

HAI DÒNG LÚA CÓ TRIỂN VỌNG VH1 VÀ VH2 TẠO CHỌN ĐƯỢC BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHỌN GIỐNG ĐƠN BỘI-NUÔI CÂY BAO PHẦN

NGHIÊM NHƯ VÂN, LÊ TRẦN BÌNH, LÊ THỤ MƯỢI

Viện Công nghệ sinh học

Trong những năm gần đây, các nhà nghiên cứu đã sử dụng kết hợp phương pháp nuôi cấy bao phần-tạo dòng đơn bội để làm nhanh quá trình chọn giống. So với chọn giống truyền thống, phương pháp mới này có ưu điểm rút ngắn thời gian, công sức và tốn phí trong quá trình chọn giống. Trên nền di truyền phong phú ở lúa lai, việc nuôi cấy bao phần của các dòng lúa có ưu thế lai cao về năng suất hạt có thể tạo ra số lượng lớn các dòng đơn bội kép (lưỡng bội đồng hợp tử) tương ứng với phổ của các thể tái tổ hợp gen trong một tổ hợp lai, vì vậy nó cung cấp nguồn nguyên liệu phong phú để chọn lọc và cho nhiều cơ hội nhận được các dòng cây có tổ hợp gen ưu tú.

Bài báo này trình bày quá trình chọn giống có sử dụng kết hợp phương pháp đơn bội-cây bao phần của hai tổ hợp lai (Chi A x Hương đạo) và (Trần sán 97A x Quế 99) là những tổ hợp có ưu thế lai cao về năng suất và chất lượng. Từ những kết quả nghiên cứu, phân tích trong phòng thí nghiệm và đánh giá đồng ruộng về các đặc điểm nông sinh học và các yếu tố tạo thành năng suất của các dòng cây tái sinh từ phần [1, 2, 3], đã chọn ra hai dòng thuần có triển vọng được đặt tên là VH1 (còn gọi là Vũ hương) và VH2 có những đặc tính tốt về năng suất và chất lượng, có thể đáp ứng cho mục tiêu chọn giống lúa hiện nay.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu

Hạt lai F1 của hai tổ hợp lai (Chi A x Hương đạo) và (Trần sán 97 A x Quế 99) nhận từ Trung tâm nghiên cứu lúa lai, Viện Khoa học Kỹ thuật nông nghiệp Việt nam đã được gieo cấy ngoài đồng ruộng để dùng làm nguyên liệu cây cho phần.

2. Phương pháp

a. Tạo mô sẹo/mô phôi

Các bao phần chứa hạt phần ở giai đoạn đơn nhân được nuôi cấy trên môi trường N6 chứa 37 mg/l Fe-EDTA, 2 mg/l 2,4-D, 6% đường saccaroza, 0,9% thạch để tạo mô sẹo. Các khối mô sẹo từ phần có dạng phôi hình cầu được hình thành sau 3-4 tuần nuôi trong tối ở nhiệt độ $26\pm 2^{\circ}\text{C}$.

b. Tái sinh cây

Các khối mô sẹo mới hình thành được cấy chuyển sang môi trường N6 chứa 0,5 mg/l IAA, 2 mg/l kinetin, 3% đường saccaroza, 0,9% thạch để tái sinh cây. Các cây tái sinh được hình thành sau 3-4 tuần nuôi dưới ánh sáng đèn huỳnh quang với cường độ 2000 lux, thời gian chiếu sáng 16/24 giờ mỗi ngày, nhiệt độ $26\pm 2^{\circ}\text{C}$.

c. Đưa cây tái sinh trồng ra đất

Các dòng cây tái sinh được đưa ra trồng trong các ô đất tại nhà lưới của Viện Công nghệ sinh học để thu hạt dùng cho các nghiên cứu chọn lọc tiếp theo.

