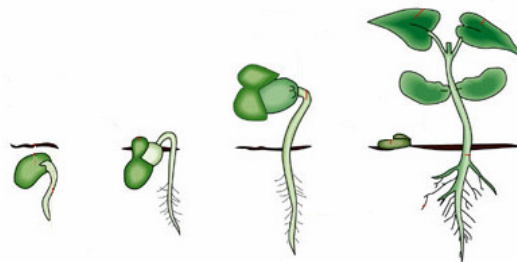


**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG NGHIỆP 1 – HÀ NỘI**

TS.VŨ VĂN LIẾT - PGS.TS.NGUYỄN VĂN HOAN
Chủ biên: TS.VŨ VĂN LIẾT



SẢN XUẤT GIỐNG VÀ CÔNG NGHỆ HẠT GIỐNG



Hà Nội – 2007

LỜI NÓI ĐẦU

Cuốn sách Khoa học và Công nghệ hạt giống của Larry O.Copeland, Miller B. Mc Donald, 1995 ông dẫn một bài thơ cổ của Fay Yauger, một nông dân làm vườn với hy vọng hạt nảy mầm tốt hơn trong sản xuất của mình

Một cho chim Ó

Một cho quạ

Một hạt bỏ đi và

Một hạt để trồng

Bài thơ cổ cho chúng ta thấy, từ xa xưa người nông dân đã rất quan tâm đến chất lượng hạt giống vì hạt giống cơ sở đầu tiên cho canh tác của họ. Ngày nay với những tiến bộ vượt bậc trong tạo giống cây trồng, nhiều loại giống cây trồng mới ra đời như giống cải tiến, giống ưu thế lai, giống chuyển gen...những giống cây trồng có nhiều điểm khác biệt với các giống địa phương truyền thống về kỹ thuật canh tác và thu hoạch. Sản xuất hạt giống của các giống cây trồng cải tiến yêu cầu kỹ thuật cao vì thế đòi hỏi người sản xuất phải có kiến thức và kỹ năng. David Shires, 2005 cho rằng hạt là tư liệu sống, do vậy gieo trồng, thu hoạch và quá trình sản xuất khác phải đảm bảo để hạt giống lúa có sức sống, năng suất và sản lượng cao nhất. Một giống lúa có thể phát huy hết tiềm năng năng suất của nó cũng phải gieo trồng bằng những hạt giống có chất lượng tốt. Nhiều nghiên cứu đã khẳng định hạt giống tốt góp phần tăng năng suất lúa 5 – 20%. Kỹ thuật sản xuất hạt giống cây trồng ưu thế lai đòi hỏi công nghệ cao hơn giống cây trồng cải tiến, nhà sản xuất phải có kiến thức duy trì dòng bố mẹ bất dục đực (MS), tự bất hợp (SI) hay dòng tự phối thuần và công nghệ sản xuất hạt lai F1. Sản xuất hạt giống không chỉ đòi hỏi duy trì độ thuần di truyền, có sức sống và các chỉ tiêu chất lượng khác đạt tiêu chuẩn Quốc gia. Đồng thời cũng đòi hỏi nâng cao năng suất hạ giá thành đem lại lợi nhuận cho người sản xuất và nông dân.

Khoa học và công nghệ hạt giống ngày càng có vai trò quan trọng trong nền nông nghiệp hiện đại và kinh tế thị trường. Nó góp phần nâng cao năng suất, sản lượng và hiệu quả sản xuất nông nghiệp.

Cuốn giáo trình **sản xuất giống và công nghệ hạt giống** với mong muốn đóng góp một phần nhỏ vào phát triển nông nghiệp. Tuy nhiên đây là một lĩnh vực khoa học mới ở nước ta, do vậy những kết quả nghiên cứu trong nước còn hạn chế. Chúng tôi đã cố gắng tham khảo những kết quả nghiên cứu mới nhất của nước ngoài và trong nước để biên soạn cuốn sách, nhưng không tránh khỏi những thiếu sót. Nhóm tác giả mong muốn nhận được những ý kiến đóng góp quý báu của các nhà khoa học, học viên cao học, NCS và độc giả trong và ngoài nước để cuốn sách hoàn thiện hơn.

Tác giả

MỤC LỤC

CHƯƠNG 1	10
QUÁ TRÌNH SINH SẢN Ở THỰC VẬT	10
1.1 Các hình thức sinh sản ở thực vật.....	10
1.1.1 Sinh sản vô tính.....	11
1.1.1.1 Sinh sản sinh dưỡng	11
1.1.1.2 Sinh sản vô phôi.....	16
1.1.2 Sinh sản hữu tính	19
1.1.2.1 Biểu hiện giới tính và yếu tố ảnh hưởng đến biểu hiện giới tính.....	20
1.1.2.2 Hiện tượng tự bất hợp ứng dụng trong sản xuất hạt giống	22
1.1.2.3 Hiện tượng bất dục đực	26
1.2 Sự hình thành hoa – quả trong sinh sản hữu tính.....	28
1.2.1 Cảm ứng ra hoa.....	28
1.2.2 Phân hoá hoa.....	29
1.2.3 Hình thái của hoa.....	30
1.2.4 Sự phát sinh đại bào tử.....	30
1.2.5 Phân loại hoa.....	32
1.2.6 Phát triển của quả.....	33
1.2.7 Các dạng quả.....	34
1.3 Sự hình thành và phát triển của hạt.....	36
1.3.1 Hình thành hạt.....	36
1.3.2 Sự thụ tinh.....	36
1.3.3 Sự phát triển của phôi	36
1.3.4 Phát triển nội nhũ.....	37
CHƯƠNG 2	39
THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA HẠT.....	39
2.1 Vai trò của hạt và yếu tố ảnh hưởng đến thành phần hoá học của hạt.....	39
2.1.1 Vai trò của hạt.....	39
2.1.2 Các yếu tố ảnh hưởng đến thành phần hoá học của hạt.....	39
2.2 Tích lũy carbohydrate trong hạt.....	43
2.2.1 Tích lũy tinh bột.....	43
2.2.2 Hemicellulose	44
2.2.3 Các loại carbohydrate khác.....	44
2.3 Tích lũy Lipit trong hạt.....	45
2.3.1 Axit béo.....	45
2.3.2 Glyxêrin (Glycerol) và các rượu khác (Alcohols)	46
2.3.3 Phân loại lipid trong hạt.....	46
2.3.4 Thủy phân của lipid	46
2.4 Tích lũy Protein trong hạt	47
2.4.1 Albumin	48
2.4.2 Globulin	48
2.4.3 Glutelin	48
2.4.4 Prolamin.....	48

2.5 Các hợp chất hoá học khác	49
2.5.1 Tannin.....	49
2.5.2 Alkaloid	49
2.5.3 Glucosides.....	49
2.5.4 Phytin.....	49
2.6 Các chất kích thích sinh trưởng	50
2.6.1 Hormones.....	50
2.6.2 Gibberellines.....	50
2.6.3 Cytokynins	50
2.6.4 Chất ức chế	50
2.6.5 Vitamin	51
CHƯƠNG 3	52
SỰ NẤY MẦM CỦA HẠT.....	52
3.1 Sự nảy mầm của hạt.....	52
3.1.1 Khái niệm.....	52
3.1.2 Hình thái nảy mầm.....	52
3.2 Những yêu cầu cho sự nảy mầm.....	53
3.2.1 Độ chín của hạt	53
3.2.2 Các yếu tố môi trường	54
3.3 Quá trình nảy mầm của hạt.....	57
3.3.1 Sự hút nước.....	57
3.3.2 Hoạt động của Enzyme	59
3.4 Phá vỡ các mô dự trữ.....	60
3.4.1 Chuyển hóa mô dự trữ các bon hydrat.....	62
3.4.2 Chuyển hoá lipid.....	63
3.4.3 Chuyển hoá protein.....	65
3.4.4 Các hợp chất chứa Phosphorus	65
3.5. Khởi đầu sinh trưởng của phôi	65
3.6 Sự xuất hiện của rễ.....	66
3.7 Hình thành cây con	66
3.8 Một số cơ chế sinh hoá khác của quá trình nảy mầm của hạt.....	66
3.8.1 Mô hình hóa sinh của Amen.....	66
3.8.2 Khối lượng chất khô	67
3.9 Sự kích thích hoá học của sự nảy mầm.....	68
3.10 Các yếu tố khác ảnh hưởng đến sự nảy mầm	70
CHƯƠNG 4	73
TRẠNG THÁI NGỦ NGHỈ CỦA HẠT.....	73
4.1 Khái niệm.....	73
4.2 Các hình thức ngủ nghỉ.....	74
4.3 Di truyền ngủ nghỉ của hạt.....	75
4.3.1 Những ảnh hưởng của Gen.....	75
4.3.2 Ảnh hưởng của môi trường.....	75
4.4 Nguyên nhân và phương pháp phá ngủ sơ cấp	75
4.4.1 Nguyên nhân ngủ ngoại sinh và biện pháp phá ngủ	75
4.4.1.1 Các yếu tố tác động đến ngủ ngoại sinh.....	75
4.4.1.2 Phương pháp phá ngủ ngoại sinh.....	78

4.4.2 Ngủ Nội sinh.....	79
4.2.2.1 Nguyên nhân của ngủ nội sinh.....	79
4.2.2.2 Phương pháp phá ngủ nội sinh.....	81
4.3 Ngủ thức cấp.....	84
CHUÔNG 5	85
GIÁ TRỊ GIEO TRỒNG HẠT GIỐNG	85
5.1 Khái niệm giá trị gieo trồng.....	85
5.2 Các chỉ tiêu đánh giá giá trị gieo trồng.....	85
5.3 Đánh giá một số chỉ tiêu giá trị gieo trồng	85
5.3.1 Đánh giá độ thuần di truyền của hạt giống cây trồng	85
5.3.2 Đánh giá giá nảy mầm của hạt giống.....	86
5.3.3 Đánh giá giá trị gieo trồng bằng muối tetrazolium(TZ)	88
5.3.4 Phương pháp kiểm tra hoá sinh khác	89
5.3.5- Phương pháp đánh giá hoạt động của enzym thủy phân	90
5.3.6- Đánh giá tổn thương hạt giống	90
5.3.7 Các phương pháp khác để đánh giá giá trị gieo trồng của hạt giống.....	90
CHUÔNG 6	92
SỨC SỐNG VÀ BỆNH HẠT GIỐNG.....	92
6.1 Sức sống hạt giống.....	92
6.1.1 Khái niệm.....	92
6.1.2 Các yếu tố ảnh hưởng đến sức sống hạt giống	93
6.1.2.1 Vật chất di truyền.....	93
6.1.2.2 Môi trường trong quá trình phát triển của hạt.....	94
6.1.3 Nguyên lý kiểm tra sức sống hạt giống	95
6.1.3.1 Chỉ tiêu kiểm nghiệm sức sống hạt giống	95
6.1.3.2 Phân loại kiểm tra sức sống hạt giống	96
6.1.3.3 Nguyên tắc kiểm tra sức sống hạt giống.....	97
6.1.4 Các phương pháp kiểm tra sức sống hạt giống.....	97
6.1.4.2 Xử lý lạnh.....	97
6.1.4.2 Xử lý thúc đẩy già hoá nhanh(Accelerated Aging (AA) Test).....	98
6.1.4.3. Kiểm tra thông qua tính dẫn điện	98
6.1.4.4 Xử lý nảy mầm mát	98
6.1.4.5 Tỷ lệ sinh trưởng của cây con.....	99
6.1.4.6 Phân loại sức khoẻ cây con	100
6.1.4.7 Kiểm tra Tetrazolium (TZ).....	100
6.1.4.8 Tốc độ nảy mầm.....	100
6.1.4.9 Kiểm tra bằng phương pháp Hiltner (gieo hạt dưới lớp gạch sỏi vụn) ...	101
6.1.4.10 Xử lý hạt trong dung dịch hạn chế thẩm thấu (Osmotic Stress)	102
6.1.4.11 Phương pháp kiểm tra hô hấp	102
6.2 Bệnh hạt giống và kiểm nghiệm bệnh hạt giống	103
6.2.1 Vi sinh vật trên hạt.....	103
6.2.2 Xử lý ngăn ngừa bệnh hạt giống.....	103
6.2.2.1 Xử lý trước thu hoạch	103
6.2.2.2 Xử lý trong quá trình thu hoạch.....	104
6.2.3 Nấm bệnh liên kết với hạt.....	104
6.2.4 Phương pháp xác định bệnh nấm hạt giống.....	104

6.2.4.1 Kiểm tra nấm trên Agar.....	104
6.2.4.2 Phương pháp giấy thấm.....	105
6.2.4.3 Phương pháp tính độc.....	105
6.2.4.4 Phương pháp không nuôi cấy.....	105
6.2.5 Bệnh nấm hoại sinh trên hạt giống.....	106
6.2.6 Bệnh vi khuẩn.....	106
6.2.6.1 Bệnh vi khuẩn hạt giống.....	106
6.2.6.2 Phương pháp kiểm nghiệm bệnh vi khuẩn hạt giống.....	106
6.2.7 Bệnh virus hạt giống.....	107
6.2.7.1 Kiểm nghiệm sinh học.....	107
6.2.7.2 Kiểm nghiệm bệnh virus hạt bằng huyết thanh.....	107
CHƯƠNG 7:.....	109
NGUYÊN LÝ CƠ BẢN CỦA KỸ THUẬT SẢN XUẤT HẠT GIỐNG CÂY TRỒNG..	109
7.1 Khái niệm và vai trò của sản xuất hạt giống và nhân giống.....	109
7.1.1 Khái niệm.....	109
7.1.2 Vai trò của sản xuất giống.....	109
7.1.2.1 Bảo tồn kiểu gen hiện có hay kiểu gen mới tạo ra.....	109
7.1.2.2 Duy trì giống.....	109
7.1.2.3 Phục tráng giống.....	109
7.2 Phương thức sinh sản và sự ổn định di truyền tương đối của giống.....	110
7.2.1 Phương thức sinh sản.....	110
7.2.2 Sự ổn định tương đối của giống.....	110
7.2.2.1 Phương thức sinh sản và động thái di truyền quần thể cây tự thụ phấn ...	110
7.2.2.2 Phương thức sinh sản và động thái di truyền quần thể cây giao phối	111
7.2.2.3 Phương thức sinh sản và động thái di truyền quần thể cây sinh sản vô tính sinh dưỡng	112
7.3 Sự thoái hoá giống.....	113
7.3.1 Những biểu hiện của sự thoái hoá.....	113
7.3.2 Nguyên nhân thoái hoá giống.....	113
7.3.2.1 Lẫn cơ giới.....	113
7.3.2.2 Lẫn sinh học.....	114
7.3.2.3 Đột biến tự nhiên.....	114
7.3.2.4 Hiện tượng phân ly.....	114
7.3.2.5 Tích lũy bệnh.....	114
7.3.2.6 Kỹ thuật sản xuất không phù hợp.....	114
7.3.3 Biện pháp khắc phục thoái hóa giống.....	114
7.4- Các cấp hạt giống.....	115
7.4.1 Hệ thống các cấp hạt giống Việt Nam.....	115
7.4.2 Hệ thống các cấp hạt giống trên thế giới.....	115
CHƯƠNG 8.....	117
KỸ THUẬT SẢN XUẤT HẠT GIỐNG CÂY TỰ THỤ PHẦN.....	117
8.1 Sản xuất hạt giống thuần ở cây tự thụ phấn.....	117
8.1.1 Sản xuất duy trì hạt giống tác giả hoặc hạt giống siêu nguyên chủng.....	117
8.1.2 Sản xuất phục tráng tạo lập lô hạt siêu nguyên chủng.....	118
8.1.3 Những kỹ thuật cơ bản trong sản xuất hạt nguyên chủng ở cây tự thụ phấn.....	120
8.1.4 Những kỹ thuật cơ bản trong sản xuất hạt giống xác nhận.....	121

8.2 Sản xuất hạt giống lai ở cây tự thụ phấn.....	121
8.2.1 Kỹ thuật nhân và duy trì dòng bố mẹ.....	121
8.2.1.1 Nhân duy trì dòng bố mẹ trong sản xuất hạt giống UTL không sử dụng bất dục.....	121
8.2.2.1 Nhân dòng bố mẹ A, B và R trong hệ thống lúa lai hệ ba dòng	122
8.2.2.2 Duy trì và nhân hạt dòng bố mẹ trong sản xuất hạt giống lúa lai hệ 2 dòng (TGMS và PGMS).....	125
8.3 Kỹ thuật sản xuất hạt nguyên chủng ở một số cây tự thụ phấn	128
8.3.1 Kỹ thuật sản xuất hạt giống lúa nguyên chủng	128
8.3.2 Kỹ thuật sản xuất hạt giống cà chua nguyên chủng.....	130
8.3.3 Kỹ thuật sản xuất hạt giống cà tím nguyên chủng.....	133
8.3.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống ớt cay và ớt ngọt nguyên chủng.....	137
8.3.5 Kỹ thuật sản xuất hạt giống đậu tương nguyên chủng.....	140
8.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống ưu thế lai một số cây tự thụ phấn.....	144
8.4.1 Kỹ thuật sản xuất hạt giống lúa lai F1 hệ 3 dòng sử dụng bất dục đực CMS....	144
8.4.1.1 Hạt bố mẹ đưa vào sản xuất hạt lai F1.....	144
8.4.1.2 Xác định thời gian gieo và thời vụ.....	144
8.4.1.3 Xác định thời gian gieo bố và mẹ để nở hoa trùng khớp.....	144
8.4.1.4 Số bố trong sản xuất hạt lai F1.....	146
8.4.1.5 Kỹ thuật làm mạ lúa lai	146
8.4.1.6 Chọn ruộng cấy.....	146
8.4.1.7. Cách ly:.....	146
8.4.1.8. Tỷ lệ hàng, hướng hàng và phương pháp cấy.....	147
8.4.1.9 Phương pháp cấy	147
8.4.1.10 Thời điểm nở hoa trùng khớp của các dòng bố, mẹ	148
8.4.1.11 Phun GA3.....	149
8.4.1.12 Thụ phấn bổ sung.....	149
8.4.1.13 Khử lẫn	149
8.4.1.14 Thu hoạch bảo quản	150
8.4.2 Kỹ thuật sản xuất hạt cà chua ưu thế lai F1	150
8.4.3 Kỹ thuật sản xuất hạt giống cà tím ưu thế lai F1	153
CHƯƠNG 9	157
KỸ THUẬT SẢN XUẤT HẠT GIỐNG CÂY GIAO PHẤN.....	157
9.1 Sản xuất giống thụ phấn tự do ở cây giao phấn (OP).....	157
9.1.1 Chọn đất và khu vực sản xuất:.....	158
9.1.2 Cách ly:.....	158
9.1.3 Độ lớn quần thể:.....	159
9.1.4 Chọn lọc:.....	159
9.2 Sản xuất hạt giống ưu thế lai ở cây giao phấn	159
9.2.1 Nguyên lý nhân và duy trì dòng bố mẹ ở cây giao phấn	159
9.2.2 Nguyên lý sản xuất hạt lai F1 ở cây giao phấn.....	161
9.3 Kỹ thuật sản xuất hạt giống nguyên chủng ở một số cây giao phấn.....	162
9.3.1 Sản xuất hạt giống ngô thụ phấn tự do nguyên chủng	162
9.3.2 Kỹ thuật sản xuất hạt giống dưa chuột thụ phấn tự do	165
9.3.3 Kỹ thuật sản xuất hạt giống bắp cải thụ phấn tự do.....	169
9.3.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống su hào thụ phấn tự do (OP)	172

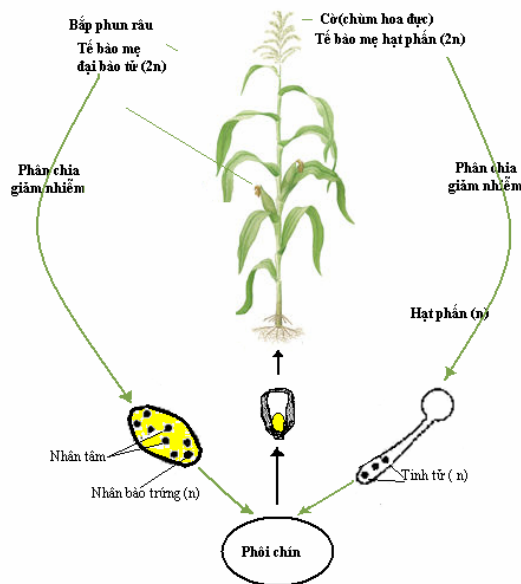
9.3.5 Kỹ thuật sản xuất hạt giống su lơ thụ phấn tự do	174
9.3.6 Kỹ thuật sản xuất hạt giống cải củ thụ phấn tự do.....	176
9.3.7 Kỹ thuật sản xuất hạt dưa hấu thụ phấn tự do.....	178
9.3.8 Kỹ thuật sản xuất hạt giống bí xanh thụ phấn tự do	180
9.3.9 Kỹ thuật sản xuất hạt mướp đắng thụ phấn tự do	183
9.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống lai ở một số cây giao phấn.....	186
9.4.1 Nhân dòng tự phối trong sản xuất hạt giống ưu thế lai ở ngô.....	186
9.4.2 Sản xuất hạt giống ngô lai.....	189
9.4.3 Kỹ thuật nhân dòng bố mẹ bắp cải ưu thế lai (sử dụng dòng SI)	192
9.4.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống bắp cải ưu thế lai.....	194
9.4.5 Kỹ thuật sản xuất hạt giống dưa chuột ưu thế lai	196
9.4.6 Kỹ thuật sản xuất hạt khoai tây ưu thế lai.....	198
CHƯƠNG 10	201
SẢN XUẤT GIỐNG Ở CÂY SINH SẢN VÔ TÍNH	201
10.1 Sản xuất giống ở cây sinh sản sinh dưỡng với cây sinh sản bằng củ (củ giống khoai tây)	201
10.1.1 Sản xuất duy trì.....	201
10.1.2 Phương pháp sản xuất củ giống khoai tây ứng dụng công nghệ sinh học	202
10.2 Nhân giống vô tính bằng mắt, chồi và đoạn thân	204
10.2.1 Những yếu tố ảnh hưởng đến nhân giống vô tính	204
10.2.2 Những kỹ thuật áp dụng nâng cao chất lượng và tỷ lệ nhân giống vô tính sinh dưỡng	206
CHƯƠNG 11	210
CHẾ BIẾN HẠT GIỐNG.....	210
11.1 Thu hoạch	210
11.1.1 Thời điểm thu hoạch	210
11.1.2 Phương pháp thu hoạch	210
11.2 Các bước chế biến hạt giống và nguyên lý	211
11.2.1 Làm sạch sơ bộ	211
11.2.2 Phương pháp cất trữ hạt sau thu hoạch và trước tách hạt	212
11.2.3 Tách hạt.....	213
11.3 Phơi sấy hạt giống.....	215
11.3.1 Độ ẩm hạt.....	215
11.3.2 Phương pháp phơi, sấy.....	215
11.4 Làm sạch	216
11.5 Phân loại hạt giống	217
11.6 Xử lý hạt giống	217
11.7 Đóng bao.....	217
11.7.1 Tác dụng của đóng bao	217
11.7.2 Dụng cụ đóng bao	218
11.8 Bảo quản hạt giống	219
CHƯƠNG 12	220
KIỂM NGHIỆM CHẤT LƯỢNG	220
VÀ CẤP CHỨNG CHỈ HẠT GIỐNG	220
12.1 Mục đích và ý nghĩa kiểm tra chất lượng hạt giống	220
12.2 Kiểm định đồng ruộng	220

12.2.1 Nội dung kiểm định ngoài đồng	220
12.2.2 Phương pháp lấy mẫu kiểm tra ngoài đồng:	220
12.3 Kiểm nghiệm trong phòng	221
12.3.1 Phương pháp chia mẫu kiểm nghiệm trong phòng	221
12.3.1.1 Một số khái niệm:	221
12.3.1.2 Phương pháp chia mẫu	222
12.3.1.3 Nguyên tắc lấy mẫu:	223
12.3.2 Nội dung kiểm nghiệm	224
12.3.3 Phương pháp kiểm nghiệm một số chỉ tiêu chính.....	224
12.3.3.1 Kiểm tra độ nảy mầm.....	224
12.3.3.2 Kiểm tra độ ẩm (moisture testing)	225
12.3.3.3 Kiểm tra độ thuần di truyền.....	225
12.3.3.4 Kiểm nghiệm sức sống	226
12.3.3.5 Kiểm nghiệm sức khoẻ hạt giống	226
12.3.3.6 Kiểm nghiệm độ sạch (Physical purity analysis).....	226
12.3.3.7 Xác định khối lượng 1000 hạt.....	227
12.4 Hậu kiểm (Method for conducting post control plots)	228
TÀI LIỆU THAM KHẢO	231

CHƯƠNG 1

QUÁ TRÌNH SINH SẢN Ở THỰC VẬT

Sinh trưởng và phát triển của thực vật nằm ở đỉnh sinh trưởng được gọi là mô phân sinh. Ở mô phân sinh xảy ra quá trình phân chia và kéo dài tế bào, quá trình này sản sinh ra mô phân sinh sinh dưỡng và mô phân sinh sinh thực. Mô phân sinh sinh dưỡng (vegetative meristems) tạo ra các bộ phận của cây như thân, lá và rễ, trong khi đó mô phân sinh sinh thực (reproductive meristems) tạo ra các cơ quan hoa, quả và hạt. Trong bất kỳ mô phân sinh nào mầm nhỏ nguyên thủy là những chồi nhỏ giống nhau hoặc những nón sinh trưởng hình khĩa lõm. Mặc dù vậy rất khó phân biệt bằng mắt thường. Khi nó sinh trưởng tiếp tục hình dạng lớn dần lên và khác biệt với các cơ quan khác của cây có thể phân biệt được khi quan sát dưới kính hiển vi phóng đại.

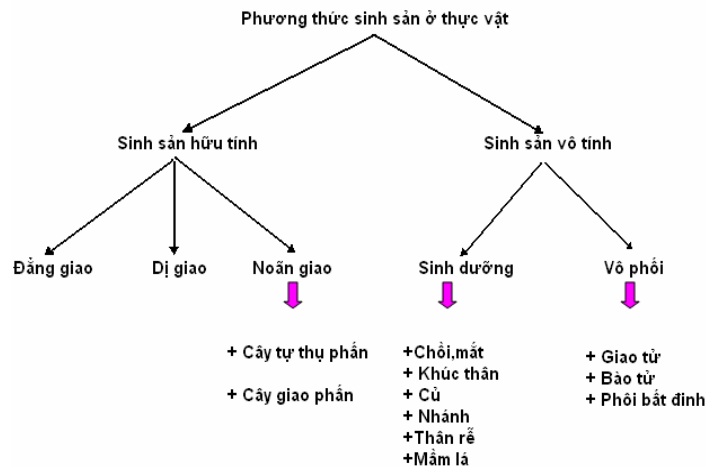


Hình 1.1 Vòng đời của cây ngô (*Zea mays*)

1.1 Các hình thức sinh sản ở thực vật

Thực vật nói chung và cây trồng nói riêng có hai giai đoạn sinh trưởng chính, giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng và sinh trưởng sinh thực. Giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng được tính từ khi nảy mầm đến khi phân hoá hoa và giai đoạn sinh trưởng sinh thực bắt đầu từ khi phân hoá hoa đến hình thành quả, hạt và chín. Giai đoạn sinh trưởng sinh thực thực chất là quá trình sinh sản của thực vật, nó có ý nghĩa to lớn đến bảo tồn nòi giống của thực vật nhưng cũng có ý nghĩa quan trọng đến sự sống của con người với hai vai trò chính là: i) Cung cấp sản phẩm như lương thực và dinh

đường không thể thiếu cho nhu cầu sống hàng ngày của con người và phát triển của xã hội. ii) Cung cấp nguồn giống cho gieo trồng những vụ, năm hay thế hệ tiếp theo. Hình thức sinh sản ở thực vật rất đa dạng bao gồm sinh sản hữu tính và sinh sản vô tính. Trong một phương thức sinh sản lại có những hình thức khác nhau. Ví dụ sinh sản vô tính gồm hai nhóm là sinh sản sinh dưỡng và sinh sản vô phôi. Sinh sản sinh dưỡng có nhiều hình thức như sinh sản bằng thân rễ, chồi phụ, bằng củ; sinh sản hữu tính có sinh sản hữu tính đẳng giao, dị giao và noãn giao. Trong sinh sản noãn giao có thể phân thành hai nhóm chủ yếu là nhóm cây tự thụ phấn và nhóm cây giao phấn.



Hình 1.2: Sơ đồ phương thức sinh sản ở thực vật

1.1.1 Sinh sản vô tính

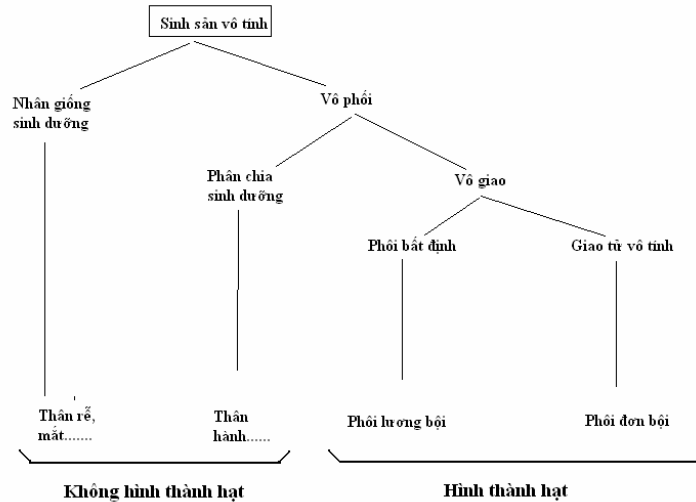
Bên cạnh sinh sản hữu tính, một số cây trồng có thể sinh sản vô tính. Hai hình thức sinh sản vô tính là sinh sản sinh dưỡng (*Vegetative reproduction*) và sinh sản vô phôi (*Apomixis*). Sinh sản sinh dưỡng là hình thành cây con và phát triển thành một cây hoàn chỉnh từ các cơ quan sinh dưỡng của cây mẹ, có thể bằng thân bò, rễ, củ, nhánh, mắt, chồi... Sinh sản vô phôi có những đặc điểm chính sau: (1) nó thay thế hình thức sinh sản hữu tính có thụ phấn thụ tinh, (2) xảy ra ở các phần của cơ quan sinh sản hữu tính (các bộ phận của hoa), (3) không có quá trình phối hợp giữa trứng và tinh trùng hình thành hợp tử. Trong sinh sản vô phôi cũng có 2 hình thức là phân chia sinh dưỡng và vô giao, trong sinh sản vô giao phân chia thành 2 hình thức nhỏ là phôi bất định và giao tử vô tính (minh họa hình 1.3).

1.1.1.1 Sinh sản sinh dưỡng

Sinh sản sinh dưỡng là khả năng tái sinh của thực vật thành cây hoàn chỉnh, từ một bộ phận nào đó được tách ra khỏi cây mẹ như đoạn thân, mắt, rễ, chồi... Sinh sản sinh dưỡng có thể xảy ra trong tự nhiên hoặc do mục đích nhân giống của con người.

a) Khái niệm

Sinh sản sinh dưỡng là hình thức con cái hình thành từ mô sinh dưỡng của cây mẹ, kết quả cho di truyền của con cái giống như hạt cây mẹ ban đầu. Sinh sản sinh dưỡng xảy ra cả tự nhiên và nhân tạo và được sử dụng phổ biến trong nhân giống cây làm vườn với mong muốn duy trì các kiểu gen đặc thù.

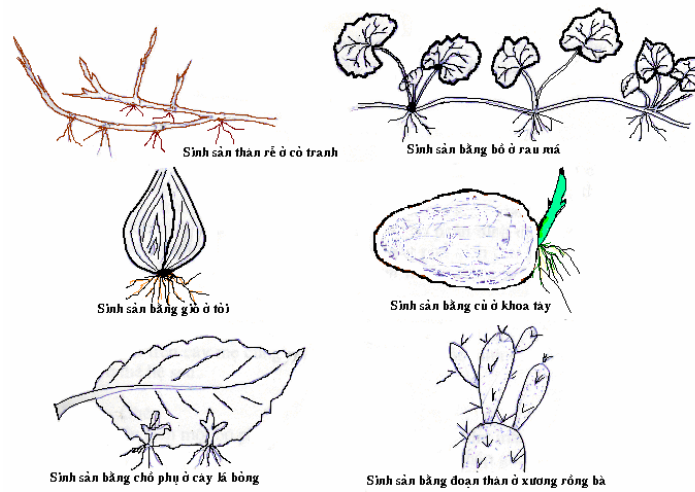


Hình 1.3: Các hình thức sinh sản vô tính ở thực vật
(Nguồn Larry O. Copeland và Miller B. McDonald, 1995)

b) Các hình thức sinh sản sinh dưỡng

- + Sinh sản sinh dưỡng thân rễ: thân rễ của các loài cây sinh sản theo hình thức này mang các chồi, những chồi này phát triển thành cành nhô lên mặt đất. Những mấu dưới của cành phát sinh nhiều rễ phụ và như vậy mỗi nhánh có thể phát triển thành một cây sống độc lập. Ví dụ cỏ tranh (*Imperata cylindrica*), cỏ gừng (*Panicum repens*)
- + Sinh sản bằng bò: bò là những thân khi sinh có lông dài bò sát mặt đất, sau một khoảng nhất định gặp đất ẩm chồi ngọn thân có thể đâm rễ vào đất và sinh ra một cây mới. Ví dụ cây rau má (*Centella asiatica*), dâu tây (*Fragaria vesca*)
- + Sinh sản bằng giò: thân của các cây địa sinh, thân hình đĩa dẹp phía dưới có nhiều rễ phụ, phía trên có chồi được bao bọc bởi nhiều vảy chứa chất dự trữ. Những chồi này có thể phát triển thành cây mới. Ví dụ tỏi (*Allium sativum*), hành tây (*Allium cepa*), thủy tiên (*Narcissus*)
- + Sinh sản bằng củ: Cây có củ là thân địa sinh, trên củ có nhiều mắt được che bằng các vảy nhỏ. Mỗi mắt có thể phát triển thành chồi và thành cây hoàn chỉnh. Ví dụ: khoai tây (*Solanum tuberosum*), khoai lang (*Ipomoea batatas*), khoai sọ (*Colocasia esculenta* var. *antiquorum*), hoàng tinh (*Marantia arundinacea*)
- + Sinh sản thai sinh: Một số cây trong lòng của các lá ở gần hoa, hoặc ngay trong hoa phát sinh ra những chồi đặc biệt. Những chồi này rơi xuống mặt đất gặp điều

kiện thuận lợi mọc thành những cây mới gọi là hình thức sinh sản thai sinh. Ví dụ cây tỏi (*Allium sativum*)



Một số hình thức sinh sản ở thực vật

Hình 1.4: Một số hình thức sinh sản vô tính sinh dưỡng

- + Sinh sản bằng chồi phụ: một số loài sinh sản bằng chồi phụ phát sinh từ rễ, những chồi phụ này phát triển thành cây mới hoàn chỉnh ví dụ: khoai lang (*Impomeae batatas*), măng tây (*Asparagus officinalis*). Một vài loài khác các chồi phụ xuất hiện trên lá khi rơi xuống đất cũng phát triển thành cây hoàn chỉnh sống độc lập như cây lá bỏng (*Bryophyllum*), chồi phụ phát sinh từ thân như dứa (*Ananas sativa*)
- + Sinh sản khúc thân: thân của các loài sinh sản theo hình thức này chia làm nhiều khúc, mỗi khúc khi rơi xuống đất có thể đâm rễ và thành cây sống độc lập, ví dụ cây xương rồng bà (*Opuntia*)

c) Ứng dụng nhân giống vô tính sinh dưỡng

Nhân giống vô tính sử dụng trong hai trường hợp chính

- + Duy trì dòng vô tính: nhân vô tính sinh dưỡng để tránh phân chia giảm nhiễm bộ genome của cây, phương thức này được biết như tạo ra các cây vô tính và tập hợp các con cái vô tính nhân ra từ một cây mẹ được gọi là dòng vô tính. Nhân giống vô tính là rất quan trọng trong nghề làm vườn bởi vì kiểu gen của hầu hết cây ăn quả, hoa và cây cảnh là dị hợp, nó bị thay đổi kiểu gen nếu nhân bằng hạt.
- + Nhân giống cây không hạt: nhân giống vô tính là rất cần thiết để duy trì giống ở một số cây trồng như chuối, dứa, cam không hạt, nho..

d) Ý nghĩa của nhân giống vô tính sinh dưỡng

Nhân vô tính có thể khai thác đặc điểm của từng cây với kiểu gen duy nhất, các cây như vậy được chọn lọc từ một biến dị trong quần thể trên một cây, cành. Với chọn giống hiện đại nhân vô tính quan trọng hơn và là một công cụ mạnh trong chọn lọc. Nhân vô tính có ý nghĩa thứ hai là tạo ra quần thể đồng nhất cao về kiểu hình như giống nhau về dạng cây, kích thước, thời gian nở hoa, chín. Nhân và duy trì biến dị

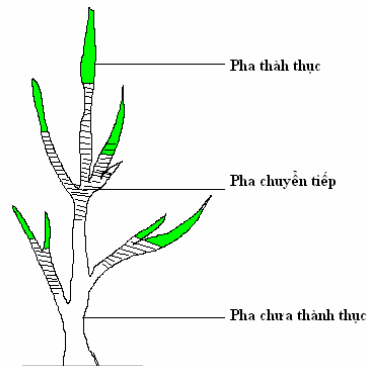
quý: nhiều dòng vô tính được quan tâm phát hiện và duy trì bằng con người, ví dụ giống táo ngọt bắt nguồn từ biến dị của một cây con trong vườn được chọn vô tính từ năm 1870 ở Peru, mắt của cây này được ghép mắt nhân giống tạo ra cây mới và đã tạo ra hàng triệu cây táo ngọt bằng con đường nhân vô tính này và trồng phổ biến trên thế giới. Hạn chế của dòng vô tính là chậm thay đổi thích nghi khi môi trường thay đổi: vô tính tồn tại trong tự nhiên bằng sinh sản vô tính tự nhiên như chồi, rễ, thân hành.. và vô phối của một số loài trong họ hoa hồng, họ hoa thảo tạo ra cây con cũng được coi là dạng vô tính. Dòng vô tính tự nó tồn tại trong tự nhiên đôi khi tốt hơn các cây nhân hữu tính. Trong một thời gian dài trong môi trường ổn định, nếu môi trường thay đổi dòng vô tính không thể tiến hóa hay thay đổi để thích nghi với môi trường mới.

e) Biến đổi và suy thoái của cây sinh sản vô tính

Các cây trong dòng vô tính biến động kiểu hình do môi trường môi trường và nguyên nhân có thể không xảy ra thay đổi kiểu gen. Những biểu hiện bên ngoài và tập tính của một cây là kiểu hình, kết quả của tương tác kiểu gen và môi trường. Biểu hiện bên ngoài của cây, hoa hoặc quả rất khác nhau do ảnh hưởng của khí hậu, đất đai hay sâu bệnh. Một số loài cây biểu hiện kiểu hình của lá rất khác nhau khi trồng nơi đủ ánh sáng và không đủ ánh sáng hoặc các yếu tố môi trường khác như đất, nước tưới, cây gốc ghép và cạnh tranh quần thể. Các nhà làm vườn ở thế kỷ 17 và 18 tin rằng các dòng vô tính sẽ già sinh lý với tuổi cây mẹ và trẻ sinh lý chỉ có thể nhân từ hạt. Những nghiên cứu sau đó đã chứng minh đời sống của dòng vô tính về lý thuyết là không bị giới hạn nếu trồng trong điều kiện môi trường phù hợp nó trẻ hóa lại bằng các đỉnh sinh dưỡng. Điều này giải thích rằng nhiều cây lâu năm như có những giống nho trồng 2000 năm hoặc hơn vẫn tạo ra hàng triệu cây con cho sản xuất không hề có bất kỳ thay đổi nào so với giống gốc. Các biến dị có thể xảy ra ở các cây trong một dòng vô tính nếu nó sinh trưởng nhiều năm trong điều kiện môi trường không thuận lợi sẽ thay đổi theo chiều hướng xấu. Bệnh cũng là một nguyên nhân suy thoái dòng vô tính, đặc biệt là bệnh virus và vi khuẩn. Tàn dư của bệnh ở bất kể cây vô tính nào cũng là nguồn phát tán thông qua nhân giống vô tính và lây nhiễm trên đồng ruộng. Như vậy về lý thuyết dòng vô tính không bị thay đổi di truyền do sinh sản và nhân vô tính, nhưng do tác động điều kiện tự nhiên hay con người cũng có thể tạo ra những cá thể khác dạng trong quần thể dòng vô tính làm giảm giá trị của dòng vô tính. Những biến đổi cây con và dòng vô tính: Các dòng vô tính đều được nhân lên từ những bộ phận sinh dưỡng của cây mẹ. Sự phát triển cá thể của cây con thông qua chu kỳ sống phụ thuộc vào các pha phân biệt trên cây mẹ. Cây mẹ có thể phân chia thành 3 pha sinh trưởng là pha chưa thành thực (trẻ) pha chuyển tiếp và pha thành thực (già) , các pha này biểu hiện qua 3 hướng

- Sinh trưởng tiềm năng để chuyển từ sinh trưởng sinh dưỡng sang sinh trưởng sinh thực điều khiển bởi đỉnh sinh trưởng (mô phân sinh), pha chưa thành thực không thể ra hoa sớm, ngay cả có điều kiện kích thích phù hợp cho sự ra hoa. Như vậy trên cùng một cây thì sự thành thực là không cùng tuổi.
- Biến động có thể xảy ra ở những tính trạng sinh lý và hình thái cụ thể bao gồm dạng lá, sức khỏe, gai nó liên kết với các pha khác nhau trên cây mẹ

- Sự khác biệt xảy ra khả năng tái sinh của các phần khác nhau của cây như đỉnh sinh trưởng, rễ..., pha chưa thành thực có khả năng tái sinh tốt hơn pha thành thực (chín)



Hình 1.5: Các pha sinh trưởng trên cây mẹ

Thay đổi các pha có hai khía cạnh có ý nghĩa đối với nhân giống. Thứ nhất pha chưa thành thực, chuyển tiếp và thành thực có thể biểu hiện đồng thời trên một cây, chia cây thành các phần (đoạn) như cây táo, cam bưởi sẽ bắt đầu ra hoa từ ngoài đến đỉnh của cây. Tương tự như vậy có thể nhận thấy ở cây thảo mộc những lông mắt tạo ra muộn hơn có thể sinh sản sớm. Thứ hai là khi chuyển các pha, mô phân sinh tạo ra các đặc điểm hình thái và sinh lý khác nhau đây là những nhận biết cho nhân giống vô tính sinh dưỡng. Lựa chọn những phần khỏe và sinh trưởng mạnh để nhân giống là rất quan trọng để có cây con chất lượng tốt. Lấy mắt hay mô sinh dưỡng nhân giống ở phần thành thực cây con ra hoa sớm hơn phần khác.

f) Cùng tuổi của cây con và cây mẹ khi nhân vô tính sinh dưỡng “topophysis”

Hiện tượng những phần khác nhau nào của cây biểu hiện sự biến đổi pha và từ mô phân sinh tiếp tục các pha khác nhau này trong con cái sinh dưỡng của chúng gọi là “topophysis”. Topophysis cũng biểu hiện sự tồn tại tiếp tục của hình thức sinh trưởng của thế hệ sau của nhân vô tính sinh dưỡng. Vị trí khác nhau lấy mắt nhân vô tính, cũng biểu hiện tập tính sinh trưởng khác nhau ở cây con như cây con sinh trưởng thẳng đứng hay phát triển theo chiều ngang cũng phụ thuộc vào vị trí lấy mắt nhân vô tính. Thường lấy phần đỉnh sinh trưởng cây con phát triển thẳng đứng, tán cây gọn lại, nếu lấy mô sinh dưỡng ở phần chưa thành thực (cành la) cây con sinh trưởng ngang và cây con có xu hướng thấp hơn.

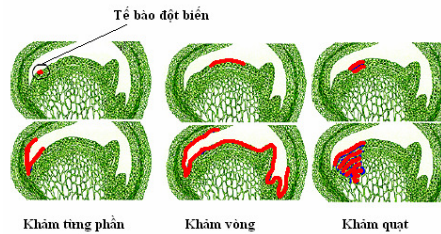
g) Biến dị di truyền ở cây sinh sản vô tính (nhân giống vô tính sinh dưỡng)

+ Thể khảm (Chimeras)

Thể khảm là tổ hợp hai hay nhiều mô khác nhau sinh trưởng riêng rẽ nhưng là những phần liên nhau trong cây, những mô này xấp xếp chung trong các phần của thân. Hầu hết thể khảm có nguồn gốc từ một tế bào ở đỉnh dinh dưỡng bị đột biến, một số trường hợp xuất hiện ở cây con do lai. Thể khảm không ổn định khi nhân giống và mức độ ổn định của chúng phụ thuộc vào cấu trúc của chúng và kiểu gen của cây.

Khái niệm: theo Giáo sư R.Daniel Lineberger, khoa Làm vườn của trường Đại học Texas A&M: “thể khảm là khi các tế bào trong một khối mô đang sinh trưởng của

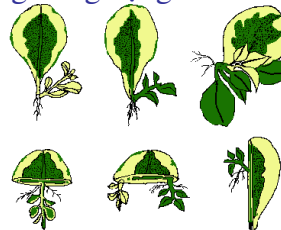
cây có hơn một kiểu gen”. Thể khảm trong cây rất đa dạng nhưng hầu hết có dạng chung khái niệm cơ bản ví dụ các tế bào khảm lá đều có nguồn gốc từ tế bào khảm ở mô phân sinh đỉnh sinh trưởng nhưng chúng có đặc điểm không có khả năng tổng hợp diệp lục. Những lá này màu trắng ưu thế hơn màu xanh chúng là tổ hợp của hệ thống mô giống nhau. Chọn lọc thể khảm là rất có ý nghĩa với cây trồng đặc biệt cây trồng trong vườn, hoa và cây cảnh



Hình 1.6: Các loại thể khảm (nguồn R.Daniel Lineberger)

+ Nhân giống vô tính thể khảm

Giâm cành: thể khảm vòng ổn định có thể nhân giống bằng giâm cành tạo ra cây đúng giống đột biến mong đợi, bởi vì các mắt bên tái sinh đúng như đột biến phát sinh ở đỉnh sinh trưởng của mắt. Thể khảm hình quạt và từng phần không thể nhân đúng giống, bởi vì các mắt bên cạnh phát sinh ra từ mô bên cạnh của mô đột biến. Nhân giống vô tính từ thể khảm lá hoặc rễ: nếu cắt lá và rễ phần thể khảm, cây con không bao giờ đúng dạng với đột biến hay thể khảm lá từ cây mẹ bởi vì mầm bất định có những vùng không bị đột biến của vùng lá hoặc rễ để tái sinh, với lý do này thể khảm không bao giờ nhân giống đúng dạng



Hình 1.7. Thể khảm trên lá (nguồn cải tiến R.A.E. Tilney-Bassett, 1986)

Nhân giống thể khảm từ hạt: thể khảm không thể nhân đúng dạng từ hạt, bởi vì thể khảm xảy ra ở trong hoa là để hoa, cánh hoa, nhị và nhụy trong khi cây con phát sinh lên từ tế bào phôi

1.1.1.2 Sinh sản vô phôi

a) Khái niệm và định nghĩa vô phôi

Sinh sản vô phôi được khám phá đầu tiên ở thực vật bậc cao khi quan sát cây mẹ đơn độc của cây (*Alchornea licicifolia*), một loài cây thân gỗ ở Australia khi trồng trong vườn ở Anh (Smith, 1841) và Winkler (1908) giới thiệu thuật ngữ **Apomixis** nghĩa là “*Sự thay thế sinh sản hữu tính bằng quá trình nhân vô tính không có sự kết hợp của nhân và tế bào*” vì vậy nhiều tác giả sử dụng thuật ngữ này để mô tả hình thức sinh sản vô tính ở cây trồng, nhưng không được sử dụng rộng rãi và ngày nay

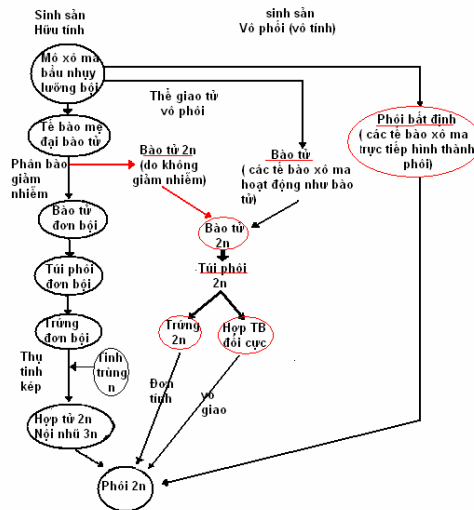
một thuật ngữ đồng nghĩa là agamospermous “Vô giao tinh dịch” (Richards,1997) cũng được sử dụng chỉ sinh sản vô phôi ở các loài cây hạt kín và hạt trần và thực vật bậc thấp.

Khái niệm: Vô phôi là sự hình thành hạt từ mô noãn của cây mẹ, không trải qua quá trình giảm nhiễm và thụ tinh ở cây có hoa để phát triển thành phôi.

Ở thực vật bậc cao sự phát sinh phôi và phát triển của hạt của tất cả các loài cây sinh sản hữu tính là kết quả của quá trình thụ tinh kép. Một là tế bào tinh trùng kết hợp với tế bào trứng hình thành hợp tử và phát triển thành phôi, đồng thời một tinh dịch kết hợp với tế bào trung tâm để phát triển nội nhũ tam bội. Hai genome của trứng và tinh dịch khác nhau kết hợp để tạo ra cây con cái với kiểu hình và kiểu gen mới. Nó mang các đặc tính mong muốn trong tạo giống để phát triển kiểu gen mới thích nghi tốt hơn với các yếu tố môi trường sinh học và phi sinh học. Mặt khác một giống cây trồng mới tạo ra từ tái tổ hợp tạo ra ưu thế lai cũng có thể gặp bất lợi khi nhân và sản xuất hạt giống. Sinh sản vô phôi là một hướng thay thế hình thành phôi đúng hệt như di truyền của cây mẹ có thể sử dụng để nhân kiểu gen dị hợp của giống ưu thế lai đơn giản hơn.

Sinh sản vô phôi chia thành các hình thức chủ yếu

- + Bào tử lưỡng bội (**diplospory**): Tế bào mẹ đại bào tử không đi vào phân chia giảm nhiễm hoặc ngừng ngay ở giai đoạn đầu của phân chia giảm nhiễm, chỉ trải qua phân chia nguyên nhiễm và không giảm bộ genome. Cả hai hình thức túi phôi hình thành và tế bào trứng lưỡng bội (Leblanc et al., 1995).
- + Hình thức vô bào tử (**apospory**): các tế bào khởi đầu vô tính hình thành từ các tế bào phôi tâm phân biệt, sau khi phân chia 3 lần nguyên nhiễm hình thành túi phôi chứa tế bào trứng lưỡng bội trực tiếp phát triển thành phôi không thụ tinh. Tuy nhiên một số loài vẫn cần quá trình thụ tinh của tế bào trung tâm để hình thành hạt.
- + Hình thức phôi bất định (**adventitious embryogenesis**) : khởi đầu từ mô xô ma của bầu nhụy, các tế bào hạch hoặc vỏ. Các tế bào này phát triển trực tiếp thành phôi và hoàn chỉnh cùng với phôi hữu tính hình thành sau thụ tinh (Koltunow, 1993).



Hình 1.8: So sánh con đường sinh sản hữu tính và vô phôi trong bầu nhụy cây hạt kín (sự khác nhau giữa hữu tính(giao phối) và sinh sản vô phôi (vô bào tử, bào tử lưỡng bội và phôi bất định) reproduction (nguồn sửa đổi và bổ sung sau Koltunow et al. 1995).

b) Cơ chế vô phôi

Cơ chế vô phôi xảy ra nếu đảm bảo 3 yêu cầu là: 1) một tế bào phát sinh có khả năng hình thành phôi trước phân chia giảm nhiễm, 2) tự phát sinh, phát triển thụ tinh đơn tính của phôi và 3) có khả năng tạo ra nội nhũ tự sinh hoặc nội nhũ qua thụ tinh (Koltunow,1993 và Carman,1997).

