

TỦ SÁCH KHUYẾN NÔNG PHỤC VỤ NGƯỜI LAO ĐỘNG

Phương pháp chọn GIỐNG CÂY TRỒNG



NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG

TỦ SÁCH KHUYẾN NÔNG PHỤC VỤ NGƯỜI LAO ĐỘNG
CHU THỊ THƠM, PHAN THỊ LÀI, NGUYỄN VĂN TÓ
(Biên soạn)

PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG CÂY TRỒNG

NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG
HÀ NỘI - 2006

LỜI NÓI ĐẦU

Trong quá trình phát triển nông nghiệp, chọn tạo giống cây trồng là một việc rất quan trọng và rất cần thiết. Bắt đầu từ việc thuần hoá cây dại, dần dần con người đã tiến hành lai tạo, chọn lựa các giống cây nhằm tạo ra các giống cây mới cho năng suất cao.

Nhu cầu ngày càng phát triển của đời sống thực tế đòi hỏi cần phải có những loại cây có các tính trạng, đặc tính đáp ứng được các mong ước của con người, cho năng suất cao, có tính chống chịu với điều kiện bất thuận và chất lượng tốt.

Cuốn "Phương pháp chọn giống cây trồng" trình bày các kỹ thuật chọn và tạo giống cây trồng nhằm giúp nhà nông có thêm các hiểu biết cần thiết trong sản xuất nông nghiệp, phát triển các loại cây thích hợp cho năng suất cao.

CÁC TÁC GIẢ

I. LỊCH SỬ CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG

1. Quá trình phát triển

Trong lịch sử phát triển nông nghiệp, quá trình thuần hoá cây dại thành cây trồng diễn ra rất chậm chạp. Nó chỉ phát triển mạnh từ khi châu Âu phát hiện ra sự sinh sản hữu tính của cây trồng. Sau các kết quả nghiên cứu năm 1760 của nhà thực vật học Thụy Điển - Camerarius - và sau này là Kolreuteur, các cơ quan sinh sản của cây trồng mới được mô tả tỉ mỉ và một số cặp lai thuộc lá mới được tiến hành.

Tác phẩm "*Nguồn gốc các loài thông qua chọn lọc tự nhiên*" của Charles Darwin (1865) ra đời đã thúc đẩy mạnh mẽ công tác chọn tạo giống cây trồng. Năm 1865, Gregor Mendel đã có những phát hiện quan trọng khi lai các giống đậu Hà Lan có các cặp tính trạng khác nhau. Tuy nhiên, thời đó phát minh tuyệt vời của ông không được thừa nhận. Do vậy, cơ sở khoa học của công tác chọn tạo giống chưa có.

Đến những năm 1900 với việc phát hiện của T.Schermak, C.Correns và H.De Vries thì những kết quả của Mendel mới được thừa nhận.

Ở thế kỷ 20 công tác chọn tạo giống cây trồng dựa vào các phương pháp lai trong cùng một loài với những phương pháp chọn giống đặc biệt về tần số các

biến dị và sự phân li ở các thế hệ đã thu được kết quả tốt, góp phần thúc đẩy sản xuất nông nghiệp.

Trước năm 1938, lượng đường trong củ cải đường chỉ chiếm 9%, đến nay đã có những giống chứa trên 20%, hướng dương thường chỉ có 30% dầu, trong khi đó các giống hướng dương lai chứa tới 50% và có giống đạt 60% hàm lượng dầu. Năng suất kỷ lục của ngô giữa thế kỷ 19 là 5 tấn/ha; nhưng hiện nay năng suất bình quân ở Mỹ và châu Âu đạt từ 10-15 tấn/ha. Năng suất kỷ lục hiện nay vượt 20 tấn/ha, còn các giống lúa mì mới đạt 6-8 tấn/ha và kỷ lục là trên 10 tấn/ha.

Sự đóng góp của giống mới làm cho sản xuất nông nghiệp phát triển. Kết quả thí nghiệm của I.Shizuka (1969) cho thấy: các giống lúa mới sản lượng đã tăng 50-60% so với các giống cổ truyền.

Sau chiến tranh thế giới thứ hai, các phương pháp mới về chọn tạo giống cây trồng bắt đầu bằng việc sử dụng các phương pháp lai quy ước. Các kỹ thuật mới bao gồm: đa bội thể nhân tạo, đột biến nhân tạo, kỹ nghệ nhiễm sắc thể (thêm đoạn và thay đổi đoạn nhiễm sắc thể), bất dục đực v.v... Hầu hết các phương pháp chọn tạo giống đã được phát triển bước đầu như: dung hợp tế bào trần, kỹ thuật tái tổ hợp AND đã cho phép phát triển các tế bào hoặc những giống mới mà trước đây chưa hề có.

Sau khi phát hiện ra định luật Mendel vào năm 1900, Bateson người đưa "di truyền học" thành một

môn khoa học mới đã thừa nhận: môn khoa học di truyền là cơ sở khoa học cho những phương pháp chọn tạo giống mới cho cây trồng. Chọn tạo giống cây trồng hiện đại ra đời, di truyền học bắt đầu được áp dụng và các môn khoa học cơ sở của nó được áp dụng rộng rãi, được chấp nhận như một công cụ kỹ thuật như: tế bào học, sinh lí học, bệnh cây, côn trùng, thống kê... Đã có nhiều tiến bộ đáng kể ở các lĩnh vực khác nhau đóng góp cho công tác chọn giống cây trồng. Những tiến bộ này bao gồm việc tạo ra các đồng nguyên và dị nguyên đa bội thể của các loài cây trồng trong tự nhiên. Đã xuất hiện các dạng đa bội thể nhân tạo trong tự nhiên được sử dụng trực tiếp hoặc gián tiếp, tiếp đến là cách sử dụng các tác nhân lí, hoá học để gây đột biến.

Nhiều phát minh đã đóng góp vào tiến bộ và thành công của công tác chọn tạo giống, trong đó phải kể đến di truyền số lượng và sự tương tác giữa kiểu gene và môi trường chọn tạo giống chống chịu, sự bảo tồn nguồn gene. Gần đây những tiến bộ về di truyền học cho phép các nhà chọn tạo giống tìm ra những phương pháp mới như chọn lọc nhờ gene đánh dấu, sử dụng những dòng vô tính và thông tin di truyền.

Ở nhiều nước, nhờ giống mới sản lượng lương thực tăng lên gấp 2 lần hoặc 3 lần trong khoảng 30 năm trở lại đây. Sự phát triển giống mới có năng suất cao là biện pháp chính để tăng sản lượng lương thực. Tuy nhiên, các giống mới lại đòi hỏi điều kiện sản xuất

thâm canh ở những loại đất nhất định. Do đó đất cần được cải thiện hoặc sử dụng giống chống chịu thích nghi ở mỗi vùng. Ngoài ra ở vùng đất dốc, đất băng giá... cũng cần có bộ giống thích hợp.

Nhiều giống cây ăn quả, cây thuốc, cây dược thảo và cây thức ăn gia súc...lâu nay được trồng ở vùng đất đai màu mỡ đã được đưa lên miền núi như củ cải đường và ngô.

2. Định nghĩa giống cây trồng.

Giống là một nhóm cây trồng, có đặc điểm kinh tế, sinh học và các tính trạng hình thái giống nhau, cho năng suất cao, chất lượng tốt ở các vùng sinh thái khác nhau và điều kiện kỹ thuật phù hợp.

- Giống do một nhóm thực vật hợp thành nên có một nguồn gốc chung từ một cá thể hay một số cá thể có đặc tính, tính trạng giống nhau.

- Giống mang tính khu vực hoá: tất cả mọi tính trạng và đặc tính của giống chỉ biểu hiện ra trong những điều kiện ngoại cảnh nhất định (đất đai, khí hậu, thời tiết... và các biện pháp kỹ thuật). Từ đó xuất hiện các khái niệm về giống chống chịu: hạn, mặn, úng, điều kiện khắc nghiệt...

- Giống mang tính di truyền đồng nhất (ổn định, ít phân li...) có tính đồng nhất về tính trạng, hình thái và một số đặc tính nông sinh học khác như: chiều cao cây, thời gian sinh trưởng, khả năng chống chịu...

- Giống không ngừng thoả mãn nhu cầu của con

người: năng suất cao, chất lượng tốt, có giá trị thương phẩm cao.

- Tính trạng của giống là những đặc điểm về hình thái, cấu tạo của thực vật. Để nhận biết các tính trạng, người ta chia ra thành 4 nhóm sau:

+ Về đặc điểm hình thái giải phẫu: Chiều cao cây, cỡ lá, số lượng đốt... đó là những tính trạng số lượng có thể cân đo, đong đếm được.

+ Về đặc điểm cấu tạo: Độ dày của bông, màu sắc thân lá, hoa quả. Đó là những tính trạng chất lượng. Tính trạng chất lượng thường do một gene kiểm tra và dễ thay đổi bởi điều kiện ngoại cảnh và có thể quan sát được bằng phương pháp cảm quan.

+ Sự tiến hành một quá trình. Chẳng hạn sự hô hấp, sự quang hợp, phản ứng quang chu kỳ... quá trình này diễn ra rất mẫn cảm với môi trường.

Sự kiểm tra một quá trình: Chẳng hạn sự hoạt động của chu trình Calvin. Hầu hết các men rất mẫn cảm với môi trường mà nó chịu ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp. Các men thường có trong hạt có thể ảnh hưởng quan trọng đến tính trạng chất lượng.

Đặc tính của giống là các đặc điểm về sinh lý, sinh hoá và các đặc điểm kỹ thuật của thực vật. Chẳng hạn tính chịu hạn, mặn, rét, úng...

3. Mục tiêu chọn tạo giống

"Chọn tạo giống cây trồng" là môn khoa học về sự thay đổi, cải thiện tính di truyền của cây trồng. Nói

một cách khác, chọn tạo giống cây trồng là "chọn lọc" từ các biến dị tự nhiên cũng như nhân tạo có trong quần thể để tạo ra giống mới.

Công việc đầu tiên của chọn lọc giống cây trồng là quá trình thuần hoá các cây dại thành cây trồng nông nghiệp, nhằm không ngừng cải thiện tiềm năng năng suất. Tiềm năng này thường biểu hiện ở một số đặc tính: số hạt/bông, trọng lượng hạt, chỉ số thu hoạch, kỹ thuật trồng trọt hoặc tính chịu đựng với điều kiện thời tiết khắc nghiệt (stress).

Nghệ thuật của chọn tạo giống cây trồng là ở chỗ: khả năng quan sát, óc phán đoán của các nhà chọn giống nhằm phát hiện ra những biến dị có lợi đem lại nguồn giá trị kinh tế cao của các loài để có những loại hình tối ưu.

Nông nghiệp hiện nay ngày càng được cơ giới hoá nên yêu cầu cần có những loại hình cây trồng phù hợp, đó là lí do để các nhà chọn tạo giống tìm ra những cây trồng có các tính trạng, đặc tính đáp ứng đầy đủ và thoả mãn dần các nhu cầu trên. Ví dụ, tìm ra giống củ cải đường phù hợp với gieo trồng bằng máy hoặc giống cà chua có khả năng thu hoạch bằng cơ giới hay một số cây trồng có đặc tính phù hợp với một số chất nông được, chịu đựng được thuốc diệt cỏ...

Thành công của chương trình chọn giống nhằm đáp ứng các mục tiêu khác nhau và phụ thuộc vào 2 yếu tố chính: tính biến dị, tính ổn định của một giống cây trồng.

Tóm lại, mục tiêu của việc chọn tạo giống là:

+ Chọn tạo giống cây trồng có năng suất cao. Đây là mục tiêu hàng đầu của các nhà chọn tạo giống ở cây tự thụ cũng như cây giao phấn, ở giống thuần cũng như giống lai, đặc biệt là việc sử dụng ưu thế lai của cây tự thụ và cây giao phấn.

+ Chọn tạo giống cây trồng có chất lượng nông sản tốt, đặc biệt là chất lượng dinh dưỡng và chất lượng thương phẩm cao.

+ Chọn tạo giống cây trồng có khả năng chống chịu sâu bệnh tốt và chống chịu với điều kiện bất thuận, mặn, hạn, úng...

+ Chọn tạo giống có đặc tính nông sinh học nhằm đáp ứng nhu cầu của sản xuất và người tiêu dùng: chiều cao cây, thời gian sinh trưởng, khả năng cơ giới hoá khi thu hoạch và bảo quản, chế biến nông sản phẩm.

+ Nhận biết được các đặc trưng hình thái, đặc tính sinh lí, di truyền và phản ứng của cây trồng với sâu bệnh nhằm tăng tính thích nghi của mỗi loài, mỗi giống cây trồng với năng suất và phẩm chất.

+ Xây dựng các biện pháp kỹ thuật phù hợp với các đặc điểm hình thái, sinh lí, di truyền và đặc tính nông sinh học khác.

+ Nghiên cứu nguồn gene và các đặc tính mong muốn của nhà chọn giống.

+ Ứng dụng các thành quả của di truyền học hiện

đại để xúc tiến nhằm tạo nhanh các giống cây trồng mới hoặc cải tiến giống.

4. Chỉ số chọn lọc

Trong phần lớn các chương trình chọn giống thực vật hoặc động vật, nhiều tính trạng cần phải cải tiến đồng thời. Cải tiến một tính trạng này có thể kéo theo sự cải tiến hoặc làm xấu đi những tính trạng có liên quan. Do đó, khi tiến hành chọn lọc cần phải xem xét đồng thời cả các tính trạng quan trọng đối với một loài cây trồng. Chỉ số chọn lọc là cơ sở cho việc chọn lọc đồng thời nhiều tính trạng thông qua sự nhận biết và phân biệt các kiểu gene mong muốn với các kiểu gene không mong muốn dựa vào kiểu hình.

*** Chỉ số chọn lọc tối ưu**

Chỉ số chọn lọc tối ưu do Smith (1936) và Henderson (1963) đề xuất. Henderson phân chia các tính trạng làm hai loại: tính trạng sơ cấp và tính trạng thứ cấp. Tính trạng sơ cấp là những tính trạng có giá trị kinh tế tương đối # 0, trong khi đó tính trạng thứ cấp có giá trị kinh tế = 0 nhưng có thể tương quan với tính trạng sơ cấp và có ích trong chương trình chọn lọc. Ví dụ, đối với năng suất cây cốc, số liệu thường thu thập là năng suất hạt và một hay hai trong ba yếu tố cấu thành năng suất - số bông trên đơn vị diện tích, số hạt trên bông, và trọng lượng hạt. Trừ khi trọng lượng là một tính trạng quan trọng, ba yếu tố cấu thành được xem là những

tính trạng thứ cấp và tầm quan trọng kinh tế chỉ ấn định cho tính trạng sơ cấp, năng suất hạt.

Như vậy, để xây dựng chỉ số chọn lọc tối ưu không cần các giá trị kinh tế mà chỉ cần xác định tính trạng nào là tính trạng sơ cấp. Tuy nhiên, cũng có thể xem xét các tính trạng thứ cấp có ý nghĩa kinh tế trong khi cải tiến một tính trạng sơ cấp nhất định. Ví dụ, khi xây dựng chỉ số để cải tiến năng suất hạt, có thể rất có giá trị nếu bao gồm cả hàm lượng protein là tính trạng thứ cấp, thậm chí cả khi đã có một chỉ số khác được xây dựng để cải tiến hàm lượng protein.

**** Chỉ số chọn lọc cơ bản.***

Chỉ số cơ bản được sử dụng để cải tiến đồng thời hai hay nhiều tính trạng khi giá trị kinh tế tương đối có thể ấn định cho mỗi tính trạng nhưng không có giá trị ước lượng của các tham số kiểu gene và kiểu hình. Chỉ số chọn lọc được tính cho mỗi kiểu gene bằng cách đánh giá tầm quan trọng của giá trị kiểu hình của mỗi tính trạng thông qua giá trị kinh tế tương ứng của chúng và cộng số điểm của tất cả tính trạng có giá trị kinh tế $\neq 0$.

Ví dụ ở lúa, nếu coi năng suất hạt có giá trị gấp hai lần năng suất rơm rạ thì giá trị kinh tế sẽ là 1,0 đối với năng suất hạt và 0,5 đối với năng suất rơm rạ. Chỉ số cơ bản cho cả hai tính trạng là $1 = \text{năng suất hạt} \times 0,5 \text{ năng suất rơm rạ}$.

**** Chỉ số chọn lọc cơ bản cải tiến***

Khác với chỉ số chọn lọc cơ bản, ở chỉ số chọn lọc cơ

bản cải tiến tầm quan trọng của giá trị kiểu hình của mỗi tính trạng được đánh giá theo hệ số di truyền chứ không phải giá trị kinh tế. Chỉ số chọn lọc dựa vào hệ số di truyền sẽ hiệu quả hơn chỉ số cơ bản nếu giá trị kinh tế của tất cả tính trạng như nhau. Nếu các tính trạng có giá trị kinh tế khác nhau và hệ số di truyền biến động lớn giữa các tính trạng cần cải tiến, có thể xây dựng chỉ số chọn lọc kết hợp cả hệ số di truyền và giá trị kinh tế.

*** Chỉ số chọn lọc hạn chế**

Chỉ số chọn lọc hạn chế được áp dụng trong những tình huống nhất định khi nhà chọn giống chỉ cần cải tiến r trong số m tính trạng có ý nghĩa kinh tế, còn $m-r$ tính trạng không thay đổi.

*** Chỉ số chọn lọc dựa vào khoảng cách Ocolit**

Một chỉ số chọn lọc khác được Trung tâm nghiên cứu Ngô và Lúa mì Quốc tế xây dựng áp dụng cho chọn giống cây trồng. Chỉ số được thiết lập dựa vào mục tiêu chọn lọc và cường độ chọn lọc. Mục tiêu chọn lọc của mỗi tính trạng được đo bằng độ lệch tiêu chuẩn so với giá trị trung bình. Khác với chỉ số chọn lọc truyền thống, xây dựng chỉ số chọn lọc, bên cạnh mục tiêu chọn lọc, người ta dựa vào cường độ chọn lọc thay cho giá trị kinh tế của tính trạng. Vì các biến số dùng để mô tả các kiểu gene được biểu thị bằng các đơn vị khác nhau nên phải tiêu chuẩn hoá tất cả các giá trị để có thể kết hợp các tính trạng khác nhau trong một chỉ số.

5. Tương tác kiểu gene - Môi trường

Tương tác kiểu gene - môi trường biểu thị một thành phần kiểu hình có thể làm sai lệch giá trị ước lượng của các thành phần khác. Tương tác kiểu gene môi trường tồn tại khi hai hay nhiều kiểu gene phản ứng khác nhau với sự thay đổi của môi trường (năm, vụ gieo trồng, địa điểm...) Nói cách khác, một giống có năng suất cao trong môi trường này so với giống kia nhưng lại thấp hơn trong môi trường khác. Như vậy, tương tác kiểu gene - môi trường làm thay đổi thứ bậc các kiểu gene hay các giống được đánh giá trong các điều kiện khác nhau gây khó khăn cho nhà chọn giống trong việc xác định tính ưu việt của các giống được đánh giá. Vì vậy, tính toán mức độ tương quan rất quan trọng để xác định chiến lược chọn giống tối ưu và đưa ra những giống có khả năng thích nghi với môi trường gieo trồng đã dự định một cách thoả đáng.

II. LAI GIỐNG

1. Khái niệm

Lai giống là sự giao phối giữa hai hay nhiều dạng bố mẹ có tính di truyền khác nhau để tạo ra biến dị tổ hợp. Các dạng thực vật do sự giao phối tự nhiên hoặc nhân tạo đã kết hợp được các tính trạng di truyền của bố mẹ, và tạo ra cây (con) lai.

Trong khi lai người ta kí hiệu các thành phần như sau:

♀: Dạng mẹ (cây nhận phấn).

♂: Dạng bố (cây cho phấn).

x: Phép lai.

F1: Thế hệ đầu tiên của con lai.

F1: tự phối $\rightarrow$ F2 tự phối $\rightarrow$ F3; ...

Lai gần: là sự giao phối giữa các cá thể thuộc cùng loài. Ví dụ, lai các dạng của lúa trồng *Oryza sativa* Subsp Indica hoặc O. Subsp Japonica với nhau.

Lai xa: là sự giao phối giữa các cá thể của hai loài trở lên. Ví dụ, lai giữa loài khoai tây trồng *Solanum tuberosum* L. với các loài khoai tây hoang dại như *Solanum demissum*, thậm chí người ta đã thành công trong việc lai giữa 2 chi (genus) với nhau như trường hợp lai giữa lúa mì và mạch đen để tạo ra cây triticales.

2. Ý nghĩa

Lai giống là phương pháp cơ bản để tạo ra biến dị tổ hợp phục vụ cho chọn lọc. Nhờ lai giống mà có thể phối hợp được các đặc tính và tính trạng có lợi của các dạng bố mẹ và con lai. Tuy nhiên, bố mẹ truyền cho con cái bộ gene của chúng và kết quả của quá trình tái tổ hợp mà nhiều kiểu gene mới đã được tái tạo ra, sau khi tương tác với môi trường đã tạo ra các kiểu hình mới rất có ích cho chọn giống. Đó là kiểu cây thâm canh, kiểu cây lí tưởng ở lúa, dạng thân rẽ quạt ở mía, hàm lượng dầu siêu cao ở hướng dương, kiểu vòi nhụy siêu dài ở bông, cà chua...

Một hiệu ứng đặc biệt nhận được trong lai giống là hiệu ứng ưu thế lai biểu hiện ở đời F₁. Nhờ hiệu ứng này mà phương pháp tạo giống ưu thế lai đã ra đời và nhiều giống cây trồng năng suất siêu cao đã được tạo ra ở ngô, lúa, củ cải đường, mía, hành tây...

Không phải ngẫu nhiên mà nhiều nhà khoa học về sinh học đã cho rằng thế kỷ 21 là thế kỷ của sinh vật học, trong đó các giống cây trồng và vật nuôi ưu thế lai chiếm vị trí tuyệt đối trong sản xuất nông nghiệp.

3. Lai gần

a. Các nguyên tắc chọn cặp bố mẹ

- Thành tựu của chọn giống là chọn được kiểu gene mong muốn, vì thế kết quả của phép lai là điều quyết định. Chọn được bố mẹ để thỏa mãn yêu cầu đặt ra là cơ sở để tạo ra các biến dị tổ hợp mong muốn, đảm bảo cho chọn lọc thành công.

Qua đúc kết kinh nghiệm và thành tựu của các nhà chọn giống thế giới, dựa vào các lí luận do di truyền học mang lại người ta đã đề ra các nguyên tắc cơ bản để chọn cặp bố mẹ khi lai. Các nguyên tắc đó là:

- Nguyên tắc khác nhau về kiểu sinh thái địa lí;
 - Nguyên tắc khác nhau về các yếu tố cấu thành năng suất;
 - Nguyên tắc khác nhau về thời gian các giai đoạn sinh trưởng;
 - Nguyên tắc khác nhau về tính chống chịu;
 - Nguyên tắc bổ sung các tính trạng đặc biệt.
- * Nguyên tắc khác nhau về kiểu sinh thái địa lí.*

Kiểu hình của một dạng thực vật là kết quả tương tác giữa kiểu gene và môi trường. Các giống và dạng thực vật trong quá trình chọn lọc tự nhiên và chọn lọc nhân tạo được hình thành, thích nghi với một điều kiện khí hậu, đất đai nhất định. Bất cứ cây trồng nào trên trái đất cũng có nhiều giống và dạng được hình thành trong các điều kiện sinh thái, địa lý khác nhau. Ví dụ: vùng ôn đới đã xuất hiện và phổ biến các dạng lúa thuộc loài phụ Japonica chịu lạnh, ngược lại tại vùng Đông Nam Á nhiệt đới phổ biến lại là các loại hình Indica nhiệt đới chịu nóng. Cùng loại phụ Indica song do được hình thành trong các điều kiện sinh thái địa lý khác nhau mà đã xuất hiện rất nhiều dạng khác nhau: tại vùng Đồng Tháp Mười có lúa thơm cao cây, tại Tây Nguyên có lúa cạn chịu hạn, vùng đồng bằng Bắc Bộ có lúa mùa, lúa chiêm...

Thực chất của nguyên tắc chọn cặp bố mẹ theo hai loại hình sinh thái địa lí là ở chỗ liên kết các tính trạng và đặc tính của các dạng hoặc giống xa về địa lí, sinh thái vào một giống mới. Các dạng lai xa nhau về địa lí không phải liên kết với nhau một cách cơ giới về các tính trạng mong muốn mà chính là sự tổ hợp các gene khác nhau của bố mẹ. Giá trị của các kiểu sinh thái địa lí được xác định ở chỗ chúng có bản chất di truyền khác nhau chứ không phải ở chỗ chúng xa nhau về địa dư. Sự khác biệt về mặt di truyền được biểu hiện ra bên ngoài bằng các tính trạng và đặc tính như chịu hạn, chịu úng, chịu chua, chịu mặn, chịu rét, chịu nóng, thời gian sinh trưởng ngắn, dài... Việc chọn bố mẹ xa nhau về địa lí là nhằm tổ hợp được các gene kiểm tra các tính trạng khác nhau, do đó kết quả của lai giống sẽ chắc chắn hơn và vật liệu cung cấp cho chọn lọc sẽ phong phú hơn, xác suất chọn được giống tốt, thích nghi với điều kiện sinh thái địa phương cao hơn.

Thực tiễn chọn giống và các thành công của các nhà chọn giống ở trong nước và trên thế giới đã cho thấy tính đúng đắn của nguyên tắc sinh thái địa lí trong chọn cặp bố mẹ. Điển hình nhất phải kể đến các thành công của Misurrin I. V khi tạo ra các giống táo chịu lạnh cho miền Bắc như Candin - Kitaica, Benflo - Kitaica, các giống mạn chịu giá rét...

Khi chọn giống có tính chống chịu với điều kiện khắc nghiệt cần chú ý đến các kiểu sinh thái: điều kiện sinh thái càng phức tạp, càng khắc nghiệt thì

khi sử dụng các giống địa phương làm mẹ sẽ dễ dàng tạo ra các giống có tính thích ứng cao.

** Nguyên tắc khác nhau về các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất*

Các yếu tố cấu thành năng suất là các tính trạng số lượng. Các tính trạng này hầu hết do hệ thống đa gene quyết định.

Nếu xét năng suất của một cây trồng thì năng suất trên một đơn vị diện tích do năng suất từng cá thể và số cá thể trên đơn vị diện tích đó quyết định. Năng suất cá thể cao và trồng được nhiều cá thể trên đơn vị diện tích là mục tiêu phấn đấu của chọn giống. Năng suất cá thể được tạo nên bởi các yếu tố cấu thành năng suất.

Khi chọn bố mẹ nhằm nâng cao năng suất ở các thế hệ lai thì bố mẹ phải có sự khác nhau về các yếu tố cấu thành năng suất. Sự khác nhau trên cần có khả năng bổ sung lẫn nhau, phối hợp với nhau để tạo ra một giống mới hoàn chỉnh hơn.

** Nguyên tắc khác nhau về thời gian các giai đoạn sinh trưởng*

Do nhu cầu sản xuất mà đòi hỏi phải tạo ra các giống có thời gian sinh trưởng khác nhau từ ngắn, trung bình đến dài. Để tăng vụ, tránh các điều kiện thời tiết bất lợi gây thiệt hại cho mùa màng, cần có các giống ngắn đến cực ngắn, song năng suất và chất lượng cần đạt yêu cầu.

Để phát huy tối đa tự do tổ hợp của các kiểu gene

quyết định các pha sinh trưởng của cây trồng nhằm tạo ra giống mới có thời gian sinh trưởng theo ý muốn thì bố và mẹ dùng trong phép lai cần có cấu trúc thời gian các giai đoạn sinh trưởng khác nhau.