d. Những đánh giá đồng ruộng

Hạt của các dòng cây tái sinh được đưa ra trồng ngoài đồng ruộng ở Trại nhân giống lúa Phú Mỹ, Cầu Giấy, Hà Nội. Các thế hệ con cái của mỗi dòng cây tái sinh cũng được tiếp tục trồng trong các thế hệ kế tiếp để phân tích đánh giá và chọn lọc. Các đánh giá chọn dòng được tiến hành ngoài đồng ruộng dựa vào những quan sát hình thái bên ngoài như: kiểu hình cây, hình dạng màu sắc của lá, khả năng đẻ nhánh, độ đồng đều của dòng, khả năng trổ, khả năng chịu bệnh....

d. Những phân tích đánh giá trong phòng thí nghiệm

Việc đánh giá các dòng cây từ phấn và các thế hệ tiếp theo của mỗi dòng cũng được tiến hành trong phòng thí nghiệm dựa vào những phân tích về các chỉ tiêu như: chiều cao của cây, chiều dài của bông, số bông hữu hiệu/khóm, số hạt chắc/bông, trọng lượng của 1000 hạt, màu sắc và hình dạng của hạt thóc, chất lượng của gạo...

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Quá trình chọn giống VH1 và VH2

Đã nuôi cấy 27.381 bao phấn F1 của hai tổ hợp lai (ChiA/Hương đạo) và (Trần sán 97A/Quế99) để tạo mô sẹo; đã cấy chuyển 440 khối mô sẹo từ phấn sang môi trường tái sinh cây và đã thu được 227 dòng cây xanh tái sinh [1]. Các dòng cây này được đưa trồng ra các ô đất trong nhà lưới để thu hạt. Đã thu được hạt của 34 dòng cây lưỡng bội (gọi là các dòng DH0). Hạt của các dòng này được đem gieo trồng ngoài ruộng và những nghiên cứu đánh giá, chọn dòng được bắt đầu tiến hành từ vụ xuân năm 1997 đến vụ xuân năm 1999. Quá trình chọn dòng được trình bày tóm tắt trong bảng 1.

Bảng 1

Quá trình tạo và chọn dòng đơn bội từ nuôi cấy bao phấn lúa lai

Năm	Các bước tiến hành	Thế hệ	Quy mô công việc đã được tiến hành trên các tổ hợp lai	
			(ChiA/ Hương đạo)	(Trần sán 97A/Quế99)
1995	Nuôi cấy bao phấn Tạo mô sẹo/mô phôi Tái sinh cây	F1	11.297 bao phấn 146 khối mô sẹo 30 dòng cây xanh	16.084 bao phấn 294 khối mô sẹo 197 dòng cây xanh
1996 đến 1998	Đưa cây xanh ra trồng ngoài đồng ruộng để thu hạt và chọn lọc	DH0 DH1 DH2 DH3 DH4	4 dòng lưỡng bội 4 dòng 4 dòng 2 dòng 1 dòng	30 dòng lưỡng bội 30 dòng 16 dòng 8 dòng 3 dòng
1999	Thử nghiệm năng suất	DH5	1 dòng (VH1, Vũ hương)	1 dòng (VH2)

Ghi chú: DH là viết tắt của chữ Double Haploid (thể đơn bội kép); còn các chỉ số đứng sau chỉ các thế hệ con cái kế tiếp sau thế hệ cây tái sinh từ phấn (DH0).

Quá trình chọn dòng đơn bội đã được tiến hành theo bậc thang:

a. Vụ xuân 1997

Hạt của tất cả các dòng cây tái sinh lưỡng bội được trồng ngoài đồng ruộng theo từng băng riêng biệt, bao gồm 34 dòng DH1 (4 dòng nhận từ tổ hợp lai ChiA/Hương đạo và 30 dòng nhận từ tổ hợp lai Trần sán 97A/Quế99). Việc đánh giá chọn lọc được tiến hành từ giai đoạn mạ cho tới khi kết thúc giai đoạn sinh trưởng phát triển. Qua đánh giá và phân tích vụ đầu, đã sơ bộ nhận dạng được các dòng có các đặc điểm tốt như dạng hình cây đẹp, cây cứng khỏe, thời gian

sinh trưởng ngắn... [2].