Hiện tượng vô phôi có ở 40 họ thực vật và rất đa dạng về quá trình dẫn đến vô phôi nó gợi ý rằng con đường tiến hóa của vô phôi có thể rất đa dạng về cơ chế tế bào học. So sánh hình thái, cấu trúc hình thành sinh sản vô phôi và hữu tính cho gợi ý rằng hai con đường sinh sản này có thể có chung một số yếu tố, nhưng cũng có số lớn các yếu tố không bình thường khác biệt nhau. Trong trường hợp hình thành bào tử lưỡng bội và túi phôi vô tính không quan sát thấy bốn thể giảm nhiễm. Vị trí khác nhau của các tế bào khởi đầu cho hình thức vô bào tử (và phôi bất định) hầu hết xảy ra ở những tế bào bên cạnh các tế bào phát sinh hữu tính, nhưng chúng không phát triển từ phôi tâm bởi vì nguồn gốc của nó là tế bào biểu bì và tế bào vô như đã mô tả (Koltunow,2003). Sự không theo quy luật cũng xảy ra trong phát triển bào tử lưỡng bội và túi phôi vô tính, với cấu trúc không bình thường phổ biến hơn ở vô bào tử. Nhìn chung nhưng cấu trúc không bình thường là thiếu sự phân cực của nhân ở giai đoạn phân chia nguyên nhiễm. Thêm hoặc lệch số nhân, túi phôi đơn cực, túi phôi đảo cực hoặc tình trạng cấu trúc không bình thường của trứng.

Hầu hết vô phôi tạo ra hạt phấn có sức sống, ngay cả vô phôi bào tử lưỡng bội, khiếm khuyết trong quá trình giảm nhiễm phát triển giao tử cái là không tự ảnh hưởng đến hình thành và chức năng của giao tử đực. Trong vô phôi, sự hình thành dạng phôi và nội nhũ có thể hoặc không bảo tồn quan hệ với cây sinh sản hữu tính từ kết quả những nghiên cứu gần đây nhất (Koltunow,1993 và Czapik,1994). Vô phôi cũng nhận số lượng gen bố mẹ của chúng không ngang bằng nhau trong nội nhũ và

hình thành các hạt có sức sống. Cần có những hiểu biết vấn đề này nó xảy ra và tác động như thế nào đến chất lượng hạt, để tạo ra vô phôi ở cây ngũ cốc, bởi vì cây ngũ cốc cũng có bộ gen của bố mẹ trong nội nhũ là không ngang bằng nhau. Xem xét thông tin đến nay về quy luật phát triển giao tử cái và noãn ở cây hữu tính và gần đây là những công cụ của di truyền phân tử để phân tích so sánh sinh sản hữu tính và vô phôi (Koltunow và Grossniklauss,2003) cung cấp những chứng minh sinh sản hữu tính và vô phôi ở loài *Hieracium* là liên quan và có quy luật chung. Chúng được kiểm tra các biểu hiện của một số gen sinh sản chỉ thị từ *Arabidopsis*. Những gen chỉ thị này có cấu trúc tổ hợp β -glucuronidase (*GUS*) và nhiều gen *Arabidopsis* như là các tác nhân kích thích GUS hoặc tổ hợp protein chimeric.

c) Ứng dụng vô phôi trong nhân giống cây trồng

- + Nhân giống cây chuyển gen và giống ưu thế lai, như vậy nông dân không phải mua giống hàng năm cho sản xuất của họ, quá trình sản xuất giống đơn giản hơn
- + Cây vô phôi có thể gắn ngay một tính trạng mong muốn và nhân phổ biến giống mới.
- + Tạo giống ưu thế lai ở tất cả các cây khó tạo giống ưu thế lai do sản xuất hạt giống lai F1 khó khăn
- + Duy trì kiểu gen di hợp khi lai xa ở cây trồng
- + Tạo giống có thể đáp ứng nhanh chóng với môi trường, điều kiện canh tác, sâu bệnh và điều kiện của vi môi trường. Điều này có thể giúp quản lý sinh thái nông nghiệp đa dạng và tối ưu
- + Nhân vô tính sinh dưỡng hiện nay như sắn, khoai tây, khoai lang, củ mỡ... kèm theo nhược điểm là cây con dễ nhiễm bệnh, hệ số nhân thấp. Nếu sử dụng vô phôi tăng hệ số nhân và giảm khả năng bị nhiễm bệnh qua vết thương khi nhân giống vô tính sinh dưỡng
- + Vô phôi khắc phục được hiện tượng cây trồng mất đi cơ chế sinh sản hữu tính như sai lệch trong thụ phấn thụ tinh, những sai lệch này do những biến đổi và áp lực môi trường sinh học và phi sinh học, nguyên nhân làm giảm năng suất cây trồng.

1.1.2 Sinh sản hữu tính

Sinh sản hữu tính là hình thức sinh sản có sự kết hợp của giao tử đực và cái để hình thành hợp tử, hợp tử phát triển thành phôi. Căn cứ theo mức độ hoàn thiện của quá trình sinh sản hữu tính người ta phân thành ba hình thức khác nhau.

- + Sinh sản hữu tính đẳng giao: sinh sản hữu tính đẳng giao là hình thức đơn giản nhất, hai giao tử hoàn toàn giống nhau, hình thức này phổ biến ở thực vật bậc thấp như tảo
- + Sinh sản hữu tính dị giao: hình thức này cả hai giao tử đều có khả năng di động cao và có tiên mao. Giao tử đực có kích thước nhỏ hơn, khả năng di động nhanh hơn giao tử cái, hình thức này cũng chỉ có ở thực vật bậc thấp
- + Sinh sản hữu tính noãn giao là hình thức sinh sản hữu tính cao nhất của thực vật, hai giao tử đực và cái hoàn toàn khác nhau về kích thước và đặc điểm. Giao tử đực thường rất nhỏ, khối lượng chủ yếu của nó là hạch còn chất nguyên sinh chỉ

là một lớp mỏng xung quanh hạch. Giao tử đực rất di động và còn gọi là tinh trùng. Giao tử cái thường không có khả năng di động gọi là noãn, chứa hạch lớn, chất nguyên sinh và chất dự trữ rất lớn để nuôi phôi. Hình thức sinh sản noãn giao có ở hầu hết các thực vật thượng đẳng và cũng có nghĩa là ở hầu hết các loài cây trồng.

Hình thức sinh sản hữu tính noãn giao là hình thức phổ biến nhất ở cây trồng, bao gồm hai nhóm cây chính là nhóm cây tự thụ phấn và nhóm cây giao phấn.

Những cây trồng chính thuộc nhóm cây tự thụ phấn

- + Cây thuộc họ hòa thảo như lúa (*Oryza sativa* L.)
- + Cây họ cà như cà chua (*Lycopersicon esculentum* Mill.), cà pháo và cà tím (*Solanum melongena* L.), ớt cay, ớt ngọt (*Capsicum annum* L.)
- + Cây thuộc họ hoa cúc như rau xà lách (*Lactuca sativa capitata* L.), rau diếp (*Lactuca sativa scariola* Alef)
- + Các cây họ đậu như Đậu tương (*Glycine max* L.) Merrill; đậu đũa (*dolichos sinensis* L.), cô ve leo (*Phaseolus sp* L.), đậu vàng (*Phaseolus Vulgaris* L.)

Những cây trồng chính thuộc nhóm cây giao phấn

- + Cây giao phấn họ hòa thảo như ngô (*Zea mays* L.)
- + Những cây thuộc họ bầu bí như dưa hấu (*Citrullus lanatus*), dưa chuột (*Cucumis sativus*), bí đỏ (*Cucurbita moschata*), bí xanh (*Cucurbita pepo*), bầu (*Lagenaria siceraria* Mol.), mướp (*Luffa aegyptiaca* Mill.)
- + Những cây thuộc họ thập tự như bắp cải (*Brassica oleracea* var. *capitata*), su hào (*Brassica caulorapa* Pasq hoặc *Brassica oleracea* var. *caulorapa*), su lơ (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), cải (*Brassica sp.* L.)
- + Những cây thuộc họ hành tỏi: hành tây (*Allium cepa* L.), tỏi (*Allium sativum* L.)
- + Cây rau thuộc họ hoa tán như carrot (*Daucus carota* L.)
- + Cây rau giền (*Amaranthus*) thuộc họ rau giền (*Amaranthaceae*)

1.1.2.1 Biểu hiện giới tính và yếu tố ảnh hưởng đến biểu hiện giới tính

Biểu hiện giới tính là đặc điểm nở hoa, phương thức thụ phấn, thụ tinh của cây trồng. Hầu hết các loài cây tự thụ phấn đều có hoa hoàn chỉnh có cả nhân tố đực và cái trong cùng một hoa, hoa nhỏ, ít màu sắc và mùi thơm, nhị và nhụy chín cùng thời điểm. Đây là những đặc điểm phù hợp cho quá trình tự thụ phấn. Trong sản xuất hạt giống đảm bảo điều kiện tự thụ phấn hoàn toàn là cơ sở duy trì độ thuần di truyền của lô hạt giống. Tuy nhiên một số cây tự thụ phấn do cấu tạo của nhị và nhụy đặc thù như đầu nhụy cao hơn nhị, thời gian chín của nhụy và nhị không trùng nhau khả năng nhận phấn ngoài cao, khi sản xuất hạt giống phải cách ly tốt tránh giao phấn mới duy trì được độ thuần di truyền của lô hạt giống. Ví dụ như cà chua nho (*Lycopersicon pimpinellifolium*) và một số giống cà chua có kiểu vòi nhụy thò ra khỏi hoa rất dễ tiếp xúc với côn trùng cần phải phủ lưới cách ly khi sản xuất hạt cà chua là cần thiết tránh để côn trùng truyền phấn lô hạt không đảm bảo độ thuần. Những biểu hiện giới tính ở thực vật cần quan tâm trong chọn tạo giống và sản xuất hạt giống là:

- + Loài cây hoa lưỡng tính tự thụ phần như lúa, cà chua
- + Loài cây có hoa lưỡng tính giao phần như họ thập tự
- + Loài cây hoa đơn tính cùng gốc như ngô
- + Loài cây hoa đơn tính khác gốc như cây họ bầu bí
- + Hiện tượng tự bất hợp ở cây họ thập tự và một số loài cây ăn quả
- + Bất dục đực bao gồm bất dục đực di truyền nhân, bất dục đực di truyền tế bào chất, bất dục di truyền nhân cảm ứng với môi trường

Biểu hiện giới tính phân chia thành những nhóm trên cũng chỉ tương đối để ứng dụng trong sản xuất hạt giống. Thực tế biểu hiện giới tính và sinh sản ở cây trồng rất phức tạp. Một ví dụ minh họa biểu hiện giới tính và sinh sản của cây họ bầu bí (*cucurbitaceae*) có thể có tám hình thức biểu hiện như sau:

- 1) Nhóm hoa lưỡng tính (*Hermaphrodite*) tất cả các hoa trên cùng một cây là lưỡng tính (như một số giống các loài mướp, dưa chuột và bí đao)
- 2) Nhóm hoa đơn tính cùng gốc (*Monoecious*) hoa đực và hoa cái khác nhau trên cùng một cây, đây là hình thức phổ biến nhất trong họ bầu bí.
- 3) Nhóm đực và lưỡng tính (*Andromonoecious*) có hoa đực và hoa lưỡng tính trên cùng một cây
- 4) Nhóm cái và lưỡng tính (*Gynomonoecious*) hoa cái và hoa lưỡng tính trên cùng một cây
- 5) Nhóm có ba loại hoa (*Trimonoecious Androgynomonoecious*) trên cùng một cây có ba loại hoa hoa đực, hoa cái và hoa lưỡng tính.
- 6) Nhóm cây có hoa đơn tính (*Dioecious*) Cây chỉ có hoa đực hoặc chỉ có hoa cái. Nếu cây chỉ thuần hoa đực gọi là cây đơn tính đực, cây chỉ có hoa cái gọi là cây đơn tính cái.
- 7) Nhóm cây đơn tính trung gian (*Gynodioecious*) trong các loài có hoa đơn tính chỉ có hoa cái có một số cây trong loài lại có hoa lưỡng tính
- 8) Nhóm bán đơn tính cái (*Sub-Gynoecious*) các cây thuần cái của loài đơn tính nhưng cũng xuất hiện một số hoa đực và lưỡng tính

Hình thức hoa đơn tính là phổ biến ở họ bầu bí. Lưỡng tính có nguồn gốc từ đơn tính khác gốc hay cùng gốc đã tiến hóa ra. Các cây họ bầu bí biểu hiện giới tính như thời gian nở hoa, kiểu giới tính của các hoa khác nhau, Số hoa có giới tính khác nhau trên cây, tỷ lệ giới tính. Những biểu hiện này do gen xác định và cũng chịu ảnh hưởng của môi trường. Biểu hiện giới tính có thể tác động bằng thay đổi môi trường hay sử dụng các chất điều tiết sinh trưởng. Thông thường các hormone có sẵn trong cây là auxin, gibberellin, cytokinin, ethylene, abscisic acid kích thích cho sự hoa. Một số kích thích hình thành hoa cái trong khi một số chất khác kích thích hình thành hoa đực.

Các chất kích thích hình thành hoa cái: auxin, ethylene (ethephon hoặc ethren) , Maleic hydrate (MH) Tri-iodobenzoic axit (TIBA), Cytokinin, Boron ở nồng độ thấp

Chất kích thích hình thành hoa đực: Gibbrellin, $AgNO_3$, Thiosulfate bạc $[Ag(S_2O_3)]$, Aminoethoxyvinylglycine (AVG). Nhiệt độ cao, ánh sáng mạnh, ngày

dài kích thích ra hoa đực. Phân kali thích hợp cho ra hoa đực trong khi phân đạm có tác dụng ngược lại. Cây dưa chuột thì mật độ dày, ánh sáng dài thì tỷ lệ hoa đực trên các dòng thuần cái tăng và hoa cái trên cây giảm. Các cây giao phấn họ thập tự lại có những đặc thù riêng, quá trình giao phấn là gen tự bất hợp, thụ phấn nhờ côn trùng cho nên kỹ thuật sản xuất hạt giống cũng có những biện pháp đặc thù như thả ong vào khu vực sản xuất để tăng năng suất hạt.

1.1.2.2 Hiện tượng tự bất hợp ứng dụng trong sản xuất hạt giống

Khái niệm về tự bất hợp: tự bất hợp là một hình thức không thụ tinh trong khi hạt phấn và tế bào trứng bình thường để kết hạt do nguyên nhân thiếu khả năng nào đó hoặc do hạn chế và cản trở chức năng sinh lý quá trình thụ tinh. Tự bất hợp có thể do nguyên nhân mất khả năng kéo dài của ống phấn xuyên qua đầu nhụy hoặc đủ dài để xuyên qua vòi nhụy cũng dẫn đến tự bất hợp. Trường hợp khác là do ống phấn kéo dài chậm và không xuyên tới được trứng hoặc do chậm và quá muộn, trứng đã được thụ tinh bằng phấn khác hoặc đã bị khô và chết. Hiện tượng tự bất hợp hạn chế giao phối gần và như vậy nó thúc đẩy giao phấn hoặc giao phối xa ở một số loài cây trồng. Hiện tượng tự bất hợp là rất phổ biến và đã tìm thấy ở 3000 loài thực vật khác nhau như họ đậu (*Leguminoosae*), họ cà (*Solanaceae*), họ thập tự (*Cruciferae*) và họ hòa thảo (*Gramineae*)

Có hai hệ thống tự bất hợp là bất hợp bào tử (sporophytic) và tự bất hợp giao tử (gametophytic)

a) Hệ thống tự bất hợp giao tử: hệ thống bất hợp này sinh trưởng ống phấn được điều khiển bởi đa allele S_1, S_2, S_3, \dots . Khi hạt phấn đơn bội nó chứa 01 trong những allele tự bất hợp, mô vòi nhụy phát sinh từ cây mẹ sẽ chứa 2 allele tự bất hợp nếu allele tự bất hợp ở hạt phấn giống hệt với các allele ở mô vòi nhụy thì khi hạt phấn kéo dài trong vòi nhụy tốc độ rất chậm và sự thụ tinh rất ít khi xảy ra. Ở hệ thống này là hạt phấn nảy mầm hoàn toàn trên đầu nhụy, nhưng một số điểm khi ống phấn phát triển trong vòi nhụy bị dừng lại và ống phấn chết có thể do sự hấp phụ các RNases có mặt ở đầu nhụy hoặc vòi nhụy. Nếu allele tự bất hợp khác với allele ở vòi nhụy thì ống phấn sinh trưởng nảy mầm bình thường và sự thụ tinh xảy ra bình thường. Một cây có kiểu gen S_1S_2 khi tự thụ phấn hoặc cho phấn cây khác có kiểu gen S_1S_2 , hạt phấn của chúng chứa allele S_1 hoặc S_2 (đơn bội). Cả hai allele đều đối kháng với allele của mô vòi nhụy nên ống phấn rất khó xuyên qua vòi nhụy để thụ tinh kịp thời. Nếu một cây có kiểu gen S_1S_2 khi thụ phấn bằng phấn của cây có kiểu gen S_1S_3 , hạt phấn sẽ chứa allele S_1 hoặc S_3 , khi đó chỉ có 01 hạt phấn có kiểu gen S_3 tương hợp có thể thực hiện thụ tinh bình thường. Cây có kiểu gen tự bất hợp S_1S_2 khi thụ phấn bằng phấn của cây có kiểu gen S_3S_4 , hạt phấn sẽ chứa allele S_4 hoặc S_3 như vậy tất cả các hạt phấn đều tương hợp. Một kiểu gen đồng hợp (ví dụ S_1S_1) sẽ tự bất hợp hoàn toàn khi vòi nhụy có 1 kiểu gen S_1 .

Hiện tượng tự tương hợp giả (*Pseudo-self compatibility*) là trường hợp allele tự bất hợp ngăn cản quá trình tự thụ phấn, thụ tinh không hoàn toàn, một số hiện tượng tự tương hợp giả do biến đổi do yếu tố môi trường như nhiệt độ, đột biến hoặc do thay đổi gen. Ngoài ra các allele tự thụ tinh (*self-fertility*) S_f có mặt trong cây có thể đã

làm mất hiệu quả tự bất hợp. Allel S_f là một trong những dãy các allele S và có thể phát sinh ra từ đột biến allele S. Đôi khi loài cây trồng lưỡng bội tự bất hợp trở thành tương hợp do đa bội như cỏ ba lá trắng. Tự bất hợp đối nghịch allele giữa hạt phấn và mô vòi nhụy khi cùng loại allele, để giải thích cho hiện tượng này East và Mangelsdorf đã đưa ra giả thuyết yếu tố đối kháng (*Oppositional factor hypothesis*). Di truyền của tự bất hợp trên một locus như được trình bày, một loài cây trồng có thể có số lượng allele tự bất hợp rất lớn, do vậy giao phấn xảy ra khá phổ biến như cỏ 3 lá đỏ người ta đã tìm thấy có 64 allele S ở locus cho nên chúng giao phấn là chủ yếu.

Di truyền tự bất hợp có thể ở các locus khác nhau, có thể trên 2 locus thay vì 01 locus, các locus được thiết lập là S và Z, nếu các allele ở 02 locus này của hạt phấn giống với 02 locus ở vòi nhụy sẽ tự bất hợp, nếu khác nhau thì tương hợp. Hệ thống tự bất hợp 2 locus thể hiện tính tương hợp cao hơn hệ thống 01 locus 5 – 10% ở thuốc lá và cỏ 3 lá. Hệ thống 4 locus nguyên lý tự bất hợp tương tự như 2 locus

b) Hệ thống tự bất hợp bào tử

Hệ thống tự bất hợp bào tử là hệ thống 01 locus với số lớn các allele S, nó khác hệ thống tự bất hợp giao tử là allele S biểu hiện trội và tính trội được xác định bởi cây tạo ra phấn. Ví dụ kiểu cây có kiểu gen S_1S_2 và S_1 là trội so với S_2 thì tất cả các hạt phấn sinh ra từ cây này đều có phản ứng như S_1 , nếu S_1 tự bất hợp tất cả các hạt phấn đều tự bất hợp, nếu tương hợp tất cả các hạt phấn đều phản ứng tương hợp.

Trong hệ thống này cản trở hạt phấn nảy mầm hoặc phát triển của ống phấn có vị trí xác định trên bề mặt đầu nhụy, đối ngược với tự bất hợp hệ thống giao tử cản trở phát triển của ống phấn nằm trong vòi nhụy. Những đặc điểm khác của tự bất hợp bào tử với hệ thống tự bất hợp giao tử là cây có thể tạo đồng hợp cho một allele S là một phương thức vượt qua hạn chế của tự bất hợp hoặc chuyển sang tự bất hợp giả. Đây là đặc điểm sử dụng trong tạo giống ưu thế lai và sản xuất hạt giống ưu thế lai của các loài tự thụ phấn đặc biệt ở cây họ thập tự.

Hệ thống tự bất hợp bào tử được tìm thấy ở hướng dương, bắp cải, su hào và các loài hai lá mầm khác nhưng chưa tìm thấy trong loài một lá mầm. Một số loài cải đã có nhiều phương pháp sử dụng để khắc phục phá vỡ tự bất hợp trên bề mặt đầu nhụy như thụ phấn sớm (thụ phấn nụ), dùng dung dịch muối ăn NaCl, làm vỡ đầu nhụy, ghép, sốc điện, tăng nồng độ CO_2 . Thụ phấn nụ là đưa phấn lên đầu nhụy chưa chín như vậy chưa có sự cản trở của tự bất hợp, thông thường thụ phấn 3 ngày trước khi nở hoa vì gen S chỉ hoạt động 1- 2 ngày trước nở hoa.

Hệ thống này phụ thuộc vào khả năng của đầu nhụy và vòi nhụy đến phần khác nhau. Biểu hình là phấn không có khả năng nảy mầm hoàn toàn trên đầu nhụy hoặc không có khả năng như ống phấn để xuyên qua tế bào vách. Kiểu hình của hạt phấn là thể bào tử xác định bởi bộ genome của cây bố mẹ. Biểu hình của hệ thống này là cây họ thập tự *Brassicaceae* đầu nhụy trở lên tự bất hợp một ngày trước khi hoa nở.

c) Cơ chế tự bất hợp: có rất nhiều allele liên kết với tự bất hợp (đến 60 đã được tìm thấy ở *Brassica oleracea*) và có tương tác của các allele trội và đồng trội quyết định đến phản ứng tự bất hợp rất mạnh, thông tin di truyền tổ hợp của ba gen điều khiển tự bất hợp dẫn đến chấp nhận thuật ngữ kiểu đơn bội S “**S haplotype**” hơn là allele S

“**S-allele**”. Để xem xét thông tin di truyền xác định phản ứng phức tạp này. Có hai loại chính được công nhận mức độ phản ứng của kiểu đơn bội S khác biệt về số hạt phần nảy mầm ở các cây dị hợp.

Loại 1 có từ 0 đến 10 hạt phần nảy mầm và phát triển ống thành công,

Loại 2 có từ 10 – 30 hạt phần.

Khác biệt với những hiểu biết trước đây, có sự liên kết chặt của ba gen và sao chép thông tin của 3 gen tự bất hợp ở locus S ở cả tự bất hợp giao tử và bào tử.

- **Thứ nhất** là gen *S-locus glycoprotein* (**SLG**) sao mã thông tin di truyền đầu nhụy tạo ra protein ngoài tế bào (trên đầu nhụy), protein này trợ giúp cho protein nhân trong phản ứng tự bất hợp bào tử.
- **Thứ 2** là liên kết cao của **amino-acid** tương đồng để SLG để vượt qua phần của chiều dài liên kết với phần nhận. Ngoài ra nó cũng mã hóa một vùng nổi của màng và vùng protein kinase với hoạt động của photpho chậm (a serine/threonine kinase) đây là gen **SRK** (S-locus Receptor Kinase), một màng liên kết với chất nhận cũng chỉ có mặt ở đầu nhụy.
- **Thứ ba** là gen **SP11** (S-locus pollen protein 11) hoặc **SCR** (S-locus Cysteine-Rich protein). Gen này chứng minh những biểu hiện hạt phần có những gen đặc thù protein, đây là preprotein đã động lại trong lớp ngoài phần và thâm lên đầu nhụy theo phần khi phần rơi vào đầu nhụy và liên kết với hạt phần. Protein giàu cystein SCR xác định kiểu đơn bội S đặc trưng của đầu nhụy, trong khi SCR/SP11 xác định kiểu đơn bội S đặc thù của hạt phần.

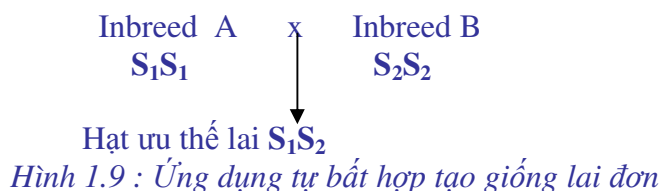
Hiện nay cho rằng trong họ thập tự *Brassicaceae* ít nhất SLG đã phát sinh bởi nhân bản của SLK và chọn lọc và biểu hiện kích thích gen tạo ra protein SLG. SLK có vùng ngoài tế bào tương tác với SLG để tăng cường tính bất hợp của phần. SRK thường ức chế từ tự photphorin trên tế bào chất bề mặt của màng bởi **THL** (Thioredoxin H-like protein) bao bọc xung quanh nó nếu SRK không photphorin hóa nó sẽ không hoạt động. Các cây tự bất hợp SRK (có hay không có sự trợ giúp của SLG) gắn với SRC/SP11 từ hạt phần bất hợp và THL phân tách ngay lập tức từ vùng Kinase. Tự photphorin hóa đã hoạt hóa SRK tạo thêm kinase khác. Locus protein kinaza biến đổi MLPK (Modifier Locus Protein Kinase) cùng nhau hoạt hóa một protein ARC (Armadillo Repeat Containing Protein). ARC được nhận biết là các protein kích thích phát triển của phần

d) Ứng dụng tự bất hợp trong tạo giống

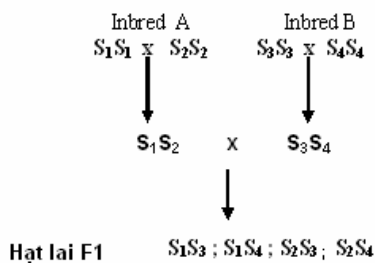
Mặc dù tự bất hợp gây trở ngại tạo giống với các loài cây tự thụ phấn và tạo dòng thuần ở các loài cây giao phấn, nhưng nó là công cụ hữu ích để tăng cường giao phấn giữa các dòng tự bất hợp để tạo ra hạt ưu thế lai trong sản xuất hạt lai. Tự bất hợp là công cụ điều khiển thụ phấn một số loài cây trồng khi chưa sử dụng bất dục được trong tạo giống và sản xuất hạt giống ưu thế lai.

Tự bất hợp giao tử được ứng dụng sản xuất hạt ưu thế lai của cỏ bahia, đây là loài giao phấn nhân giống vô tính. Người ta trồng 2 dòng vô tính tự bất hợp thành các băng cạnh nhau, chúng giao phấn cho nhau và hạt thu được trên mỗi dòng là hạt lai giữa hai dòng vô tính tự bất hợp.

Lai đơn, lai ba và lai kép: hệ thống được phát triển với các cây loài *Brasicas* như bắp cải, cải xoăn sử dụng hệ thống tự bất hợp bào tử, các tính trạng trội của hệ thống này có thể tạo ra các cặp allele đồng hợp của allele S (S_1S_1 , S_2S_2 ...) hạt của dòng có kiểu gen đồng hợp duy trì bằng thụ phấn tự (thụ phấn trước nở hoa 3 ngày). Hệ thống lai đơn yêu cầu hai dòng tự bất hợp là các dòng tự thụ và giao phấn, mỗi dòng này có allele đồng hợp S

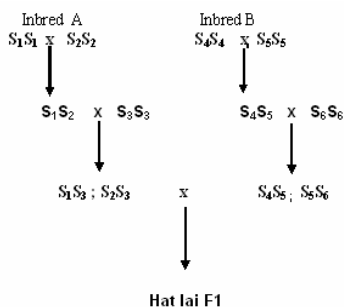


Hệ thống lai đơn này yêu cầu tạo hạt tự bất hợp bằng thụ phấn tự là rất lớn, để khắc phục có thể sử dụng các lai đơn này để sản xuất hạt lai kép để tăng số lượng hạt. Yêu cầu của tạo hạt lai kép cần 4 dòng đồng hợp kiểu gen S như sau



Hình 1.10 : Ứng dụng tự bất hợp tạo giống lai kép

Để tăng hạt lai cũng có thể áp dụng hệ thống tự bất hợp 6 dòng đồng hợp allele S như sơ đồ sau



Hình 1.11. : Ứng dụng tự bất hợp tạo giống lai kép

Sử dụng allele S_F và tự tương hợp giả: tự bất hợp giả từ đã được sử dụng để tạo giống củ cải đường ưu thế lai, một số hạt nhân được các dòng tự phối tự bất hợp khi trồng ở độ cao hoặc sử dụng allele S_F để duy trì các dòng này. Các dòng này được sử dụng trong sản xuất hạt lai đơn hoặc lai ba. Ở cỏ ba lá đỏ sử dụng các dòng tự phối giả tương hợp giống như hệ thống lai kép (hình 1.10) chỉ khác là sử dụng dòng tương

hợp giả để tạo dòng tự phối, thu được dòng tương hợp giả khi nhân ở nhiệt độ cao, đột biến

Tạo giống ưu thế lai như trên sử dụng tự bất hợp như một phương tiện điều khiển quá trình thụ phấn để tạo hạt lai. Với tất cả các cây khó có thể khử được bằng tay hoặc sử dụng bất dục được để phát triển giống ưu thế lai người ta sử dụng tự bất hợp.

1.1.2.3 Hiện tượng bất dục được

Bất dục được là cây không có khả năng tạo ra hoặc giải phóng hạt phấn có chức năng bình thường. Bất dục được có thể là do di truyền nhân, tế bào chất, bất dục được chức năng hoặc bất dục do hoá chất.

a) Bất dục được di truyền nhân

Bất dục được di truyền nhân do một gen ẩn (ms) trong nhân kiểm soát. Ở một số cây trồng một hoặc nhiều gen tham gia kiểm soát sự bất dục được, ví dụ ở ngô, cà chua, cao lương. Dòng bất dục được di truyền (msms) được duy trì bằng cách lai với dòng hữu dục dị hợp tử (MSms). 50% số cây thế hệ con bất dục được, 50% hữu dục. Trong khu lai hoặc sản xuất hạt lai, cây hữu dục trong dòng mẹ được nhỏ bỏ ngay khi nhận biết được. Trong một số trường hợp, cây bất dục được có thể được xác định thông qua gen chỉ thị ở giai đoạn cây non. Nếu không có gen chỉ thị cây bất dục được chỉ xác định được thông qua quan sát hoa một cách cẩn thận; đôi khi không thể loại bỏ hết những cây hữu dục trước khi tung phấn. Đây là một hạn chế của bất dục được di truyền, hạn chế giá trị sử dụng làm công cụ để sản xuất hạt lai.

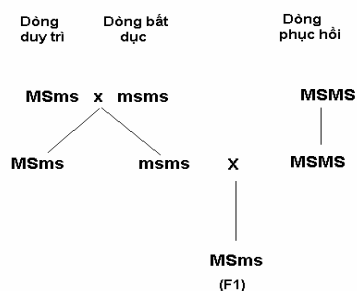
Hệ thống gen trong nhân

MSMS : hữu dục

MSms : hữu dục (duy trì bất dục)

msms : bất dục

Hiện tượng bất dục được di truyền nhân được ứng dụng trong sản xuất hạt lai F1 để giảm bớt công khử được như sơ đồ sau

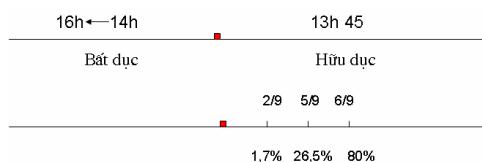


Hình 1.12: Ứng dụng bất dục được nhân di truyền nhân trong sản xuất hạt lai F1

b) Bất dục được chức năng: là dạng bất dục do gen trong nhân kiểm soát. Cây tạo ra hạt phấn bình thường nhưng không thể giải phóng ra ngoài do bao phấn không mở. Bất dục được chức năng được nghiên cứu nhiều ở cà chua. Tuy nhiên bất dục được chức năng rất mẫn cảm với điều kiện môi trường nên ít được sử dụng trong sản xuất hạt lai.

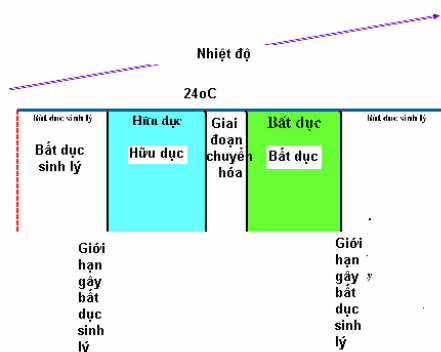
Bất dục được chức năng di truyền nhân cảm ứng môi trường

Bất dục chức năng di truyền nhân cảm ứng môi trường do gen trong nhân kiểm soát dưới dạng cảm ứng với nhiệt độ *tms* (Thesmo-sensitive Genetrie male sterile) , cảm ứng với ánh sáng *pms* (Photoperiod sensitive Genetic male sterile) hoặc môi trường ems (Environnmental sensitive genetic male sterile). Bất dục đực di truyền nhân cảm ứng ánh sáng được phát hiện ở Hồ Bắc Trung Quốc vĩ độ 30⁰27'N vào mùa hè Shi Ming Song phát hiện cây bất dục trong quần thể lúa Nong Ken 58 như sau: Bất dục PGMS được ứng dụng trong tạo giống lúa lai hệ hai dòng có những ưu điểm là phản ứng bất dục này rất ổn định do độ dài chiếu sáng rất ổn định. Ứng dụng trong nhân dòng mẹ ở mùa vụ hay địa phương có thời gian ánh sáng ngày ngắn và sản hạt lai ở thời vụ hay địa phương có ngày dài. Đến nay đã xác định được 3 gen *pms* là *pms1* nằm trên NST số 7, *pms2* nằm trên NST số 3 và *pms3* nằm trên NST số 12 (S.S.Virmani, Z.X. Sun, T.M. Mou, A. Jauhar Ali và C.X.Mao,2003)



Hình 1.13- Bất dục đực nhân di truyền nhân cảm ứng ánh sáng

Bất dục đực di truyền nhân cảm ứng với nhiệt độ do gen *tms* trong nhân quy định, khi ở nhiệt độ cao gen hoạt động gây ra bất dục nhưng ở nhiệt độ thấp hơn 24°C ở trạng thái không hoạt động nên hữu dục bình thường. Phản ứng bất dục và hữu dục rất khác nhau ở các dòng và chỉ bất dục do gen có ý nghĩa trong sản xuất hạt giống còn bất dục sinh lý do nhiệt độ quá cao hoặc quá thấp không có ý nghĩa trong chọn giống và sản xuất hạt giống. Bất dục di truyền nhân cảm ứng nhiệt độ đã được ứng dụng rộng rãi trong tạo giống và sản xuất lúa lai hệ 2 dòng ở Trung Quốc cũng như nước ta từ năm 2000, những tổ hợp đầu tiên là Bồi tạp sơn thanh, Bồi tạp 49, Việt lai 20, TH3-3, Việt lai 24... Nhân hạt mẹ trong điều kiện nhiệt độ thấp và sản xuất hạt lai trong điều kiện nhiệt độ cao được ứng dụng trong sản xuất hạt giống lúa lai F1



Hình 1.14 Bất dục đực nhân di truyền nhân cảm ứng nhiệt độ

Đến nay đã xác định được 4 gen tms là *tms1* nằm ở NST số 8, *tms2* nằm trên NST số 7, *tms3(t)* nằm trên NST số 6 và *tms4* nằm trên NST số 9 (S.S.Virman, Z.X. Sun, T.M. Mou, A. Jauhar Ali và C.X.Mao,2003).

c) **Bất dục tế bào chất-nhân**

Bất dục tế bào chất có sự tham gia của cả tế bào chất và nhân, là kết quả tác động phối hợp của tế bào chất bất dục, gen (S) ngoài tế bào chất quy định tính bất dục, gen (N) quy định tính dục bình thường và gen nhân (rf) quy định bất dục (Rf) phục hồi bất dục. Khi nhân hạt mẹ bất dục (Srfrf) phải sử dụng dòng duy trì bất dục có kiểu gen Nrfrf làm bố sẽ tạo ra hạt bất dục cung cấp cho sản xuất hạt lai F1. Khi sản xuất hạt lai F1 phải sử dụng cây có kiểu gen (N)/(S)RfRf phục hồi hữu dục để tạo ra hạt F1 hữu dục bình thường. Bất dục CMS được sử dụng trong sản xuất hạt giống ưu thế lai hệ 3 dòng ở cây trồng bắt buộc phải sử dụng bất dục như lúa, bắp cải, su lơ...hoặc để giảm bớt công khử dục như cây ngô

1.2 Sự hình thành hoa – quả trong sinh sản hữu tính

Nghiên cứu hình thành hoa-quả rất quan trọng đối với công nghệ sản xuất hạt giống vì nó là cơ sở khoa học cho các kỹ thuật 1) bố trí thời vụ thuận lợi cho phân hóa hoa và đậu quả, nâng cao năng suất và chất lượng hạt giống, 2) điều khiển quá trình thụ phấn thụ tinh tạo hạt giống, 3) điều khiển nở hoa trùng khớp của bố mẹ trong sản xuất hạt lai F1, 4) khử dục thụ phấn tạo hạt lai, 5) kỹ thuật tách hạt giống, 6) chế biến và bảo quản hạt giống

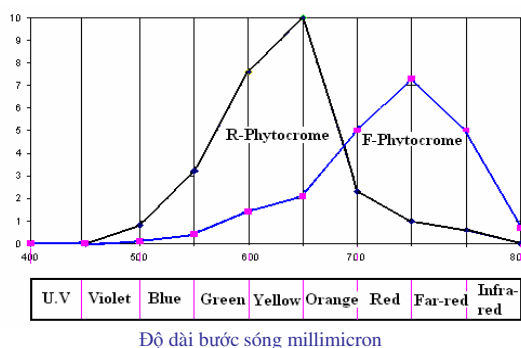
1.2.1 Cảm ứng ra hoa

Sinh trưởng dinh dưỡng ở thực vật diễn ra đến khi cây ra hoa, khi đó đảm bảo có một kích thích từ bên ngoài có thể làm bùng nổ cảm ứng và ra hoa. Sự thay đổi sinh lý đó là khởi đầu của sự sinh sản, sự thay đổi này có thể xảy ra trong một vài ngày, vài tuần và có thể vài tháng. Tác nhân cảm ứng ra hoa có thể do nhiệt độ, ánh sáng, dinh dưỡng, độ dài ngày, hóc môn....

- + **Tác nhân nhiệt độ:** nhiều loài cây trồng yêu cầu nhiệt độ thấp để kích thích ra hoa gọi là sự xuân hoá (vernalization) . Với nghĩa hẹp nhất xuân hoá là sự kích thích ra hoa một số cây ngũ cốc mùa đông bằng xử lý nảy mầm của hạt ở điều kiện lạnh. Rộng hơn xuân hoá là sự kích thích ra hoa của bất kỳ loài cây nào như cây hàng năm, cây lâu năm mùa đông. Ví dụ lúa mạch đen (*Secale cereale*) là cây hàng năm, cỏ tước mạch (*Lolium perenne*) là cây lâu năm.
- + **Cảm ứng độ dài ngày:** độ dài ngày hay quang chu kỳ là tác nhân gây cảm ứng ra hoa ở nhiều loài thực vật, vì thế các loài có thể phân loại theo yêu cầu độ dài ngày, thường 3 nhóm là dài ngày, ngắn ngày và trung ngày. Thực sự quan hệ giữa tối và sáng là yếu tố ảnh hưởng đến sự ra hoa.
- + **Phytochrome (sắc tố):**ngoài nghiên cứu phản ứng ra hoa của cây trồng, nghiên cứu phản ứng khác như nảy mầm của hạt, mất ngủ, kéo dài thân và phát triển cuống lá cho thấy hầu hết phản ứng với cùng một ánh sáng giống nhau với các bộ phận khác nhau của cây. Điều này gợi ý rằng sự phản ứng là được điều khiển

bởi cùng một chất hấp thu ánh sáng. Năm 1959 chất này đã được khám phá và nhận biết tên là Phytochrome.

Hai quang sáng thuận nghịch hình thành của Phytochrome tồn tại trong thực vật. Pg Phytochrome hấp thu ánh sáng đỏ vàng bước sóng 600- 680 nanometers[nm] và ngăn cản sự ra hoa, còn P_{F-R} Phytochrome hấp thu ánh sáng đỏ xa (700-760nm) và kích thích sự ra hoa. Sự thay đổi từ P_{F-R} đến P_R tạo ra vùng tối nhưng tỷ lệ thấp hơn rất nhiều và được choán bởi ánh sáng đỏ xa. Điều này là cơ sở của độ dài ngày hoặc quang chu kỳ cũng như phản ứng với chất lượng ánh sáng trong điều khiển sự ra hoa.



Hình 1.15 Mối quan hệ hiệu quả và sự hấp thu ánh sáng

- + **Tác nhân hoá học:** các chất hoá học tổng hợp và tự nhiên cũng có thể là nguyên nhân của cảm ứng ra hoa. Một số Auxin như Indolacetic acid, Naphthaleacetic acid hoặc thuốc trừ cỏ 2,4 -D, khi nồng độ Gibberellic acid cao cũng có thể là nguyên nhân kích thích ra hoa. Chúng kích thích sự ra hoa của cây dài ngày trong điều kiện ngắn ngày và ngược lại. Cytokinin, ethylene, acetylene, ethylene và chrohydrin cũng được công bố là chất kích thích ra hoa hoặc tăng khả năng nở hoa. Với sự phát triển của khoa học và hiểu biết của con người về cảm ứng ra hoa và tăng khả năng nở hoa bằng tổng hợp hormones nó trở thành có ích và thuận lợi trong phát triển hoa , quả của cây trồng một cách chắc chắn.

- + **Tình trạng dinh dưỡng:** tình trạng dinh dưỡng của cây cũng rất quan trọng để kích thích sự ra hoa, bởi vì khi xây dựng cấu trúc của hoa phụ thuộc vào dinh dưỡng hiện có và sự vận chuyển, trao đổi của chất dinh dưỡng. Tỷ lệ C/N là đặc biệt ảnh hưởng trong một số loài cây có hoa đực và cái riêng rẽ. Tỷ lệ N với C cao phù hợp hơn cho sự ra hoa

1.2.2 Phân hoá hoa

Sự cảm ứng ra hoa có thể tác động bởi kích thích từ bên ngoài. Về hình thái sự phân hoá xảy ra nhỏ và sâu trong mô phân sinh của đỉnh sinh trưởng. Ở cây một lá mầm và hạt có phôi đơn, sự phân hoá hoa bắt đầu ở mô đặc biệt gọi là dermatogens sau đó nó cũng nhú ra ngoài. Ở cây hai lá mầm hoặc loài hạt có cặp hai lá mầm phân hoá hoa xảy ra ở các chồi bên hoặc chồi lách lá. Thời kỳ đầu của sự phát triển của mô sinh sản giống như mô dinh dưỡng, đó là sự xuất hiện một u nhỏ hoặc hình mảnh dài

trên trụ xoắn ốc hình nón hoặc giá đỡ. Khi phát triển hơn thì các hình thể này phát triển thành các bộ phận của hoa, cơ quan và lá noãn cuộn lại hình thành dạng quả.

1.2.3 Hình thái của hoa

Hoa điển hình của cây hạt kín hoặc cây có các hạt nằm trong bầu nhụy, được cấu tạo gồm cánh hoa, lá đài, nhị đực, và nhụy, các cánh hoa (petals) thường lộ toàn bộ và dính trên tràng hoa (corolla), lá đài thông thường (không phải luôn luôn như vậy) lộ ra nhỏ hơn và dính trên đài hoa. Nhị là cơ quan đực bao gồm bao phấn và chỉ nhị. Nhụy là bộ phận cái (đôi khi còn gọi là bộ nhụy (gynocium) của hoa bao gồm đầu nhụy nơi nhận phấn, vòi nhụy (style) và bầu nhụy (ovary), bầu nhụy có thể bao bọc bởi 1 hay nhiều lá noãn, lá noãn có cấu trúc thay đổi cao. Khi chỉ một lá noãn hình thành một bầu nhụy nó tạo ra một ngăn hay một khoang đơn. khi bầu nhụy được tạo nên bởi hai hay nhiều lá noãn và hình thành nên hai hoặc nhiều ngăn phụ thuộc vào sự sắp xếp của chúng trên vách bầu gọi là vỏ bầu(vỏ quả)

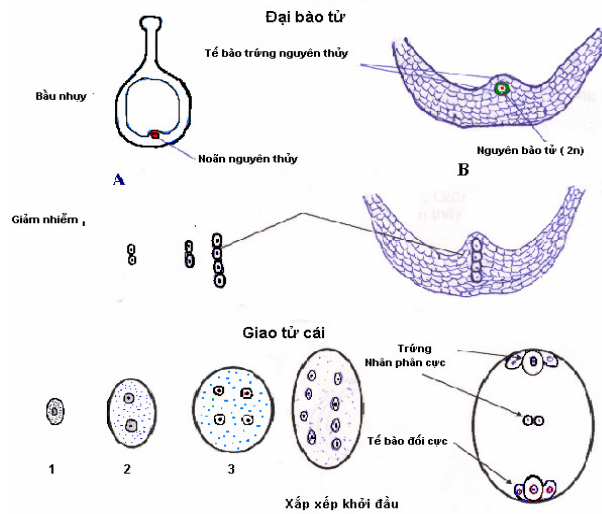
1.2.4 Sự phát sinh đại bào tử

Hạt của cây hạt kín phát sinh từ mô phân sinh của bầu nhụy gọi là tế bào trứng nguyên thủy. ở các loài có buồng trứng đơn, những mô phân sinh nguyên thủy này thường đóng ở gần vách của bầu nhụy nơi hai đầu noãn gặp nhau. ở các loài có nhiều noãn hạt được hình thành tại nơi gặp nhau của đầu noãn hoặc dọc theo trung tâm của noãn và nó phụ thuộc vào kiểu dính noãn. Ở một số loại quả (cà chua..) giá noãn xuất hiện và phát triển từ nhiều tế bào trứng nguyên thủy.

+ Phát triển của đại bào tử

Trong phôi tâm hoặc mô chuyên hoá của noãn một tế bào được biết như là nguyên bào tử (Archegonial) phát triển các đặc điểm đặc biệt được phân biệt với các tế bào bên cạnh khi tế bào này tăng trưởng. Phôi tâm trở lên lớn hơn và tế bào chất tăng hơn chuẩn bị cho sự phân chia trong tế bào mẹ đại bào tử và tế bào vách. Thông thường tế bào vách không phân chia và sớm teo đi, mặc dù vậy ở một số loài nó trải qua phân chia và đóng góp vào sự hình thành hạt.

Tế bào mẹ đại bào tử là lưỡng bội (2N) có cùng số lượng NST như bố mẹ. Nó sớm đi đến phân bào giảm nhiễm tạo ra 4 đại bào tử, mỗi đại bào tử có 1/2 số lượng NST của bố mẹ đó là tế bào đơn bội (1 N). Thông thường chỉ có một đại bào tử có chức năng sinh sản còn 3 tế bào khác thoái hoá



Hình 1.16: Quá trình hình thành giao tử

+ Phát triển của noãn

Sự phát triển của noãn xảy ra trong bầu nhụy, nơi phát triển của giao tử cái và cũng là nơi thụ tinh giữa giao tử cái và giao tử đực hình thành phần tử sống tiếp tục phát triển thành phôi. Sinh trưởng của noãn bắt đầu từ khi hình thành một u nhỏ bên trong phôi tâm và trở thành noãn, được phân biệt bởi các đặc điểm hình thái. U nhỏ thứ 2 hoặc cánh hoa sớm xuất hiện xung quanh ngoại biên của phôi tâm và bao bọc lấy nó. Bộ phận này thường bao gồm vỏ áo trong và vỏ áo ngoài và cuối cùng trở thành vỏ hạt (testa) của noãn chín.

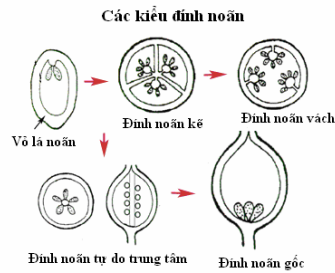
Noãn đang phát triển thường gắn với giá noãn bằng cuống noãn. Kề nứt trên noãn được tạo ra nơi cuống noãn phân tách, khi chín được biết đó là rốn hạt. Điểm nơi vỏ áo gặp nhau ở đỉnh phôi tâm là lỗ noãn và là vùng khởi đầu của vỏ áo. Điểm hợp thường gắn đối diện với lỗ noãn (chalaza). Giữa điểm hợp và rốn hạt của nhiều loài là rãnh hạt, nhiều loài rãnh hạt có thể nhìn thấy bên ngoài vỏ hạt.

Sự sắp xếp của noãn

Noãn chín phân thành 5 dạng khác nhau, dựa trên cơ sở sự sắp xếp của chúng trong bầu nhụy (hình 1.18). Sự sắp xếp khác nhau bắt đầu khi tế bào nguyên bào tử phát triển và phân biệt rõ nét trong thời gian phôi chín. Các dạng noãn được xác định ở hầu hết các loài và được xem như là một cơ sở phân loại cây trồng. Sự sắp xếp noãn thường thấy biểu hiện ở bên ngoài ví dụ liên quan đến vị trí của rốn hạt, lỗ noãn của nhiều loài họ đậu có thể nhìn thấy dễ dàng.



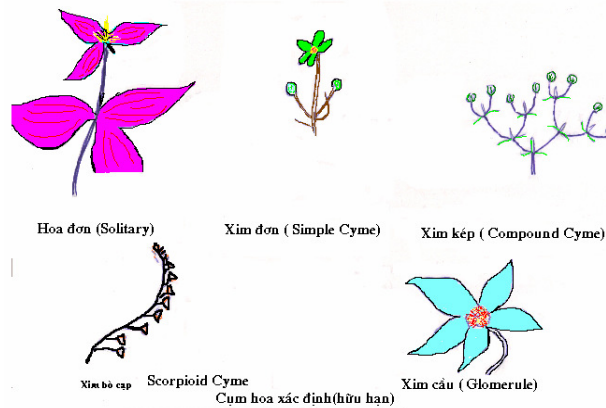
Hình 1.17: Các kiểu sắp xếp lỗ noãn (Nguồn Larry O. Copeland và Miller B. McDonald, 1995)



Hình 1.18 Các kiểu đỉnh noãn (nguồn Hugh D. Wilson, 1998)

1.2.5 Phân loại hoa

Sự sắp xếp của các hoa trên trục hoa gọi là bông hoa (cấu trúc của một hoa), đặc điểm này ổn định ở các loài. Cuống chính của cụm hoa gọi là trục bông hoa, các cuống bên gọi là gié, hoa có thể là vô hạn hay hữu hạn. Các hoa hữu hạn khi điểm cuối cùng của trục có một hoa và các hoa vô hạn điểm cuối cùng là mắt các mắt này tiếp tục sinh trưởng và ra hoa suốt trong mùa ra hoa. Kết quả là các hoa khác nhau về thời gian chín, mặc dù chúng trong cùng một bông hoa.

