

NGUYỄN MINH LÝ

Công nghệ

NUÔI CÂY TIỂU BÀO TỬ TẠO THỂ ĐƠN BỘI Ở THỰC VẬT



NHÀ XUẤT BẢN THÔNG TIN VÀ TRUYỀN THÔNG



NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

NGUYỄN MINH LÝ

CÔNG NGHỆ NUÔI CẤY
TIỂU BÀO TỬ TẠO THỂ ĐƠN BỘI
Ở THỰC VẬT

NHÀ XUẤT BẢN THÔNG TIN & TRUYỀN THÔNG

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

Hà Nội – 2023

MỤC LỤC

Lời mở đầuvii

Chương 1. GIỚI THIỆU VỀ THỂ ĐƠN BỘI Ở THỰC VẬT..... 1

1.1. Thể đơn bội ở thực vật và ứng dụng..... 2

1.2. Phương pháp tạo thể đơn bội..... 6

**Chương 2. CƠ CHẾ PHÁT SINH PHÔI
TỪ TIỂU BÀO TỬ NUÔI CẤY IN VITRO 21**

2.1. Sự hình thành hạt phấn..... 22

2.2. Phát sinh phôi đơn bội từ tiểu bào tử..... 24

Chương 3. QUY TRÌNH NUÔI CẤY TIỂU BÀO TỬ 29

3.1. Quy trình nuôi cấy tiểu bào tử tách rời..... 30

3.2. Quy trình nuôi cấy bao phấn..... 40

3.3. So sánh kỹ thuật nuôi cấy tiểu bào tử tách rời và nuôi cấy bao phấn..... 42

**Chương 4. YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HIỆU QUẢ NUÔI CẤY
TIỂU BÀO TỬ 47**

4.1. Kiểu gen cây mẹ..... 48

4.2. Đặc điểm sinh lý của cây mẹ..... 49

4.3. Giai đoạn phát triển của tiểu bào tử.....	50
4.4. Yếu tố kích ứng.....	51

**Chương 5. NHÂN ĐÔI BỘ NHIỄM SẮC THỂ
TẠO CÂY ĐƠN BỘI KÉP..... 63**

5.1. Nhân đôi bộ NST tự phát.....	64
5.2. Nhân đôi bộ NST nhân tạo.....	68

Chương 6. PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH CÂY ĐƠN BỘI KÉP..... 75

6.1. Chỉ thị hình thái.....	76
6.2. Đếm số lượng nhiễm sắc thể.....	79
6.3. Phân tích dòng chảy tế bào.....	81
6.4. Chỉ thị phân tử.....	83

Danh mục hình

Hình 1.1. Sơ đồ tạo dòng thuần ở thực vật (Teingtham, 2017) 4

Hình 1.2. Con đường phát sinh cây đơn bội và đơn bội kép từ giao tử đực 7

Hình 1.3. Con đường phát sinh cây đơn bội và đơn bội kép từ giao tử cái 7

Hình 1.4. Sơ đồ phân loại các phương pháp tạo thể đơn bội 8

Hình 1.5. Phương pháp “Bulbosum” tạo thể đơn bội 9

Hình 1.6. Sử dụng dòng cảm ứng CENH3 tạo cây đơn bội 11

Hình 1.7. Sơ đồ quy trình nuôi cấy noãn tạo cây đơn bội ở thực vật..... 14

Hình 2.1. Quá trình phát sinh tiểu bào tử (Simpson, 2019). 22

Hình 2.2. Hạt phấn hai nhân và hạt phấn ba nhân (Simpson, 2019). 23

Hình 2.3. Giai đoạn phát triển của tiểu bào tử. 23

Hình 2.4. Các giai đoạn phát sinh phôi từ tiểu bào tử ở cây cải dầu (*Brassica napus*) (Soriano *et al.*, 2013). 26

Hình 2.5. Sự hoàn thiện của phôi phát sinh từ tiểu bào tử ở cây cải dầu (*Brassica napus*) (Seguí-Simarro và Nuez, 2008) 26

Hình 3.1. Sơ đồ các bước của kỹ thuật nuôi cấy tiểu bào tử tạo cây đơn bội/ đơn bội kép... 31

Hình 3.2. Hình thái của nụ hoa (A'-G') và bao phấn (A''-G'') tương ứng với các giai đoạn phát triển chiếm ưu thế của tiểu bào tử (A-G) ở ca (Parra-Vega, *et al.*, 2013). 34

Hình 3.3. Sơ đồ mô tả các bước của kỹ thuật nuôi cấy bao phấn. 41

Hình 5.1. Phân loại phương pháp nhân đôi bộ NST nhân tạo (Segui-Simarro, 2021) 69

Hình 6.1. Số lượng NST ở kỳ sau I của tế bào sinh giao tử đực (A, C, E, G) và số lượng lục lạp của tế bào khí khổng (B, D, F, H) ở cây họ Cải (*Brassica*) có mức độ bội thể khác nhau (Monakhos, *et al.*, 2014). 77

Hình 6.2. Biểu đồ cường độ huỳnh quang để xác định mức độ bội thể ở *Gerbera hybrida* (Li *et al.*, 2020). 82

Danh mục bảng

Bảng 5.1.	Tỉ lệ (%) mức độ bội thể của cây tái sinh bằng kỹ thuật nuôi cấy tiểu bào tử (Ahmadi & Ebrahimzadeh, 2020)	65
Bảng 5.2.	Một số ví dụ về cảm ứng nhân đôi NST <i>in vivo</i> hiện đang được áp dụng trong các nghiên cứu đơn bội khác nhau (Segui-Simarro, 2021)	70
Bảng 5.3.	Phương pháp nhân đôi NST <i>in vitro</i> được công bố ở các loài thực vật (Segui-Simarro, 2021)	71
Bảng 6.1.	Số lượng lục lạp trong tế bào khí khổng ở một số loài thực vật (Ahmadi & Ebrahimzadeh, 2020)	77

LỜI MỞ ĐẦU

Thể đơn bội được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực nghiên cứu cơ bản và thực tiễn khác nhau. Đặc biệt, công nghệ tạo thể đơn bội ở thực vật có ý nghĩa vô cùng quan trọng trong công tác chọn tạo giống cây trồng. Công nghệ này cho phép tạo ra các dòng đơn bội kép mang tất cả các locus ở trạng thái đồng hợp tử trong thời gian ngắn, từ đó cho phép giảm chi phí của quá trình nghiên cứu và sản xuất hạt giống lai F1.

Thể đơn bội hình thành từ các giao tử phát triển theo con đường bào tử thể dưới tác động của các yếu tố kích ứng khác nhau. Cho đến nay, đã có nhiều phương pháp và quy trình tạo thể đơn bội được nghiên cứu, xây dựng và ứng dụng trong thực tế sản xuất cây đơn bội/đơn bội kép với số lượng lớn. Trong đó, nuôi cấy tiểu bào tử là phương pháp được ưu tiên phát triển với năng suất tạo cây đơn bội/đơn bội kép cao.

Cuốn sách tham khảo này được viết với mục tiêu giới thiệu về công nghệ nuôi cấy tiểu bào tử tạo thể đơn bội ở thực vật cho các nhà nghiên cứu, học viên và sinh viên trong lĩnh vực chọn tạo giống cây trồng. Sách gồm 6 chương với các nội dung chủ yếu:

- Giới thiệu về thể đơn bội ở thực vật (Chương 1);
- Cơ chế phát sinh phôi từ tiểu bào tử nuôi cấy *in vitro* (Chương 2);

- Quy trình nuôi cấy tiểu bào tử (Chương 3);
- Yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả nuôi cấy tiểu bào tử (Chương 4);
- Nhân đôi bộ nhiễm sắc thể tạo cây đơn bội kép (Chương 5);
- Phương pháp xác định cây đơn bội kép (Chương 6).

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến các đồng nghiệp, các học viên cao học, sinh viên thuộc Khoa Sinh – Môi trường, Trường Đại học Sư phạm – Đại học Đà Nẵng đã hỗ trợ tôi trong quá trình hoàn thành quyển sách này. Đây cũng là cuốn sách lần đầu tiên được xuất bản về chủ đề này, vì vậy trong quá trình biên soạn không tránh khỏi các thiếu sót. Tôi rất mong nhận được các ý kiến đóng góp từ Quý vị độc giả để cuốn sách được hoàn thiện hơn trong các lần xuất bản sau.

Trân trọng cảm ơn!

Tác giả