

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc



BÁO CÁO TỔNG KẾT

Giai đoạn: 2001-2004

ĐỀ TÀI NHÁNH:

**"TẠO DÒNG THUẦN BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CẤY BAO PHẤN VÀ
PHỐI HỢP CHỈ THỊ PHÂN TỬ TRONG CHỌN TẠO GIỐNG NGÔ
CHỊU BỆNH KHÔ VẦN, NĂNG SUẤT CAO".**

Mã số: KC.04.08

Chủ nhiệm đề tài:

Cơ quan chủ trì:

PGS. TSKH. LÊ THỊ MUỘI

**VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC,
VIỆN KH & CN QUỐC GIA**

Chủ nhiệm đề tài nhánh: **TS. BÙI MẠNH CƯỜNG**

Cơ quan phối hợp:

**VIỆN NGHIÊN CỨU NGÔ,
BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNN**

Hà Tây - 8/2004

5415 - 2

13/7/05

ĐỀ TÀI KC.04.08

TÊN ĐỀ TÀI NHÁNH

"Tạo dòng thuần bằng kỹ thuật nuôi cấy bao phấn và phối hợp chỉ thị phân tử trong chọn tạo giống ngô chịu bệnh khô vằn, năng suất cao".

CƠ QUAN THAM GIA

VIỆN NGHIÊN CỨU NGÔ, BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT

Địa chỉ: Thị trấn Phùng, huyện Đan Phượng, tỉnh Hà Tây

Điện thoại: 034.886356/886927 Fax: 034.886309

NHỮNG NGƯỜI THỰC HIỆN

- 1. TS. Bùi Mạnh Cường - Chủ nhiệm đề tài nhánh*
- 2. GS. TS. Ngô Hữu Tình*
- 3. KS. Ngô Thị Minh Tâm*
- 4. KS. Nguy Hương Lan*
- 5. KS. Đinh Công Chính*
- 6. KS. Đoàn Thị Bích Thảo*
- 7. KS. Nguyễn Văn Trường*

KINH PHÍ

Nguồn kinh phí Đề tài KC.04

THỜI GIAN THỰC HIỆN

Từ năm 2001 đến năm 2004

MỤC LỤC NỘI DUNG BÁO CÁO

<u>I. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU</u>	4
<u>II. MỤC ĐÍCH NGHIÊN CỨU</u>	4
<u>III. KẾT QUẢ ĐẠT ĐƯỢC</u>	5
<u>1. Tạo dòng thuần bằng kỹ thuật nuôi cấy bao phấn</u>	5
<u>a) Xây dựng tập đoàn vật liệu</u>	5
<u>b) Tạo cây đơn bội kép</u>	9
<u>2. Sử dụng chỉ thị phân tử trong phân tích đa dạng di truyền và chọn dòng chịu bệnh khô vằn</u>	10
<u>a) Sử dụng chỉ thị phân tử trong phân tích đa dạng di truyền</u>	10
<u>b) Sử dụng chỉ thị phân tử trong chọn dòng chịu bệnh khô vằn</u>	11
<u>3. Kết quả chọn lọc và khảo nghiệm các tổ hợp lai triển vọng</u>	14
<u>a) Xác định tổ hợp lai có triển vọng</u>	14
<u>b) Kết quả khảo nghiệm và thử nghiệm một số tổ hợp lai</u>	15
<u>IV. TÌNH HÌNH SỬ DỤNG KINH PHÍ</u>	18
<u>V. KẾT LUẬN</u>	18

I. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

1. Xác định tập đoàn nguyên liệu phục vụ nuôi cấy bao phấn. Nghiên cứu các yếu tố sinh học và môi trường ảnh hưởng tới phản ứng tạo cấu trúc phôi và tái sinh cây đơn bội kép. Tạo cây đơn bội kép.
2. Đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển, các đặc tính nông học và khả năng kết hợp về năng suất của các dòng đơn bội kép. Ứng dụng trong chọn tạo giống ngô lai.
3. Sử dụng chỉ thị phân tử (RAPD, SSR) trong phân tích đa dạng di truyền tập đoàn dòng thuần và phát hiện các dòng có khả năng chịu bệnh khô vằn, đánh giá các tổ hợp lai có khả năng chịu bệnh khô vằn trong sản xuất.