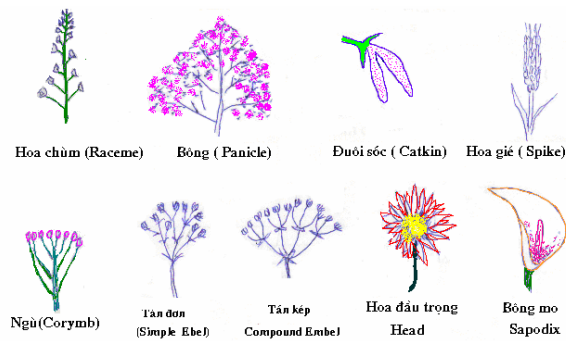


Hình 1.19: Hoa hữu hạn (Nguồn Larry O. Copeland và Miller B. McDonald, 1995)

Hoa hữu hạn : bao gồm hoa đơn và hoa tự

Hoa đơn: là kiểu đơn giản nhất của hoa hữu hạn

Hoa tự hữu hạn có các loại như: xim đơn cụm hoa hữu hạn có gié đơn giản nhất, xim kép có gié thứ cấp và mỗi một gié trở thành một sim đơn còn gọi là xim nhiều ngã, xim này chỉ gặp ở một số ít cây như đại kích (*Euphorbia*). Xim bò cạp: Là hoa hữu hạn có các mắt phụ ở một bên trục hoa, sự phân nhánh tạo nên ở lách lá bắc chỉ ở một bên và kết thúc bằng một hoa, tất cả các trục bên đều hướng về một phía tạo nên sắp xếp vòng hoặc cuộn. Ví dụ hoa cây vòi voi (*Heliotropium indicum*), xim cầu một xim kép xếp thành khối chắc như củ tai hùm (*Saifraga*)



Hình 1.20 : Hoa vô hạn (Nguồn Larry O. Copeland và Miller B. McDonald, 1995)

Hoa tự vô hạn

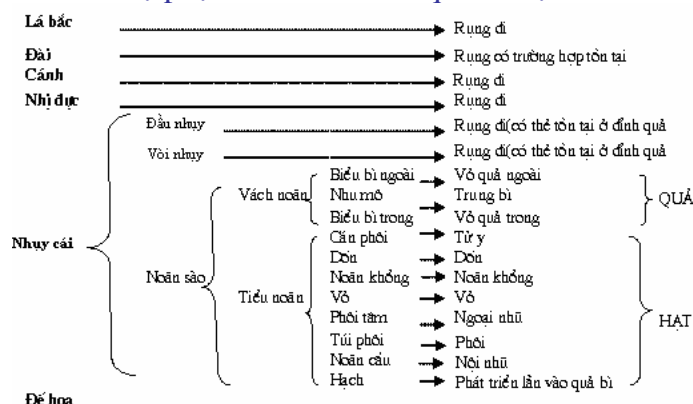
Hoa chùm: cuống thứ cấp đính dọc theo trục tâm trục hoa, một bông hoa các nhánh phụ mọc từ trục bông, và tiếp theo là nhánh thứ cấp từ nhánh thứ cấp có các hoa con. Hay nói cách khác là kiểu chùm mang hoa không cuống hoặc cuống rất ngắn có ở cây mã đề (*Plantago*); hạt tiêu (*Piper*) và nhiều thứ lan (*Orchidaceae*), yến mạch (*Avina sativa*), chuối (*Musa paradisiaca*), dứa (*Ananas sativa*), ngô (*Zea mays*). Hoa gié: một bông hoa các hoa mọc dọc theo trục bông như lúa mì (*Triticum*), hoa đuôi sóc là biến thể của hoa gié với các hoa vô tính đơn mọc từ trục bông có ở loại sồi (*Quercus*). Hoa ngù là hoa chùm, các gié thấp vươn dài hơn tạo cho các hoa xếp thành mặt phẳng có ở nhót tây (*Eriobotrya japonica*). Hoa tán : có hai loại tán đơn và tán kép, tán kép khác tán đơn là trục bên tận cùng không phải là các hoa mà là các tán đơn, trong tán kép tại gốc tán chung có các lá bắc con tập trung lại gọi là tổng bao. Tán đơn thường gặp ở hành (*Allium fistulosum*), tỏi (*Allium sativum*), rau má (*Centella asiatica*), chua me đất (*Oxalis tuberosa*) và tán kép thường gặp ở cà rốt (*Daucus carota*), thìa là (*Anathum graveolens*). Hoa đầu trong là bông hoa có trục rút ngắn lại, các hoa gần như không có cuống và các gié xếp xít nhau trên cùng một mặt phẳng. ví dụ họ cúc (*Compositae*)

1.2.6 Phát triển của quả

Để hiểu biết về hạt và sự hình thành hạt cần có những hiểu biết về phát triển của quả và các loại quả. Định nghĩa về quả trong thực vật là một khái niệm và ý nghĩa rộng hơn những thuật ngữ sử dụng thông thường. Quả là một bầu nhụy chín chứa một hoặc nhiều noãn. Khi thụ tinh xong thì tiểu noãn phát triển thành hạt còn noãn sào phát triển thành quả. Các thành phần khác như nhị, vòi nhị, núm nhị thường héo đi sau khi thụ phấn, ngoài nhụy tham gia hình thành quả còn có một số bộ phận khác nữa, như vậy có thể gọi quả là sản phẩm của nhụy và có thể có thêm các thành phần khác của hoa. Tuy nhiên một số trường hợp quá trình thụ phấn thụ tinh không xảy ra, hoặc chỉ có thụ phấn không có thụ tinh noãn sào vẫn phát triển thành quả và tạo ra quả không hạt hay còn gọi là quả đơn tính. Trường hợp không thụ phấn và không thụ tinh ít xảy ra, trường hợp có thụ phấn nhưng không thụ tinh hình thành quả có ở các loài quả không hạt như chuối (*Musa paradisiaca*), cam sành (*Citrus nobilis*), dứa (*Ananas sativa*).. Một số nho (*Vitis*) dù chỉ thụ phấn bằng phấn của loài cây khác cũng kết quả được.

Khái niệm “quả” được dùng trong thực tế cần phải lưu ý vì quả đôi khi là một tập hợp nhiều quả như dứa, mít hay ta nói hạt ngô nhưng thực ra lại là một quả theo định nghĩa về quả. Quả dâu tây ta gọi phần ăn được là quả, nhưng thực tế đó là phần đế hoa tạo thành, còn các hạt màu đen tann nằm trên đó mới là quả. Phần ăn được của dứa là trục bông chứ không phải là quả dứa như ta thường gọi.

Tóm tắt sự biến đổi các bộ phận của hoa thành quả và hạt như sau



Hình 1.21: Biến đổi các bộ phận của hoa thành quả

Cấu tạo của quả là một buồng (khoang) chứa một hoặc nhiều tế bào trứng (noãn) , mỗi noãn phát triển thành một hạt, trong trường hợp có một noãn hạt như hạt đậu, hồ tiêu, ngũ cốc và quả nhiều noãn trong quả nhiều hạt như táo, cam và đào ...

Vỏ quả của cây hạt kín là tổ hợp của 3 lớp khác nhau, các loài khác nhau độ dày mỏng các lớp khác nhau và mỗi loài cũng có hình thái và cấu trúc quả khác nhau.

Exocarp	Vỏ quả ngoài (outer layer)
Endocarp	Vỏ quả trong (inter layer)
Nusocarp	Vỏ quả giữa (midle layer)

1.2.7 Các dạng quả

Hiểu biết về quả cần thiết với nhà sản xuất hạt giống, ời vùi mỗi một loại quả liên quan đến xác định mức độ chín, thời điểm thu hoạch hạt giống và phương pháp tách hạt. Ví dụ đối với loại quả mọng như cà chua khi quả chín chuyển từ màu xanh sang màu đỏ, tách hạt phải dùng phương pháp lên men hoặc dung axit. Quả được phân thành nhóm hoặc phân thành các loại như sau:

- Quả già (Pseudocarpic fruit) Bao gồm 1 hoặc nhiều quả chín dính với nhau hoặc hỗn độn với lá bắc hoặc cấu trúc không hoa khác
- Quả phức (Multiple fruit) là tổ hợp của nhiều quả, mỗi một đơn vị quả trong một ngăn riêng rẽ, quả hạch , nutlets như quả dâu tằm, quả dứa
- Quả hợp (Aggregate fruit) là quả tập hợp một vài quả đơn, mỗi quả tách rời và ngăn với quả khác như quả dâu tây, mâm xôi
- Quả đơn (Simle fruit) Là quả hình thành từ một bầu nhụy đơn

Quả đơn: Quả đơn gồm quả khô và quả thịt

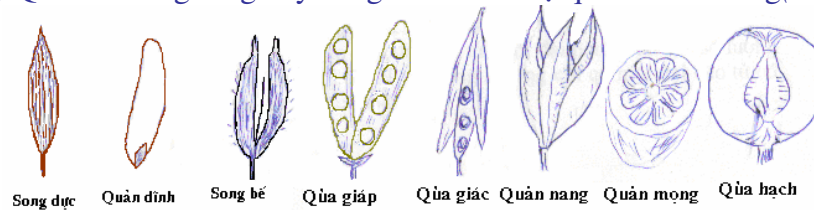
A- Quả thịt : là quả có vỏ thịt hoặc cùi

- 1) Quả mọng (Berry) như nho, cà chua
- 2) Quả hạch (Drupe) dừa
- 3) Quả có múi (Hesperidia) cam, quýt
- 4) Quả bầu nậm (pepo) dưa hấu, dưa chuột
- 5) Dạng quả táo (Pome) như táo, lê

B- Quả khô là quả vỏ khô khi chín

1) **Quả nứt** (Dehiscent fruit) thường bị tách khi chín để phóng thích hạt ra ngoài

- (a) Quả đại: quả đại do một tâm bì riêng rẽ biến thành, mở quả theo đường dọc
- (b) Quả giáp: quả giáp đặc trưng cho họ đậu, nó mở theo hai đường
- (c) Quả giác: quả đặc trưng cho họ thập tự, noãn sào ở hoa nhưng cây này gồm 2 tâm bì dính nhau ở mép thành một ô, về sau giữa ô hình thành vách giả
- (d) Quả nang cắt vách: noãn sào nguyên gồm nhiều ô, có cách dính noãn trung trụ như ở thuốc lá
- (e) Quả nang huỷ vách: noãn nguyên gồm nhiều ô, dính noãn trung trụ khi mở các vách ngăn giữa các ô bị phá vỡ như cà độc dược (*Datura*)
- (f) Quả nang chẻ ô: noãn sào nguyên gồm nhiều ô, khi quả chín nó mở ở lưng các tâm bì ví dụ chuối hoa (*Canna*)
- (g) Quả hạp: loại quả này không mở bằng một đường dọc mà mở bằng một đường ngang, khi chín phỉ trên rời ra thành một cái nắp ví dụ quả mã đề (*Plantago major*)
- (h) Quả mở bằng răng hay bằng lỗ nhỏ: ví dụ quả cẩm chương (*Dianthus*)



Hình 1.22: Một số loại quả

- 2) Quả không mở (Indehiscent fruit) không mở khi chín
 - (a) Quả bế có lông: trên đỉnh quả có chùm lông do đài biến đổi thành ví dụ như cây họ cúc
 - (b) Quả dực: có cánh do biểu bì kéo dài
 - (c) Quả song dực: do hai quả phát triển từ một noãn sào gồm hai tâm bì gắn liền với nhau nên có hai cánh
 - (d) Quả dính: quả này đặc trưng cho họ hoà thảo. Hạt trong quả không có vỏ nội nhũ trực tiếp gắn vào vỏ quả
 - (e) Liệt quả: là những quả bế do noãn sào gồm nhiều tâm bì gắn liền với nhau

1.3 Sự hình thành và phát triển của hạt

1.3.1 Hình thành hạt

Sự hình thành hạt bắt đầu khi có sự kết hợp giữa 2 giao tử đực và cái, quá trình này được gọi là quá trình thụ phấn, thụ tinh. Sự thụ tinh xảy ra là một quá trình thụ tinh kép, ống phấn có nhân dẫn và 2 tinh trùng, một kết hợp với trứng hình thành hợp tử ($2N$) và một kết hợp với nhân tâm hình thành nội nhũ ($3N$). Quá trình thụ phấn thụ tinh là rất quan trọng bởi vì quá trình này không chỉ hình thành hạt mà nó còn sao chép đa dạng di truyền của bố mẹ vào hợp tử. Quá trình thụ phấn thụ tinh xảy ra ở cây hạt kín cả cây tự thụ phấn và cây giao phấn. Sau khi thụ tinh thì trong túi phôi thường chỉ còn lại 2 tế bào là hợp tử và tế bào khởi đầu của nội nhũ. Xung quanh túi phôi là phôi tâm với một hay hai vỏ bọc của tiểu noãn.

1.3.2 Sự thụ tinh

Sự thụ tinh hoặc giao phối (syngamy) xảy ra khi giao tử đực và giao tử cái đã chín hoàn toàn. Sự thụ tinh xảy ra một quá trình thụ tinh kép, hạt phấn chín rơi vào đầu nhụy, nó nảy mầm và kéo dài ống phấn chui qua vòi nhụy và lỗ noãn vào trong phôi. Nhân dẫn đi xuống trước và sớm thoái hoá, hai tinh trùng vào trong phôi, 1 kết hợp với tế bào phân cực lưỡng bội ($2N$) để hình thành nội nhũ tam bội, một tinh trùng kết hợp với tế bào trứng hình thành giao tử lưỡng bội hoặc trứng đã thụ tinh.

1.3.3 Sự phát triển của phôi

Phân chia tế bào của hợp tử

Một số tế bào ban đầu của hợp tử phân chia hình thành tiền phôi, các loài cây khác nhau có các hình thức phân chia khác nhau và tạo ra tiền phôi khác nhau.

1- Phân chia ban đầu của hợp tử nằm ngang

A- Tế bào cuối của tiền phôi phân tách bởi một vách dọc

- + Crucifer (họ thập tự) tế bào cơ bản có vai trò ít hoặc không có vai trò trong phát triển phôi
- + Asterad (cúc tây) cả tế bào cuối và tế bào cơ bản đóng góp trong phát triển phôi

B- Tế bào cuối của tiền phôi phân tách bởi vách ngang

- + Solanad (họ cà) tế bào cơ bản chỉ có một phần nhỏ hoặc không đóng vai trò trong quá trình phát triển phôi
- + Caryophyllad (hướng dương) tế bào cơ bản không phân chia thêm nữa, cuống noãn nếu có đều được hình thành từ tế bào cuối
- + Chenopodinal (rau muống) cả tế bào cơ bản và tế bào cuối đóng góp trong phát triển phôi

2- Phân chia ban đầu dọc theo chiều của vách hợp tử hoặc gân như thể - piperid (hồ tiêu)

Mặc dù khởi đầu là giống nhau nhưng hạt phát triển với sự di truyền đặc thù của mỗi loài được mã hoá trong nhân của mỗi tế bào.

- + Phôi có thể hình ellip, dài hoặc cong.
- + Hệ thống hoá sinh, lý sinh trong phôi là rất phức tạp.

- + Khi cấu trúc sinh trưởng khác nhau nó yêu cầu các chất đặc thù thông qua điểm hợp xây dựng một gradient từ tế bào đối cực đến cuối lỗ noãn.
- + Dinh dưỡng cũng được nhận trực tiếp từ phôi tâm và vách ngăn thông qua màng phôi.

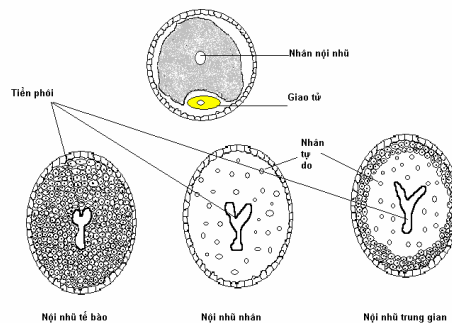
Phát triển của phôi

- + Sau khi thụ tinh một thời gian ngắn để tái tạo hình thành các cơ quan xảy ra.
- + Trong quá trình đó khoang nước lớn bên cạnh giao tử thoái hoá đi.
- + Tế bào chất của giao tử trở lên đồng nhất hơn và nhân lớn dần lên.
- + Thời gian để trải qua giai đoạn này khác nhau giữa các loài thông thường từ 4 – 6 giờ.
- + Chỉ ở một số rất ít cây thì vài tuần sau hay có khi vài tháng sau khi thụ tinh mới phân chia.
- + Hợp tử bắt đầu phân chia thành 2 tế bào, một tế bào nằm ở noãn không gọi là tế bào gốc, một tế bào nằm ở hợp điểm là tế bào ngọn.
- + Tế bào gốc phát triển thành dây treo phôi còn tế bào ngọn phát triển thành phôi.
- + Khi phôi phát triển đầy đủ thì dây treo tiêu biến đi. Còn lại phôi gồm 4 bộ phận hợp thành
 1. Rễ mầm
 2. Thân mầm
 3. Chồi mầm
 4. Lá mầm (một hay hai lá)

1.3.4 Phát triển nội nhũ

Nội nhũ cung cấp dinh dưỡng cho phôi của rất nhiều loài , đặc biệt là cây một lá mầm, nó cung cấp dinh dưỡng cho cả giai đoạn phát triển hạt và nảy mầm.

Các kiểu nội nhũ:



Hình 1.23: Các dạng nội nhũ

(nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

- + Nội nhũ tế bào: kiểu nội nhũ này, mỗi nhân phân chia kèm theo sự hình thành tế bào vỏ.
- + Nội nhũ nhân: đặc điểm của nội nhũ này là phân chia nhân không kèm theo hình thành tế bào vỏ. Nhân tự do hoặc phân chia muộn hơn hình thành tế bào

vỏ, có 3 cách: (1) ba lớp tế bào vỏ hình thành xung quanh ngoại vi nhân tự do (2) Tế bào vỏ có thể hình thành ở khu vực xung quanh lỗ noãn (3) Toàn bộ nội nhũ có thể lấp đầy các tế bào vỏ.

- + Nội nhũ helobial: là dạng trung gian của hai loại nội nhũ trên

CHƯƠNG 2

THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA HẠT

2.1 Vai trò của hạt và yếu tố ảnh hưởng đến thành phần hoá học của hạt

2.1.1 Vai trò của hạt

Ngoài những thành phần hoá học tìm thấy như trong tất cả các mô của cây, hạt còn chứa một lượng lớn các chất hoá học khác, sự hiểu biết về thành phần hoá học của hạt là rất quan trọng vì :

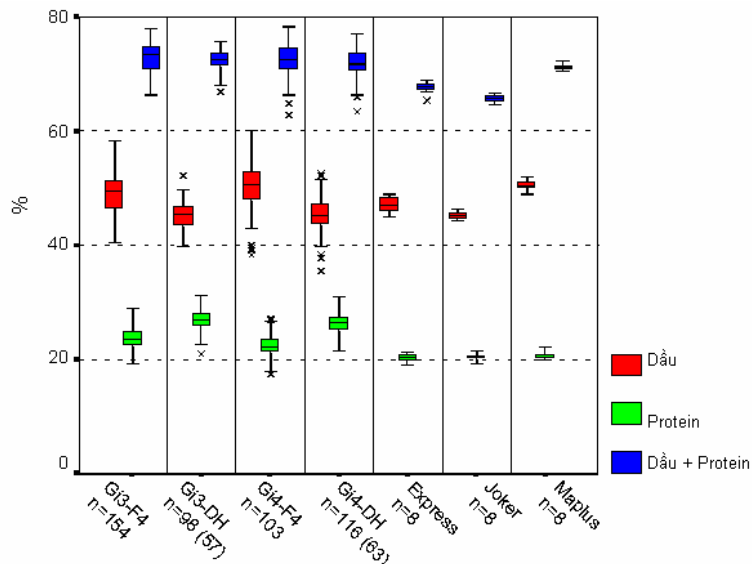
- Hạt là nguồn lương thực cơ bản cho người và vật nuôi.
- Nhiều loại hạt là nguồn thuốc chữa bệnh
- Hạt chứa nhiều chất ức chế trao đổi chất trợ giúp dinh dưỡng cho con người và vật nuôi rất hiệu quả
- Hạt chứa lượng chất dự trữ, chất kích thích sinh trưởng ảnh hưởng đến sự nảy mầm, tuổi thọ và sức khoẻ hạt giống. Chất dự trữ không những quan trọng trong nông nghiệp mà còn công nghiệp chế biến.

Hầu hết những hiểu biết của con người về thành phần hoá học của hạt tập trung ở các loài cây trồng vì nó là nguồn cung cấp lương thực cũng như nguyên liệu công nghiệp. Những thông tin về thành phần hoá học hạt các loài cây hoang dại còn rất ít. Mặc dù vậy nghiên cứu thành phần hóa học của các loài cây hoang dại để tìm kiếm những loài dại có năng suất lương thực và nguyên liệu cao là cần thiết. Nghiên cứu thành phần hoá học của cả loài trồng và loài dại không đơn giản vì loài người còn đang thiếu kiến thức về nó. Ngoài những thành phần hoá học như tất cả các mô trong cây, hạt còn chứa nhiều chất hoá học như các chất dinh dưỡng, chất điều tiết sinh trưởng có tác dụng điều tiết quá trình nảy mầm. Chất dinh dưỡng được tích lũy ban đầu là các hydrate các bon, chất béo (hoặc dầu) và protein. Ngoài ra hạt còn chứa các chất hoá học khác có tác dụng kích thích tăng trưởng điều tiết hoạt động chuyển hoá các hợp chất hữu cơ. So với các bộ phận khác của cây lượng chất khô chứa trong hầu hết các loại hạt rất thấp và tập trung ở vỏ quả và mô. Những loại hạt có chứa nhiều chất khoáng như các loại đậu, bông, hướng dương.

2.1.2 Các yếu tố ảnh hưởng đến thành phần hoá học của hạt

2.1.2.1 Ảnh hưởng của yếu tố gen di truyền

Thành phần hóa học của hạt do gen điều khiển, các kiểu gen khác nhau điều khiển tổng hợp các chất hóa học khác nhau. Ví dụ minh chứng gen điều khiển tổng hợp axit béo trong hạt có dầu FAD 2 và FAD3 đã được khám phá và nghiên cứu cơ chế điều khiển tổng hợp chất béo trong hạt có dầu của các nhà khoa học nhóm nghiên cứu sinh học tế bào và di truyền trường Đại học Birmingham (M J Burns và cộng sự). Thành phần hóa học trong hạt của các loài khác nhau, ngay cả các dòng khác khác nhau cũng rất khác nhau, Roland Baetezal 1995 đã nghiên hàm lượng dầu và protein của 7 dòng đơn bội kép cải dầu cho kết quả như hình 2.1



Hàm lượng dầu và protein của các kiểu gen khác nhau các dòng đơn bội kép cây (*Brassica Napus L.*) , Roland Baetzel, 1995, Trường Đại học Justus-Liebig, Đức

Hình 2.1 Hàm lượng dầu và protein của 7 dòng đơn bội kép cải dầu (Brassica Napus L.)

Các loài cây trồng khác nhau hàm lượng protein và chất béo hoàn toàn khác nhau. Thành phần hoá học của hạt biến động rất lớn giữa các loài, và ngay cả trong một loài hay cùng một giống. Thông qua lai và chọn lọc nhà chọn giống có thể gây dưỡng các giống cây trồng thành phần hoá học của hạt có lợi cho con người như hàm lượng protein, đường, amylose, tinh bột, dầu, sợi,.. con hơn. Hiệu quả của các kỹ thuật tạo giống và chọn lọc nâng cao hàm lượng protein và dầu của các hạt cây trồng được trình bày ở đậu tương (Shannon et al. 1972); ở ngô (Dudley và Lambert, 1968) ; ở lúa (Vũ Tuyên Hoàng, 1999). Thành phần hóa học của các bộ phận của hạt cũng rất khác nhau do điều khiển của các gen đặc thù của mỗi loài cây trồng quy định. Các bộ phận khác nhau của hạt như vỏ, nội nhũ, phôi cũng có chứa các loại chất hoá học khác nhau. Một nghiên cứu của F.R Earle , J.J Curtice, J.E Hubbard, 1956 cho thấy tinh bột có cả trong nội nhũ, phôi và vỏ hạt nhưng lớn nhất là nằm trong nội nhũ của hạt. Đường, dầu và protein thì tập trung chủ yếu trong phôi hạt.

Bảng 2.1 Thành phần hoá học trung bình của một số loại hạt

Tt	Loại cây trồng	% Protein	% chất béo(lipid)
1	Lúa mạch	8,7	1,9
3	Hạt lanh	24,0	35,9
4	Đậu	23,4	1,2
5	Lạc nhân	30,4	47,7
6	Thóc	7,9	1,8
7	Đậu tương	37,9	18,0
8	Lúa mỳ	13,2	1,9

9	Hướng dương	16,8	25,9
10	Hạt bông(nhân)	38,4	33,3
12	Đậu xanh	29,6	0,8
13	Mạch đen	12,6	1,7
14	Cải dầu	20,4	43,6

Theo tài liệu của F.B. Morrison, feed and feeding, Morison publishing Co. 1961

Bảng 2.2 Thành phần hoá học của các bộ phận khác nhau trong hạt ngô

Thành phần hoá học	Toàn bộ hạt	Nội nhũ	Phôi	Vỏ hạt
Tinh bột	74,0	87,8	9,0	7,0
Đường	1,8	0,8	10,4	0,5
Dầu (lipid	3,9	0,8	31,1	1,2
Protein	8,2	7,2	18,9	3,8
Tro	1,5	0,5	11,3	1,0

(nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald,1995)

2.1.2.2 Ảnh hưởng của môi trường đến

Rất nhiều yếu tố môi trường ảnh hưởng đến thành phần hoá học của hạt, bởi vì có mối liên quan giữa thành phần hoá học của hạt và môi trường. Đôi khi rất khó xác định nguyên nhân của sự biến động của thành phần hoá học. Trong 2 năm nghiên cứu với 8 giống ngô lai ở 3 địa phương của bang Michigan Mỹ, Norden và đồng nghiệp, 1952 đã nhận thấy phạm vi biến động của hàm lượng protein của các giống từ 7,44 đến 12,88%. Ảnh hưởng của ngoại cảnh tương tự như vậy đối với sự biến đổi thành phần hoá học của đậu mỗ kết được nghiên cứu ở Nga (Ivanov,1933)

(a)Ảnh hưởng của nước

Điều kiện canh tác cũng ảnh hưởng đến thành phần hoá học của hạt những năm mưa nhiều, độ ẩm cao là thấp hơn ở nhưng năm khô, độ ẩm thấp. hàm lượng nitơ protein và chất lượng hạt thấp. Trên đất có tưới so với không tưới cũng thấy như vậy. Nghiên cứu của Greaves và Carter,1923 chỉ rõ lượng nước tưới cao làm giảm hàm lượng đạm trong lúa mì, lúa mạch và Yến mạch trồng ở vùng Utah(bảng 2.3).

Bảng 2.3 Ảnh hưởng của tưới nước đến hàm lượng các chất trong hạt

Yếu tố	Tăng(+) ; giảm (-) phần trăm so với đối chứng		
	Lúa mì	Lúa mạch	Yến mạch
Đạm	-21	-19	-40
Lân	+55	+30	+35
Kali	+35	+14	+31
Ca	+155	+41	+22
Mg	+32	+9	+65

(Nguồn Greaves và Carter, 1923)

Hàm lượng đạm trong hạt giảm tỷ lệ nghịch với hàm lượng P, K, Ca và mẫu giống những chất khó hoà tan trong nước. Những nghiên cứu trên lúa mì cũng cho kết quả tương tự hàm lượng đạm giảm tương ứng với lượng nước cung cấp trong thời kỳ sinh trưởng phát triển của hạt (Stone và Tucker,1968 Stone,1964, Mathers,1960). Những kết quả nghiên cứu trên minh chứng ảnh hưởng của môi trường (độ ẩm hoặc

tươi) đến thành phần hoá học của hạt, tuy nhiên nguyên nhân của hiện tượng trên còn chưa có những nghiên cứu đầy đủ. Một số giả thiết rằng do lượng nước dư thừa làm giảm khả năng hút khoáng của rễ hay do tác động đến quá trình tích lũy hydrate các bon vào hạt.

(b) Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến cấu tạo hạt và thành phần các chất hoá học trong hạt những nghiên cứu của Howell và Carter, 1958 chỉ ra rằng hàm lượng dầu trong hạt đậu tương phụ thuộc vào nhiệt độ trong quá trình phát triển hạt, hạt chín ở nhiệt độ 21°C chứa 19,5% dầu trong khi chín ở 30°C chứa 22,3%. Một nghiên cứu đậu tương trồng khi chín trong điều kiện ẩm có hàm lượng protein cao hơn nhiệt độ thấp hơn vụ muộn. Canvin, 1965 xác định ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng acid béo cho thấy nhiệt độ tăng làm tăng acid Oleic và giảm acid Erucic trong hạt cải dầu, đây là nghiên cứu có ý nghĩa đặc biệt vì acid erucic có vị chất nên không được ưa chuộng đối với hạt cải Dầu có hàm lượng acid này cao. Nhiệt độ ban đêm cao xúc tiến hạt gạo phát triển nhanh nên bạc bụng nhiều, nhiệt độ ban đêm thấp hạt gạo trong hơn nên được ưa chuộng hơn.

(c) Dinh dưỡng khoáng

Nhân tố ngoại cảnh là dinh dưỡng khoáng ảnh hưởng đến chất lượng hạt (hay thành phần hoá học) dễ nhận thấy. Hầu hết các trường hợp dinh dưỡng khoáng kém, hạt kém, không đầy hạt so với cung cấp đầy đủ dinh dưỡng. Trừ trường hợp đất tốt đầy đủ dinh dưỡng và tương đối cân đối. Nhiều nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của đạm, lân, kali đến chất lượng hạt

- Ảnh hưởng của đạm

Cây ngũ cốc sống trong điều kiện dinh dưỡng đạm cao, hoặc mật độ thưa có hàm lượng protein trong hạt cao hơn trồng trong điều kiện đạm thấp hoặc mật độ dày (D.C.Datta, 1972). Nhưng bón đạm nhiều làm cây chậm thành thục, chín hạt không đầy hạt so với bón ít đạm, đạm ảnh hưởng xấu đến độ thành thục của hạt. Thiếu đạm làm giảm sản lượng hạt của nhiều loài cây trồng, điều này được chứng minh qua nghiên cứu của Harrington, 1960 trên hồ tiêu và rau diếp khi thiếu đạm sản lượng hạt rất thấp so với bón đầy đủ đạm

- Ảnh hưởng của dinh dưỡng lân

Vai trò của lân đối với sản lượng và chất lượng hạt cũng được nhiều nghiên cứu đề cập tới Harrington, 1960 nêu rõ thiếu dinh dưỡng photpho ảnh hưởng đến sự hình thành hạt ở đời sau. Nghiên cứu của Austin, 1966 cho thấy cải xoong thiếu lân năng suất hạt thu được thấp hơn bón lân đầy đủ. Những nghiên cứu khác cho thấy hạt của cây thiếu lân mọc cây thấp bé hơn hạt đủ lân

- Ảnh hưởng của dinh dưỡng kali

Thiếu kali hạt không bình thường, dị dạng cao, phôi và rìa hạt bị đen.

Thiếu kali tỷ lệ nảy mầm của hạt kém, sức sống của hạt cũng giảm nhanh trong quá trình bảo quản

(d) Ảnh hưởng của kỹ thuật canh tác

Thời vụ trồng phù hợp liên quan đến điều kiện môi trường giai đoạn hình thành và phát triển hạt. Mật độ trồng liên quan đến cạnh tranh quần thể và dinh dưỡng cho

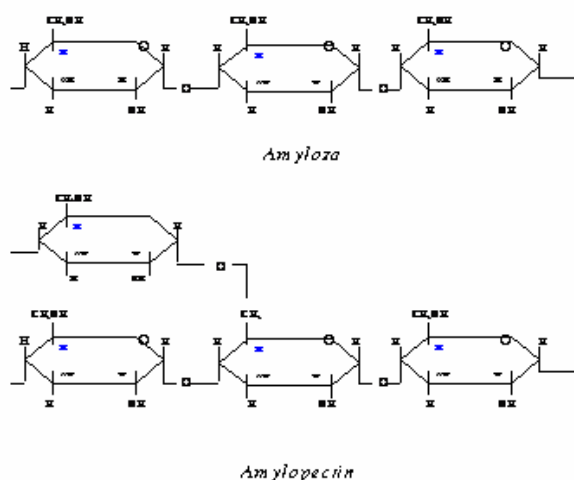
cây giảm dẫn đến tích lũy vào hạt kém. Ví dụ hạt hướng dương, lúa và lúa mì khi tăng mật độ tăng hàm lượng protein nhưng giảm hàm lượng dầu trong hạt (Roinson,1980)

2.2 Tích lũy carbohydrate trong hạt

Các hydrate các bon là chất có hàm lượng cao nhất trong hạt của hầu hết các cây trồng. Cây ngũ cốc và các loài cây thân thảo hạt đặc biệt giữa hydrate các bon, ít chất béo và đạm. Đậu đỗ có hàm lượng hydrate các bon trung bình. Sau hydrate các bon là protein và chất có hàm lượng thấp hơn là chất béo. Tinh bột và hemicellose là dạng hydrate các bon tích lũy nhiều nhất trong hạt. Một số hydrate các bon tìm thấy trong hạt không phải ở dạng tích lũy như pectin và chất nhầy (mucilage)

2.2.1 Tích lũy tinh bột

Hạt chứa một lượng lớn các chất dự trữ thuộc dạng ít bị chuyển hoá và tồn tại suốt trong quả tình hạt nảy mầm. Tinh bột được tích lũy ở hai dạng quan hệ với nhau là amyloza và amylo pectin. Chúng là hai chất trùng hợp polyme của đường gluco , một mạch thẳng và một mạch phân nhánh. Tinh bột là dạng hydrate các bon phổ biến nhất được tích lũy trong hạt. amyloza gồm 200 đến 1000 đơn vị gluco, nối với nhau bởi các nối α 1,4 glucozit với trọng lượng phân tử từ 10.000 đến 100.000. Phân tử có cấu trúc xoắn với 6 gluco nối thành vòng, amyloza nhuộm màu với Iốt và chuyển màu xanh. amyloza có thể sử dụng được 100% nhờ hoạt động phân giải của men β - amylaza. amyloza pectin có phân tử lớn hơn gồm 20 đến 25 đơn vị gluco sắp xếp thành nhánh liên kết với nhau bởi cả hai nối α - 1,4 và α -1,6- glucozit với trọng lượng phân tử 50.000 đến 1.000.000 đơn vị. Chỉ khoảng 50% amylo pectin sử dụng được nhờ phân giải của men β - amylaza và có màu đỏ tía khi phản ứng với I ốt.



Hình 2.2 Cấu trúc hoá học của amyloza và Amylo pectin dạng mạch(α - 1,4 và α -1,6)
Amyloza và amylo pectin đều bị phân huỷ bởi men α và β - amylaza trong hoạt động trao đổi chất của quá trình nảy mầm. α - amylaza có trọng lượng phân tử 60.000 và cần có cation Ca^{++} để hoạt hoá và giữ bền vững, chống lại sự biến đổi của protein và

sự biến đổi do nhiệt. Men tác động cả amyloza và amylopectin, cắt cả nối α -1,4 và α -1,6. Quá trình phân giải tinh bột tạo thành khối lượng lớn phân tử dextrin rồi thành Malto. Trong trường hợp phân giải amyloza là phân giải hoàn toàn. Mặc dù vậy men β -amylaza không thể phân giải điểm nhánh của chuỗi vòng hoặc liên kết α -1,6-glycozit của amylopectin. Các phân tử này chỉ phân giải một phần, sản phẩm phần còn lại β -limit dextrin. Điều này có nghĩa rằng chỉ có một phần phía ngoài của phân tử amylopectin được men β -amylaza tấn công. Các enzym đã hình thành và có mặt bên trong tất cả các hạt. Hạt lúa mì β -Amylaza hình thành và hoạt động không biểu hiện rõ, biểu hiện rõ ràng glutenin lúa mì bởi liên kết disulfide

Trong hạt ngũ cốc 90% hoạt động phân giải amyloza là do men α -Amylaza và 10% do men β -Amylaza. Men β -Amylaza thủy phân cả amyloza và amylopectin, tác động kết thúc là bẻ gãy liên kết α -1,4 và tạo thành manto. Hầu hết tinh bột trong hạt tồn tại ở dạng vật thể, dưới mức tế bào và được gọi là hạt tinh bột có kích thước từ 2 đến 100 μ và chứa trong phôi nhũ. Nhiều hạt tinh bột được tạo thành xung quanh điểm trung tâm (một lỗ hồng) và xung quanh điểm trung tâm được bao quanh bằng polisachrid, màng polisachrid này là kết quả của hoạt động tổng hợp tinh bột diễn ra suốt ngày đêm. Tinh bột không được tạo ra trong điều kiện chiếu sáng liên tục không có xen kẽ tối và sáng. Hình dạng hạt tinh bột phụ thuộc vào lượng amyloza, phần lớn các hạt tinh bột đều chứa 50 đến 75% amylopectin và 20 – 25% amyloza. Tuy vậy có một số loại hạt tinh bột có hàm lượng amyloza cao (37%) như lúa được xếp vào loại hạt tinh bột cứng. Biểu hiện sự khác nhau giữa amyloza và amylopectin được phản ánh ở tính hoá học.

2.2.2 Hemicellulose

Khác với tinh bột dạng hydrate các bon phân tử lớn chưa một số đường đơn được tích lũy bền vững trong hạt Hemicellulose được sử dụng nhiều, nhưng tính chất polysacharid không đặc trưng và thường phát hiện thấy trong màng tế bào. Tuy nhiên một số dạng hạt thấy Hemicellulose ở dạng chất dự trữ, dạng này gồm các chất đường đơn như xylan, manan và glactan tương tự nhau. Các chất trên thường phát hiện thấy ở các lớp dày màng tế bào trong nội nhũ hoặc trong lá mầm vùng tập trung tinh bột ở bên trong. Thành phần chủ yếu của các chất này là manin với một lượng nhỏ đường gluco và glacto, arabino và được hình thành như chuỗi trong mạch chính của mannô. Hemicellulose là thành phần đặc trưng của hạt các loài cò, chà là và cũng còn thấy trong nội nhũ của lá mầm ở một số loài khác.

2.2.3 Các loại carbohydrate khác

Mucilage (Musilat) : Là một dạng hydrate các bon lẫn trong tinh bột và hemicellulose, Musilat ít tìm thấy khối lượng lớn như hai chất trên (tinh bột và Hemicellulô) một ví dụ về hạt chứa Musilat là hạt cây mạch cứng, loại hạt này được bọc một lớp dày Musilat. Musilat gặp nước sẽ thành chất nhầy bám chặt vào vật mà nó tiếp xúc. Musilat trong hạt mạch cứng được chiết xuất để dùng trong công nghiệp, Musilat là một hydrate các bon phức hợp chủ yếu gồm Polyuronit và Galacturonit. Về hoá học giống như hợp chất pectic và Hemicellulose, về tính chất

vật lý nó giống như chất keo, gồm (gồm là chất phát hiện thấy trong vỏ và thân nhiều loại cây)

Hợp chất Pectic: Những hợp chất này tìm thấy trong hạt và bộ phận khác của cây chủ yếu trong thành phần của màng tế bào và các lớp mỏng. Ba thành phần chính của pectic là acid pectic, pectin và protopectin. Acid pectic là một chuỗi dài thẳng bao gồm 100 phân tử Galacturonic. Pectin là thành phần thể keo lỏng dính khi gặp nước kết thành sợi rắn chắc. Trong những điều kiện thích hợp nó được dùng làm tác nhân kết dính trong ép và làm đông kết. Protopectin khác pectin là mạch có khối lượng phân tử lớn, nó được tìm thấy ở màng tế bào và giữa các lớp màng, nó liên kết các lớp màng tế bào lại với nhau. Khi protopectin biến đổi thành pectin nó được dùng làm chất làm chín và mềm quả.

2.3 Tích lũy Lipit trong hạt

Lipid trong hạt được sử dụng làm thực phẩm và trong công nghiệp rất có giá trị, chính vì thế thúc đẩy con người nghiên cứu nhiều về tích lũy lipid trong hạt. Dầu của hạt có nhưng công dụng rất đa dạng trong công nghiệp (khác với mỡ động vật). Tính chất hoá học không có đặc trưng của Dầu thực vật đã nâng cao sự chú ý, quan tâm của con người trong mục đích sử dụng làm thực phẩm bảo vệ sức khỏe cho con người. Sự tích lũy dầu trong hạt, quả và các bộ phận của cây là rất khác nhau ở các loài, thường các loài có khả năng tích lũy hàm lượng dầu cao trong quả hạt thì hàm lượng protein cũng cao, ví dụ hạt đậu tương, lạc, bông. Tuy nhiên một số loài lại có sự tương quan tích lũy hàm lượng dầu cao thì tích lũy hydrate các bon cao như ở một số loài sồi (dẻ). Lipid của cây cũng như của động vật là một chất không hoà tan trong nước, nhưng hoà tan trong ête và chloroform, benzen và một số dung môi khác. Bloor, 1928 đã diễn tả cấu trúc của lipid như sau: (1) là một acid béo hoàn toàn và được bổ xung (2) cấu trúc Gly serit và (3) một số hợp chất khác liên kết với Glyserit như là sự pha trộn hay thành phần của lipid. Từ lipid được dùng cho cả dầu và mỡ, mặc dù có tên gọi giống nhau nhưng dầu khác mỡ ở chỗ dầu ở thể lỏng trong điều kiện nhiệt độ bình thường, trong khi mỡ lại ở thể đặc. Dầu được gọi tên rõ hơn là dầu béo để phân biệt với dầu hoá học khác mà về hoá học không liên quan gì đến nhau.

2.3.1 Acid béo

Người ta gọi là các acid béo vì chúng được cấu tạo bởi các chất béo tự nhiên và trong trạng thái tự do. Các acid béo hiếm khi tìm thấy ở các bộ phận khác của cây mà chỉ thấy ở trong hạt đang nảy mầm và hạt vùi trong đất. Vì acid béo là sản phẩm thủy phân của quá trình thủy phân chất béo. Các acid béo có thể ở dạng no hay không no phụ thuộc vào kiểu liên kết các bon trong phân tử. Các acid béo không no chứa một hoặc nhiều liên kết nối đôi, điều này có nghĩa là nếu tách các nguyên tử H ra khỏi hợp chất thì sẽ tạo thành acid béo no. Acid béo không no phổ biến trong hạt với hai loại oleic (một liên kết nối đôi) và linoleic (hai liên kết nối đôi) chiếm 60% tổng lượng lipid có mặt trong dầu của hạt. Acid béo no cũng có mặt trong hạt và chứa n nguyên tử các bon (n = giữa 4 đến 24) như acid palmatic chứa 14 các bon là acid béo no phổ biến nhất trong dầu của các hạt.

2.3.2 Glyxêrin (Glycerol) và các rượu khác (Alcohols)

Glyxêrin (Glycerol) và các rượu khác (Alcohols) được kết hợp với acid béo tạo thành nhiều loại acid béo khác nhau. Rượu trihydroxy và Glixêrin thường kết hợp tạo thành các este (glyxerit) với nhiều a xít béo khác nhau.

2.3.3 Phân loại lipid trong hạt

Lipid có thể phân ba loại như sau (a) đơn giản, (b) phức, (c) dẫn xuất

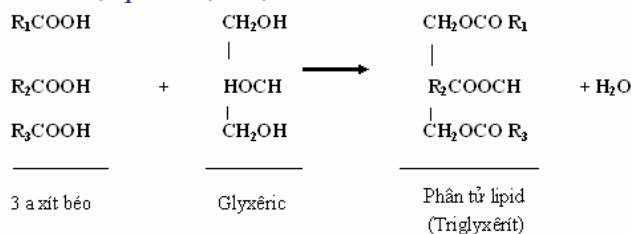
- Lipid đơn giản bao gồm các este của a xít béo và glyxêrin hay các loại rượu khác nhau. Trong số các lipid đơn giản có mỡ và dầu béo.
- Lipid phức hợp là các este của axít béo có thêm một số nhóm hoá chất khác tham gia. Phốtpho lipid là một loại lipid phức hợp trong đó một trong ba đơn vị axít béo được thế bởi axít phốt phoric kết hợp với côlin.
- Lipid dẫn xuất là loại lipid được hình thành do thuỷ phân lipid đơn giản và lipid phức hợp và nó tan trong dung môi hoà tan chất béo. Các lipid này bao gồm các axít béo khác nhau và nhiều phân tử rượu hoà tan hoàn toàn trong dung môi hoà tan chất béo, loại lipid này ví dụ như cholesterol.

Bảng 2.4 Tỷ lệ % chất béo và Dầu trên chất khô của hạt một số loài cây trồng

Loài	% chất béo hoặc dầu	Loài	% chất béo hoặc dầu
Dừa	65	Đại kích	35 - 45
Hướng dương	45 -50	Cải dầu	33-43
Hạt lanh	30 -35	Vừng	50 –55
Bông	15 -20	Lúa miến	2,5
Lạc	45 -50	Ngô	2,1
Cacao	40 - 50	Lúa mì	1,8
Bí ngô	41	Đậu Hà lan	1,5
Đậu tương	15 -20	Lúa nước	2,5
Hạt dưa đỏ	30	Kiêu mạch	1,1

(Nguồn Miller,1931)

Dạng lipid có tỷ lệ lớn nhất trong hạt là lipid đơn giản gồm các loại chất béo, Dầu béo và sáp. Sáp là một loại lipid đơn giản, nó là este của axít béo với một số rượu, sáp chỉ có tên gọi đơn thuần mang ý nghĩa hoá học vì nó có thể ở thể lỏng hoặc thể đặc. Trong dung môi bình thường hoà tan chất béo sáp hoà tan kém hơn. Thường thấy sáp là lớp phủ bảo vệ quả hoặc hạt



Hình 2.3: Sự kết hợp của 3 a xít béo với glyxêric tạo thành phân tử lipid

2.3.4 Thuỷ phân của lipid

Hạt có hàm lượng lipid cao, khi này mầm cho thấy hiện tượng giảm nhanh hàm lượng chất béo kèm theo hiện tượng tăng hàm lượng đường. Đồng thời hoạt động

của enzym lipaza tăng mạnh tham gia vào tiến trình thủy phân các Triglyxêrit chuyển thành diglyxêrit và mono glyxêrit và cuối cùng thành glyxêrin tự do và axit béo tự do. Axit béo bị oxy hoá mạnh bởi các men oxy hoá α và β trong quá trình hạt nảy mầm,. Tất cả lipid tích lũy dưới Dầu đều ở thể hình cầu có đường kính từ 0,2 đến 0,6 μ . Nhiều men sinh tổng hợp hoặc thủy phân axit béo cũng ở dạng hình cầu

Bảng 2.5 Hàm lượng % a xít béo của hạt ở một số loài cây trồng

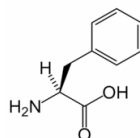
Chất béo hoặc dầu	Loric	Myristic	Panmantic	Stearic	Oleic	Linoleic	Linolenic
Dừa	45	20	5	3	6		
Lạc			8,5	6	51,6	26	
Ngô			6	2	44	48	
Bông			23,4		31,6	45	
Lanh		3				77	17
Đậu tương			11	2	20	64	3
Hướng dương			3,5	2,9	33,4	57,5	

(nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

2.4 Tích lũy Protein trong hạt

Protein là phân tử lớn chứa đạm và có cấu trúc rất phức tạp của mạch polyme có 20 L- α -amino acid, tất cả các amino acid có đặc điểm cấu trúc chung một α các bon như hình 2.4 .

Protein rất quan trọng đối với sự sống của động vật và thực vật, tất cả các phản ứng sinh lý của tế bào sống đều được thực hiện xoay quanh những đặc tính lý học và hoá học của protein. Không kể nước, protein là thành phần chủ yếu trong nguyên sinh chất của tế bào động thực vật.



Hình 2.4 Cấu tạo một a xít amin tiêu chuẩn

Protein là thành phần chất dinh dưỡng có giá trị tích lũy trong hạt của hầu hết các loài cây. Đậu tương là một trong số ít các loài mà protein là thành phần dinh dưỡng có hàm lượng lớn hơn cả chất béo và hydrate các bon. Hầu hết các loài giàu đạm thuộc họ đậu, những loài có khả năng cố định đạm. Tuy nhiên cũng có nhiều loài giàu đạm nhưng không thuộc họ đậu. Protein tích lũy trong hạt ít phức tạp hơn protein trong nguyên sinh chất và khả năng liên kết với lipid và các nhóm chất hoá học khác yếu. Mặc dù có cấu trúc tương tự. Liên kết peptit kết hợp giữa 2 axit amin mất nước tạo thành một dipeptit, Peptit nối với dipeptit ở vị trí gạch nối bên phải. Phần rất lớn protit trong hạt là không hoạt động trao đổi mà đơn thuần là chất dự trữ để cung cấp cho sự phát triển của mầm trong quá trình hạt nảy mầm. Protein hoạt hoá trong đôi chất chỉ chiếm phần rất nhỏ trong tổng hợp protein nhưng cực kỳ quan

trọng trong quá trình phát triển nảy mầm của hạt. Các men đóng vai trò xúc tác cho tất cả quá trình trao đổi chất hoạt động tiêu hoá, chuyển hoá và sử dụng chất dinh dưỡng tích lũy trong hạt. Không có sự tăng trưởng nào xảy ra nếu thiếu sự hoạt động của các enzym. Nucleoprotein là dạng protein hoạt hoá quan trọng và là loại có phân tử rất lớn (trong lượng phân tử đến số hàng triệu). Nó được tạo thành bởi liên kết các axit protein nucleic và có các phân tử phụ khác bao gồm Protein, đường pentol, một hợp chất nitrogen (pirin hoặc pirimidin) và axit photphoric. Nếu đường pentô là deoxyribo thì nucleoprotein sẽ là axit deoxyribonucleic (DNA) , nếu đường pentô là D- ribo thì nucleoprotein sẽ gọi là axit Ribonucleic (RNA). Hai hợp chất này được chú ý do vai trò của chúng trong tổng hợp protein và vai trò cấu trúc và quyết định chức năng của NST, gen và sức sống, di truyền của các cơ thể sống. Protein được tích lũy trong hạt thành đơn vị noron và được xem như một tập hợp protein có đường kính từ 1 đến 20 μ được bao bọc bởi màng lipoprotein. Nó phần nào giống hạt tinh bột về kích thước, hình dáng và thường hỗn hợp nhiều protein khác nhau trông giống như tập hợp những đơn vị noron. Xấp xếp trong một tầng aloron anbumin của hạt. Trong quá trình hạt nảy mầm nó có vai trò quan trọng vừa là chất dinh dưỡng dự trữ vừa là những men thủy phân và thúc đẩy quá trình phân giải tinh bột. Công trình nghiên cứu của Osborne, 1924 về protein tích lũy trong hạt lúa mì ông tách lọc 4 protein và xếp loại theo khả năng phân giải. Hai trong số đó là có tính hoạt hoá trong trao đổi (Globulin và Albumin) và hai không hoạt hoá (Glutelin và prolamin) ông xem những protein này chỉ tìm thấy trong hạt.

2.4.1 Albumin

Chất tan trong nước và thể hiện trung tính hoặc tính axit nhẹ và đông kết bởi nhiệt. Ví dụ: leucosine trong hạt cốc legumelin trong nhiều loại nhân hạt và ricin trong lúa đó là những men chủ yếu.

2.4.2 Globulin

Chất tan trong dung môi mặn nhưng không hoà tan trong nước và khó đông kết hơn globulin động vật khi gặp nhiệt. Tính hoà tan của chúng sẽ bị thay đổi khi có sự kết hợp giữa axit và độ đậm đặc của dung môi mặn. Globulin phát hiện thấy nhiều ưu thế trong hạt cây hai lá mầm như họ đậu. Ví dụ legumin, vignhin, glisinin, vasilin, arasin.

2.4.3 Glutelin

Chất tan trong nước hoặc trong dung môi mặn hoặc rượu ethylic, nhưng không chiết xuất được bằng môi trường axit mạnh hoặc môi trường kiềm. Gluten phát hiện thấy hầu hết trong các hạt ngũ cốc. Ví dụ glutenin trong lúa mì, oryzenin trong lúa nước

2.4.4 Prolamin

Chất hoà tan trong nước và ethylic 70 đến 90% nhưng không hoà tan trong nước. Tuy vậy có muối, axit và bazơ thì hoà tan trong nước. Chúng được phát hiện thấy trong những cây cốc ví dụ như glyazin trong lúa mì và lúa, lein trong ngô. Thủy phân chúng cho axit prolin, glutamin và amoniac.

Nói chung glutenin và prolamin là thành phần chủ yếu của protit trong hạt không hoạt hoá trong hoạt động trao đổi chất, liên kết theo kiểu cấu trúc riêng. Protein

trong hạt nhìn chung có hàm lượng đạm prolin cao, nhưng có hàm lượng thấp về lizin, tritohan và metionin

2.5 Các hợp chất hoá học khác

2.5.1 Tannin

Người ta thường nghĩ tanin thường tìm thấy trong những bộ phận khác của cây, đặc biệt là vỏ. Nhưng nó còn tìm thấy ở trong hạt nhất là vỏ hạt. Nó được tìm thấy trong vỏ quả dừa và hạt đậu (Bonner và Varner, 1965). Tanin từ lâu đã được sử dụng làm sạch lông từ lớp bì của động vật trong quá trình thuộc da. Tanin được phát hiện trong tự nhiên là hợp chất có phân tử lớn với khối lượng phân tử 500 đến 3000. Có đủ hydroxyl, phenolic và những nhóm thích hợp khác giúp cho chúng hợp thành mối liên kết vững chắc giữa protein và những phân tử lớn khác. Đặc tính này tạo cho chúng có một khả năng duy nhất liên kết giữa protein và ức chế hoạt động của các men.

2.5.2 Alkaloid

Cái chết của Socrate cung cấp cho chúng ta một đầu mối về bản chất của alkaloid. Socrate chết do uống phải một cốc chứa chất độc chất alkaloid là chất được tìm thấy trong cây hoặc hạt cây thuốc phiện gọi là moócphin, tricnin từ hạt cây mã tiền (*Strychnosmixvomia*), artopin từ cây cà độc dược cũng gây chết người. Những chất khác rất giống alkaloid như cafein từ cà phê, nicotin từ thuốc lá và teobromin từ cacao. Alkaloid là một hợp chất cấu tạo vòng phức tạp chứa nitơ, hầu hết là thể rắn màu trắng tuy vậy nicotin ở thể lỏng trong điều kiện nhiệt độ bình thường trong phòng.