Khi nghiên cứu nguồn gene cần có các quan sát tỉ mỉ về thời gian hoàn thành các giai đoạn sinh trưởng. Tương tự như nguyên tắc khác nhau về các yếu tố cấu thành năng suất, người ta có thể tạo ra các giống có thời gian sinh trưởng ngắn hơn từ hai dạng bố mẹ có cùng thời gian sinh trưởng nếu các giai đoạn sinh trưởng làm nên thời gian sinh trưởng của bố mẹ khác nhau.

** Nguyên tắc khác nhau về tính chống chịu sâu bệnh*

Cây trồng vốn có tính chống chịu sâu bệnh nhờ thừa hưởng tính di truyền của tổ tiên chúng, song tính chống chịu này đã yếu đi nhiều do có sự bảo vệ của con người trong quá trình canh tác. Chọn tạo ra các giống vừa có năng suất cao, vừa chống chịu tốt với các loài sâu bệnh gây hại là mục tiêu của bất kỳ chương trình tạo giống nào.

Mặt khác ở mỗi vùng sinh thái đặc thù tuy cũng là một loại bệnh nhưng ở mỗi vùng có các nòi khác nhau. Vì thế mà một giống có thể hoàn toàn kháng bệnh ở vùng này nhưng khi chuyển sang vùng khác bị nhiễm bệnh. Một giống cây trồng có khả năng thích ứng rộng cần có phổ kháng sâu bệnh rộng, cùng lúc có thể chống được nhiều nòi sinh lí khác nhau.

Khi chọn các dạng bố mẹ cần chú ý sự khác nhau

về tính kháng bệnh ngang để tổ hợp được một phổ kháng sâu bệnh rộng vào giống tương lai. Ví dụ: CR 203 là giống chống rầy với cả 3 biotyp nên được trồng ở rất nhiều vùng khác nhau từ vĩ tuyến 17 trở ra, giống IRI 352 kháng đạo ôn tổng hợp, là một giống lúa nếp phổ biến ở vụ xuân. Các giống lúa trên đều được tạo ra nhờ phép lai các dạng bố mẹ có tính kháng rầy nâu và đạo ôn khác nhau.

** Nguyên tắc bổ sung các tính trạng cần thiết.*

Một số giống cây trồng tốt sẽ được nhân rộng ra nhiều vùng địa lí khác nhau. Nhờ đặc điểm này mà một giống tốt được tạo ra không còn bó hẹp trong từng nước. Nhập nội giống cây trồng có các tính trạng tốt là phương pháp nhanh để đưa giống vào sản xuất. Tuy nhiên, các giống cây trồng mới tạo ra khi di chuyển từ vùng sinh thái này sang vùng sinh thái khác tỏ ra còn khiếm khuyết hoặc thiếu một tính trạng quan trọng nào đó như kém chịu rét, chống đổ không tốt, chất lượng chưa cao. Trên tổng thể các giống mới được tạo ra theo các phương pháp tạo giống hiện đại đều là các kiểu gene tốt, chúng chỉ còn thiếu một số tính trạng, nếu được bổ sung thì sẽ là một giống hoàn chỉnh.

Trong các phép lai, nguyên tắc bổ sung các tính trạng, sửa chữa khiếm khuyết luôn được áp dụng triệt để và bằng cách này các giống cây trồng ngày càng được hoàn thiện hơn.

b. Các phương pháp lai

Trong quá trình chọn tạo giống, tùy theo kết quả

cần đạt mà thực hiện các phương pháp lai khác nhau. Các phương pháp lai theo sự tham gia của bố mẹ mà phân thành lai một lần và lai nhiều lần. Trong trường hợp đầu, công tác chọn lọc được tiến hành trong quần thể con lai còn trong trường hợp thứ hai thì con lai được sử dụng để lai thêm với các dạng khác hoặc lai lặp lại với bố hoặc mẹ theo hệ thống.

** Lai một lần*

* Lai đơn: Trong lai đơn chỉ có sự tham gia của một bố và một mẹ và phép lai chỉ tiến hành một lần; phép lai đơn được sử dụng rộng rãi vì bố và mẹ được nghiên cứu tỉ mỉ thông qua các tính trạng. Người ta tiến hành phép lai giữa hai bố mẹ có các tính trạng bổ sung. Lai đơn có thể tiến hành trong loài (lai gần), nhưng cũng có thể thực hiện phép lai khác loài phụ hoặc khác loài (lai xa)

Nếu kí hiệu các dạng bố mẹ là A, B, C, D... thì có thể biểu diễn lai đơn là: $A \times B$; $C \times D$; $B \times D$...

* Lai thuận nghịch: Khi lai thuận nghịch thì mỗi dạng trong phép lai lần lượt làm bố và làm mẹ.

Lai thuận nghịch cho phép xác định mối quan hệ giữa nhân tố bào chất, sự ảnh hưởng của tế bào chất tới con lai. Nếu hai dạng bố mẹ khác nhau về tế bào chất thì kết quả giữa 2 lần lai thuận và nghịch không giống nhau. Phép lai này đặc biệt quan trọng khi lai xa, giữa lai thuận và lai nghịch trong lai xa có sự khác nhau không chỉ về độ kết hạt mà còn cả chất lượng con lai.

* Lai đỉnh thường sử dụng để xác định khả năng tổ hợp chung nhằm loại bỏ các dòng giống không có khả năng tổ hợp. Các dòng giống mang lai thử được dùng làm bố và lai với 1 hoặc 2 mẹ là các vật liệu thử có phổ di truyền rộng. Giữa dòng, giống và Tester tạo thành 1 cặp lai đơn.

* Lai dialen: Lai dialen còn gọi là lai luân phiên, trong đó tất cả các dòng, giống tham gia vào sơ đồ lai đều được lần lượt cặp đôi với nhau kể cả chiều thuận và chiều nghịch. Lai dialen là phép lai phân tích rất có hiệu quả để tìm khả năng phối hợp của các dòng giống với nhau, để tìm hiểu sự di truyền các tính trạng số lượng có liên quan đến năng suất bằng phương pháp phân tích Hayman.

** Lai nhiều lần*

* Lai lại: Điểm đặc biệt của phép lai lại là sau khi nhận được con lai là F1 người ta tiếp tục đem lai với một trong hai bố mẹ với số lần lặp lại cần thiết. Phép lai lại thường được áp dụng khi một giống cây trồng nào đó có hàng loạt tính trạng tốt song cần bổ sung thêm một vài tính trạng khác để hoàn thiện giống cũ.

Trong phép lai giống cơ bản cần được cải tiến gọi là thể nhận, thường là các giống có năng suất cao, còn giống dùng để bổ sung tính trạng gọi là thể cho (thường là các giống có tính chống chịu tốt). Phép lai lại được áp dụng phổ biến để truyền tính bất dục đực tế bào chất cho một giống nhằm tạo ra các dòng CMS mới sử dụng trong chọn giống ưu thế lai hệ "3 dòng".

* Lai hồi quy (lai tích lũy): Lai hồi quy là một kiểu đặc biệt của lai lại, trong đó một giống có năng suất cao chưa có tính kháng sâu bệnh được sử dụng làm thể nhận, còn các giống có tính chống chịu tốt (trong đó có tính kháng sâu bệnh) được sử dụng làm thể cho. Sau khi tiến hành việc lai tích lũy của thể nhận với thể cho, người ta lai các con lai tích lũy với nhau, bổ sung cho giống nhận các tính trạng cần thiết là sơ đồ lai tích lũy nhằm bổ sung thêm cho giống tính kháng đạo ôn và bạc lá.

* Lai nhiều bậc: Lai nhiều bậc là phép lai phức tạp điển hình, trong đó sau lần lai thứ nhất người ta tiếp tục lai với giống thứ 3 có tính trạng mong muốn. Phép lai có thể tiếp tục với giống thứ 4 và 5 tùy theo yêu cầu của chương trình tạo giống.

* Lai nhiều bố mẹ: Lai nhiều bố mẹ thường được áp dụng để tạo ra quần thể mới ở cây giao phấn hoặc để tổng hợp nhiều tính trạng của nhiều giống vào con lai nhằm nâng cao hiệu quả của chọn lọc. Để thực hiện phép lai người ta chia các giống tham gia thành từng cặp, sau khi có con lai thì chúng lại được cặp đôi và lai với nhau.

c. Kỹ thuật lai giống

** Chọn cây bố mẹ*

Sau khi đã xác định được tổ hợp lai, thì chọn cặp bố mẹ cần trồng cây để có vật liệu lai. Thường thì cây lai được trồng ở ruộng riêng, được chăm sóc chu đáo để chúng sinh trưởng và phát triển bình thường. Đôi

với cây lúa, có thể trồng trong chậu hoặc ô xi măng để tiện cho chăm sóc và dễ dàng cho khử độc sau này. Cần nghiên cứu kỹ vật liệu lai để bố trí sao cho cây bố và cây mẹ nở hoa trùng khớp. Nếu cần có thể sử dụng các biện pháp đặc biệt để điều chỉnh bố mẹ ra hoa cùng nhau, như xử lý ánh sáng, xử lý nhiệt độ thấp, dùng chất điều tiết sinh trưởng... Chọn cây to, khoẻ, đại diện cho giống, đánh dấu bằng thẻ để sử dụng làm vật liệu lai.

** Chuẩn bị cây lai và dụng cụ lai*

Chuẩn bị các dụng cụ cần thiết như panh, kéo, thẻ đánh dấu, bao cách li, lọ mầu đen đựng hạt phấn...

Trước khi thực hiện thao tác lai, cây lai cần được chọn kỹ và chuẩn bị chu đáo: cắt bỏ các cây không dùng cho phép lai, dọn sạch các lá chết, lá úa vàng, cắt bỏ các hoa thừa.

Ví dụ ở cây lúa: Mỗi khóm chỉ giữ lại từ 3-4 nhánh, các nhánh khác cắt bỏ, dọn sạch lá chết. Ở mỗi bông chỉ giữ lại từ 15-20 hoa thành thực, các hoa khác cắt bỏ, cây lúa được đánh trống trong chậu dùng cho lai, cần bón thêm một lượng phân đạm và kali nhỏ.

** Khử độc*

Các hoa ở cây mẹ phải được khử độc triệt để. Đây là khâu quan trọng đặc biệt ở cây tự thụ phấn. Khi khử độc không được làm tổn thương nhụy cái, không làm vỡ bao phấn, diệt hết nhụy đực. Thông thường ở hầu hết các loài cây trồng người ta tiến hành khử độc vào chiều hôm trước và thụ phấn vào sáng hôm sau.

Tuy nhiên, cần nghiên cứu kỹ đặc tính nở hoa của từng loài cây để xác định thời điểm khử đực tốt nhất sao cho bộ phận đực bị tiêu diệt nhưng bộ phận cái vẫn nguyên vẹn, sức sống bình thường. Có rất nhiều phương pháp khử đực khác nhau được xếp thành 3 nhóm.

* Khử đực bằng tay: Áp dụng với các cây trồng có hoa đủ lớn, bộ phận đực và cái trong thời điểm khử đực phân biệt rõ ràng như lúa, cà chua, thuốc lá, đậu đen, vừng... Người ta dùng panh có đầu nhọn khéo léo gắp ra khỏi hoa các bao phấn sau khi dùng kéo cắt bỏ 1 bộ phận của hoa như cánh hoa, vỏ trấu cho dễ thao tác.

* Khử đực bằng máy: Dùng máy hút chân không có vòi nhỏ để hút bỏ các bao phấn. Máy hút thay cách gắp bỏ bao phấn trong phương pháp khử đực bằng tay.

* Khử đực bằng hoá chất: Các loài cây có hoa rất nhỏ (kê, rau dền, hành...) khử đực bằng tay gặp khó khăn hoặc không thực hiện được, do đó cần áp dụng cách khử đực bằng hoá chất. Dựa trên cơ chế tự bảo vệ và chọn lọc của giao tử cái, người ta xử lý hoá chất vào thời kỳ phân hoá hoa để diệt giao tử đực mà không làm ảnh hưởng tới giao tử cái. Do sự phân hoá hoa trên một nhánh kéo dài một số ngày nên việc xử lý hoá chất cũng phải tiến hành 3-4 lần mới khử đực được tương đối triệt để. Các hoá chất thường dùng để khử có hiệu quả cao là các Hydratid của axit malic và Ester thơm.

** Bao cách li*

Sau khi khử được cần bao cách li để tránh sự xâm nhập của hạt phấn lạ. Đối với các cây có hoa đơn tính hoặc các dòng bất dục thì không cần khử được mà chỉ cần bao cách li trước khi hoa nở từ 12 - 20 giờ. Vật liệu cách li thường dùng là giấy bóng mờ, có độ trong cần thiết và đủ dai khi gặp mưa, nhanh khô khi bị ướt.

** Thu phấn và đánh dấu*

Thu thập phấn của cây bố và thụ phấn cho hoa của cây mẹ đã được khử được vào bao cách li. Với các cây thụ phấn chéo, hoa đơn tính thì có thể thu thập hạt phấn vào lọ tối màu sau đó thụ phấn cho từng hoa. Đối với cây tự thụ thì khi hoa sắp nở hoặc vừa nở dùng panh gấp bao phấn, ấn nhẹ cho bao phấn nứt ra và đưa cả phấn vào đầu nhụy cái của các hoa đã được khử được. Tốt nhất là thụ phấn vào buổi sáng. Tuy nhiên việc thụ phấn tùy thuộc vào tập tính nở hoa của từng loài cây. Thời điểm thích hợp nhất là lúc hoa nở tự nhiên.

Ngay sau thụ phấn phải đeo thẻ vào cây mẹ, trên thẻ ghi tổ hợp lai, ngày lai và kỹ thuật viên phụ trách. Bao cách li trở lại cẩn thận và chỉ bỏ bao cách li đi khi quả đã hình thành hoàn chỉnh.

** Chăm sóc cây lai và thu hoạch hạt lai*

Sau khi lai, cây lai phải được theo dõi thường xuyên để ngăn chặn kịp thời côn trùng và động vật phá hại cây lai và quả lai. Cây nếu cần được bón thêm phân cali hydrophosphat (KH_2PO_4) là loại phân tốt dùng bón cho cây lai làm hạt lai mẩy hơn.

Sau khi hạt lai đã chín cần thu hoạch kịp thời. Khi thu hoạch lấy theo thẻ đánh dấu, ghi ngày thu hoạch vào thẻ, thu theo từng tổ hợp, để riêng; nếu cần thì tiến hành công tác sơ chế để thu lấy hạt lai, bảo quản chu đáo để sử dụng trong các giai đoạn tiếp theo.

d. Các công việc cần tiến hành với các thế hệ lai

**** Xác định số tổ hợp lai và số lượng cá thể F₁ cần thiết***

Số lượng tổ hợp lai cần có phụ thuộc trước hết vào số lượng bố mẹ tham gia và chương trình lai nhằm đạt được kiểu gene tái tổ hợp cần thiết. Số lượng bố mẹ càng nhiều thì số lượng tổ hợp lai tạo càng lớn hơn và nhiều khi vượt quá khả năng thực hiện của cơ quan nghiên cứu. Mặt khác, để tạo được một số tổ hợp lai phải tiến hành một loạt công việc như đã trình bày nên số tổ hợp lai được tạo ra còn phụ thuộc vào cấu tạo hoa của cây trồng. Ở cây thụ phấn chéo có hoa đực và hoa cái riêng thì việc tái tạo ra một tổ hợp lai rất dễ dàng. Trái lại ở cây tự thụ phấn điển hình, để thu được một tổ hợp lai với số lượng hạt lai cần thiết là tương đối khó và tốn nhiều công sức.

**** Nếu bố mẹ được nghiên cứu kĩ, số tính trạng định cải tiến không nhiều (thường dưới 4) và có thể theo dõi tỉ mỉ các thế hệ lai thì cần đạt được 50 - 100 tổ hợp lai mỗi vụ (tuỳ điều kiện cụ thể).***

**** Theo các dạng bố mẹ có tính trạng quyết định bởi các kiểu gene mà nhà chọn giống chưa thật đoán chắc, số lượng tính trạng cần cải tiến tương đối nhiều***

(từ 5 trở lên) thì số lượng tổ hợp lai cần nhiều hơn, thường từ 100 đến 500 tổ hợp.

* Nếu áp dụng phép phân tích di truyền và chọn lọc ứng dụng các thông số thống kê sinh học thì số tổ hợp lai tối đa chỉ nên là 50 mỗi vụ.

Ở nhóm cây thụ phấn chéo và cây thụ phấn sử dụng các dòng bất dục nhằm khai thác ưu thế lai ở đời F1 thì số tổ hợp lai được thử nghiệm cần nhiều hơn vì cần tìm được dạng bố, mẹ cho ưu thế lai cao và các công việc chỉ tiến hành ở thế hệ F1.

** Độ lớn của quần thể thế hệ F2*

Với nhóm cây tự thụ phấn thì các kiểu gene đồng hợp thể nhanh chóng tăng lên ở thế hệ F3 và các thế hệ kế tiếp và chỉ ở F2 mới chứa đựng toàn bộ các kiểu tái tổ hợp mới mà nhà chọn giống có thể khảo sát được. Số lượng tái tổ hợp gene phụ thuộc vào các điều kiện sau đây:

- Số lượng locut gene khác nhau giữa bố và mẹ
- Sự liên kết của các locut gene
- Số lượng alen trong mỗi locut.

** Chọn lọc tạo lập các dạng mới*

Nhiệm vụ cơ bản của chương trình lai là chọn được kiểu gene tái tổ hợp đáp ứng được mục tiêu đặt ra. Để thực hiện được mục tiêu này, cần tiến hành phép chọn lọc chi tiết với các thế hệ con lai nhằm tìm ra các dạng mới theo yêu cầu. Với các thế hệ con lai, những phương pháp chọn lọc sau đây được áp dụng phổ biến:

* Phương pháp gieo lại liên tục.

* Phương pháp hỗn hệ cải tiến, gieo ở mật độ dày để khống chế quần thể không tăng lên quá nhiều.

* Phương pháp một hạt.

* Phương pháp phả hệ.

Con lai được chọn từ F2 để lập thành một gia phả, cho đến khi có dòng thuần.

Trước khi phép lai được thực hiện trên các tính trạng nghiên cứu của bố và mẹ, các thông tin cần được xác định lại. Sau khi lai, cần thiết lập quần thể F1 đủ lớn (ít nhất là 60 cá thể) bố trí 3 lần nhắc lại để thu thập các thông tin theo tính trạng thông qua hệ số trội để xác định hiệu ứng di truyền, chọn các quần thể có hiệu ứng di truyền cộng để đưa vào chọn lọc. Thế hệ chọn lọc phụ thuộc vào số gene hoạt động, nếu số cặp gene dưới 3 thì chọn lọc bắt đầu thực hiện ở F2 hoặc F3, số cặp gene trong phạm vi 3 - 4 thì chọn lọc bắt đầu từ F4, F5, số cặp gene từ 5 trở lên thì quá trình chọn lọc bắt đầu từ F6, F7 thậm chí muộn hơn. Công việc chọn lọc tiến hành với các tính trạng hoặc cùng lúc trên vài ba tính trạng.

Từ việc khảo sát liên tiếp hai thế hệ mà thiết lập phương sai kiểu hình, hệ số di truyền, hệ số di truyền thực nghiệm, đồng thời tiến hành chọn lọc ở một áp lực định trước để có hệ số tương ứng. Căn cứ vào phương sai kiểu hình, cường độ chọn lọc và hệ số di truyền để dự báo hiệu quả của chọn lọc hay tiến bộ di truyền và chỉ thực hiện công tác chọn lọc trên các

tính trạng dự báo là có hiệu quả. Các cá thể được chọn lọc hình thành quần thể chọn lọc. Quần thể này được kiểm tra qua vi phân chọn lọc và xác định hệ số di truyền thực nghiệm để đánh giá hiệu quả thật của chọn lọc.

4. Lai xa

Lai xa là lai khác loài (Species) khác chi (Genus) hoặc xa họ hàng hơn nữa. Lai xa nhằm mục tiêu giải quyết các nhiệm vụ đặc biệt trong chọn giống cây trồng mà không thực hiện được trong lai gần.

Hướng chủ yếu trong lai xa là tăng cường tính chống chịu của giống cây trồng với các điều kiện ngoại cảnh bất thuận và với loài sâu bệnh nguy hiểm gây tổn thất lớn cho mùa màng. Các tính trạng chống chịu được tìm kiếm từ các loài hoang dại hoặc bán hoang dại. Do bố mẹ rất khác nhau về vật chất di truyền cho nên có sự tái tổ hợp rất mới, đời sau phân ly mạnh, có những biến dị đặc biệt, từ các biến dị này có thể chọn lọc để tạo thành giống mới với các tính trạng đặc biệt quý giá.

Khi lai xa thường gặp một số khó khăn trong quá trình tiến hành công việc. Các khó khăn thường gặp là:

- Không thu được hạt lai.
- Các mức độ bất dục và giảm sức sống ở con lai F₁.
- Mức biến dị rất rộng ở các đời sau, thường có xu hướng trở lại dạng bố mẹ.

Do các nguyên nhân trên mà ở lai xa yêu cầu nhà chọn giống phải áp dụng các biện pháp đặc biệt để

công việc đạt hiệu quả. Trước hết phải khắc phục tính không kết hạt khi lai xa, sau đó phải có biện pháp để vượt qua tính bất dục, giảm sức sống của con lai. Khi đã có con lai sinh trưởng phát triển bình thường, nhà chọn giống phải xác định và chọn lọc được các dạng cần thiết trong số các dạng phân li rất phong phú ở F2 và các thế hệ kế tiếp.

* Khó khăn đầu tiên khi tiến hành phép lai là tổ hợp lai kết hạt. Xét về mức độ bất hợp thì nguyên nhân ở các mức bất hợp khác nhau.

Cụ thể:

* Nhụy cái không tiếp nhận hạt phấn làm cho hạt phấn không nảy mầm hoặc nảy mầm nhưng ống phấn không đến được túi phôi.

Nguyên nhân cơ bản là có một số hợp chất sinh học đặc thù ngăn cản sự nảy mầm của phấn lạ. Các hợp chất này tiết ra mạnh mẽ ở thời kỳ hoa cái nở.

Cách khắc phục:

Tiếp cận vô tính: Ghép cây mẹ lên cây bố để cây mẹ tiếp nhận một số chất có hoạt tính sinh lí được sản sinh từ gốc ghép cây bố. Người ta đã thành công bằng cách làm này khi tiến hành lai giữa mận đại và mận trồng, giữa khoai tây đại và khoai tây trồng, giữa bí đỏ châu Âu và bí đỏ châu Phi...

Thụ phấn mentor: Mentor sử dụng ở đây là hạt phấn của mẹ đã được làm yếu đi đến mức không có khả năng thụ tinh song vẫn xảy ra thụ phấn. Hạt phấn bố được trộn lẫn với hạt phấn dùng làm mentor. Dưới sự

kích thích của mentor, nhụy cái tiếp nhận hạt phấn lạ khi có thụ phấn mà thụ tinh lại không xảy ra với hạt phấn của cùng loài.

Sử dụng các chất điều tiết sinh trưởng: Nếu nguyên nhân không tiếp nhận hạt phấn là do thiếu các chất điều tiết sinh trưởng thì có thể phun thêm vào nhụy các chất cần thiết như gibberelin, auxin, xitokinin... các chất này sẽ làm cho ống phấn phát triển mạnh, giải phóng các inhibitor (chất kìm hãm) giúp hạt phấn nảy mầm bình thường đưa tinh trùng đến túi phôi.

* Không thụ tinh được: Nguyên nhân chính là do sự chênh lệch về số lượng nhiễm sắc thể nên khi tạo thành hợp tử thì không có sự hoà hợp, hợp tử không được hình thành.

Cách khắc phục: Ở nhóm cây có cùng dãy đa bội như chi *Solanum*, chi *Lycopersicon*... người ta đã bội hoá bố hoặc mẹ để tạo cho bố mẹ có số lượng nhiễm sắc thể bằng nhau.

* Hình thành hợp tử nhưng phôi bị chết sớm hoặc muộn. Nguyên nhân chính là quá trình cung cấp chất dinh dưỡng cho cây bị ngừng trệ do sự bất hợp giữa nhân và tế bào chất.

- Cách khắc phục: Lai nghịch đảo để tìm ra sự hoà hợp của tế bào chất.

- Cứu phôi: Ngay sau khi hợp tử được hình thành thì phôi và nội nhũ cùng phát triển. Người ta tách phôi ra và đưa vào môi trường dinh dưỡng nhân tạo

để cho phôi phát triển và tạo ra cây lai trong ống nghiệm sau đó mới đem trồng.

** Tính bất dục của con lai xa và cách khắc phục*

Khi lai khác loài, bố, mẹ càng xa nhau về di truyền thì tính bất dục của cây lai càng cao. Các nguyên nhân chính dẫn đến sự bất dục là:

- Không hoà hợp giữa nhân của loài này và tế bào chất của loài kia.
- Không hoà hợp giữa các bộ nhiễm sắc thể của cha và mẹ.
- Khác nhau về cấu trúc của các thể nhiễm sắc.
- Sự biểu hiện của gene lặn bất dục.

Các nguyên nhân trên làm cho quá trình phân chia tế bào bị rối loạn, các nhiễm sắc thể không cặp đôi được và sinh ra các giao tử kém sức sống trong quá trình phân chia giảm nhiễm.

Tuỳ thuộc vào mức rối loạn khi phân chia giảm nhiễm mà mức độ bất dục biểu hiện khác nhau từ bất dục hoàn toàn đến hữu dục bình thường.

Việc khắc phục tính bất dục của con lai xa tuỳ thuộc vào phương thức sinh sản của con lai xa và mục tiêu của chương trình tạo giống.

* Đối với cây sinh sản vô tính và sản phẩm sử dụng là các cơ quan sinh dưỡng (củ, thân, lá, rễ): cần có biện pháp khắc phục đặc tính hoang dại và tìm cách nâng cao hệ số nhân vô tính. Người ta đã đạt được thành công lớn trong chọn giống khoai tây, bạc hà, dâu tằm bằng lai xa...

* Đối với cây có thể nhân giống vô tính nhưng sản phẩm sử dụng là hoa, quả (các loài hoa, cây ăn quả): tiến hành chọn lọc lâu dài qua các thế hệ hữu tính để nâng cao tỉ lệ đậu quả. Dùng biện pháp thụ phấn mentor: trồng xen cây lai xa với cây bố mẹ để cây lai xa nhận phấn của cây mẹ hoặc bố có thể nâng cao đáng kể tỉ lệ đậu quả, việc nhân giống tiến hành bằng biện pháp vô tính (chiết, ghép, giâm cành, tách chồi...).

* Đối với cây sinh sản hữu tính sản phẩm thu hoạch là hạt, công việc sẽ rất khó khăn và tốn kém cần khắc phục tính bất dục bằng một số biện pháp như sau:

- Cây đa bội: Con lai được đa bội hoá nhằm tạo ra cơ hội cặp đôi bình thường giao tử. Quá trình đa bội có thể được thực hiện ở bộ phận sinh dưỡng hoặc tạo cây đơn bội từ hạt phấn sau đó mới nhị bội hoá để có cây nhị bội. Bằng cách này các nhà chọn giống châu Âu đã tạo được cây lai lúa mì mạch đen có tỉ lệ đậu hạt bình thường.

- Lai trở lại với bố hoặc mẹ

Có thể tiến hành lai trở lại từ một đến nhiều lần để vừa khắc phục tính hoang dại vừa nâng cao tỉ lệ kết hạt của cây lai xa.

- Chọn lọc định hướng các thể phân li: Trong quá trình phân li sẽ xảy ra tự do tái tổ hợp, chọn lọc định hướng có thể chọn ra các dạng đạt yêu cầu với tỉ lệ đậu hạt cao.