II. MỤC ĐÍCH NGHIÊN CỨU

1. Thành lập tập đoàn vật liệu phục vụ nuôi cấy bao phấn trên cơ sở truyền tính cảm ứng từ 3 dòng có khả năng tạo cấu trúc phôi và tái sinh cây *in vitro* sang 200 nguồn vật liệu ưu tú có giá trị trong tạo giống ngô lai thương mại. Nâng cao tỷ lệ tái sinh cây *in vitro* từ 2.1% lên 10%. Tạo dòng đơn bội kép. Xác định được từ 2-3 tổ hợp có năng suất cao khảo nghiệm trong sản xuất.
2. Đánh giá tính đa hình thông qua sử dụng 2 bộ môi RAPD và SSR trên 100-150 nguồn dòng, dự đoán được 7-10 cặp lai có ưu thế lai về năng suất.
3. Sử dụng chỉ thị RAPD và SSR phát hiện các dòng có khả năng kháng bệnh khô vằn. Dự kiến xác định được 5 dòng kháng bệnh khô vằn. Tiến hành lai và đánh giá các tổ hợp về tính kháng bệnh khô vằn, năng suất từ 6-8 tấn, màu sắc hạt đẹp.

III. KẾT QUẢ ĐẠT ĐƯỢC

1. Tạo dòng thuần bằng kỹ thuật nuôi cấy bao phấn

a) Xây dựng tập đoàn vật liệu

Truyền tính cảm ứng sang 250 nguồn. Đến vụ Xuân năm 2003 xác định được 19 nguồn vật liệu có tỷ lệ tạo cấu trúc phôi trung bình là 9,5%, tái sinh cây là 10,4% ổn định qua các vụ (bảng 1). Trong số 19 nguồn vật liệu đó có 7 nguồn vật liệu có tỷ lệ tạo cấu trúc phôi dưới 10%, 2 nguồn vật liệu có tỷ lệ tạo cấu trúc phôi trên 20%.

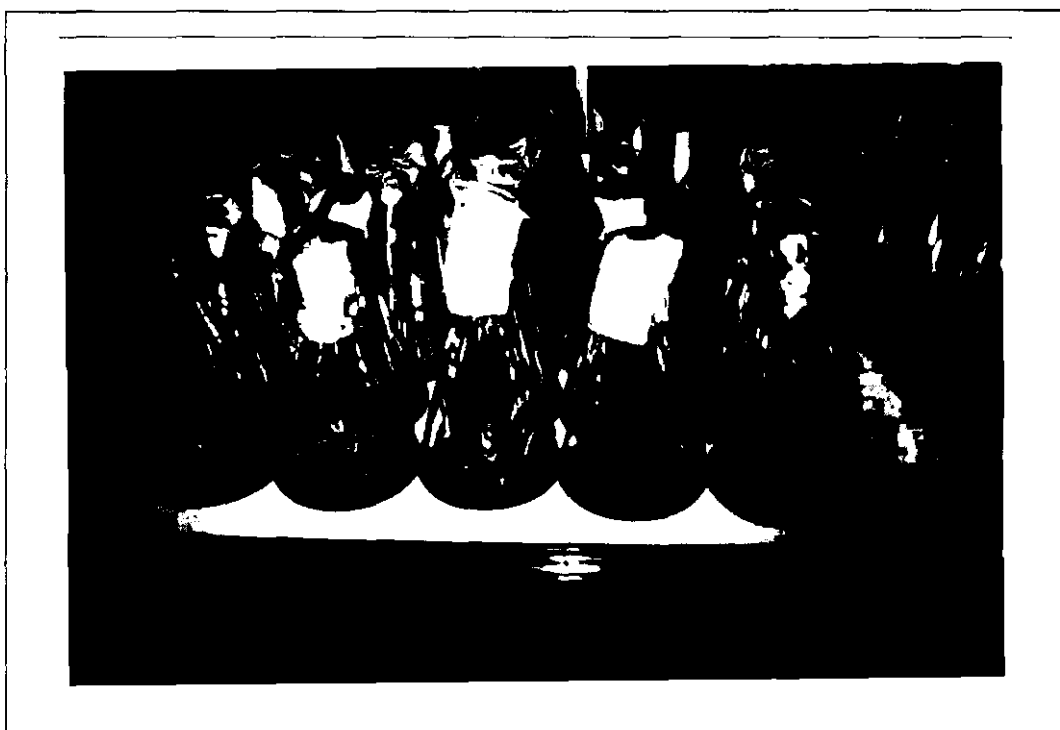
Bảng 1. Kết quả cải tạo nâng cao tỷ lệ phản ứng tạo cấu trúc phôi và tái sinh cây của một số nguồn vật liệu