2.5.3 Glucosides

Trong khi hầu hết glucosit tìm thấy ở các bộ phận sinh dưỡng của cây thì một số lại thấy ở hạt. Ví dụ một số glucosit ở hạt và các bộ phận sinh dưỡng của cây như: salisin ở vỏ và lá cây liễu, amigdalin ở cây mận và đào, Sinigrin ở cây mù tạc... Glucozid được tạo thành bởi phản ứng giữa đường (thường là gluco) và một hay hai hợp chất không phải đường. Ở trạng thái tinh khiết chúng ở thể kết tinh, không màu, vị đắng, hoà tan trong nước hoặc rượu. Một vài loại glucozid rất độc cho người và động vật như saponin ở hạt trấu.

2.5.4 Phytin

Phytin không hoà tan và là một hỗn hợp giữa kali, manhê và canxi, muối của axit myoano sitol hexa phosphoric, nó là dạng lân tích lũy nhiều trong hạt. Trong hạt cốc phytin thường kết hợp với thể protein trong một số lớp hạt aloron, thường hiếm thấy hoặc hiếm thấy trong thể protein của lá mầm. Trong quá trình nảy mầm photphat tăng nên nhiều lần do thủy phân phytin. Hoạt động phytin mạnh nhất trong lớp màng và aloron. Do lượng lớn photphat, magiê và kali của hạt chứa trong phytin nên những hoạt động trao đổi chất của hạt phụ thuộc vào sự thủy phân phytin và đi kèm theo là sự giải phóng I on, trong hạt rau diếp 50% tổng lượng photphat nằm trong phytin

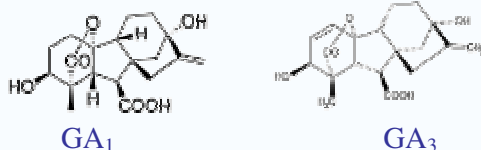
2.6 Các chất kích thích sinh trưởng

2.6.1 Hormones

Từ học môn được dùng để chỉ một số hợp chất hữu cơ, mà sự có mặt của nó với một lượng nhỏ cũng gây tác dụng đến điều tiết trao đổi chất ở động vật cũng như thực vật. Học môn động vật được biết nhiều là adrenalin sản phẩm do tuyến thận tiết ra và có tác động mạnh đến hệ tim mạch. Nhiều học môn ở thực vật được tìm thấy ở trong hạt, nó được xác định là học môn thực vật, học môn sinh trưởng, chất điều tiết sinh trưởng

2.6.2 Gibberellines

Sự có mặt của Gibberellines thực vật bậc cao được Radley phát hiện năm 1956. Dùng Gibberellines chiết xuất từ cây đậu bình thường tác động lên cây đậu lùn làm tăng chiều cao của cây này. Ngày nay con người đã biết Gibberellines là thành phần thông thường trong cây xanh và trong hạt. Gibberellines có vai trò đặc biệt trong phát triển và trong quá trình nảy mầm của hạt và sự khởi đầu của ra hoa. Gibberellines được biết nhiều là axit giberelin (GA_3) mặc dù người ta đã biết đến 40 loại Gibberellines khác nhau. Gibberellines được sản xuất thương mại hoá từ lên men nấm *Gibberella spp.*



Hình 2.5 Cấu tạo phân tử GA_1 và GA_3

2.6.3 Cytokynins

Cytokynin là một hợp chất có ở trong hạt và có tác dụng như một học môn Cytokynin được phát hiện đầu tiên trong nước dừa (Van Overbeck, 1941) mười năm sau Kinetin được tính chế và cấu trúc hoá học được xác định. Sicôtin trong tự nhiên được chiết xuất từ hạt gọi là zenalin. Sicôtin cần thiết cho phát triển của tế bào và trong quá trình phân bào, hạn chế sự già của lá (Richmon và Sang) và điều tiết vận chuyển nhựa trong mạch nhựa của cây (Mothes, 1950).



Hình 2.6 Cấu tạo phân tử Xytokynin

2.6.4 Chất ức chế

Trong hoạt động sinh lý của cây, hiện tượng ngủ của hạt, củ, chồi và các bộ phận khác được điều tiết bởi sự cân bằng, tác động qua lại giữa các chất ức chế nội sinh và các chất điều tiết sinh trưởng như gibberelin và auxin dormin (Cornforth et al. 1965) và abscisin II có ký hiệu là ABA (Ohkuma, 1965). Nó được coi như là một chất gây ức chế sự rụng lá và đặc biệt là phá ngủ đông ở cây rụng lá sớm theo định

kỳ. Một chất khác tác động đến hiện tượng ngủ của hạt là coumarin, ethylen có cả hai tác dụng ức chế và kích thích sự nảy mầm của hạt và đôi khi được xem như là một hóc môn (Crocker, 1935) giống như chất điều tiết sinh trưởng maleic hydrazid (Meyer, 1960) nhưng sự nảy mầm của hạt sẽ đề cập đến các chất ức chế sự nảy mầm



Hình 2.7 Cấu tạo phân tử ABA

2.6.5 Vitamin

Đối với động vật và người vitamin mang tính chất như là chất điều tiết sinh trưởng và không phân biệt được rõ rệt như hóc môn vì nó rất cần thiết trong chế độ ăn hàng ngày nhưng với lượng rất nhỏ. Sự có mặt của vitamin phổ biến trong cây xanh đã được biết đến từ lâu nhưng vai trò của nó trong sự sinh trưởng của cây còn chưa được biết rõ. Về hoá học vitamin là tiêu biểu của nhóm chất không đồng nhất. Cây xanh có khả năng tự cung cấp đủ nhu cầu vitamin cho chúng, điều này ngược lại với động vật phải nhờ nguồn vitamin cung cấp từ cây xanh. Một số bộ phận của cây phụ thuộc vào sự cung cấp vitamin của bộ phận khác, tất cả vitamin tự cung cấp trực tiếp của cây là từ các hoạt động thuỷ phân trong thực vật bậc cao. Vai trò riêng của một số vitamin cũng được xác định như thiamin cần cho sự phát triển của phôi và phôi nhũ trong hạt của một số loài. Nó cần cho sự phát triển bình thường của rễ. Cơ sở của hai nhu cầu trên là vai trò của thiamin trong việc duy trì phân chia tế bào, thiamin được cung cấp nhanh cho những bộ phận này. Trong trường hợp rễ và hạt đang hoạt động phát triển, thiamin được tạo ra từ bộ phận sinh dưỡng của cây hoặc từ lá mầm sẽ được vận chuyển đến những bộ phận cần thiết. Biotin và axit ascorbic được thu hút vào cho quá trình hoạt động hô hấp của hạt. Vai trò của biotin chưa biết rõ nhưng ascorbic có chức năng điều chỉnh khả năng giảm hoạt động oxy hoá trong quá trình nảy mầm của hạt

CHƯƠNG 3

SỰ NẢY MẦM CỦA HẠT

3.1 Sự nảy mầm của hạt

Quá trình nảy mầm của hạt có vai trò là một đơn vị sinh sản, có vai trò xây dựng và là sợi chỉ xuyên suốt sự sống của muôn loài. Sự nảy mầm của hạt còn là chìa khoá của nông nghiệp hiện đại. Vì thế nhận thức đầy đủ về cân bằng giữa sản xuất lương thực và tăng dân số thế giới thì sự hiểu biết về nảy mầm của hạt là cần thiết để có sản lượng cây trồng tối đa.

3.1.1 Khái niệm

Có rất nhiều định nghĩa về sự nảy mầm của hạt đã được đưa ra. Nhà sinh lý định nghĩa " *Sự nảy mầm được xác định khi rễ con nhú ra khỏi vỏ hạt* " Nhà phân tích hạt " *Sự nảy mầm là sự nhú và phát triển của các cấu trúc cần thiết từ phôi hạt , các cấu trúc này yêu cầu sản sinh ra một cây bình thường dưới một điều kiện thích hợp* " AOSA,1981. Định nghĩa khác: *Nảy mầm là sự tiếp tục các hoạt động sinh trưởng của phôi khi vỏ hạt thoái hoá và cây con nhú lên*. Đây là định nghĩa tiếp tục sinh trưởng của hạt đã ngừng nghỉ sau khi hình thành và phát triển. Trong quá trình ngừng nghỉ hạt trong tình trạng không hoạt động , và tỷ lệ trao đổi chất thấp

3.1.2 Hình thái nảy mầm

Trên cơ sở sự chết của lá mầm hoặc cơ quan dự trữ có hai loại nảy mầm của hạt xảy ra không liên quan đến cấu trúc hạt. Hai loại nảy mầm này được minh hoạ bởi nảy mầm của hai loại đậu có cấu trúc hạt hoàn toàn giống nhau , nhưng kiểu nảy mầm khá khác nhau.

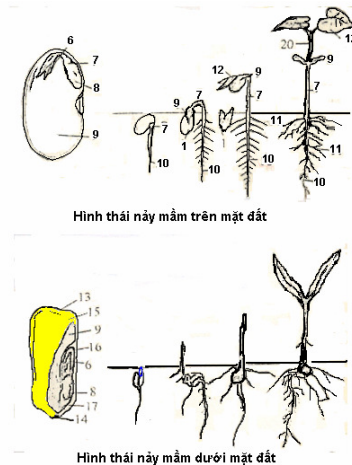
Nảy mầm trên mặt đất

Khi nảy mầm lá mầm được đẩy lên khỏi mặt đất để tiếp tục các giai đoạn sinh trưởng , phát triển tiếp theo. Rễ kéo dài để đẩy lá mầm còn bọc kín phá vỡ đất nhú lên qua mặt đất, sau đó lá mầm mới mở, chồi tiếp tục sinh trưởng và bao lá mầm tàn úa rụng đi.

Nảy mầm dưới mặt đất

Trong quá trình nảy mầm lá mầm và cơ quan dự trữ nằm ở dưới mặt đất trong khi chồi nhô lên khỏi mặt đất. Cấu trúc trục thân kéo dài nhanh, cả bộ phận trên mặt đất và dưới mặt đất lá mầm và cơ quan dự trữ tiếp tục cung cấp dinh dưỡng cho đỉnh sinh trưởng thông qua sự nảy mầm.

Bao lá mầm, vỏ tạm thời bao bọc chồi là liên kết với sự nảy mầm dưới mặt đất của nhiều loài cây trồng mầm, nó bảo vệ chồi mầm xuyên qua mặt đất và khi gặp ánh sáng nó dừng sinh trưởng và phân huỷ để chồi mầm phá vỡ lớn lên.



Hình 1.3: Hình thái nảy mầm của hạt

Hình 3.1: Các hình thức nảy mầm
(nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

Ghi chú:

1	Vỏ hạt	8	Rễ con	15	Nội nhũ
2	Lỗ noãn	9	Lá mầm	16	Bao lá mầm
3	Rốn hạt	10	Rễ chính	17	Bao rễ mầm
4	Sống noãn	11	Rễ thứ cấp	18	Rễ hạt
5	Điểm hợp	12	Lá	19	Rễ bất định
6	Mầm	13	Vỏ	20	Trục thân
7	Trục dưới lá mầm	14	Điểm đính quả		

3.2 Những yêu cầu cho sự nảy mầm.

3.2.1 Độ chín của hạt

Hạt của hầu hết các loài có khả năng nảy mầm trước khi chín sinh lý (Holmes, 1953, Harrington, 1959, Bowers, 1958) Ví dụ hạt tước mạch sau vài ngày thụ tinh đã có khả năng nảy mầm. Một số loài khác thời gian từ thụ phấn thụ tinh đến khi có khả năng nảy mầm lại dài hơn

Bảng 3.1: Độ chín của hạt và khả năng nảy mầm của hạt cây diếp đại lâu năm và cây diếp Canada ở các giai đoạn chín khác nhau.

Ngày sau Nở hoa	Hạt diếp đại	% nảy mầm	Hạt diếp Canada
2	0		0
3	0		0
4	4		0
5	-		0
6	34		19
7	66		37
8	70		76
9	83		88
10	-		90
11	-		80

(nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

3.2.2 Các yếu tố môi trường

+ **Nước**

Nước là yêu cầu cơ bản của sự nảy mầm, bởi vì nó cần thiết cho các enzym hoạt động, phá vỡ vỏ hạt và vận chuyển vật chất. Giai đoạn ngủ nghỉ hạt có độ ẩm thấp và không có hoạt động trao đổi chất. Độ ẩm được biết có nhiều loại như độ ẩm đồng ruộng là độ ẩm đất, mức tối ưu cho sự nảy mầm là rất khác nhau giữa các loài, có loài nảy mầm ngay ở độ ẩm đất tại điểm heo sinh lý, có loài nảy mầm ngay cả độ ẩm môi trường rất cao vượt quá mức cho phép. Mặc dù vậy độ ẩm không thích hợp như thế là không thể cho nảy mầm hoàn toàn. Hạt ngô bắt đầu nảy mầm tại độ ẩm 30,5%, lúa 26,5%, đậu tương 50%...Độ ẩm cao có thể ngăn cản sự nảy mầm. Ví dụ độ ẩm tăng từ 20 - 40% làm giảm sự nảy mầm của hạt đậu ở mức có ý nghĩa (Ensor, 1967)

+ **Không khí (Oxy và các bonic)**

Không khí là hỗn hợp 20% Oxy, 0,03% CO₂ và 80% nitơ. Nhiều thí nghiệm khẳng định sự nảy mầm của hầu hết các loài đều cần Oxy, Khi CO₂ cao hơn 0,03% làm chậm sự nảy mầm trong khi nitơ không ảnh hưởng. Hô hấp tăng lên mạnh trong quá trình nảy mầm, hô hấp là một quá trình oxy hoá cần thiết và phải có sự cung cấp oxy đầy đủ cho quá trình này, nếu hàm lượng oxy thấp sẽ làm chậm quá trình nảy mầm của hầu hết các loại hạt. Mặc dù vậy có một số loại hạt có thể nảy mầm ở dưới nước trong điều kiện thiếu oxy như lúa và một số cây mọc nước. Hạt lúa có thể nảy mầm trong điều kiện hoàn toàn không có oxy nhưng mầm yếu và phát triển không bình thường

+ **Nhiệt độ**

Sự nảy mầm của hạt là tổ hợp của các quá trình bao gồm nhiều phản ứng và pha khác nhau, một trong những tác nhân là nhiệt độ. Ảnh hưởng của nhiệt độ có thể biểu diễn bằng một giới hạn từ điểm tối thiểu, tối ưu và tối đa điểm mà sự nảy mầm có thể xảy ra. Nhiệt độ tối ưu là nhiệt độ mà hạt có % nảy mầm cao nhất, trong một thời gian ngắn nhất. Nhiệt độ yêu cầu có thể thay đổi theo các giai đoạn khác nhau của sự nảy mầm và phản ứng với nhiệt độ phụ thuộc vào loài, giống, vùng gieo trồng và thời gian thu hoạch. Quy luật chung hạt của cây vùng ôn đới yêu cầu nhiệt độ nảy mầm thấp hơn vùng nhiệt đới. Loài đại yêu cầu nhiệt độ thấp hơn loài trồng. Nhiệt độ tối ưu cho nảy mầm của hầu hết các loài từ 15 - 30 °C, nhiệt độ tối đa là 30 và 40 °C. Một số loài lại nảy mầm khi nhiệt độ đạt đến điểm đóng băng. Cỏ pigweed (*Chenopodium*) Nga có thể nảy mầm trong băng và ngay cả trong nước đá (Aamodt, 1935). Đồ thị trình bày hai nhóm hạt với nhiệt độ nảy mầm tối ưu thấp và tối ưu cao. Sự nảy mầm với yêu cầu nhiệt độ cao thấp xen kẽ: Hạt một số loài nảy mầm tối ưu khi có nhiệt độ dao động thường xuyên. Ví dụ một số loài cây thân gỗ và cỏ địa phương yêu cầu nhiệt độ cao thấp xen kẽ mới nảy mầm. Ảnh hưởng của nhiệt độ xen kẽ đến sự nảy mầm chưa biết rõ nguyên nhân. Có nhiều báo cáo trích dẫn có sự ảnh hưởng khác nhau của nhiệt độ xen kẽ tác động đến nảy mầm, cho rằng khi nhiệt độ thay đổi là nguyên nhân thay đổi cấu trúc của các phân tử trong hạt. Một gợi ý khác cho rằng khi nhiệt độ thay đổi tạo ra sự cân bằng các sản phẩm trung gian của quá trình hô hấp.

+ ***Xử lý lạnh hoặc tiền lạnh***

Điều khiển để hạt hấp phụ trong điều kiện mát và ẩm kích thích cho hạt nảy mầm quá trình này gọi là xử lý lạnh. Một phương pháp được dùng của nông dân ươm cây họ ú các phần nhân vô tính giữa các lớp cát ẩm để giữ giống qua đông và trồng vào vụ xuân năm sau. Ngày nay phương pháp này được sử dụng để nói sự điều khiển nảy mầm phối hợp giữa ẩm độ và nhiệt độ thấp, đây là phương pháp thông thường để khả năng nảy mầm trong phòng thí nghiệm

- ***Sự tổn thương của xử lý lạnh***

Hạt đậu và hạt bông là những loại bị tổn thương nếu bị nhiệt độ thấp trong khi hạt khô đang hấp phụ. Có một giả định chung là nhiệt độ thấp tạo ra một áp lực lên thành tế bào là nguyên nhân tăng liên kết tế bào trong quá trình hấp phụ. Mặc dù vậy những nghiên cứu (Cohn et al, 1979) cho biết tác hại của lạnh đến trụ giữa phân thân của và rễ con của ngô, nhưng không gây hậu quả giảm trao đổi chất ở ngô và đậu tương. Willing và Leopold, 1983 cho biết lạnh ngăn cản mức độ phồng của màng tế bào do lạnh làm giảm tính đàn hồi hay mất khả năng đàn hồi của lipit trong màng tế bào

+ ***Ánh sáng***

Ngoài ảnh hưởng của độ ẩm, oxy và nhiệt độ đến sự nảy mầm. Từ lâu ảnh hưởng của ánh sáng đến sự nảy mầm của hạt cũng đã được xác định. Phản ứng của hạt hàng trăm loài đã được nghiên cứu và xác định là sự nảy mầm của chúng bị kích thích bởi quang chu kỳ (ánh sáng và tối), 1/2 số loài nghiên cứu có phản ứng với ánh sáng. Cơ chế điều khiển của ánh sáng đến sự nảy mầm của hạt là giống như điều khiển sự ra hoa, kéo dài thân và hình thành sắc tố ở quả và lá. Cả cường độ ánh sáng và chất lượng ánh sáng đều ảnh hưởng đến sự nảy mầm. Chất lượng ánh sáng tự nhiên là tổ hợp của độ dài bước sóng và màu của ánh sáng.

- ***Cường độ ánh sáng***

Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng (lux) nhìn chung là khác nhau giữa các loài, một số yêu cầu cường độ ánh sáng yếu 100 lux, trong khi đó hạt rau diếp yêu cầu cường độ rất cao từ 1080 đến 2160 lux.

- ***Chất lượng ánh sáng:***

Ánh sáng kích thích nảy mầm tốt nhất là ánh sáng đỏ (660 - 700nm) độ dài bước sóng < 290 nm sẽ kìm hãm sự nảy mầm.

- ***Độ dài ngày:***

Hạt một số loài biểu hiện phản ứng với quang chu kỳ, cơ chế điều khiển hoạt động của phytochrome giống như sự ra hoa.

+ ***Các yếu tố ảnh hưởng đến sự mầm cảm ánh sáng của hạt***

- Độ mầm cảm của hạt với ánh sáng phụ thuộc vào loài và giống cũng như các yếu tố môi trường trước và trong quá trình nảy mầm. Những yếu tố sau đây ảnh hưởng đến sự mầm cảm của hạt với ánh sáng

- ***Tuổi của hạt.***

Ánh sáng ảnh hưởng mạnh nhất đối với sự nảy mầm của hạt là ngay sau khi thu hoạch và giảm dần theo tuổi của hạt (Toole và cộng sự 1957)

- ***Thời kỳ hút nước***

Mầm cảm với ánh sáng của hạt rau diếp tăng trong thời kỳ hút nước 10 giờ, trạng thái ổn định ở 10 giờ khác và tăng mạnh. Sự mẫn cảm tương tự cũng quan sát thấy ở hạt cỏ cay và thuốc lá. Các hạt thuốc lá bình thường yêu cầu cường độ ánh sáng cao và có thể nảy mầm dưới cường độ ánh sáng thấp sau 4 ngày ở thời kỳ hút nước.

- *Nhiệt độ hút nước*

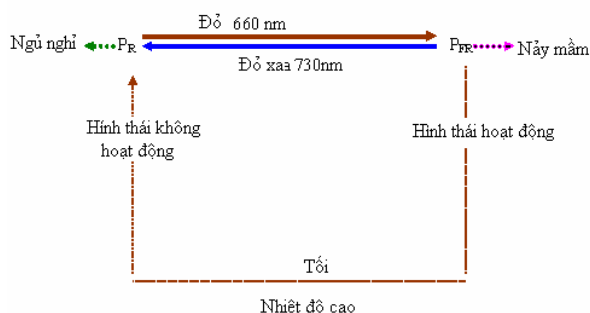
Các hạt lipidium có khả năng hút nước ở 20°C nảy mầm 31% nhưng hút nước ở 35°C nảy mầm 98% (Toole, 1955)

- *Xử lý lạnh*

Hạt thông trắng miền đông (*P. Strobus*) trở lên phản ứng hơn với ánh sáng sau khi xử lý lạnh và tăng độ mẫn cảm tương ứng với thời gian xử lý lạnh

+ ***Phytochrome (Sắc tố)***

Sự mẫn cảm của hạt rau diếp với quang phổ ánh sáng đã được khám phá từ giữa những năm 30 (Flint, 1930; Flint và Mcalister, 1935, 1937). Nó biểu hiện kích thích nảy mầm lớn nhất khi chiếu ánh sáng đỏ (600 – 700nm) và chuyển dần sang đỏ xa (720 – 760nm) và bị kìm hãm nảy mầm khi ngược lại kích thích lớn nhất từ đỏ xa đến đỏ. Ánh sáng đỏ chuyển hoá hoạt động của sắc tố đến hoạt động sinh lý hình thành khả năng tiếp nhận ánh sáng đỏ xa và quá trình nảy mầm diễn ra. Như vậy ánh sáng đỏ kích thích khởi đầu để sắc tố tiếp nhận được ánh sáng đỏ xa. Ngược lại khi kích thích khởi đầu bằng ánh sáng đỏ xa, sắc tố không chuyển sang hoạt động sinh lý và không tiếp nhận được ánh sáng đỏ xa và sự nảy mầm bị kìm hãm. Chiếu sáng đỏ chỉ cần thời gian cực ngắn cũng đủ để kích thích sắc tố chuyển sang hoạt động sinh lý. Kích thích đỏ hay đỏ xa trong khoảng thời gian ngắn cũng đủ để sắc tố chuyển theo hai hướng đối nghịch nhau. Hạt cây nữ vương (*Poulownia tomentosa*) xử lý bằng giai đoạn tối kéo dài cũng cho phép chuyển P_R (sắc tố đỏ) sang P_{FR} xa (sắc tố đỏ xa). Chuyển hoá này có thể thay thế bằng xử lý ánh sáng đỏ xa trong thời gian ngắn. Chiếu sáng ngắn định kỳ là điều kiện cần thiết để hạt nữ vương nảy mầm. Chứng tỏ rằng P_R không chuyển đổi hoàn toàn thành P_{FR} khi chiếu ánh sáng đỏ vì có sự giao thoa giữa chúng khi chiếu ánh sáng. Chiếu ánh sáng đỏ xa thì sắc tố có xu hướng chuyển mạnh sang hình thái P_{FR} nhưng vẫn có khoảng 2% là hình thái P_R .



Hình 3.2: Ảnh hưởng của ánh sáng đến nảy mầm

Hạt yêu cầu ánh sáng đảm bảo cho số lượng phân tử P_{FR} nhất định cho hạt nảy mầm, yêu cầu này rất khác nhau ở các loài. Một số loài yêu cầu lượng phân tử P_{FR} thấp nhưng một số loài có thể nảy mầm với lượng P_{FR} bất kỳ, nhưng hạt này gọi là loại hạt không nhạy cảm hay không phản ứng với ánh sáng. Vai trò của sắc tố đỏ xa (P_{FR}) đến nảy mầm đến nay vẫn chưa rõ, mặc dù vậy có 4 cơ chế có thể xảy ra như sau:

P_{FR} **ảnh hưởng đến tổng hợp giberellin** vì quan sát cho thấy rằng giberellin có thể thay thế ánh sáng để phá ngủ với nhiều loại hạt mầm cảm ánh sáng (Chen, 1970) Và như vậy hướng đến một gợi ý rằng P_{FR} tăng tổng hợp giberellin bằng cách kìm hãm các chất ức chế sinh tổng hợp giberellin. Một giả thuyết rằng P_{FR} kích thích giải phóng giberellin từ hình thức liên kết ra hình thức hoạt động

Tính chọn lọc của P_{FR} **hoạt hoá các gen đặc thù** đi theo hoạt hoá là tăng số lượng các enzym thủy phân (Chen và Varner, 1973). Nó gợi ý rằng tính chọn lọc của P_{FR} kích thích phần genome có các gen kích thích tổng hợp enzym cần thiết cho quá trình nảy mầm.

P_{FR} **làm biến đổi tính thấm của màng tế bào** và phóng thích giberellin liên kết chúng không biểu hiện chức năng sinh lý ra dạng riêng rẽ và có chức năng hoạt động sinh lý như những alonon. Quá trình này xảy ra tiếp sau của phản ứng cảm quang. Hoạt hoá kinaza tăng lên là nguyên nhân thay đổi cân bằng giữa pentophotphat nhanh và glycozes có thể làm hoạt hoá quá trình nảy mầm

Sắc tố (P) là trung gian điều khiển quá trình nảy mầm có ý nghĩa sinh thái học rất lớn. Lý thuyết này có thể áp dụng biện pháp che , lấp để duy trì ngủ nghỉ của hạt và phá ngủ bằng phơi ra ánh sáng. Nó cũng chứng minh rằng ánh sáng xuyên qua tán là hầu hết là bức xạ đỏ xa điều này trì hoãn nảy mầm của hạt dưới tán cây râm, nơi mà điều kiện ánh sáng cũng không thích hợp cho sự hình thành cây con, vì vậy ánh sáng thực hiện một cơ chế sinh tồn đó là nảy mầm dưới các điều kiện mà cây con có thể hình thành và phát triển.

+ **Xử lý lạnh (Stratification) hoặc tiền lạnh**

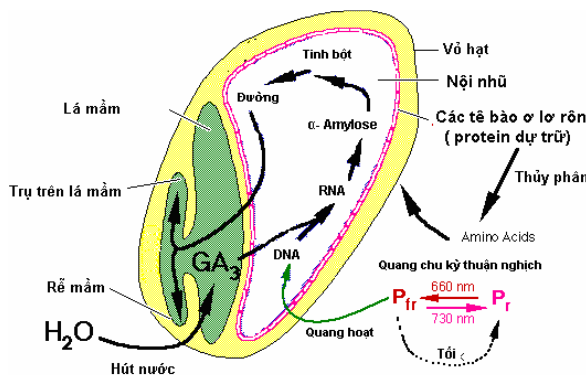
Trong thực tế trạng thái hấp thụ của hạt trong lạnh và độ ẩm đã kích thích sự nảy mầm được gọi là ủ lớp. Một thuật ngữ đã được người dân cất trữ hạt sử dụng theo phương pháp truyền thống họ vùi hạt trong cát ẩm trong mùa đông lạnh trước khi đem trồng chúng ra ngoài đồng ruộng ở vụ xuân. Ngày nay cách này sử dụng bao gồm cho bất kỳ xử lý nào giữa nhiệt độ và ẩm độ (có thể là nhiệt độ thấp hoặc cao) Tác hại của nhiệt độ thấp : Hạt đậu và hạt bông có thể bị hại bởi nhiệt độ thấp, nếu để hạt dưới điều kiện nhiệt độ từ 5 đến 15 °C, tác hại này cũng được biết đối với một số loài khác. Cơ chế đến nay chưa được rõ nhưng những kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy những hạt bị để trong lạnh này bị mất dinh dưỡng hữu cơ nhiều hơn hạt để bình thường.

3.3 Quá trình nảy mầm của hạt

3.3.1 Sự hút nước

Hút nước là quá trình đầu tiên của sự nảy mầm, quá trình này phụ thuộc vào 3 yếu tố

- + Thành phần các chất có trong hạt
- + Khả năng thấm của vỏ hạt
- + Lượng nước hữu hiệu



Hình 3.3: Bắt đầu hút nước của hạt nảy mầm (nguồn Ross E. Koning 1994)

(a) Thành phần của hạt:

- + Giá trị Q10 của sự hấp thụ = 1.5 đến 1.8 chỉ ra rằng sự hấp thụ nước là một quá trình sinh lý không phụ thuộc vào năng lượng trao đổi chất mà liên quan đến đặc tính của keo có mặt trong mô hạt. Điều này chứng minh bằng sự hấp thụ nước như nhau của cả hạt sống và hạt chết.
- + Thành phần cơ bản tạo ra sự hút nước của hạt là protein. Protein là (Zwitter-ion) biểu hiện vật mang âm và dương có tính hút cao các cực của phân tử nước. Sự hút nước khác nhau do lượng chứa protein trong hạt so với tinh bột được chứng minh bởi hai loại hạt đậu tương và ngô. Đậu tương hút nước 2 đến 5 lần trọng lượng khô, trong khi ngô chỉ là 1,5 đến 2 lần. Chất khác trong hạt có đóng góp vào khả năng hút nước là chất nhầy của nhiều loại hạt, khi cellulose và pectins cố định trên thành tế bào.
- + Tinh bột chỉ có ảnh hưởng nhỏ đến sự hút nước, ngay cả khi có số lượng lớn, bởi vì nó có cấu trúc vật không mang nên chỉ hút nước ở độ pH thấp hoặc sau khi sử lý nhiệt độ cao mà điều đó không xảy ra trong tự nhiên.

(b) Sự thấm thấu của vỏ hạt

- + Nước đi vào hạt bị ảnh hưởng rất lớn của vỏ hạt,
- + Cấu trúc vỏ hạt sự thấm nước tự nhiên lớn nhất ở lỗ noãn nơi vỏ hạt khá mỏng. Rốn của nhiều loại hạt cũng cho phép nước đi vào dễ dàng.
- + Hạt của nhiều loài có mô đặc biệt ngăn cản nước tự nhiên vào hạt, nước đi đến phần vỏ cứng gây ngủ cho hạt, một số nước vào hạt thông qua vỏ hạt, nhưng sự thấm nước là biến động rất lớn giữa các loài.
- + Tính thấm chọn lọc của vỏ hạt có loài là khá thấm nước, thấm mạnh, hoặc không thấm.
- + Sự có mặt của lipid, tanins và pectin trong vỏ hạt có đóng góp vào sự thấm nước của vỏ hạt (Denny, 1927)

(c) Áp lực của nước

Áp lực của môi trường được xác định là tỷ lệ với lượng nước hấp thu. Bởi cấu trúc hạt rất phức tạp khả năng hút nước phụ thuộc vào tiềm năng nước của tế bào và chịu 3 áp lực

Sức ép của thành tế bào
Nồng độ thẩm thấu tế bào và
Sức trương của tế bào

Vỏ hạt hoạt động như một màng bán thấm cho phép nước và dung dịch vào trong hạt nhưng lại ngăn cản các chất khác. Khả năng thẩm các chất khác nhau có thể là kết quả của ion hoá acid và nhóm chất cơ bản của lipit màng nguyên sinh. (Weatherby, 1983). Như thế màng đẩy các ion cùng dấu và hút các ion trái dấu, những phân tử không ion hoá trong dung dịch không thẩm qua vỏ hạt được như các phân tử ion hoá.

(d) Sự có mặt của nước

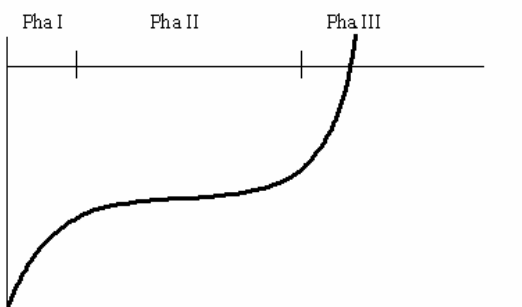
Các tác động của môi trường đến tỷ lệ nước thẩm qua vỏ hạt là rất phức tạp. Khả năng thẩm nước phụ thuộc vào tiềm năng nước của tế bào và là kết quả của ba tác động:

- + Cường độ của khuôn thành tế. Thành tế bào và cellulose trung gian gồm cả ty thể, ribosome, thể cầu là đặc điểm biểu hiện của màng nguyên sinh. Những màng này biến đổi điện tích hút các phân tử nước và đóng góp vào tổng số tiềm năng nước của tế bào.
- + Nồng độ thẩm thấu của tế bào, nồng độ các hợp chất hoà tan lớn khả năng hút nước lớn hơn.
- + Sức căng bề mặt tế bào: khi nước vào trong tế bào nó tạo áp lực nên thành tế bào gọi là sức căng bề mặt. Không giống như áp lực thành tế bào và nồng độ các chất thẩm lọc là điều kiện để hút nước vào trong tế bào, sức căng bề mặt là cản trở của thành tế bào làm trì hoãn sự hút nước.

3.3.2 Hoạt động của Enzyme

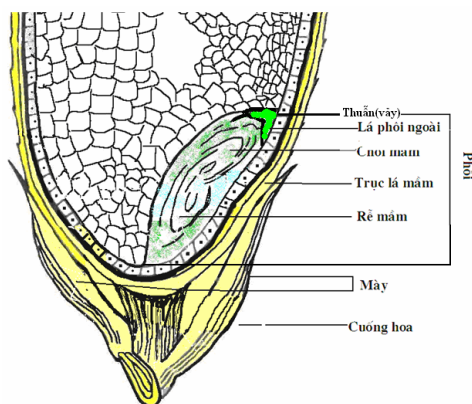
Đặc điểm nổi bật của các hạt khô là hoạt động trao đổi chất rất nhỏ do độ ẩm thấp (5 - 10% trong hạt không hút nước), Ngay sau khi hút nước đã tạo ra thay đổi và quá trình trao đổi chất xảy ra. Ba pha hút nước của hầu hết các hạt trong quá trình nảy mầm được minh hoạ như đồ thị. Sự hoạt động của enzym bắt đầu ở pha I và pha II của quá trình hút nước hạt phải trải qua nhiều quá trình cần thiết cho sự nảy mầm. Sự tăng lên của quá trình hô hấp và mất dinh dưỡng vào rễ dẫn đến giảm trọng lượng khô. Cuối cùng ở pha III quan sát thấy rễ kéo dài, rễ trở thành chức năng hấp phụ trong pha này và có nhiệm vụ để tăng khả năng hút nước.

Hoạt động của enzym trong pha II của quá trình hút nước giúp phá vỡ các mô dự trữ, trợ giúp vận chuyển dinh dưỡng từ các vùng dự trữ đến lá mầm hoặc nội nhũ đến đỉnh sinh trưởng và khởi phát cho các phản ứng hoá học phá vỡ các sản phẩm dự trữ để tổng hợp vật chất mới. Trong cây một lá mầm gibberellin được giải phóng từ thuận (vảy) (hình 3.5) chuyển qua lớp hạt aloron của nội nhũ phát động tổng hợp enzym thủy phân gồm α -amylase, ribonucleases, endo- β gluconase và photphatase



Hình 3.4 các pha hoạt động của enzym

. Kết quả sự giải phóng enzym thủy phân làm suy thoái nội nhũ và thành tế bào nội nhũ. Quá trình này bắt đầu gần thuấn (vảy) với chuỗi thủy phân xảy ra bên cạnh và hướng lên thông qua nội nhũ.



Hình 3.5: Cấu tạo hạt và vị trí của thuấn (vảy) trong phôi lúa

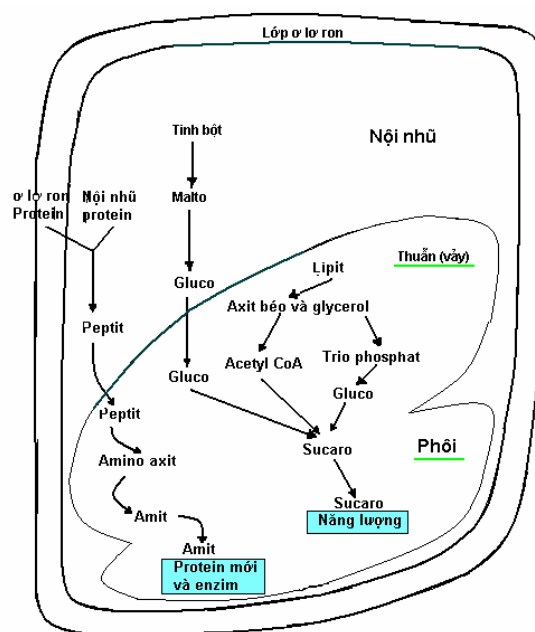
Cơ chế suy thoái nội nhũ chưa được hiểu biết đầy đủ, nhưng các nhà khoa học có hai giả thuyết.

- + Một là khi enzym được giải phóng từ thuấn(vảy) chúng đến các lớp aloron gần nhất với thuấn(vảy) trước khi tiếp xúc với các tế bào aloron xa hơn điều này có nghĩa là những tế bào aloron gần nhất với thuấn(vảy) là tổng hợp những enzym thủy phân đầu tiên.
- + Một quan điểm khác cho rằng sự phóng thích cân đối của các enzym từ aloron và thuấn(vảy) xảy ra. Mặc dù vậy thuấn cũng có những enzym khác đơn giản cung cấp enzym thủy phân mô nội nhũ.

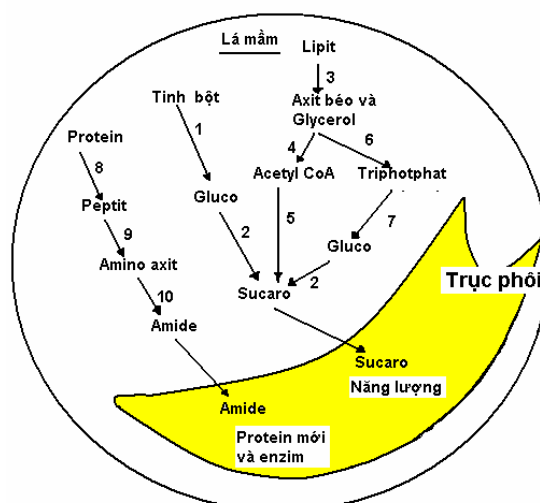
Hạt nảy mầm khi này là quá trình của rất nhiều sản phẩm của một chuỗi các hoạt động thủy phân từ aloron đến thuấn.

3.4 Phá vỡ các mô dự trữ

Phản ứng hoá học phá vỡ các mô dự trữ và tổng hợp vật chất mới được chứng minh bằng các pha hoạt động của enzym bao gồm tổng hợp các enzym phân giải chất dự trữ như α -amylase, ribonucleases, endo- β gluconase và photphatase. Những phản ứng này xảy ra có xúc tác trung gian bởi hóc môn Giberelic a xít.



Hình 3.6: Phá vỡ các mô dự trữ và cung cấp các sản phẩm cho quá trình nảy mầm của hạt ngô (nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)



Hình 3.7: Phá vỡ các mô dự trữ và cung cấp các sản phẩm cho quá trình nảy mầm của hạt đậu tương (nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

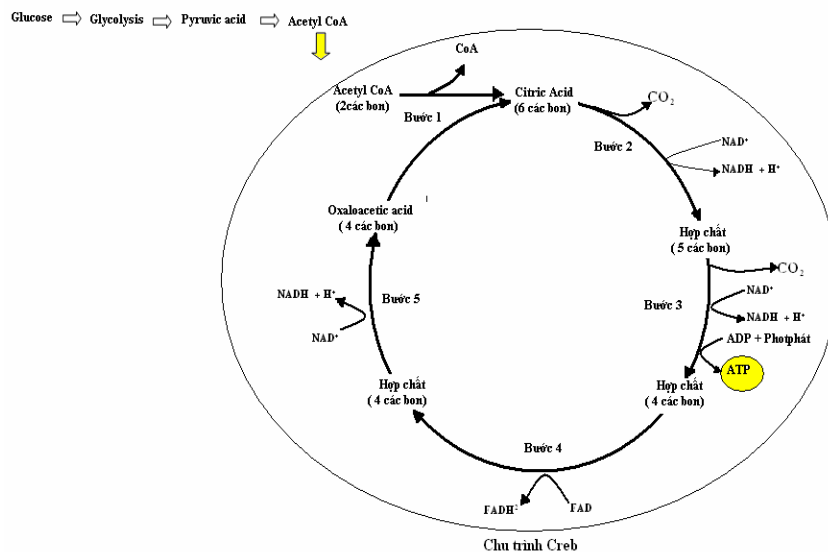
Sau pha tổng hợp các enzym thủy phân chất dự trữ trong hạt, nhiều enzym thủy phân khác cũng được hình thành. Những chất mới được tổng hợp tăng thể lười nội chất như Ribosonme và ribosome ARN. Thành phần cơ chất cần thiết để tổng hợp các enzym ATPaza, Phytaza, Proteaza, lipaza tất cả đều tăng trong quá trình hoạt động

của enzym. Các enzym phá vỡ các chất dự trữ tạo ra sản phẩm thủy phân và tái tổng hợp chúng trong các phân tử cần thiết cho sinh trưởng mới của mầm. Ở các giai đoạn khác các enzym không trực tiếp tổng hợp vật chất mới mà đảm bảo cung cấp năng lượng cần thiết cho các phản ứng này xảy ra trong tế bào chất với số lượng ngang bằng.

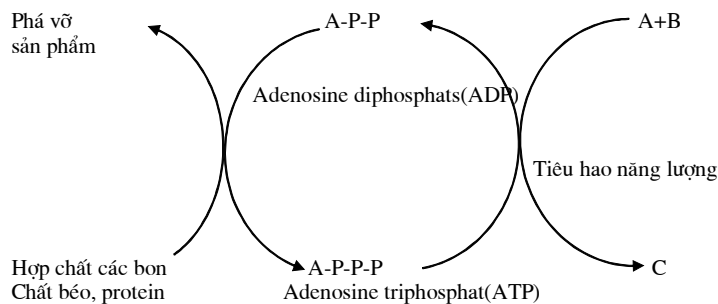
3.4.1 Chuyển hóa mô dự trữ các bon hydrat

Nhìn chung các enzym phá vỡ cacbonhydrat, lipid, protein và các hợp chất chứa photpho là hoạt động đầu tiên trong pha II. Khi thực phôi yêu cầu năng lượng cho sinh trưởng, các chất dự trữ được thủy phân dưới dạng chất hoà tan và chuyển từ nội nhũ đến phôi. Các biến đổi để các phân tử năng lượng có thể sử dụng ngay được bởi các thực phôi. Nội nhũ được thủy phân thành những sản phẩm giàu năng lượng và dễ tan như gluco, malto. Những chất này được hấp thụ bởi thuần. Trong thuần những chất này (gluco, malto) được chuyển đổi bằng một chuỗi các phản ứng enzym hình thành sucrose (sucrose không tự hình thành được trong thuần bởi vì không có những enzym cần thiết). Phân tử sucrose được chuyển đến thực phôi cung cấp năng lượng cho sinh trưởng mới. Ở cây hai lá mầm điều hoà hooc môn để thủy phân các chất dự trữ là không rõ như cây một lá mầm. Điều này có thể do vắng mặt của mô chứa ơ lor sinh tổng hợp enzym thủy phân. Vai trò của hooc môn đến nảy mầm của cây hai lá mầm còn nhiều tranh cãi và cần nghiên cứu chứng minh. Trong một số trường hợp Gibberelline được biết như là một enzym thủy phân khởi phát cho quá trình tổng hợp vật chất mới, nhưng mức độ không lớn. Hạt của cây hai lá mầm do sinh trưởng của thực phôi kéo dài kết hợp với phá vỡ các sản phẩm dự trữ để sinh tổng hợp vật chất mới. Quá trình này làm giảm hàm lượng các hợp chất hữu cơ trong lá mầm, nó cũng giải thích thêm rằng thủy phân các chất dự trữ để sử dụng cho thực phôi trong quá trình nảy mầm. Amylopectin và amylo được thủy phân bởi enzym α -amylase và β amylaza. Những enzym này cũng được tách ra từ cấu trúc tinh bột không định hình disacarid malto sau đó phân tách làm hai đơn vị monosacarid glucose một số gluco biến đổi thành monosacarid sucrose di động cao chuyển đổi vị trí sau đó tái tạo gluco hoặc sử dụng trực tiếp trong tổng hợp vật chất mới. Glucose có thể được phá vỡ nhiều hơn bởi hô hấp bước 1 tạo thành glucolysis, chất có thể phân chia thành hai phân tử pyruvic acid mà không biến đổi tính chất hoá học của nó. Sau đó bị phá vỡ hoàn toàn thành CO_2 và nước bởi một chuỗi các phản ứng tricarboxylic acid (chu trình Krebs). Phản ứng glucolysis xảy ra trong tế bào chất, chu trình Krebs xảy ra trong ty thể (mitochondria), cả hai quá trình đều giải phóng năng lượng ATP như sơ đồ 3.8 và 3.9

Ngay đầu năm 1890 trong nghiên cứu của Haberland về sự nảy mầm của lúa mạch đã chứng minh rằng sự kiện xảy ra ở đỉnh sinh trưởng của phôi là bắt đầu thủy phân tinh bột bởi enzym amylaza chất có thể gây ra, mặc dù vậy chưa được chứng minh rõ ràng. Những bằng chứng gần đây chứng minh rằng gibberellin là sản phẩm tạo ra sinh trưởng của thực thân rễ, thuần, di động và các lớp ơloron của nội nhũ nơi được kích thích tổng hợp amylolaza và các enzym thủy phân khác (Jones và Armstrong, 1971, Paleg, 1960.). Các enzym thủy phân tinh bột thành các chất hoà tan chuyển đến thuần và chuyển đến đỉnh sinh trưởng nơi sinh trưởng của cây con.



Hình 3.8: Quá trình hô hấp phân giải hợp chất các bon trong tế bào khi nảy mầm



Ghi chú: Trong khi phá vỡ các chất dự trữ của tế bào, năng lượng được hình thành đặc biệt(năng lượng giữa phốt phát trong phân tử ATP, ATP dự trữ được chuyển hoặc đi đến phản ứng A + B - C và ATP mất đi 01 phốt phát trở thành ADP.

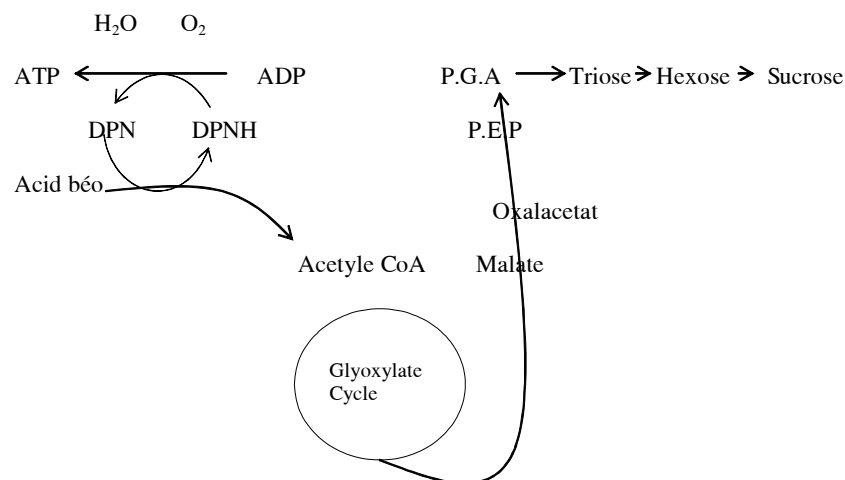
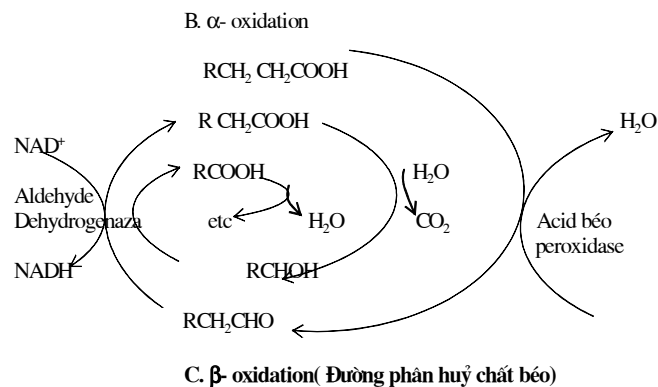
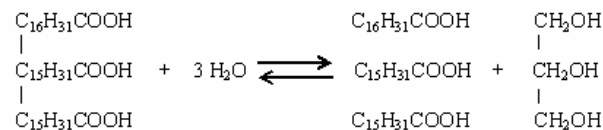
Hình 3.9: Chu trình của năng lượng sinh học (nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

3.4.2 Chuyển hoá lipid

Để phá vỡ dầu trong hạt, bước đầu tiên cũng là phản ứng thủy phân sử dụng enzym pipaza để tách các ester thành các acid béo tự do và glycerol. Các acid tự do được phân huỷ tiếp bởi một trong 2 enzym oxyhoá α hoặc β oxidation. α - oxidation (oxy hoá) hình thành nên các acid béo tự do đóng một vai trò chính cho sự nảy mầm của hạt. Có thể thấy được ở lạc và hướng dương nó làm mất 1 phân tử Cac bon và

CO₂ của acid béo tự do peroxidase và aldehydogenaza enzym β- oxidation là phương tiện chính phá huỷ acid béo trong quá trình này nhằm với acid của β-oxidaza chuyển enzym coenzim acetyl và năng lượng hình thành ATP. coenzim acetyl có thể đi vào chu trình crebs để hoàn chỉnh quá trình oxy hoá khử thành CO₂ và H₂O và năng lượng ATP hoặc vào chu trình glyoxylate để thực hiện chuỗi phản ứng chuyển hoá sucrose, sucrose dễ tiêu được chuyển đến vị trí sinh trưởng và sử dụng tổng hợp sinh học.

A-Thủy phân chất béo



Hình 3.10: Thủy phân chất béo (nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

3.4.3 Chuyển hoá protein

Phá vỡ protein dự trữ trong quá trình hạt nảy mầm, proteinlaza, enzym proteolytic endopeptidaza, carboxypetidaza phân chia mạch peptid của protein giải phóng ra amino acid. Proteineaza được biết có trong nhiều loại hạt và tăng nhanh trong quá trình hạt nảy mầm (Ryan, 1973). Enzim proteolic đặc thù khác nhau trong phân giải liên kết peptid, đặc thù hình như được quy định bởi nhóm cuối của phân tử protein kiểu chuỗi bên của amino acid và quan hệ giữa chuỗi cạnh với phân tử và nhóm cuối tự do. Khi protein phân giải trong quá trình nảy mầm có sự tăng lên đặc trưng của amino acid và amides trong lá mầm, kèm theo tổng hợp protein trong các phần sinh trưởng của phôi. Sau khi amino acid tự do được giải phóng khỏi phức hợp protein, chúng được tiếp tục phân giải tiếp bởi ba quá trình.

- + Amon hoá để nhận được amonia và một các bon cấu trúc bổ sung vào nhiều quá trình trao đổi chất
- + Enim chuyển hoá amin tạo ra a xít xetol đi vào chu trình Kreb để phân giải CO_2 , H_2O và năng lượng ATP
- + Sử dụng cho quá trình tổng hợp protein mới trong phần khác của hạt nảy mầm. Protein mới được tổng hợp trên bề mặt của Ribosome trong tế bào chất.

3.4.4 Các hợp chất chứa Phosphorus

Khoảng 80% các hợp chất chứa lân trong hạt được dự trữ ở các hợp chất như muối can xi, magnesium và mangan của phytin. còn lại 20% chứa trong các hợp chất hữu cơ như Nucleotit, Nucleic acid, phospholipids, phosphoprotein. Trong quá trình nảy mầm phytin được phá vỡ giải phóng ra phot pho vô cơ để tổng hợp nên các hợp chất chứa phot pho mới khác. Nó được phá vỡ bởi các enzym catalyzed, phytase, phosphatase. Nucleotit như ADP và ATP là những phức hợp của hợp chất đường phot phát cũng được dự trữ và giải phóng năng lượng hoá học. Mặc dù phspholipid không là chất dự trữ chính của sản phẩm hạt, chúng cũng có mặt và phá vỡ trong quá trình nảy mầm như các lipid khác bởi các enzym.

3.5. Khởi đầu sinh trưởng của phôi

Nhiều nghiên cứu đã thực hiện để tìm hiểu thay đổi phát triển xảy ra trong hạt khi phôi của chúng bắt đầu sinh trưởng. Cây 1 lá mầm và 2 lá mầm khác nhau về cấu trúc hình thái, do vậy không ngạc nhiên khi thay đổi trong hạt hai loại này không giống nhau. Hạt 1 lá mầm nhìn chung biểu hiện sự nảy mầm giống như biểu hiện của ngô và qua các giai đoạn.