III. CÁC PHƯƠNG THỨC CHỌN GIỐNG

1. Chọn giống ưu thế lai

a. Ưu thế lai ở thực vật

Ưu thế lai chỉ các thế hệ có ưu thế hơn bố mẹ. Tuy nhiên, hiện tượng con lai đời thứ nhất (F1) có biểu hiện hơn hẳn bố mẹ đã được biết đến và mô tả từ lâu. Năm 1760 nhà thực vật học I. G Kolreuter đã thu được con lai giữa hai loài thuốc lá là *Nicotiana tabacum* và *Nicotiana rustica* có sức sinh trưởng mạnh vượt xa bố mẹ chúng. Dựa trên kết quả này mà I. G Kolreuter đã xây dựng phương pháp thu nhận hạt lai có ưu thế lai cao ở thuốc lá và ông cũng đề nghị sử dụng ưu thế lai cho các cây khác. Năm 1878 Beal đã thu được ưu thế lai các giống ngô khác nhau. Năm 1904 G. Shull tiến hành thụ phấn cưỡng bức ở ngô và năm 1908 đã thu được con lai có ưu thế lai cao giữa các dòng tự phối. Các năm tiếp theo các nhà chọn giống ở nhiều nước khác nhau đã thu được hiệu ứng ưu thế lai ở các cây trồng khác nhau như lúa (J. W. Jones - 1926), cà chua (H. Daxcalov - 1961) và hầu hết các cây thụ phấn chéo khác. Ngày nay chương trình chọn giống ưu thế lai năng suất siêu cao đã được nhiều nước chú ý và tiến hành có hiệu quả. Các nhà chọn giống ngô của Mỹ đã tạo ra tổ hợp lai đạt năng suất 25,4 tấn/ha/vụ. Các nhà chọn giống lúa lai

Trung Quốc đã tạo ra tổ hợp lúa lai hệ "2 dòng" có năng suất 17,1 tấn/ha/vụ. Giống mía ưu thế lai ROC 20 của Đài Loan đạt năng suất 320 tấn mía cây/ha với hàm lượng đường là 15% hay 48 tấn đường trên 1 ha/vụ. Nhiều giống ưu thế lai năng suất siêu cao, chất lượng tốt cũng đã được tạo ra ở cà chua, bắp cải, hành tây, khoai tây... Loài người đang chuẩn bị hành trang đầy đủ để bước vào kỉ nguyên sinh vật học mà các giống cây trồng và vật nuôi ưu thế lai sẽ chiếm ưu thế tuyệt đối.

b. Các loài ưu thế lai

Để tiện lợi cho việc sử dụng ưu thế lai và tạo ra các giống ưu thế lai phục vụ sản xuất, người ta chia ưu thế lai theo sự biểu hiện và theo quan điểm sử dụng.

**** Ưu thế lai sinh sản***

Là loại ưu thế lai quan trọng hàng đầu. Các cơ quan sinh sản như hoa, quả phát triển mạnh, số hoa, số quả nhiều, độ hữu dục cao dẫn đến năng suất cao hơn.

**** Ưu thế sinh dưỡng***

Các cơ quan sinh dưỡng như thân, rễ, cành lá đều sinh trưởng mạnh làm cho cây lai có nhiều cành, nhánh, thân cao to, lá lớn, nhiều rễ, nhiều củ... đó là các tính trạng có lợi cho chọn tạo giống. Đặc biệt là ở những loài cây trồng sử dụng các bộ phận sinh dưỡng như thân, lá, củ...

**** Ưu thế lai thích ứng***

Là ưu thế lai cho sự tăng sức sống, tăng tính chống

chịu với sâu, bệnh, với các điều kiện ngoại cảnh bất thuận như rét, úng, chua, mặn, phèn...

** Ưu thế lai tích lũy*

Ở đây là sự tăng cường tích lũy các chất vào các bộ phận của cây như hàm lượng tinh bột cao ở củ, hàm lượng protein, hàm lượng dầu cao hơn ở hạt, hàm lượng đường cao ở thân, hàm lượng các ester cao ở lá...

c. Mức độ biểu hiện

Trong từng giai đoạn chọn tạo giống, rất cần thiết phải xác định mức biểu hiện ưu thế lai để có đánh giá cụ thể và chính xác con lai tạo được.

** Ưu thế lai giả định (Heterosis)*

Được sử dụng trong giai đoạn lai thử. Con lai biểu hiện sự hơn hẳn trên tính trạng nghiên cứu so với số lượng trung bình của bố mẹ trên cùng tính trạng.

** Ưu thế lai thực*

Được sử dụng trong giai đoạn lai lại và đánh giá con lai. Con lai biểu hiện sự hơn hẳn trên tính trạng nghiên cứu so với bố mẹ có số đo cao nhất.

** Ưu thế lai chuẩn*

Được sử dụng để đánh giá các tổ hợp lai tốt. Con lai biểu hiện sự hơn hẳn trên tính trạng nghiên cứu (đặc biệt là năng suất) so với một số giống đang phổ biến trong vùng (giống chuẩn) mà giống lai định thay thế.

d. Chọn giống ưu thế lai ở cây giao phấn

** Chọn vật liệu*

Đặc điểm di truyền nổi bật ở cây giao phấn là các

cá thể trong quần thể luôn ở trạng thái dị hợp tử, vì thế đem lai giữa hai quần thể tự do giao phấn với nhau thì không thể đạt được tỉ lệ dị hợp tử cao. Mặt khác, các gene ẩn bị lấn át nay ở trạng thái đồng hợp tử sẽ phát huy tác dụng làm sức sống của con lai không cao, các gene này cần được loại bỏ khỏi các dạng bố mẹ của các tổ hợp lai. Như vậy, để đạt được xác suất cao nhất cho khả năng tạo ra con lai dị hợp tử mà lại chứa rất ít gene lặn có hại thì bố mẹ phải là dòng đồng hợp tử. Việc tạo ra các dòng tự phối ở cây giao phấn làm bố mẹ cho các tổ hợp lai đã đáp ứng được mục tiêu đề ra.

Các vật liệu được chọn để phát triển dòng tự phối cần đạt được các yêu cầu là tạo ra các dòng tự phối có phổ di truyền rộng và khác nhau càng nhiều càng tốt. Các dòng tự phối còn cần có khả năng chống bệnh, thích ứng với các điều kiện ngoại cảnh bất lợi để bổ sung cho con lai. Như vậy, các quần thể địa phương xa nhau về sinh thái địa lí, các giống tổng hợp, các giống lai có năng suất cao, tính chống chịu tốt là những nguồn vật liệu quý để phát triển các dòng tự phối. Trong quá trình tạo dòng tự phối người ta liên tục bổ sung tính trạng cho vật liệu chọn làm tự phối. Bằng cách này ở Mỹ, Mexico đã tạo được các dòng tự phối có khả năng cho ưu thế lai cao mà bản thân dòng cũng cho năng suất cao gần bằng các giống lai tổng hợp.

** Tạo các dòng tự phối*

Dòng tự phối là một dòng đồng hợp tử được tạo ra

do thụ phấn cưỡng bức bằng phấn của chính nó hoặc chị em với nó trong nhiều đời. Như vậy, từ một nguồn dị hợp tử ban đầu do tự phối mà tỉ lệ kiểu gene đồng hợp tử tăng lên và kiểu gene dị hợp tử giảm đi. Quá trình đồng hợp tử xảy ra tương tự ở con lai cây tự thụ phấn.

Trong quá trình tạo thành các kiểu gene đồng hợp tử, các gene ẩn trước kia bị các gene trội lấn át nay ở dạng đồng hợp tử nên biểu hiện thành kiểu hình. Kết quả là sức sống của cây tự phối bị suy giảm, năng suất thấp, nhiều dạng dị hình xuất hiện. Khi quan sát, ta thấy sự phân li mạnh mẽ, quần thể trở nên rất đa dạng. Sự suy giảm sức sống xảy ra nhẹ hơn khi thụ phấn bằng các cây chị em. Tuy nhiên, song song với các đồng hợp tử lặn cũng thu được các đồng hợp tử trội và không phải tất cả các gene lặn đều có hại cả. Bên cạnh việc suy giảm sức sống, suy giảm số đo tính trạng thì cũng thu được các dòng tự phối có các tính trạng kinh tế quý để sử dụng cho các tổ hợp lai về sau. Khi tự phối, sẽ xảy ra sự phân li và suy giảm sức sống nhưng không phải là vô giới hạn. Khi các cây tự phối đạt đến trạng thái đồng hợp tử thì suy giảm dừng lại, không còn phân li nữa. Các cá thể sinh ra từ cây đồng hợp tử sẽ rất đồng đều về kiểu hình, lúc này ta có một dòng tự phối và cây tự phối đã đạt trị số tự phối tối thiểu (Inbreeding minimum).

** Tạo dòng tự phối theo phương pháp tiêu chuẩn.*

Phương pháp tiêu chuẩn tạo dòng tự phối là chọn

lộc cá thể kết hợp với thụ phấn cường bức và thụ khả năng phối hợp chung nhằm loại bỏ tất cả các dòng không có khả năng cho ưu thế lai. Khi đã chuyển sang thụ khả năng phối hợp riêng thì chỉ còn lại các dòng tự phối ưu tú nhất.

Do phải thụ phấn cường bức bằng phấn hoa của chính nó nên ở các cây mà hoa đực và hoa cái nở quá chênh nhau, các dạng tự bất hợp thì không thể áp dụng phương pháp tiêu chuẩn được. Phương pháp tiêu chuẩn được áp dụng rộng rãi để tạo ra các dòng tự phối chuẩn ở ngô, dưa chuột, dưa hấu, dưa bở, bí đỏ, bí xanh, cao lương...

Các bước tuân tự để tạo một dòng tự phối chuẩn như sau:

- Vụ thứ nhất:

Trồng vật liệu khởi đầu ở khu thí nghiệm chăm sóc chu đáo để vật liệu sinh trưởng và phát triển tốt. Chọn một số cây đại diện, bao cách li hoa đực và hoa cái, vào buổi sáng khi hoa nở thì lấy phấn của hoa đực thụ phấn cho hoa cái cùng cây. Sau khi thụ phấn hoa cái tiếp tục được bao cách li đến khi quả hình thành (ở ngô thì hạt chín sá), đeo thẻ đánh dấu vào quả đã làm tự phối, thu hoạch hạt để trồng sang vụ sau.

- Vụ thứ 2

Hạt của mỗi quả tạo thành một dòng và năm sau gieo thành 1 hàng khoảng 40 cá thể để tạo thành thế hệ I_1 . Ở I_1 chọn các cây tốt nhất, đạt tiêu chuẩn tiến hành tự phối 8 - 10 cây. Các dòng không đạt loại bỏ.

- Vụ thứ 3:

Mỗi quả tự phối tiếp tục lấy 30 - 40 hạt tốt nhất trồng thành 1 hàng I_2 . Ở I_2 quan sát thấy sự chênh lệch lớn giữa các hàng. Những hàng tương đối đồng đều và đạt yêu cầu thì giữ lại để tiếp tục tự phối, các hàng không đồng đều, sức sống kém bị loại. Trên các hàng đạt yêu cầu tiếp tục chọn ra 8 - 10 cây tốt nhất để tự phối.

- Vụ thứ 4:

Mỗi cây tự phối ở I_2 trồng thành dòng thế hệ I_3 . Số hạt I_3 được chia đôi: 1 phần gieo trong khu chọn lọc để tự phối tiếp, một phần gieo ở khu thử nghiệm để thử khả năng phối hợp chung sớm.

- Vụ thứ 5 - I_4

Tiếp tục tự phối và chọn lọc dòng có sức sống mạnh, đồng thời trồng con lai của các tổ hợp thử khả năng phối hợp chung sớm.

- Vụ thứ 6 - I_5

Trên cơ sở của kết quả thử khả năng phối hợp chung sớm mà loại bỏ tất cả các dòng không có khả năng phối hợp. Số dòng còn lại được trồng và tiếp tục tự phối ở các cá thể điển hình. Một số cá thể khác được chọn để thử khả năng phối hợp chung muộn.

- Vụ thứ 7 - I_6

Các dòng tự phối I_6 đã đạt được độ đồng đều cao, tiến hành nhân ở khu cách li và cho giao phấn trong nội bộ dòng, song song trồng thử nghiệm kết quả của lần thử khả năng phối hợp chung muộn. Dựa vào kết

quả của thử khả năng phối hợp chung muộn, chọn ra các dòng có khả năng phối hợp chung cao nhất để thử khả năng phối hợp riêng. Số dòng được chọn đến giai đoạn này còn tương đối ít và là các dòng ưu tú nhất.

** Tạo dòng tự phối theo phương pháp cải biên*

Để tránh sự cận huyết làm giảm sức sống và trong nhiều trường hợp do hoa đực và hoa cái không nở cùng, do sự bất hợp mà người ta phải áp dụng phương pháp tạo dòng tự phối cải biên. Nội dung cơ bản của phương pháp cải biên không có gì lớn khác so với phương pháp tiêu chuẩn. Điểm khác biệt cơ bản là thay vì thụ phấn cưỡng bức bằng phấn hoa của chính nó thì người ta cho thụ phấn giữa các cây cùng mẹ có quan hệ "chị - em". Các cây chọn để thụ phấn "chị - em" cần có kiểu hình giống nhau, có các tính trạng kinh tế tương tự nhau. Đây chính là phương pháp tạo dòng bố mẹ Halfsib ngày nay không chỉ áp dụng ở những trường hợp không tự phối được mà còn áp dụng rộng rãi ở nhiều loài cây trồng thụ phấn chéo nhằm nâng cao sức sống của các dòng bố mẹ. Tuy nhiên, phương pháp tạo dòng bố mẹ Halfsib cần số thế hệ nhiều hơn mới tạo ra dòng đồng hợp tử và như vậy tốn thời gian hơn so với phương pháp tiêu chuẩn từ 2 - 3 vụ. Các dòng tạo ra theo phương pháp này được kí hiệu bằng chữ S để phân biệt với I.

** Thử khả năng phối hợp*

Khả năng phối hợp là khả năng cho ưu thế lai của dòng tự phối trong các tổ hợp lai. Người ta phân biệt

khả năng phối hợp chung và khả năng phối hợp riêng. Khả năng phối hợp chung là khả năng cho ưu thế lai của dòng tự phối và các dòng khác. Đó là đại lượng trung bình về ưu thế lai của tất cả các tổ hợp lai mà dòng đó tham gia.

Khả năng phối hợp riêng là khả năng cho ưu thế lai của 1 dòng khi đem lai với 1 dòng cụ thể khác. Các cặp có khả năng phối hợp riêng cao nếu đạt yêu cầu trong các giai đoạn thử nghiệm sau sẽ được dùng để sản xuất hạt giống cung cấp cho sản xuất hoặc để tạo các lai kép khi cần thiết.

** Thử khả năng phối hợp chung*

Khi tạo dòng tự phối có rất nhiều dòng được tạo ra (từ vài trăm tới vài nghìn dòng), công việc tự phối sẽ rất lớn và phức tạp. Tuy nhiên, chỉ một số ít trong số các dòng tạo ra có khả năng cho ưu thế lai. Vì lẽ đó mà loại bỏ các dòng không có khả năng cho ưu thế lai sớm sẽ rất có ích, vừa giảm bớt công sức vừa nâng cao hiệu quả chọn giống. Phương pháp thử khả năng phối hợp cho phép loại bỏ các dòng không có khả năng cho ưu thế lai.

** Thử khả năng phối hợp chung sớm*

Ngay đến thế hệ I_3 khi các dòng tự phối được hình thành và đạt độ đồng đều tương đối, cần thử ngay khả năng phối hợp chung. Lần thử này có thể loại bỏ tới 60 - 70% số dòng.

** Thử khả năng phối hợp chung muộn*

Được tiến hành nhờ thế hệ I_5 hoặc I_6 . Lúc này các

dòng tự phối đã đạt độ đồng đều rất cao. Lần thử khả năng phối hợp chung muộn này cần đạt 2 mục tiêu: thứ nhất loại bỏ tất cả các dòng không có khả năng phối hợp cao, thứ hai tìm các dòng có thể phối hợp với nhau để tạo ra giống lai tổng hợp (giống Synthetic hoặc composite) đồng thời cung cấp các dòng ưu tú cho giai đoạn thử khả năng phối hợp riêng.

** Thử khả năng phối hợp chung*

Vật liệu thử (tester) luôn được dùng làm mẹ và được thụ phấn của dòng định thử. Như vậy vừa có thể làm tự phối và vừa lai thử khả năng phối hợp dễ dàng.

Yêu cầu của vật liệu thử là có cơ sở di truyền rộng: đó là các giống tổng hợp, các giống địa phương tốt, hoặc con lai kép. Để tăng độ chính xác cần tăng số cây trong 1 tổ hợp lai lên sao cho đủ hạt để bố trí 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại ít nhất là 20 cây.

** Cách xác định khả năng phối hợp chung:*

Năng suất của tất cả các tổ hợp lai trong lai đỉnh được cộng lại và chia cho số tổ hợp lai để có một trị số trung bình.

Năng suất của con lai từng dòng với Tester được so sánh với trị số trung bình (m). Tất cả các dòng có con lai với năng suất cao hơn năng suất trung bình của tất cả các tổ hợp đều được coi là có khả năng phối hợp chung.

** Thử khả năng phối hợp riêng*

Sau khi thử khả năng phối hợp chung tìm được các

dòng có khả năng phối hợp chung cao nhất thì tiến hành thử khả năng phối hợp riêng giữa các dòng tự phối ưu tú với nhau để tìm tổ hợp lai có ưu thế lai cao nhất.

e. Chọn giống ưu thế lai ở cây tự thụ phấn

Về mặt nguyên lí, chọn giống ưu thế lai ở cây tự thụ phấn không có gì khác so với cây giao phấn. Tuy nhiên, do đặc điểm của cây tự thụ phấn là cây hoa lưỡng tính, bộ phận đực và cái cùng một hoa nên vấn đề sản xuất hạt giống rất khó khăn, trong đó trở ngại lớn nhất là vấn đề diệt bộ phận đực để ngăn chặn tự thụ và tăng cường khả năng nhận phấn ngoài từ dòng giống bố. Phụ thuộc vào số lượng hạt thu được từ 1 quả nhiều hay ít, khả năng khử đực dễ hay khó mà cây tự thụ phấn được chia thành 2 nhóm:

Nhóm thứ nhất bao gồm các loài cây trồng có khả năng sản xuất hạt giống lai theo phương thức khử đực, thụ phấn bằng tay. Các cây trồng thuộc nhóm này thường có rất nhiều hạt từ một quả, khử đực dễ dàng. Nhóm thứ hai bao gồm các loài cây trồng mà một quả có rất ít hạt, khử đực khó khăn, việc sản xuất hạt giống lai theo phương pháp khử đực thụ phấn bằng tay rất tốn kém hoặc hầu như không thực hiện được.

**** Phương pháp tạo giống ưu thế lai ở nhóm cây có khả năng sản xuất hạt giống theo phương thức khử đực thụ phấn bằng tay***

Các loại cây trồng thuộc nhóm này có cà chua, cà bát, thuốc lá, vừng, bông, ớt...

Hệ thống chọn giống ưu thế lai ở nhóm này gồm các bước sau đây:

+ Chọn bố mẹ

Trong tập đoàn giống hiện có hoặc tìm kiếm thêm, dựa vào các nguyên tắc chọn cặp bố mẹ trong lai giống để chọn các dạng bố mẹ cho chương trình chọn giống ưu thế lai

+ Làm thuần bố mẹ

Bản thân các giống ở cây tự thụ đã là các dòng thuần, tuy nhiên vẫn có một tỉ lệ thụ phấn chéo nhất định xảy ra: ở nhóm cây tự thụ phấn không điển hình (bắp cải, hành tây, thuốc lá) thì do tỉ lệ thụ phấn chéo tương đối cao (có thể đến 20%) nên việc làm thuần bố mẹ là rất cần thiết. Chọn các cá thể điển hình, bao cách li để thu hạt tự thụ tuyệt đối, hạt thu được gieo thành dòng, chọn các dòng đồng nhất và tiếp tục bao cách li thêm một lần nữa sẽ có các dạng bố mẹ thuần dùng cho bước tiếp theo. Các dạng bố mẹ tiếp tục bao cách li để thu hạt duy trì.

+ Thử khả năng phối hợp

Chia bố mẹ thành các nhóm, mỗi nhóm 5 - 6 giống để thử khả năng phối hợp giữa chúng với nhau. Tiến hành dialel theo sơ đồ, con lai được trồng thử nghiệm và tính khả năng phối hợp riêng theo mô hình của sơ đồ. Mỗi sơ đồ lại chọn ra một tổ hợp có khả năng phối hợp riêng cao nhất.

+ Lai thử lại và so sánh giống

Các tổ hợp tốt nhất được lai thử lại để có đủ hạt

giống cho bố trí thí nghiệm so sánh giống, các tổ hợp được đầu loại với nhau. Thí nghiệm so sánh giống được bố trí 3 - 4 lần nhắc lại theo khối ngẫu nhiên, diện tích ô thí nghiệm $10m^2$, đối chứng là giống định thay thế. Tổ hợp được chọn phải đạt yêu cầu.

- Là giống đứng đầu thí nghiệm

- Hơn đối chứng về năng suất hoặc một mặt quan trọng nào đó (chống bệnh tốt hơn, chịu rét tốt hơn...). Bước tiếp theo là tổ chức sản xuất hạt giống để cung cấp đủ cho tất cả các loại khảo nghiệm.

** Phương pháp tạo giống ưu thế lai ở nhóm cây không có khả năng sản xuất hạt giống thương phẩm theo phương thức khử thụ phấn bằng tay*

Đây là nhóm cây khó áp dụng phương pháp ưu thế lai nhất. Ở nhóm này nếu không phát triển được dòng mẹ bất dục thì chưa thể nói đến ứng dụng chọn giống ưu thế lai. Mặt khác, ở các cây tự thụ phấn điển hình như lúa, đậu tương, đậu đen, đậu xanh, đậu triều... thì vấn đề truyền phấn từ hoa bố sang hoa mẹ và vấn đề tăng cường khả năng thụ phấn ngoài của dòng bất dục để nâng cao năng suất trong sản xuất hạt lai cũng là những trở ngại không nhỏ. Để áp dụng thành công công nghệ ưu thế lai ở nhóm cây tự thụ phấn điển hình phải giải quyết được hai nhiệm vụ lớn:

- Phải tìm được và phát hiện được dòng bất dục có các tính trạng nông - sinh học quý tiềm năng cho năng suất cao, để duy trì dòng làm mẹ của các tổ hợp lai.

- Xác lập được công nghệ sản xuất hạt lai trong đó nâng cao khả năng nhận phần ngoài, tạo điều kiện tốt nhất cho các vectơ truyền phần, là những vấn đề quyết định.

2. Chọn giống đột biến và đa bội thể

a. Khái niệm

"Đột biến là sự thay đổi đột ngột về vật chất di truyền của tế bào. Đột biến có thể xảy ra ở gene (mất đi hay thay đổi cấu trúc) hoặc ở nhiễm sắc thể".

Đột biến là một hiện tượng thường gặp trong tự nhiên cũng như nhân tạo. Nhìn chung tỉ lệ đột biến xảy ra trong tự nhiên thấp hơn và tốc độ chậm hơn so với đột biến nhân tạo. Đột biến trong tự nhiên gọi là đột biến tự phát. Tần số đột biến thay đổi tùy theo từng loại cây trồng và từng gene riêng biệt. Các nhà chọn giống trước đây đã sử dụng có kết quả các đột biến tự phát là những đột biến có lợi về kinh tế nhằm cải lương các giống cây trồng.

Do tần số đột biến nhân tạo rất cao nên người ta sử dụng để tạo ra giống mới.

Đột biến gene có ý nghĩa rất lớn trong công tác chọn giống, nhằm tăng tỉ lệ các biến dị của sinh vật từ hàng ngàn đến hàng vạn lần, có nhiều biến dị không có trong tự nhiên.

- Về đột biến tự nhiên (tự phát), Serg bush (1942) người Đức đã tìm thấy thể đột biến ở loài đậu (Lupinus - luteus) có hoa màu vàng và trong hạt có dẫn suất làm cho loài đậu này thích hợp làm thức ăn

cho chăn nuôi. Từ đó có nhiều dạng đột biến của loài này được sử dụng.

Ở loài cây ăn quả, phần lớn đột biến tự nhiên được sử dụng trong công tác chọn giống: đó là các loài cây sinh sản sinh dưỡng, các đột biến xoma đem lại kết quả mỹ mãn. Đặc biệt là những loài cây cảnh, nuôi cấy invitro đã tạo ra những đột biến xoma dùng trong chọn tạo giống.

Một ví dụ điển hình là thể đột biến ở ngô: gene opaque được sử dụng để chọn tạo giống ngô lai có hàm lượng lizin cao.

- Về đột biến nhân tạo, khoảng mười năm trở lại đây công tác này được áp dụng sâu rộng bằng việc sử dụng các tia phóng xạ (tác nhân lí học) và tác nhân hoá học. Do vậy, tần số đột biến tăng lên cao: 10^{-3} và là một công cụ để tạo ra giống mới.

Tính đến năm 1984 đã có 34 dạng đột biến về lúa được sử dụng trực tiếp, 13 dạng đột biến được sử dụng gián tiếp trong lai tạo. Trên thế giới đã có chừng 10 loại đậu tạo ra bằng đột biến được sử dụng trực tiếp và 2 dạng đột biến được sử dụng gián tiếp.

Về sinh sản sinh dưỡng: đã có tới 20 loài cây ăn quả, 10 giống mía và khoai tây được sử dụng trực tiếp. Phương pháp này có nhược điểm là không biết trước phương hướng của biến dị và tần số biến dị có lợi là rất thấp. Tuy nhiên nó lại có ưu điểm là thời gian tạo giống nhanh chóng vì phần lớn các biến dị đều di truyền.

b. Vai trò của tạo giống đột biến

* Thay đổi đặc điểm hình thái và đặc tính sinh lí có hiệu quả. Đột biến nhân tạo đã làm thay đổi về cấu trúc của nhiễm sắc thể, gây ra bất dục, làm mất tính ổn định về di truyền, làm thay đổi ở từng gene như các đột biến thân lá đứng ở các loài cây trồng, gây ra những biến đổi đáng kể về kiểu hình của chúng. Tuy nhiên, ngoài những đặc tính có lợi ra còn có đặc tính có hại. Những đặc tính này hầu như ít được sử dụng.

* Tạo ra đột biến ở từng gene: Đột biến gene riêng lẻ đã tạo ra những kiểu hình lí tưởng như thời gian sinh trưởng sớm hơn, tăng khả năng chống chịu với một số loài sâu bệnh hại, làm tăng hàm lượng lizin trong protein.

* Tạo ra đột biến mang tính trạng số lượng: Đặc tính này bao gồm: sản lượng, thời gian sinh trưởng, trọng lượng hạt... làm tăng hàm lượng protein hoặc lượng dầu trong hạt.

* Tạo ra các đột biến xoma: Đột biến xoma thường thấy ở cây cảnh hoặc cây ăn quả, bằng con đường sinh sản sinh dưỡng. Trong kĩ thuật in vitro, bằng việc tái sinh các đột biến kì lạ, đem lại lợi ích cho cây sinh sản sinh dưỡng.

* Tạo ra các gene đánh dấu: Việc sử dụng thành công kĩ nghệ gene đã đáp ứng được yêu cầu nhận biết được các gene đánh dấu. Mặt khác, các gene này lại dễ dàng tạo được bằng các tác nhân gây đột biến gene.

* Đột biến gene làm mất đi mối liên kết cũ, xây dựng mối liên kết mới, dẫn đến làm tăng khả năng tổ hợp của gene.

c. Các loại đột biến:

Nhìn chung đột biến có các loại sau:

- Đột biến điểm (đột biến gene) gây ra sự biến đổi, cấu trúc phân tử của gene. Đột biến này không liên quan đến biến đổi về cấu trúc nhiễm sắc thể và phá hoại quá trình bất chéo.