b. Vụ mùa 1997

Hạt của cả 34 dòng cây DH1 đã được trồng ở thế hệ DH2 để khẳng định lại một lần nữa những đánh giá ban đầu. Kết quả nhận được cho thấy những đánh giá ban đầu đã khá chính xác, trong số đó đã chọn ra 10 dòng khá hơn cả dùng cho việc đánh giá chọn lọc tiếp theo.

c. Vụ xuân 1998

Gieo cấy 10 dòng đã chọn lọc để đánh giá phân tích ở thế hệ DH3. Qua đánh giá chọn lọc ở vụ này, đã chọn ra 4 dòng có những đặc điểm

ưu việt nổi bật như chín sớm, dạng hình cây khoẻ đẹp, có tiềm năng về năng suất và chất lượng hạt, sạch bệnh để trồng và chọn lọc tiếp.

d. Vụ mùa 1998

Đã trồng và tiến hành đánh giá 4 dòng triển vọng trong thế hệ DH4. Kết quả nhận được cho

thấy các dòng này vẫn giữ được những đặc điểm ban đầu vốn có của chúng. Độ thuần của dòng được thể hiện qua sai số và hệ số biến động của mỗi đặc điểm trong mỗi vụ và trong các vụ kế tiếp nhau (bảng 2). Trong số 4 dòng có triển vọng, đã chọn ra 2 dòng để thử nghiệm năng suất.

Bảng 2

Một số đặc điểm chính ở các thế hệ kế tiếp nhau của hai dòng lúa VH1 và VH2

Thời vụ và năm	Chiều cao cây (cm)		Chiều dài bông (cm)		Số bông/khóm X±m	Số hạt chắc/bông X±m	P. 1000 hạt (g)	NS khóm (g)
	X±m	Cv.	X±m	Cv.				
VH1								
Xuân 1998	89,4±1,2	0,06	20,5±0,6	0,14	6,1±0,4	117,5±9,1	18,4	13,2
Mùa 1998	84,1±1,0	0,05	19,4±0,6	0,14	8,7±0,6	105,7±10,2	19,6	18,0
Xuân 1999	82,4±0,8	0,04	19,6±0,5	0,11	6,7±0,5	116,0±9,4	19,0	14,8
VH2								
Xuân 1998	105,0±0,7	0,03	26,7±0,5	0,08	4,4±0,3	116,8±7,3	31,0	15,9
Mùa 1998	111,4±1,5	0,06	26,6±0,7	0,11	7,3±0,8	82,9±6,6	31,1	18,8
Xuân 1999	100,5±1,2	0,05	24,1±0,7	0,12	5,2±0,3	90,4±7,1	31,1	14,6

Ghi chú: P - trọng lượng, NS - năng suất, Xuân - vụ Xuân, Mùa - vụ Mùa.

Qua quá trình đánh giá phân tích các dòng cây nhận từ nuôi cấy bao phấn, đã nhận thấy các đặc điểm đã được biểu hiện ngay trong thế hệ đầu (DH0) và ổn định trong các thế hệ con cái của mỗi dòng [3]. Điều đó cho thấy các dòng cây này chính là các dòng lưỡng bội đồng hợp tử được tái sinh từ các hạt phấn đơn bội đã được lưỡng bội hoá trong quá trình hình thành mô sẹo và tái sinh cây. Đây chính là tính ưu việt của phương pháp giúp cho quá trình chọn giống được gọn nhẹ rất nhiều.

d. Thử nghiệm năng suất

Vụ xuân năm 1999 đã đưa ra trồng 2 trong số 4 dòng có triển vọng để thử nghiệm năng suất; các dòng này mang tên ký hiệu là Tg20.2.2 (có nguồn gốc từ phấn của lúa lai Chi ưu hương) và Tg5.39.6 (có nguồn gốc từ phấn của lúa lai Sán ưu quý 99). Đã cấy theo 3 công thức với các mật độ 40, 45 và 50 khóm/m²; mỗi công thức cấy trên diện tích 10m² với 3 lần lặp lại.