- + Trong 120 giờ đầu của sự nảy mầm có đặc điểm là giảm khối lượng chất khô của nội nhũ và đồng thời tăng trọng lượng chất khô của trục phôi.
- + Sự thay đổi này là giảm nitơ tổng số và protein hoà tan xảy ra ở nội nhũ và sự chuyển dời hợp chất này đến trục mầm.
- + Sự thay đổi tương tự sẽ được thực hiện theo sau là sự thủy phân tinh bột nội nhũ thành maltose và sau đó thành glucose. Những đường này ezim hoá thành Sucrose chuyển đến trục phôi.

Sự chuyển đổi tương tự cũng xuất hiện ở cây 2 lá mầm như hạt đậu bò mô dự trữ chủ yếu lá mầm trải qua giảm khối lượng chất khô ở trụ dưới tiếp theo là trụ trên lá mầm, nitơ hoà tan và nucleicacid, phospho giảm trong lá mầm là cơ sở cơ quan của phôi xuất hiện trụ dưới, rễ, trụ trên và chồi mầm. Sự kiện này biểu hiện các mô dự trữ có chức năng cơ bản như một bể chứa khi xuất hiện trục mầm có thể kéo dinh dưỡng về nó để nảy mầm và xuất hiện nhanh chóng.

3.6 Sự xuất hiện của rễ

- + Khi xuất hiện rễ thật quá trình nảy mầm được hình thành nó xuất hiện có kết quả kéo dài và phân chia tế bào.
- + Nhìn chung sự kéo dài tế bào xảy ra trước sự phân chia tế bào. Hiện tượng này có ở rau diếp, ngô, đại mạch và các loại đậu (Berlyn, 1972; Broun, 1932). Hạt anh đào và thông phân chia tế bào xảy ra trước kéo dài tế bào (pollock và oluey, 1959).
- + Bởi vậy sự xuất hiện của rễ xuyên qua vỏ hạt khởi đầu bởi do kéo dài tế bào tiếp theo là phân chia thân ở hầu hết các hạt.

Trong hạt đậu kéo dài tế bào xảy ra 2 giai đoạn:

Giai đoạn 1: kéo dài chậm rễ xuất hiện nhưng không có bất kỳ tăng lên nào về khối lượng chất khô, mà chỉ tăng chút ít khối lượng tươi (Royan và Simon, 1975). Giai đoạn này có thể hoạt động chuẩn bị cho tổng hợp vật chất cho thành tế bào mới ở giai đoạn cuối của kéo dài tế bào.

Giai đoạn 2: là sự kéo dài nhanh của rễ với sự tăng của cả khối lượng tươi và khối lượng khô kèm theo di chuyển nhanh của dinh dưỡng vào trong rễ. Sự kiện này dẫn đến sự xuất hiện của rễ vũ thay đổi của hạt từ các cơ quan tự dưỡng sang các cơ quan dị dưỡng.

3.7 Hình thành cây con

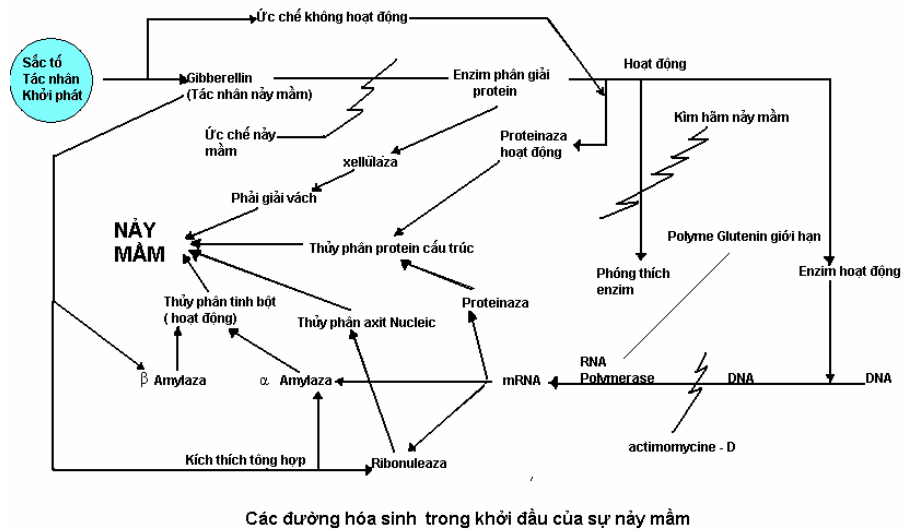
Cây con tự nó được hình thành khi bắt đầu hút nước và quang hợp. Khởi đầu trải qua một giai đoạn thay đổi trạng thái khi tự nó tạo ra một ít dinh dưỡng cho nó, nó vẫn phụ thuộc mô dinh dưỡng từ các mô dự trữ. Khi cây con hoàn chỉnh và bám chắc được vào đất nó bắt đầu hút nước và tạo ra hầu hết dinh dưỡng cho nó dần dần trở lên sống tự lập và quá trình nảy mầm hoàn thành.

3.8 Một số cơ chế sinh hoá khác của quá trình nảy mầm của hạt

3.8.1 Mô hình hóa sinh của Amen

Năm 1968 Amen trình bày model đầu tiên chuỗi sự kiện hoá sinh xảy ra trong quá trình nảy mầm. Từ đầu ông xác nhận rằng mô hình này là một mô hình tổng quát bởi vì có nhiều loài cây có yêu cầu ánh sáng, trong khi loài khác lại có yêu cầu nhiệt độ thấp để nảy mầm. Ông cố gắng biên soạn bài giảng trong thời gian đó là một mô hình được chấp nhận và khuyến khích các nhà nghiên cứu thử nghiệm (test) mô hình về tính chính xác của nó. Thật ngạc nhiên rất ít thông tin về những phát hiện mới nhận được từ thử nghiệm giả thuyết của Amen. Mặc dù vậy mô hình của ông là điểm nổi bật trong nhiều vấn đề xảy ra trong quá trình nảy mầm, bởi vậy nó rất quan trọng để xem xét và thảo luận về sự nảy mầm của hạt. Ghi nhận của Amen sự nảy mầm bị chi phối bởi sự cân bằng giữa chất ức chế và chất kích thích sinh trưởng.

Khi chất ức chế có mặt và tập trung lớn hơn chất kích thích sự ngủ nghỉ xảy ra. 1 tác nhân khởi phát như ánh sáng, nhiệt độ là cần thiết để kích hoạt hoặc giảm chất ức chế trong hạt kích thích nảy mầm như axit gibberelic có thể sử dụng như một chất kích thích ảnh hưởng khởi đầu cho quá trình nảy mầm. trình bày tăng gibberelic tổng hợp enzym proteolytic α - Amylaza và ribonucleaza trong khi đó hoạt động giải phóng enzym β . Amiloza thủy phân tinh bột cung cấp đường cần thiết cho sự nảy mầm enzym ribonucleaza cần thiết cho thủy phân axit nucleic sự thủy phân này có thể sử dụng cho tổng hợp RNA của quá trình sau của sự nảy mầm enzym proteolytic liên kết với cellulosa để phân hủy vách tế bào cần thiết thủy phân vỏ hạt trước khi phát triển của rễ.



Hình 3.11: Các đường hóa sinh trong giai đoạn khởi đầu của sự nảy mầm (nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

3.8.2 Khối lượng chất khô

Trong một vài ngày đầu tiên nảy mầm và hình thành cây con xảy ra hiện tượng giảm khối lượng chất khô. Bởi vì tỷ lệ hô hấp cao và thấu qua vỏ hạt. Khi trực thân và rễ bắt đầu phát triển chúng tăng khối lượng. Vật chất giúp tăng khối lượng lấy từ lá mầm hoặc nội nhũ nơi mất khối lượng do phá vỡ và chuyển đến trực thân và rễ. Loài cây nảy mầm trên mặt đất, trực dưới lá mầm sử dụng hầu hết sản phẩm thủy phân chất dự trữ cho tổng hợp và sinh trưởng, sau 3 – 4 ngày trực dưới lá mầm sinh trưởng giảm và duy trì ổn định. Khi đó chất dự trữ được sử dụng cho tổng hợp trực thân và phát triển bộ rễ của cây mầm. Các chất dự trữ cacbon, chất béo và protein phân giải nhanh trong lá mầm và nội nhũ trong quá trình nảy mầm của hạt. Các sản phẩm thủy phân được chuyển đến các đỉnh sinh trưởng, nơi chúng tích lũy để sử dụng cho quá trình tổng hợp vận chuyển tiếp theo. Sự tăng axit nucleic, đặc biệt là DNA liên quan chặt chẽ với sự cân bằng phân chia tế bào, kết quả mỗi tế bào phân

chia tạo ra số lượng nguyên tử gấp đôi. Thời kỳ đầu phát triển của trụ dưới lá mầm do phân chia tế bào sau đó vài ngày sinh trưởng tiếp theo của nó là nền tảng cho kéo dài tế bào của các tế bào đã hình thành trước đó. DNA tăng mạnh ở giai đoạn đầu sau đó giảm. Chồi mầm và rễ là kết quả của phân chia tế bào và kéo dài tế bào. RNA định vị ở cả nhân và tế bào chất như thế sự có mặt của nó liên quan ít hơn đến phân chia nhân, bởi vậy sự thay đổi ARN phản ánh của cả phân chia tế bào và kéo dài tế bào.

3.9 Sự kích thích hoá học của sự nảy mầm

+ Gibberellins

Từ khoảng 1955 Gibberellins được biết là chất kích thích hạt nảy mầm của hầu hết các loài cây trồng. Như Thiocerece, gibberellins đã không sử dụng để kéo dài trong test mầm thông thường nhưng có thể có lợi cho nảy mầm là chắc chắn. Tự hình thái thứ 3 nhỏ nhất của Gibberellins nhưng hình thái được sử dụng thông thường là axit giberellic (GA3). Gibberellins và Thiorece tác động thêm nguồn ánh sáng và nhiệt độ để kích thích nảy mầm, chúng cũng có thể kích thích nảy mầm của các loại hạt không có những yêu cầu thông thường. Hoạt động của Gibberelliens làm hạt hấp thụ ánh sáng đỏ đã được chứng minh. Mặc dù vậy các nhà khoa học tin tưởng rằng các kiến hoạt định của chúng không chỉ 1 hình thức giống nhau (I Kuma và Thiamam, 1960). Gibberellins là một chất quan trọng điều khiển sự nảy mầm của hạt trong tự nhiên (phiney và West 1960). Có bằng chứng một trong giai đoạn sau chín và nảy mầm. Chất gibberellins tách từ hạt đậu, rau diếp và nhiều loài khác nó cũng đóng vai trò quan trọng điều khiển hạt nảy mầm.

+ Xytokinins

Nhóm khác của hormone nội sinh kích thích hạt nảy mầm trong một số loài là xytokinin, kinetin là chất được biết nhiều nhất trong nhóm này cơ chế kích thích nảy mầm của xytokinin còn chưa biết rõ, có 3 giả thiết sau:

- + **Sao chép trung gian:** xytokinix với ribosone hoặc liên kết hoạt động tập hợp trong phôi lúa mỳ (Fox và Frion, 1975), khám phá này gợi ý rằng xytokinin kích thích biểu hiện của các gen đặc biệt.
- + **Xytokinin được tìm thấy liên kết RNA** trong phôi lúa mỳ như những bức thư codon khởi đầu. Nó gợi ý rằng ribosome được thừa nhận có sự sắp xếp đặc biệt để đáp lại với mật mã đóng vai trò điều khiển, các loại RNA cho phép lấy thông tin mật mã di truyền. Vì vậy (Burrores, 1975) với phương thức này xytokixin có thể kích thích một số quá trình khởi đầu của sự nảy mầm và trung gian tổng hợp protein.
- + **Tính thấm trung gian của màng nhày:** Thomas 1977 cho rằng xytokinin ảnh hưởng nhiều đến quá trình điều khiển sắc tố, khi sắc tố được định vị trong màng nhày tế bào, có thể thay đổi tính thấm của màng thông qua định hướng khác của nó, xytokinin có thể là trung gian nảy mầm thông qua ảnh hưởng của nó nên tính thấm của màng. Như thế một hệ thống cho phép phóng thích gibbereline từ thuẩn đến orolon trong giai đoạn đầu của nảy mầm. Vai trò chính xác của xytokinin trong kích thích hạt nảy mầm là chưa được giải quyết. Mặc dù vậy xytokinnin

chắc chắn phá ngủ một số loại hạt yêu cầu xử lý lạnh hoặc yêu cầu ánh sáng để nảy mầm.

+ **Ethylene:**

Ethylene (C_2H_4) được biết là chất kích thích nảy mầm của nhiều loài cây trồng ngoài ảnh hưởng đến sự chín của quả, ngủ của mắt ngủ và các quá trình sinh trưởng khác. Nó đóng vai trò kích thích ngủ của hạt, mặc dù ảnh hưởng của nó không hạn chế ở sự ngủ của hạt, nó kích thích nảy mầm đối với hạt già cũng như hạt chưa chín thành thực. Ethylene được xem xét kích thích nếu auxin trong hạt ngủ nghỉ và được phóng thích trong quá trình nảy mầm.

+ **O xy già (H_2O_2)**

O xy già ảnh hưởng kích thích của o xy già nên hạt nảy mầm và sức khoẻ cây con sau đó được biết ở một số loài như cà chua, đậu và đại mạch. Đây là hoạt động hoá học. Kích thích hô hấp phá vỡ các vật chất dự trữ, bỏ vậy cung cấp nhanh hơn năng lượng và vật chất cho tổng hợp ở đỉnh sinh trưởng.

+ **Auxin**

Auxin và các chất kích thích sinh trưởng khác là thành phần phổ biến của cây trồng và là cấu thành phần của hạt sự có mặt của auxin trong hạt. Sự có mặt và vai trò của nó kích thích sinh trưởng của cây do vậy không ngạc nhiên nó có ảnh hưởng đến sự nảy mầm rất tốt. Chất có tác dụng tốt nhất là IAA (Indole Axetic axít) được biết làm tăng nảy mầm của hạt rau diếp. Một phát hiện khi IAA nồng độ cao không hoạt động ngăn cản sự nảy mầm, trong khi nồng độ thấp kích thích sự nảy mầm. Cũng có chứng minh IAA tương tác với ánh sáng để ảnh hưởng lên sự nảy mầm của hạt. Nhưng nghiên cứu khác cho kết quả rằng auxin ít kích thích sự nảy mầm của hạt.

+ **Nitorat kali (KNO_3)**

Nitorat kali là chất được sử dụng rộng rãi nhất trong kích thích nảy mầm của hạt. Dung dịch KNO_3 từ 0,1 đến 0,2% được sử dụng để kiểm tra nảy mầm của hạt nhiều loài cây trồng được quy định bởi hiệp hội phân tích hạt giống và hiệp hội kiểm nghiệm hạt giống quốc tế. Hạt của các loài cây trồng mầm cảm với KNO_3 thì cũng mầm cảm với ánh sáng. Trước đây chứng minh rằng KNO_3 thay thế ánh sáng nhưng ngày nay đã chứng minh rằng nó làm tăng sự mầm cảm với ánh sáng. Mặt khác KNO_3 hoàn toàn có thể làm giảm ánh sáng kìm hãm của hạt ... KNO_3 cũng có thể kết hợp với nhiệt độ ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt ở một số loài cây trồng; mặc dù vậy KNO_3 có thể không ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt một số loài cây trồng. Sự kìm hãm hạt rau diếp nảy mầm của KNO_3 là sự ngạc nhiên trong nhìn nhận ánh sáng và nhiệt độ thấp là yêu cầu để nảy mầm của những loài này (AOSA, 1959)

+ **Thiocerea**

Mặc dù không được sử dụng thông dụng thử sự nảy mầm như KNO_3 , Thiocerea thúc đẩy sự nảy mầm của nhiều loại hạt, không như KNO_3 , thiocerea có khả năng thay thế cho yêu cầu ánh sáng và nhiệt độ thấp của sự nảy mầm, có thể thay thế yêu cầu ánh sáng và nhiệt độ thấp cho quá trình sinh lý xảy ra trong tự nhiên trong khi chín các hạt. Chất hoá học khác ảnh hưởng đến sự nảy mầm: Một số chất hoá học khác

cũng có khả năng kích thích hạt nảy mầm dưới điều kiện tự nhiên như: phenolic, mustard.

3.10 Các yếu tố khác ảnh hưởng đến sự nảy mầm

- 1) Áp xuất thẩm thấu: áp xuất thẩm thấu cao của dung dịch nảy mầm hạn chế khả năng thẩm thấu và sự nảy mầm bị chậm lại, khả năng hạt nảy mầm trong điều kiện áp xuất thẩm thấu cao rất khác nhau với khác giống và các loài nhưng chúng đều bị ảnh hưởng. Dung dịch manitol ở rất nhiều nồng độ có áp xuất thẩm thấu khác sử dụng nghiên cứu nảy mầm (Detrenko và Dean, 1959). Gần đây các nghiên cứu khác sử dụng polyethyls glycol (PEG) để thử hạt với nhiều mức áp xuất thẩm thấu.
- 2) PH: Nảy mầm có thể xảy ra trong phạm vi pH rộng, nhưng sự nảy mầm của hầu hết các loài có thể trong phạm vi pH = 4 – 7 (Justice và Reece, 1954).
- 3) Ngâm nước: Ngâm hạt trong nước tăng tốc độ nảy mầm và sự nảy mầm nhanh hơn. Thông thường các hạt được làm khô trước khi nảy mầm. Ngâm nước quá trình thủy phân bắt đầu phân giải các chất thành đường đơn có thể sử dụng để tổng hợp vận chuyển mới và quá trình nảy mầm xảy ra ngay khi đó. Lợi ích của ngâm nước ở nhiệt độ bình thường 20⁰C đảm bảo như xử lý tiền lạnh (5 – 15⁰C) trong trường hợp như thế hạt không bị khô và giúp độ ẩm đạt đến sự nảy mầm.
- 4) Ảnh hưởng của nhiệt độ thấp: Sương muối và đêm lạnh có thể là nguyên nhân gây hại hạt trước khi thu hoạch. Nhiều nghiên cứu cho thấy nhiệt độ thấp gây hại ở hạt ngô. Sự gây hại phụ thuộc:
 - Lượng nước dư thừa
 - Thời gian bị nhiệt độ thấp
 - Độ ẩm hạt
 - Độ chín sinh lý của hạt
 - Vỏ hạt
 - Giống

Nếu các điều kiện khác phù hợp hạt có thể tồn tại ở nhiệt độ cực thấp như độ ẩm không khí khô (10 – 12%) như hạt lúa mì. Một vài loài có thể tồn tại ở nhiệt độ nitơ lỏng (-252⁰C) mà không bị hại. Hạt ngô độ ẩm 20% có thể sống sót ở nhiệt độ - 7⁰C.

- 1) Bức xạ: Tia gama thường kìm hãm sự nảy mầm nó ảnh hưởng khác nhau đối với các giống cũng như các loài nó biểu hiện rõ rệt hơn khi nhiệt độ và độ ẩm hạt cao. Sự nảy mầm bị gây hại quan sát thấy ở cỏ, lạc và hành từ 20 – 40 krad; ngô 40 – 80 krad; tia gama là nguyên nhân kìm hãm sinh trưởng của thân và rễ.
- 2) Tác động cơ giới: Tác động cơ giới gây hại nảy mầm xảy ra trong quá trình thu hoạch tuốt, đập... đặc biệt với loài hạt lớn gây hại có thể như vỡ vỏ hạt đập hạt.

Ảnh hưởng của độ ẩm và kiểu gen đến khả năng gây hại tăng khi độ ẩm thấp ảnh hưởng khác ở kích thước hạt khác nhau gây hại bắt đầu xảy ra ở độ ẩm < 15%. Sự nảy mầm của hạt đậu tăng lên từ 36 – 76% khi tăng độ ẩm tuốt đập từ 11 – 16%. Hạt

nhỏ thì độ ẩm gây hại thấp hơn độ ẩm an toàn các hạt nhỏ từ 11 – 12%. Kiểu gen điều khiển mầm cảm với gây hại có giới ở một số loài cây trồng.

CHƯƠNG 4

TRẠNG THÁI NGỦ NGHỈ CỦA HẠT

Khả năng trì hoãn sự nảy mầm của hạt một thời gian là đúng với cơ chế của sự sống. ở thực vật trạng thái ngủ của hạt là một phức hợp và là thách thức đối với các nhà nghiên cứu phân tích hạt. Nó là một phản ứng thích nghi của cây trồng với môi trường. Cây trồng đã được thuần hoá lâu biểu hiện trạng thái ngủ ít hơn cây hoang dại hoặc loài mới thuần hoá. Cây trồng khi đã thuần hoá nó vẫn còn biểu hiện ngủ nghỉ là một khó khăn lớn cho người sản xuất giống và các nhà nghiên cứu hạt giống. Mặc dù vậy mức độ ngủ nghỉ trong một số trường hợp lại là mong muốn của nông dân và nhà sản xuất hạt giống để ngăn cản nảy mầm trước khi thu hoạch hoặc trong thời gian bảo quản hạt giống. Thực chất khi hạt ngủ nghỉ mang lại những lợi thế cơ bản sau:

- Bảo tồn giống
- Tạo thành ngân hàng hạt giống
- Đồng bộ hoá sự nảy mầm - bảo đảm một lượng lớn cây trồng ở cùng một thời điểm cho phát triển
- Phát tán hạt giống - hạt được phát tán nhờ các loài động vật di cư thuận lợi hơn khi có ngủ nghỉ

Một sự hiểu biết chung sự ngủ nghỉ đó chỉ là trạng thái nghỉ của hạt khi chưa có điều kiện thuận lợi cho sự nảy mầm. Trạng thái này được gọi là trạng thái tạm dừng hoạt động trao đổi chất. Mặc dù vậy trạng thái ngủ được xác định khi một tình trạng ngăn cản nảy mầm ngay cả trong điều kiện môi trường thuận lợi. Một số cơ chế vật lý và sinh lý của trạng thái ngủ của hạt, dựa trên trạng thái, mức độ và nguyên nhân gây các nhà khoa học chia ngủ nghỉ thành 2 loại chính là ngủ sơ cấp (primary dormancy) và ngủ thứ cấp (second dormancy)

Thực chất khi hạt ngủ nghỉ mang lại những lợi thế cơ bản sau:

1. Bảo tồn giống
2. Tạo thành ngân hàng hạt giống
3. Đồng bộ hoá sự nảy mầm - bảo đảm một lượng lớn cây trồng ở cùng một thời điểm cho phát triển lai xa
4. Phát tán hạt giống - hạt được phát tán nhờ các loài động vật di c

4.1 Khái niệm

Ngủ nghỉ của hạt (seed dormancy) với nghĩa chung nhất là trạng thái ngừng hoạt động sinh trưởng bởi các nguyên nhân bên ngoài hay bên trong, hạt ngủ nghỉ là hạt không có khả năng nảy mầm ngay cả khi điều kiện môi trường thuận lợi cho sự nảy mầm của hạt đó.

Trong tự nhiên ngủ nghỉ là một cơ chế giúp nhiều loài thực vật tồn tại và sống sót trong những mmôi trường đặc biệt. Điều khiển thời gian nảy mầm khi môi trường thuận lợi nhất đảm bảo cho sự sống sót của cây con và cây non tuổi. Ngủ sơ cấp của

hạt là hạt không có khả năng nảy mầm ngay cả trong điều kiện môi trường thuận lợi do yếu tố bên ngoài hay yếu tố nội tại trong hạt và thường xảy ra ở giai đoạn khi hạt còn trên cây hoặc thời gian đầu sau khi thu hoạch. Ngủ thứ cấp là có những yếu tố ngăn cản sự nảy mầm của hạt khi đã thu hoạch và ở trong điều kiện môi trường phù hợp cho nảy mầm.

4.2 Các hình thức ngủ nghỉ

Theo Larry O Copeland, 1995 ngủ nghỉ của hạt được phân thành hai nhóm là ngủ sơ cấp và ngủ thứ cấp, trong ngủ sơ cấp lại được phân làm hai hình thức ngủ ngoại sinh và ngủ nội sinh

4.2.1 Trạng thái ngủ sơ cấp

Ngủ sơ cấp là hình thức ngủ phổ biến nhất và được chia làm hai hình thức là ngủ nội sinh và ngủ ngoại sinh.

(1) Trạng thái ngủ ngoại sinh

Ngủ ngoại sinh là do các điều kiện cần thiết cho sự nảy mầm của môi trường bên ngoài không phù hợp như ánh sáng, nhiệt độ, không khí... hoặc do cấu trúc của vỏ hạt không thấm nước và không khí dẫn đến trạng thái ngủ nghỉ của hạt, nói cách khác hình thức ngủ này liên quan đến đặc tính của vỏ hạt.

(2) Ngủ nội sinh

Ngủ nội sinh là dạng ngủ phổ biến nhất của hạt, là đặc tính di truyền của hạt do các yếu tố bên trong hạt như độ chín của phôi, các chất điều tiết sinh trưởng, quá trình trao đổi chất chưa hoàn thành hoặc không phù hợp cho sự nảy mầm. Ví dụ hạt ngủ nghỉ do ảnh hưởng mạnh bởi quá nhiều chất ức chế phải loại bỏ hoặc giảm đi trước khi nảy mầm. Hình thức ngủ nội sinh không giống ngủ ngoại sinh yêu cầu sự biến đổi của vỏ hạt mà yêu cầu phải có những biến đổi sinh lý trong hạt. Để thay đổi sinh lý trong hạt người ta có thể sử dụng chất điều tiết sinh trưởng, thay đổi nhiệt độ, phơi nắng sẽ giảm bớt ngủ nội sinh của hạt.

4.2.2 Ngủ thứ cấp

Ngủ thứ cấp do sự cường bức quá mức của điểm tới hạn trong chuỗi trao đổi chất hướng đến sự nảy mầm hoặc có thể do cân bằng chất kích thích và ức chế sinh trưởng không phù hợp

4.2.3 Hệ thống phân loại khác về ngủ nghỉ

Một hệ thống phân loại ngủ nghỉ của hạt “quan sát toàn bộ hạt” của Marianna G. Nikolaeva phân loại được xác định bằng hình thái và sinh lý của hạt trên cơ sở này C. Baskin and J. Baskin (1998; 2004) đề nghị một hệ thống phân loại ngủ nghỉ hoàn chỉnh bao gồm 5 loại ngủ nghỉ của hạt.

- 1) Ngủ sinh lý (Physiological dormancy-PD), PD là hình thức phổ biến ở các loại hạt của cây hạt trần và cây hạt kín. Ngủ sinh lý có thể chia làm ba mức nhỏ: Ngủ sâu (PD deep), trung gian (PD intermediate) và ngủ không sâu (PD non-deep). PD sâu: Tách phôi để cho nảy mầm loại hạt này cũng không sinh trưởng và tạo ra cây con bình thường, xử lý GA₃ không phá ngủ được loại ngủ này nó cần một vài tháng ủ lớp lạnh hoặc ẩm để nảy mầm. Chủ yếu của các cây trồng là ở dạng ngủ không sâu, loại này khi tách phôi nuôi tạo ra cây con bình thường và xử lý GA₃ có thể phá ngủ được.

- 2) Ngủ hình thái (Morphological dormancy -MD), MD rõ ràng trong các hạt với quá trình phát triển của phôi, nhưng khác nhau (lá mầm và trụ rễ mầm). Những phôi này không ngủ nghỉ nhưng cần có thời gian để phát triển và nảy mầm.
- 3) Ngủ hình thái- sinh lý (Morphophysiological dormancy-MPD), MPD cũng chứng minh dưới quá trình phát triển của phôi nhưng có phối hợp với ngủ sinh lý. Loại hạt này yêu cầu xử lý phá ngủ như ủ lớp hoặc GA₃
- 4) Ngủ lý học (Physical dormancy -PY), PY do nguyên nhân lớp tế bào không thấm nước trong vỏ hạt hoặc vỏ quả. Phá ngủ trạng thái này bằng cơ học hay hóa học
- 5) Ngủ phối hợp (Combinational dormancy - PY+PD), PY+PD là tổ hợp của ngủ sinh lý và cơ lý

4.3 Di truyền ngủ nghỉ của hạt

4.3.1 Những ảnh hưởng của Gen

Ngủ nghỉ của hạt là một tổ hợp các tính trạng trước hết là một tổ hợp các cấu trúc di truyền của hạt. Hạt bao gồm ba phần chính có di truyền khác nhau là phôi, nội nhũ và vỏ hạt, cả ba phần chính này của hạt đều có đóng góp vào khả năng nảy mầm hay ngủ nghỉ của hạt. Nghiên cứu di truyền ngủ nghỉ trên lúa mì và lúa mạch các nhà khoa học đã xác định di truyền đến ngủ nghỉ của hạt nằm trên nhiễm sắc thể số 7, một gen cạnh marker PSR128 ảnh hưởng mạnh nhất đến ngủ nghỉ. Ảnh hưởng ít hơn là AGG 390. Hai vùng genome không ảnh hưởng đến ngủ nghỉ của hạt chỉ trên môi trường đặc thù một năm trên nhiễm sắc thể số 4, xung quanh marker BCD 402B nếu hạt tạo ra trong điều kiện khô. Gen Amy2 trên nhiễm sắc thể số 1 cũng gây ra ngủ nghỉ khi hạt hình thành trong một số điều kiện khô. Nghiên cứu này là bằng chứng cho thấy ngủ nghỉ có thể được điều khiển bởi đa gen và rất khác nhau giữa các loài cây trồng. Ngủ nghỉ còn do tương tác lẫn át gen do Burrass and Skinnes, 1984 nghiên cứu ảnh hưởng của các allele trên 4 loci Amy2, BCD402, PSR128 và ABG390 thấy xuất hiện có tương tác điều khiển ngủ nghỉ.

4.3.2 Ảnh hưởng của môi trường

Ngủ nghỉ của hạt ảnh hưởng bởi rất nhiều yếu tố môi trường như ánh sáng, nhiệt độ trong quá trình phát triển của hạt trên cây mẹ, trong quá trình dự trữ hạt giống hoặc trong quá trình nảy mầm. Ngủ nghỉ của hạt có thể mất đi hoặc xảy ra trong thời gian dự trữ dưới điều kiện ẩm độ thấp, thời gian cần thiết cho quá trình chín của hạt tiếp tục sau thu hoạch. Những đặc điểm này tạo ra ngủ nghỉ của hạt rất khó xác định bởi vì ngay cả hạt khác nhau của cùng một kiểu gen cũng có thể mất đi ngủ nghỉ tại các thời gian khác nhau. Để xác định ngủ nghỉ của hạt tốt nhất là đánh giá một số lớn hạt sau chín và đánh giá nảy mầm ở những thời điểm khác nhau sau chín, phương pháp

4.4 Nguyên nhân và phương pháp phá ngủ sơ cấp

4.4.1 Nguyên nhân ngủ ngoại sinh và biện pháp phá ngủ

4.4.1.1 Các yếu tố tác động đến ngủ ngoại sinh

Có 3 yếu tố chính ảnh hưởng đến ngủ ngoại sinh là:

- + Nước
- + Các chất khí

- + Hạn chế cơ giới

(a) *Ảnh hưởng của nước*

- + *Khả năng hút nước của hạt liên quan đến di truyền*

Sự hút nước là điều kiện và quá trình đầu tiên đảm bảo cho sự nảy mầm của hạt. Sự hút nước phụ thuộc vào nhiều yếu tố và đầu tiên là cấu trúc của vỏ hạt, cấu trúc của vỏ hạt ngăn cản khả năng hút nước của hạt đã dẫn đến trạng thái ngủ nghỉ của hạt. Sự thấm nước của vỏ hạt là một tính trạng di truyền được chính mình là khả năng hút nước khác nhau của các loài cây trồng và ngay cả trong cùng loài. Dexter, 1955 cho biết chỉ có sự sai khác nhỏ về sự thấm thấu của vỏ hạt giữa các giống cỏ alfalfa. Mặc dù vậy hầu hết các nghiên cứu tìm ra đặc tính này có tính di truyền cao. Một nghiên cứu khác cho kết quả có 80% giống đậu trong 338 giống vỏ hạt có khả năng thấm thấu với phạm vi từ 1 - 79% (Gloyer, 1932). Điều khiển di truyền của sự thấm thấu được minh họa bằng một nghiên cứu khác khi các dòng cỏ 3 lá đã được chọn lọc cho sự thấm thấu nước. Các thành phần của hạt chín hoàn toàn thì có thể thấm thấu tăng lên từ 1-63% (Benelt, 1959). Kết quả của chương trình tạo giống và chọn lọc giống cỏ này "Chief" với đặc điểm khả năng thấm thấu nước rất có lợi để gieo trồng.

- + *Sự thấm thấu nước của hạt do cấu trúc vỏ hạt*

Các hạt biểu hiện thấm thấu nước khác nhau như là hạt rắn do có lớp tế bào biểu bì hoặc mô đậu phát triển hoặc cả 2 lớp tế bào trên phát triển tạo ra vỏ hạt rắn chắc khó thấm nước. Cấu trúc vỏ hạt có khả năng thấm nước khác nhau còn do các hợp chất hữu cơ tổng hợp trong vỏ hạt như **Sulerin, lignin hoặc cutin**. Ví dụ vỏ của nhiều hạt đậu cũng như các loài vỏ cứng khác có các chất lignin và cutin lớn cũng có ảnh hưởng đến khả năng thấm thấu nước của hạt. Sự thấm thấu của nước cũng liên quan đến thành phần cấu trúc hạt như rốn, rãnh và vỏ hạt. Hạt một số loài cây trồng nước vào và ra khỏi hạt đi qua một chỗ mở nhỏ ở vỏ hạt gần rốn hạt gọi là mống (Strophliolar Plug). Mống này bị lấp bởi chất suberin tạo thành tầng bản, do vậy nước chỉ có thể đi vào hạt nếu làm mất lớp tầng bản này gây ra trạng thái ngủ của hạt. Biện pháp lắc mạnh gây xây xát là cơ chế cũng có thể làm mất hoặc thay đổi lớp bản và cho phép nước đi vào hạt để phá ngủ ở các loài hạt do nguyên nhân này gây ngủ nghỉ. Biểu bì của vỏ đậu có thể ảnh hưởng đến hạn chế sự xâm nhập của nước, hạt một số loài chỉ lỗ noãn cho thấm thấu nước còn biểu bì vỏ không thấm nước. Ví dụ đậu lớn miền Bắc nước Mỹ bị lỗ noãn thì hạt chỉ nhận được 0,25% khối lượng của nó trong khi mở lỗ noãn hạt nhận được 79% (Kyla 1955). Rãnh hạt đậu lớn góp phần nhận được nhiều nước hơn lỗ noãn trong 24 giờ đầu, vì vậy các bộ phận khác nhau là có tầm quan trọng khác nhau để điều khiển nước vào hạt trong giai đoạn đầu của sự thấm thấu.

- + *Sự thấm thấu nước do ảnh hưởng của môi trường*

Môi trường cũng ảnh hưởng đến sự thấm thấu của hạt tuy nhiên chưa có những nghiên cứu cụ thể về ảnh hưởng của môi trường đến khả năng hút nước của hạt. Ví dụ thời tiết ở giai đoạn cuối cùng của hạt chín là ảnh hưởng đặc biệt đến khả năng hút nước của hạt. Tác động đến khả năng hút nước của hạt ở giai đoạn chín do một số yếu tố môi trường tác động chứ không phải là tác động riêng của một yếu tố.

(b) Ảnh hưởng của các chất khí

+ *Tính lựa chọn thẩm thấu của vỏ hạt:*

Hạt nảy mầm cần có oxy tuy nhiên khả năng thẩm thấu oxy của hạt là rất khác nhau giữa các loài. Sự thẩm thấu oxy phụ thuộc vào cấu trúc của hạt và các yếu tố môi trường. Mặc dù nước và oxy đều có phân tử nhỏ, nhưng vỏ hạt có thể lựa chọn cho nước đi qua mà không cho oxy đi qua. Cơ chế ngăn cản các chất khí đến phôi là rất khó xác định bởi vì các chất khí không ổn định trong điều kiện tự nhiên. Màng phôi tâm của hạt dưa chuột, vỏ quả trong của hạt cà phê đã biết là những cơ quan hạn chế thẩm thấu của oxy.

+ *Chất ức chế thẩm thấu khí của vỏ hạt:*

Cơ chế biết rõ hơn về vỏ hạt thẩm thấu oxy là cây kê (*Xanthium*), sự nảy mầm của hạt kê được sử dụng để chỉ ra rằng có sự chọn lọc khí để thẩm thấu. Một nghiên cứu mới đây chỉ ra rằng hạt nhỏ và trên cao hơn của cây kê có lượng chất ức chế lớn hơn là hạt to ở dưới thấp dẫn đến yêu cầu oxy khác nhau cho sự nảy mầm, hạt nhỏ yêu cầu oxy cao hơn. Nó gợi ý rằng hạt nhỏ yêu cầu nhiều oxy hơn để oxy hoá và không hoạt hoá chất ức chế trước khi nảy mầm 100%. Ví dụ của thẩm thấu oxy của vỏ hạt cây kê đang là một thách thức đối với nghiên cứu. Hạt táo cung cấp cho một ví dụ khác của sự hạn chế thẩm thấu oxy của vỏ hạt. Khi giữ ở 20°C chúng biểu hiện hạn chế thẩm thấu oxy nhưng thẩm thấu tăng khi ở nhiệt độ 4°C (Come, 1968) vì vậy có thể nhiệt độ có tác động đến thẩm thấu oxy. Các loại hạt khác cũng có biểu hiện rất khác nhau về thẩm thấu oxy và cacbon dioxide (CO₂) màng tế bào của hạt dưa chuột là một ví dụ, màng trong khả năng thẩm thấu CO₂ (15,5ml/cm²/hr) hơn oxy (4,3ml/cm²/hr) (Brower, 1940).

(c) Cấu tạo vỏ hạt

Ngủ nghỉ cũng có khi đóng góp bởi tính chất vật lý của vỏ hạt. Một giả sử áp lực sự hút nước tăng và sinh trưởng không ngang bằng gây gãy vỏ hạt và cho phép nảy mầm. Hiện nhiên để chứng minh cho điều này là cơ sở nhận biết sự thay đổi vận động của vỏ hạt tạo ra sự nảy mầm. Ghi nhận của Koller 1955 cho biết đây là kiểu ngủ trong hạt mã đề, đào, dâu tây. Mặc dù vậy, nó cũng được ghi nhận rằng vỏ hạt hạn chế các chất đi vào và cũng là đào thải các chất ra khỏi của vỏ hạt. Ngoài ra vỏ hạt thể can thiệp chất lọc chất ức chế và hạn chế các dòng nước. Rất nhiều sự thay đổi xảy ra với sự bài tiết của vỏ hạt đến nay chưa có thí nghiệm nào minh họa rõ ràng hoạt động của vỏ hạt như một sự cản trở cơ giới đến phôi nảy mầm. Cần nghiên cứu để xác định cơ chế cản trở của vỏ hạt cũng như cường bức phôi nảy mầm. Một cố gắng nghiên cứu cung cấp những thông tin này của Esashi và Leopold, 1968, kết luận rằng những hạt *Xanthium* ngủ đông yêu cầu ánh sáng mạnh để làm vỡ vỏ hạt cao hơn hạt không ngủ đông. Họ đã chứng minh rằng phôi của hạt không ngủ đông phát triển tự đâm ra để nảy mầm gấp 2 lần hạt ngủ đông, điều đó chứng minh rằng cản trở vật lý của vỏ hạt không là cơ chế chính bắt buộc ngủ nghỉ của những hạt này. Những nghiên cứu tiếp theo để xác lập sự hạn chế của vỏ hạt là một nguyên nhân như thế nào với trạng thái ngủ của hạt là cần thiết

4.4.1.2 Phương pháp phá ngủ ngoại sinh

Không khí là cơ chế chính bắt buộc ngủ nghỉ của những hạt này. Những nghiên cứu tiếp theo để xác lập sự hạn chế của vỏ hạt là một nguyên nhân như thế nào với trạng thái ngủ của hạt là cần thiết. Dưới điều kiện tự nhiên ngủ ngoại sinh được phá vỡ bằng giữ lạnh trong đất, trong bộ máy tiêu hoá của động vật, hoạt động của vi sinh vật, cháy rừng, đất axit tự nhiên và các yếu tố khác. Nhưng phá ngủ tự nhiên có thể mất thời gian lâu có khi vài năm để hoàn thành vì chỉ khi thời gian đủ để làm suy thoái vỏ hạt mới nảy mầm. Nhiều trường hợp con người cần hạt nảy mầm nhanh và đồng đều, vì vậy phải rút ngắn thời gian ngủ nghỉ này, phải loại bỏ trạng thái ngủ của hạt bằng hoá học hay cơ giới gọi là làm suy thoái vỏ hạt (scarification)

1) Phá ngủ ngoại sinh bằng phá vỡ hoặc làm suy thoái vỏ hạt

- + Mài hạt bằng cát, mài hoặc chà xát là kỹ thuật thông thường được sử dụng để làm vỡ vỏ hạt.



Hình 4.1 Phá ngủ bằng cắt vỏ hạt

- + Kỹ thuật khác như sử dụng nhiệt độ nóng, lạnh đột ngột, nhúng nhanh trong nước nóng
- + Dùng kim châm thủng vỏ hạt hoặc
- + Phơi dưới tần suất sóng nào đó làm biến đổi suy thoái vỏ hạt cho phép nước và khí xâm nhập vào vỏ hạt.

2) Phá vỡ vỏ hạt bằng hoá chất

Hạt cũng có thể xử lý bằng hoá chất làm suy thoái vỏ hạt như H_2SO_4 đang được sử dụng phổ biến và có hiệu quả, tuy nhiên sử dụng hóa chất bị hạn chế do độc hại đến người (tay). Hạt sau xử lý phải rửa sạch, xử lý khô... đôi khi giảm sức nảy mầm và có thể gây hư hỏng hạt.

3) Phá vỡ vỏ hạt bằng enzym

Kỹ thuật ngày nay dùng enzym chọn lọc phân huỷ vỏ hạt như enzym cellulase, Pectinase.. để phân huỷ vỏ hạt. Một số hợp chất không hoà tan nước làm hạn chế nước đi vào hạt có thể dùng các hợp chất hữu cơ như alcohol, acetone để hoà tan và chuyển đổi những hợp chất này để tăng khả năng thẩm thấu của vỏ hạt.

Bảng 4.1 Ảnh hưởng của phương pháp châm và bóc vỏ đến tỷ lệ nảy mầm của hạt

Số lần thử	Yến mạch		
	Thử tại 20°C và 10 ngày	Châm khi đã thử tại 20°C và 10 ngày	Bóc vỏ khi đã thử tại 20°C và 10 ngày
1	43	94	98
2	36	90	79
3	47	95	91
4	10	84	87
5	77	96	96

6	74	90	92
7	75	91	84
8	71	88	93
9	75	88	93
10	89	95	97
Trung bình	59.7	91.1	91

(nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

4.4.2 Ngủ Nội sinh

Ngủ nội sinh là dạng ngủ phổ biến và là một đặc điểm di truyền của hạt, hàm lượng chất ức chế cao phải loại bỏ hoặc giảm bớt hạt mới có khả năng nảy mầm. Hình thức ngủ nội sinh do chất điều tiết sinh trưởng và sinh lý trong hạt quyết định, do vậy khi phá ngủ cần thay đổi chất điều tiết sinh trưởng. Thay đổi chất điều tiết sinh trưởng bằng thay đổi nhiệt độ, phơi nắng sẽ giảm bớt ngủ nội sinh của hạt. Điều kiện môi trường trong quá trình phát triển và chín của hạt có thể ảnh hưởng đến ngủ nội sinh. Ví dụ mức độ ngủ của hạt cây bóng nước (*Impatiens balsamina*) phụ thuộc vào cung cấp nước và chất dinh dưỡng, đặc biệt là đạm trong quá trình hình thành và phát triển của hạt. Hạt của cây được cung cấp nước và đạm đầy đủ có độ ngủ nghỉ kém hơn so với không được cung cấp đầy đủ (Junges và Ludwig 1963).

4.2.2.1 Nguyên nhân của ngủ nội sinh

+ Ngủ của phôi chưa thành thực

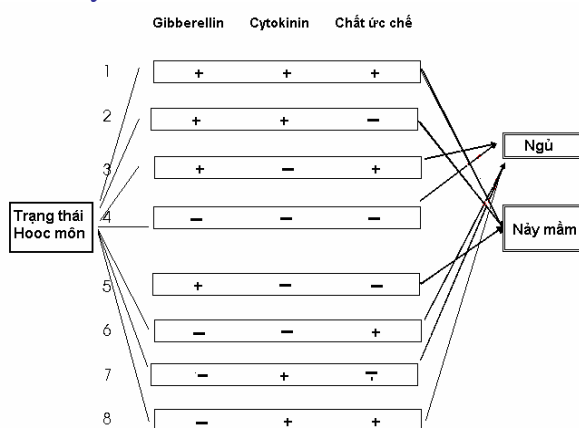
Hạt của một số loài rụng trước khi chín, hình thái đặc biệt này gây ra ngủ của hạt bởi vì phôi chưa chín nên không có khả năng nảy mầm. Ngủ của phôi chưa thành thực xảy ra ở cây mã đề (*Plautago*), hạt thông (*Pines*)... sự chín phôi xảy ra tiếp tục sau khi hạt đã tách ra khỏi cây vài ngày hoặc vài tháng. Phôi của cây nhựa mồi (*Ilex opaca*) giống như khối tế bào bình thường khi hạt đã rụng sau đó trong quá trình chín tiếp theo mới phát triển cấu trúc phôi hoàn chỉnh.

+ Ngủ sinh lý

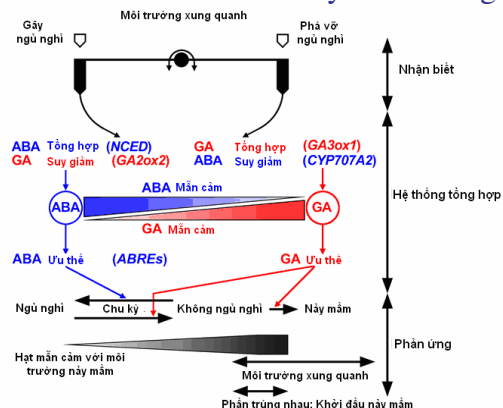
Sự ngủ của hạt ở mức cao hơn nhìn chung được tin rằng được điều khiển bằng các chất kích thích và ức chế sinh trưởng nội sinh. Vì thế sự ngủ này có thể xem như là một kết quả của sự có mặt chất ức chế sinh trưởng. Sự có mặt chất ức chế sinh trưởng hoặc tổ hợp cả 2 chất ức chế và chất kích thích sinh trưởng. Mức độ của các hợp chất nội sinh này được điều khiển tổng hợp và tích lũy bởi kích thích của môi trường như ánh sáng, nhiệt độ (Khan 1971). Những nghiên cứu xa hơn về chất kích thích và ức chế là có thêm sự tham gia của 3 hormones điều kiện sự ngủ của hạt và chức năng đặc thù của mỗi hormone trong hình (4.2) ông cho rằng gibberellin có chức năng kích thích cơ bản. Gibberellines có mặt điều khiển sự nảy mầm và xem như là chất kích thích phá trạng thái ngủ của một số hạt. Khan cho rằng các loại hormones khác như cytokinins có vai trò ức chế nảy mầm nếu không có gibberellins, nhưng khi có mặt gibberellines chúng không hoạt động sinh lý. Mô hình như thế giúp cho nhận biết thay đổi của hormones như thế nào trong quá trình ngủ nghỉ của hạt chuyển dịch từ không hoạt động trao đổi chất sang nảy mầm.

+ Sự ức chế trao đổi chất

Các hợp chất ở trong hạt có hướng trao đổi chất đặc thù. Ví dụ loại ức chế cyanide được tìm thấy trong hạt táo và hạt đào, hợp chất này ngăn cản nảy mầm thông qua sự ảnh hưởng lên quá trình hô hấp của hạt. Hợp chất phenolic cũng hạn chế sự nảy mầm coi như một chất ức chế nảy mầm tự nhiên. Các hợp chất khác như thế thay thế Phenol và cresol biểu hiện ức chế sự nảy mầm, mặc dù chúng không phải là hợp chất gây ra trạng thái ngủ. Chất ức chế gây ra hiện tượng ngủ đầu tiên được tìm ra là coumarin, chất này có đặc trưng bởi một vòng thơm và đại diện của một cấu trúc lactone không bão hoà. Coumarin phân bố rộng và trao đổi chất nhanh trong hạt được xem như là chất ức chế nảy mầm tự nhiên. Một hoạt động ức chế nảy mầm của hạt nữa được khám phá bởi Cornforth et al, 1966 có đặc tính gây ngủ gọi là dormin, sau này đặc điểm hoá học của nó có liên quan nhiều với axit abscisic có đặc tính kích thích ngủ của chồi cây nên đổi tên là abscisic acid năm 1967 (ABA).



Hình 4.2: Trạng thái hóc môn nảy mầm và ngủ nghỉ của hạt
Minh họa trạng thái của các hóc môn đến nảy mầm và ngủ nghỉ của hạt



Hình 4.3: Ngủ nghỉ và điều khiển nảy mầm của hạt(nguồn Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006)

Có những chứng minh abscisic acid (ABA) điều khiển ngủ nghỉ và duy trì trạng thái ngủ nghỉ của hạt như sơ đồ của Kucera et al., 2005, Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006. ABA-thiếu hụt trong quá trình phát triển của hạt liên kết với ngủ sơ cấp của hạt chín. Trong khi gen tổng hợp ABA hoạt động mạnh có thể tăng hàm

lượng ABA và tăng ngủ nghỉ hoặc trì hoãn nảy mầm của hạt. ABA được hạt tự tổng hợp trong quá trình phát triển của hạt. Ví dụ hạt cây cải xoong tai chuột (*Arabidopsis thaliana*) các gen AtNCED mã hóa enzymes catalaza quy định tổng hợp ABA cả trong phôi và nội nhũ và chúng đều đóng góp gây ra ngủ nghỉ của hạt. Hàm lượng ABA cao ức chế thẩm thấu của hạt gây ra ngủ sâu

+ **Ức chế thẩm thấu**

Nhiều chất ảnh hưởng đến áp suất thẩm thấu, cũng có thể ức chế sự nảy mầm của hạt. Hợp chất như đường và muối với nồng độ phù hợp hoàn toàn có thể làm hạt không hút đủ nước ngăn cản quá trình nảy mầm. Phương pháp duy nhất để cho hạt có thể nảy mầm là thay đổi môi trường nảy mầm. Nhiều chất trong quả, vỏ quả và xung quanh hạt đã tạo ra những chất vô cơ ức chế quá trình nảy mầm (Duym et al ,1947). Những nghiên cứu về nồng độ các chất điện phân chiết xuất từ trong bầu quả củ cải đường đã có tác dụng làm chậm sinh trưởng cây con lúa mỳ. Chất ức chế này cũng là chất ức chế nảy mầm của cỏ cay và các loài khác. Nguyên nhân có mặt của chất hữu cơ đặc thù hoặc chất ức chế thẩm thấu như ferulic và caffeic axit trong củ khoai tây và hỗn hợp các axit hữu cơ trong chanh, dầu tầm và mơ cũng có tác dụng ức chế nảy mầm. Nước ép từ củ khoai tây hoàn toàn có thể ức chế nảy mầm của hạt cải xoong (*Lepidium sativum*) ngay cả khi pha nước thêm với tỷ lệ 1:25 (Meyer at al,1960). Nghiên cứu cơ chế ức chế sinh lý đến sự nảy mầm là sự ngăn cản thẩm thấu nước vào trong hạt. Nhiều nghiên cứu điều chỉnh thẩm thấu nước vào hạt bằng muối nhưng nhược điểm là gây độc cho hạt bởi ion toxicity. Các nghiên cứu khác thay thế bằng mannitol nhưng lại bộc lộ nhược điểm là nó vào hạt thay thế chức năng trao đổi chất trong hạt. Những nghiên cứu gần đây đã nghiên cứu sử dụng Polyetylen glycol (PEG) có lợi hơn vì chất này là một chuỗi polyme không có khả năng vào trong hạt, nhưng vẫn có khả năng hoà tan các chất để tăng hoạt động thẩm thấu của hạt.