- Đột biến làm thay đổi cấu trúc của nhiễm sắc thể: đứt đoạn, đảo đoạn... Bất kể sự biến đổi nào đều kèm theo sự biểu hiện của tính trạng và đặc tính mới.

- Đột biến về số lượng nhiễm sắc thể (đa bội thể).

- Đột biến có thể xuất hiện ở bất kì tế bào nào của cơ thể.

- Ở thực vật sinh sản bằng hạt, các đột biến này di truyền cho đời sau, sau khi đột biến xảy ra ở phôi hoặc có ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp đến tế bào sinh dục.

- Ở sinh sản sinh dưỡng, các đột biến xuất hiện ở tế bào có thể được truyền cho đời sau bằng con đường sinh sản sinh dưỡng.

- Không phải tất cả các dạng đột biến đều tìm thấy ngay ở thế hệ tế bào sau, đó là các đột biến lặn. Hiện tượng này kéo dài cho đến khi hình thành hợp tử mà mỗi giao tử trong hợp tử đều mang gene đột biến.

- Đột biến trội có thể xuất hiện ngay ở thế hệ sau.

- Đột biến gene về tính trạng, số lượng do được quy định cùng ảnh hưởng của một số gene mà mỗi gene có tác dụng yếu. Đó là các đột biến trội và nửa trội. Đột biến này cũng khó phát hiện ra ở đời sau.

d. Tác nhân gây đột biến và cách thu nhận

Đột biến nhân tạo có thể tạo ra bằng các tác nhân lí học: tia Rơnghen α , tia β và tia γ ... tác nhân hoá học (Ethilenimin, Dimethyl sunfat, Diethyl sunfat).

**** Gây đột biến gene bằng các tác nhân lí học***

Việc áp dụng các tác nhân phóng xạ trong chọn giống đột biến còn mới mẻ. Đây là các tác nhân có khả năng ion hoá mạnh, trong đó có dạng phóng xạ hạt và phóng xạ điện tử.

- Phóng xạ hạt là dòng nguyên tử và hạt sơ cấp, chuyển động với tốc độ thay đổi.

- Phóng xạ điện từ: là sóng điện từ phát ra trong không gian như tia rơnghen và tia γ .

- Liều lượng phóng xạ: xác định bằng cách đo khả năng ion hoá của phóng xạ trong không khí.

- Năng lượng hấp thụ.

- Đơn vị hoạt tính phóng xạ.

Theo lý thuyết, sinh vật là do các vật chất hữu cơ và vô cơ tạo thành, được cấu tạo từ các nguyên tử và phân tử. Về cấu tạo, nguyên tử có hạt nhân mang điện tích dương và xung quanh mang điện tích âm. Số điện tích âm và dương trong nguyên tử thường

cân bằng. Khi chiếu xạ các tia rơnghen γ , β ... vào cơ thể sinh vật sẽ làm mất đi một số điện tử dẫn đến hiện tượng mất cân bằng và nguyên tử mang điện tích dương.

Như vậy, các tia có tác dụng ion hoá các nguyên tử. Các nguyên tử ion hoá sẽ làm cho các phân tử cấu tạo nên cơ thể sinh vật như AND, protein có những biến đổi về hoá học. Nếu biến đổi hoá học xảy ra trên đơn vị gene thì gene có thể phát sinh đột biến.

** Tính chất và tác dụng của các tia*

+ Tia Rơnghen: do Roentgen phát hiện năm 1896 khi chiếu tia âm cực vào vật rắn. Tia này có bước sóng $10^{-9} - 10^{-12}$ m. Tia Rơnghen được áp dụng rất sớm và rộng rãi trong công tác giống. Tia Rơnghen có đặc điểm không bị lệch bởi từ trường hay điện trường. Tia Rơnghen có hai loại:

- Tia Rơnghen cứng.
- Tia Rơnghen mềm.

Trong thực tiễn người ta thường dùng máy quang tuyến Rơnghen để xử lí. Dùng tia Rơnghen thiết bị đơn giản, chiếu xạ dễ dàng và liều lượng dễ tính.

+ Tia γ : Tia này có bước sóng ngắn nên hiệu quả xuyên thấu tia Rơnghen. Tia γ cũng không lệch bởi từ trường hay điện trường, có tác dụng điện li gián tiếp nhờ hiệu ứng quang điện để xử lí cây trồng. Người ta thiết kế những "trường" γ lớn, trong đó có nguồn γ

Co^{60} được đặt ở trung tâm, bao xung quanh là cây trồng cần nghiên cứu.

+ Tia tử ngoại: Giống tia Ronghen và tia γ , đó là những sóng điện từ, có bước sóng ngắn. Khi đi qua cơ thể sinh vật, tia này không có tác dụng điện li mà chỉ có tác dụng kích thích sự biến đổi hoá học ở bản thân sinh vật.

+ Tia nơtron: Không mang điện li nhưng khi qua cơ thể sinh vật có tác dụng điện li trực tiếp. Khi bắn nơtron vào hạt nhân sẽ làm vỡ hạt nhân, gây ra phản ứng dây chuyền, tạo ra các tia α , β , γ và năng lượng lớn. Căn cứ vào năng lượng, người ta chia làm các loại sau:

- Nơtron nóng.
- Nơtron chậm.
- Nơtron trung gian.
- Nơtron nhanh.
- Nơtron cực nhanh.

+ Tia α : Là một dạng phóng xạ hạt (α là một dòng hạt nhỏ giống nhau về khối lượng, mang điện tích dương nên lệch về cực âm của điện trường), sức điện li của tia này rất lớn.

+ Tia β : Là một dạng phóng xạ hạt (tia này là một dòng hạt mang điện tích âm nên lệch về phía cực dương). Sức xuyên của tia này mạnh hơn tia α , có tác dụng điện li trực tiếp khi qua cơ thể sinh vật. Trong công tác giống, người ta thường dùng các chất phóng xạ P^{32} , S^{35} để xử lí.

* Phương pháp xử lý

Phương pháp xử lý tùy thuộc vào tính chất của các tia, liều lượng xử lý, đặc tính sinh lý của cây, thời gian xử lý và bộ phận cây trồng được xử lý.

Liều lượng tiêu chuẩn (tối hạn): là liều lượng mà ở thế hệ M_1 có từ 30-40% cây sống sót. Liều lượng tiêu chuẩn của phần lớn các cây trồng là từ 5-7 Kr đến 80-100 Kr (đối với tia Ronghen và tia γ)

Lúa: > 75 Kr (Bôra).

Lúa mì mềm: 15 Kr (Valeva).

Ngô: 10 Kr (Valeva).

Đậu tương: 20 Kr (Xandatova).

Đậu Hà lan: 5-10 Kr (Preo - bra) (Valeva, Turkov).

Cà chua: 20 Kr (Turkov).

Khoai tây: 5-10 Kr Nnybon, Taraxenko.

+ Tính chất các tia: Dùng tia Ronghen để xử lý thường làm cho cây có sức sống hữu hình mạnh hơn tia γ . Các tia có mật độ điện li lớn thường cho hiệu quả rõ hơn.

+ Thời kỳ xử lý: Xử lý vào lúc hạt nảy mầm, cây con dễ có kết quả hơn khi xử lý ở thời kì hạt nghỉ và cây già.

+ Vật liệu dùng để xử lý:

- Xử lý ở giai đoạn mạ và cây con: Có thể sử dụng tia γ và tia X, xử lý ở giai đoạn cây trưởng thành ở "trường" γ hoặc ở phòng xử lý γ .

- Hạt: là vật liệu xử lí thông dụng nhất cho cả 2 tác nhân vì mấy lí do:

- Khả năng chống chịu cao với môi trường sinh lí không bình thường.

- Có thể sấy khô, ngâm nước, xử lí nóng hoặc lạnh.

- + Xử lí hạt phần: các dạng hạt phần cũng có thể xử lí với 2 loại tác nhân: lí và hoá học. Các hạt phần thường được xử lí ở giai đoạn hợp tử và cây dị hợp tử.

- + Các bộ phận của cây sinh sản sinh dưỡng: có thể xử lí bằng tia phóng xạ hoặc chất hoá học ở các đỉnh mầm, chồi, nhánh.

- + Nuôi cấy mô và tế bào.

Dùng các tác nhân lí, hoá học xử lí ở giai đoạn nuôi cấy mô và tế bào có tác dụng thúc đẩy và phát triển nhanh việc nghiên cứu. Từ việc xử lí tế bào, khảo nghiệm các thể đột biến, nhân lên thành cây hoàn chỉnh.

** Gây đột biến gene bằng các tác nhân hóa học*

Trong nhiều năm gần đây các nhà khoa học đã sử dụng các tác nhân gây đột biến bằng phương pháp hoá học đã đạt hiệu quả tốt. Nhiều chất hóa học có thể gây ra đột biến bằng phương pháp hoá học đã đạt hiệu quả tốt. Có rất nhiều chất hoá học có thể gây ra đột biến gene và đột biến nhiễm sắc thể như H_2O_2 , CH_3COOH , ethylenimim, Dimethylsunfat...có một số tác nhân hoá học có tác động cực mạnh gọi là chất siêu đột biến như NMU (Nitrozomethyl ure) NEU (Nitrozoethyl ure...)

Gene là một đoạn của phân tử AND gồm có một số nucleotit, quyết định sự tổng hợp protein nhất định. Mã di truyền của sinh vật do các "bộ ba" nucleotit quyết định. Nếu trình tự sắp xếp các nucleotit trong "bộ ba" thay đổi, sẽ làm thay đổi mã di truyền gây nên hiện tượng đột biến.

Một số tác nhân hoá học, đặc biệt là các chất có khả năng ôxy hoá, ethyl hoặc methyl hoá cao tác động lên cơ thể sinh vật sẽ có tác dụng oxy hoá, ethyl hoá các bazơ có đạm chứa trong nucleotit, làm thay đổi cấu tạo hoá học của chúng và gây nên đột biến gene.

Phương pháp xử lí.

Phương pháp xử lí phụ thuộc vào cây, bộ phận xử lí và tác nhân xử lí. Ngoài ra còn phụ thuộc vào thời kì sinh trưởng, phát dục của cây. Các tác nhân hoá học có đặc điểm chung sau:

- Có khả năng thẩm thấu cao.
- Có đặc điểm làm thay đổi keo nguyên sinh.
- * Phương hướng chọn giống đột biến hiện nay.

Nhìn chung các nhà khoa học trên thế giới hiện nay sử dụng các tác nhân lí, hóa hoặc kết hợp hoặc xử lí riêng rẽ theo những mục tiêu:

Tăng tần suất đột biến tối đa.

Làm cho phổ đột biến rộng hơn. Do vậy, thường được xử lí theo hướng sau:

- + Dùng các tác nhân hoá học riêng rẽ.

- + Kết hợp giữa các tác nhân lí học với hoá học.
- + Kết hợp lí học + hóa học + chất bảo vệ Xistein.
- + Kết hợp lí học + hoá học + lai tạo giống mới.

- Làm thay đổi một số tính trạng riêng biệt với cây trồng như giảm chiều cao cây, tạo giống chín sớm, giống chống hạn và nâng cao chất lượng hạt ở cây trồng. Về cây lúa, các nhà khoa học đã đạt được những thành tựu đáng kể: tạo giống lúa Patna (chín sớm) có thể trồng 3 vụ 1 năm, tạo giống MYu 17 và N₂₂, giống Tai chung Native 3 thân thấp, năng suất cao và có khả năng chịu hạn.

Ở các loại cây khác nhau, đối tượng xử lí khác nhau, ở cây ăn hạt và cây sinh sản sinh dưỡng xử lí với các tác nhân khác nhau.

** Đa bội thể và ứng dụng trong chọn giống*

" Những sinh vật trong tế bào sinh dưỡng có số lượng nhiễm sắc thể tăng theo một bội số nguyên lần của bộ nhiễm sắc thể đơn bội (từ 3n trở lên) được gọi là đa bội thể". Đa bội thể là hiện tượng thường thấy trong tự nhiên. Từ sinh vật hạ đẳng đến sinh vật thượng đẳng, từ cây dại đến cây trồng, từ thực vật đến động vật; ở lớp bí tử có hơn 1/2 là đa bội thể. Ví dụ: trong họ Poligonaceae, Rosaceae, gramineae...thì loại hình đa bội thể chiếm địa vị chủ yếu. Trong số 107 loài hoà thảo có tới 71,96% là loại hình đa bội thể. Trong lớp bí tử còn thấy:

Cây thân thảo nhiều năm có nhiều đa bội thể hơn cây ít năm.

Cây thân gỗ ít loại hình đa bội thể hơn cây thân thảo.

Cây 1 lá mầm có nhiều loại hình đa bội thể hơn cây 2 lá mầm.

Ngay giữa các loài thực vật, sự phân bố các loại hình đa bội thể cũng không theo quy luật.

Các loại hình đa bội thể, đặc biệt là đa bội thể nhân tạo có nhiều giá trị như tăng năng suất, phẩm chất. Các giống cà chua, dưa hấu, cam không hạt, giống tằm tứ bội thể... được nuôi trồng rộng rãi ở nhiều nước là do dùng phương pháp đa bội thể tạo ra.

+ Các dạng đa bội

- Đa bội cùng nguồn: Là đa bội thể được tạo nên bởi những bộ nhiễm sắc thể giống nhau của cùng một loài. Nếu bộ nhiễm sắc thể cơ bản là A, thể lưỡng bội là AA, tam bội là AAA, tứ bội là AAAA... Nó còn có tên là tự đa bội vì đa bội thể này được xem như tự nhân lên của các thể có số lượng nhiễm sắc thể thấp hơn nó.

Thể đa bội này quá trình phân bào giảm nhiễm xảy ra khó khăn nên thường bị bất thụ. Đồng nguyên đa bội thể được hình thành bằng con đường tự phát hay nhân tạo. Có thể xảy ra do:

- Sự tăng đôi số lượng nhiễm sắc thể trong hợp tử khi số lượng nhiễm sắc thể tương đồng không bắt cặp.
- Sự hợp nhất của các giao tử, làm cho giao tử lưỡng bội. Trong trường hợp đó, nếu cây bố mẹ là lưỡng bội sẽ hình thành nên $4x$.

** Đa bội thể khác nguồn, dị nguyên đa bội*

Là loại hình đa bội, được hình thành bằng việc tổ hợp các genôm từ 2 hoặc nhiều loài làm tăng bội số nhiễm sắc thể của cùng loài. Trong thực tiễn thường gặp ở cây thuốc lá, bông.

Đa bội thể khác nguồn được hình thành trong tự nhiên: trong tự nhiên việc hình thành loại hình đa bội thể này thông qua con đường lai tạo tự nhiên và tăng bội số nhiễm sắc thể của cơ thể lai. Quan hệ về bộ gene xảy ra trong tự nhiên ở loài cải đã chứng tỏ điều này.

Đặc điểm của đa bội thể khác nguồn:

- Đặc tính của dị nguyên đa bội phụ thuộc vào đặc điểm của bố mẹ.
- Đặc điểm di truyền của dị nguyên đa bội không phức tạp như đồng nguyên đa bội vì trên thực tế dị nguyên có kiểu di truyền lưỡng bội với hai alen ở một locus.

** Đa bội lệch*

Sự thay đổi bộ nhiễm sắc thể không bằng bội số mà tăng hay giảm từng nhiễm sắc thể riêng biệt được gọi là đa bội thể lệch.

Các thể lệch bội đã được phát hiện ở nhiều sinh vật và thực vật: lúa mì, ngô, cà chua, bông, thuốc lá... Các dạng đa bội lệch dẫn tới các biến dị, sức sống kém do mất cân bằng bộ nhiễm sắc thể.

Sử dụng các dạng đa bội lệch để xác định nhóm

gene liên kết. Trong lai xa, các dạng đa bội lệch được sử dụng trong thực nghiệm nhằm thay đổi thành phần bộ nhiễm sắc thể như thêm vào hay thay thế nhiễm sắc thể.

** Quá trình hình thành đa bội thể trong tự nhiên.*

Trong điều kiện tự nhiên, khi điều kiện ngoại cảnh (nhiệt độ, ánh sáng...) biến đổi đột ngột có thể phát sinh loại hình đa bội thể. Đó là sự tăng bội số lượng nhiễm sắc thể của tế bào sinh dưỡng và tế bào sinh dục.

Khi phân chia giảm nhiễm sinh ra tế bào có 2 nhân.

Lần phân chia thứ nhất hoàn toàn bị khống chế.

Từ lần phân chia thứ nhất đến lần 2 sinh ra giao tử nhị bội thể ($2n$).

** Một số đặc điểm của cây đa bội*

Thân cây cao to, phân cành ít, lá to, dày, màu xanh đậm, khí khổng và hạt phấn lớn, hoa quả to.

Ví dụ: chiều cao của cây cà chua đa bội thể gấp rưỡi, gấp 2 bình thường.

Cây đa bội sinh trưởng phát triển chậm hơn so với bình thường.

Cường độ hô hấp, áp suất thẩm thấu của tế bào nhỏ hơn cây nhị bội.

Cây đa bội có khả năng chống chịu cao hơn như chống hạn, chống bệnh.

Hàm lượng các chất như đường protein, lipid, vitamin...ở cây đa bội cao hơn cây nhị bội.

- Đặc tính bất dục: thường thì đồng nguyên đa bội

hoặc cây tam bội biểu hiện bất dục cao, đó là do quá trình phân chia của tế bào ở cây đa bội không bình thường. Đối với cây ăn quả như cam, táo, dưa... và đặc biệt ở cây sinh sản vô tính và cây ăn quả thì thuận lợi, nhưng ở cây ăn hạt thì cần khắc phục bằng phương pháp lai tạo, chọn lọc hoặc xử lí colchicines để khắc phục hiện tượng này.

Đặc tính di truyền:

- Cây đa bội thể có ưu thế lai duy trì được lâu hơn cây nhị bội.

- Cây giao phấn đa bội khi tự phối ít biểu hiện thoái hoa hơn cây nhị bội.

- Cây đa bội ít phân li hơn cây nhị bội.

** Phương pháp tạo giống đa bội thể*

- Nguyên tắc xử lí đa bội thể

Xử lí đa bội thể là dùng các tác nhân lí, hoá học... tác động vào cơ thể sinh vật, đặc biệt là lúc tế bào đang phân chia, làm cho chúng phân chia không bình thường và hình thành nên cây đa bội. Khi xử lí cần tuân thủ các nguyên tắc sau:

- + Xử lí lúc tế bào phân chia nguyên nhiễm và giảm nhiễm mạnh nhất: Tế bào phân chia nguyên nhiễm mạnh ở các mô phân sinh đầu thân rễ... như lúc hạt nảy mầm, cây phân cành. Tế bào phân chia giảm nhiễm mạnh nhất là lúc hình thành tế bào mẹ hạt phấn.

- + Tác động vào lúc tế bào đang phân chia ở giai đoạn hậu kì. Lúc này, các nhiễm sắc thể đang đi về 2

cực, do các nhân tố ảnh hưởng làm đứt các dây tơ vô sắc làm cho số lượng nhiễm sắc thể ở nhân tế bào tăng lên gấp đôi.

+ Tác động vào giai đoạn mặt kì, lúc tế bào chưa phân chia. Nhân tố ảnh hưởng sẽ kìm hãm sự phân chia tế bào và sinh ra tế bào có 2 nhân.

** Phương pháp xử lí*

Các tác nhân gây đa bội thể có thể phân chia ra 2 loại chính:

- Tác nhân vật lí: dùng chấn thương cơ giới, sức li tâm hoặc thay đổi ôn độ đột ngột.

- Tác nhân hoá học như: conxixin, indol acetic axit, sunfamit... nhưng hiệu quả nhất là conxixin (colchicine)... Trong các tác nhân lí hoá học, phổ biến nhất hiện nay thường áp dụng 3 phương pháp chính như sau:

+ Phương pháp chấn thương

Phương pháp này có hiệu quả nhất đối với cây họ cà. Dùng phương pháp gây chấn thương, người ta đã tạo ra được nhiều cây đa bội có giá trị ở táo, mía, cà rốt, cà chua, bắp cải, nhỏ...

Ví dụ: Ở cà chua, lúc cây hình thành được 5 - 6 lá thì cắt đầu ngọn. Từ vết cắt sẽ hình thành nên mô sẹo, sinh ra biến dị mầm và phát triển thành cây đa bội.

+ Phương pháp thay đổi nhiệt độ

Trong tự nhiên các loại hình đa bội ít nhiều được hình thành theo hướng này.

Ví dụ: Với lúa cho hạt nảy mầm (không quá 24h) rồi đưa vào nhiệt độ cao 45 - 47°C (từ 25' - 30') có thể tạo ra cây đa bội.

- Lúc hình thành tế bào mẹ, hạt phấn đưa vào nhiệt độ 43°C (từ 20' - 30') có thể hình thành hạt phấn nhị bội hoặc đa bội thể.

- Phương pháp xử lí bằng conxixin (Colchicine.L). Conxixin có công thức hoá học $C_{22}H_{25}NO_6$, là một chất kiềm thực vật có độc tính cao, chiết suất từ rễ cây *Coxixin-autumnale.L* mọc nhiều ở Địa Trung Hải, dễ tan trong rượu, benzen, nước lã nhưng lại không hoà tan trong nước nóng.

Khi xử lí cần chú ý đến nồng độ và thời gian thích hợp.

+ Nồng độ:

- Nồng độ biến động từ 0,01% - 1,6% thông thường áp dụng ở nồng độ 0,2%.

Thời gian xử lí kéo dài từ 1 - 10 ngày, tùy theo đối tượng và bộ phận cây trồng khi xử lí.

+ Đối tượng xử lí:

- Hạt khô: trực tiếp ngâm vào dung dịch Colchicine có nồng độ và thời gian thích hợp, tùy loại cây trồng.

- Xử lí vào điểm sinh trưởng của mầm hoặc cây con bằng phương pháp sau:

Gieo cho hạt nảy mầm, dùng dao rạch chỗ tiếp giáp điểm sinh trưởng rồi nhỏ thuốc vào, dùng bông hoặc giấy thấm thấm thuốc vào điểm sinh trưởng.

- Trồng cây con vào chậu, lật ngược chậu để định sinh trưởng tiếp xúc với Colchicine.

- Ngâm đầu rễ vào dung dịch.

+ Thời gian thường dùng để xử lí: 1 - 4 ngày.

- Sau khi xử lí xong phải rửa sạch bằng nước vô trùng để tránh thuốc ngấm vào tế bào vượt quá giới hạn.

- Khi xử lí cần thao tác cẩn thận, dùng để thuốc dính vào cơ thể sẽ gây độc.

** Các phương pháp chọn tạo tự đời M₁ đến các thế hệ sau của tạo giống đột biến*

Các phương pháp chọn lọc ở quần thể đột biến ở cây tự thụ phấn cũng tương tự như ở quần thể lai. Đó là áp dụng phương pháp gieo lại (trồng đồn) và phương pháp phả hệ.

3. Chọn giống kháng sâu bệnh

a. Sử dụng khả năng để kháng trong phòng trừ sâu bệnh

Trong trồng trọt, sâu và bệnh là hai kẻ thù làm giảm đáng kể năng suất và phẩm chất nông sản. Bệnh gây ra bởi nấm, vi khuẩn, virus mycoplasma và tuyến trùng. Những tác nhân gây bệnh cho cây được gọi là thể gây bệnh. Cây trồng cũng có thể bị hại, do nhiều loài sâu hại khác nhau. Hậu quả quan trọng nhất của hầu hết sâu bệnh gây ra cho cây là giảm sinh khối và do đó làm giảm năng suất theo 4 con đường: làm chết cây gây khuyết vượt quá khả năng

bù của cây lân cận (ví dụ héo mạch dẫn, nấm địa sinh, sâu đục thân); cây nhỏ còi cọc do sự rối loạn trao đổi chất, mất chất sinh dưỡng hay dễ bị tổn thương (ví dụ nhiều loại virus, rệp, tuyến trùng); làm chết cành (ví dụ nhiều loài sâu đục thân, một số nấm gây chết ngọn); phá huỷ mô lá (ví dụ nấm gỉ sắt, sương mai, đốm lá và côn trùng gây cháy lá).

Thiệt hại do sâu bệnh rất lớn. Dịch sâu bệnh hại cũng là nguyên nhân mất mùa ở nhiều loại cây trồng nông nghiệp. Cây trồng có thể được bảo vệ chống lại bệnh và sâu hại bằng các biện pháp canh tác, tác nhân phòng trừ sinh học, sử dụng thuốc hoá học và đưa khả năng kháng sâu bệnh vào cây.

Chọn giống kháng sâu bệnh - một dạng chủ yếu của phòng trừ sinh học - là một bộ phận không thể tách rời của bất kì một hệ thống phòng trừ sâu bệnh nào. Khả năng kháng của kí chủ là một giải pháp ít tốn kém nhất và phương pháp lí tưởng để phòng trừ sâu bệnh nếu muốn duy trì năng suất và các đặc tính mong muốn khác. Sử dụng khả năng kháng có nhiều ưu điểm so với phương pháp phòng trừ hoá học.

- Giảm chi phí thuốc trừ sâu bệnh và giảm liều lượng thuốc hoá học cần thiết.

- An toàn cho nhà nông và người tiêu dùng vì giảm sự tiếp xúc với thuốc và giảm dư lượng thuốc trong sản phẩm.

- Giảm ô nhiễm môi trường do thuốc hoá học phòng trừ sâu bệnh.

b. Các cơ chế tự vệ của cây

**** Cơ chế tránh***

Cơ chế tránh làm giảm xác suất tiếp xúc giữa cây và sâu bệnh hại. Cơ chế này hoạt động trước khi thiết lập sự tiếp xúc gần gũi giữa kí chủ và kí sinh. Cơ chế tránh hoạt động chủ yếu chống lại động vật gây hại, đặc biệt là côn trùng, nhện và động vật có xương sống. Nhóm gây hại này kết hợp các cơ quan cảm giác và khả năng di chuyển chủ động tìm nguồn thức ăn. Chúng biểu hiện tập tính rất phức tạp thông qua thị giác và kích thích hoá học. Vì thế, hình dáng bên ngoài và mùi vị của cây phải không hấp dẫn. Như vậy, cơ chế tránh có bản chất hình thái (màu sắc lá, lông, dạng lá) hay hoá học (chất xua đuổi). Trong các tài liệu, cơ chế tránh sâu hại còn gọi là tính không ưa thích.

Tránh bệnh tương đối khó vì thể gây bệnh không có cơ quan cảm giác. Một ví dụ điển hình là lá đứng ở một số cây cốc làm giảm sự bám đậu của nguồn bào tử gỉ sắt so với các giống có lá nằm ngang. Nhiều loại nấm xâm nhập lá qua khí khổng. Nấm tìm khí khổng dựa vào đặc điểm của lớp biểu bì. Cấu trúc biểu bì thay đổi làm cho thể gây bệnh không phát hiện và tìm thấy được khí khổng.

**** Cơ chế kháng***

Kháng là khả năng của cây làm giảm sự sinh trưởng và phát triển của kí sinh sau khi sự tiếp xúc với kí chủ được khởi phát và thiết lập.

Đối với sâu hại, tính kháng thể hiện thông qua tỉ lệ chết cao hay giảm khả năng sinh sản còn gọi là kháng sinh. Kháng sinh là ảnh hưởng có hại của mô hoặc cây tới phát triển và sinh sản của sâu hại khi sâu hại dùng cây làm thức ăn. Khi sâu hại tấn công cây có cơ chế kháng này chúng có thể bị chết, đẻ ít trứng hơn, tạo ra ít sâu non, kéo dài thời gian đến thành thực, hay có tốc độ sinh trưởng chậm. Một số nhà nghiên cứu cho rằng kháng sinh là dạng kháng sâu thực sự duy nhất ở thực vật. Một ví dụ về cơ sở sinh hoá của kháng sinh là ngô kháng sâu đục thân châu Âu. Chất hoá học phân lập và xác định là 6-methoxybenzoxazolinone có mặt trong lá của các dòng tự phối kháng sâu. Chất hoá học này ức chế sinh trưởng của sâu non.