Kết quả thử nghiệm năng suất trên hai dòng lúa này cho thấy ở công thức cấy đầu (40

khóm/m²) đều cho năng suất khá hơn cả như cây khoẻ mạnh hơn, bông dài hơn, số bông hữu hiệu/khóm cao hơn, số hạt chắc/bông nhiều hơn và do đó năng suất hạt cũng cao hơn (bảng 3). Theo tính toán lý thuyết, dòng đầu cho năng suất từ 74,0 đến 94 tạ/ha; dòng sau từ 65,7 đến gần 78,7 tạ/ha. Với những đặc điểm ưu việt trên, hai dòng lúa này được đặt tên là VH1 (còn gọi là Vũ hương) và VH2; đồng thời được đem nhân hạt để sản xuất thử và gửi khảo nghiệm giống quốc gia.

2. Đặc điểm của hai dòng lúa VH1 và VH2

Các đặc điểm chính của hai dòng lúa có triển vọng VH1 và VH2 được rút ra từ các kết quả nghiên cứu, phân tích qua nhiều vụ làm thí nghiệm, sản xuất thử và khảo nghiệm giống quốc gia.

a. Dòng VH1

Dòng VH1 được phát triển từ 1 trong số 4 dòng cây lưỡng bội nhận từ nuôi cấy bao phấn F1 của tổ hợp lai (ChiA/Hương đạo). Các đặc

Một số chỉ tiêu năng suất và kết quả thử nghiệm năng suất ở hai dòng lúa VH1 và VH2 trong vụ xuân 1999

Dòng và các chỉ tiêu năng suất	Công thức cấy (khóm/m ²)		
	40 khóm	45 khóm	50 khóm
Dòng VH1			
Số bông/khóm	9,0±0,6	6,7±0,4	6,7±0,5
Số hạt/bông	137,6±10,8	131,2±9,8	116,0±9,4
Trọng lượng 1000 hạt (g)	19,0	18,7	19,0
Năng suất lý thuyết (tạ/ha)	94,0	74,0	74,6
Dòng VH2			
Số bông/khóm	6,2±0,4	5,2±0,3	5,0±0,4
Số hạt/bông	101,7±7,2	90,4±7,1	84,4±5,9
Trọng lượng 1000 hạt (g)	31,2	31,1	31,3
Năng suất lý thuyết (tạ/ha)	78,7	65,7	66,0

điểm cơ bản của dòng:

- Chiều cao trung bình của cây: 80-90 cm.
- Thời gian sinh trưởng: vụ xuân: 121-145 ngày; vụ mùa: 105-110 ngày.
- Số hạt/bông: 110-154 hạt
- Trọng lượng của 1000 hạt: 19-19,5 g
- Dạng hình của cây: cây thấp, cứng cây, gọn khóm, đẻ nhánh khỏe, độ thuận cao
- Khả năng chống chịu: chống chịu đổ rạp, chịu thâm canh, chịu úng...
- Chất lượng của gạo: hạt gạo nhỏ trong (không bạc bụng) dài 5,7-5,8 mm
- Chất lượng của cơm: dẻo mềm, thơm ngon.

Như vậy, đây là dòng lúa lùn, có khả năng chống chịu đổ rạp, có thời gian sinh trưởng ngắn. Do không phản ứng chặt với ánh sáng nên có thể trồng được trong cả vụ xuân và vụ mùa. Dòng này đẻ nhánh khỏe; trọng lượng của 1000 hạt nhỏ; vỏ hạt màu vàng sẫm; hạt gạo trong có mùi thơm, chất lượng gạo tốt; cơm dẻo mềm, thơm ngon.

b. Dòng VH2

Dòng VH2 được phát triển từ 1 trong số 30 dòng cây lưỡng bội nhận từ nuôi cấy bao phấn F1 của tổ hợp lai (Trần sán 97A/Quế99). Các đặc điểm cơ bản của dòng là:

- Chiều cao trung bình của cây: 100-116 cm
- Thời gian sinh trưởng: vụ xuân: 123-148 ngày; vụ mùa: 110-120 ngày.
- Số hạt/bông: 100-120 hạt
- Trọng lượng của 1000 hạt: 30-31 g
- Dạng hình của cây: cây cao trung bình, cứng cây, gọn khóm, đẻ nhánh trung bình.
- Khả năng chống chịu: chống chịu đổ rạp, chịu thâm canh, chịu úng...
- Chất lượng của gạo: hạt gạo dài 7,0-7,1 mm; hơi bạc bụng
- Chất lượng của cơm: dẻo mềm, ngon đậm.