TT	Nguyên liệu	Tỷ lệ tạo phôi (%)		Tỷ lệ tái sinh cây (%)	
		Vụ Xuân	Vụ Thu	Vụ Xuân	Vụ Thu
1	C2 x C172	2,1	3,4	4,2	6,6
2	C135 x C172	8,4	11,3	6,7	8,4
3	AC7931 x 172	3,1	5,6	6,1	7,2
4	C154 x C172	2,1	8,4	3,7	4,2
5	C164 x C172	24,6	30,6	14,6	13,7
6	C2 x C172	4,2	10,4	6,6	8,4
7	LVN32	6,4	7,3	2,1	3,4
8	C77 x C172	12,2	14,6	12,5	11,4
9	T3 x C 172	14,9	22,0	15,2	16,1
10	T5 x C172	4,1	6,3	9,0	8,3
11	C25 x C172	3,4	2,5	10,6	10,0
12	C103 x C172	6,1	8,4	8,2	10,4
13	C104 x C172	2,4	3,15	2,15	4,0
14	C193 x C172	16,8	16,4	22,2	19,0
15	T6 x C164	13,8	14,0	15,0	13,7
16	T2 x C164	4,8	6,3	4,05	4,5
17	HBC (Đ/C)	28,9	32,0	28,4	22,6
18	C155 x C172	12,5	14,0	25,4	28,8
19	C129 x C172	11,3	10,0	2,6	3,1
Trung bình		9,5	11,9	10,4	10,7

Vụ Thu 2003 nuôi cấy 64 nguồn vật liệu đã xác định được 25 nguồn có khả năng tạo phôi và tái sinh cây (bảng 2).



Ảnh 1: Tạo phôi từ nuôi cấy bao phấn



Ảnh 2: Tái sinh cây đơn bội kép

Bảng 2: Tỷ lệ tạo cấu trúc phôi và tái sinh cây của một số nguồn vật liệu được truyền tính cảm ứng (vụ Thu 2003)

STT	Tên nguồn	Tỷ lệ tạo phôi (%)	Tỷ lệ tái sinh cây (%)
1	C104 x C81	2,30	-
2	C174 x C81	5,30	-
3	T3 x C82	10,30	9,68
4	C96 x C82	3,30	10,00
5	C180 x C82	4,67	7,14
6	C183 x C82	7,67	4,35
7	B14-BC	5,00	20,00
8	C69 x C280	4,00	16,67
9	C86 x C280	7,30	18,18
10	C117 x C280	6,30	36,84
11	C118 x C280	5,67	29,41
12	C71 x C286	5,67	-
13	C85 x C286	3,30	10,00
14	C87 x C286	5,67	29,41
15	C105 x C286	6,67	10,00
16	C117 x C286	8,00	37,50
17	C68 x C287	2,67	25,00
18	C70 x C287	10,67	6,25
19	C72 x C287	2,30	-
20	C114 x C287	10,0	16,67
21	C88 x C296	3,30	10,00
22	C111 x C296	3,67	-
23	C117 x C296	7,00	4,76
24	C71 x C301	6,00	-
25	C159 x C301	10,30	16,13
Trung bình		5,85	12,69

Đã thành lập được tập đoàn vật liệu phục vụ nuôi cấy bao phấn bao gồm 43 nguồn với tỷ lệ tạo phôi trung bình là 9.08%, tái sinh cây 11.26%.

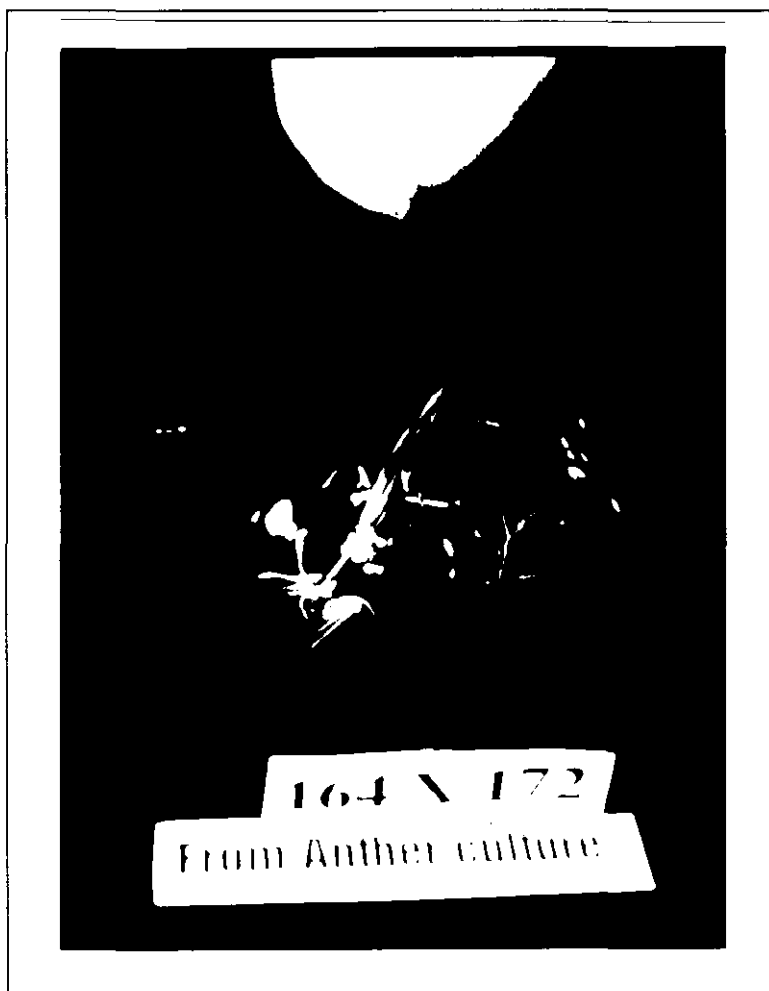
Vụ Xuân 2004 nuôi cấy 51 nguồn vật liệu, xác định được 18 nguồn tạo phôi (35,29%) với tỷ lệ phản ứng tạo phôi trung bình là 9,67% và 13 nguồn tái sinh (25,49%) với tỷ lệ tái sinh cây trung bình là 14,53% (bảng 3).