Tính kháng có thể hoàn thành nếu sinh trưởng và phát triển của kí sinh cản trở hoàn toàn. Tính kháng cũng có thể là tính trạng số lượng. Tương tự như các cơ chế tránh, cơ chế kháng cũng rất đa dạng. Cơ chế kháng có thể thụ động và chủ động. Trong cả hai trường hợp tính kháng có thể mang bản chất sinh hoá học, sinh lí, hay giải phẫu. Ví dụ, kháng thụ động có bản chất sinh hoá là sự có mặt của catechol và a-xit protocatechuic ở lớp vỏ ngoài củ hành có tác dụng chống lại bệnh thán đen.

Việc tạo ra phytoalexin trong các tế bào xung quanh điểm sâu vào bệnh hại là một ví dụ kháng chủ động có bản chất sinh hoá. Phytoalexin chủ yếu là những hợp chất phenol trọng lượng phân tử thấp có

khả năng kháng vi sinh vật, ít nhiều đặc thù với cây tạo ra nó. Phần lớn các loài thực vật đều có khả năng sản sinh phytoalexin. Tuy nhiên, ở cây cảm nhiễm hợp chất này hoặc không được tạo ra khi nhiễm bệnh hoặc được sản sinh với lượng thấp hơn so với cây kháng.

Siêu cảm là một dạng kháng chủ động rất phổ biến đối với vi virus, vi khuẩn, nấm, tuyến trùng và một số loài sâu hại. Các tế bào xung quanh vùng bị hại chết nhanh, loại trừ sự phát triển tiếp của tế bào gây bệnh.

** Cơ chế chịu sâu, bệnh*

Cơ chế chịu sâu bệnh là khả năng của cây chịu đựng sự tấn công của sâu, bệnh hại mà không làm giảm năng suất nghiêm trọng, mặc dù giống cảm nhiễm với sâu, bệnh. Chịu không làm giảm mức bị hại do sâu, bệnh. Nói cách khác chịu là điều kiện mà trong đó 2 giống biểu hiện mức bị hại như nhau ở bất kỳ một thời điểm nào, có phản ứng định lượng khác nhau đáng kể đối với mức độ thiệt hại. Giống không chịu bị tổn thất về kinh tế trong khi đó giống chịu vẫn cho năng suất cao.

Cơ chế chịu có thể do các yếu tố sinh lí, như cây phục hồi nhanh sau khi bị hại hoặc khả năng sinh trưởng bù.

c. Di truyền của tính kháng sâu, bệnh

** Tương tác gene đối gene*

Các gene chính kháng bệnh tương tác rất đặc thù

với gene chính không gây bệnh. Đối với mỗi gene kiểm soát tính kháng ở kí chủ thì có một gene đặc thù kiểm soát tính gây bệnh trong ký sinh.

Gene kháng không có hiệu lực nếu thể gây bệnh mang alen gây bệnh phù hợp (thường là lặn). Gần như tất cả các nhà khoa học ngày nay đều thống nhất là tương tác đặc thù biểu hiện giữa các alen trội kháng bệnh và các alen trội không gây bệnh. Nói cách khác, alen kháng ở kí chủ chỉ hoạt động nếu kí sinh mang gene alen không gây bệnh.

Phản ứng kháng có thể do gene trội, gene ẩn, hay nhân tố tế bào chất. Tương tự, tính gây bệnh cũng có thể do gene trội, gene ẩn hay nhân tố tế bào chất. Như vậy, phản ứng có liên quan đến một cặp gene - một trong kí chủ và một trong kí sinh. Cặp gene kí chủ - kí sinh này gọi là "cặp gene tương ứng".

Giả thiết gene-đôi-gene có thể áp dụng cho các chiến lược áp dụng trong chọn tạo giống. Các giống có gene kháng đơn có ít hứa hẹn trong việc bảo vệ cây khi đã có gene gây bệnh tồn tại trong vùng. Hơn nữa, sử dụng gene kháng đơn kéo theo rủi ro lớn vì một đột biến đơn lẻ trong thể gây bệnh hoặc tái tổ hợp các gene kháng có thể khắc phục hàng rào kháng bệnh. Ngược lại, giống có nhiều gene kháng sẽ duy trì khả năng kháng lâu dài hơn vì xác suất đột biến ở nhiều gene gây bệnh xảy ra cùng một lúc thấp hơn hoặc tái tổ hợp các gene gây bệnh xảy ra cùng một lúc thấp hơn hoặc tái tổ hợp các gene gây bệnh đòi hỏi thời

gian lâu hơn. Do đó, nếu kiểm soát được quần thể gây bệnh thoả đáng có thể xác định được các nòi mới mà bổ sung gene kháng trong chương trình chọn giống.

** Nòi sinh lí và khả năng kháng đặc thù*

Đối với thể gây bệnh hay kí sinh, đặc biệt kí sinh chuyên tính trong nội bộ loài thường có nhiều nhóm khác nhau gọi là nòi. Chúng không khác nhau về hình thái nhưng khác nhau trong sự lựa chọn kí chủ và sự chuyên hoá sinh lí nên đôi khi còn gọi là nòi sinh lí (hay kiểu gây bệnh). Như vậy, các nòi sinh lí có đặc điểm gây bệnh khác nhau đối với bộ giống thử.

Vì có nhiều nòi sinh lí khác nhau phân bố theo không gian và thời gian nên việc chọn giống kháng nhiều nòi cùng lúc rất khó khăn. Điều quan trọng là các chương trình chọn giống cần phải kiểm soát được sự xuất hiện và phân bố của các nòi để đảm bảo gene kháng được đưa vào phù hợp với quần thể gây bệnh mà cây trồng phải thử thách. Trong thực tế nhà chọn giống chỉ có thể chọn giống kháng với những nòi chủ yếu của những thể gây bệnh nhất định, đặc biệt khả năng chống bệnh gỉ sắt và phấn trắng ở cây cóc, sương mai ở cà chua và khoai tây. Khả năng kháng kiểu này gọi là khả năng kháng đặc thù với nòi sinh lí. Các giống có khả năng kháng đặc thù này có đóng góp đáng kể vào việc phòng trừ bệnh ở nhiều vùng sinh thái nông nghiệp. Tuy nhiên, các giống kháng đặc thù với nòi sinh lí thường dễ mất khả năng

kháng và dịch bệnh lại bùng nổ trở lại. Nguyên nhân mất tính kháng là:

- Giống kháng làm tăng áp lực chọn lọc đối với các nòi chủ yếu, qua đó tỉ lệ của chúng trong quần thể gây bệnh bị giảm. Hậu quả là những nòi có tỉ lệ thấp mà giống không có khả năng kháng tăng nhanh làm cho chúng mới trở thành phổ biến và giống trở nên cảm nhiễm.

- Sự xuất hiện các nòi sinh lí mới - những nòi không tồn tại vào thời điểm chọn giống được tiến hành. Các chủng này hình thành nhờ đột biến và tái tổ hợp gene.

** Tính kháng dọc và kháng ngang*

Tính kháng dọc là phản ứng kháng khác nhau của cây với các nòi sinh lí và khi lây bệnh một giống với nhiều nòi sinh lí. Nói cách khác, một giống kháng một số nòi này nhưng cảm nhiễm với các nòi khác của cùng thể gây bệnh. Xét về mặt di truyền, tính kháng dọc đồng nghĩa với tính kháng đơn gene (hay ít gene). Ngược lại, tính kháng ngang không mang đặc thù theo nòi mà phản ứng tương đương nhau với tất cả các nòi và được kiểm soát bởi nhiều gene (đa gene).

Do sự khác nhau về cơ chế di truyền, khả năng kháng dọc và kháng ngang ảnh hưởng khác nhau tới dịch tễ học của thể gây bệnh. Khả năng kháng ngang giảm nguồn lây bệnh ban đầu và trì hoãn sự bùng nổ dịch bệnh. Vì thể gây bệnh lây lan từ cây này sang cây khác, từ ruộng này sang ruộng khác nên khả

năng kháng ngang có hiệu lực nếu tất cả cây cùng giống không có cùng kiểu gene kháng hoặc nếu giống khác có gene kháng khác nhau được gieo trồng bên cạnh. Khả năng kháng dọc không thể ngăn ngừa tự nhiễm - sự nhiễm từ lá này sang lá khác trên cùng một cây nhưng có thể ngăn ngừa dị nhiễm - nhiễm từ cây này sang cây khác và từ ruộng này sang ruộng khác với điều kiện là các cây và các giống có các gene kháng dọc khác nhau. Do đó, thời gian tồn tại của khả năng kháng dọc phụ thuộc vào sự đa dạng di truyền trong giống và số giống có gene kháng khác nhau.

Ngược với khả năng kháng dọc, khả năng kháng ngang không làm giảm nguồn lây bệnh ban đầu nhưng làm giảm tốc độ của dịch bệnh sau khi dịch bệnh đã khởi phát.

Kháng bệnh ngang còn gọi là kháng bệnh của đồng ruộng hoặc kháng bệnh không hoàn toàn. Khả năng kháng này là tập hợp các nhân tố bao gồm những tổ hợp khác nhau của các yếu tố cấu thành:

- Thể gây bệnh cần thời gian lâu hơn để xâm nhập.
- Tạo thành số vết bệnh ít hơn với cùng liều lượng lây bệnh.
- Thời gian từ khi nhiễm bệnh đến hình thành vết bệnh dài hơn.
- Giảm độ lớn của vết bệnh.
- Thời gian giữa lúc hình thành vết bệnh ít hơn.
- Giảm số lần mà thể gây bệnh tạo bào tử.

Các dạng kháng bệnh khác được mô tả: gỉ sắt chậm, sương mai chậm, rỉ sắt muộn... Các thuật ngữ này mô tả sự biểu hiện trên đồng ruộng của các giống có khả năng kháng bệnh.

d. Chọn giống kháng sâu, bệnh

Chọn giống kháng bệnh và sâu hại có nhiều đặc điểm chung như chọn giống đối với nhiều tính trạng khác. Tuy nhiên, chọn tạo giống kháng sâu bệnh tương đối phức tạp vì mục tiêu chọn giống liên quan tới sự thay đổi trong mối quan hệ với quần thể của thể gây bệnh hoặc sâu hại, có khả năng biến dị và tiến hoá. Thêm nữa, các gene đề kháng chỉ có thể xác định được khi cây mang gene đề kháng tương tác với thể gây bệnh hoặc sâu hại trong điều kiện môi trường mà cây cảm nhiễm thường bị bệnh hay bị tổn thương.

* Tạo ra biến dị di truyền trong vật liệu chọn giống phân li đủ đa dạng để có được những tổ hợp các tính trạng mong muốn.

* Giám định và chọn dạng mong muốn sao cho thích hợp với việc nhân giống vô tính hay ổn định về mặt di truyền để sản xuất.

**** Nguồn kháng sâu bệnh***

Sau khi xác định được mục tiêu, bước đầu tiên trong chương trình chọn giống kháng sâu bệnh là giám định nguồn kháng sâu bệnh thích hợp. Do đó, phải nghiên cứu biến dị kiểu gene trong một loài và trong các loài hoang dại thân thuộc. Nếu vấn đề sâu bệnh mới nảy sinh, nơi tốt nhất để tìm kiếm tính đề

kháng là trong các giống thích nghi với điều kiện địa phương. Ưu điểm của việc sử dụng giống địa phương là ít có nguy cơ gây ra tính cảm nhiễm với sâu bệnh khác vì chúng đã được thử nghiệm trong điều kiện địa phương.

Các giống nhập nội từ các vùng khác trên thế giới thường cung cấp nguồn kháng bệnh rất tốt. Ví dụ, lúa mì khi Kenia và Ôxtrâylia cung cấp nguồn gene có kháng gỉ sắt giá trị cho các giống hiện hành ở Mỹ và Canada; đại mạch của Ethiopia đã cung cấp nguồn kháng virus vàng lùn; nguồn gene mía đường từ Giava và Ấn Độ cung cấp nguồn kháng hoa lá cho các giống mía ở Mỹ.

Phần lớn các cây trồng có trung tâm đa dạng sơ cấp và thứ cấp, lại có tính đa dạng di truyền rất cao. Trung tâm sơ cấp có các loài hoang dại thân thuộc. Cũng như cây trồng, thể gây bệnh cũng có các trung tâm khởi nguyên. Các trung tâm của cây trồng và thể gây bệnh có thể trùng nhau. Những nơi kí chủ và kí sinh song song tồn tại trong một thời gian dài thường là những nơi tốt để tìm kiếm sự đa dạng của tính kháng bệnh (Leppik, 1970). Tuy nhiên những nơi này cũng là nguồn của thể gây bệnh, nên nhà chọn giống phải hiểu biết và thận trọng khi nhập nguồn kháng bệnh.

Các loài họ hàng hoang dại thân thuộc thường có khả năng kháng sâu bệnh hơn các loài trồng trọt, đặc biệt khi kí sinh và kí chủ có mối quan hệ lâu dài. Qua

quá trình tiến hoá và chọn lọc, các dạng kháng siêu việt sống sót và tồn tại nguồn kháng có giá trị. Một ví dụ quen thuộc, là khả năng kháng bệnh sương mai và kháng virus Y khoai tây có nguồn gốc tương ứng từ các loài họ hàng là *Solanum demissum* và *S. stoloniferum*. Hạn chế trong việc sử dụng các loài hoang dại thân thuộc cho các chương trình chọn giống là sự bất dục, thiếu sự cặp đôi của nhiễm sắc thể và liên kết của các gene kháng với những tính trạng bất lợi. Tuy nhiên, các loài hoang dại thân thuộc của lúa mì, tiểu mạch, mía, thuốc lá, cà chua, khoai tây, và nhiều cây trồng khác đã đóng góp các gene kháng sâu bệnh có giá trị cho các loài cây trồng.

** Đánh giá tính kháng sâu bệnh*

Trong chọn tạo giống kháng sâu bệnh, phương pháp để xác định sự khác nhau giữa các cây về phản ứng với sâu bệnh rất cần thiết.

Trong phương pháp đánh giá để thử tính kháng sâu bệnh cần phải đáp ứng một số nhu cầu: phương pháp có tính lặp lại; cho phép phân cấp phản ứng khác nhau đối với sâu bệnh; cần tăng gấp đôi mức độ nhiễm của sâu hoặc bệnh trong điều kiện tự nhiên; cho phép đánh giá số lượng cây lớn; phương pháp dễ sử dụng, không quá phức tạp về mặt sinh học, cũng như không đòi hỏi thiết bị đắt tiền; thích nghi với quy trình chọn lọc đối với loài cây trồng cho trước và sử dụng cây con nếu có thể và có thể thử nghiệm nhiều cây để tiết kiệm thời gian không gian.

** Phương pháp lây nhiễm bệnh*

Có nhiều cách lây nhiễm cây với tác nhân gây bệnh, gồm có lây nhiễm tự nhiên, lây trực tiếp, và kĩ thuật đặc biệt trong phòng thí nghiệm.

Có thể thường xuyên sử dụng lây nhiễm tự nhiên. Đây không phải là phương pháp tin cậy nhất nếu không có đủ cường độ hay áp lực hàng năm. Lây bệnh tự nhiên là một phương pháp tốt để sử dụng nhiều địa điểm thuận lợi vì vật liệu được đánh giá thông qua nhiều kiểu sinh học của thể gây bệnh ở nhiều điều kiện môi trường khác nhau. Phương pháp này cũng rất tốt khi chưa xây dựng được phương pháp lây bệnh nhân tạo, như các bệnh địa sinh, hay bệnh virus mà côn trùng làm môi giới truyền bệnh tồn tại từ vụ này sang vụ khác ở cây kí chủ hoang dại.

Lây nhiễm trực tiếp các cây riêng rẽ được sử dụng trong nhà kính hay nhà lưới và trên đồng ruộng với một số bệnh nhất định. Phương pháp lây trực tiếp có thể tin cậy vì người nghiên cứu có thể kiểm soát được nguồn lây bệnh. Lây bệnh trong nhà kính cho phép kiểm soát môi trường nhằm đảm bảo sự nhiễm bệnh và phát triển của bệnh. Tuy nhiên, lây trực tiếp tốn công và thời gian nếu quần thể cây phải đánh giá lớn.

Nếu phải lây từng cá thể cây riêng rẽ, người nghiên cứu phải xác định dạng của nguồn lây bệnh để cảm ứng được bệnh. Khi lây bệnh, nguồn bệnh phải là nguồn nuôi cấy tinh khiết của thể gây bệnh và không có các vi sinh vật khác. Nguồn bệnh nuôi

cây phải có tính gây bệnh tối ưu, tính gây bệnh có thể bị giảm hay mất đi khi nuôi cấy lâu dài không có mặt của cây kí chủ. Côn trùng nuôi lâu bằng thức ăn nhân tạo cũng có thể giảm tính gây hại so với côn trùng tự nhiên. Giảm tính gây bệnh của nguồn lây bệnh có thể dẫn đến phản ứng kháng và nhà chọn giống bị nhầm lẫn cho rằng vật liệu thử nghiệm có tính kháng mà trong thực tế là không. Sử dụng kiểu sinh học hay hỗn hợp các kiểu sinh học của thể gây bệnh phù hợp cũng rất quan trọng. Một kiểu sinh học có thể không thoả đáng để đánh giá sự có mặt của các gene kháng cần thiết nhưng để bảo vệ cây chống lại sự đa dạng của các kiểu sinh học của thể gây bệnh phổ biến trong tự nhiên.

Vườn ươm bệnh trên đồng ruộng thường được sử dụng trong các chương trình chọn giống kháng bệnh. Có thể lây cá thể cây riêng rẽ. Phổ biến hơn người ta lây bệnh bằng cách dùng hàng lây lan, trồng xen giữa vật liệu thử nghiệm.

** Cho điểm phản ứng với bệnh*

Các phương pháp cho điểm phản ứng của cây với bệnh thay đổi theo sự biểu hiện của bệnh và phụ thuộc vào từng loại bệnh cụ thể và loài cây kí chủ. Thông thường người ta dùng hệ thống số hay chỉ số để cho điểm phản ứng của cây. Các nhà nghiên cứu bệnh cây có xu hướng quan sát sự có mặt của bệnh hơn là không có bệnh. Vì vậy, điểm thấp nhất thường thể hiện mức bệnh thấp nhất hay kháng bệnh cao

nhất. Để tạo điều kiện tính toán chỉ số chọn lọc trong chương trình chọn giống, trình tự cho điểm đôi khi đảo ngược. Đối với những bệnh chỉ có thể phân thành 2 lớp: nhiễm bệnh và không nhiễm bệnh như thán thư ở cây cốc, người ta thường tính số cây hay tỉ lệ cây bị bệnh. Số cây bị bệnh có thể kết hợp với cho điểm mức độ bị bệnh và tính toán chỉ số bệnh. Đối với các bệnh hại lá, người ta sử dụng tỉ lệ mô không bị bệnh hay thang điểm dựa vào số lượng và sự phân bố của các vết bệnh. Các số liệu này có ý nghĩa thực sự nếu chúng phản ánh tổn thương thật của cây hoặc sự tổn thất về năng suất. Đối với một số bệnh virus, có thể đo tính kháng bệnh thông qua mức thiệt hại về năng suất do bệnh gây ra. Còn bệnh và cây khỏe của các giống kháng (chịu) có năng suất tương đương nhau. Đối với bệnh gỉ sắt, sương mai và bệnh khác, kiểu nhiễm bệnh thay đổi theo các giống khác nhau. Cây kháng có các điểm biến màu hay hoại tử nhỏ; cây cảm nhiễm có vết bệnh lớn hơn tạo điều kiện cho sự sinh trưởng và sinh sản của thể gây bệnh. Ở một số trường hợp, cây kháng duy trì trạng thái khỏe mạnh lâu hơn cây cảm nhiễm mặc dù cuối cùng cả hai đều có mức bệnh như nhau.

Một số thể gây bệnh tạo ra độc tố gây bệnh đặc thù, như nấm *Helminthosporium maydis* chủng T ở ngô và *H. sacchari* ở mía. Có thể đánh giá tính kháng của các kiểu gene thông qua xử lí bằng độc tố đặc trưng do kí sinh tạo ra. Độc tố tạo ra phản ứng trên

bộ phận của cây được thử nghiệm tương tự như thể gây bệnh.

** Nhiễm sâu và đánh giá mức bị hại*

Phương pháp lây nhiễm với sâu hại và đánh giá phản ứng của cây cũng tương tự như các phương pháp dùng cho thể gây bệnh. Tuy nhiên, có những khác biệt nhất định về đặc điểm sinh học của côn trùng so với thể gây bệnh. Có thể đặt nhiều giống trong cùng một lồng có sâu hại và so sánh giữa các giống sau một thời gian ăn hay đẻ trứng thích hợp. Cũng có thể trồng các giống trên đồng ruộng có lượng lớn sâu hại hay tạo điều kiện để quần thể sâu hại phát triển. Để đánh giá mức độ sâu hại, có thể đếm số sâu trên cây hay lá, tỉ lệ cây hay thân, lá bị hại.

** Phương pháp chọn giống kháng sâu bệnh*

+ Lai

Lai với nguồn có tính kháng và chọn lọc thế hệ cho phân li là phương pháp được sử dụng rộng rãi trong chọn tạo giống kháng sâu bệnh ở nhiều loại cây trồng, đặc biệt ở cây cốc và cây tự thụ phấn khác. Mục đích là kết hợp đặc điểm tốt của hai hay nhiều bố mẹ. Đây là những chương trình chọn tạo giống lâu dài mà nhà chọn giống có thể tiến hành từng bước. Sản phẩm của seri này được sử dụng làm nguồn bố mẹ cho các seri sau. Các chương trình có nhiều tổ hợp lai và đánh giá vật liệu phân li trong phổ rộng của các điều kiện môi trường thường thành công nhất.

+ Lai lại

Phương pháp lai lại được sử dụng khi cần chuyển một tính trạng di truyền đơn giản vào một giống hay dòng. Phương pháp này được sử dụng trong chọn giống kháng sâu bệnh khi các giống hiện có hoàn toàn tốt nhưng cảm nhiễm với một loại sâu bệnh đơn lẻ nào đó. Lai lại có hiệu quả cao khi khả năng kháng sâu hoặc bệnh di truyền ở trạng thái đơn gene. Thông qua lai lại liên tục và chọn lọc, cuối cùng sự phối và chọn, một đoạn nhiễm sắc thể mang gene kháng bệnh mong muốn được chuyển vào kiểu gene của bố mẹ. Phương pháp lai lại cũng có thể được sử dụng có cải tiến để chuyển khả năng kháng sâu hay bệnh do một số gene kiểm soát. Trong trường hợp này nhiều gia đình của thế hệ con lai lại có số lượng lớn có thể được sử dụng. Thông qua giao phối giữa các thế hệ con kháng không hoàn toàn của các gia đình khác nhau, mức đề kháng ban đầu có thể được phục nguyên trong nguồn kháng. Phương pháp lai lại thường cần thiết nếu gene kháng sâu hoặc bệnh nằm ở dạng hoang dại thân thuộc hoặc dạng cây trồng có nhiều tính trạng bất lợi.

+ Chọn lọc chu kì

Nhiều kiểu chọn lọc chu kì đã được áp dụng có kết quả trong chọn giống kháng sâu bệnh khi tính kháng bệnh di truyền đa gene. Ví dụ điển hình là tính kháng đa gene đốm lá ở ngô. Mức kháng ở nhiều quần thể tăng lên bằng cách lai chéo giữa các cây

kháng bệnh nhất trong mỗi thế hệ cho một số chu kì sinh sản. Tiến độ lớn nhất thường thu được trong những chu kì đầu tiên.

+ Lai xa

Có rất nhiều ví dụ về gene kháng bệnh được chuyển vào các giống thương mại thông qua lai giữa các loài và chi. Điều này thực hiện được nhờ sự hiểu biết về di truyền tế bào và sự tiến hoá của cây trồng. Ở lúa mì đã tạo ra các loài tổng hợp và chúng làm cầu nối để chuyển các gene mang vật chất di truyền đối với tính đề kháng sang các loài cây trồng.

Chọn giống bằng phương pháp đột biến đã được nhiều nhà chọn giống sử dụng để tạo ra gene kháng bệnh mới trong các cây nông nghiệp. Đến nay, một số giống kháng sâu bệnh đã được tạo ra bằng phương pháp đột biến cảm ứng.

+ Chọn lọc in vitro

Nuôi cấy mô và tế bào cho phép chọn lọc khả năng kháng bệnh ở các tế bào đơn, mô thực vật không phân hoá hay phôi xoma. Tế bào hay mô cấy được xử lí với độc tố đặc thù của thể gây bệnh làm tác nhân chọn lọc. Những tế bào, callus hoặc phôi sống sót được tái sinh thành cây và những thể tái sinh này có khả năng kháng tác nhân chọn lọc. Thông qua chọn lọc in vitro người ta đã tạo ra ngô kháng bệnh đốm lá nhỏ *Helminthosporium maydis* và khoai tây kháng bệnh mốc sương *Phytophthora infestans*. Ưu điểm của phương pháp này là có thể đánh giá nhiều cá thể

trong điều kiện được xác định. Mỗi đĩa petri hay hình tam giác chứa hàng triệu cá thể. Một khả năng nữa có được trong quá trình nuôi cấy mô và tế bào là biến dị xoma hình thành trong quá trình nuôi cấy mở rộng khả năng chọn lọc. Phương pháp in vitro cũng có thể kết hợp với quy trình chuyển nạp gene.

** Kỹ nghệ di truyền*

Kỹ thuật tế bào và truyền phân tử cho phép chuyển vào các giống cây trồng các gene đơn lẻ (kháng sâu hay kháng bệnh) được phân lập từ bất kỳ một cơ thể sống nào thông qua quá trình chuyển nạp di truyền. Một ví dụ quen thuộc là gene độc tố BT phân lập từ vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* có hoạt tính diệt côn trùng, đặc biệt đối với sâu hại bộ *Lipidoptera* như các loại sâu hại *manduca Sexta*, *Heliothis virescens* và *Heliothis zea*. Đối với virus, người ta đã xây dựng thành công nhiều chiến lược phòng trừ. Chiến lược thành công nhất là chuyển vào cây gene mã hoá vỏ protein. Cây được chuyển gene vỏ protein có khả năng kháng virus chứa gene mã hoá protein ấy và các loại virus có quan hệ gần gũi bằng cách ngăn chặn sự lột vỏ protein của virus khi xâm nhập vào tế bào - một cơ chế bảo vệ chéo. Một chiến lược nữa là chuyển AND bổ sung của ARN vệ tinh kích thước nhỏ vào bộ genom của cây. Phương pháp này đã làm tăng khả năng kháng virus hoa lá ở dưa chuột, cây thuốc lá. AND vệ tinh giảm khả năng nhân và biểu hiện của virus và ứng xử như một kí sinh của virus.

Một chiến lược khác là sử dụng ARN đối cảm của một số virus thực vật cũng có thể làm tăng khả năng kháng virus.

** Sử dụng khả năng kháng sâu bệnh*

Sự đa dạng di truyền của các loài kí sinh cùng với quá trình chọn lọc tự nhiên có thể tạo ra những kiểu gene mới có khả năng phá vỡ hàng rào kháng sâu bệnh của cây. Nguy cơ này đặc biệt lớn với khả năng kháng đặc thù với nòi sinh lí (và kiểu sinh học) hay kháng đơn gene. Điều dễ hiểu là các kiểu gene đột biến có thể phát sinh làm cho kí sinh chuyển từ trạng thái không gây bệnh sang gây bệnh. Những đột biến như vậy có khả năng tấn công giống cây trồng mà trước đây có khả năng kháng, làm cho khả năng kháng bị "sụp đổ".