Dòng VH2 có chiều cao cây trung bình, có thời gian sinh trưởng ngắn và không phản ứng chặt với ánh sáng nên trồng được trong cả vụ xuân và vụ mùa; khả năng đẻ nhánh trung bình; trọng lượng của 1000 hạt lớn, vỏ hạt màu vàng rơm; hạt gạo to dài, hơi bạc bụng; cơm dẻo mềm, vị đậm ngon.

III. KẾT LUẬN

Hai dòng lúa thuần ưu tú VH1 và VH2 tạo chọn được bằng phương pháp chọn giống đơn bội-nuôi cấy bao phấn đã được phân tích đánh giá qua nhiều vụ, tỏ ra có tiềm năng về năng suất, có thể đáp ứng các yêu cầu về giống năng

suất và chất lượng của thực tế sản xuất hiện nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. NghiêM Như Vân và cs., 1996: Chọn tạo các dòng thuần ưu tú từ các dòng lúa ưu thế lai, sử dụng phương pháp nuôi cấy bao phấn. Phần I. Nuôi cấy bao phấn các dòng lúa lai. Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học: 67-75. Hà Nội.
2. NghiêM Như Vân, Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, 1997: Phân tích di truyền đặc điểm nông sinh học ở các dòng lưỡng bội đồng hợp tử nhận từ nuôi cấy bao phấn các dòng lúa lai. Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học:

590-600. Hà Nội.

3. NghiêM Như Vân, Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, 1998: Biểu hiện di truyền ở các dòng cây nhận từ nuôi cấy bao phấn lúa lai và các thế hệ con cái của chúng. Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học: 400-411. Hà Nội.

Lời cảm ơn: chúng tôi xin chân thành cảm ơn Tiến sĩ Nguyễn Trí Hoàn, Thạc sĩ Nguyễn Việt Toàn, Trung tâm nghiên cứu lúa lai Viện KHKTNN; Phòng Kiểm nghiệm giống, Trung tâm khảo nghiệm giống Quốc gia vì sự giúp đỡ tận tình đã cung cấp nguyên liệu hạt lai F1 của hai tổ hợp lai (Chi A/Hương đạo) và (Trần sản 97A/Que99).

TWO PROSPECTIVE DOUBLED HAPLOID RICE LINES VH1 AND VH2 OBTAINED BY ANTER CULTURE

NGHIEM NHU VAN, LE TRAN BINH, LE THI MUOI

SUMMARY

In present, the culture of hybrid anthers is the way to shorten the conventional breeding cycle because large numbers of homozygous diploid lines which represent the spectrum of the gene recombinants in cross, could be produced by this method in only one generation.

The anthers of two hybrid rice combinations-(Transan 97A x Que 99) and (Chi A x Huong dao) were cultured on N6 medium supplemented with 2,4 D (2 mg/l) to produce callus. After 3-4 weeks on callus induction medium, calli were appeared and then they were lifted out of the anthers and placed on the plant regeneration medium.

227 regenerated plant lines were obtained and were grown for grains used for further evaluation and selection. 34 double haploid lines were grown in the field for evaluating the agronomic traits and genetic analyses. The main agronomic characters and the yield-component traits such as plant height, grain number per panicle, 1000-grain weight, growth period, panicle length were analyzed. About 10 outstanding lines are selected and grown in the the next season for further observation. Two out of ten mentioned lines were elite ones and were selected for field trial.

Ngày nhận bài: 9-7-2002