4.2.2.2 Phương pháp phá ngủ nội sinh

(a) Phương pháp phá ngủ sinh lý

1) Ngâm nước

Có rất nhiều phương pháp phá ngủ sinh lý, các loại hạt ngủ do ức chế thẩm thấu cần thay đổi và chuyển đổi nguồn ức chế như ngâm hạt trong nước để pha loãng hoặc hoà tan chất ức chế hoặc chuyển đổi thành chất trung gian xung quanh hạt. Ví dụ như các loại hạt có độ thẩm lọc đặc biệt được loại bỏ chất ức chế của vỏ quả như hạt củ cải đường

2) Phương pháp suy thoái lớp vỏ và làm mất khả năng ức chế trên vỏ hạt

Ức chế của vỏ hạt gây ngủ nghỉ có thể theo 2 hình thức : 1)Vỏ hạt có chứa chất ức chế 2)Vỏ hạt là màng thẩm thấu nó làm chậm quá trình hút nước của hạt, để làm mất hai nguyên nhân này có các phương pháp sau:

- Bóc vỏ hạt
- Châm chích, mài
- Ủ lớp làm mủn lớp vỏ
- Ngâm trong a xít H₂SO₄

Hai phương thức ức chế trên đều dẫn đến ngủ nghỉ của hạt nếu bóc vỏ hạt hoặc phá huỷ vỏ hạt giải quyết được cả hai hình thức ức chế và hạt có thể nảy mầm.

3) *Phá ngủ bằng nhiệt độ*

Các loại hạt có yêu cầu nhiệt độ đặc biệt cho sự nảy mầm, nhiều ý kiến cho rằng độ ngủ nghỉ được kiểm tra bởi mối cân bằng giữa chất ức chế và chất kích thích, nó được biến đổi trong phôi hạt ở điều kiện nhiệt độ thấp hấp thụ (phá vỡ trạng thái ngủ nghỉ) còn ở điều kiện nhiệt độ cao hơn không hấp thụ (ngủ nghỉ). Một số loài cây trồng lại yêu cầu nhiệt độ cao để phá ngủ nghỉ bằng xử lý nóng khô hoặc lò hấp. Hạt đựng trong bình nông đặt trong lò hấp với nhiệt độ từ 80 đến 100°C tùy theo loài, sau khi xử lý hạt được làm mát và gieo trồng ngay (Emery, 1987). Phá ngủ bằng nhiệt cũng có thể sử dụng nước nóng (hạt một số loài trong họ đậu) với cỡ hạt nhỏ đến trung bình và số lượng hạt nhiều. Phương pháp ngâm hạt trong thể tích nước gấp 6 lần thể tích hạt và nhiệt độ nước từ 82 đến 91°C (sử dụng nước mưa để pH trung tính), thời gian xử lý 12 đến 24 giờ sau đó rửa trong nước lạnh. Không sử dụng bình đựng hạt là nhôm và nước mềm để không gây độc cho hạt giống. Hạt ngô cũng có thể xử lý bằng phương pháp này đặc biệt các giống ngô vỏ hạt dày và cứng. Thời gian và nhiệt độ nước tùy thuộc loài cây trồng (Bonnar và cộng sự, 1974 và Emery, 1987)

4) *Ủ lớp (Stratification)*

Tài liệu hiện nay cho rằng sự thay đổi sinh lý xảy ra trong hạt xử lý nhiệt độ thấp, sinh trưởng của phôi và các bộ phận của phôi như trục phôi cho số tế bào, khối lượng khô và chiều dài tăng xảy ra ở hạt táo, dâu tây. Cơ sở tế bào của hiện tượng này là tăng sự hút oxy cung cấp năng lượng cung cấp cho phôi. Ngoài ra còn thấy tăng hoạt động của các enzym catalase, phosphatase, alkinine, lipase và pedoxilase. (Zarska, Maciejewska, Lewak, 1970). Hiệu quả của ủ lớp do sự ảnh hưởng đến nhiều pha phát triển phôi và trao đổi chất và dịch chuyển cân bằng hormon trong hạt ví dụ ABA trong hạt táo và cây tần bì giảm khi xử lý ủ lớp và gibberellin tăng thay thế ABA khi xử lý ủ lớp. Ngoài ra xử lý ủ lớp còn làm thay đổi cân bằng chất kích thích và chất ức chế do đó có thể phá vỡ trạng thái ngủ của hạt. Tỷ lệ nảy mầm cũng tăng nếu xử lý nhiệt độ thay đổi xen kẽ, yêu cầu xử lý nhiệt độ xen kẽ liên quan đến ngủ nghỉ và đặc điểm của nhiều loại cây nông nghiệp.

Bảng 4.2: Phát triển của phôi táo sau thời gian xử lý ủ lớp đem trồng ở nhiệt độ 25°C trong 9 ngày

Tuần xử lý	Nảy mầm	Phôi có lá mầm xanh (%)	Phôi mới chỉ có 1 lá mầm xanh (%)	Dài trung bình của rễ chính (mm)
0	9	7	42	1,9
2	12	22	27	2,2
4	24	73	5	3,7
6	39	97	2	9,1
8	51	100	0	9,9
10	59	100	0	10,9
12	65	100	0	11,9
14	79	100	0	21,4

(nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

Yêu cầu ủ lớp phụ thuộc vào tuổi hạt ví dụ cây gỗ thích (Trung Quốc) yêu cầu xử lý ủ lớp 2 tháng mới nảy mầm. Tăng tuổi của hạt sẽ giảm thời gian ngủ nghỉ của hạt phổ biến ở các loại hạt ngủ nội sinh. Xử lý ủ lớp lạnh hoặc tiền lạnh được sử dụng với loại hạt ngủ nội sinh do oxy không thấm được qua vỏ hạt, nhiệt độ lạnh oxy được hòa tan trong nước như vậy đủ lượng oxy theo yêu cầu của phôi cho nảy mầm. Ủ lạnh và ẩm là phương pháp mô phỏng gieo hạt trên đồng ruộng qua đông của người dân (Young 1986). Trộn hạt giống với than bùn, rêu hoặc phân khoáng hỗn hợp với tỷ lệ 1:3 sau đó cho vào túi nilông hoặc cốc thủy tinh đặt trong buồng lạnh nhiệt độ 16 – 19°C một số loài yêu cầu nhiệt độ thấp hơn 13 – 15°C.

5) *Dự trữ bảo quản sau khi chín*

Trạng thái ngủ bị loại bỏ nếu bảo quản ở phòng nhiệt độ cao đối với hầu hết các loài. Các loại hạt ngủ cốc, nếu bảo quản trong phòng nhiệt độ 15 - 20°C từ 1 - 2 tháng hoàn toàn có thể nảy mầm. Hầu hết các loại hạt sau khi thu hoạch xử lý ủ lớp và bảo khô là có thể phá ngủ. Xử lý gibberellin đối với hạt chưa chín là có thể ngăn cản trạng thái ngủ ở hầu hết các loài ngủ cốc và cỏ.

6) *Phá ngủ bằng ánh sáng*

Cường độ ánh sáng, độ dài bước sóng, quang chu kỳ có ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt ngủ sinh lý. Ba loài cây đã được biết có thể phá ngủ của hạt bằng ánh sáng đỏ (670nm) là rau diếp, thông đậu và bulô. Thời gian chiếu sáng cũng có ảnh hưởng đến sự nảy mầm của hạt loài cây ngắn ngày hoặc dài ngày, nhưng cũng có loài không bị ảnh hưởng. Ánh sáng liên tục có tác dụng ức chế nảy mầm của một số hạt và bắt buộc hạt ở trạng thái ngủ như hạt hành và tỏi tây. Nghiên cứu cho thấy ánh sáng có kích thích cho phát triển của rễ giai đoạn đầu sau đó lại ức chế.

7) *Tách phôi.*

Filenion, 1936, lần đầu tiên báo cáo hạt ở trạng thái ngủ có thể nảy mầm nếu tách phôi và cho sinh trưởng riêng rẽ. Những nghiên cứu khác trên cây bulô cho biết hạt cây này khi nảy mầm yêu cầu có ánh sáng nhưng nếu cắt phôi nó có thể nảy mầm trong tối (Redmond và Robinson, 1954). Yêu cầu ánh sáng cho sự nảy mầm của hạt rau diếp có thể khắc phục bằng cách tách lớp phôi nhũ hoặc chích lớp nội nhũ xung quanh phôi. Nảy mầm của hạt đậu bình thường yêu cầu xử lý lạnh nhưng tách phôi hay tách vỏ hạt thường tạo ra cây lùn hoặc biến dạng (Mayer và Polzakff 1975).

(b) *Chu kỳ nội sinh*

Quan sát quá trình sinh trưởng phát triển tiếp theo của cây, một điều thú vị là có những giai đoạn cây trồng có khả năng độc lập với môi trường bên ngoài và như thế chúng có khả năng tự điều chỉnh quá trình sinh trưởng và phát triển (Cumming, wagner 1968). Các giai đoạn như thế kế tiếp nhau theo một trật tự nhất định của sinh trưởng phát triển gọi là chu kỳ (circadian). Chu kỳ như trên cũng ảnh hưởng đến phương thức nảy mầm, chúng được phân loại là chu kỳ một năm và chu kỳ nhiều vòng trong năm. Ví dụ cây rau muống (*Amaranthus retroflexus*) theo dõi nảy mầm

trong 72 tháng với điều kiện đủ độ ẩm và nhiệt độ là 20°C thấy có 2 cực đại nảy mầm xảy ra cực đại 1 vào 8 - 10 tháng và cực đại 2 vào 20 - 22 tháng.

(c) Tương tác giữa các cơ chế ngủ của độ ngủ sơ cấp

Các kiểu ngủ đã được mô tả ở trên nhiều khi không riêng rẽ chỉ có tác động của một trạng thái ngủ, ví dụ đối với hạt cỏ lồng vực Ấn Độ (*Oryzopsis hymenoides*) trạng thái ngủ do cả ngủ nội sinh và ngoại sinh. Cho nên khi phá ngủ phải dùng cả axit sulfuric để phá vỡ vỏ hạt (phá ngủ ngoại sinh), đồng thời phải dùng GA₃ để phá ngủ nội sinh (ngủ sinh lý). Những loài ngủ nghỉ do vỏ hạt có thể xử lý bằng ủ lớp với axits sulfuric, ngoài ra còn xử lý GA₃ đến nâng cao tỷ lệ nảy mầm, nhưng những loại hạt đã bảo quản khô không cần xử lý GA₃ ngoại sinh vì hạt đã có đủ thời gian để tự tổng hợp chất này.

Bảng 4.3: Ảnh hưởng của xử lý hoóc môn ngoại sinh khác nhau đến sự nảy mầm của lúa cỏ 1 –2 năm tuổi

Hoóc môn	hạt cỏ 1 năm		Hạt cỏ 2 năm	
	Ngâm (đ/c)	Phá ngủ	Ngâm (đ/c)	Phá ngủ
H ₂ O	0	31	5	67
10μM GA ₃	0	65	5	76
10μM Kinetin	0	54	6	72
10μMABA	0	1	2	2

(nguồn Lary O. Copeland & Miller B. Mc Donald, 1995)

4.3 Ngủ thứ cấp

Một số trường hợp hạt không ở trạng thái ngủ nghỉ nhưng điều kiện bất lợi gây ra trạng thái ngủ nghỉ của nó. Nguyên nhân này để phá ngủ có thể xử lý ở các điều kiện nảy mầm thuận lợi. Một nghiên cứu với hạt lúa mì mùa xuân và lúa mạch mùa đông cho biết ngủ thứ cấp có thể tác động bởi :

Hạt lúa mạch khô xử lý nhiệt độ 50 - 90 °C

Hạt lúa mạch bảo quản 7 ngày dưới độ ẩm cao và 20°C

Hạt lúa mì xử lý trong thùng kín ẩm độ cao và nhiệt độ 50 °C

Hạt lúa mì trong tối 1 - 3 ngày và nhiệt độ 20°C.

Xử lý hạt khô ở nhiệt độ 50°C bắt buộc ngủ thứ cấp, 70 °C yêu cầu 4 giờ và 90 °C chỉ cần 1 giờ hạt đã ngủ thứ cấp.

Ngủ nghỉ thứ cấp có thể xảy ra khi hạt chín sinh lý từ 15 ngày đến 1 tháng và có thể trạng thái ngủ kéo dài tiếp. Để làm giảm giai đoạn ngủ tiếp này bằng xử lý gibberellin 0.1%. Ngoài nguyên nhân trên ngủ thứ cấp còn bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ, quang chu kỳ, hàm lượng nước cao, nồng độ hoá chất...

Cơ chế ngủ thứ cấp cần thảo luận là

Sự cường bức quá mức của điểm tới hạn trong chuỗi trao đổi chất hướng đến sự nảy mầm. Cân bằng chất kích thích và ức chế sinh trưởng không phù hợp.

CHƯƠNG 5

GIÁ TRỊ GIEO TRỒNG HẠT GIỐNG

5.1 Khái niệm giá trị gieo trồng

Khái niệm về giá trị gieo trồng hạt giống là kiểm tra chi tiết khả năng gieo trồng của hạt giống để đưa ra sự chấp nhận hay từ chối hạt giống. Hầu hết các nhà kỹ thuật hạt và kinh doanh hạt ý nghĩa của *giá trị gieo trồng là khả năng nảy mầm và tạo ra một cây con bình thường của hạt giống, nó được sử dụng đồng nghĩa với khả năng nảy mầm. Với nhận thức này hạt có giá trị gieo trồng hay không có giá trị gieo trồng phụ thuộc vào khả năng nảy mầm và tạo ra một cây con bình thường. Một khái niệm khác: giá trị gieo trồng biểu hiện mức độ sống sót, khả năng hoạt động trao đổi chất, khả năng hoạt động của các enzym cần thiết cho sự nảy mầm và sinh trưởng của cây con.*

Hạt có giá trị gieo trồng cao nhất tại thời điểm chín sinh lý, mặc dù vậy điều kiện môi trường trên cây bố mẹ không cho phép nảy mầm. Sau chín sinh lý giá trị gieo trồng của hạt giảm dần. Tuổi thọ của nó phụ thuộc vào điều kiện môi trường. Một số phương pháp kiểm nghiệm giá trị gieo trồng của hạt giống được trình bày trong chương này.

5.2 Các chỉ tiêu đánh giá giá trị gieo trồng

- + Độ thuần di truyền
- + Độ sạch
- + Độ ẩm hạt
- + Cỏ dại
- + Sâu bệnh
- + Khả năng nảy mầm bao gồm tỷ lệ nảy mầm và sức nảy mầm
- + Tính toàn vẹn của hạt
- + Sức sống
- + Độ mẩy độ chắc của hạt

5.3 Đánh giá một số chỉ tiêu giá trị gieo trồng

5.3.1 Đánh giá độ thuần di truyền của hạt giống cây trồng

Hạt giống khi cung cấp cho sản xuất phải giữ nguyên được kiểu gen của giống cây trồng đó nói cách khác phải có độ thuần di truyền cao. Đánh giá độ thuần di truyền của lô hạt giống được thực hiện bằng kiểm nghiệm trên đồng ruộng và trong phòng theo tiêu chuẩn quy định hạt giống của Việt Nam và Quốc tế. Phương pháp kiểm nghiệm đánh giá độ thuần di truyền khác nhau đối với mỗi loài cây trồng, tuy nhiên những nguyên lý và phương pháp chung nhất như sau:

a) Đánh giá độ thuần đồng ruộng

Độ thuần di truyền trên đồng ruộng được đánh giá dựa trên các chỉ tiêu tỷ lệ cây khác dạng, mức độ đồng nhất của các tính trạng số lượng và chất lượng. Ngoài chỉ tiêu đánh giá khu vực sản xuất trên đồng ruộng, phải có những thông tin đầy đủ về:

- + Lô hạt giống gốc: Lô hạt giống đưa vào sản xuất cấp hạt giống phải đúng quy định ví dụ sản xuất hạt nguyên chủng lô hạt giống gốc đưa vào sản xuất phải là lô hạt tác giả hoặc siêu nguyên chủng có chứng chỉ hạt giống
- + Mô tả giống: bản mô tả những đặc điểm của giống làm cơ sở nhận biết cây khác dạng, bản mô tả do tác giả hoặc cơ quan công nhận giống cây trồng cung cấp.
- + Tiêu chuẩn phẩm cấp hạt giống: tiêu chuẩn khác nhau giữa các loài cây trồng và cấp hạt giống theo quy định của TCVN hay TCN được Bộ Nông nghiệp & PTNT ban hành
- + Khoảng cách cách ly: đối với cây tự thụ phấn và giao phấn, với mỗi cấp giống có khoảng cách cách ly không gian và thời gian quy định
- + Kỹ thuật áp dụng gồm kỹ thuật trồng trọt, phân bón, bảo vệ thực vật... liên quan đến chất lượng hạt giống

Phương pháp kiểm nghiệm độ thuần di truyền của lô hạt giống trên đồng ruộng phải đảm bảo độ chính xác cao, như vậy phải có: phương pháp lấy mẫu chuẩn, phương pháp xác định với mỗi chỉ tiêu, phương pháp phân tích và tổng hợp số liệu. Kết luận cuối cùng về độ thuần di truyền trên đồng ruộng là một cơ sở cấp chứng chỉ hạt giống

b) Đánh giá độ thuần di trong phòng

Độ thuần di truyền trong phòng dựa trên các tính trạng và đặc điểm của hạt và tính tỷ lệ hạt khác dạng. Trong thực tế việc phân biệt hạt của giống này hay giống khác của cùng một loài là rất khó cần có mẫu chuẩn và phương pháp chuẩn để phân biệt hạt khác dạng. Đảm bảo chính xác hơn còn dựa trên các phân tích bổ sung về hệ biến động của kích thước hạt như chiều dài, chiều rộng và độ dày hạt. Số mẫu quan sát đánh giá là 30 hạt quan sát dựa vào đặc điểm hạt, màu sắc vỏ hạt, màu sắc nội nhũ, màu sắc rốn hạt, lông trên hạt để nhận biết hạt khác dạng.

5.3.2 Đánh giá giá nảy mầm của hạt giống

Kiểm tra nảy mầm của hạt giống là phương pháp được sử dụng thông thường nhất để xác định giá trị gieo trồng của hạt giống. Một số nhà khoa học coi đánh giá khả năng nảy mầm chính là giá trị gieo trồng của hạt giống.

a) Thuật ngữ nảy mầm của hạt

Với các nhà phân tích hạt giống, sự nảy mầm của hạt cần được xác định và tiêu chuẩn hoá để thống nhất chung cho tất cả các phòng thí nghiệm các cơ quan kiểm tra chất lượng hạt giống.

Khái niệm sự nảy mầm của hạt được nhiều phòng thí nghiệm và cơ quan kiểm tra chất lượng gieo trồng thống nhất là khái niệm của Hiệp hội phân tích hạt giống (Association of official seed analyst) **“Nảy mầm của hạt là sự nhú và phát triển của phôi, các cấu trúc cần thiết và khả năng tạo ra một cây bình thường trong một điều kiện phù hợp”**

b) phương pháp đánh giá nảy mầm

Như vậy khái niệm gồm 2 nội dung, một là nảy mầm phải đảm bảo các cấu trúc cần thiết cho quá trình nảy mầm và tiếp tục sinh trưởng phát triển của mầm, rễ..., thứ 2 là khả năng tạo ra một cây bình thường trong một điều kiện phù hợp. Sự xuất hiện của

mầm phải bao gồm cả rễ, thân, mầm hoàn chỉnh và phát triển bình thường. Đánh giá nảy mầm cần phải xây dựng thành bộ tiêu chuẩn cho đánh giá như môi trường (nền) thử nảy mầm, nhiệt độ, ánh sáng, thời gian, chất phá ngủ...vì hạt của mỗi loài có những yêu cầu điều kiện khác nhau. Hiệp hội phân tích hạt giống đưa ra bộ tiêu chuẩn của ba nhóm cây chính là

- + Nhóm cây nông nghiệp
- + Nhóm rau, hoa
- + Nhóm thân bụi và thân gỗ

Bảng 5.1: Một số phương pháp kiểm tra nảy mầm của hạt

Loại hạt	MT (nền)	Nhiệt độ	Đếm lần đầu	Đếm lần cuối cùng	Yêu cầu	Hạt tươi và hạt ngủ
Cỏ 3 lá	P	20-30	5	14	Ánh sáng + KNO ₃	Xử lý lạnh 5 hoặc 10°C trong 6 tuần
Kiêu mạch	B+T	20 - 30	3	6		
Cỏ đuôi trâu cao	P	15-25; 20 - 30	5	14	Ánh sáng + KNO ₃	Xử lý lạnh 5 hoặc 10°C trong 21 ngày

P : Đĩa Petri

B :Bàn thấm

S: Trên cát hoặc đất

T Trên giấy thấm

Yêu cầu của môi trường đánh giá nảy mầm là: không có các độc tố để hạt có thể nảy mầm hình thành cây con, không làm vỡ hoặc mủn hạt, không có nấm bệnh hay bào tử nấm bệnh và cung cấp đủ không khí và độ ẩm cho hạt nảy mầm. Thông thường thử nảy mầm của hạt trên đĩa Petri hoặc trên cát là hai loại nền dễ thực hiện và kết quả tốt.

Trên đĩa Petri: Cho vào đĩa 3 đến 4 lớp giấy thấm đã khử trùng sau đó cho nước cất đảm bảo cho lớp giấy thấm bão hoà nước. Đặt hạt lên lớp giấy thấm theo hàng để dễ đếm, đặt nắp đĩa vào tủ định ôn điều chỉnh nhiệt độ thích hợp với loài cây trồng.

Trên khay cát: Khay tôn hay kim loại có kích thước chiều dài 25 - 40 cm, chiều rộng 15 - 20 cm, sâu 5 - 7 cm. Chuẩn bị cát sạch đã khử trùng cho vào khay với độ dày 3 - 5 cm, cung cấp nước đủ ẩm cho cát 70 - 75 % sau đó gieo hạt theo hàng và đặt khay đã gieo hạt vào tủ định ôn ở nhiệt độ thích hợp. Hạt của một số loài yêu cầu xử lý chất kích thích để nảy mầm tối đa hoặc phá ngủ nghỉ cần bổ sung thêm chất kích thích vào môi trường hay ngâm hạt trước khi đánh giá nảy mầm. Kích thích bao gồm ánh sáng, xử lý lạnh, KNO₃. Những loại hạt yêu cầu kích thích ánh sáng thường trong phạm vi 810 đến 1620 lux và chiếu sáng 8 giờ/ngày là đủ. Với xử lý KNO₃ ở hầu hết các loài nồng độ là 0,2%, xử lý lạnh là đặt hạt trên nền ẩm và ở nhiệt độ 10°C sau đó chuyển đến nhiệt độ nảy mầm tối ưu.

5.3.2 Phương pháp Selenite

Selenite là phương pháp kiểm tra hoá sinh ra đời những năm 1930, trên cơ sở giảm và mất màu nước seleniron từ nguyên tố selen đỏ do enzym thủy phân trong tế bào sống. Gadd cho rằng nguyên lý chuyển màu selen đã được sử dụng ở đầu những năm 1900 với nuôi cấy vi khuẩn. Nó được sử dụng để kiểm tra khả năng gieo trồng

của hạt giống bởi Hasegawa. Phương pháp thực hiện ngâm hạt khoảng 24 – 48 giờ ở nhiệt độ 20-30⁰C sau đó được rửa bằng nước sạch và xác định màu theo tiêu chuẩn Gadd đề xuất như sau:

- 1- Phôi đỏ hoàn toàn và đỏ đậm => hạt có khả năng nảy mầm
- 2- Phôi đỏ nhẹ đến đỏ chấm nhạt => hạt có khả năng nảy mầm
- 3- Phôi đỏ rất nhạt đến không màu và các điểm không màu lớn tổng lớn hơn 1/3 bề mặt hạt => không có khả năng nảy mầm

5.3.3 Đánh giá giá trị gieo trồng bằng muối tetrazolium(TZ)

Phương pháp đánh giá TZ là phương pháp sử dụng phổ biến ở các phòng thí nghiệm để đánh giá giá trị gieo trồng, sức sống hạt giống có độ tin cậy cao. Phương pháp TZ do GS. Georg Lakon (1928) đề xướng và phát triển ở Đức đầu những năm 1940. Ông cố gắng thử nghiệm để phân biệt giữa hạt sống và hạt chết bằng xử lý muối selenium và sau đó ông sử dụng muối tetrazolium cho hiệu quả cao hơn. Phương pháp đánh giá nhanh có thể hoàn thành trong vài giờ hay vài ngày, nó rất có ý nghĩa với các loại hạt mà thời gian nảy mầm kéo dài vài tuần hay vài tháng.

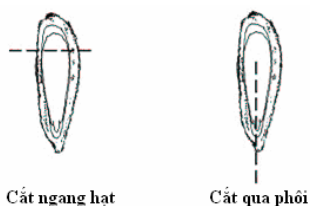
Nguyên lý của phương pháp

Kiểm tra TZ bằng phân biệt màu của mô phôi hạt sống và hạt chết trên cơ sở tỷ lệ hô hấp của phôi sống và phôi chết trong trạng thái no nước. Ở trạng thái này nhiều enzym hoạt động, nhưng phương pháp này kiểm tra hoạt động của enzym dehydrogenase như chỉ số biểu hiện hô hấp và giá trị gieo trồng của hạt giống. Enzym dehydrogenase hoạt động trong môi trường nảy mầm và giải phóng hydro, khi đó dung dịch muối tetrazolium không màu chuyển sang màu đỏ và giá trị gieo trồng đánh giá qua biểu hiện màu của phôi.

Phương pháp thực hiện

Đặt hạt trong môi trường để hạt hút ẩm bão hoà nước ở tất cả các phần mô hạt sau đó các hạt được cắt hạt theo 2 cách

- + Cắt ngang hạt
- + Cắt qua phôi

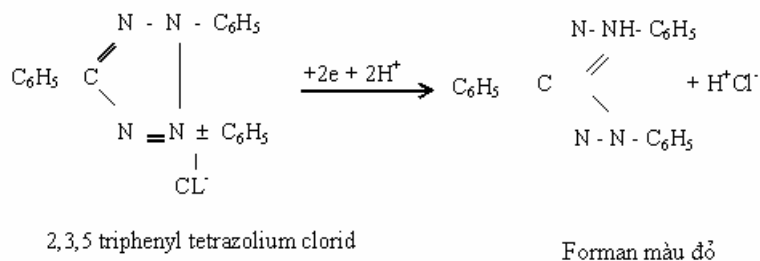


Hình 5.1 Phương pháp cắt hạt thử TZ

hoặc châm để các phần của hạt có thể tiếp xúc với dung dịch muối tetrazolium. Ngâm hạt đã chuẩn bị trong dung dịch muối tetrazolium ở nhiệt độ 35⁰C cho chuyển màu hoàn toàn, nếu cắt qua phôi nồng độ TZ là 0,1%, nếu cắt ngang hạt nồng độ TZ là 1%. Hầu hết các loại hạt cắt ngang phôi chuyển màu hoàn toàn sau 24 giờ, nếu cắt theo chiều khác có thể lâu hơn. Thời gian ngâm quá lâu làm chúng chuyển màu không điển hình khó phân biệt và đánh giá. Các mô sống của hạt chuyển sang màu đỏ được xác định là hạt có giá trị gieo trồng, tuy nhiên thực hiện phương pháp và đánh giá rất cần cán bộ có kỹ năng tốt và có kinh nghiệm. Những hạt có mô chuyển

màu chậm hay chuyển màu xám là những hạt có giá trị gieo trồng thấp hoặc không còn giá trị gieo trồng.

Đánh giá



Hình 5.2: Phản ứng hoá học chuyển màu của tetrazolium
(Nguồn Larry O. Copeland và Miller B. McDonald, 1995)

5.3.4 Phương pháp kiểm tra hoá sinh khác

Ngoài phương pháp tetrazolium được sử dụng rộng rãi để xác định giá trị gieo trồng và chất lượng hạt giống, một số phương pháp hoá sinh khác cũng được sử dụng:

(1) Phương pháp thử màu (Vital coloring methods)

Nguyên lý của phương pháp này là màu sắc khác nhau của mô sống và mô chết khi nhuộm màu. Giai đoạn đầu phương pháp sử dụng axit sunfuric, gần đây sử dụng indigo carmine và chất nhuộm màu aniline. Các chất nhuộm màu này làm biến màu các mô chết sang màu xanh, nhưng nó không có khả năng thấm vào các mô sống do vậy các mô sống không bị nhuộm màu. Gadd, 1950 cho rằng phương pháp này là rất hữu ích để xác định giá trị gieo trồng của hạt giống, đặc biệt là hạt cây lâm nghiệp.

(2) Phương pháp hoạt động enzym.

Đây là phương pháp xác định hoạt động của enzym ở hạt đang hoạt động đang hấp thụ khi một chỉ thị để xác định giá trị gieo trồng của hạt. Một số enzym có thể xác định đó là những enzym thủy phân có khả năng phân tách các hợp chất hữu cơ như protein, tinh bột và chất béo thành những chất hoà tan có phân tử nhỏ hơn như enzym: lipase, amylaze. Nhóm enzym khác là desmolases, nhóm enzym này được chia làm hai nhóm nhỏ là oxidase (catalase và peroxidase) và tác nhân thủy phân dehydrogenases chúng trực tiếp tham gia vào quá trình hô hấp và như vậy khi có mặt một nhóm là có sự tương quan rất chặt với giá trị gieo trồng của hạt giống.

(3) Oxydase method

Catalase (enzim xúc tác): Enzim để đánh giá giá trị gieo trồng hạt giống khá tốn kém và yêu cầu trang thiết bị cũng như kỹ năng của cán bộ kỹ thuật, nhưng phương pháp này chính xác vì catalase có tương quan tuyệt đối với giá trị gieo trồng của hạt. Hoạt động của catalase trong hạt chưa chín nhiều hơn trong hạt chín hoàn toàn. Một số ý khác cho rằng catalase tương quan không chặt với giá trị gieo trồng có thể do sai sót kỹ thuật vì phương pháp rất phức tạp để đo được hoạt động của enzym này. Peroxidase (nước oxy già): H_2O_2 có tương quan chặt hơn với giá trị gieo trồng hơn catalase (Mc Hargue, 1920) sử dụng kỹ thuật Guaiacol khi có mặt cả H_2O_2 chuyển

thành màu xanh của terta guaiquinone. Bằng xử lý mẫu hạt với H_2O_2 sau đó nghiền vỡ nhỏ hạt , tiếp theo xác định bằng máy so màu (colorimetric) kết quả tương tự như kiểm tra nảy mầm. Brucher, 1984 sử dụng phương pháp tương tự nhưng không nghiền vỡ hạt cũng nhận được kết quả tốt. Ông ngâm các hạt 12 giờ trong hỗn hợp Guaiacol và benzen pha loãng 10% trong dung dịch cồn bão hoà. Sau đó xử lý với tác nhân như kỹ thuật của Mc Hargue phương pháp này cho phép đánh giá từng hạt và tương quan rất chặt với test nảy mầm.

5.3.5- Phương pháp đánh giá hoạt động của enzym thủy phân

Phương pháp kiểm tra hoá học này trên cơ sở chuyển màu của các chất phụ thuộc vào trạng thái của chúng, oxy hoá hoặc giảm quá trình oxy hoá. Các phương pháp khác là cơ sở chuyển màu của methylene từ xanh sang mất màu, hạt phải đặt và xác định trong chân không khi xử lý methylene xanh và quá trình này cũng khó khăn khi có mặt của vi khuẩn là nguyên nhân chuyển màu tương tự. Các enzym khác cũng được sử dụng để kiểm tra như dinitrobenzen chuyển màu đỏ của hợp chất nitrophenylhydrazo xylamine khi có mặt của amonia. Gadd cho biết sự chuyển màu rất nhanh tại $40^{\circ}C$ từ 1 – 2 giờ sẽ mất màu nhanh chóng.

5.3.6- Đánh giá tổn thương hạt giống

(1) Phương pháp thử $FeCl_3$ (Ferric chlorid)

Để phân loại hạt vỡ gây hại cơ học hạt đậu trở thành đen khi khi đặt trong dung dịch $FeCl_3$, phương pháp này thử rất nhanh và có thể hướng dẫn nông dân sử dụng đánh giá phần trăm cây không bình thường . Hạt được đặt trong dung dịch $FeCl_3$ 20% trong 15 phút và những hạt màu đen được bỏ đi . Với phương pháp này nhà sản xuất giống có thể thử nhanh khi thu hoạch , tuốt đập , bảo quản để điều chỉnh máy móc , thiết bị không làm vỡ hạt .

(2) Indoxyl acetate kiểm tra tổn thương vỏ hạt

Thường khi vỏ hạt bị gây hại, đặc biệt hạt đậu và các loại hạt lớn khác đều ảnh hưởng đến giá trị gieo trồng. Vỏ hạt bị gây hại trong quá trình thu hoạch , tuốt đập và bảo quản . Vỏ hạt bị hại là nơi xâm nhập của vi khuẩn, nấm bệnh dẫn đến hư hỏng hạt. Kiểm tra indoxyl acetate do French đề xuất 1962 để kiểm tra nhanh trong phòng thí nghiệm. Hạt ngâm 10 giây trong dung dịch indoxyl acetate 0,1 % trong 95% ammonia và cho làm khô vết thương vỏ hạt chuyển màu xanh tím đối ngược với màu vàng và màu trắng của rốn hạt.

5.3.7 Các phương pháp khác để đánh giá giá trị gieo trồng của hạt giống

(1) Kiểm nghiệm giá trị gieo trồng qua tính dẫn điện (Conductivity test)

Người sản xuất hạt giống mong muốn có phương pháp đơn giản để xác định giá trị gieo trồng của hạt giống. Một phương pháp đơn giản là xác định phản ứng khác nhau của hạt sống và hạt chết. Gadd đã ghi nhận đây là nguyên lý và có nhiều kết quả nghiên cứu thành công, Waller, 1901 là người đầu tiên cho dòng điện dương đi qua dung dịch hạt có thể đo được bằng điện kế. Một phương pháp sử dụng dòng điện khác tin cậy hơn được Friek và Hibbs đề xuất 1925, phương pháp này thực hiện ngâm mẫu hạt trong nước vài giờ có điều khiển nhiệt độ sau đó đo, tính dẫn điện phản ánh chung mức độ của giá trị gieo trồng của mẫu hạt. Thử bằng độ dẫn

điện trên cơ sở quá trình hư hỏng của hạt, vách tế bào trở lên kém vững chắc và thấm nước cho phép chất chứa của tế bào thoát vào dung dịch và tăng độ dẫn điện. Hạn chế của phương pháp vì nó chỉ cho giá trị chung nếu ta ngâm nhiều hạt vào dung dịch cùng một lúc. Ngày nay có những thiết bị hiện đại hơn để có thể đánh giá được độ dẫn điện của từng hạt.

(2) Phương pháp cắt phôi

Phương pháp cắt phôi cho một phương pháp duy nhất để đánh giá giá trị gieo trồng đối với các loại hạt ngủ nghỉ. Đặc thù sử dụng với hạt của các loài cây thân gỗ thời gian đánh giá được rút ngắn bằng phương pháp này. Tác giả phương pháp là Flenrion, 1948. Bà quan sát nếu các phôi của các loại hạt ngủ được cắt cẩn thận và đặt trong đĩa ẩm hoặc giấy thấm dưới điều kiện thuận lợi chúng có thể sinh trưởng và chuyển màu xanh. Phương pháp cắt phôi đặc biệt có giá trị đối với các hạt cây gỗ và cây thân bụi ngủ nghỉ đánh giá này mất thời gian dài, một số loài mất đến 6 tháng. Tuy nhiên phương pháp này có thể kết hợp với thử nảy mầm để so sánh kết quả.

(3) Phương pháp chụp X quang (X – ray trest)

Chụp X quang là đánh giá khả năng gieo trồng, nó cung cấp thông tin để đánh giá giá trị gieo trồng. Phương pháp cho phép mô tả hình thái hạt, xác định sự khiếm khuyết của phôi hạt làm cơ sở xác định giá trị gieo trồng. Mặc dù vậy sử dụng các muối Metallic sẽ cho biết khả năng hấp thụ khác nhau của mô sống và mô chết và phân biệt được hạt còn sức sống hay không còn sức sống. Lợi ích nhất của chụp X quang trong đánh giá hạt là nhận biết nhanh hình thái thiếu khuyết của hạt hoặc bị hại cơ giới có thể làm giảm khả năng nảy mầm. AOSA đã xuất bản cuốn sách về phương pháp chụp X quang để đánh giá hạt giống.

CHƯƠNG 6

SỨC SỐNG VÀ BỆNH HẠT GIỐNG

6.1 Sức sống hạt giống

6.1.1 Khái niệm

Năm 1876 Fredrich Noble lần đầu tiên đưa ra khái niệm sức sống, ông giới thiệu một thuật ngữ Tricbkraft với nghĩa là “**lực truyền**” hoặc cường độ của mầm để truyền đạt ý tưởng về sức sống hạt giống. Ngoài tỷ lệ nảy mầm thì tốc độ và sự đồng nhất của sự nảy mầm cũng là một thông số rất quan trọng để đánh giá chất lượng hạt giống. Đến năm 1950 hội nghị kiểm nghiệm hạt giống Quốc tế bắt đầu quan tâm đến vấn đề sức sống hạt giống. Các phòng thí nghiệm Châu Âu và Mỹ những năm 1950 đưa ra những kết quả kiểm nghiệm nảy mầm chưa thống nhất và Frank cho rằng có thể do sự khác nhau về khái niệm và phương pháp kiểm nghiệm nảy mầm của các phòng thí nghiệm này. Các phòng thí nghiệm Châu Âu xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm nảy mầm với hạt đậu trong điều kiện tối ưu, môi trường đặc thù là gạch vụn và đất để đánh giá sức sống hạt giống. Các phòng kiểm nghiệm của Mỹ sử dụng nền đất gần như Châu Âu để kiểm nghiệm đánh giá sức khoẻ cây con. Có sự sai khác giá trị tỷ lệ nảy mầm trên đồng ruộng và trong phòng kiểm nghiệm, sự sai khác này có thể do hai yếu tố: Thứ nhất kiểm nghiệm trong phòng được thử trong điều kiện môi trường, độ ẩm, ánh sáng và các điều kiện khác tối ưu, trong khi trên đồng ruộng phụ thuộc vào điều kiện tự nhiên, do vậy tỷ lệ nảy mầm trong phòng bao giờ cũng cao hơn trên đồng ruộng. Thứ hai nảy mầm trong tự nhiên cũng sai khác với trong phòng kiểm nghiệm vì hạt bị hư hỏng trong quá trình gieo ở điều kiện tự nhiên, hơn nữa trên đồng ruộng chỉ xác định nảy mầm hay không nảy mầm mà không đánh giá sức khoẻ mầm và cây con hoặc tiềm năng dự trữ của hạt. Chính điều này gợi ý rằng cần có phương pháp kiểm nghiệm sức sống hạt giống để cung cấp thông tin về chất lượng hạt giống.

Định nghĩa về sức sống hạt giống đã được đề xuất và đến năm 1972 Haydecker và Perry, 1978... Hiệp hội kiểm nghiệm hạt giống quốc tế “ International Seed Testing Association” định nghĩa: “**Sức sống hạt giống là tổng toàn bộ đặc tính xác định tiềm năng của hạt trong hoạt động sống, thực hiện hoạt động trao đổi chất hoặc mất vật chất và năng lượng trong quá trình nảy mầm và xuất hiện cây con**”

Năm 1979 Ủy ban phân tích sức khoẻ hạt giống Quốc tế đưa ra định nghĩa khác “**Sức sống hạt giống là đặc tính của hạt xác định tiềm năng nảy mầm nhanh, đồng nhất và phát triển thành cây con bình thường dưới điều kiện rộng trên đồng ruộng**”

Như vậy các khái niệm phản ánh 4 khả năng của hạt:

- + Hoạt động trao đổi chất phản ánh: Quá trình sinh hoá và phản ứng hoá học khác trong quá trình nảy mầm như phản ứng enzym hoạt động hô hấp của hạt.
- + Tỷ lệ nảy mầm cao, đồng nhất và sinh trưởng cây con
- + Tỷ lệ nhú cây con, đồng nhất và sinh trưởng của cây con trên đồng ruộng

+ Khả năng nhú cây con trong điều kiện phù hợp

6.1.2 Các yếu tố ảnh hưởng đến sức sống hạt giống

Hình thành và phát triển hạt trải qua một loạt các giai đoạn từ phát triển hình thành quả hạt, tích lũy dinh dưỡng, chín, làm khô, ngủ nghỉ. Mỗi một giai đoạn có những thay đổi về hình thái và sinh lý có thể thay đổi tiềm năng của hạt. Tại thời điểm hạt đạt khối lượng tối đa tối đa gọi là giai đoạn chín sinh lý. Cũng tại thời điểm này tiềm năng sức sống và nảy mầm tối đa. Tuy nhiên tại thời điểm chín sinh lý hạt có độ ẩm cao không an toàn cho bảo quản cho nên phải đảm bảo quá trình chín sau thu hoạch với hàm lượng nước thấp sẽ bị gây hại cơ học ở mức nhỏ nhất. Thời gian chín sinh lý đến thu hoạch hạt được bảo tồn trên cây là rất cần thiết vì không chỉ là để giảm độ ẩm mà nó còn ảnh hưởng đến chất lượng hạt.

Các yếu tố ảnh hưởng chủ yếu đến sức sống hạt giống:

- + Yếu tố di truyền
- + Môi trường và dinh dưỡng của cây mẹ
- + Giai đoạn chín khi thu hoạch
- + Kích thích hạt
- + Khối lượng hạt
- + Tính toàn vẹn của hạt
- + Sự hư hỏng và tuổi hạt
- + Sâu bệnh

6.1.2.1 Vật chất di truyền

Trong nhiều năm nhà chọn giống cây trồng không chú ý đến sức sống hạt giống mà chỉ tập trung cố gắng tăng năng suất. Các nhà chọn giống cũng cải tiến những đặc điểm của hạt như độ chắc, chống chịu sâu bệnh, hàm lượng protein và kích thích hạt. Những yếu tố này hướng đến khả năng nảy mầm đồng ruộng tốt hơn và thường cho năng suất cao hơn. Ngoài nảy mầm biểu hiện lý học về sức sống hạt giống cần quan tâm. Sức sống hạt giống cũng liên quan đến ưu thế lai, bởi vì các yếu tố liên quan đến sức sống của hạt đều do các nhân tố di truyền điều khiển.

+ Sức sống ưu thế lai

Sức sống ưu thế lai là một tổ hợp các ưu thế của bố mẹ di truyền sang thế hệ con lai, có giá trị một số tính trạng cao hơn bố mẹ. Sự vượt lên của con lai biểu hiện cao hơn trong điều kiện bất thuận (stress condition) hơn trong điều kiện thuận lợi. Ví dụ hạt ngô lai, lúa lai có thể nảy mầm và sinh trưởng nhanh hơn hẳn bố mẹ của chúng. Tiềm năng sinh trưởng này do các cơ quan tử và hệ thống enzym bổ sung giúp tăng hiệu quả hấp thu và sử dụng carbon.

+ Độ chắc của hạt

Hạt cứng là một đặc tính di truyền không phù hợp với công nghệ hạt giống bởi vì các biến động cực đoan của nó trong nảy mầm và tỷ lệ đậu hạt, mặc dù vậy gần đây xem xét tính trạng hạt cứng trong một số giống cây trồng nhằm giúp bảo vệ và tuổi thọ hạt liên kết của tính trạng này với dinh dưỡng trong quá trình hấp thụ. Hạt cứng có thể hạn chế dễ dàng nếu lai giữa một dòng hạt mềm với một dòng rất cứng ở thế hệ F_1 là dạng trung gian hoặc gần mềm, tính thấm của hạt ở thế hệ F_2 mức trung

bình giữa hai bố mẹ. Kết quả này chỉ ra rằng tính trạng hạt cứng được điều khiển bởi một vài gen. Kyle và Randall, 1963 . Kiểm nghiệm hạt giống của loài đậu của miền cực Bắc và Mexican cho thấy lổ lỗn là vị trí hút nước của đậu ở miền Bắc trong khi đậu ở Mexican hút nước ở sống và rốn hạt. Tính không thấm của noãn và rốn hạt là gen lặn liên kết chặt với gen P của hạt đậu trắng. Mặc dù vậy khi lai loại đậu đỏ và trắng đã nhận được loại hạt đậu trắng mềm.

+ Tính trạng dễ tổn thương cơ giới của hạt

Tổn thương cơ giới xảy ra trong quá trình thu hoạch, chế biến hạt giống, tính trạng miễn cảm tổn thương cơ giới được điều khiển bởi di truyền. Barriga 1961 đã chứng minh rằng 41 giống đậu biến chống chịu với va đập cơ giới khác nhau. Atkin, 1958 và Wester, 1970 chứng minh các giống đậu nở chống chịu cơ giới tốt hơn các giống đậu trắng. Walters và Caviness khi nghiên cứu sức sống của hạt đậu tương xác định tính trạng miễn cảm tổn thương cơ giới là tính trạng di truyền số lượng vì thế chọn giống quan tâm cải tiến chất lượng hạt thông qua chọn tạo giống cải tiến tính trạng này.

+ Thành phần hoá học của hạt

Cải tiến chất lượng dinh dưỡng hạt thường liên quan đến sức sống hạt giống, ví dụ như giống ngô có hàm lượng lysine cao thường gặp những vấn đề tăng chất lượng hạt giống như sức khoẻ hạt giống yếu, hạt nhỏ, hạt co ngót, méo mó. Các nhà chọn tạo giống cây trồng đang cố gắng tìm ra hệ thống gen điều khiển chất lượng dinh dưỡng nhưng không làm giảm sức sống và sức khoẻ hạt giống. Nass và Crane, 1970 đã tìm ra rất nhiều gen điều khiển biểu hiện của nội nhũ ảnh hưởng đến nảy mầm của hạt ở 15, 20 và 25 °C. Những hạt chứa gen A_1 tạo ra hạt giống có sức khoẻ tốt hơn không chứa gen này. Ullrich và Eslick cũng so sánh ảnh hưởng của gen nội nhũ co ngót với khối lượng hạt lúa mạch, phạm vi biến dị từ 38 đến 95% ở cây bình thường, như vậy chất lượng hạt giống cũng có thể cải tiến bằng chọn lọc.

6.1.2.2 Môi trường trong quá trình phát triển của hạt

Môi trường ảnh hưởng đến phát triển và chất lượng của hạt giống vì vậy sản xuất hạt giống cần thực hiện ở những vùng có điều kiện thuận lợi và phù hợp với loài cây trồng để đảm bảo chất lượng hạt giống. Ví dụ sản xuất hạt giống một số loại cỏ thức ăn gia súc như cỏ nấm dày, cỏ thảm chỉ ở Tây Bắc Thái Bình Dương cho chất lượng hạt giống tốt nhất vì hạt chín, khô và thu hoạch không gặp thời tiết bất thuận như mưa và độ ẩm cao. Những vùng có tưới của California, Idaho của Mỹ là nơi sản xuất hạt giống bông, rau, hoa và cây thức ăn gia súc họ đậu chất lượng cao bởi vì độ ẩm không khí thấp, lượng mưa nhỏ và nhiệt độ ôn hoà. Điều kiện môi trường làm giảm sâu bệnh hại hạt cũng như rủi ro trong giai đoạn thu hoạch. Mặc dù vậy nếu sản xuất hạt giống ngay trong vùng tiêu thụ sẽ giảm chi phí vận chuyển, các công ty và đơn vị sản xuất cần chọn địa điểm sản xuất đáp ứng hai yêu cầu chất lượng và giảm chi phí, hạ giá thành.

+ **Độ ẩm và dinh dưỡng trong đất**

Độ ẩm không phù hợp trong giai đoạn phát triển của hạt và dẫn đến sức khoẻ hạt giống thấp, độ phì của đất thấp dẫn đến hạt nhỏ, hạt được tạo ra từ điều kiện dinh

dưỡng đầy đủ như cây xung quanh ruộng hạt thường có sức sống và sức khoẻ tốt hơn. Legatt 1948 chứng minh rằng hạt đậu thiếu hụt Bo sẽ tạo ra một cây con không bình thường và tình trạng này được khắc phục nếu bón Bo trực tiếp khi sản xuất hạt. Hạt đậu tương sản xuất ở nơi đất có molybden cao chúng không yêu cầu bón phân molybden khi trồng. Lạc mẫn cảm đặc biệt với đất thiếu các nguyên tố vi lượng đất có Bo và Ca thấp gây biến màu của lá mầm, rễ sinh lý và rễ hút nước bị phá vỡ nếu đất thiếu hụt Ca. Phân đạm bón cho lúa mỳ là nguyên nhân tăng protein trong hạt, tỷ lệ nảy mầm và sức khoẻ hạt giống tăng khi hàm lượng protein trong hạt lúa mỳ tăng

+ ***Độ chín của hạt***

Rất nhiều thông tin đã chứng minh có mối quan hệ giữa độ chín, kích thước hạt và sức sống hạt giống (Haydecker, 1972 và Mc. Donald, 1975). Môi trường trong quá trình chín không ảnh hưởng trực tiếp đến sức sống tiềm năng của hạt nhưng nó liên quan đến độ đầy hạt. Hạt đậu tương lớn biểu hiện nảy mầm, sức sống cũng như tiềm năng năng suất tốt hơn hạt đậu tương nhỏ. Một nghiên cứu khác lại cho kết quả hạt đậu tương trung bình có sức sống hạt giống tốt hơn cả loại hạt lớn và hạt nhỏ. Hạt ngô lai tỷ lệ nảy mầm không phụ thuộc vào kích thước hạt. Như vậy sức sống hạt giống phụ thuộc chủ yếu vào độ chín của hạt chứ không phải là kích thước hạt lớn hay nhỏ.

+ ***Môi trường thu hoạch và sau thu hoạch***

Hạt giống bị hư hỏng sau khi chín, trước thu hoạch do ảnh hưởng của môi trường là vấn đề rất nghiêm trọng ở miền Đông nước Mỹ do điều kiện ẩm độ cao, mưa nhiều và nhiệt độ ẩm gây ra giá trị gieo trồng và sức sống hạt giống giảm nhanh. Simpson và Stone, 1935 chứng minh rằng hạt giống bông mất khả năng gieo trồng 20 - 30% sau 1 tuần dưới điều kiện mưa và tỷ lệ này còn cao hơn với những loài quả nang đã mở vỏ. Hạt đậu tương thu hoạch trong điều kiện mưa và ẩm độ cao cũng mất khả năng gieo trồng, tổn thương trong quá trình thu hoạch, chế biến và bảo quản. Thí nghiệm về thời vụ trồng và điều kiện thu hoạch đến chất lượng hạt giống đậu tương Green, 1966 chứng minh rằng đậu tương trồng sớm, chín vào thời kỳ nóng, thời tiết khô thì chất lượng hạt giống thấp hơn trồng muộn tránh được thời tiết như trên. Sức sống hạt giống bị ảnh hưởng trước thu hoạch còn do nguyên nhân nhiễm nấm, tăng nhiệt độ và độ ẩm.

+ ***Bảo quản hạt giống***

Hạt giống sau thu hoạch ít khi được gieo trồng ngay không qua thời gian bảo quản do vậy thời gian bảo quản, phương pháp bảo quản và môi trường bảo quản (nhiệt độ, độ ẩm và hàm lượng oxy) có ảnh hưởng đến sức sống hạt giống. Theo George (1980), độ ẩm an toàn với hạt dự trữ tinh bột là 12%, bảo quản hạt giống chứa dầu là 9%, hạt giống để dự trữ bình thường là 6-8%.

6.1.3 Nguyên lý kiểm tra sức sống hạt giống

6.1.3.1 Chỉ tiêu kiểm nghiệm sức sống hạt giống

Một yêu cầu của kiểm nghiệm sức khoẻ hạt giống là phải nhận biết một hoặc một số chỉ tiêu có thể lượng hoá được, thông thường là những chỉ tiêu xác định sự suy giảm của hạt giống. Tất cả những thay đổi trong quá trình hư hỏng của hạt giống đã xảy ra

và dự đoán xu hướng xảy ra với chất lượng hạt. Một mô hình lý thuyết được Delouche và Baskin phát triển năm 1973 đưa ra một số chỉ tiêu chính để xác định sức sống hạt giống như sau:

- Tính toàn vẹn của tế bào là một chỉ tiêu đánh giá sức sống hạt giống trước khi đánh giá nảy mầm, chỉ tiêu này phản ánh khả năng của hạt bảo tồn, mất sức nảy mầm, chống sự xâm nhập của nước, nấm bệnh vi khuẩn và virus. Thành tế bào cần thiết cho nhiều hoạt động trao đổi chất của hạt giống như: hoạt động hô hấp, cung cấp cho hạt năng lượng cho các hoạt động tiếp tục của quá trình nảy mầm và sinh trưởng. Màng lưới nội chất cũng là một cơ quan tử của màng tế bào trên đó có rất nhiều enzym hình thành axit ribonucleic sao mã di truyền. Do vậy bất kỳ một suy giảm chức năng nào của thành tế bào cũng giảm năng lượng tổng số ATP được hình thành. Nhiều nghiên cứu kết luận suy giảm màng (membrane) dẫn đến suy giảm và hư hỏng hạt giống.
- Những nghiên cứu mức ATP, RNA và hô hấp suy giảm, đồng thời thúc đẩy già hóa hạt giống nhanh hơn sau bảo quản. Tiếp theo những suy giảm đó là mất khả năng hô hấp, các hoạt động hoá sinh, mức độ đồng nhất và giảm tỷ lệ nảy mầm đến mức thấp nhất.
- Một nguyên nhân khác của hư hỏng hạt giống do môi trường bảo quản và nhiễm sâu bệnh cũng dẫn đến giảm tỷ lệ nảy mầm trên đồng ruộng. Những nguyên nhân gây suy giảm chất lượng hạt giống dẫn đến hậu quả cuối cùng ảnh hưởng đến năng suất cây trồng. Biểu hiện mất hay suy giảm chất lượng hạt giống có thể xảy ra ở một chỉ tiêu riêng rẽ như tăng số cây con không bình thường hoặc tổ hợp các chỉ tiêu trong kiểm nghiệm.
- Chỉ tiêu cuối cùng để đánh giá sức khỏe hạt giống là tỷ lệ nảy mầm là chỉ tiêu quan trọng xác định sức sống hạt giống và cũng là chỉ tiêu bổ sung thêm cho kiểm nghiệm nảy mầm hạt giống. Thay đổi sinh lý, sinh hoá xảy ra trong quá trình hư hỏng hạt giống có thể được xác định qua nhiều chỉ tiêu, kiểm nghiệm hạt giống tập trung xác định một hay một số chỉ tiêu. Trên cơ sở số chỉ tiêu kiểm nghiệm sức sống hạt giống có thể phân loại kiểm nghiệm.