Khả năng thích ứng của kí sinh với các giống kháng mới được đưa vào sản xuất rất phổ biến ở các thể gây bệnh nhưng ít gặp hơn đối với sâu hại. Khả năng kháng của các giống như thế được gọi là kháng "nhất thời" hay "không bền vững", đặc biệt với các thể gây bệnh chuyên tính. Đối với sâu hại, sự sụp đổ của hàng rào kháng ít gặp hơn. Tuy nhiên, rệp có khả năng thích nghi với giống kháng do khả năng sinh sản vô phối (trinh sinh). Một kiểu gene riêng rẽ khác phục được hàng rào kháng có thể tự sinh sản không cần cạnh tranh và do đó nhanh chóng tạo ra quần thể có khả năng gây hại. Điều này cũng đúng với tất cả các kí sinh có khả năng sinh sản vô tính như phấn

trắng, sương mai và gỉ sắt. Kháng virus thường bền vững hơn.

+ Một số dạng kháng đòi hỏi sự thích nghi phức tạp ở thể gây bệnh hay sâu hại.

+ Sản phẩm của gene không gây bệnh đóng vai trò trong các chức năng sống của kí sinh. Mất đoạn hay đột biến thành gene gây bệnh có thể làm giảm khả năng thích ứng, khả năng sống sót hay khả năng cạnh tranh kí sinh.

+ Các kí sinh địa sinh và thủy sinh lây lan rất chậm từ vùng này sang vùng khác. Các thể đột biến hiếm hoi cần thời gian dài để phát tán rộng trong vùng gieo trồng giống kháng.

+ Một giống kháng có thể có hai hay nhiều gene kháng có hiệu lực đặc thù với nòi. Kí sinh phải đồng thời tạo ra hai hay nhiều đột biến độc lập mới có thể phá được hàng rào kháng của giống.

+ Ở các loại cây trồng một năm chỉ gieo trồng trên diện tích nhỏ và phân tán khả năng lây nhiễm của thể gây bệnh rất ít. Nếu trồng giống kháng thì khả năng lây nhiễm của nòi đột biến còn ít hơn nhiều. Khả năng kháng trở thành bền vững.

IV. KỸ THUẬT SẢN XUẤT HẠT GIỐNG

1. Sản xuất giống là gì?

Sản xuất giống là một phần quan trọng không thể tách rời của công tác giống cây trồng. Khác hoàn toàn với khoa học chọn tạo giống, sản xuất giống hướng tới giữ nguyên bản kiểu gene do kết quả của chọn giống tạo ra với một số lượng lớn đủ đáp ứng nhu cầu của sản xuất đại trà. Sản xuất giống là khâu hiện thực hoá kết quả của tạo giống và đem lại lợi nhuận cho ngành trồng trọt nhờ vào khâu thương mại hạt giống và vật liệu trồng trọt và nhờ vào tăng năng suất, chất lượng nông phẩm do ứng dụng giống mới.

Sản xuất giống dựa trên các cơ sở sau:

- Phương thức sinh sản của cây trồng và đặc điểm cấu tạo của cơ quan sinh sản.
- Bảo tồn kiểu gene đã được tạo ra.
- Hệ số nhân của giống.
- Giá trị gieo trồng của giống và hạt giống.

** Phương thức sinh sản của cây trồng và đặc điểm cấu tạo của cơ quan sinh sản.*

Quy trình công nghệ của sản xuất giống được xây dựng trước hết dựa vào phương thức sinh sản của cây trồng và đặc điểm cấu tạo của cơ quan sinh sản bao gồm cả bộ phận đực cũng như bộ phận cái.

Theo phương thức sinh sản, cây trồng được chia thành 3 nhóm lớn: nhóm cây tự thụ phấn, nhóm cây thụ phấn chéo và nhóm cây nhân giống vô tính.

+ Nhóm cây tự thụ phấn

Bộ phận làm giống là hạt. Hạt giống được tạo ra thông qua thụ phấn, thụ tinh bằng phấn hoa của chính nó. Để đảm bảo cho quá trình tự thụ phấn xảy ra thuận lợi thì cơ quan sinh sản là hoa của cây tự thụ phấn có cấu tạo và chức năng phù hợp. Hoa của cây tự thụ phấn luôn luôn là hoa lưỡng tính: trong một bộ phận cái (nhụy cái) thường ở vị trí thấp hơn bộ phận đực (nhị đực) và nhụy cái luôn thành thực sớm hơn để sẵn sàng tiếp nhận hạt phấn của chính nó. Ở các cây tự thụ phấn điển hình thì phấn hoa sau khi ra khỏi bao phấn thường bị chết nhanh trong vòng 30 phút đến 1 giờ. Nhờ đặc điểm này mà các giống ở cây tự thụ phấn đều là các dòng thuần và khoảng cách li trong sản xuất giống nhằm ngăn chặn quá trình thụ phấn ngoài không cần lớn. Trong nhóm cây tự thụ phấn có nhiều loài thuộc diện tự thụ phấn không điển hình (thuốc lá, vừng, ớt, cà bát...). Ở các loài cây trồng trên có một tỉ lệ hoa mà khi hoa nở thì phấn hoa không tung ngay hoặc do ảnh hưởng của môi trường mà vị trí của nhụy lại cao hơn nhị, do đó nếu các vectơ truyền phấn hoạt động, nhụy cái sẽ nhận phấn từ bên ngoài. Với nhóm cây tự thụ phấn không điển hình, cần bố trí khoảng cách li trong sản xuất giống lớn hơn để nếu nhận phấn ngoài thì cũng là phấn của các cá thể cùng giống.

+ Nhóm cây thụ phấn chéo

Bộ phận làm giống là hạt. Hạt giống được tạo ra thông qua hạt phấn, thụ tinh bằng phấn hoa của hoa khác cùng cây hoặc khác cây. Để đảm bảo cho quá trình thụ phấn chéo xảy ra, cây thụ phấn chéo có cấu tạo cơ quan sinh sản rất đặc thù.

- Cây hoa đơn tính. Có hoa đực và hoa cái riêng trên cùng một cây. Những loài cây trồng có hoa đơn tính phải kể đến ngô, dưa chuột, dưa hấu, dưa gang, mướp...

- Cây hoa lưỡng tính. Bộ phận đực thường thành thực sớm, tung phấn xong thì bộ phận cái mới ở giai đoạn tiếp nhận hạt phấn. Cơ chế này giúp hoa chỉ nhận phấn từ các hoa khác. Các loài cây thụ phấn chéo hoa lưỡng tính thường gặp có cao lương, hành tây, dưa tây, húp lông (cây hoa bia).

- Phương thức thụ phấn. Hạt phấn của cây thụ phấn chéo có cấu tạo phù hợp với phương thức thụ phấn, giữ được sức sống tương đối lâu sau khi tung ra khỏi bao phấn. Có các phương thức thụ phấn thông dụng sau đây:

* Thụ phấn chéo nhờ gió: vectơ truyền phấn là gió. Hạt phấn thường rất nhẹ, dễ bay theo gió và số lượng rất lớn. Thụ phấn nhờ gió điển hình là cây ngô.

* Thụ phấn chéo nhờ côn trùng: vectơ truyền phấn là các loài côn trùng mà điển hình là các loài ong lấy mật. Hạt phấn của cây thụ phấn chéo nhờ côn trùng thường to, dễ bám dính, cả hoa đực và hoa cái đều có

màu sắc rực rỡ, có mật hoặc hương thơm để thu hút côn trùng.

Để tránh sự truyền phấn từ giống khác, người ta bố trí cách li thời gian sao cho giống cây này tung phấn xong, quả đã chuyển sang chín sáp mới bố trí cho giống khác tung phấn. Bố trí cách li không gian cần khoảng cách tối thiểu ngoài tầm hoạt động truyền phấn của các vectơ.

- Các dòng bất dục. Với việc tạo ra các dòng bất dục được sử dụng làm mẹ trong chọn giống ưu thế lai đã tạo ra một nhóm cây trồng đặc biệt. Về bản chất sinh học, các dòng bất dục được xếp vào nhóm cây thụ phấn chéo và mọi vấn đề về sản xuất giống áp dụng cho cây thụ phấn chéo cũng được áp dụng cho các dòng bất dục.

+ Nhóm cây nhân giống vô tính

Thuộc nhóm này gồm các loài cây trồng sinh sản vô tính như hành, tỏi, khoai sọ, củ mỡ, dong giềng... và các loài cây tuy có thể sinh sản hữu tính nhưng nhân giống vô tính là biện pháp chủ yếu, được áp dụng để cung cấp giống tốt cho sản xuất đại trà, khoai lang, khoai tây và nhiều loài cây ăn quả là các loài cây như vậy.

Ở nhóm cây nhân giống vô tính thì phần làm giống là các bộ phận vô tính như củ, củ giả, nhánh, thân ngầm, đoạn cành, đỉnh sinh trưởng, mắt ghép... Do không có giao phối xảy ra nên trong quá trình nhân giống không cần khoảng cách li. Tuy nhiên các loài

bệnh, đặc biệt là virus rất dễ truyền qua vật liệu nhân giống làm thoái hoá giống qua một số lần nhân.

**** Bảo tồn kiểu gene đã được tạo ra***

Một số mới được tạo ra, khi đưa vào sản xuất tức là một kiểu gene mới được hiện thực hoá. Sản xuất giống xây dựng các phương pháp duy trì nguyên dạng kiểu gene đã được nhà chọn giống tạo ra. Căn cứ vào đặc điểm sinh học của từng loài cây trồng, các tính trạng riêng rẽ của từng giống người ta xây dựng tiêu chuẩn của từng giống. Tiêu chuẩn này làm cơ sở để tiến hành chọn lọc duy trì.

**** Duy trì giống***

Hệ thống chọn lọc phù hợp với từng nhóm cây trồng trên cơ sở tiêu chuẩn của từng giống đã được xây dựng và lưu trữ. Chọn lọc duy trì đảm bảo giữ nguyên cấu trúc quần thể, loại bỏ mọi biến dị lệch ra ngoài cấu trúc của quần thể chuẩn. Thông qua chọn lọc duy trì mà kiểu gene tạo ra được giữ nguyên và nhân lên với số lượng đủ đáp ứng nhu cầu của sản xuất.

Sản phẩm cao nhất của duy trì giống là giống gốc, ở các cây lấy hạt là hạt giống siêu nguyên chủng (SNC), ở các cây lấy củ là củ giống SNC, ở các cây nhân giống vô tính là cây mẹ (hoặc cây giống gốc). Từ giống gốc có thể bố trí thêm 2 - 4 lần nhân tiếp theo tùy thuộc yêu cầu của sản xuất và thương mại giống.

+ Phục tráng giống

Một giống được trồng trong sản xuất thiếu hệ

thống duy trì sẽ mất các tính trạng đặc thù gọi là giống bị thoái hoá. Hệ thống chọn lọc được áp dụng để đưa giống đã bị thoái hoá về trạng thái cũ là quá trình phục tráng giống. Nếu giống đã bị thoái hoá phải phục tráng thì rất tốn công sức và thời gian, vì thế một giống mới được tạo ra và đưa vào sản xuất cần đưa ngay vào duy trì. Giống sau khi được phục tráng cần duy trì ngay, tránh cho giống bị thoái hoá trở lại. Ở các nước phát triển có hệ thống duy trì giống hoàn chỉnh thì không phải phục tráng giống. Phục tráng giống thường được áp dụng để phục hồi các giống địa phương quý được gieo trồng tự do tại các nước đang phát triển. Kết quả của phục tráng giống là tạo ra hạt giống SNC hoặc vật liệu trồng trọt đạt cấp tương đương SNC.

+ Hệ số nhân của giống

Tỉ lệ giữa lượng giống thu được sau một lần nhân so với lượng giống gieo là hệ số nhân giống.

Hệ số nhân giống ảnh hưởng trực tiếp tới số lần nhân trong chu trình sản xuất giống. Hệ số nhân cao thì số lần nhân giống từ giống gốc ra ít hơn so với cây trồng có hệ số nhân thấp. Số lần nhân càng nhiều thì hạt giống sản xuất càng có độ thuần thấp, vì thế người ta cố gắng nâng cao hệ số nhân của giống nhất là ở các cây có hệ số nhân thấp như khoai tây nhân giống bằng củ, khoai sọ, dong giềng... Nhìn chung các cây nhân giống bằng hạt có hệ số nhân cao hơn so với các cây nhân giống bằng củ, hom giống hoặc thân ngầm.

+ Giá trị gieo trồng của giống và hạt giống

Giá trị gieo trồng của giống và hạt giống được quy định bởi các chỉ tiêu sau đây:

- Độ thuần di truyền.
- Độ lớn, độ mẩy của hạt.
- Sức khoẻ của hạt giống và vật liệu trồng trọt.
- Độ sạch.
- Sức nảy mầm và tỉ lệ nảy mầm.

*** Độ thuần di truyền của giống và hạt giống**

Độ thuần di truyền là tỉ lệ các cá thể trong quần thể của một giống nào đó mang kiểu gene đặc thù của giống ấy. Độ thuần di truyền được nhận biết thông qua hệ thống tính trạng được tác giả giống hoặc các cơ quan phụ trách mô tả kĩ. Một cá thể trong quần thể không còn đầy đủ các tính trạng đặc thù thì đã bị biến dạng, các thế hệ sau của cá thể đó sẽ bị biến dạng mạnh mẽ hơn làm cho cấu trúc di truyền của quần thể bị thay đổi. Như vậy, độ thuần di truyền của giống và hạt giống không chỉ quyết định giá trị của giống và hạt giống ở thế hệ hiện tại mà còn ảnh hưởng lớn đến các thế hệ sau. Độ thuần di truyền càng cao thì lô giống càng có giá trị, giá trị cao nhất của độ thuần là 100%.

*** Độ lớn, độ mẩy của hạt**

Cây giống được phát triển từ hạt giống. Trong khuôn khổ giá trị của tính trạng, hạt giống càng lớn thì càng cho cây mầm to khoẻ, và đó là tiền đề

áp dụng các biện pháp chăm sóc có hiệu quả. Với cùng một kích thước nếu sự tích lũy các chất dinh dưỡng dự trữ trong hạt nhiều hơn hạt sẽ mẩy hơn, khối lượng riêng lớn hơn. Hạt càng lớn, độ mẩy càng cao thì chất lượng cây mầm sinh ra từ hạt giống đó càng tốt. Người ta đánh giá độ lớn, độ mẩy của hạt thông qua chỉ tiêu khối lượng 100 hạt (với các cây trồng có hạt to) hoặc 1.000 hạt (với các cây trồng có khối lượng hạt trung bình đến nhỏ). Trong sản xuất giống cần áp dụng đầy đủ các biện pháp chăm sóc để hạt giống đạt được độ lớn và độ mẩy tối đa.

- Sức khỏe của hạt giống và vật liệu trồng trọt

Trong quá trình nhân giống, nhiều loài sâu, bệnh kí sinh trong quần thể ruộng giống sau đó tiếp tục tồn tại trên hạt và vật liệu trồng trọt. Ngay từ năm 1964 Malone và Musket đã phát hiện được có tới 77 loài nấm khác nhau kí sinh trên hạt giống. Với các loại vật liệu trồng trọt như củ giống (khoai tây, khoai sọ...), hom giống (dâu tằm, sắn...), cây ghép và cây chiết (ở cây ăn quả các loại) thì ngoài bệnh còn có nhiều loài sâu kí sinh. Đó là các loài nhện, các loài rệp, các loài tuyến trùng... Hạt giống và vật liệu trồng trọt bị sâu, bệnh phá hại không chỉ làm giảm chất lượng trồng trọt của lô giống mà kí sinh còn là nguồn lây lan sâu bệnh nguy hiểm khi mang giống trồng trên đồng ruộng. Mức độ nhiễm bệnh của giống và vật liệu trồng trọt quy định tình trạng khỏe mạnh của lô giống, đó là sức khỏe của hạt giống và vật liệu

trồng trọt. Lô giống tốt cần ở tình trạng khoẻ mạnh, đặc biệt không mang các bệnh nguy hiểm thuộc nhóm virus, vi khuẩn hoặc các loài kí sinh nguy hại như nhện và tuyến trùng.

- Độ sạch

Trong quá trình sản xuất hạt giống cũng như thu hoạch và bảo quản, có nhiều phần tử khác lẫn vào lô hạt. Toàn bộ các phần tử khác loài với hạt giống hoặc không phải là hạt giống tập hợp lại thành phần lẫn tạp hay tạp chất. Để tìm hiểu ảnh hưởng của tạp chất với quá trình trồng trọt sau này, người ta phân tạp chất thành hai nhóm:

• Tạp chất sống

- Hạt của cây trồng khác loài
- Hạt cỏ dại
- Tàn dư của một số loài bệnh như hoa cúc ở lúa, phấn đen ở ngô...
- Sâu mọt

Trong số các phần tử trên thì hạt của cây trồng khác loài nhưng cùng nhóm cạnh tác (như cao lương lẫn vào ngô), hạt cỏ dại và tàn dư bệnh là các phần tử nguy hiểm.

• Tạp chất chết

Tất cả các tạp chất còn lại như các mẫu thân, hạt vỡ, sỏi, đá, thuỷ tinh...

Tạp chất làm giảm kinh tế của lô hạt giống. Tạp chất sống thuộc các phần tử nguy hiểm còn tiếp tục

được nhân lên và gây hại cho cây trồng. Lô hạt giống càng ít tạp chất thì độ sạch càng cao và lô hạt giống càng có giá trị, độ sạch cao nhất là 100%.

• Sức nảy mầm và tỉ lệ nảy mầm

Mục tiêu của sản xuất giống là có đủ hạt giống để gieo trồng, vì thế giống phải có khả năng nảy mầm tốt cho cây mầm khoẻ mạnh. Hai chỉ tiêu biểu thị khả năng nảy mầm của lô hạt giống là sức nảy mầm và tỉ lệ nảy mầm (còn gọi là độ nảy mầm).

• Sức nảy mầm

Là khả năng mọc mầm đồng đều của hạt giống trong một khoảng thời gian thích hợp với từng loài cây trồng. Sức nảy mầm càng cao thì lô hạt càng đồng đều, sức sống càng tốt, khi gieo trồng trên đồng ruộng sẽ tạo ra quần thể đồng đều, sinh trưởng mạnh, tiền đề để áp dụng các biện pháp kĩ thuật thâm canh có hiệu quả.

• Tỉ lệ nảy mầm

Là khả năng mọc mầm tối đa của lô hạt giống trong một khoảng thời gian cho phép đối với từng loài cây trồng. Biết được tỉ lệ nảy mầm của hạt giống để xác định lượng gieo nhằm đạt được mật độ theo yêu cầu tỷ lệ nảy mầm càng cao thì lô hạt giống càng tốt. Giá trị cao nhất của tỉ lệ nảy mầm là 100%. Khi lô hạt giống có sức nảy mầm cao và sức nảy mầm xấp xỉ tỉ lệ nảy mầm thì hạt giống có giá trị gieo trồng tốt nhất. Hạt giống càng có độ thuần di truyền cao, càng đồng đều thì càng có tỉ lệ nảy mầm, và sức nảy mầm cao.

2. Các nguyên nhân gây thoái hoá giống

Có 6 nguyên nhân cơ bản làm cho giống bị thoái hoá

- Sự lẫn giống cơ giới
- Thụ phấn chéo khác giống
- Đột biến tự nhiên
- Sự phân li
- Sự tích lũy của bệnh lí thực vật
- Không đảm bảo điều kiện gieo trồng

*** Sự lẫn giống cơ giới**

Ở nhóm cây tự thụ phấn điển hình (lúa, đậu tương) và nhóm cây giống vô tính (khoai lang, khoai tây...) thì lẫn giống cơ giới là một trong các nguyên nhân cơ bản gây ra thoái hoá giống. Lẫn giống cơ giới là quá trình lẫn hạt giống và vật liệu trồng trọt của giống này với giống khác, lô giống bị lẫn tạp đó được nhân lên và thành phần sinh học bị thay đổi một cách nghiêm trọng làm cho giống bị mất các tính trạng đặc trưng tốt. Lẫn giống cơ giới đặc biệt nguy hiểm ở các cây nhân giống bằng hạt vì luôn đi kèm với lẫn giống hệ thống.

Lẫn giống hệ thống xảy ra thường xuyên ở tất cả các công đoạn của quá trình sản xuất hạt giống. Chẳng hạn khi tiến hành sản xuất hạt giống lúa thì ngay khi đưa hạt giống ra ngâm ủ đã có thể bị lẫn giống do hạt của các giống khác sót lại ở bao bì, bể ngâm, dụng cụ ủ giống. Trên đồng ruộng xảy ra quá trình lẫn do tàn dư của các cây còn sót lại ở vụ trước,

do hạt giống bị chim chuột di chuyển mà rơi vào, khi tưới nước hoặc sau khi gieo mạ xong trời mưa đều có thể làm cho các giống bị trộn lẫn với nhau. Lúc thu hoạch cũng rất dễ bị lẫn trong quá trình chuyên chở, tuốt hạt, phơi giống, dùng chung dụng cụ đựng giống, bao bì và khi nhập kho cũng rất dễ xảy ra sơ suất làm hạt giống bị lẫn vào nhau. Lẫn giống hệ thống rất khó kiểm soát, tác hại của nó phụ thuộc vào hệ số nhân của giống lẫn so với giống cơ bản, vào số lần nhân giống và tỉ lệ lẫn giống thường xuyên.

Trong thực tế sản xuất giống điều này khó xảy ra vì mỗi vụ sản xuất, giống lẫn không giống nhau, điều kiện môi trường mỗi vụ một khác. Tuy nhiên, chúng ta có thể thấy một điểm chung là nếu hàng vụ đều xảy ra lẫn giống và giống lẫn lại có hệ số nhân cao hơn giống gốc thì tính trạng hỗn tạp sẽ tăng lên nhanh chóng, phá hỏng lô giống vốn có độ thuần rất cao chỉ sau một lần nhân.

Lẫn giống cơ giới không chỉ đơn thuần là sự trộn lẫn mà nó còn gây ra các hệ quả xấu khác như làm tăng sự lây lan bệnh tật, xúc tiến quá trình giao phấn giữa giống lẫn và giống chính ở cây thụ phấn chéo...

**** Thụ phấn chéo khác giống***

Trong quá trình sản xuất hạt giống, nếu các giống khác nhau được gieo trồng gần nhau và giai đoạn nở hoa trùng nhau thì rất dễ xảy ra quá trình giao phấn lẫn nhau. Kết quả của sự giao phấn là tạo ra các hạt

lai trong lô hạt giống chính, các hạt lai này tạo ra các kiểu hình mới ở các lần gieo sau làm biến dạng giống chính. Lấn giống cơ giới tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thụ phấn chéo, thúc đẩy nhanh sự thoái hoá.

Thụ phấn chéo khác giống đặc biệt nguy hiểm ở cây thụ phấn chéo. Ở nhóm thụ phấn chéo cách li giữa giống này với giống khác, khử lẫn triệt để trước khi dạng lẫn tung phấn là yêu cầu bắt buộc trong nhân giống.

**** Đột biến tự nhiên***

Trong quá trình tồn tại, cây trồng chịu nhiều sự tác động mạnh mẽ làm xuất hiện các đột biến tự nhiên. Các tác động mạnh có thể kể đến như các tia vũ trụ, các đồng vị phóng xạ thiên nhiên, các tia phóng xạ trong các vụ thử hạt nhân, các chất hoá học khác nhau trong thuốc trừ sâu bệnh, các tia lửa điện của sét... Phần lớn các đột biến tự nhiên tiến triển theo hướng có lợi cho sự tồn tại của thực vật song ngược với sự mong muốn của con người, như quả nhỏ, hạt nhỏ, dễ rụng, có gai, hạt đỏ, hạt có râu... Các dạng đột biến tự nhiên xuất hiện trong quần thể lai giao phấn cho giống chính làm xuất hiện thêm các dạng con lai nằm ngoài cấu trúc quần thể của giống chính. Các đột biến tiếp tục phân li và được nhân lên ở các lần gieo lại. Kết quả của quá trình trên đã làm giảm các tính trạng đặc thù của giống dẫn đến sự thoái hoá.

*** Sự phân li**

Sự phân li tính trạng làm xuất hiện các tính trạng lạ không mong muốn và ngoài tầm kiểm soát làm cho giống bị thoái hoá. Có rất nhiều nguyên nhân khác nhau gây ra sự phân li. Trước hết là do thụ phấn chéo giữa các cá thể khác giống thậm chí khác loài đã tạo ra các con lai, sau khi tự thụ sẽ phân li mạnh mẽ. Sự xuất hiện các đột biến như trình bày ở phần trên cũng dẫn đến sự phân li. Một giống được tạo ra bằng phương pháp lai được đánh giá là thuần và đưa vào sản xuất, song về bản chất thì không phải là thuần trên tất cả các tính trạng: trên các tính trạng được kiểm soát bởi hệ đa gene phải cần tự thụ nhiều thế hệ mới trở về đồng hợp tử và mới biểu hiện thành kiểu hình quan sát được. Hiện tượng này được các nhà chọn giống gọi là tàn dư dị hợp tử. Ở quần thể cây giao phấn có thể xảy ra thụ phấn bằng chính phấn hoa của nó hoặc phấn hoa của các chị em làm xuất hiện các kiểu gene đồng hợp tử ở thế hệ sau, như thế cũng dẫn đến phân li. Bản chất của hiện tượng phân li đã phức tạp, nhưng các nguyên nhân tác động đồng thời và thúc đẩy lẫn nhau làm cho sự phân li càng trở nên phức tạp hơn.

*** Sự tích lũy của bệnh lí thực vật**

Các loại bệnh thuộc nhóm virus, vi khuẩn, nấm khi xâm nhiễm vào cây trồng tiếp tục tồn tại và gây hại ở các thế hệ tiếp theo qua hạt và vật liệu trồng trọt bị nhiễm bệnh. Quá trình lây bệnh được tích lũy

dẫn làm cho thế hệ sau bị nhiễm bệnh nặng hơn thế hệ trước và có thể lây lan thành dịch. Ở những khu chuyên nhân giống, bệnh tật không chỉ tích lũy qua hạt hoặc vật liệu trồng trọt mà còn tích lũy trong đất, trên các cây kí chủ xung quanh và chỉ đợi gặp điều kiện thuận lợi là bộc phát và gây hại. Đặc biệt nguy hiểm là các bệnh virus và vi khuẩn được truyền qua vật liệu trồng trọt nhân giống vô tính và lây lan nhanh chóng làm cho giống bị thoái hoá nghiêm trọng. Điển hình nhất phải kể đến các bệnh virus gây xoắn lá ở khoai tây, bệnh greening ở cây thuộc họ cam quýt. Bệnh virus và vi khuẩn là mối nguy hiểm thường xuyên của hệ thống nhân giống vô tính ở cây trồng.

**** Không đảm bảo điều kiện gieo trồng***

Một giống cây trồng là một kiểu gene đặc thù, vì nó có một môi trường tương ứng để có kiểu hình phù hợp. Kiểu hình của giống cây trồng là các tính trạng đặc trưng chỉ có ở giống này mà không có ở giống khác. Như vậy, một giống muốn phát huy đầy đủ những tính chất quý báu của nó cần có môi trường phù hợp bao gồm điều kiện khí hậu, đất đai, nước tưới, phân bón, phòng trừ sâu bệnh... nói gọn là điều kiện gieo trồng. Điều kiện gieo trồng không phù hợp gây ra sự thoái hoá giống theo hai hướng:

+ Làm giảm giá trị gieo trồng của giống: hạt giống bé sinh ra cây còi cọc, hạt bị bệnh sinh ra cây yếu ớt, cây giống nhỏ bé hạn chế sự sinh trưởng. Những ảnh hưởng này nhiều khi rất lớn, làm mất toàn bộ tính ưu

việt của giống, biến một giống tốt thành một giống xấu và có thể gây ra hậu quả xấu ở ngay thế hệ tiếp theo nên cũng được coi là sự thoái hoá.