Bảng 3. Kết quả thí nghiệm nuôi cấy bao phấn (Vụ Xuân 2004)

ST T	Tên nguồn	Tỷ lệ tạo phôi (%)	Tỷ lệ tái sinh cây (%)
1	HBC (Đối chứng)	33.3	12.6
2	AC24xDòngK4	3.3	16.0
3	AC29x7	3.3	0.0
4	AC30x52	3.8	0.0
5	AC35x38	18.3	37.5
6	AC35x57	6.6	4.0
7	BioseedxAC24	1.6	0.0
8	G49xHBC	3.0	0.0
9	G49xAC24	3.3	50.0
10	SC7114xAC24	8.0	0.0
11	SC18161xHBC	13.3	10.0
12	SC18161xAC24	8.0	33.3
13	SC1614xAC24	10.0	19.0
14	SC7114xHBC	25.0	28.5
15	SX2007xAC24	8.3	0.0
16	SX2010xHBC	6.0	6.6
17	SX2010xAC24	11.2	33.3
18	F145	6.0	8.6
19	F174 (C107xC286)	11.4	16.6
Trung bình		9.67	14.53

So với kết quả nuôi cấy bao phấn của năm 2002 và năm 2003 cho thấy: Tỷ lệ tạo phôi trung bình của các nguồn vật liệu trong vụ Xuân 2004 ổn định ở mức tương đối cao (9,67%), đặc biệt là tỷ lệ tái sinh cây trong nuôi cấy bao phấn đã được nâng lên một cách đáng kể: từ 10,7-11,9% (2002) đến 12,69% (2003) và vụ Xuân 2004 là 14,53%.

Đồng thời với việc nâng cao được tỷ lệ phản ứng tạo cấu trúc phôi của các nguồn vật liệu thì tỷ lệ tái sinh cây cũng được cải thiện. Như vậy, nhược điểm của kỹ thuật nuôi cấy bao phấn là tỷ lệ phản ứng tạo cấu trúc phôi và tái sinh cây thấp đã được khắc phục.



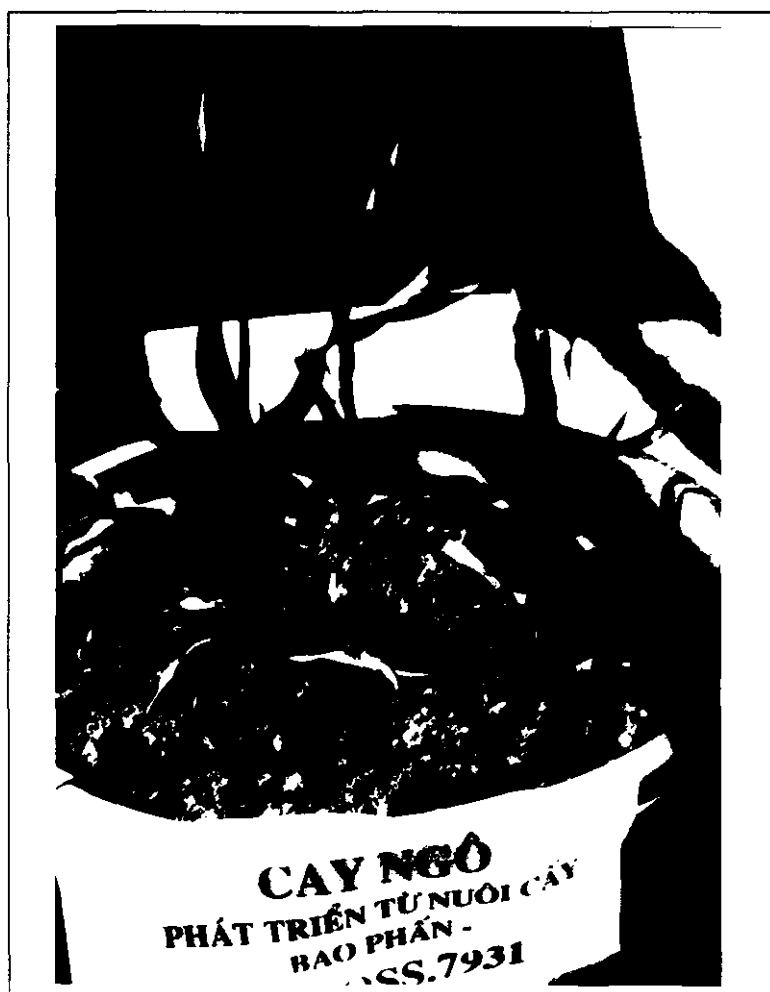
Ảnh 3: Cây tái sinh từ nguồn vật liệu được truyền tính cảm ứng tạo cấu trúc phôi và tái sinh cây (C164xC172)