6.1.3.2 Phân loại kiểm tra sức sống hạt giống

Isely, 1957 chia kiểm nghiệm sức sống hạt giống ra làm 2 loại là kiểm nghiệm trực tiếp và kiểm nghiệm gián tiếp

- + Kiểm nghiệm trực tiếp là kiểm nghiệm trực tiếp trên đồng ruộng với một số phương pháp xác định được khả năng nảy mầm dưới điều kiện bất lợi đồng ruộng. ví dụ kiểm nghiệm đánh giá sức sống hạt giống trong điều kiện lạnh là đưa hạt giống thử trên đồng ruộng nơi có nhiệt độ thấp, độ ẩm và hệ vi sinh vật tự nhiên .
- + Kiểm nghiệm gián tiếp là xác định những thành phần sinh lý đặc thù của hạt, ví dụ kiểm tra độ dẫn điện để giám định tính toàn vẹn của tế bào. Mặc dù vậy đánh giá gián tiếp có thể sai lệch cho nên cần kết hợp đánh giá nhiều chỉ tiêu sinh lý và đánh giá trong điều kiện tự nhiên đồng ruộng.

Phương pháp độ dẫn điện xác định mức độ hoàn chỉnh hình thái, ảnh hưởng của vi sinh vật đất và các yếu tố khác thường đánh giá không đầy đủ. Kiểm nghiệm sức

sống hạt giống cũng có thể phân loại trên cơ sở tổ hợp các chỉ tiêu xác định sức sống hạt giống.

Woodstock, 1973 chia kiểm nghiệm sức sống hạt giống ra kiểm nghiệm sinh hoá và kiểm nghiệm sinh lý.

- + Kiểm nghiệm sinh lý xác định một số khía cạnh sự nảy mầm của hạt hoặc sinh trưởng của cây con
- + Kiểm nghiệm sinh hoá đánh giá các phản ứng hoá học như hoạt động enzym hoặc hô hấp liên quan đến biểu hiện của sự nảy mầm.

Mc Donand bổ xung thêm kiểm nghiệm vật lý như kích thước hạt, mật độ hạt, độ chín của hạt.. có liên quan đến sức sống hạt giống. Một phương pháp khác để xác định sức sống hạt giống phân ra hai loại là: Kiểm nghiệm môi trường bất thuận và kiểm nghiệm nhanh.

- + Kiểm nghiệm môi trường bất thuận (stress test) là kiểm nghiệm trên một hay một số môi trường khác nhau, điều kiện môi trường nhiệt độ như nhiệt độ cao, nhiệt độ thấp, có đất hay không đất, loại đất cho vào môi trường đánh giá có tính chất khác nhau. Phương pháp kiểm nghiệm này thực hiện chủ yếu đánh giá sự nảy mầm (lá mầm, chiều dài mầm..)
- + Phương pháp kiểm nghiệm nhanh với các phản ứng hoá học liên quan đến sức sống hạt giống, không mất thời gian dài như kiểm nghiệm trong điều kiện bất thuận

6.1.3.3 Nguyên tắc kiểm tra sức sống hạt giống

- + Chi phí thấp: chi phí lao động, trang thiết bị các phòng thí nghiệm, phương tiện dụng cụ cần tính toán rất kỹ lưỡng vì nếu không chi phí kiểm nghiệm một mẫu hạt giống cao khó được thực tế chấp nhận
- + Nhanh: Có nhiều phương pháp kiểm nghiệm tuy nhiên lựa chọn phương pháp cho kết quả nhanh nhất để đáp ứng yêu cầu sản xuất và nhà kinh doanh hạt giống.
- + Không phức tạp: Phương pháp đơn giản, phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm và trang thiết bị hiện có để không phải trang bị hay đào tạo bổ sung.
- + Đạt được mục tiêu kiểm tra: đảm bảo độ chính xác theo tiêu chuẩn các chỉ tiêu kiểm nghiệm
- + Kết quả kiểm nghiệm phải tương đương như thực tế đồng ruộng

6.1.4 Các phương pháp kiểm tra sức sống hạt giống

Thông thường kiểm nghiệm sức sống hạt giống thực hiện trong điều kiện tối ưu do vậy kết quả thường cao hơn thực tế đồng ruộng. Vì vậy ngoài kiểm nghiệm trong phòng cần thiết phải kiểm nghiệm đồng ruộng để đánh giá bổ sung như vậy kết quả kiểm nghiệm đáng tin cậy hơn. Một số phương pháp kiểm nghiệm sức sống hạt giống được người sản xuất và kinh doanh chấp nhận trình bày dưới đây.

6.1.4.2 Xử lý lạnh

Kiểm tra trong điều kiện lạnh là phương pháp sớm nhất để đánh giá sức khoẻ hạt giống, được áp dụng rộng rãi với ngô, đậu tương và một số cây trồng khác. Nguyên lý chung của phương pháp là: Hạt đặt trong môi trường đất hoặc giấy thấm trong

lạnh cho những giai đoạn đặc thù, trong giai đoạn này hoạt động hấp phụ, nhiệt độ và có hoạt động của vi sinh vật xảy ra đối với hạt. Sau xử lý lạnh đưa hạt vào điều kiện thuận lợi cho nảy mầm và sinh trưởng để đánh giá. Khó khăn lớn nhất của xử lý lạnh là đất (môi trường) không đồng nhất về độ ẩm, pH, hệ vi sinh vật có thể gây sai số kiểm nghiệm. Một số ý kiến cho rằng sử dụng dung dịch đất để biến động môi trường nhỏ nhất, nhưng như vậy lại không gần với điều kiện tự nhiên trên đồng ruộng. Khi số lượng lớn mẫu lớn cần xử lý trong nhà (thay cho trong phòng thí nghiệm)

6.1.4.2 Xử lý thúc đẩy già hoá nhanh(Accelerated Aging (AA) Test)

Phương pháp kiểm nghiệm này kết hợp chặt chẽ nhiều tính trạng quan trọng trong kiểm nghiệm sức sống hạt giống. Ban đầu phương pháp được đề xuất để đánh giá khả năng bảo quản của hạt giống. Đây là phương pháp kiểm nghiệm được nhiều tính trạng mong muốn trong một lần kiểm nghiệm sức sống hạt giống. Nguyên lý của phương pháp là xử lý hạt một thời gian trong hai môi trường thay đổi là nguyên nhân hạt bị suy giảm nhanh, những lô hạt có sức sống cao suy giảm chậm hơn những lô hạt có sức sống thấp hơn khi gặp điều kiện áp lực nhiệt độ cao và ẩm độ cao của điều kiện xử lý.

Phương pháp thực hiện như sau:

- + Hạt không hấp thụ trong điều kiện nhiệt độ cao (41°C) và độ ẩm (100%) trong thời gian ngắn 3 - 4 ngày.
- + Hạt sau xử lý chuyển ra điều kiện nảy mầm tối ưu

Phương pháp này nhanh, ít tốn kém và sử dụng cho tất cả các loài và có thể đánh giá từng hạt. Phương pháp cho kết quả đáng tin cậy để xác định sức sống hạt giống, nhưng cần chú ý độ ẩm hạt trước khi xử lý.

6.1.4.3. Kiểm tra thông qua tính dẫn điện

Hạt có sức sống yếu biểu hiện qua đặc điểm tính toàn vẹn của thành tế bào do hư hỏng trong bảo quản hay gây hại cơ học. Trong quá trình hấp thụ, các hạt có cấu trúc màng không bền vững phóng thích các dung dịch trong tế bào chất ra môi trường, dung dịch này có đặc tính dẫn điện cho nên có thể phát hiện được bằng máy đo độ dẫn điện(conductivity meter). Xác định tính dẫn điện qua các chất thẩm lọc của hạt có thể thực hiện nhanh, chính xác ít, tốn kém và thực hiện đơn giản. Mặc dù vậy độ ẩm ban đầu của hạt, kích thước hạt có ảnh hưởng đến tỷ lệ các chất phóng thích ra từ hạt nên cần có những tiêu chuẩn nhất định. Xử lý hạt bằng những chất kháng sinh cũng có thể ảnh hưởng đến tính dẫn điện nên phải làm sạch các chất xử lý hạt trước khi kiểm nghiệm bằng phương pháp này. Một hạn chế của phương pháp này là số mẫu hạt kiểm tra là 25 hạt trở lên, vì vậy kết quả tính dẫn điện chỉ phản ánh giá trị trung bình của mẫu kiểm tra mà không có giá trị cho từng hạt. Kết quả kiểm nghiệm tốt hơn nếu phản ánh được sức sống hạt giống trên cơ sở từng hạt riêng rẽ. Ngày nay đã có những thiết bị để xác định sức sống cho từng hạt và có thể xác định sức sống hạt giống rất nhanh đối với hạt giống đậu tương, bông, đậu biển, và ngô.

6.1.4.4 Xử lý nảy mầm mát

Không giống như xử lý lạnh xử lý mát thực hiện ở phòng thí nghiệm tiêu chuẩn với mức nhiệt độ thấp 18°C và không phụ thuộc vào hoạt động của vi sinh vật đến sự

nảy mầm của hạt. Nó thể hiện những cây trồng nhiệt đới (cây trồng ở nơi điều kiện ẩm) như bông thì sức sống, nảy mầm và sinh trưởng kém hơn. Tiến bộ chính của phương pháp là nó cho kết quả gần như phương pháp kiểm nghiệm nảy mầm tiêu chuẩn, giải thích cho nguyên lý sức sống hạt giống tốt là có thể tạo ra một cây bình thường

6.1.4.5 Tỷ lệ sinh trưởng của cây con

Sức sống hạt giống là khả năng để tổng hợp có hiệu quả các vật chất mới và chuyển sản phẩm này đến phôi nảy mầm, kết quả tăng khối lượng khô của mầm. Tỷ lệ sinh trưởng của cây con xây dựng trên cơ sở nguyên lý này. Sức sống hạt giống được biểu hiện bằng mg khối lượng khô của cây con (mg/cây con). Phương pháp này được thực hiện chung cho kiểm nghiệm nảy mầm của hạt giống. Sau khi đánh giá các phần sinh trưởng của phôi phát triển thành một cây con bình thường tạo nên từ các cơ quan dự trữ (lá mầm hoặc phôi), cây con được sấy khô trong cốc thí nghiệm ở nhiệt độ **80°C** trong **24 giờ** để xác định tốc độ tăng khối lượng chất khô của nó.

Vũ Văn Liết, Lê Thị Thanh, 2006, nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ và phân bón đến chất lượng hạt giống lúa Khang dân nguyên chủng cho kết quả khối lượng mầm tương quan rất chặt (ở mức 0,739 và 0,897) với khối lượng 1000 hạt và tỷ lệ nảy mầm.

Bảng 6.1 Tương quan giữa khối lượng mầm với khối lượng hạt và tỷ lệ nảy mầm

Công thức thí nghiệm		KLH	TLNM	KLM
P1	M1	19,16	98,67	1,69
	M2	19,15	98,00	1,69
	M3	19,10	97,67	1,63
	M4	19,00	93,00	1,50
P2	M1	19,02	91,67	1,53
	M2	19,08	92,33	1,52
	M3	18,88	93,00	1,49
	M4	18,48	92,33	1,47
P3	M1	19,15	97,00	1,68
	M2	19,15	96,67	1,68
	M3	19,08	94,00	1,62
	M4	18,88	91,67	1,50
P4	M1	18,67	92,00	1,53
	M2	18,63	91,33	1,52
	M3	18,35	90,67	1,47
	M4	18,10	87,00	1,47
Tương quan với KLM		0,739	0,897	

Ghi chú : M1, M2, M3, M4 là 4 mật độ cây tương ứng: 50, 60, 70 và 90 khóm/m². P1: 10 tấn phân chuồng, 90kg N + 70kg P₂O₅ + 60kg K₂O, P2 như P1 nhưng không bón đạm, P3 như P1 nhưng

không bón lân, **P4** như P1 nhưng không bón kali, KLH: khối lượng hạt, TLNM : Tỷ lệ nảy mầm, KLM: khối lượng mầm.

Tỷ lệ của cây con tương quan với phát triển sinh dưỡng của cây trên đồng ruộng (Burris, 1976 và Kimel ,1979). Phương pháp đảm bảo độ tin cậy đánh giá sức sống hạt giống. Tuy nhiên phương pháp vẫn còn những vấn đề cần xem xét là:

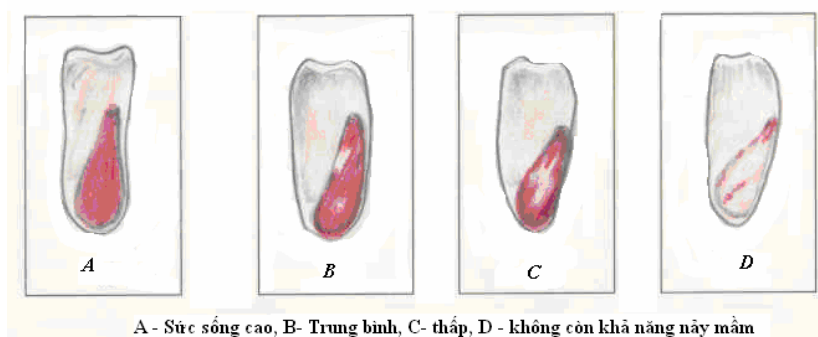
- + Độ ẩm và ánh sáng có thể ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây con.
- + Sinh trưởng của cây con cũng còn được chi phối bởi yếu tố di truyền của mỗi giống và loài.

6.1.4.6 Phân loại sức khỏe cây con

Phương pháp xác định sức sống hạt giống là phát triển từ kiểm nghiệm nảy mầm của hạt giống, phân loại sức khỏe cây con thành ba mức là yếu, bình thường và khỏe. Phương pháp đòi hỏi phương tiện và sử dụng thuật ngữ quen thuộc cho nên các nhà phân tích hạt giống thường sử dụng. Phương pháp cũng có những khó khăn như phân chia cây con bình thường cần có các chỉ tiêu rất tỷ mỉ, căn cứ phân chia dựa trên những đặc điểm rất biến động. Phương pháp này cần có sự trợ giúp của các cơ quan kiểm nghiệm và chuyên gia giỏi để đảm bảo độ chính xác .

6.1.4.7 Kiểm tra Tetrazolium (TZ)

Kiểm tra TZ là một kỹ thuật tiên bộ nhất để phân tích chất lượng hạt. Nó dựa vào hoạt động của phân tử TZ phản ứng với nguyên tử hydro giải phóng từ hoạt động của các enzym thủy phân trong mô sống. Kết quả hình thành dung dịch nước có màu đỏ forman dựa trên màu đỏ để đánh giá giá trị gieo trồng của hạt giống cũng được sử dụng đánh giá sức sống hạt giống. Sau đó đặt hạt đã nhuộm màu trong bảng so màu để xác định sức sống ở các mức độ : Không có khả năng nảy mầm, thấp, trung bình và sức sống cao. Tuy nhiên phương pháp này cũng gặp khó khăn là khả năng xác định chắc chắn hạt có sức sống tốt và hai là hạt ngủ nghỉ và có độc tố trong khi xử lý sẽ dẫn đến sai sót.



Hình 6.1 Hạt ngô kiểm nghiệm bằng TZ đánh giá sức sống hạt giống (nguồn Seed Laboratory at Oregon State University,2002)

6.1.4.8 Tốc độ nảy mầm

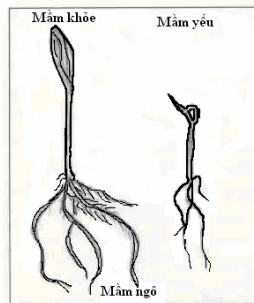
Tốc độ nảy mầm là một nguyên lý ra đời lâu nhất để xác định sức sống hạt giống. Lô hạt nảy mầm giống nhau thường rất khác nhau về tỷ lệ nảy mầm và sinh trưởng.

Nhiều phương pháp xác định tỷ lệ nảy mầm đã được thực hiện. Số ngày yêu cầu để nảy mầm đạt 90% đã được đề xuất bởi Belcher, Miller, 1974 như là chỉ số nảy mầm của hạt. Để đánh giá lô hạt chất lượng thấp hơn giá trị phần trăm (50%) có thể được sử dụng một cách tính toán khác được tính bằng công thức của Maguire :

$$X = \frac{\text{Số cây con bình thường}}{\text{Lần đếm đầu tiên}} + \dots + \frac{\text{Số cây con bình thường}}{\text{Lần đếm cuối cùng}}$$

Tỷ lệ nảy mầm tương tự được Czabator, 1962, Djavanshir và Pourbeik, 1976 đề xuất để tính tỷ lệ nảy mầm với các cây thân gỗ như sau

$$\text{Giá trị nảy mầm} = \text{giá trị cao nhất của} \frac{\text{Số cây con bình thường}}{\text{Lần đếm các ngày}} \times \frac{\text{Tổng cây con BT}}{\text{Ngày đếm cuối}}$$



Hình 6.2 Sinh trưởng của mầm cây ngô đánh giá sinh trưởng của cây con
(nguồn Seed Laboratory at Oregon State University, 2002)

Các cây con bình thường được xác định xếp loại từ rễ mầm, trục lá mầm đến cây con phát triển đầy đủ khi vỏ hạt hoàn rụng khỏi lá mầm. Wang 1973 phân chia thành 6 loại theo giai đoạn phát triển của cây con, kết quả phần trăm tốc độ nảy mầm tương quan có ý nghĩa với khả năng nảy mầm của chúng trong vườn ươm. Kiểm nghiệm nảy mầm tiêu chuẩn thực hiện đếm hạt nảy mầm đầu và cuối cùng, phần trăm nảy mầm của lần đếm đầu đại diện cho các hạt nảy mầm nhanh có thể sử dụng là một chỉ số đánh giá sức khỏe hạt giống. Khi nghiên cứu hạt đậu tương lần đếm đầu tiên (4 ngày) đã cung cấp một chỉ số tốt cho đánh giá sức sống cây con và có thể sử dụng là chỉ số đánh giá sức sống hạt giống. Nghiên cứu trên các cây ăn lá hàm lượng chất khô và các năng suất của các cây xuất phát từ những hạt có tốc độ nảy mầm nhanh hơn hẳn những cây từ hạt nảy mầm chậm. Phương pháp vẫn bị ảnh hưởng của nhiệt độ và độ ẩm buồng xử lý và dụng cụ xử lý nảy mầm.

6.1.4.9 Kiểm tra bằng phương pháp Hiltner (gieo hạt dưới lớp gạch sỏi vụn)

Phương pháp gieo hạt dưới lớp gạch sỏi vụn (Brick Grit Test) được biết như là phương pháp kiểm nghiệm sức sống hạt giống do Hiltner và Ihssen đề xuất năm

1911 để xác định khả năng nảy mầm của hạt ngũ cốc khi nhiễm nấm bệnh (*Fusarium*). Kết quả nghiên cứu tiếp theo chỉ ra rằng cũng có thể sử dụng phương pháp này để xác định mức độ mạnh khỏe hay yếu của hạt.

Phương pháp Hiltner như sau: Hạt được gieo trong gạch vụn ẩm hoặc trong hộp cát rồi trải lên trên lớp gạch vụn ẩm dày 3 cm. Đặt hộp trong phòng tối điều chỉnh nhiệt độ một thời gian nhất định tùy theo loài. Những hạt bị bệnh, tổn thương cơ giới hoặc hư hỏng không thể nảy mầm xuyên qua lớp gạch vụn. Phần trăm cây con bình thường được xem là mức sức sống hạt giống. Phương pháp này được sử dụng phổ biến ở Mỹ nhưng nó không cung cấp thông tin tốt hơn kiểm nghiệm nảy mầm và chi phí cao, khoảng không gian kiểm tra cần rộng hơn.

6.1.4.10 Xử lý hạt trong dung dịch hạn chế thẩm thấu (Osmotic Stress)

Khi hạt gieo trên đồng ruộng thường bị phụ thuộc vào độ ẩm đồng ruộng và điều kiện bất thuận như hạn đất dẫn đến nảy mầm kém. Như vậy điều kiện hạn có thể tạo ra trong phòng thí nghiệm bằng đất hay dung dịch đất và hệ thống dung dịch khác (Sharma,1973). Điều kiện của đất tiêu chuẩn là rất khó có thể nhận được trong phòng thí nghiệm, một hệ thống dung dịch khác thay thế hạn đất sẽ phù hợp hơn để đánh giá trong phòng thí nghiệm. Các dung dịch có tiềm năng thẩm thấu đặc thù như sodium clorid (NaCl), glycerol, sucrose, polyethylene glycol (PEG), và manitol phù hợp để thay thế hạn đất khi thực hiện đánh giá trong phòng thí nghiệm. Nhưng chất thẩm thấu có khối lượng phân tử thấp (sodium clorid, glycerol, sucrose, và manitol.) đi vào hạt nảy mầm là nguyên nhân gây độc cho hạt khi sử dụng. Các chất có khối lượng phân tử cao PEG (4000 hoặc hơn) là hỗn hợp phù hợp thay thế điều kiện hạn đất sử dụng để đánh giá và không có độc tố ảnh hưởng đến hạt (Manorha,1966 và Moore,1968). Dung dịch PEG- 6000 ở rất nhiều nồng độ và nhiệt độ khác nhau được dùng để xác định sức sống hạt giống(Michel và Kaufmann,1973). Tỷ lệ nảy mầm dưới những điều kiện như thế giảm đi rõ rệt và ảnh hưởng đến mầm nhiều hơn rễ mầm. Hạt giống có sức sống tốt là có khả năng chống chịu tốt hơn với điều kiện nhân tạo sử dụng PEG, do vậy đây là một phương pháp để xác định sức sống hạt giống.

- + Ưu điểm của phương pháp là không cần phương tiện và thiết bị đặc biệt và huấn luyện kỹ thuật cho cán bộ kiểm nghiệm
- + Nhược điểm là hạt nhỏ và hạt lớn nhu cầu nước khác nhau, hạt nhỏ cần ít nước hơn nên có khả năng nảy mầm tốt hơn khi cùng ngâm trong PEG

6.1.4.11 Phương pháp kiểm tra hô hấp

Sự nảy mầm của hạt và sinh trưởng của cây con yêu cầu sử năng lượng trao đổi chất nhận được từ quá trình hô hấp. Vì vậy giảm tỷ lệ hô hấp của hạt nảy mầm sẽ giảm sinh trưởng của cây con. Tỷ lệ hô hấp đo trong 18 giờ đầu của hạt nảy mầm có thể sử dụng để phát hiện sự gây hại của tia gama ở ngô, lúa miến, lúa mì, củ cải đỏ và lạnh gây hại ở đậu lima, cacao. Có tương quan thuận giữa tỷ lệ hút oxy trong quá trình hấp phụ và sinh trưởng cây con, nghiên cứu khác lại cho rằng mối liên hệ là không chắc chắn. Phương pháp đánh giá sức sống hạt giống thông qua tỷ lệ hô hấp thực hiện nhanh và số lượng mẫu lớn nhưng yêu cầu thiết bị như máy đo hô hấp và đào tạo cán bộ kỹ thuật. Những hạt bị dập vỡ cơ giới kết quả đo không chính xác.

6.2 Bệnh hạt giống và kiểm nghiệm bệnh hạt giống

Nhiều quốc gia trên thế giới kiểm nghiệm bệnh là một quy định bắt buộc trong kiểm nghiệm chất lượng hạt giống, kiểm nghiệm bệnh hạt giống có những yêu cầu trang thiết bị, dụng cụ và điều kiện nhất định. Thứ nhất có cây nhiễm bệnh lây bệnh lây nhiễm hạt, xây dựng tiêu chuẩn nhiễm bệnh làm cơ sở để đánh giá. Ví dụ 5% số hạt là ảnh hưởng đến giá trị kinh tế hạt giống và năng suất cây trồng ở mức có ý nghĩa.. Hơn nữa những quy định sản xuất hạt giống ở những khu vực không nhiễm sâu bệnh nhưng sâu bệnh có thể di chuyển từ vùng khác đến, do vậy kiểm nghiệm bệnh hạt giống là rất cần thiết. Phương pháp kiểm nghiệm bệnh hạt giống đã được cải tiến ở các nước phát triển như kiểm nghiệm bệnh vi khuẩn ở một số cây trồng quan trọng và kết quả là năng suất sản lượng cây trồng được cải thiện có ý nghĩa khi sử dụng hạt giống sạch bệnh.

6.2.1 Vi sinh vật trên hạt

Theo Sinclair, 1979 hạt giống là một thế giới vi mô của vi sinh vật, đặc biệt là nấm bệnh, vi khuẩn, virus và đôi khi cả giun tròn. Những vi sinh vật trên hạt trong nhiều khi là nguyên nhân gây bệnh trên cây con và cây trồng. Một số vi sinh vật sống trên bề mặt của hạt và không làm mất sức sống của hạt, chúng chỉ gây hại khi điều kiện môi trường thuận lợi. Những vi sinh vật này là nguyên nhân làm yếu rễ và cây con cũng như ảnh hưởng đến kết quả kiểm nghiệm nảy mầm hạt giống. Một số vi sinh vật khác sống ở các bộ phận của hạt như lá bắc, vỏ quả và vỏ hạt và xâm nhập vào cây con, mầm khi điều kiện thuận lợi. Một số sống và tồn tại bên trong hạt như mô của phôi và nội nhũ, mặc dù không gây hại ngay cho hạt nhưng có thể là mầm mống nảy mầm hay suy yếu cây con, một số có thể lây nhiễm vào cây trồng gây hại và ảnh hưởng đến năng suất.

6.2.2 Xử lý ngăn ngừa bệnh hạt giống

6.2.2.1 Xử lý trước thu hoạch

Xử lý bệnh hạt giống trước thu hoạch là một biện pháp ngăn ngừa bệnh hạt giống hữu hiệu và có thể thực hiện bằng ba phương pháp sau:

- 1) Chọn khu vực sản xuất sạch bệnh
- 2) Áp dụng kỹ thuật canh tác tiên bộ
- 3) Kiểm tra kỹ lưỡng và loại bỏ sớm cây bị sâu bệnh

Một trong những phương pháp sản xuất hạt giống ở môi trường hạn chế bệnh như sản xuất hạt giống đậu nỏ và đậu thức ăn gia súc ở California của Mỹ thực hiện ở khu vực khô, có tưới hạt giống không bị bệnh bạc lá (*Pseudomonas vulgaris*). Ngoài chọn nơi sản xuất cần áp dụng kỹ thuật sản xuất tiên bộ là một giải pháp ngăn ngừa bệnh hạt giống như:

- + Trồng giống sạch bệnh
- + Xử lý hạt giống (bằng thuốc hoá học) trước khi gieo trồng
- + Rắc hạt trên đồng cùng với thuốc trừ nấm, vi khuẩn và thuốc hoá học khác

- + Ngắt hay nhổ bỏ cây bị bệnh
- + Không tưới phun để tạo môi trường ẩm độ không khí thuận lợi cho nấm bệnh phát triển
- + Kiểm tra kỹ lưỡng trên đồng ruộng để ngăn ngừa, xử lý và loại bỏ cây bệnh trước khi thu hoạch.

6.2.2.2 Xử lý trong quá trình thu hoạch

Xử lý bệnh hạt giống trong quá trình thu hoạch và sau thu hoạch là giải pháp cuối cùng diệt trừ tận gốc bệnh hại trên hạt gồm các phương pháp:

- + Tẩy uế bề mặt hạt bằng hoá chất
- + Phân loại hạt bệnh và hạt sạch
- + Xử lý nước nóng
- + Xử lý chất kháng sinh hữu cơ

Xử lý chất kháng sinh và kháng sinh hữu cơ không chỉ xử lý trên bề mặt hạt một số chất có thể thấm vào trong hạt nên diệt cả bệnh nằm trong mô hạt. Xử lý nước nóng cần xem xét nhiệt độ nước diệt mầm bệnh nhưng không gây hại hạt giống.

6.2.3 Nấm bệnh liên kết với hạt

Nấm là nguyên nhân lớn nhất gây hại trên cây trồng, trên hoặc trong hạt phổ biến hơn bệnh vi khuẩn và virus. Hơn 8000 loài nấm hại cây trồng có trong hạt giống đã được nhận biết. Nấm hại hạt giống gồm hai loại ký sinh và hoại sinh. Nấm hoại sinh không lựa chọn ký chủ nên có thể tìm thấy trên hạt nhiều loài cây trồng nhưng nấm ký sinh có sự lựa chọn ký chủ nên tìm thấy trong phạm vi một số loài nhất định. Cả hai loại đều tìm thấy trên bề mặt hạt, lá bắc và trong vỏ hạt, nấm ký sinh có thể tự phát sinh trong hạt và nấm hoại sinh nguyên nhân lây nhiễm từ bên ngoài vỏ hạt, ngay cả dụng cụ nảy mầm không được khử trùng trước khi kiểm nghiệm cũng là nguyên nhân lây nhiễm nấm.

Nấm ký sinh gây thiệt hại sản lượng cây trồng rất lớn và là một vấn đề quan trọng trong sản xuất nông nghiệp vì:

- + Nấm ký sinh gây hại dẫn đến hạt không nảy mầm
- + Nấm ký sinh trên hạt sau đó phát tán bệnh trên đồng ruộng
- + Nấm ký sinh trên hạt trước thu hoạch làm giảm năng suất và chất lượng hạt

Nấm gồm tổ hợp các sợi sinh dưỡng gọi là sợi nấm, chúng sinh sản bằng bào tử như hạt ở thực vật bậc cao. Cũng như hạt cây trồng, bào tử nấm rất đa dạng về kích thước, màu sắc, chúng có kích thước nhỏ phải quan sát bằng kính hiển vi. Một số nấm không có bào tử giới tính mà sinh sản bằng các cấu trúc sinh dưỡng.

6.2.4 Phương pháp xác định bệnh nấm hạt giống

6.2.4.1 Kiểm tra nấm trên Agar

Đây là một phương pháp lâu đời và phổ biến nhất để kiểm tra bệnh nấm trên hạt. Agar là cacbohydrat trung tính chế từ rong biển, nó chứa một lượng nhỏ dinh dưỡng cho sinh trưởng của nấm, vì thế khi kiểm tra cần bổ xung thêm chất chiết từ cây như củ khoai tây, quả và rau.

Agar trung tính được pha chế như sau: agar dạng bột cộng lượng nước phù hợp và bổ sung dinh dưỡng làm môi trường. Hỗn hợp này được khử trùng trong nồi hấp 15

- 20 phút và làm lạnh đến 50°C và có thể cho thêm chất kháng sinh. Hỗn hợp rót cẩn thận vào đĩa petri , tránh làm nhiễm bẩn, để nguội sau 20 phút là có thể sử dụng được.

Hạt kiểm tra làm sạch bề mặt trước bằng NaOCl 1% (dung dịch Sodium Hypochlorite). Chuẩn bị dung dịch chất tẩy như sau: pha 20 phần nước tẩy (NaOCl = 5,25%) với 85 phần nước, những loại ký sinh ăn ngầm có thể pha đặc hơn. Công việc này để loại trừ nấm hoại sinh trên vỏ hạt có thể phát triển rất nhanh trên agar và ngăn cản hoặc che lấp nấm bệnh hạt phát triển chậm hơn. Thông thường 10 hạt được vệ sinh sau đó kiểm tra, từng hạt được kẹp và đặt lên mặt agar, đỉnh của kẹp được vệ sinh bằng cách nhúng nó trong cồn 70% rồi hơ qua ngọn lửa đèn cồn. Đôi khi vi khuẩn phát triển trên agar hoặc giấy thấm chiếm mất môi trường của nấm, ngăn cản nấm không phát triển dẫn đến nhận biết rất khó khăn. Khắc phục bằng cách cộng thêm chất kháng sinh streptomycin sulfate vào nồi hấp agar trung tính khi để nguội 50 - 55°C hoặc sử lý nước trong trường hợp kiểm tra bằng giấy thấm. Sau khi cấy đĩa petri được ủ 20 - 25°C khoảng 8 ngày với hạt nhiễm bệnh có thể nhận biết trên cơ sở đặc điểm của cơ quan sinh dưỡng và bào tử. Ngày nay có thể sử dụng đĩa petri nhựa thay thế thủy tinh cho phép tiết kiệm lao động và không phải làm sạch sau khi hay trước khi nuôi cấy

6.2.4.2 Phương pháp giấy thấm

Phương pháp kiểm tra bệnh hạt bằng giấy thấm tương tự như kỹ thuật kiểm tra nảy mầm, đặt hạt trên giấy thấm ẩm và ủ trong điều kiện thuận lợi cho nấm phát triển. Phương pháp bao gồm khi đã thấm nước đã khử trùng và cho nước bão hòa vào giấy thấm, nếu nước quá đậm thì gạn bớt đi trước khi đặt hạt với kẹp, tránh hạt dính liền nhau. Hạt trên giấy thấm có thể nảy mầm và sinh trưởng trên giấy thấm là một khó khăn khi kiểm tra bệnh hạt giống. Tình trạng này có thể khắc phục bằng kỹ thuật lạnh, cho hạt hấp thụ 24 giờ (48 đến 72 giờ đối với ngô) tiếp theo 24 giờ trong nhiệt độ - 15°C sau đó ủ bình thường cho nấm bệnh phát triển.(nhiệt độ 20 - 25°C với 12 giờ tối sáng trong chu kỳ 5 - 7 ngày). Nhiều loại nấm được kích thích phát triển bởi ánh sáng xanh và tối xen kẽ và tiếp theo được xác định như phương pháp agar.

6.2.4.3 Phương pháp tính độc

Kiểm tra tính độc là tách những nấm bệnh nghi ngờ từ kiểm tra trên agar và giấy thấm. Nuôi cấy trên agar để nhận biết bào tử và cơ quan dinh dưỡng của nấm rồi lây nhiễm lên cây trồng (thường là cây con) để quan sát triệu chứng bệnh, tiếp sau lại lấy nuôi cấy bệnh lại trên môi trường phù hợp để xác định chính xác. Phương pháp này Koch nêu thành lý thuyết và là phương pháp có thể nhận biết bất kỳ loại bệnh nào trên hạt. Lây nhiễm mầm bệnh lên cây có thể bằng chích hoặc phương pháp khác (Phun, rắc và trà cơ học)

6.2.4.4 Phương pháp không nuôi cấy

Một số loại bệnh trên hạt có thể quan sát qua mẫu hạt hoặc kỹ thuật không nuôi cấy đặc biệt, ví dụ nấm cự gà có thể quan sát thấy khi thấy có mặt của các vảy sừng tối và rất lớn khi tạo nên quả thể, nấm mốc ở các loại hạt hầu hết có thể quan sát được bằng mắt thường. Kiểm tra bằng quan sát cũng thể có hiệu quả với nấm than ở lúa mỳ, nấm hoa cúc ở lúa nước, những nấm này thường vỡ khi tuốt và làm sạch hạt

giống, nhưng nó phát tán đến các hạt khác trong lô hạt và ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng hạt giống.

Phương pháp xác định tỷ lệ nấm bệnh trong lô hạt bằng quan sát như sau:

1. Làm mềm các hạt bằng ngâm trong dung dịch NaOH qua đêm
2. Tách phôi bằng qua các tia nước âm và gạn lọc lại qua rây kiểu giấy bột
3. Rửa nhanh với dung dịch lactophenol và nước, các phôi sẽ nổi còn vỏ trấu và nội nhũ sẽ chìm xuống đáy có thể gạn đi
4. Đặt phôi đã tách trên đĩa thủy tinh đáy dày đã được khử trùng trước bằng đun trong lactophenol 10 đến 20 phút
5. Xếp phôi theo trật tự và kiểm tra sợi nấm trên kính hiển vi phóng đại

Phương pháp này kiểm tra được các loại nấm bệnh ăn sâu vào phôi hạt, tuy nhiên kiểm nghiệm bệnh hạt cần có những cán bộ chuyên môn được đào tạo để thực hiện và phân loại được chủng loại bệnh, như chủng nấm gì?

6.2.5 Bệnh nấm hoại sinh trên hạt giống

Nấm hoại sinh sinh trưởng ở các mô chết, mặc dù nó tồn tại trên toàn bộ hạt, nhưng chúng không là nguyên nhân gây bệnh cây trồng như nấm ký sinh, bào tử của nấm hoại sinh hầu như tồn tại khắp nơi trên hạt cũng như trong không khí. Chúng có số lượng rất lớn trên hạt đã và đang bảo quản và sẽ nảy mầm, sinh trưởng với số lượng vô cùng lớn với bất kỳ điều kiện bảo quản nào không vượt quá độ ẩm 75% và 15°C.

6.2.6 Bệnh vi khuẩn

6.2.6.1 Bệnh vi khuẩn hạt giống

Bệnh vi khuẩn hạt được kiểm nghiệm ở rất nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới như ở bắc Mỹ đã có 20 phòng thí nghiệm kiểm nghiệm bệnh vi khuẩn, hầu hết là kiểm nghiệm bệnh bạc lá của đậu, rau, cà chua và bắp cải

Bốn phương pháp kiểm nghiệm bệnh vi khuẩn cơ bản là:

- 1) Quan sát nhiễm vi khuẩn trên các đặc điểm ngoài vỏ hạt
- 2) Chuẩn đoán trên triệu chứng của cây khi lây nhiễm từ dịch chiết vi khuẩn từ lô hạt giống
- 3) Tách chiết vi khuẩn để nhận biết trực tiếp
- 4) Phối hợp các phương pháp trên

6.2.6.2 Phương pháp kiểm nghiệm bệnh vi khuẩn hạt giống

a) Kỹ thuật huyết thanh

Kỹ thuật huyết thanh trên cơ sở chuỗi phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể. Kỹ thuật này có thể nhận biết dương tính của cả vi khuẩn và virus, huyết thanh miễn dịch chứa trong kháng thể đặc thù chuẩn bị như sau : Kháng nguyên được nhiễm vào (vi khuẩn hay virus) trong máu của động vật, thường là thỏ, máu ngay lập tức chống lại kháng nguyên bằng tạo ra kháng thể. Huyết thanh miễn dịch dùng để kiểm tra có mặt của vi khuẩn trong hạt giống.

Phương pháp thực hiện: hạt giống được nghiền với nước tạo thành dung dịch trộn trong môi trường agar, huyết thanh đối kháng cho loại vi khuẩn đặc thù được đưa vào môi trường nếu xảy ra kết tủa chứng tỏ có mặt của kháng nguyên (vi khuẩn gây hại). Nếu không xảy ra kết tủa tác nhân bệnh không có mặt.

b) Gây nhiễm cây trồng

Gây nhiễm cây trồng là một phương pháp hữu ích để nhận biết vi khuẩn và virus đặc thù gây hại trong hạt giống. Phương pháp kiểm tra đơn giản và dễ thực hiện. Hạt kiểm tra được ngâm trong nước đã khử trùng trong vài giờ sau đó chất lọc lấy nước và lây nhiễm vào cây con, khoẻ mạnh. Đôi khi nghiền hạt thành dung dịch đồng nhất để lây nhiễm vào cây con. Lây nhiễm vào libe của cây để dịch nhiễm có thể chuyển đi toàn bộ cây. Sau khi lây nhiễm theo dõi chặt chẽ triệu chứng bệnh để đánh giá thông qua triệu chứng biểu hiện để xác định tác nhân gây bệnh. Một phương pháp thường được sử dụng, đặc biệt đánh giá bệnh virus hại hạt giống là chà sát một hỗn hợp của dịch hạt (dịch mẫu hạt) và chất độn kim loại lên bề mặt lá, chất độn châm vào mô và đưa nguồn bệnh vào cây và triệu chứng bệnh biểu hiện. Yêu cầu của phương pháp là sử dụng cây con khoẻ, sạch bệnh, trồng trong điều kiện vô trùng (nhà kính nhà lưới). Triệu chứng bệnh có thể biểu hiện sau 2 - 4 tuần lây nhiễm

6.2.7 Bệnh virus hạt giống

Corroll, 1979 đã ghi nhận có khoảng 200 loại virus gây bệnh ở cây trồng trong đó 100 loại đã được biết, còn 500 loại virus khác không gây bệnh hạt giống. Trong số này có 80 loại virus chuyển qua hạt, một số ít trên bề mặt hạt còn lại tồn tại bên trong hoặc bên ngoài phôi.

6.2.7.1 Kiểm nghiệm sinh học

Kiểm nghiệm sinh học gồm quan sát trực tiếp trên hạt hoặc trồng và quan sát triệu chứng trên cây trồng.

- + Kiểm nghiệm qua triệu chứng của cây con là quan sát triệu chứng phát triển bệnh trên cây con, kiểm nghiệm này đơn giản, ít tốn kém phù hợp để kiểm nghiệm từng hạt. Kiểm nghiệm thông qua biểu hiện triệu chứng trên cây con cũng có thể thực hiện bằng cách nghiền hạt hay cây con từ lô hạt kiểm tra, các bột nghiền lây nhiễm cơ học vào cây con khoẻ, quan sát triệu chứng bệnh phát triển nhận biết nguyên nhân gây bệnh.
- + Kiểm nghiệm trực tiếp trên hạt thực hiện cả trên hạt bình thường và hạt không bình thường, chiết dịch hạt lây nhiễm lên cây chỉ thị hay cây trồng rồi theo dõi phát triển và đặc điểm của triệu chứng bệnh trên cây con. Có thể kiểm tra 1 hạt hay hỗn hợp một số hạt

6.2.7.2 Kiểm nghiệm bệnh virus hạt bằng huyết thanh

Nguyên lý kiểm nghiệm bệnh virus hạt giống bằng huyết thanh tương tự như kiểm nghiệm bệnh vi khuẩn. Phương pháp trên cơ sở phản ứng giữa virus trong hạt hoặc dịch hạt với mẫu huyết thanh miễn dịch trong máu của động vật (thỏ). Có 5 kỹ thuật thử huyết thanh được Carroll đề xuất năm 1979.

a) Kỹ thuật khuếch tán kép:

Kỹ thuật khuếch tán kép được sử dụng phổ biến các phương pháp huyết thanh miễn dịch. Nó xét nghiệm hạt đơn hoặc từng phần của hạt. Thông thường hạt kiểm nghiệm được ngâm trong nước ri nhẹ. Khi toàn bộ hạt và phần hạt được nghiền và chuyển vào khoang cắt trong môi trường khuếch tán (thường là gel agar) sau đó đưa vào một huyết thanh miễn dịch chuyên biệt của virus nghi ngờ cần kiểm tra vào

khoang riêng. Trong thời gian đó các phân tử virus kháng nguyên và kháng thể khuếch tán về hai phía khác nhau. Sự khuếch tán về hai hướng khác nhau gọi là khếch tán kép. Khi hai phản ứng huyết thanh tiếp cận đến 1 điểm trong gel tại nơi tập trung tương đối của mỗi loại là đương lượng huyết thanh học. Phức hợp của phân tử kháng nguyên và kháng thể kết tủa cố định. Sự kết tủa xuất hiện như một dải trắng ở một số điểm giữa hai khoang. Để phát hiện virus có một cấu trúc kéo dài bằng kỹ thuật khuếch tán, khi chuẩn bị hạt phải xử lý một số tác nhân phá vỡ hoặc làm suy giảm virus kháng nguyên để tăng khuếch tán của virus trong hạt (kháng nguyên) trên agar. Tác nhân suy giảm virus thường được sử dụng là sodium dodecyn sulfat (Na_2SO_4). Phương pháp khá đặc thù bởi vì sự độ nhạy chuẩn đoán ở nồng độ virus 10 - 25 $\mu\text{g/ml}$.

b) Kỹ thuật khuếch tán toả tròn (*Radial difussion Test*)

Phương pháp khuếch tán toả tròn hoặc khuếch tán đơn giống như kỹ thuật khuếch tán kép nhưng nó chỉ khuếch tán virus kháng nguyên trong khoang của môi trường agar. Huyết thanh chứa kháng thể với một virus đặc thù được đưa vào môi trường agar trong cùng khoang với hạt hoặc cây con, nếu virus có mặt chúng sẽ khuếch tán trong khoang. Khi chúng kéo dài đến bề mặt khoang chúng phối hợp với kháng thể để kết tủa ở vùng gặp nhau hình thành chuỗi hoặc quầng xung quanh của khoang. Thông thường một huyết thanh miễn dịch từ thỏ cho phép kiểm nghiệm với virus đã được làm suy yếu được sử dụng khi thực hiện phương pháp. Phương pháp này rất nhạy, nhanh và có thể phát hiện virus với lượng nhỏ 1 $\mu\text{g/ml}$ virus suy yếu trong vài phút hay vài giờ.

c) Phương pháp Kiểm tra nhựa mủ (*Latex flocculation test*)

Sự kết bông nhựa mủ là một phương pháp huyết thanh sinh học khác được thực hiện như sau: xay 100 hạt sau đó 0,1g hạt xay cho vào 2 ml dung dịch đệm để cho vào cối giã nghiền. Khoảng 20 ml của dịch chiết hạt này cho vào pipet 100ml và 10 ml với nhựa mủ đánh dấu đã có trong đó. Nhựa mủ đánh dấu bao gồm huyền phù của polystyrene nhựa mủ hình cầu (đường kính khoảng 0,81 μm). Nhựa mủ hình cầu nhạy cảm hoặc bao trùm tế bào kháng thể cho một virus đặc thù. lắc pipet khoảng 15 phút và quan sát dưới kính hiển vi phân lớp. Khi virus có mặt trong mẫu kiểm tra Nhựa mủ huyền phù sẽ kết bông

d) Phương pháp Enzyme-linked immunosorbent Assay (*ELISA*)

Kỹ thuật ELISA có độ nhạy cao, một số nghiên cứu cho rằng có thể phát hiện virus ở nồng độ 0,1 $\mu\text{g/ml}$. Phương pháp sử dụng phát hiện virus đốm vòng ở hạt thuốc lá, khảm ở hạt đậu tương với tỷ lệ rất thấp (1 - 4%). Phương pháp cần có kỹ thuật, trang thiết bị và khá tốn kém thường được sử dụng kiểm nghiệm nhưng hạt và giống cây trồng quý và giá trị cao

CHƯƠNG 7:

NGUYÊN LÝ CƠ BẢN CỦA KỸ THUẬT SẢN XUẤT HẠT GIỐNG CÂY TRỒNG

Từ những năm cuối những năm 1950 các hạt giống cây trồng chất lượng cao đã được phổ biến rộng rãi trong sản xuất. Kèm theo nó là công cụ canh tác cải tiến, phân bón, phương pháp phòng trừ cỏ dại, sâu bệnh đã tạo ra cuộc cách mạng trong sản xuất nông nghiệp. Công nghệ sản xuất hạt giống đóng một vai trò quan trọng trong cuộc cách mạng này. Sản xuất hạt giống đã giúp tăng nhanh số lượng, đảm bảo chất lượng, duy trì nguồn gen hiện có hoặc mới tạo ra và thỏa mãn số lượng hạt giống cho nhu cầu ngày càng tăng của nông dân. Hạt giống là một vật liệu sống có những yêu cầu đặc thù, do vậy sản xuất cần dựa trên những nguyên lý khoa học để nâng cao năng suất và đảm bảo chất lượng hạt giống.

7.1 Khái niệm và vai trò của sản xuất hạt giống và nhân giống

7.1.1 Khái niệm

Sản xuất hạt giống là tạo và thu hoạch hạt hay cây con từ những thực liệu thực vật nhằm mục đích phân phối, cất trữ và kinh doanh. Quá trình sản xuất sử dụng kỹ thuật đặc thù để giữ nguyên được kiểu gen của thực liệu gốc, có sức sống, sức khỏe và giá trị gieo trồng tốt, cho năng suất cao ở thế hệ sau.

7.1.2 Vai trò của sản xuất giống

7.1.2.1 Bảo tồn kiểu gen hiện có hay kiểu gen mới tạo ra

Sản xuất hạt giống của các cây trồng hay thực liệu thực vật hiện có như cây hoang dại, giống địa phương, giống tạo thành cung cấp cho nghiên cứu hoặc sản xuất thương phẩm. Quá trình nhân tăng số lượng hạt chính là quá trình sản xuất hạt giống, trong các thế hệ nhân những kỹ thuật cơ bản của sản xuất hạt giống được áp dụng để giữ nguyên kiểu gen. Chính vì thế sản xuất hạt giống có vai trò bảo tồn kiểu gen cho sử dụng lâu dài, góp phần đa dạng nguồn gen thực vật.

7.1.2.2 Duy trì giống

Duy trì được áp dụng với giống cây trồng đã có hạt giống tác giả hoặc siêu nguyên chủng. Quy trình sản xuất duy trì cấp giống này và cung cấp hạt cho sản xuất các cấp thấp hơn như hạt nguyên chủng, xác nhận.

7.1.2.3 Phục tráng giống

Giống cây trồng sau một số lần nhân không có chọn lọc hoặc do nhiều nguyên nhân khác dẫn đến sai lệch di truyền so với giống gốc gọi là hiện tượng thoái hoá giống. Sản xuất hạt giống sử dụng phương pháp khác nhau để đưa trở lại đúng nguyên bản ban đầu của nguồn gen gọi là phục tráng giống.

7.2 Phương thức sinh sản và sự ổn định di truyền tương đối của giống

7.2.1 Phương thức sinh sản

Dựa trên phương thức sinh sản, cây trồng có thể phân thành 3 nhóm chính: Nhóm cây tự thụ phấn, nhóm cây giao phấn và nhóm cây sinh sản vô tính.

- + Nhóm cây tự thụ phấn chuyển phần từ bao phấn đến đầu nhụy cái trong cùng một hoa hay cùng một cây. Quần thể ổn định qua các lần nhân nếu đảm bảo tự thụ phấn hoàn toàn, yêu cầu quần thể khi nhân giống không lớn chỉ cần số cây tối thiểu để đảm bảo đa dạng di truyền, khoảng cách cách ly nhỏ hơn cây giao phấn
- + Cây giao phấn là phần được thụ cho nhụy hoa khác của cùng một cây hay khác cây quá trình giao phấn này nhờ các tác nhân thụ phấn như gió, côn trùng hay tác động của con người. Cây giao phấn ổn định quần thể nếu đảm bảo tự do thụ phấn hoàn toàn và tổ hợp cân bằng gen của quần thể. Nếu tự phối hay quần thể quá nhỏ dẫn đến cận phối và suy thoái, biểu hiện suy giảm sức sống và xuất hiện các tính trạng lặn và gây hại. Như vậy sản xuất giống ở cây giao phấn cần quần thể lớn đảm bảo mức độ đa dạng di truyền cao (đa dạng của cùng giống). Sản xuất giống ở cây giao phấn cũng phải tránh giao phấn với các giống khác trong cùng loài hoặc khác loài để duy trì đúng kiểu gen hiện có.
- + Cây sinh sản vô tính khi sản xuất giống cần tránh nguyên nhân làm suy thoái di truyền như nhiễm bệnh, điều kiện canh tác và kỹ thuật nhân giống

7.2.2 Sự ổn định tương đối của giống

Giống cây trồng là một tập hợp những cá thể có cùng nguồn gốc, cùng kiểu gen vì vậy tương đối đồng nhất về kiểu hình như hình thái, màu sắc và các đặc điểm nông sinh học khác. Nói cách khác giống ổn định tương đối về mặt di truyền, năng suất, phẩm chất, khả năng thích ứng và chống chịu qua các thế hệ nhân. Tính ổn định của giống biểu hiện ở nhiều tính trạng nhưng những điểm cơ bản là:

- **Ổn định tương đối về hình thái** : hình thái chiều cao, thời gian sinh trưởng, chiều cao đóng bắp, màu sắc thân lá, màu sắc hạt...
- **Ổn định tương đối về năng suất**: tính trạng năng suất do nhiều yếu tố tác động đến, một số yếu tố tương đối ổn định như khối lượng 1000 hạt, độ lớn của hạt, số quả trên cây, khối lượng quả...
- **Ổn định về phẩm chất chất lượng**: như hàm lượng các chất dinh dưỡng đường, protein, amylose...