+ Làm tăng sự xuất hiện của tính trạng lạ: điều kiện gieo trồng không phù hợp đóng vai trò là yếu tố chọn lọc, nó giữ lại các biến dị lạ và tạo điều kiện để các biến dị này nhân lên nhanh chóng làm giống bị biến dạng.

3. Sản xuất hạt giống

a. Sản xuất hạt giống siêu nguyên chủng bằng hệ thống duy trì

Các giống cây trồng thuộc nhóm tự thụ phấn được tác giả cung cấp giống (hạt tác giả) và tiêu chuẩn duy trì hoặc đã có hạt siêu nguyên chủng cùng với tiêu chuẩn các tính trạng đã mô tả thì tổ chức sản xuất hạt giống siêu nguyên chủng theo hệ thống duy trì.

**** Trình tự tiến hành***

+ Vụ thứ nhất: Sử dụng lô hạt có chất lượng siêu nguyên chủng hoặc hạt tác giả để gieo trồng trên khu chọn lọc. Cần tính toán lượng hạt giống sao cho có ít nhất 3.000 cá thể sinh trưởng phát triển tốt. Để nâng cao hệ số nhân giống, người ta bố trí gieo trồng với mật độ thưa hơn, bằng 60% mật độ đại trà và áp dụng kỹ thuật canh tác cao để giống phát huy hết tiềm năng của nó. Căn cứ vào hệ thống tính trạng chuẩn đã được mô tả người ta tiến hành chọn lọc các cá thể ưu tú. Trên ruộng G₀ các cá thể ưu tú cần đạt các tiêu chuẩn sau đây:

- Có kiểu cây điển hình của giống.
- Thời gian sinh trưởng và các giai đoạn sinh trưởng chỉ chênh lệch 1-2 ngày so với bảng chuẩn.
- Các tính trạng chất lượng như màu sắc lá, màu sắc thân, màu hoa, màu nhụy cái, màu quả, màu hạt, hình dạng hạt và các tính trạng đặc biệt phải hoàn toàn như giống gốc đã được miêu tả trong bảng chuẩn.
- Các yếu tố cấu thành năng suất, năng suất cá thể nằm trong khoảng $\bar{x} \pm 1S\bar{x}$.
- Chiều cao cây và các tính trạng số lượng khác (cành, nhánh, chiều dài, chiều rộng lá...) lấy số đo chuẩn là trị số trung bình của quần thể.
- Cây trong tình trạng khoẻ mạnh, không bị sâu, bệnh kí sinh và bệnh sinh lí.

Ở giai đoạn giống sinh trưởng mạnh, các tính trạng chất lượng đã biểu hiện rõ ràng thì dùng cọc đánh dấu 300 cá thể điển hình nhất. Căn cứ vào thời gian sinh trưởng, cấu trúc kiểu cây mà loại bỏ các cá thể không đạt yêu cầu bằng cách rút bỏ cọc. Chọn lọc lần cuối trên đồng ruộng được tiến hành vào thời kì chín, 2-3 ngày trước khi thu hoạch. Các cá thể được chọn thu cả cây, đeo thẻ đánh số thứ tự và đem về để đo đếm các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất cá thể. Hạt của các cá thể được bảo quản riêng trong bao con có ghi số thứ tự bên ngoài và bỏ thẻ đánh dấu bên trong. Cần chọn được ít nhất 100 cá thể để đo đếm các chỉ tiêu trong phòng (nếu được nhiều hơn

100 càng tốt). Số liệu thu được dùng để tính trị số trung bình $-G_1$ và độ lệch chuẩn. Cần chọn lọc nghiêm khắc để có ít nhất 50 cá thể đạt yêu cầu, 50 cá thể được chọn giữ nguyên kí hiệu cũ và lập thành 50 dòng để gieo trồng sang ruộng G_1 .

+ Vụ thứ 2: (G_1): Mật độ gieo và kĩ thuật canh tác áp dụng như G_0 . Mỗi cá thể đem gieo thành 1 dòng. Các dòng được cắm thẻ đánh dấu ghi kí hiệu dòng ở đầu hàng, tiếp tục quan sát thời gian các giai đoạn sinh trưởng, cấu trúc kiểu cây, các tính trạng chất lượng và các tính đào thải. Chọn lọc trên đồng ruộng lần cuối thực hiện vào thời điểm 1 ngày trước khi thu hoạch. Các dòng được chọn lấy mẫu ngẫu nhiên 10 cây để đo đếm các chỉ tiêu trong phòng hạt... Các dòng có năng suất cá thể cao nhất và đều nhau, có hệ số biến động $CV\% < 5$ thì được chọn các dòng khác loại thải. Hạt giống của dòng được chọn đem làm sạch được lô hạt duy trì đạt tiêu chuẩn siêu nguyên chủng, lấy ra 0,5-1 kg làm hạt để tiếp tục gieo tạo lập G_0 và tiến hàng chọn lọc duy trì ở các vụ tiếp theo. Hạt giống SNC duy trì được đem nhân giống theo quy trình để có hạt nguyên chủng. Nếu cần số lượng SNC nhiều hơn thì tổ chức nhiều nhóm tách dòng.

b. Sản xuất hạt giống siêu nguyên chủng bằng hệ thống phục tráng.

Các giống được phổ biến trong sản xuất song không có hạt tác giả hoặc lần đầu đưa vào sản xuất hạt siêu nguyên chủng như các giống địa phương, các

giống nhập nội thì tổ chức sản xuất hạt giống siêu nguyên chủng theo hệ thống phục tráng.

+ Xây dựng tiêu chuẩn phục tráng.

Công việc này cần được tiến hành trước khi đưa một giống bất kì nào đó vào chọn lọc phục tráng. Căn cứ vào số liệu lưu trữ của cơ quan khảo nghiệm giống (nếu là giống nhập nội), hoặc số liệu thu thập được trong sản xuất để lấy ra 1kg hạt giống được coi là đúng nhất. Trồng 1 kg hạt giống trên trong điều kiện canh tác tốt theo quy trình tiên tiến tại vùng mà giống phân bố rộng rãi nhất, điều này rất quan trọng đối với các giống đặc sản. Tiến hành thu thập tất cả các số liệu liên quan về đặc điểm nông sinh học, các yếu tố cấu thành năng suất, tính chống chịu sâu bệnh và các tính trạng đặc biệt. Các số liệu đều được quan trắc và đo đếm trên 100 cá thể điển hình được coi là đúng giống nhất. Cần tham khảo ý kiến của người sản xuất và các cơ quan chỉ đạo sản xuất để chọn được 100 cá thể đúng giống nhằm thu thập số liệu cơ bản xây dựng tiêu chuẩn cho phục tráng.

Các số liệu quan trắc được chia làm 4 nhóm:

- Nhóm 1: gồm các tính trạng chất lượng như màu sắc các bộ phận lá, thân, hoa, quả, hạt... là màu sắc đặc trưng của giống.
- Nhóm 2: gồm các tính trạng số lượng.
- Nhóm 3: tính chống chịu - bao gồm tính chống chịu sâu, bệnh và điều kiện ngoại cảnh bất thuận.
- Nhóm 4: các tính trạng đặc biệt như mùi thơm,

hàm lượng protein cao...đây là các tính trạng chỉ có ở giống này mà không có ở giống khác. Khi chọn lọc phục tráng các tính trạng này được chú ý đầu tiên.

Trên cơ sở 4 nhóm tính trạng đã thu thập được mà xây dựng một bảng chuẩn các tính trạng dùng làm căn cứ cho chọn lọc phục tráng.

Nếu một giống đã từng có số liệu trước đây thì sẽ là tài liệu tốt để dựa vào đó mà xây dựng tiêu chuẩn cho công tác phục tráng. Các số liệu được đo đếm lặp lại ít nhất là 2 năm cùng vụ (cùng vụ xuân hoặc cùng vụ mùa).

+ Vụ chọn lọc thứ nhất - G_0 - chọn cây ưu tú: sử dụng lô hạt đúng giống để gieo được ít nhất 3000 cá thể. Kỹ thuật canh tác áp dụng như đối với G_0 ở quy trình duy trì.

Căn cứ vào tiêu chuẩn phục tráng đã được xây dựng, tiến hành các quan sát giống như ở G_0 duy trì để chọn ra 250 cá thể mang về đo đếm các chỉ tiêu trong phòng. Mọi thao tác được tiến hành như ở G_0 , trong quy trình duy trì và chọn ra 50 dòng, đạt mọi tiêu chuẩn của phục tráng. Hạt của mỗi dòng được kí hiệu lại theo thứ tự và gieo để theo dõi ở G_1 .

+ Vụ thứ 2 - G_1 : so sánh dòng lần thứ nhất, kỹ thuật canh tác áp dụng như đối với quy trình duy trì.

50 dòng được theo dõi quá trình sinh trưởng phát triển, so sánh với tiêu chuẩn phục tráng để chọn ra 5-6 dòng tốt nhất. Các dòng được chọn cần đạt các tiêu chuẩn sau đây:

- Không xuất hiện cá thể có tính trạng lạ.
- Hệ số biến động trên các tính trạng điển hình $CV\% < 5$.

- Năng suất cao nhất tính theo diện tích gieo cấy dòng.

- Có đầy đủ các tính trạng điển hình của giống theo bảng chuẩn đã được xây dựng.

+ Vụ thứ 3 - G_2 - so sánh dòng lần thứ 2 và nhân sơ bộ: các dòng được chọn ở G_1 hạt giống được chia làm 2 phần: phần thứ nhất đem gieo để bố trí một thí nghiệm so sánh giống gồm 3 lần nhắc lại mỗi ô $10m^2$ bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh, đối chứng là giống chưa chọn lọc. Tại mỗi lần nhắc lại cắm cọc đánh dấu theo dõi 10 cá thể ở hàng thứ 2 bỏ 3 cây đầu hàng. Số liệu theo dõi trên 30 cá thể ở ba lần nhắc lại dùng làm số liệu cơ bản để so sánh với bảng chuẩn. Theo dõi toàn ô ở cả 3 lần nhắc lại. Nếu ở một lần nhắc lại nào đó xuất hiện một cá thể có tính trạng lạ thì toàn dòng bị loại bỏ. Dòng đứng đầu cần đạt các chỉ tiêu:

- Năng suất hơn hẳn đối chứng.
- Không có cá thể với tính trạng lạ xuất hiện trong thí nghiệm.

- Đạt mọi chỉ tiêu trên các tính trạng cơ bản được mô tả trong tiêu chuẩn phục tráng.

Chỉ cần chọn một dòng tốt nhất, hạt giống được lấy ở phần nhân sơ bộ. Đó là giống đã được phục tráng và

lô hạt giống ở G_3 là lô hạt siêu nguyên chủng. Trường hợp có nhiều dòng cùng đạt yêu cầu thì chọn ra một dòng khá nhất, số còn lại đem lại hỗn hợp hạt ta có lô hạt phục tráng hỗn dòng. Dòng tốt nhất đã được phục tráng lấy ra 1 kg để đưa vào duy trì.

Lô hạt phục tráng (kể cả đơn dòng và hỗn dòng) được đem ra nhân giống theo quy trình nguyên chủng để có hạt giống nguyên chủng cung cấp cho đại trà.

** Sản xuất hạt nguyên chủng*

Hạt giống siêu nguyên chủng dù được sản xuất theo hệ thống duy trì hay hệ thống phục tráng đều phải bố trí nhân thành hạt nguyên chủng để cung cấp cho các cơ sở sản xuất.

Khu sản xuất hạt giống nguyên chủng cần chọn nơi đất tốt, điển hình là cơ sở chuyên nhân giống, có khoảng cách li với các giống khác ít nhất là 3m. Trường hợp bố trí cách li thời gian thì khu nhân giống nguyên chủng cần nở hoa chênh với các giống khác 10 ngày. Để quá trình chọn lọc được triệt để và dễ thực hiện phải tạo điều kiện cho các cá thể sinh trưởng phát triển từ một hạt, tức là mỗi hốc hoặc mỗi nhóm chỉ gieo một hạt (ở lúa được cấy với 1 hạt thóc) và trồng thành băng. Áp dụng kỹ thuật canh tác cao để giống sinh trưởng, phát triển tốt.

- Với cây trồng cạn (đậu tương, đậu xanh, đậu cove), ruộng nhân giống nguyên chủng phải bố trí sau một cây trồng khác loài.

- Với lúa nước, cần làm đất kĩ, ngâm 15 ngày cho thối gốc rạ và các hạt rơi rụng mọc hết, mạ phải được gieo sau một cây trồng khác loài với lúa (sau đậu tương, khoai lang, khoai tây...).

Tiến hành chọn lọc triệt để ở 3 thời kì.

+ Thời kỳ cây con (ở lúa là thời kì mạ): Nhổ bỏ các cây còi cọc, các cây có màu sắc khác biệt, các cây sinh trưởng đặc biệt nhanh.

+ Ở thời kỳ ra hoa: Nhổ bỏ các cá thể ra hoa sớm hoặc quá muộn, các cây có hình thái lạ, các cây còi cọc sâu bệnh.

+ Thời kỳ chín: Nhổ bỏ các cây chín quá sớm, quá muộn, các cây quá cao, quá thấp, các cây có tính trạng lạ, cỏ dại, các cây bị sâu, bị bệnh.

Sau khi thu hoạch, phơi khô làm sạch hạt giống cần được kiểm tra lần cuối, nếu cả 2 lần kiểm tra đều đạt tiêu chuẩn chất lượng thì đem đóng bao để sử dụng hoặc tiếp tục bảo quản cho vụ sau.

Khi lô giống chín sinh lí thì thu hoạch ngay, tránh để lâu sẽ làm giảm tỷ lệ nảy mầm của hạt giống. Thu hoạch trong những ngày nắng ráo, thu hoạch đến đâu tách hạt và phơi ngay đến đấy, không để qua đêm. Phơi cho khô từ từ đến độ ẩm 12-13% thì làm sạch và đóng bao.

c. Sản xuất giống lai

Trong sản xuất hạt lai, độ thuần của dòng bố mẹ có vai trò quyết định đến chất lượng di truyền của hạt lai F_1 . Dù có thực hiện đầy đủ quy trình sản xuất

mà độ thuần di truyền của các dòng bố mẹ không đạt yêu cầu thì lô hạt F_1 cũng bị phá huỷ.

Duy trì các dòng bố mẹ ở hệ thống sản xuất hạt lai không sử dụng bất dục đực.

Hệ thống sản xuất hạt lai không sử dụng bất dục đực thì trong quá trình sản xuất hạt giống lai phải khử đực triệt để ở dòng mẹ. Sau khi chọn được cặp bố mẹ cho sản xuất hạt lai, các dòng bố mẹ cần đưa ngay vào duy trì.

- Ở cây tự thụ phấn: Tiến hành duy trì dòng bố mẹ bằng hệ thống duy trì. Sau khi có hạt siêu nguyên chủng cần bố trí nhân giống theo quy trình nguyên chủng để có hạt giống bố mẹ đạt cấp nguyên chủng cung cấp cho sản xuất hạt lai.

- Ở cây thụ phấn chéo: Tiến hành duy trì theo hệ thống chọn lọc ở cây thụ phấn chéo. Hạt thu được cũng nhân thành nguyên chủng để cung cấp cho sản xuất hạt lai.

** Duy trì dòng bố mẹ ở hệ thống sản xuất hạt lai sử dụng bất dục đực.*

+ Vụ thứ nhất: Gieo đồng thời dòng A cùng dòng B và R tương ứng sao cho chúng nở hoa trùng khớp. Chọn các cá thể của dòng A có đầy đủ các tính trạng như vốn có và bất dục 100%. Ở mỗi cá thể A đều chia làm 2 phần: phần cơ bản được thụ phấn với 1 cá thể B tương ứng để thu hạt của A thế hệ mới, phần còn lại thụ phấn với 1 cá thể R tương ứng để có con lai F_1 . Tiến hành tự phối cá thể B và R (ở cây tự thụ phấn

thì chỉ cần bao cách li để thu được hạt B và R thế hệ mới). Số lượng cá thể dòng A tùy theo yêu cầu nhưng ít khi dưới 50 cá thể.

+ Vụ thứ hai: Gieo A, B, R thế hệ mới cùng với con lai F_1 và đối chứng. Các dòng A có tỉ lệ bất dục 100% và duy trì được đầy đủ tính trạng như dòng gốc, đồng thời con lai F_1 của nó có ưu thế lai cao bằng đối chứng (hạt F_1 thương phẩm) là dòng A được duy trì. Tiến hành thụ phấn của B tương ứng cho A để thu được hạt duy trì đồng thời tự phối B và R duy trì tạo thành 1 bộ.

+ Vụ thứ 3: Tiếp tục nhân A ở khu cách li theo tỉ lệ 4A: 1B để thu được A siêu nguyên chủng đồng thời đem nhân B và R ở hai khu cách li khác để có B và R duy trì tương ứng. Cũng có thể bảo quản hạt R mà không cần nhân giống ngay.

+ Vụ thứ 4: Tiếp tục nhân A nguyên chủng để có A nguyên chủng cung cấp cho sản xuất hạt lai F_1 . Nếu các dòng B và R tương ứng được bảo quản thì đồng thời bố trí nhân cách li để có đủ lượng hạt giống B và R nguyên chủng cung cấp cho duy trì và sản xuất hạt lai F_1 . Trường hợp B và R đã được nhân ở vụ trước thì chúng được bảo quản cẩn thận để cung cấp cùng với dòng A. Tùy theo yêu cầu mà các dòng A, B, R có thể được bố trí nhân giống thêm một lần nữa.

- Hệ thống "2 dòng"

Hệ thống "2 dòng" sử dụng bất dục đực chức năng di truyền nhân nên công tác duy trì được áp dụng cho

từng sơ đồ cụ thể theo nguyên tắc: tự phối tuyệt đối trong giai đoạn duy trì cho cả 2 dòng bất dục (dòng S) và dòng R, cách li tuyệt đối để chỉ xảy ra giao phối nội bộ trong dòng ở giai đoạn nhân giống và dòng bất dục (dòng S), luôn tạo cặp với dòng R để duy trì ưu thế lai ở F_1 .

+ Duy trì dòng thuần cái:

Dòng thuần cái được phát hiện ở các cây thuộc họ Cucurbitaceae (họ bầu bí). Dòng thuần cái do thiếu hoóc môn phát triển nên hoa đực bị teo rất sớm. Các dòng thuần cái chuẩn được gieo trồng, chăm sóc chu đáo, trong giai đoạn phân hoá hoa người ta phun chế phẩm GA_3 25-30ppm 3 lần cách nhau 4 ngày để kích thích các hoa đực phát triển bình thường. Ở giai đoạn nở hoa tiến hành tự phối, hạt thu được từ các quả tự phối là hạt duy trì.

Trong cùng thời gian tiến hành tự phối với dòng R để thu được hạt R duy trì. Hạt duy trì tiếp tục được nhân cách li, cho chúng giao phối tự do trong dòng với nhau ta được hạt duy trì siêu nguyên chủng cung cấp cho sản xuất hạt lai F_1 hoặc để nhân giống tiếp một lần nữa nếu cần số lượng lớn hơn.

+ Duy trì dòng bất dục đực chực năng kiểu vòi nhụy dài và bao phấn không mở.

Các dòng chuẩn được chọn duy trì bao gồm dòng bất dục đực chực năng và R tương ứng được tự phối bằng tay vì đa số các cây bất dục đực chực năng như cà chua, thuốc lá, bông đều có rất nhiều hoa. Hạt thu

được qua tự phối là hạt duy trì, chúng được bố trí nhân cách li và sử dụng ong mật làm véc tơ truyền phấn để thu được hạt siêu nguyên chủng và nguyên chủng cung cấp cho sản xuất hạt F_1 thương phẩm.

d. Sản xuất hạt lai F_1 thương phẩm.

Sản xuất hạt lai F_1 sử dụng cho sản xuất đại trà là khâu hiện thực hoá thành tựu chọn tạo giống. Trong kĩ thuật sản xuất hạt lai đây là khâu chiếm diện tích lớn nhất và có nhiều cơ sở tham gia nhất. Quá trình sản xuất hạt lai cần chú ý:

+ Chọn tổ hợp

Các tổ hợp tốt song không phải bất cứ đâu các dòng bố mẹ cũng sinh trưởng phát triển tốt để cho năng suất hạt lai cao. Tại một vùng sinh thái, một địa điểm sản xuất giống thì điều kiện khí hậu, thời tiết là không thể thay đổi, vì thế việc chọn một tổ hợp vừa đáp ứng nhu cầu thị trường, vừa phù hợp với điều kiện khí hậu, đất đai trong vùng là bước đi đầu tiên để đạt hiệu quả trong sản xuất hạt lai thương phẩm.

+ Xác định thời kỳ nở hoa an toàn

Hạt lai được tạo thành do hoa mẹ nhận phấn ngoài từ dòng bố chuyển sang. Khi dòng mẹ nở hoa, dòng bố tung phấn gặp điều kiện thời tiết phù hợp mới có tỷ lệ đậu hạt cao. Cần tính toán để chọn một khoảng thời gian trong năm sao cho khi bố mẹ nở hoa thì gặp được 3-4 ngày liên tiếp không có mưa, trời nắng và gió nhẹ, độ ẩm không khí vừa phải và nhiệt độ không

khí ôn hoà. Trong thời kỳ giao phấn nếu chỉ gặp một ngày trời mưa kéo dài thì năng suất hạt lai giảm mất 30%. Tại một thời điểm được chọn cần xem xét số liệu khí tượng nhiều năm để tìm hiểu thời kì nào trong năm đạt được điều kiện như vậy. Chẳng hạn, ở điều kiện miền Bắc khoảng thời gian 25/4 đến 3/5 và 20-30/9 hàng năm là thời kì thích hợp để bố trí cho bố mẹ nở hoa an toàn.

+ Điều khiển cho bố mẹ nở hoa trùng khớp.

- Quan niệm nở hoa trùng khớp trong sản xuất hạt lai là dòng bố tung phấn thì hoa mẹ đã sẵn sàng tiếp nhận hạt phấn. Ở các loài ngũ cốc dòng mẹ cần nở hoa trước dòng bố 2 ngày vì nhụy cái của dòng mẹ có khả năng tiếp nhận hạt phấn tốt trong 4 ngày và thông thường dòng bố tung phấn rộ từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 4 sau khi nở hoa. Như vậy, ở nhóm ngũ cốc điều khiển cho bố mẹ nở hoa được 2 ngày thì dòng bố bắt đầu nở hoa. Ở các loài thuộc họ bầu bí số lượng hoa đực rất nhiều, số lượng hoa cái ít hơn, hoa cái chỉ tiếp nhận hạt phấn trong buổi sáng kể từ khi nở hoa, vì vậy nở hoa trùng khớp ở nhóm cây thuộc họ Cucurbitaceae ngược với nhóm ngũ cốc dòng bố cần nở hoa trước dòng mẹ 2-3 ngày.

Trong số các tổ hợp lai được tạo thành, rất hiếm trường hợp dòng bố và dòng mẹ có cùng thời gian sinh trưởng mà thường bố mẹ có thời gian sinh trưởng khác nhau. Vì vậy cần tính toán trước sao cho bố mẹ dù có thời gian sinh trưởng chênh nhau bao

nhiều thì vẫn phải nở hoa trùng khớp. Trong thực tế chọn giống, nếu bố mẹ chênh nhau về thời gian sinh trưởng người ta thích chọn các tổ hợp mà bố có thời gian sinh trưởng dài hơn mẹ, như vậy trong sản xuất hạt lai sẽ tạo được hàng bố khoẻ do được gieo cấy trước, được hưởng nhiều ánh sáng hơn và diện tích dinh dưỡng rộng hơn. Người ta sử dụng 3 phương pháp để tính ngày gieo bố mẹ vì cần biết trước bố mẹ chênh nhau bao nhiêu ngày để tạo ra hoa nở trùng khớp.

- Phương pháp dựa vào sự chênh lệch về thời gian từ gieo đến nở hoa. Bố trí gieo và theo dõi bố mẹ thông qua thí nghiệm thời vụ để xác định chính xác thời gian từ gieo đến nở hoa của bố, mẹ ở một vụ nhất định (vụ xuân, vụ hè thu, vụ mùa....), độ lệch tính theo số ngày sau khi đã điều chỉnh 2 ngày là khoảng cách cần gieo bố và mẹ.

- Phương pháp dựa vào sự chênh lệch về số lá và tốc độ ra lá.

Dựa vào sự chênh lệch về số lá và tốc độ ra lá của 7 lá đầu tiên có thể xác định được khoảng cách gieo bố và mẹ. Người ta gieo bố và mẹ trong một mùa vụ xác định (đặc biệt là vụ xuân), theo dõi tỉ mỉ trên 20 cá thể, đánh dấu số lá và số ngày hoàn thành được 1 lá của 5-7 lá đầu tiên. Lấy số lá chênh lệch nhân với số ngày cần thiết để hoàn thành 1 lá (tốc độ ra lá) ta được số ngày chênh lệch cần gieo giữa bố và mẹ.

** Xác định tỉ lệ hàng bố mẹ và hướng hàng phù hợp*

Tỉ lệ giữa hàng bố và mẹ cần được xác định theo nguyên tắc hàng bố cung cấp đủ phần cho toàn bộ hoa của hàng mẹ và càng được nhiều hàng mẹ càng tốt. Như vậy tỉ lệ hàng bố mẹ phụ thuộc chủ yếu vào sức cho phần của hàng bố. Dòng bố có thời gian sinh trưởng dài hơn, sức sống mạnh hơn lại được gieo sớm hơn, chăm sóc đầy đủ thì một hàng bố có thể cung cấp đủ phần cho 8-10 hàng mẹ, trong các trường hợp khác thì một hàng bố thường đủ phần cho 5-6 hàng mẹ. Cách bố trí hàng bố phụ thuộc vào mùa vụ, đất đai, sức cho phần của bố song phương thức tỉ lệ hàng bố mẹ 1:8-10 với loại dòng bố mạnh và 2:10-12 với các dòng bố có sức sống trung bình thường áp dụng rộng rãi. Với nhóm cây ngũ cốc phương thức thụ phần nhờ gió (ngô, lúa, cao lương), cần chú ý hướng hàng vuông góc với chiều gió thổi để tạo thuận lợi cho sự truyền phần. Với các loài cây khủ đực thụ phần bằng tay (cà chua, cà bát, bông, thuốc lá....) hoặc thụ phần nhờ côn trùng (bắp cải, dưa chuột, dưa hấu...) thì hướng hàng không có ý nghĩa.

** Cách li*

Khoảng cách tối thiểu giữa khu sản xuất hạt giống lai với các giống khác cùng loài, nở hoa cùng thời gian để đảm bảo giống khác không truyền phần cho dòng mẹ của tổ hợp lai là khoảng cách li cần thiết. Khoảng cách li này phụ thuộc vào vectơ truyền phần (gió hay côn trùng) và vào sự chia cắt của địa hình. Nếu địa

hình bằng phẳng và gió là véc tơ truyền phấn thì khoảng cách li tối thiểu phải là 200m. Véc tơ truyền phấn là côn trùng (chủ yếu là ong mật) thì tình hình phức tạp hơn nhiều: trong khoảng bán kính 5km không được trồng các giống cùng loài có thời gian nở hoa trùng với dòng mẹ. Để khắc phục khó khăn này người ta bố trí cách li theo thời gian. Đó là khoảng thời gian nở hoa cách nhau giữa các dòng mẹ và các giống khác cùng loài sao cho chúng không thể giao phấn cho nhau.

Ở các cây ngũ cốc thời gian cách li ít nhất 20 ngày, các cây thuộc họ Cucurbitaceae cách li ít nhất 40 ngày, các cây thuộc họ thập tự cần 50 ngày... Với vectơ truyền phấn là gió có thể sử dụng cách li địa hình: sử dụng chia cắt địa hình ở các thung lũng vùng đồi núi, sự ngăn cách bởi các cánh rừng, các cây trồng khác loài có độ cao lớn như mía, đay... Sự chia cắt địa hình và vật cản đủ ngăn phần an toàn là đạt yêu cầu.