b) Tạo cây đơn bội kép

Tính đến hết vụ Thu 2003, đã tạo mới được 105 dòng đơn bội kép, bao gồm 80 dòng ở thế hệ S_2 , 19 dòng ở thế hệ S_3 và 6 dòng ở thế hệ S_1 đang được đánh giá trên đồng ruộng.

Trong vụ Xuân 2004 tạo được thêm 9 dòng mới nâng tổng số dòng tạo được lên 114 dòng.

Đánh giá khả năng kết hợp của 5 dòng S_6 (kết quả 1997-2000) đã xác định được 2 tổ hợp có khả năng cho năng suất cao, chống chịu tốt, có nhiều triển vọng ứng dụng trong sản xuất đó là F145 và F154.

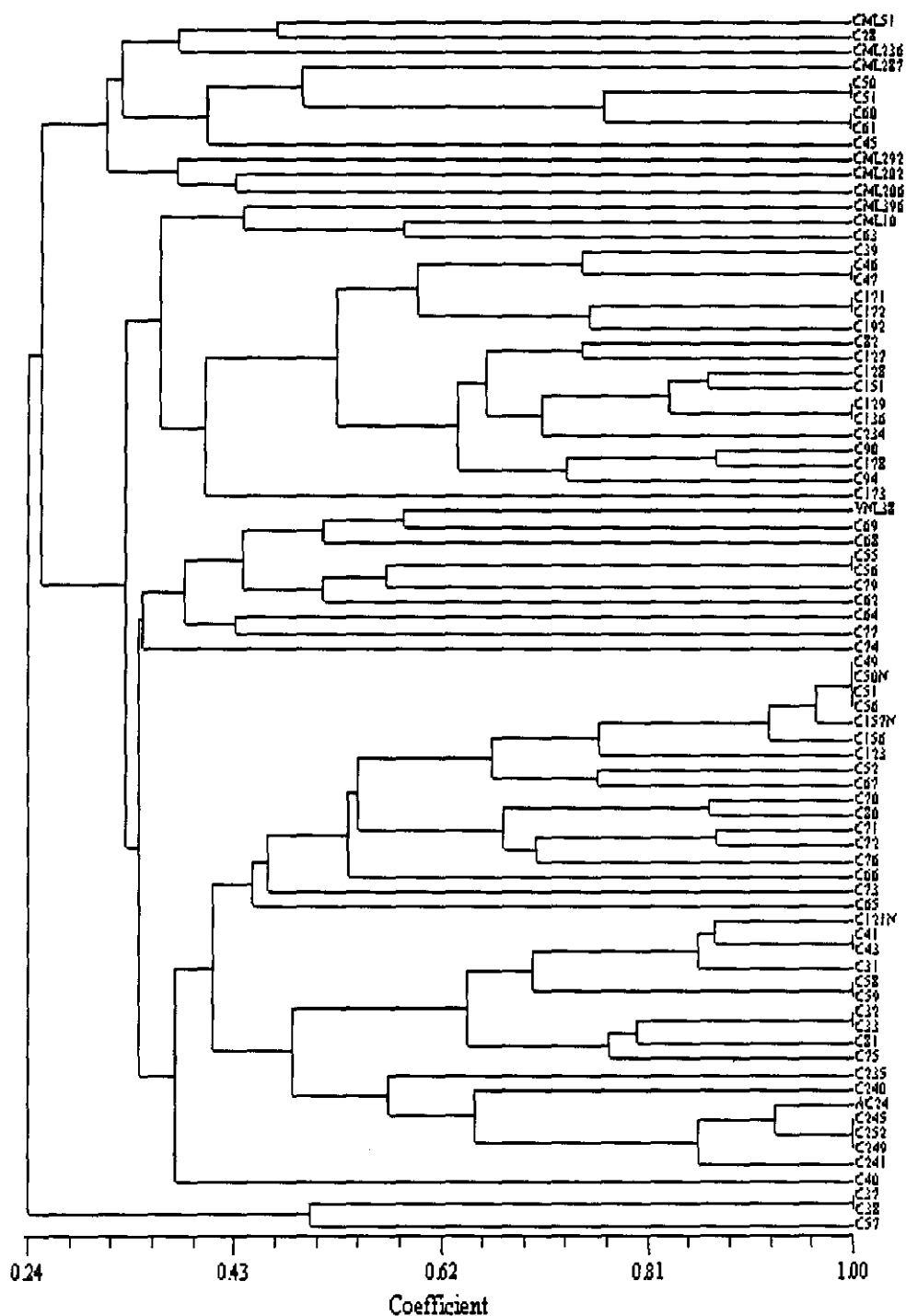


Ảnh 4: Cây ngô đơn bội kép được ra ngôi trên nền đất

2. Sử dụng chỉ thị phân tử trong phân tích đa dạng di truyền và chọn dòng chịu bệnh khô vằn

a) Sử dụng chỉ thị phân tử trong phân tích đa dạng di truyền

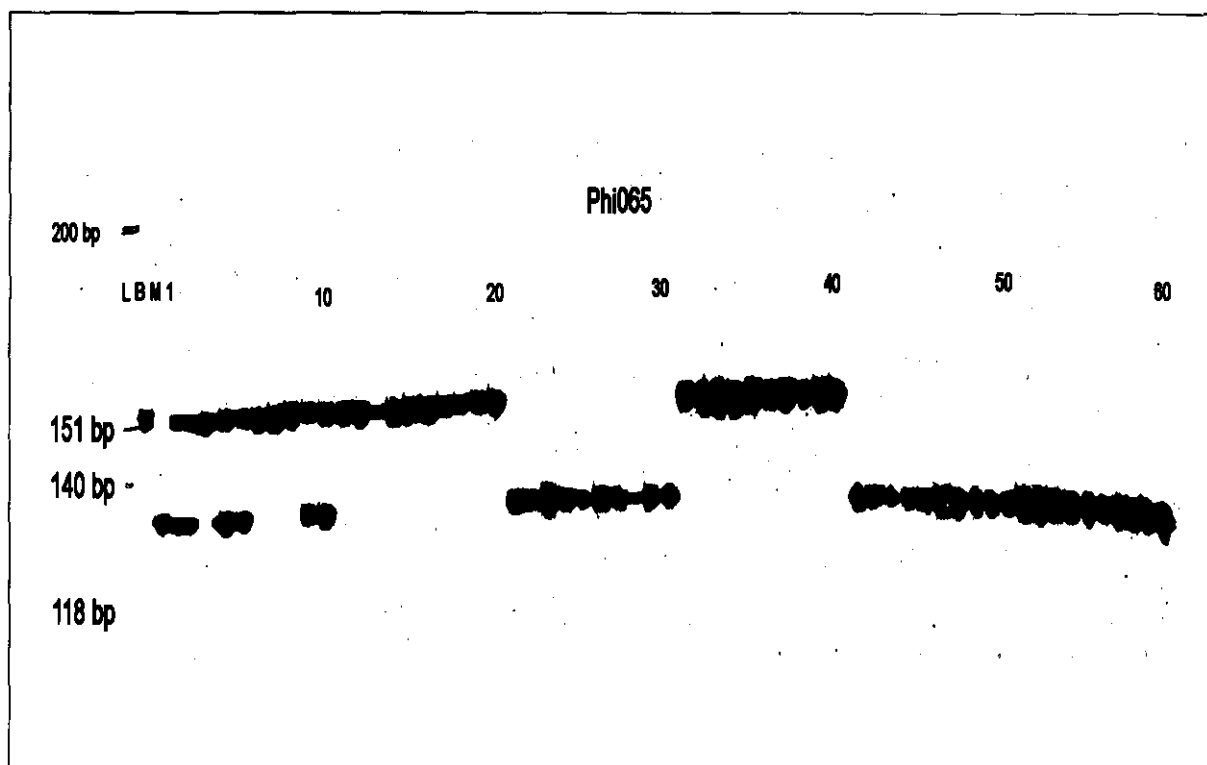
- Năm 2002 phân tích đa dạng di truyền bằng chỉ thị RAPD và tiến hành lai thử tập đoàn 29 dòng (Báo cáo Hội nghị CNSH toàn quốc năm 2003, trang 745-749). Rút ra được 2 tổ hợp lai tốt là CN4 và CN5.
- Vụ Xuân 2003 phân tích đa dạng di truyền tập đoàn 80 dòng thuần bằng chỉ thị SSR (Sơ đồ 1). Tiến hành lai thử nghiệm (vụ Thu 2003), đánh giá trên đồng ruộng (vụ Xuân 2004).



Sơ đồ 1: Sơ đồ phả hệ của 80 dòng thuần bằng chỉ thị SSR

b) Sử dụng chỉ thị phân tử trong chọn dòng chịu bệnh khô vằn

- Xác định 2 chỉ thị phân tử SSR (phi 123, phi065) liên quan tới tính chịu bệnh khô vằn (ảnh 5).



Ảnh 5: Ảnh điện di của thế hệ S4 với chỉ thị phi065

- Kết hợp với Viện Bảo vệ Thực vật phân lập, giám định được 5 chủng *Rhizoctonia*. Đánh giá trực tiếp các vật liệu trên đồng ruộng và gây nhiễm nhân tạo. Xác định được 2 nguồn dòng kháng được bệnh khô vằn trong tổng số 11 nguồn dòng ở thế hệ S4.
- Thông qua phương pháp chọn lọc truyền thống và gây nhiễm nhân tạo trên đồng ruộng ở ngô đã xác định được 02 nguồn dòng là C177 và C305 (ảnh 6 và 7) và 01 tổ hợp lai (CN2) chịu được bệnh khô vằn.
- Kết quả nghiên cứu chỉ thị phân tử mới chỉ dừng lại ở mức độ tham khảo và còn nhiều hạn chế. Vì thế cần phải tiếp tục nghiên cứu và thử nghiệm trong những năm tới.



Ảnh 6: Nguồn dòng C177 kháng khô vằn



Ảnh 7: Nguồn dòng C305 kháng khô vằn



Ảnh 8: Nguồn đối chứng nhiễm bệnh khô vằn

3. Kết quả chọn lọc và khảo nghiệm các tổ hợp lai triển vọng

a) Xác định tổ hợp lai có triển vọng

Trên cơ sở tập đoàn dòng đơn bội kép và kết quả phân tích đa dạng di truyền, đã tiến hành lai tạo 300 tổ hợp lai, đánh giá trên đồng ruộng qua các vụ Xuân, Thu 2002 và vụ Xuân, Thu 2003. Kết quả đã xác định được một số tổ hợp lai triển vọng (bảng 4).

Bảng 4. Đặc điểm của một số tổ hợp lai triển vọng

TT	Tên tổ hợp	Thời gian sinh trưởng (ngày)		Khả năng chống chịu			Năng suất (tạ/ha)
		Xuân	Thu Đông	Đổ	Hạn	Khô vằn	
1	363	115	108		Khá	Khá	108,0
2	331(F154)	110	105		Khá	Khá	101,9
3	277	110	105	Khá	Khá	Khá	103,3
4	74	110	105	Khá	Khá	Khá	99,5
5	52	108	100	Khá	Khá	Khá	98,1
6	13	108	100	Khá	Khá	Khá	97,3
7	F145	105	95	Khá	Khá	Tốt	95,4
8	CN4	110	105	Kém	Khá	TB	96,1
9	CN5	110	105	Khá	TB	Khá	94,7
10	LVN99 (ĐC1)	105	100	Tốt	Khá	Tốt	93,7
11	LVN4 (ĐC 2)	115	110	Khá	Khá	Khá	90,1
12	G49 (ĐC 3)	115	105	Tốt	Tốt	Tốt	80,2
13	DK 999 (ĐC4)	110	105	Khá	TB	Khá	73,4

b) Kết quả khảo nghiệm và thử nghiệm một số tổ hợp lai

Từ vụ Xuân 2003 tiến hành khảo nghiệm một số tổ hợp lai có triển vọng ở các vùng sinh thái (kết quả từ nuôi cấy bao phấn và phân tích đa dạng di truyền).

Bảng 5: Kết quả khảo nghiệm một số giống trong sản xuất (Thu Đông 2003)

TT	Giống	TGST (ngày)	Năng suất (tạ/ha)				Trung bình
			Tam Dương	Mê Linh	Đan Phượng	Kim Bảng	
1	CN4	105	61,4	57,7	96,1	-	71,7
2	CN5	105	65,6	62,4	94,7	67,0	72,4
3	F145	97	71,8	-	95,4	69,8	79,0
4	CN2	95	72,4	64,0	79,5	69,0	71,2
5	LVN4 (ĐC)	110	64,9	61,8	90,1	-	72,3

Từ các kết quả thí nghiệm cho thấy: Giống ngô CN2 là giống ngắn ngày, chịu được bệnh khô vằn, năng suất cao được đưa vào thử nghiệm trong vụ Thu Đông 2003; Các giống ngô CN4 và F145 là những giống có năng suất cao, ổn định, có khả năng chống chịu tốt, được thử nghiệm trong mạng lưới khảo nghiệm Quốc gia trong vụ Xuân 2004.

Kết quả ở bảng 5 và bảng 6 cho thấy các giống F145, CN4, CN2 đều cho năng suất tương đương hoặc cao hơn đối chứng. Giống CN4 có năng suất tương đương với đối chứng, có khả năng thích ứng với nhiều vùng sinh thái, nhưng khả năng chịu bệnh khô vằn yếu và nhất là chống đổ kém, do đó không nên đưa vào sản xuất. Giống CN2 chín sớm, chịu bệnh khô vằn, năng suất từ 60-80 tạ/ha, tuy nhiên, giống này còn 2 yếu điểm cần khắc phục là hình thái bắp và màu sắc hạt nên cần phải tiếp tục nghiên cứu cải tiến. Giống F145 là giống có năng suất cao, ổn định, có khả năng chống chịu tốt, nhất là chịu được hạn và bệnh khô vằn, thích hợp với nhiều vùng sinh thái, đây là giống có nhiều triển vọng (ảnh 9). Chính vì thế, trong thời gian tới cần đẩy mạnh việc đưa giống F145 vào thử nghiệm rộng hơn nữa trong sản xuất, tiến tới khu vực hoá giống vào năm 2005.



Ảnh 9: Bắp của giống F145 trong vụ Thu Đông 2003 tại Đan Phượng, Hà Tây

Bảng 6: Kết quả thử nghiệm 2 giống CN4 và F145 ở các vùng sinh thái (vụ Xuân 2004)

T.T	Giống	Năng suất tại các điểm khảo nghiệm (tạ/ha)												Trung bình	
		<i>H. Tây</i>	<i>H. Bình</i>	<i>H. Nội</i>	<i>H. Dương</i>	<i>V. Phúc</i>	<i>T. Nguyễn</i>	<i>T. Quang</i>	<i>T. Hoá</i>	<i>N. An</i>	<i>Q. Ngãi</i>	<i>Đ. Nai</i>	<i>T. Ninh</i>	<i>Cả nước</i>	<i>Phía Bắc</i>
1	CN4	77.96	75.3	63.03	69.21	71.19	69.45	73.23	62.92	81.57	67.36	-	90.40	72.87	71.54
2	CN5	77.33	76.97	-	-	53.9	58.95	69.35	-	-	-	64.38	91.20	70.30	67.30
3	F145	79.34	84.06	-	-	79	79.67	-	-	-	-	65.47	-	77.51	80.52
4	LVN4 (ĐC1)	78.58	88.64	66.57	72.79	69.33	76.44	78.44	59.21	74.2	-	-	-	73.80	73.80
5	LVN99(ĐC2)	87.24	77.44	71.71	73.12	62.86	-	-	63.79	68.1	-	-	100.13	75.55	72.04
6	G49 (ĐC3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84.20	84.20	-
7	C919 (ĐC4)	-	89.26	61.12	71.81	68.81	-	-	-	79.9	-	-	-	74.18	74.18
8	P11 (ĐC5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	60.18	-	-	60.18	-
9	NK46 (ĐC6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	59.78	-	59.78	-

IV. TÌNH HÌNH SỬ DỤNG KINH PHÍ

(ĐV tính: triệu đồng)

TT	Thời gian sử dụng	Tổng số tiền đã sử dụng	Trong đó				
			Thuê khoán chuyên môn	Nguyên vật liệu, năng lượng	Thiết bị, máy móc	Xây dựng nhỏ, sửa chữa	Khác
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
	Tổng kinh phí (a và b)	160	44	85	20	-	11
	Trong đó:						
	a) Ngân sách SNKH						
	- Tính đến kỳ báo cáo	160	44	85	20	-	11
	- Trong kỳ báo cáo	20	20	-	-	-	-
	Cộng	180	64	85	20	-	11
	b) Các nguồn vốn khác	-	-	-	-	-	-
	Kinh phí đã được cấp và sử dụng tính đến kỳ báo cáo						
	Tổng kinh phí đã được cấp:			180 triệu đồng			
	Tổng kinh phí đã sử dụng:			180 triệu đồng			
	Số kinh phí đã quyết toán:			160 triệu đồng			

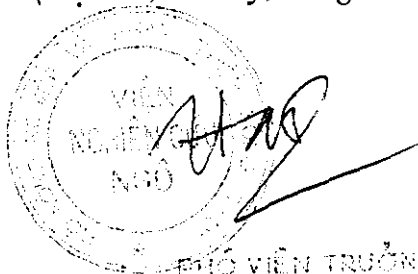
V. KẾT LUẬN

Giai đoạn 2001-2004 đã:

1. Các kết quả nghiên cứu đạt được đã đáp ứng về yêu cầu về nội dung nghiên cứu đã được đề ra trong thuyết minh của đề tài.
2. Đảm bảo thực hiện đúng tiến độ của đề tài đã đề ra.
3. Sử dụng kinh phí đúng mục đích, đảm bảo hoàn tất thủ tục thanh quyết toán.

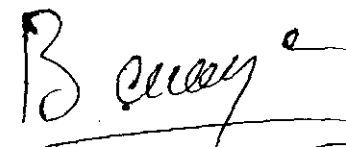
Thủ trưởng cơ quan tham gia Đề tài nhánh

(Họ tên, chữ ký, đóng dấu)


THỦ VIỆN TRƯỞNG
TS. Phan Xuân Phúc

Chủ nhiệm Đề tài nhánh

(Họ tên, chữ ký)


TS. Bùi Mạnh Cường