Sự ổn định của giống kiểu gen quyết định, tuy nhiên cũng bị tác động của điều kiện môi trường. Tùy theo mức độ phản ứng của kiểu gen với môi trường mà mức độ thay đổi kiểu hình khác nhau.

7.2.2.1 Phương thức sinh sản và động thái di truyền quần thể cây tự thụ phấn

Cấu tạo của cơ quan sinh sản là nhụy và nhị thường trong cùng một hoa (hoa lưỡng tính), nhụy thường có vị trí thấp hơn nhị để quá trình nhận phấn thuận lợi, hoa cấu tạo thường nhỏ, không màu sắc, mùi vị. Kết quả quá trình tự thụ phấn là hạt để duy trì nòi giống và cũng chính là vật liệu làm giống. Chất lượng của nguồn vật liệu này

phụ thuộc vào độ thuần, sức sống và sức khỏe của hạt, quá trình tự thụ phấn hoàn toàn quyết định độ thuần di truyền của quần thể giống. Mức đồng nhất, ổn định của quần thể cây tự thụ phấn từ thế hệ này qua thế hệ khác là do tự thụ phấn hoàn toàn, nếu giao phấn trạng thái ổn định di truyền bị phá vỡ. Do vậy sản xuất giống ở cây tự thụ phấn cần quan tâm đến kỹ thuật đảm bảo cho quần thể tự thụ phấn hoàn toàn. Động thái di truyền quần thể cây tự thụ phấn luôn luôn có xu hướng trở về trạng thái đồng hợp nếu tự thụ phấn nghiêm ngặt.

Ví dụ : quần thể F1 là lai giữa hai bố mẹ có kiểu gen AA và aa có tỷ lệ dị hợp 100% nhưng những thế hệ tiếp theo nếu tự thụ phấn, số cá thể

P1; P2	AA		aa		Dị hợp(%)	Đồng hợp(%)
F1		↓			100	0
		Aa				
F2	AA	↙	2Aa	↘	50	50
F3	4AA	2AA	4Aa	2aa	25	75

Như vậy tần suất dị hợp $= (1/2)^n$

tần suất đồng hợp $= (1 - 1/2)^n$

Số cá thể đồng hợp tăng dần qua các thế hệ tự thụ phấn, là điều kiện ổn định của quần thể cây tự thụ phấn

7.2.2.2 Phương thức sinh sản và động thái di truyền quần thể cây giao phấn

Cây giao phấn là một quần thể giao phối hoàn toàn tự do và ngẫu nhiên, nó có thể nhận phấn và cho phấn hoa khác, cây khác và thậm chí ngay của chính nó. Quá trình này có thể nhờ tác nhân thụ phấn là gió hay côn trùng. Cấu tạo hoa của cây giao phấn có những đặc điểm đặc thù như hoa lớn, màu sắc sặc sỡ, có mùi thơm hay túi mật, nhụy và nhụy không chín cùng thời điểm phù hợp với giao phấn. Quần thể cây giao phấn ổn định di truyền từ thế hệ này qua thế hệ khác là do giao phấn và ở trạng thái cân bằng di truyền được Hardy Weinberg (Hardy 1908 và Weinbrg 1909)

"Gen và tần suất kiểu gen trong một quần thể mendel là một hằng số từ thế hệ này sang thế hệ khác , nếu không có chọn lọc, đột biến, lẫn tạp hay thay đổi ngẫu nhiên"

Mỗi cây có cơ hội cho phấn và nhận phấn như nhau (ngang bằng) do vậy ổn định di truyền khi giao phối với quần thể lớn và khi tần suất kiểu gen không thay đổi từ thế hệ này qua thế hệ khác quần thể đó gọi là quần thể ở trạng thái cân bằng di truyền Hardy Weinberg xác định bằng phương trình :

$$p^2 + 2p(1 - p) + (1 - p)^2$$

p là tần suất của 1 alen và 1 - p là tần suất của 1 alen khác. Tổng tần suất của 2 alen = 1, nếu gọi kiểu gen khác là q ta có phương trình $p^2 + 2pq + q^2$

Ví dụ minh họa : Giả sử một quần thể cây giao phấn có 4 bố mẹ, trong đó 2 có kiểu gen Bb và 2 có kiểu gen BB như vậy tần suất kiểu gen B = $6/8 = 0,75$ và b = $2/8 =$

0,25. Quần thể ở trạng thái cân bằng Hardy Weinberg thì có tần xuất kiểu gen như sau :

$$(0,75)^2 + 2(0,75)(0,25) + (0,25)^2 = 0.56 + 0.38 + 0.06$$

Chứng minh quần thể trên ổn định trạng thái cân bằng gen và tần suất kiểu gen qua một thế hệ nếu quần thể tự do thụ phấn hoàn toàn. Trường hợp thứ nhất nếu 4 bố mẹ trên chỉ thực hiện một chiều cho phấn hay nhận phấn, gen và tần suất kiểu gen sẽ là **0,54 + 0,42 + 0,04** chưa trở về trạng thái ban đầu.

	BB	Bb	bb
Bb1 x Bb2	1	2	1
Bb1 x BB1	2	2	
Bb1 x BB2	2	2	
Bb2 x BB1	2	2	
Bb2 x BB2	2	2	
BB1 x BB2	4		
Tổng	13	10	1
Tần xuất kiểu gen	0.54	0.42	0.04

Trường hợp thứ 2: nếu đảm bảo tự do thụ phấn hoàn toàn bao gồm cả thuận, nghịch và tự thụ phấn sẽ có tần xuất như sau:

	BB	Bb	bb
6 tổ hợp lai thuận trên	13	10	1
6 tổ hợp lai nghịch củ nó	13	10	1
Tự thụ phấn Bb1	1	2	1
Tự thụ phấn của Bb2	1	2	1
Tự thụ phấn của BB1	4		
Tự thụ phấn của BB2	4		
Tổng	36	24	4
Tần xuất kiểu gen	0.56	0.38	0.06

Tần suất trên là đúng với trạng thái cân bằng Hardy Weinberg của quần thể 4 bố mẹ ban đầu. Chứng tỏ quần thể cây giao phấn ổn định di truyền qua các thế hệ nhân nếu hoàn toàn tự do thụ phấn. Đây là một nguyên lý rất cơ bản cho kỹ thuật sản xuất hạt giống thụ phấn tự do ở cây giao phấn

7.2.2.3 Phương thức sinh sản và động thái di truyền quần thể cây sinh sản vô tính sinh dưỡng

Cây sinh sản vô tính có hai nhóm là hoàn toàn sinh sản vô tính sinh dưỡng như chuối, dứa, hành, tỏi, hoàng tinh, hoàng đào... và nhóm vừa có khả năng sinh sản hữu tính vừa có khả năng sinh sản vô tính như cây ăn quả, khoai lang, khoai tây. Bộ phận nhân giống là củ, thân giả, mắt, cành, thân ngầm, đoạn cành, rễ, lá... đặc thù của các loài cây sinh sản vô tính quần thể là đồng nhất từ thế hệ này qua thế hệ khác. Những cây được nhân ra từ cây mẹ ban đầu gọi là một dòng vô tính có kiểu gen

giống cây mẹ. Những tác động dẫn đến suy thoái nhân giống vô tính sinh dưỡng có thể xảy ra như sau:

Do nhiễm bệnh trong quá trình sản xuất hay nhân giống

Sự không đồng nhất về kiểu hình khi nhân ở những pha khác nhau của cây mẹ

Do môi trường sản xuất và nhân giống không phù hợp dẫn đến suy thoái

7.3 Sự thoái hoá giống

7.3.1 Những biểu hiện của sự thoái hoá

Sự thay đổi về hình thái, năng suất, chất lượng sản phẩm và khả năng chống chịu theo xu hướng xấu của giống cây trồng sau một số lần nhân gọi là hiện tượng thoái hoá giống. Sự thoái hoá xảy ra ở tất cả các loài và giống cây trồng, trên cả tính trạng số lượng, chất lượng và chống chịu.

7.3.2 Nguyên nhân thoái hoá giống

Nguyên nhân gây thoái hóa giống chia thành 6 nhóm chính:

- Lấn cơ giới
- Lấn sinh học
- Đột biến tự nhiên
- Hiện tượng phân ly
- Sự tích lũy bệnh
- Điều kiện gieo trồng không phù hợp

7.3.2.1 Lấn cơ giới

Lấn cơ giới là lấn giống sản xuất với giống khác xảy ra trong quá trình sản xuất, thu hoạch, chế biến và bảo quản. Đây là một nguyên nhân nguy hiểm dẫn đến thoái hoá giống đặc biệt khi lấn hệ thống và hệ số nhân của giống lấn lớn hơn hệ số nhân của giống cơ bản.

Ví dụ: lấn cơ giới 1 lần và giống lấn có hệ số nhân (HSN) thấp hơn giống cơ bản, giả sử HSN của giống cơ bản = 10, giống lấn = 8, số hạt giống cơ bản ban đầu là 1000 hạt, hạt giống khác lấn trong lô hạt giống là 2. Tỷ lệ lấn cơ giới qua 4 lần nhân như sau

Bảng 7.1: Tỷ lệ lấn qua các lần nhân trường hợp lấn 1 lần

Số lần gieo	Số hạt		Tỷ lệ lấn(%)
	Giống cơ bản	Giống lấn	
Bắt đầu	1000	2	0,20
Lần nhân thứ nhất	10.000	16	0,16
Lần nhân thứ 2	10.0000	128	0,13
Lần nhân thứ 3	1.000.000	1024	0,10
Lần nhân thứ 4	10.000.000	8192	0,08

Nếu lấn 1 lần mà hệ số nhân của giống lấn nhỏ hơn giống cơ bản thì tỷ lệ lấn giảm dần, nhưng lấn hệ thống vẫn gây thoái hóa giống nghiêm trọng. Công thức tính tỷ lệ lấn lần nhân thứ n được tính bằng công thức sau:

$$Z_n = Z + Zk + Zk^2 + Zk^3 + Zk^4 + \dots Zk^n$$

Trong đó: Z_n là tỷ lệ lấn lần thứ n (%)

Z là tỷ lệ lẫn hệ thống (%)

k là biểu diễn tỷ lệ hệ số nhân của giống lẫn so với giống cơ bản

7.3.2.2 Lẫn sinh học

Lẫn sinh học do các ly không đảm bảo, giống cơ bản nhận phần của các giống khác, loài khác trong khu vực sản xuất dẫn đến phân ly tạo ra các cá thể khác dạng ở lần nhân tiếp theo. Lẫn sinh học xảy ra cả với cây tự thụ phấn và cây giao phấn nhưng cây giao phấn gây ra thoái hóa nhanh và nghiêm trọng hơn.

7.3.2.3 Đột biến tự nhiên

Cây trồng trên đồng ruộng chịu ảnh hưởng của môi trường, những tác nhân của môi trường như bức xạ, thay đổi ôn độ, nhiệt độ đột ngột... gây ra các đột biến tự nhiên

7.3.2.4 Hiện tượng phân ly

Những giống cây trồng, dòng bố mẹ được chọn lọc tạo thành từ nguồn vật liệu gây biến dị bằng lai, đột biến...nhưng không thể chọn đồng hợp trên tất cả các cặp gen. Vì vậy trong quá trình gieo trồng nhưng cặp gen dị hợp tiếp tục phân ly gây ra thoái hóa giống.

7.3.2.5 Tích lũy bệnh

Tích lũy bệnh là nguyên nhân thoái hóa giống, đặc biệt bệnh virus. Sản xuất giống một loài cây trồng trên một khu đất trong nhiều vụ, nhiều năm dẫn đến tăng mức độ bệnh gây ra thoái hóa giống. Diễn hình thoái hóa giống do nguyên nhân tích lũy bệnh ở cây họ cà, cây họ thập tự.

7.3.2.6 Kỹ thuật sản xuất không phù hợp

Điều kiện sản xuất không phù hợp gây thoái hóa giống thông qua chất lượng hạt giống kém, thay đổi di truyền hay nhiễm bệnh

7.3.3 Biện pháp khắc phục thoái hóa giống

Để khắc phục hiện tượng thoái hóa giống cần áp dụng các kỹ thuật sản xuất tiên bộ và đặc thù cho mỗi loài cây trồng. Những biện pháp chung được tóm tắt trong bảng sau:

Bảng 7.2 Nguyên nhân thoái hóa giống và biện pháp khắc phục

Nguyên nhân	Biện pháp khắc phục
1. Lẫn cơ giới	1. Có khu sản xuất giống riêng 2. Vệ sinh dụng cụ, máy móc, đồng ruộng, sân phơi, nhà kho và dụng cụ chứa trước khi sản xuất 3. Loại bỏ cây khác dạng, hạt khác dạng
2. Lẫn sinh học	4. Cách ly theo đúng quy định 5. Khử bỏ cây khác dạng
3. Đột biến tự nhiên	6. Sản xuất trong điều kiện, mùa vụ phù hợp 7. Loại bỏ cây khác dạng
4. Phân ly	8. Loại bỏ cây khác dạng
5. Do tích lũy bệnh	9. Luân canh cây trồng

	10. Thay đổi khu vực sản xuất 11. Vệ sinh đồng ruộng 12. Áp dụng kỹ thuật IPM
6. Do Kỹ thuật sản xuất hạt giống	13. Áp dụng kỹ thuật tối ưu đối với loài cây trồng khi sản xuất hạt giống

7.4- Các cấp hạt giống

Các cấp hạt giống là một lĩnh vực liên quan đến luật giống cây trồng, tiêu chuẩn phẩm cấp, kỹ thuật và phương pháp kiểm nghiệm để cấp chứng chỉ cấp hạt giống. Những vấn đề này được trình bày tại chương kiểm nghiệm cấp chứng chỉ hạt giống.

7.4.1 Hệ thống các cấp hạt giống Việt Nam

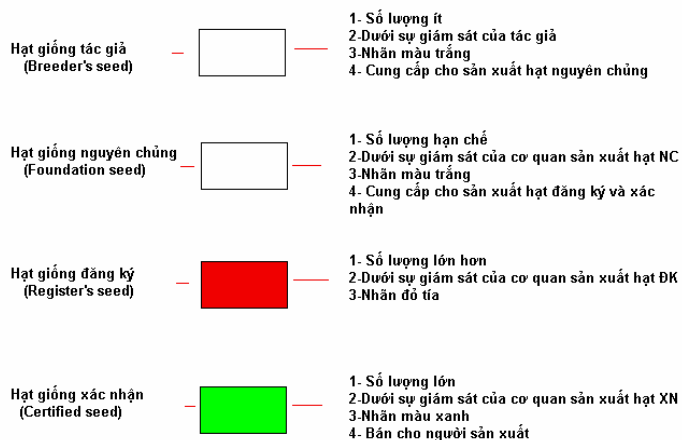
- 1) Dòng (line): Là quần thể nhỏ được hình thành từ một tập hợp các cây sinh ra từ một quả, một bông, hạt của dòng nhân theo quy trình quy định với mỗi giống và loài cây trồng. Hạt của dòng cũng có các cấp hạt như hạt giống.
- 2) Gia đình (Family): Là một quần thể được bắt nguồn từ một dòng, hạt giống của các gia đình được nhân theo tiêu chuẩn giống hỗn hợp, giống nhiều dòng
- 3) Hạt giống tác giả (Breeder seed) còn gọi là hạt giống gốc: Là hạt giống do tác giả chọn tạo giống sản xuất, đạt tiêu chuẩn chất lượng theo quy định của TCN hoặc TCVN.
- 4) Hạt siêu nguyên chủng (Pre-basic seed): Là lô hạt giống nhân ra từ giống tác giả hoặc phục tráng từ hạt giống sản xuất, đạt tiêu chuẩn chất lượng theo quy định của TCN hoặc TCVN..
- 5) Hạt nguyên chủng (Basic seed): Là lô hạt được nhân ra từ lô hạt siêu nguyên chủng theo quy trình kỹ thuật được quy định của Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn và đạt tiêu chuẩn quy định của TCN hoặc TCVN..
- 6) Hạt xác nhận (Certified seed) : Là lô hạt được nhân ra hạt nguyên chủng theo quy trình kỹ thuật được quy định của Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn và đạt tiêu chuẩn quy định của TCN hoặc TCVN..
- 7) Hạt giống lai F1 : (Hybrid seed F1): Là hạt giống của các tổ hợp lai giữa các dòng bố mẹ đã được công nhận giống, tuân thủ quy trình sản xuất hạt giống lai và đạt tiêu chuẩn phẩm cấp quy định theo TCN hoặc TCVN.

7.4.2 Hệ thống các cấp hạt giống trên thế giới

Theo hiệp hội các cơ quan xác nhận giống Hoa Kỳ hạt giống được phân làm 4 cấp như sau :

- 1) Hạt giống tác giả (Breeder seed) được sản xuất dưới sự giám sát trực tiếp của tác giả giống và đảm bảo tính xác thực của giống.
- 2) Hạt giống nguyên chủng (Foundation seed) là thế hệ nhân đầu tiên từ hạt giống tác giả. Nó được sản xuất tại các cơ quan hay cá nhân sản xuất giống nguyên chủng dưới sự giám sát của cơ quan có chức năng sản xuất giống nguyên chủng.

- 3) Hạt giống đăng ký (Register seed) Đây là hạt giống được nhân từ giống nguyên chủng nhằm tăng lượng hạt giống trước khi sản xuất giống xác nhận. cấp hạt giống này chưa có mục đích đưa ra sản xuất.
- 4) Hạt giống xác nhận (Certified seed) Được nhân ra từ giống nguyên chủng hay giống đăng ký. Nhân số lượng lớn đưa ra sản xuất.



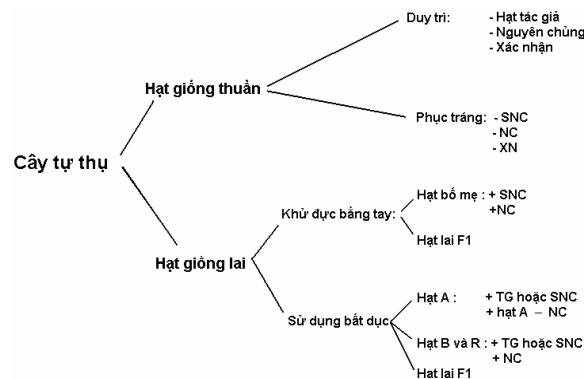
Hình 7.1 Các cấp hạt giống của Hoa Kỳ

Hiệp hội giống và hạt giống Châu Âu quy định theo 3 cấp là hạt giống tác giả (Breeder's seed), hạt giống nguyên chủng (Foundation seed) và hạt giống xác nhận (Certified seed)

CHƯƠNG 8

KỸ THUẬT SẢN XUẤT HẠT GIỐNG CÂY TỰ THỤ PHẦN

Nhóm cây tự thụ phần bao gồm nhiều họ, chi và loài có đặc điểm, phương thức sinh sản khác nhau, do vậy bên cạnh những nguyên lý chung về công nghệ cần có những kỹ thuật đặc cho từng loài, từng giống khác nhau. Hạt giống thuần của cấp hạt tác giả và siêu nguyên chủng nhóm cây tự thụ phần có hai hệ thống sản xuất là: hệ thống duy trì và hệ thống phục tráng giống. Hệ thống duy trì áp dụng khi đã có hạt tác giả hay hạt siêu nguyên chủng cần duy trì cấp hạt giống này để cung cấp cho sản xuất hạt giống nguyên chủng hàng vụ hay hàng năm. Hệ thống phục tráng áp dụng với những giống đã thoái hóa nhưng sản xuất có nhu cầu, cần tiến hành phục tráng tạo lập hạt giống siêu nguyên chủng. Hạt giống ưu thế lai F1 qua hai giai đoạn sản xuất, giai đoạn thứ nhất nhân dòng bố mẹ với cấp hạt SNC, NC, xác nhận và giai đoạn thứ hai sản xuất hạt lai.



Hình 8.1: Các loại và cấp hạt giống ở cây tự thụ phần

8.1 Sản xuất hạt giống thuần ở cây tự thụ phần

8.1.1 Sản xuất duy trì hạt giống tác giả hoặc hạt giống siêu nguyên chủng

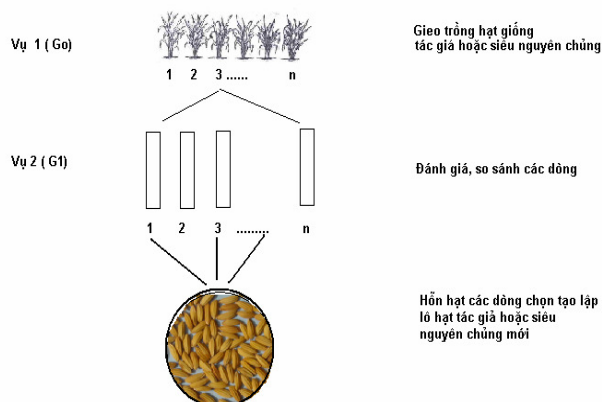
Sản xuất duy trì áp dụng với những giống đã có hạt tác giả hoặc giống đã có hạt siêu nguyên chủng. Hệ thống duy trì thực hiện trong hai vụ tạo lập được lô hạt tác giả hay siêu nguyên chủng thế hệ mới.

Vụ 1: Gieo trồng vườn vật liệu duy trì

Kỹ thuật gieo trồng tối ưu với loài cây trồng đó, những kỹ thuật khác biệt với sản xuất thương phẩm bao gồm:

- + Chuẩn bị lô hạt tác giả hoặc SNC (có chứng chỉ cấp hạt giống) số lượng tùy thuộc vào loài cây trồng và lượng hạt tác giả (SNC) sản xuất yêu cầu, nhưng quần thể tối thiểu để chọn được 1500 cá thể.
- + Chọn đất tốt, thuận lợi tưới tiêu và có hệ thống giao thông nội đồng tốt
- + Cách ly theo quy định đối với mỗi loài cây trồng như lúa thuần 20m,
- + Gieo trồng 01 cây, 01 hạt, 01 hom trên khóm

- + Mật độ thưa hơn sản xuất thương phẩm và áp dụng kỹ thuật chăm sóc tối ưu với loài cây trồng và giống
- + Chọn lọc những cá thể tốt nhất, sạch bệnh, khỏe mạnh và đúng giống thu riêng, phơi riêng để gieo trồng đánh giá dòng ở vụ 2



Ghi chú: G (generation) là thế hệ chọn nhân dòng
 Hình 8.2: Sơ đồ sản xuất duy trì hạt giống ở cây tự thụ phấn

Vụ 2: Đánh giá và chọn dòng

- + Mỗi cá thể thu được ở vụ 1 gieo thành 01 hàng hay 01 ô nhỏ gọi là 01 dòng
- + Kỹ thuật gieo trồng như vụ 1, các dòng cách nhau 30 – 40 cm để thuận tiện cho theo dõi, đánh giá và chọn lọc
- + Theo dõi mỗi dòng 30 cá thể trên các tính trạng quan trọng, loại bỏ cây khác dạng, cây sâu bệnh, cây xấu và cây còi cọc
- + Chọn những dòng tốt nhất, đúng giống (có thể dùng chỉ số chọn lọc để chọn những dòng tốt nhất, đúng giống).
- + Hỗn hợp hạt của các dòng chọn tạo lập lô hạt tác giả hay lô hạt siêu nguyên chủng mới

Thực hiện kiểm định đồng ruộng và kiểm định trong phòng theo quy định để có chứng chỉ hạt giống, lô hạt giống duy trì có thể lưu thông trên thị trường.

8.1.2 Sản xuất phục tráng tạo lập lô hạt siêu nguyên chủng

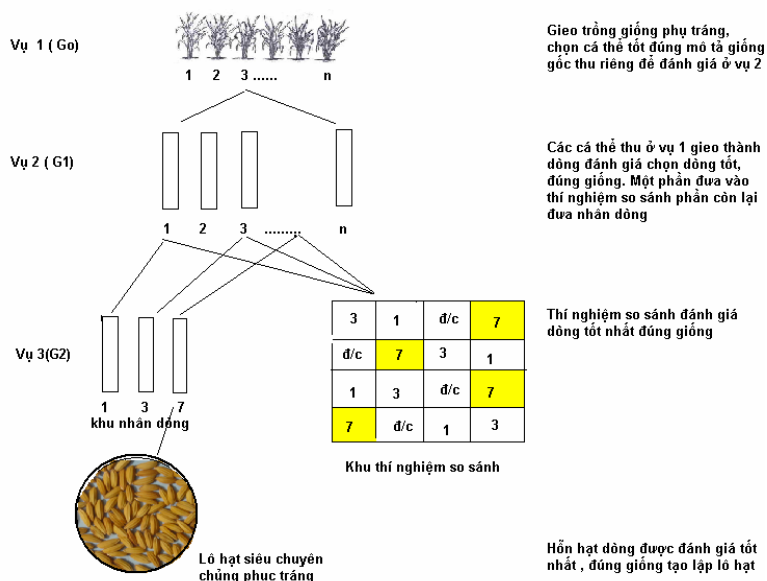
Phục tráng áp dụng với những giống đang sử dụng trong sản xuất nhưng đã có biểu hiện thoái hóa hoặc đã thoái hóa. Đặc biệt những giống không rõ nguồn gốc hay tác giả chọn tạo.

Điều kiện phục tráng:

- + Sản xuất có nhu cầu hạt giống của giống cây trồng đó
- + Có bản mô tả giống gốc hoặc tài liệu có liên quan làm cơ sở phục tráng
- + Cán bộ chuyên môn sâu và nắm vững đặc điểm của giống

Vụ 1: Gieo trồng vật liệu và chọn dòng.

Chọn cây, chọn bông để tạo dòng là công việc đầu tiên phải làm trong trình tự phục tráng một giống đã bị thoái hoá. Kỹ thuật gieo trồng vườn vật liệu như phương pháp duy trì. Căn cứ vào bản mô tả giống gốc để chọn những cá thể tốt nhất, đúng mô tả của giống gốc, sạch bệnh thu riêng để gieo trồng đánh giá dòng ở vụ 2.



Hình 8.3: Sơ đồ phục tráng hạt giống ở cây tự thụ phấn

Vụ 2: So sánh dòng và chọn dòng các dòng tốt, đúng giống

Các cá thể thu được ở vụ 1 gieo riêng thành hàng hay ô nhỏ, theo dõi và đánh giá các dòng. Số cây theo dõi trên một dòng ít nhất là 30 cây (khóm), tính giá trị trung bình của mỗi chỉ tiêu đánh giá chọn ra 25 - 30 dòng tốt nhất thông qua quan sát đánh giá trên đồng ruộng và áp dụng chỉ số chọn lọc chọn số dòng này để đưa sang so sánh và nhân dòng.

Vụ 3: So sánh và nhân dòng chọn

Các dòng được chọn ở vụ 2, chia hạt thành 2 phần, một phần thực hiện thí nghiệm so sánh dòng và một phần đưa sang nhân dòng cách ly.

- + Khu thí nghiệm so sánh các dòng bố trí thí nghiệm khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCB) với 4 lần nhắc lại và có đối chứng. Đối chứng cho thí nghiệm này có thể sử dụng 2 đối chứng là quần thể ban đầu và giống tiêu chuẩn. Thu thập số liệu, phân tích đánh giá để xác định dòng tốt nhất, đúng giống. Kết luận này là cơ sở để chọn các dòng trong khu nhân dòng tạo lập lô hạt SNC
- + Khu nhân dòng áp dụng kỹ thuật như đối với chọn lọc, chọn loại bỏ cây xấu, sâu bệnh và cây khác dạng ra khỏi dòng. Những dòng được kết luận trong thí nghiệm so sánh là tốt, đúng giống, hạt của chúng thu hoạch khu nhân dòng thu hoạch tạo lập lô hạt siêu nguyên chủng đầu tiên.

Thực hiện kiểm định đồng ruộng và kiểm định trong phòng theo quy định để nhận chứng chỉ hạt giống.

8.1.3 Những kỹ thuật cơ bản trong sản xuất hạt nguyên chủng ở cây tự thụ phấn

Cơ quan sản xuất:

Hạt giống nguyên chủng được các trạm, trại, công ty của nhà nước hay tư nhân và có thể là các hộ và nhóm nông dân nhưng phải được đăng ký cấp phép sản xuất. Cá nhân, cơ quan sản xuất phải đăng ký kiểm nghiệm để cấp chứng chỉ hạt giống

Lô hạt giống gốc:

Sản xuất hạt giống nguyên chủng bắt buộc lô hạt giống gốc để nhân phải là lô hạt tác giả hoặc siêu nguyên chủng có chứng chỉ hạt giống do cơ quan có thẩm quyền cấp.

Chọn đất:

Chọn ruộng liền khu, đất tốt và đồng đều và điều kiện tưới tiêu thuận lợi, giao thông vận chuyển dễ dàng, không sản xuất giống trên khu đất cây trồng trước cùng họ, cùng loài. Kỹ thuật này đặc biệt quan trọng với cây họ cà vì cây trồng trước là môi giới truyền mầm bệnh cho ruộng sản xuất giống.

Cách ly:

Mặc dù cây tự thụ phấn nhưng vẫn có một tỷ lệ có khả năng nhân phần ngoài, do vậy cách ly là bắt buộc khi sản xuất hạt giống nguyên chủng. Phương pháp cách ly gồm cách ly không gian, cách ly thời gian hay cách ly bằng vật chắn. Cây trồng khác nhau yêu cầu cách ly khác nhau theo quy định trong TCVN hoặc tiêu chuẩn ngành.

Ví dụ với lúa hạt giống tác giả, siêu nguyên chủng phải cách ly không gian 20m, sản xuất hạt nguyên chủng và xác nhận cách ly 3 m. Cà chua sản xuất hạt sản xuất nguyên chủng phải cách ly tối thiểu là 50m và sản xuất hạt xác nhận là 25m. Những cây tự thụ phấn nhưng có khả năng nhân phần ngoài cao như cà chua nho, ớt khoảng cách cách ly phải tương tự như cây giao phấn 300 m

Chuẩn bị đất:

Đất được chuẩn bị kỹ theo yêu cầu kỹ thuật của loài cây trồng, vệ sinh đồng ruộng trước khi tiến hành sản xuất. Thông thường đất sản xuất giống được chuẩn bị trước 15 – 20 ngày để diệt cỏ dại, sâu bệnh. Những cây trồng cạn sau làm đất lên luống, phủ luống bằng nilon để hạn chế cỏ dại, sâu bệnh và giữ ẩm tốt

Gieo trồng:

Gieo trồng vào thời vụ thích hợp nhất trong năm đối với loài cây trồng, chỉ gieo trồng 1 hạt, 1 cây trên khóm, mật độ thưa và thẳng hàng để thuận tiện cho chăm sóc, chọn lọc và khử lẫn. Những loài cây trồng yêu cầu gieo cây con trong vườn ươm để quản lý chăm sóc tốt hơn như cà chua, khi cây con đủ tiêu chuẩn, sạch bệnh mới trồng ra ruộng sản xuất giống

Chăm sóc:

Phân bón, tưới nước và phòng trừ sâu bệnh áp dụng kỹ thuật tối ưu đối với giống cây trồng đó, đặc biệt là phân bón yêu cầu cân đối các loại phân đa lượng và bổ sung trung lượng hay vi lượng theo yêu cầu đặc thù của loài.

Khử lẫn:

Khử lẫn phải tiến hành ít nhất là 3 lần là thời kỳ cây con, thời kỳ ra hoa và trước thu hoạch loại bỏ toàn bộ cây khác dạng, cây bị bệnh và cỏ dại

Thu hoạch chế biến hạt giống:

Chuẩn bị dụng cụ thu hoạch đầy đủ và là dụng cụ riêng cho mỗi loại giống như sân phơi, phương tiện vận chuyển, tách hạt, tuốt đập, và các dụng cụ bảo quản phải riêng biệt cho mỗi loại giống hoặc phải vệ sinh sạch nhiều lần trước khi thu hoạch. Thu hoạch khi quả hạt chín hoàn toàn để đảm bảo chất lượng hạt, những loài cây trồng yêu cầu chín tiếp tục sau thu hoạch thì bảo quản trong điều kiện mát vài ngày rồi mới tách hạt. Áp dụng kỹ thuật tách hạt phù hợp yêu cầu không làm tổn thương hạt giống, nếu tách hạt bằng máy cần điều chỉnh tốc độ hợp lý để không làm dập vỡ hạt giống. Làm khô, làm sạch và phân loại hạt giống theo kỹ thuật riêng cho mỗi loài cây trồng đảm bảo tiêu chuẩn quy định cho mỗi cấp giống và loài cây trồng quy định trong tiêu chuẩn ngành hoặc tiêu chuẩn Việt Nam.

Kiểm nghiệm và chứng chỉ hạt giống

Thực hiện kiểm định đồng ruộng và kiểm định trong phòng theo quy định để nhận chứng chỉ hạt giống, nhưng lô hạt giống có chứng chỉ mới được cung cấp cho sản xuất hạt nguyên chủng.

8.1.4 Những kỹ thuật cơ bản trong sản xuất hạt giống xác nhận

Hạt giống xác nhận là cấp hạt giống cuối cùng trong quá trình nhân giống cung cấp thương mại. Hạt giống cấp này số lượng lớn do vậy có thể sản xuất ở các trạm trại hay trên hộ nông dân. Cấp hạt giống này quan trọng nhất là kiểm soát và quản lý quá trình sản xuất để đảm bảo chất lượng. Sản xuất hạt giống xác nhận yêu cầu kỹ thuật tương tự như sản xuất hạt nguyên chủng, những điểm khác với sản xuất hạt nguyên chủng như sau:

- + Lô hạt giống gốc để nhân sản xuất hạt xác nhận phải là lô hạt nguyên chủng
- + Gieo trồng có thể 2 – 3 hạt, cây trên khóm
- + Tiêu chuẩn phẩm cấp thấp hơn hạt nguyên chủng

8.2 Sản xuất hạt giống lai ở cây tự thụ phấn

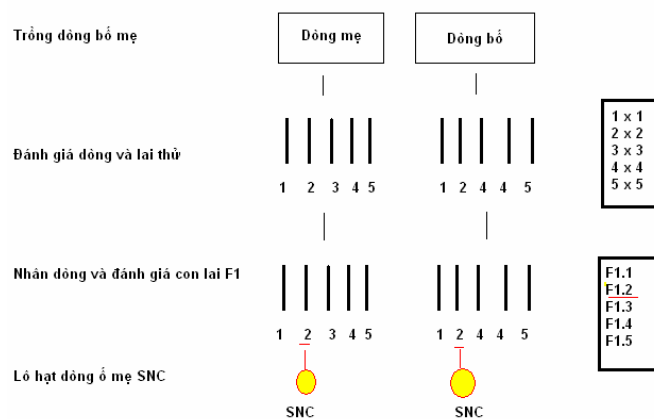
8.2.1 Kỹ thuật nhân và duy trì dòng bố mẹ

Cây tự thụ phấn sản xuất hạt lai có hai nhóm khá khác biệt đó là nhóm cây không bắt buộc sử dụng bất dục đực như cà chua, cà tím, ớt... và nhóm cây bắt buộc sử dụng bất dục đực như lúa. Như vậy nhân dòng và sản xuất hạt lai mỗi nhóm có những kỹ thuật đặc thù.

8.2.1.1 Nhân duy trì dòng bố mẹ trong sản xuất hạt giống UTL không sử dụng bất dục

Những loài cây trồng tạo giống ưu thế lai không nhất thiết phải sử dụng bất dục đực như cà chua, ớt... nhân dòng bố mẹ được áp dụng như kỹ thuật duy trì giống thuần siêu nguyên chủng. Tuy nhiên trong cùng một vụ sản xuất SNC cả dòng mẹ và dòng bố, do vậy cần 2 ruộng riêng và cách ly giữa ruộng bố và mẹ đảm bảo như sản xuất SNC của giống thuần. Để đảm bảo duy trì bố mẹ đúng kiểu gen và có ưu thế lai, các cá thể ưu tú của dòng bố mẹ chọn và lai nhau từng cặp. Thu hoạch riêng các cá thể chọn và con lai đưa sang đánh giá dòng và con lai ở vụ 2. Những cá thể tốt nhất, đúng giống và con lai F1 vẫn giữ nguyên được ưu thế lai mới chọn hỗn hạt tạo lập lô hạt SNC dòng bố và mẹ.

Một số điểm khác biệt được trình bày trong sơ đồ sau:



Hình 8.4: Sơ đồ nhân và duy trì hạt bố mẹ là dòng, giống thuần

8.2.2.1 Nhân dòng bố mẹ A, B và R trong hệ thống lúa lai hệ ba dòng

Duy trì những dòng A, B và R đã phục tráng hoặc mới chọn tạo là quá trình nhân và duy trì dòng A, B và R đảm bảo dòng A đúng nguyên bản, bất dục hoàn toàn và có UTL khi lai với R, dòng B đúng nguyên bản có khả năng duy trì tính bất dục của dòng A, và dòng R đúng nguyên bản có khả năng phục hồi bất dục của dòng A và cho con lai F1 có ưu thế lai. Dòng A, B và R có thể bị thoái hóa trong các thế hệ nhân do vậy kỹ thuật nhân cần đảm bảo từ khâu nhân hạt tác giả hay siêu nguyên chủng. Theo Nguyễn Trí Hoàn sự thoái hóa xảy ra cả ở dòng A, B và R và biểu hiện như sau:

Biểu hiện sự thoái hóa của dòng A:

- + Phân ly về kiểu hình, thời gian sinh trưởng, số lá trên thân chính và suy giảm các tính trạng kinh tế, nông sinh học
- + Hoàn toàn giảm sút về mức độ bất dục của cây mẹ
- + Giảm sút về khả năng kết hợp nên năng suất hạt lai F1 thấp
- + Xuất hiện cây bán bất dục trong dòng A
- + Tập tính nở hoa một số cây A không tốt, thời gian nở hoa của cây A kéo dài không tập trung
- + Tỷ lệ hoa không mở tăng, tỷ lệ nhô vòi nhụy của hoa A giảm
- + Tỷ lệ trở không thoát của cây A tăng

Sự thoái hoá của dòng duy trì (B) và dòng phục hồi (R)

- + Tương tự như dòng a, dòng B và dòng R cũng có hiện tượng thoái hoá
- + Sự thoái hoá của dòng B và R biểu hiện và nguyên nhân giống như lúa thuần tuy nhiên có một số biểu hiện khác như:
- + Giảm khả năng phục hồi tính bất dục của dòng R và khả năng duy trì của dòng B
- + Lượng phân giảm

Biểu hiện sự thoái hoá trên ruộng lúa lai F1

- + Độ đồng đều quần thể kém

- + Tỷ lệ đậu hạt thấp, tỷ lệ lép cao
- + Khả năng chống chịu giảm sút
- + Năng suất cây lai giảm dẫn đến hiệu ứng UTL giảm

Kỹ thuật duy trì các dòng bố mẹ A, B và R trong hệ thống lúa lai hệ ba dòng thực hiện trong 3 vụ để tạo lập lô hạt A, B và R siêu nguyên chủng

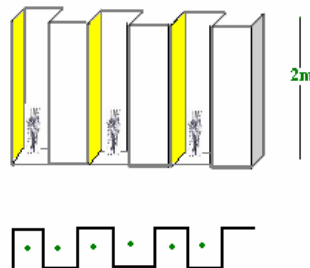
Vụ 1: trồng các cây A, B và R để đánh giá, chọn và lai cặp

Thời vụ

Chọn thời vụ thích hợp nhất với dòng bắt dục CMS, dòng mẹ bắt dục không phản ứng ánh sáng và nhiệt độ có thể nhân trong cả hai vụ xuân và vụ mùa

Cách ly:

Với số cá thể nhiều việc cách ly không gian rất khó thực hiện, thông thường áp dụng cách ly bằng vật chắn hoặc bao cách ly. Cách ly bằng vật chắn dùng ni lông trắng cách ly giữa các cây A, B và R theo những ô zíc zắc.



Hình 8.5: Phương pháp cách ly các cá thể bằng ni lông

Khu nhân dòng cách ly với các khu vực sản xuất lúa khác theo tiêu chuẩn ngành. Để thuận tiện cho lai cặp và cách ly khu nhân và duy trì dòng thực hiện trong khu có các ô xây là tốt nhất cho chăm sóc đánh giá và cách ly

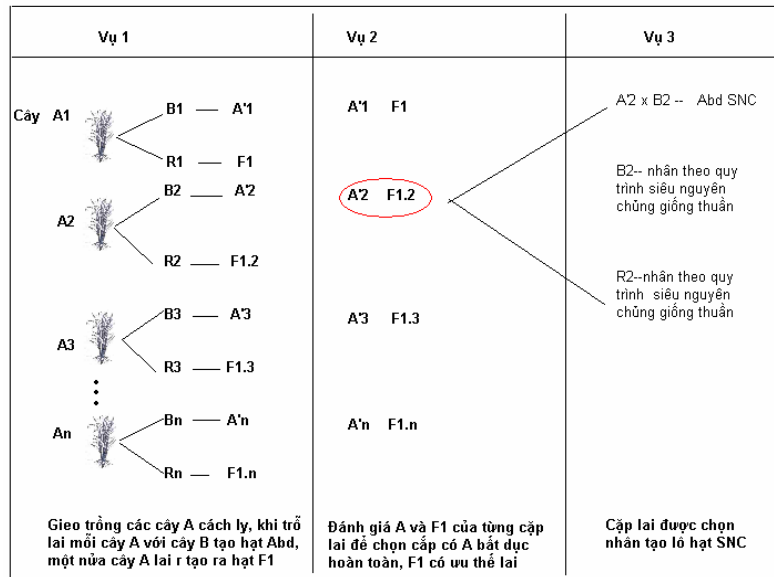
Kỹ thuật gieo trồng

Áp dụng kỹ thuật gieo trồng tối ưu như kỹ thuật gieo mạ, cấy, chăm sóc và phòng trừ sâu bệnh áp dụng tối ưu với yêu cầu của mỗi tổ hợp lai. Kỹ thuật quan trọng nhất là xác định thời vụ gieo trồng để bố mẹ trở trùng khớp. Căn cứ để xác định thời vụ gieo trồng bố mẹ dựa trên thời gian sinh trưởng của A, B và R, dựa trên số lá và hiệu quả tích nhiệt hữu hiệu (EAT) của hai bố mẹ. Những thông số này đã được nghiên cứu trước khi nhân duy trì dòng

Chọn cá thể và lai cặp

Chọn các cá thể điển hình đúng dòng về kiểu hình, sinh trưởng phát triển tốt và sạch bệnh, mỗi cá thể chọn ở dòng A lai với 1 cá thể dòng R và một cá thể dòng B theo từng cặp như sơ đồ 8.6

Mỗi cây A phải lai cặp với một cây B để thu được hạt bắt dục và lai với một cây R để thu được hạt lai F1. Tất cả hạt của từng cây A, và R thu riêng vào quần riêng để gieo trồng đánh giá ở vụ 2



Hình 8.6: Sơ đồ nhân dòng bất dục CMS

Ghi chú: Ví dụ có các cây $A_1...A_n$ như trên sau vụ 2 đánh giá và chọn chỉ được cây A số 2 cho bất dục hoàn toàn, F1 có ưu thế lai, B và R thuần, các dòng đều có đặc điểm đúng như nguyên bản
Thời vụ nhân dòng A, B và R

+ Vụ 2:Đánh giá dòng và con lai

Gieo trồng A và con lai F1 của từng cặp ở khu cách ly, phương pháp cách ly bằng vật chắn như ở vụ 1. Đánh giá và chọn các cây A bất dục hoàn toàn F1 có ưu thế lai. Cả cặp lai được chọn để nhân hạt siêu nguyên chủng ở vụ 3

+ Vụ 3:Nhân dòng A và R siêu nguyên chủng

Nhân hạt A siêu nguyên chủng

Cây A đã chọn trồng và lai với cây B đã chọn với kỹ thuật như sản xuất hạt lai F1(tham khảo phần kỹ thuật sản xuất hạt lúa lai F1), dòng A và dòng B không sai khác nhiều về kiểu hình và thời gian sinh trưởng cho nên kỹ thuật thuận lợi hơn. Độ thuần của hạt A siêu nguyên chủng rất quan trọng với hạt nguyên chủng và hạt lai do vậy ngoài những kỹ thuật gieo trồng cần đảm bảo những kỹ thuật quan trọng sau:

- + Cách ly nghiêm ngặt, khu nhân hạt A phải cách ly với các khu có sản xuất lúa khác ít nhất 500 m
- + Kiểm tra hạt phần bất dục khi lúa trổ
- + Khử bỏ cây khác dạng, cây bị bệnh khi cây con, thời kỳ trổ và trước thu hoạch triệt để

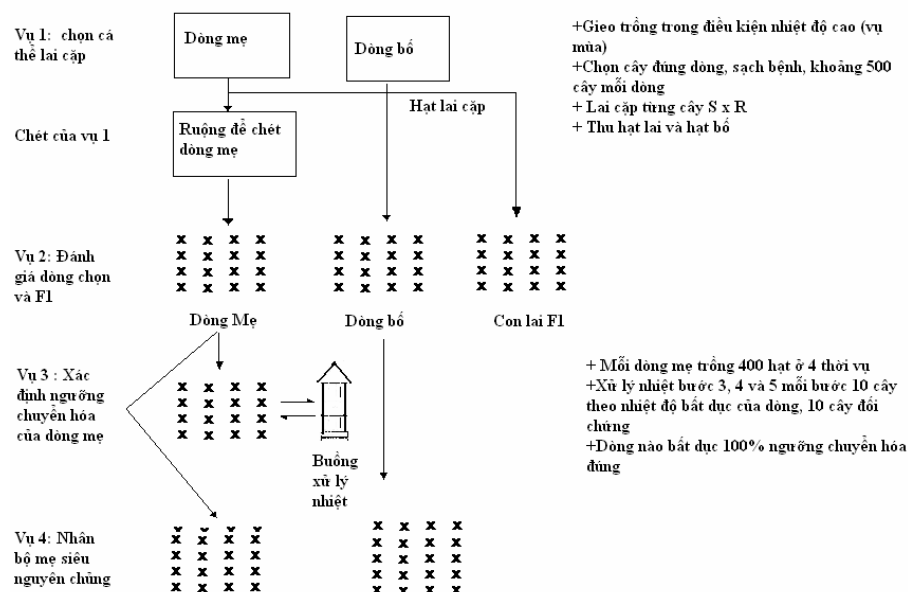
Nhân dòng R và dòng B siêu nguyên chủng

Hạt dòng B trong ruộng nhân dòng A chính là hạt B siêu nguyên chủng. Hạt R siêu nguyên chủng được nhân từ cây R đã chọn theo quy trình sản xuất hạt siêu nguyên chủng của giống lúa thuần

8.2.2.2 Duy trì và nhân hạt dòng bố mẹ trong sản xuất hạt giống lúa lai hệ 2 dòng (TGMS và PGMS)

a) Nhân và duy trì dòng bất dục TGMS siêu nguyên chủng

Quy trình chọn và nhân dòng siêu nguyên chủng đã được một số tác giả đề cập và công bố. Trong tài liệu này trích những kỹ thuật cơ bản của PGS.TS Nguyễn Thị Trâm và cộng sự 2006. Quy trình thực hiện 4 vụ như sau:



Hình 8.7: Sơ đồ chọn và nhân dòng bố mẹ trong lúa lai khi sử dụng dòng mẹ TGMS

Vụ 1: Chọn cá thể bố mẹ và lai cặp

Gieo trồng ở nhiệt độ cao, vụ mùa

Gieo trồng bố mẹ trên hai ruộng khoảng 100m²

Lựa chọn các cá thể bố mẹ không 500 cá thể mỗi dòng

Khi trở lai từng cặp, phải đánh số các cặp lai cẩn thận

Thu hạt riêng từng cặp lai và hạt cây bố và bảo quản

Các cây chọn trên dòng mẹ cắt để gốc rạ, chăm sóc dòng mẹ chuyển sang vụ thu đông khi nhiệt độ thấp dưới 24°C thu hạt mẹ trên lúa chết, hạt từng cây mẹ chọn cũng thu, bảo quản riêng để đánh giá ở vụ 2

Vụ 2: (vụ xuân)

Đánh giá các dòng bố mẹ và con lai F1

Ruộng 1: gieo các cá thể mẹ chọn ở vụ trước thành các dòng để đánh giá chọn

Ruộng 2: gieo đánh giá chọn bố

Ruộng 3: đánh giá con lai

Xác định nhưng bố mẹ đúng dòng, con ưu thế lai

Những cặp chọn thu riêng để nhân siêu nguyên chủng

Vụ 3: Kiểm tra ngưỡng chuyển đổi tính dục của mẹ

Mỗi dòng mẹ lấy 400 hạt gieo thành 4 thời vụ, mỗi thời vụ cách nhau 7 ngày trong nhà lưới. Khi phân hóa đồng xử lý nhiệt độ theo ngưỡng chuyển hóa của dòng

Bước 3 đánh 10 cây

Bước 4 xử lý 10 cây

Bước 5 xử lý 10 cây

Sau xử lý đưa ra trồng trong nhà lưới (có 10 cây trong nhà lưới làm đối chứng). Kiểm tra hạt phấn khi trở những dòng nào có hạt phấn bắt dục 100% là ngưỡng chuyển hóa ổn định được chọn để nhân SNC, lấy hạt của dòng đó ở vụ 2 để nhân siêu nguyên chủng

Vụ 4 Nhân dòng bố mẹ SNC

Ruộng 1 nhân dòng mẹ

Thời vụ gieo 15 – 20/12 và khi nhiệt độ tăng dần đến 14°C thì cấy, Kỹ thuật gieo trồng áp dụng tối ưu với dòng. Cấy 1 đánh mật độ 60 – 70 khóm/m², thu riêng từng dòng. Ruộng 2 nhân dòng bố theo quy trình SNC của giống thuần.

b) Nhân và duy trì dòng PGMS

Nguyên lý nhân và duy trì tương tự như dòng TGMS nhưng cần xử lý ánh sáng và chọn lọc trên cơ sở phản ứng chuyển đổi tính dục đối với độ dài chiếu sáng trong ngày

c) Nhân hạt nguyên chủng dòng TGMS và PGMS

Chọn thời vụ nhân

Dòng TGMS

Dựa vào đặc điểm và phản ứng tính dục của dòng để xác định thời vụ nhân dòng, dòng TGMS có thời gian cảm ứng nhiệt độ từ 10- 18 ngày trước khi trở, điểm nhiệt độ tới hạn gây hữu dục < 24⁰C tùy theo dòng. Như vậy điều kiện miền Bắc Việt Nam thời vụ nhân dòng phù hợp là vụ đông xuân. Gieo mạ từ 1-20/12, điều khiển cho lúa phân hoá đồng cuối bước 3 đến đầu bước 6 vào khoảng từ 15/3 - 10/4 là lúc nhiệt độ không quá thấp nhưng không cao hơn 24⁰C, lúa sẽ có phấn hữu dục. Khi trở bông sớm khoảng 5 đến 15/4, nhiệt độ vẫn còn thấp nên năng suất hạt nhân dòng không cao, những dòng chịu nhiệt độ thấp năng suất nhân dòng cao hơn, có thể đạt 1,0 - 1,5 tấn/ha.

Dòng PGMS

Dòng PGMS hữu dục khi ánh sáng ngày ngắn dưới 12h 45 phút, trong điều kiện Việt Nam phản ứng bắt dục và hữu dục cần thời gian chiếu sáng ngắn hơn vì ngày dài nhất ở miền Bắc cũng chỉ đạt 12h 45 phút. Như vậy dòng PGMS phản ứng hữu dục hay bắt dục ở 12h 15 phút đến 12h 20 phút là phù hợp.

Ví dụ dòng P5S của Trường Đại học Nông nghiệp I : Yêu cầu độ dài chiếu sáng trong ngày < 12 giờ 16 phút, như vậy có thể nhân dòng ở hai vụ :

- + Vụ xuân gieo 10 – 20/12 phân hóa bước 5 – 6 vào 10 – 20/3 và trở 25/3 - 5/4
- + Vụ mùa gieo 10 – 15/8 phân hóa bước 5 – 6 vào 20 – 30/9 trở 5-15/10 (Theo Nguyễn Thị Trâm và Cộng sự, 2006)

Chọn đất và khu ruộng nhân dòng

Khu nhân dòng yêu cầu đất tốt, chủ động tưới tiêu, ruộng bằng phẳng
Cách ly với các khu sản xuất khác ít nhất là 500 m, cách ly thời gian là trở lệch
với sản xuất khác trong khu vực 20 ngày

Kỹ thuật làm mạ

Xử lý hạt giống bằng phơi trong nắng nhