế lai nếu xuất hiện ở hạt lai F_1 (ảnh 10).

Người ta chưa phát hiện được khả năng cố định ưu thế lai của kiểu vô phôi giao tử thể.

Các kết quả nghiên cứu di truyền của thể vô phôi còn ít và chưa thống nhất. Người ta cho rằng có một gen điều khiển quá trình phát triển sớm của túi phôi trước khi thụ phấn vì vậy có thể dùng lai để chuyển gen đó sang các giống khác. Hana (1987) đã chuyển thành

công đối với cao lương. Một số người khác cho rằng giả thuyết một gen trên đây chưa có cơ sở vững chắc.

Muốn chuyển khả năng sinh sản vô phôi từ loài này sang loài khác cần sử dụng công nghệ tái tổ hợp ADN và dung hợp tế bào trần.

b) Phương pháp chọn tạo lúa vô phôi:

+ Tuyển chọn lúa vô phôi trong tập đoàn giống lúa: Trước hết cần chọn các giống lúa đa phôi trong tập đoàn giống: Ngâm ủ hạt của các giống lúa, để cho chúng nảy mầm trong tối, khi mầm mọc dài 1-2 cm tiến hành tìm những hạt mọc 2-3 mầm hoặc những hạt mọc 1 mầm nhưng vị trí mầm ở giữa hạt hoặc ngược chiều với vị trí bình thường. Có thể tiến hành bóc vỏ hạt rồi ngâm ủ cho hạt mọc mầm, có thể các mầm phụ yếu hơn mầm chính, nếu không có lớp vỏ trấu, mầm mọc ra khá dễ dàng đồng thời cũng dễ quan sát vị trí của các mầm trên hạt, khi đã phát hiện những hạt nhiều mầm, đem trồng riêng rồi chọn lọc liên tục để nâng cao tần số xuất hiện hạt đa phôi. Đồng thời tiến hành nghiên cứu phôi sinh học và di truyền học nhằm xác định mầm vô phôi và tìm biện pháp sử dụng. Một số kết quả chọn lọc liên tục lúa nhiều năm ở Trung Quốc sau 5-6 vụ tần số xuất hiện hạt nhiều mầm tăng lên nhưng vẫn chưa đạt được những dòng thuần đa phôi.

+ Xử lý đột biến bằng các tia γ , tia α , tia cực tím lên hạt phấn trước khi thụ phấn, hoặc dùng một số hóa chất như 2,4D; NAA; GA₃; DMSO;... xử lý các bông lúa đã được khử dục hoặc các dòng CMS để thu hạt vô phôi trên cây mẹ (Dai và cộng sự, 1984).

+ Lai xa: Tìm một số dòng sinh sản vô phôi và một số dòng sinh sản hữu tính lai với nhau, gen kiểm tra tính trạng vô phôi có thể được chuyển vào con lai và cuối cùng thu được lúa vô phôi (Gustafsson 1948, Hanna 1989, John và cộng sự 1991, Stebbin 1957).

Dùng các dòng CMS hoặc các dòng bất dục đực di truyền nhân làm nền để lai với các dòng bố mang một vài tính trạng di truyền trội để đánh dấu sau khi lai, xử lý đột biến tiếp theo sẽ thu được hạt lai, có thể có cả hạt hữu tính và hạt vô phôi. Gieo tiếp thế hệ F_2 , chọn lọc các cá thể vô phôi trong quần thể (Các cá thể vô phôi có những đặc điểm giống F_1). Tiếp tục gieo và chọn nhiều lần sẽ thu được dòng vô phôi mong muốn (Singh và Kehash, 1981).

Để phân biệt được mầm hữu tính và mầm vô phôi người ta đề xuất nhiều cách khác nhau. Các nhà nghiên cứu Nhật Bản đề xuất phun một loại hóa chất có tác dụng diệt các mầm hữu tính ngay từ khi hạt mới nảy mầm mà hóa chất này không có khả năng diệt các mầm vô phôi (Zhao và cộng sự, 1993). Cũng có thể phun sớm hơn để giết các tế bào trứng thụ tinh mà không gây hại phôi vô phôi (Deng, 1993).

Một số khác đề xuất chuyển gen gây ngủ lâu cho phôi hữu tính hoặc gây thoái hóa các hợp tử nhưng không gây hại phôi vô phôi (Deng, 1993; Zhao và cộng sự, 1993).

c) Cố định ưu thế lai bằng sản xuất hạt lai vô phôi:

Muốn cố định ưu thế lai bằng sinh sản vô phôi thì đòi hỏi các gen kiểm tra tính trạng vô phôi di truyền đơn

giản, trội và bắt buộc phải chọn liên tục mới tạo được dạng vô phôi lý tưởng để cố định ưu thế lai (Zhai, 1993).

Thể vô phôi lý tưởng nên dùng làm bố để lai với dạng mẹ hữu tính. Ở thế hệ lai F_1 có thể xuất hiện một số cá thể vô phôi, chọn lọc các cá thể này có thể cố định được ưu thế lai.

Murty đề nghị dùng thuật ngữ "Vybrid" để chỉ một giống lúa lai được cố định ưu thế lai hay lúa lai "một dòng".

Phương pháp tạo các "Vybrid" như sau:

- Khi đã chọn tạo được thể vô phôi tự nhiên (Facultative apomictic), chọn các giống lúa thường có nhiều đặc điểm tốt lai với các thể vô phôi này. Nếu có nhiều thể vô phôi có những đặc điểm khác nhau thì có thể lai chúng với nhau để tổng hợp các tính trạng tốt và đặc điểm sinh sản vô phôi vào một cơ thể mới.

- Gieo F_1 của các tổ hợp lai với mật độ thưa, chọn những tổ hợp có tần số vô phôi cao và có ưu thế lai mạnh.

- Gieo F_2 để đánh giá mức độ phân ly, chọn cá thể vô phôi (kiểu hình giống F_1) có ưu thế lai mạnh.

- Các cá thể chọn được từ F_2 gieo thành từng dòng ở F_3 . Chọn dòng có ưu thế lai cao và đồng nhất về kiểu hình với cá thể được chọn khởi đầu. Đó là các "Vybrid" mong muốn.

Một "Vybrid" tốt cần phải có tần số vô phôi cao, có ưu thế lai cao và không phân ly di truyền.

"Sinh sản vô phôi là một hệ thống chọn giống lý tưởng bởi vì hệ vô phôi bao gồm cả dị hợp thể lẫn dòng

thuần... Thành công của việc sử dụng lúa vô phối để cố định ưu thế lai sẽ là một đóng góp lớn lao đối với việc đảm bảo an toàn lương thực không chỉ ở các quốc gia trồng lúa mà trên phạm vi toàn thế giới". Nhận định trên đây của nhà khoa học người Úc Richrd (1986) đã khẳng định triển vọng của một hướng nghiên cứu mới dù mạo hiểm nhưng đầy hấp dẫn và hứa hẹn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Thế Dân, Quách Ngọc Ân: Tổng kết hai năm gieo cấy lúa lai (1992-1993) và phương hướng sản xuất lúa lai năm 1994. Tạp chí Nông nghiệp và CNTP. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội 1993: (12): 443-447.
2. Nguyễn Công Tạn: Từng bước áp dụng rộng rãi thành tựu khoa học kỹ thuật về sử dụng ưu thế lai trong sản xuất lúa tại Việt Nam. Tạp chí Nông nghiệp và CNTP. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội 1993. (11):203-231.
3. Center for the application of molecular biology to International Agriculture - Canberra Australia:
 - Proceedings of the International Workshop on Apomixis in rice - Jan. 13-15, 1992. 217 pp.
4. China National Hybrid rice Research and Development center - Proceedings of the International Symposium on tow line System Heterosis breeding in crops - Changsha China 1997. 268 pp.
5. Hunan Hybrid rice research center: - International Hybrid rice training course. Changsha China 1993. 163 pp.
6. Hunan Hybrid rice research Center: - Hybrid rice. J.No-1, 2, 3, 4, 5, 6 từ 1993 đến 1999.
7. International rice research Institute: - Rice genetic. Proceedings of the international rice genetic symposium 27-31 may 1985. p 617-675.

8. International rice research Institute: - Hybrid rice - Proceedings of the international symposium on Hybrid rice 6-10 October 1986. 305 pp.
9. Virmani S.S. Heterosis and Hybrid rice Breeding - IRRI 1994, 189 pp.
10. Xiqifu: - Cyto - histological studies of cytoplasmic male sterile and maintainer line in rice.
Luận án thạc sĩ khoa học tại Viện lúa quốc tế (IRRI) 1987, 187 trang.
11. Yuan Long Ping: - Acousice course in Hybrid rice. Beijing 1985, 168 pp.
12. Yuan Long Ping: - Current status of two lines Hybrid rice research. Beijing 1992, 377 pp.
13. Yuan L.P and Xi QF: Technology of hybrid rice production - Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1995, 84 pp.

MỤC LỤC

	<i>Trang</i>
LỜI GIỚI THIỆU	3
LỜI TÁC GIẢ	7
1. ƯU THẾ LAI Ở LÚA	9
1.1. Quá trình nghiên cứu phát triển ưu thế lai ở lúa	9
1.2. Đánh giá sự biểu hiện ưu thế lai ở lúa	14
1.3. Sự biểu hiện ưu thế lai ở lúa	15
1.3.1. Sự biểu hiện UTL trên các cơ quan sinh dưỡng (UTL sinh dưỡng)	16
1.3.2. Ưu thế lai trên các cơ quan sinh sản (UTL sinh sản)	19
1.4. Tiến bộ của chọn giống lúa lai	20
1.5. Chiến lược khai thác UTL ở lúa	21
2. PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG LÚA LAI "BA DÒNG"	22
2.1. Khái niệm về "ba dòng"	22
2.1.1. Đặc điểm các dòng vật liệu	23
2.1.2. Quan hệ di truyền giữa các dòng vật liệu	27
2.2. Bất dục đực di truyền tế bào chất (Cytoplasmic Male Sterility: CMS)	28
2.2.1. Đặc điểm di truyền tế bào chất và cơ chế gây bất dục ở lúa	28
2.2.2. Phân loại bất dục đực tế bào chất ở lúa	34

2.2.3. Cách nhận biết cây lúa bất dục	39
2.2.4. Một số dòng CMS được phát hiện, cải tiến và sử dụng	41
2.2.5. Các phương pháp tạo dòng CMS mới	43
2.3. Duy trì bất dục	48
2.3.1. Khái niệm	48
2.3.2. Phương pháp chọn tạo dòng duy trì	49
2.4. Phục hồi hữu dục	49
2.4.1. Khái niệm và nguồn gốc gen phục hồi	49
2.4.2. Các nhóm lúa mang gen phục hồi và sự di truyền của chúng	51
2.4.3. Các phương pháp chọn tạo dòng phục hồi	54
2.5. Đánh giá khả năng tổ hợp của A và R	56
2.6. Trình tự chọn giống lúa lai "ba dòng"	57
2.6.1. Trình tự	57
2.6.2. Bố trí các vườn chọn giống	57
2.7. Chọn lọc bố mẹ nâng cao giá trị ưu thế lai	60
2.7.1. Nâng cao tính khác biệt di truyền giữa các bố mẹ	60
2.7.2. Chọn bố mẹ có các tính trạng bổ sung	61
2.7.3. Chọn các tính trạng có khả năng tổ hợp và khả năng di truyền cao	61
2.7.4. Nâng cao năng suất của các tổ hợp lai	62
2.8. Cải tiến chất lượng hạt lúa lai	64
2.8.1. Khái niệm về chất lượng hạt lai	64
2.8.2. Cải tiến chất lượng hạt lai	65

2.9. Vai trò của gen tương hợp rộng (Wide-Compatibility Gene: WC _G) trong chọn giống lúa lai	69
2.10. Ưu điểm và hạn chế của phương pháp "ba dòng"	70
2.10.1. Ưu điểm của phương pháp	70
2.10.2. Những hạn chế của phương pháp "ba dòng"	71
2.11. Thiết lập qui trình công nghệ sản xuất hạt lai	72
2.11.1. Xác định vụ sản xuất và tổ hợp sản xuất	73
2.11.2. Xác định thời vụ gieo dòng bố mẹ để chúng trở bông nở hoa trùng khớp	73
2.11.3. Kỹ thuật làm mạ	77
2.11.4. Kỹ thuật cấy	79
2.11.5. Dự đoán và điều chỉnh lúa trở bông trùng khớp	81
2.11.6. Phun GA3	82
2.11.7. Thụ phấn bổ sung	83
2.11.8. Khử lẫn	83
2.11.9. Thu hoạch	83
3. PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG LÚA LAI "HAI DÒNG" ..	84
3.1. Phương pháp dùng hóa chất gây bất dục	84
3.2. Phương pháp dùng hoá chất gây bất dục đực dòng mẹ	84

3.2.1. Nguyên lý của phương pháp	84
3.2.2. Hoá chất gây bất dục	85
3.2.3. Cơ chế khử dục bằng hoá chất	86
3.2.4. Kỹ thuật khử dục bằng hoá chất	86
3.2.5. Ưu nhược điểm của phương pháp	88
3.3. Phương pháp chọn giống lúa lai "hai dòng"	
sử dụng bất dục dục di truyền	
trong nhân tế bào	89
3.3.1. Các loại bất dục dục ở lúa	89
3.3.2. Sử dụng bất dục dục di truyền nhân	
cảm ứng với điều kiện môi trường	
để phát triển lúa lai "hai dòng"	90
3.3.2.1. Khái niệm và phân loại EGMS	90
3.3.2.2. Đặc điểm của các dòng bất dục	
EGMS trong hệ thống lai "hai dòng"	90
3.3.2.3. Các phương pháp chọn	
tạo dòng EGMS	100
3.3.2.4. Tiêu chuẩn của dòng EGMS tốt	104
3.3.3. Tìm dòng phục hồi và đánh giá	
ưu thế lai hệ "hai dòng"	104
3.3.4. Nhân dòng EGMS và sản xuất	
hạt lai F_1 "hai dòng"	107
3.3.5. Tiến bộ và hạn chế của	
phương pháp "hai dòng"	109
4. PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG LÚA LAI "MỘT DÒNG"	110
4.1. Khái niệm	110

4.2. Một số phương pháp có thể	
cố định ưu thế lai ở lúa	111
4.2.1. Cố định ưu thế lai bằng	
nhân giống vô tính	111
4.2.2. Nuôi cấy mô tế bào Soma cây F_1	114
4.2.3. Lúa vô phôi - Công cụ di truyền	
để phát triển lúa lai thuần	114
TÀI LIỆU THAM KHẢO	125

Mọi ý kiến đóng góp xin gửi về:

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

D14 - Phương Mai, Đống Đa, Hà Nội

ĐT: 8.523887, 8.525070, 8.521940

CHI NHÁNH NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

58 Nguyễn Bình Khiêm - Tp. Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm xuất bản:

LÊ VĂN THỊNH

Phụ trách bản thảo:

ĐỖ TƯ

Bìa:

QUANG HUY

In 2.030 cuốn, khổ 13x19cm, tại Nhà máy In Nông nghiệp và PTNT.
Giấy chấp nhận đăng ký kế hoạch số 216/304 Cục xuất bản cấp
ngày 31/3/2000. In xong và nộp lưu chiểu **Quý I/2001**



Sách được phát hành tại :

CÔNG TY PHÁT HÀNH SÁCH TP ĐÀ NẴNG

31 - 33 YÊN BÁI - ĐÀ NẴNG

ĐT: 0511 821 246 FAX: 0511 827 145 - Email: ghdn@citynet.vn