+ Khử đục, khử lẫn

Khử đục: Loài cây trồng sản xuất hạt lai không sử dụng hệ thống bắt đục đục cần được khử đục triệt để trước khi hoa mẹ nở. Do các hoa không thể phân hoá cùng một lúc nên việc khử đục phải tiến hành trong một thời gian tùy thuộc vào thu hoạch hạt lai. Ở loài cây trồng thu hoạch hạt một lần như ngô thì thời gian khử đục chỉ kéo dài trong 3 - 4 ngày, cần áp dụng các biện pháp chu đáo để dòng mẹ ra hoa càng

tập trung càng tốt. Ở loài cây trồng thu hoạch kéo dài như bông, cà chua, dưa chuột... thì thời gian khử được có thể kéo dài hơn để tận dụng được nhiều hoa cái của dòng mẹ. Các hoa không đủ tiêu chuẩn, các hoa không khử được phải cắt bỏ hết để tránh lẫn các hạt tự thụ. Việc khử được với các loài cây trồng có hoa đơn tính như dưa hấu, bí đỏ... tương đối đơn giản, người ta cắt bỏ toàn bộ hoa đực trên dòng mẹ khi phân biệt rõ hoa đực, hoa cái và cách 2 ngày khử được một lần. Khử được với các loài cây có hoa lưỡng tính (bông, cà chua, thuốc lá...) phức tạp hơn. Cần tiến hành khử được hàng ngày, các hoa không khử được thì phải cắt bỏ, sau khi khử được đủ số hoa theo yêu cầu trên mỗi cây thì cắt ngọn, bấm cành không cho tiếp tục ra hoa nữa nhằm tập trung dinh dưỡng cho các hoa đã lai.

Khử lẫn: Hạt lai F1 cần có độ thuần di truyền ít nhất là 99% vì thế công việc khử lẫn phải được tiến hành nhiều lần để loại bỏ tất cả các cây khác dạng, các cây trồng khác giống cùng loài và các cây trồng hoặc các cây đại khác loài cùng chi. Trong suốt quá trình sinh trưởng phát triển trên đồng ruộng, khu sản xuất hạt lai cần được khử lẫn 4 lần với cả dòng bố và dòng mẹ. Lần thứ nhất thực hiện ở giai đoạn cây non, lần thứ hai ở thời kì ngay trước giai đoạn ra hoa, lần thứ ba khi các dòng bố mẹ đã ra hoa 10% và lần thứ tư trước thu hoạch 2 - 3 ngày. Ba lần khử lẫn đầu là quan trọng và thực hiện trên cả dòng bố và dòng mẹ

nhằm loại bỏ sự giao phấn của các cây khác dạng cho hoa của dòng nguyên bản. Lần khử lần cuối cùng chỉ nên thực hiện với các hàng mẹ.

+ Sử dụng các chế phẩm bổ trợ cho quá trình thụ phấn

Các chế phẩm bổ trợ cho quá trình thụ phấn chủ yếu được áp dụng ở nhóm cây thụ phấn để tăng cường khả năng nhận phấn ngoài của dòng mẹ, nâng cao hiệu suất cho phấn của dòng bố nhằm tăng tỉ lệ đậu hạt để đạt năng suất hạt lai cao hơn.

Các chế phẩm bổ trợ được sử dụng cho các trường hợp sau.

Tăng cường sức sống hạt phấn và sức sống nhụy cái: đó là các chế phẩm chứa các nguyên tố vi lượng được phun vào thời kì phân hoá hoa của cả dòng bố và mẹ.

Tăng cường độ dài vòi nhụy để tiếp nhận hạt phấn tốt hơn, giúp lông vươn dài để tạo ra tư thế truyền tốt nhất: trường hợp này chủ yếu sử dụng chế phẩm GA3 phun vào thời kì bắt đầu nở hoa hoặc khi cây có nụ. Với lúa thì sử dụng GA3 làm cho nhụy vươn ra ngoài vỏ trấu, giúp dòng mẹ trở thoát, làm dòng bố vươn cao tạo tư thế truyền phấn tốt nhất cho dòng mẹ. Các chế phẩm bổ trợ có tác dụng rõ rệt làm tăng sức sống của giao tử, của cả hoa đực và hoa cái, kết quả làm tăng tỉ lệ đậu hạt, vì thế trong công nghệ sản xuất hạt lai của nhiều loại cây trồng, các chế phẩm bổ trợ với thành phần

rất khác nhau được nghiên cứu và ứng dụng ngày càng rộng rãi.

+ Thụ phấn bổ sung

Với nhóm cây khủ được thụ phấn bằng tay, ở nhóm cây sản xuất hạt giống theo phương thức khủ được, thụ phấn bằng tay thì thụ phấn của cây bố cho hoa mẹ đã khủ được là yêu cầu bắt buộc để thu được hạt lai. Để đảm bảo tỉ lệ đậu hạt cao thường tiến hành thụ phấn 2 lần cách nhau 30 phút.

Với nhóm cây thụ phấn nhờ gió hoặc nhờ côn trùng, cần thụ phấn bổ sung để tăng tỉ lệ đậu hạt.

- Ở nhóm cây thụ phấn nhờ gió (ngô, cao lương, lúa, lúa mì...), trong thời gian tung phấn rộ cần tiến hành gạt phấn nhiều lần ở các hàng bố giúp hạt phấn tung mạnh, phân bố đều, tăng cường tiếp xúc với nhụy cái. Ở cây ngô có hiện tượng phun râu muộn, vì thế vào cuối chu kì nở hoa cần thu thập hỗn hợp phấn bố để thụ phấn bổ sung cho các bắp phun râu sau.

- Ở nhóm cây thụ phấn nhờ côn trùng, khi nở hoa rộ cần kiểm tra dọc theo hàng mẹ phát hiện các hoa không có côn trùng truyền phấn để thụ phấn bổ sung cho chúng. Các hoa này thường nở sớm hoặc rất muộn, bị che lấp bởi cành lá hoặc ở tư thế mà côn trùng khó xâm nhập.

+ Các biện pháp kĩ thuật đặc thù

Nhóm các biện pháp kĩ thuật đặc thù được áp dụng cho từng loài cây trồng, thậm chí từng tổ hợp

riêng rẽ. Mục tiêu của các biện pháp kĩ thuật đặc thù là tạo ra quần thể ruộng với kết cấu cá thể và tỉ lệ hoa đực - hoa cái tối ưu, nâng cao sức sống của dòng bố để 1 bố có thể thụ phấn cho nhiều mẹ, kìm hãm dòng bố hoặc mẹ có nguy cơ nở hoa trước và kích thích dòng bố hoặc mẹ có nguy cơ nở hoa sau để đạt được sự trùng khớp như yêu cầu... Kết quả tác động cuối cùng của các biện pháp kĩ thuật đặc thù là đạt năng suất hạt lai cao, chất lượng hạt lai tốt.

Một số biện pháp kĩ thuật đặc thù áp dụng ở một số loài cây trồng quan trọng nhất.

Cây lúa:

- Gieo mạ thưa, phun chế phẩm kích thích đẻ nhánh để có cây mạ có nhanh ngay trên ruộng mạ, tạo ra các nhánh to, bông to và đều.

- Rút nước xen kẽ để điều khiển sự đẻ nhánh và kích thích sự phân hoá dòng đồng loạt, tưới nước ngập đến 1/4 chiều cao cây lúa để hạn chế sự sinh trưởng của nhánh vô hiệu.

- Phun chế phẩm Kalihydrophosphat (KH_2PO_4) khi lúa đã trở đều nhằm kéo dài tuổi thọ lá và làm cho hạt thóc to, mẩy hơn.

Cây ngô: Trồng một hốc hai cây nhằm tăng số lượng hạt phấn của dòng bố để một hàng dòng bố đủ phấn cho 10 - 20 hàng mẹ.

- Rút cỏ hàng mẹ thật sớm từ giai đoạn còn trong nõn nhằm tập trung dinh dưỡng cho bắp.

- Cắt bớt đầu lá bao của bắp mẹ sẽ kích thích cho

bấp phun râu sớm và đều vì rất nhiều dòng tự phối có khả năng phun râu rất kém.

- Phun Axits boric phối hợp với GA_3 ở thời kì cây ngô có 9 lá nhằm tăng lượng hoa đực của cờ và tăng sức sống của phấn hoa dòng bố.

+ Thu hoạch hạt lai

Trong thu hoạch hạt lai người ta luôn thu hoạch dòng bố trước, kiểm tra cẩn thận xem có cây bố nào lẫn vào hàng mẹ do đổ ngã không rồi mới thu hoạch hạt lai. Khi hạt lai chín sinh lí thì thu hoạch ngay không để chín quá nhất là các loại hạt dễ nảy mầm như là lúa, ngô. Thu hoạch vào những ngày nắng ráo, thu đến đâu phơi ngay đến đó không để qua đêm. Trường hợp một số loại hạt cần phải sơ chế (cà chua, cà bát, dưa chuột...) thì thu xong sơ chế ngay, phơi khô lô này mới thu đến lô khác, tránh ùn tắc sơ chế không kịp. Hạt lai thu hoạch xong phải phơi khô hoặc sấy khô đến độ ẩm quy định cho từng loài cây trồng, làm sạch sơ bộ và nhập vào kho của cơ sở sản xuất giống để tiếp tục khâu chế biến, đóng bao thành hạt thương phẩm.

e. Sản xuất giống ở cây nhân giống vô tính

Cũng giống như ở cây tự thụ phấn, hệ thống sản xuất giống ở cây nhân giống vô tính được thiết lập qua ba giai đoạn:

- Giai đoạn chọn lọc duy trì thế hệ vô tính đạt tiêu chuẩn cấp siêu nguyên chủng.

- Giai đoạn tiếp theo tổ chức sản xuất củ giống

hoặc vật liệu trồng trọt cấp nguyên chủng: từ thế hệ siêu nguyên chủng đem nhân giống đảm bảo không bị lây bệnh và lẫn tạp cơ giới.

- Giai đoạn cuối sản xuất củ giống hoặc vật liệu trồng trọt đạt tiêu chuẩn giống thương phẩm cung cấp cho nông dân.

** Các phương pháp chọn lọc duy trì ở cây nhân giống vô tính*

+ Phương pháp chọn lọc hệ củ

Là phương pháp chọn lọc hỗn hợp cải lương dòng vô tính đánh giá thế hệ vô tính một lần áp dụng cho các cây lấy củ (khoai lang, khoai sọ, củ mỡ, dong giềng, sắn...)

- Vụ thứ nhất chọn cây ưu tú: Sử dụng lô giống đúng nguyên bản, trồng ít nhất 3.000 cá thể, chăm sóc chu đáo để cho giống sinh trưởng tốt. Đến thời kỳ bắt đầu tích lũy củ đánh dấu ít nhất 300 cá thể có đầy đủ các tính trạng của giống gốc thuộc phần quan sát được trên mặt đất. Khi thu hoạch đánh giá lại, chọn ra 100 cá thể có củ tốt nhất đạt được các tiêu chuẩn của giống gốc, củ của các cá thể được thu riêng và lập thành 50 dòng vô tính để trồng đánh giá ở vụ sau.

- Vụ thứ hai đánh giá và chọn lọc dòng vô tính: 50 dòng vô tính được trồng riêng bằng củ thu được, áp dụng kỹ thuật canh tác cao để cho các dòng sinh trưởng tốt cho củ có chất lượng cao. Riêng ở cây khoai lang cần trồng sao cho các củ mọc thành dây, cắt lấy

mỗi dòng 100 hom đem trồng để đánh giá. Tiếp tục quan sát các tính trạng trên mặt đất, loại bỏ các dòng có tính trạng lạ, các dòng sinh trưởng kém, các dòng có biểu hiện mắc bệnh virus, các dòng bị các sâu bệnh khác phá hại. Số dòng còn lại thu hoạch, đánh giá lại các tính trạng đặc thù trên củ, trên khóm, hình dạng củ, màu sắc củ, tỉ lệ dài rộng của củ, năng suất cá thể. Căn cứ vào các tính trạng đã quan sát so sánh với tiêu chuẩn giống gốc để chọn ra các dòng đạt yêu cầu. Các dòng được chọn cần đạt các tiêu chuẩn:

- + Có đầy đủ các tính trạng giống như giống gốc.
- + Năng suất cá thể cao.
- + Không bị nhiễm bệnh đặc biệt là bệnh virus, bệnh vi khuẩn và tuyến trùng.

- Vụ thứ ba nhân giống: Các củ thu được đem trồng với mật độ thưa theo kích thước và cỡ củ (to, trung bình, nhỏ) trên một khu cách li với các ruộng sản xuất của cây trồng cùng loài nhằm tránh bị lây bệnh trở lại. Chăm sóc chu đáo để các cá thể có nhiều củ. Thu hoạch toàn bộ củ để có lô củ giống nguyên chủng. Khi thu hoạch chọn ra 300 cá thể điển hình để tiếp tục duy trì chu kì 2. Với khoai lang thì thu ngay các hom giống, chăm sóc để thu đợt khác thì đã có các hom giống đạt tiêu chuẩn nguyên chủng. Số hom giống này được cung cấp cho các cơ sở nhân giống để phục vụ cho sản xuất đại trà.

- Vụ thứ tư nhân giống thương phẩm: Toàn bộ củ giống nguyên chủng được bố trí nhân ở khu cách li,

áp dụng kỹ thuật canh tác cao và trồng thưa để tăng hệ số nhân giống. Trong chu kỳ sinh trưởng thường xuyên quan sát, loại bỏ các cây có biểu hiện bệnh và sinh trưởng kém. Thu hoạch củ giống, loại bỏ các loại củ nhỏ, đây là lô củ giống thương phẩm cung cấp cho đại trà. Với các cây trồng có hệ số nhân giống thấp có thể bố trí nhân thêm một vụ nữa với cùng quy trình kỹ thuật để có đủ giống cung cấp cho sản xuất đại trà.

+ Phương pháp chọn lọc "hệ vô tính ưu tú"

Phương pháp chọn lọc "hệ vô tính ưu tú" được áp dụng với nhóm cây nhân giống bằng hom hoặc thân ngầm (dâu tằm, bạc hà, mía...). Trên ruộng chọn lọc duy trì căn cứ vào các tính trạng quan trắc, so sánh với tiêu chuẩn giống gốc để chọn ra các bụi (được sinh trưởng từ 1 hom) có sức sinh trưởng khỏe, ra cành nhánh nhiều, không bị sâu bệnh. Đánh giá hàm lượng các chất nếu cần thiết (hàm lượng đường trong mía, hàm lượng methol trong bạc hà...). Căn cứ vào các tính trạng quan trắc và kết quả đánh giá để chọn ra khoảng 50 bụi lập thành 50 dòng vô tính. Các dòng vô tính được trồng với diện tích bằng nhau, mật độ như nhau và áp dụng kỹ thuật canh tác cao đồng đều. Quan sát sự biểu hiện tính trạng, tình hình sâu bệnh để chọn ra 5-6 dòng có đầy đủ tính trạng như giống gốc, sạch bệnh, năng suất cao nhất. Lấy mẫu phân tích hàm lượng các chất trong sản phẩm để chọn ra 1 dòng đứng đầu cả về năng suất và hàm lượng các chất. Toàn bộ hom giống gốc được dùng để nhân thêm 2-3 thế hệ vô tính nữa nhằm có đủ giống

cung cấp cho đại trà. Trên khu giống gốc tiếp tục chọn ra 50 bụi tốt nhất để thiết lập chọn lọc duy trì chu kỳ tiếp theo.

+ Phương pháp chọn lọc "cây mẹ ưu tú"

Phương pháp này được áp dụng cho các loài cây ăn quả nhân giống vô tính bằng phương pháp ghép hoặc giâm cành.

Trong khu sản xuất được nhân giống từ cá thể ưu tú đã bước vào chu kỳ kinh tế đỉnh cao, tiến hành quan sát trên các tính trạng chủ yếu về các thời kỳ vật hậu, kiểm tra cành, đặc điểm lá, đặc điểm hoa, đặc điểm quả, tình hình sâu bệnh và năng suất trong 3 năm liên tục. Kết hợp với số liệu lưu giữ về năng suất của các năm trước đó để chọn ra 10 cây ưu tú, đánh số từ 1 đến 10. Trên 10 cây ưu tú tiếp tục quan sát thêm 2 năm nữa đồng thời tiến hành phân tích chất lượng quả, bao gồm chất lượng các chất, chất lượng cảm quan và chất lượng thương trường. Từ số hiệu này chọn ra một cá thể ưu tú nhất gọi là "cây mẹ". Năm tiếp theo khử hết hoa không để cây mẹ ra quả, tăng cường chăm sóc, áp dụng các biện pháp bảo vệ nhằm diệt trừ môi giới truyền bệnh và tiến hành việc nhân giống vô tính nhằm tạo ra hệ vô tính thế hệ 1. Các cây vô tính thế hệ 1 được cung cấp cho các cơ sở trồng trong khu cách li, chăm sóc chu đáo nhằm cung cấp vật liệu vô tính cho nhân giống thương phẩm trồng đại trà. Các cây vô tính thế hệ 1 tiếp tục được chọn lọc để chọn ra cây mẹ ưu tú nhằm thay thế cây mẹ thế hệ trước khi già cỗi hoặc bị nhiễm bệnh.

+ Nhân giống bằng kỹ thuật in vitro

Phương pháp chọn lọc và nhân giống theo hệ thống như trình bày trên đây có ưu điểm là dễ làm, ít tốn kém, tất cả các cơ sở nhân giống đều có thể làm được. Tuy vậy, hệ số nhân giống của các phương pháp này đều thấp nên cần nhiều thế hệ mới nhân đủ lượng giống theo yêu cầu. Chính trong thời gian nhân giống kéo dài đó đã làm cho giống bị nhiễm bệnh trở lại. Mặt khác, chọn lọc bằng quan sát kiểu hình và vật liệu luôn tiếp xúc với nguồn bệnh nên rất khó đạt được vật liệu sạch bệnh tuyệt đối đặc biệt với các loài cây rất dễ nhiễm bệnh virus như cam, quýt, khoai tây...

Phương pháp nhân giống in vitro (nuôi cấy mô tế bào) đã tạo được vật liệu hoàn toàn sạch bệnh và có hệ số nhân giống rất cao.

Quá trình được thực hiện tuần tự như sau:

- Chọn vật liệu sạch bệnh và trồng trong buồng cách li. Dùng phản ứng huyết thanh để thử nhằm loại bỏ các vật liệu nhiễm virus nhưng chưa biểu hiện. Vật liệu sạch bệnh được chọn và đưa vào buồng cách li, tránh hoàn toàn các nguồn lây bệnh.

- Phân cắt đỉnh sinh trưởng của vật liệu sinh bệnh thành các phần tử nhỏ và nhân lên trong môi trường dinh dưỡng nhân tạo.

- Tái tạo cây từ các đỉnh sinh trưởng đã được nhân ra.

- Tái tạo rễ cho cây in vitro.

- Trồng trong môi trường được kiểm soát.

- Trồng thành cây giống trong môi trường ở khu vực cách li. Hệ thống nhân giống in vitro tuy có nhiều ưu điểm song xây dựng hệ thống nhân giống hết sức tốn kém, cần có cán bộ có trình độ chuyên sâu vì thế vẫn chưa thể áp dụng rộng rãi được.

4. Phân loại, đóng gói và bảo quản hạt giống

a. Phân loại

Hạt giống cung cấp cho trồng trọt cần đạt độ sạch cao, có kích thước đều nhau và độ ẩm ở mức an toàn. Để đạt được yêu cầu đặt ra hạt giống phải được phân loại cẩn thận. Trước khi tiến hành phân loại hạt giống phải được làm cho khô đến độ ẩm nhất định. Đa số các loại hạt giống yêu cầu độ ẩm 13%. Cần phơi kỹ, nếu chưa đạt yêu cầu phải đưa vào hệ thống sấy cho khô. Có nhiều cách phân loại hạt giống khác nhau.

* *Phân loại đơn giản*: Hạt giống được quạt sạch, sàng qua sàng chuyên dụng, các hạt ở dưới sàng lỗ nhỏ và trên sàng lỗ to đều loại bỏ. Ở lúa người ta phân loại đơn giản ngay từ khi tuốt: chỉ tuốt lấy hạt đầu bông để làm giống, các hạt khác loại bỏ. Ở ngô người ta loại bỏ hạt ở đầu bắp (hạt nhỏ) và hạt phần cuối bắp (hạt to, tròn), chỉ lấy những hạt ở giữa bắp.

* *Phân loại tổng hợp*: Hạt được phân loại bằng máy qua khối lượng (hạt nặng nhẹ) thông qua hệ thống quạt phân lập, sau đó được phân loại qua kích thước (hạt to nhỏ) bằng hệ thống sàng máy và cuối cùng phân loại theo hình dạng bằng máy chọn. Hạt

được phân loại theo phương pháp tổng hợp đạt độ sạch rất cao, hạt có kích cỡ, hình dạng đều nhau được người sản xuất ưa chuộng. Tuy nhiên, phân loại tổng hợp cần có máy chuyên dụng và chi phí cho phân loại tốn kém, nếu hạch toán vào giá thành thì làm cho giá giống cao lên. Vì lẽ đó mà chỉ có các lô hạt có phẩm chất cao (hạt siêu nguyên chủng, hạt nguyên chủng) và hạt ưu thế lai mới đưa vào phân loại tổng hợp. Đối với các nước công nghiệp phát triển, phân loại hạt giống tổng hợp là yêu cầu bắt buộc.

b. Đóng gói hạt giống

Hạt giống cần được đóng gói cẩn thận. Đóng gói vừa tiện cho việc sử dụng và bảo quản hạt giống không bị lẫn tạp, vừa giữ độ ẩm ổn định tránh sâu mọt và bảo tồn độ nảy mầm của hạt giống.

Xử lý trước khi đóng gói: Hạt giống trước khi đóng gói phải được làm sạch, phân cấp để có độ đồng đều cao, xử lý diệt hết các loại bệnh, tuyến trùng kí sinh hoặc những tàn dư còn trên hạt. Trong trường hợp cần thiết có thể phủ trên bề mặt hạt một lớp thuốc chống nấm hoặc một số nguyên tố vi lượng. Nhiều cơ sở kinh doanh giống còn sử dụng loại màu vô hại để nhuộm hạt có màu đặc trưng nhằm bảo vệ bản quyền và tránh sự gian lận.

*** Đóng gói:** Các loại bao bì đóng gói được chế tạo từ các vật liệu khác nhau, song màng polyeste và giấy nhôm cán mỏng là hai vật liệu phổ biến. Tùy theo độ lớn của hạt giống, giá trị của lô hạt và yêu cầu sử

dụng của nông dân mà hạt giống được đóng gói với khối lượng khác nhau. Các loại hạt nhỏ và hạt rau thường được đóng gói nhỏ với khối lượng từ 5 gam đến 100 gam. Các loại hạt cốc được đóng gói từ 1 kg đến 10 kg. Đóng gói để bảo quản bao bì thì để trong bao có khối lượng 50-100kg. Bao bì được in trên nhãn mác, tên giống và mặt sau có hướng dẫn sơ lược yêu cầu kỹ thuật. Các loại hạt ngũ cốc có quy trình in riêng kèm trong bao.

c. Bảo quản hạt giống

Hạt giống được sản xuất ra sau khi làm khô và làm sạch hoặc đã chế biến đóng gói đều cần được bảo quản cẩn thận. Cần có kho chuyên dụng dành riêng cho bảo quản từng loại hoặc nhóm cây trồng như kho bảo quản lúa, kho bảo quản các loại hạt rau... Kho bảo quản giống phải khô, chống ẩm cẩn thận, kín và chống được mọi sự xâm nhập, phá hoại của sâu, mọt, chích, chuột. Đối với hạt giống sử dụng dài hạn (trên 1,5 năm) cần bảo quản trong kho mát với độ ẩm thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tủ sách khuyến nông phục vụ người lao động

1. Mai Phương Anh, Trần Khắc Thi, Trần Văn Lài: *Rau và trồng rau*. Nxb Nông nghiệp - 1996.
2. Bùi Chí Bửu - Nguyễn Thị Lang: *Ứng dụng công nghệ sinh học trong cải tiến giống lúa* - Nxb Nông nghiệp - 1995.
3. Luyện Hữu Chỉ và cộng sự. 1997. *Giáo trình giống cây trồng*.
4. *Công nghệ sinh học và một số ứng dụng ở Việt Nam*. Tập II. Nxb Nông nghiệp - 1994.
5. G.V. Guliaeb, IU.L. Guijop. *Chọn giống và công tác giống cây trồng* (bản dịch) Nxb Nông nghiệp - 1978.
6. Cục Môi trường. *Hiện trạng môi trường Việt Nam và định hướng trong thời gian tới*. Tuyển tập Công nghệ môi trường, Hà Nội, 1998.
7. Lê Văn Cát. *Cơ sở hóa học và kỹ thuật xử lý nước*. Nxb Thanh Niên, Hà Nội, 1999.
8. Chương trình KT-02, *Bảo vệ môi trường và phát triển bền vững*, Tuyển tập các báo cáo khoa học tại Hội nghị khoa học về Bảo vệ môi trường và PTBV, Hà Nội, 1995.
9. *Dự báo thế kỷ XXI*, Nxb Thống Kê, 6/1998.
10. Lê Văn Khoa và Trần Thị Lành, *Môi trường và phát triển bền vững ở miền núi*, Nxb Giáo dục, 1997.
11. *Lược sử tài nguyên nước*, Nxb Chính trị quốc gia, 1998.
12. Lê Văn Nãi, *Bảo vệ môi trường trong xây dựng cơ bản*, Nxb Khoa học kỹ thuật, Hà Nội, 1999.
13. Trần Văn Nhân, Lê Thị Nga. *Giáo trình công nghệ xử lý nước thải*, Nxb Khoa học kỹ thuật, Hà Nội, 1999.

MỤC LỤC

	Trang
<i>Lời nói đầu</i>	5
I. LỊCH SỬ CHỌN TẠO GIỐNG CÂY TRỒNG	7
II. LAI GIỐNG	18
III. CÁC PHƯƠNG THỨC CHỌN GIỐNG	39
IV. KỸ THUẬT SẢN XUẤT HẠT GIỐNG	90
<i>Tài liệu tham khảo</i>	134

PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG CÂY TRỒNG

NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG - 175 GIẢNG VÕ - HÀ NỘI
ĐT: 7366522 - 8515380 - 8439543

Chịu trách nhiệm xuất bản:

PHAN ĐÀO NGUYỄN

Chịu trách nhiệm bản thảo:

TRẦN DŨNG

Biên tập: **TRƯỜNG HỮU THẮNG**

Vẽ bìa: **TRƯỜNG GIANG**

Sửa bản in: **NGỌC ANH**

In 3000 cuốn, khổ 13 x 19 cm, tại Công ty Hữu Nghị.

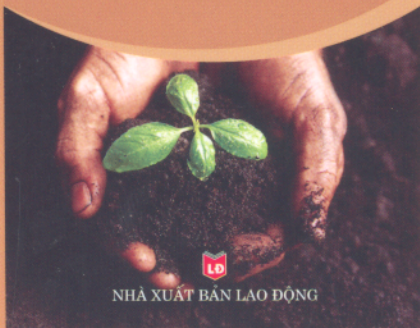
Giấy phép xuất bản số: 70 - 2006/CXB/49 - 03/LĐ.

Cấp ngày 08 tháng 03 năm 2006.

In xong và nộp lưu chiểu Quý II năm 2006

TỦ SÁCH KHUYẾN NÔNG PHỤC VỤ NGƯỜI LAO ĐỘNG

Phương pháp chọn GIỐNG CÂY TRỒNG



NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG

phương pháp chọn giống cây



14.000 VNĐ

GIÁ: 14.000Đ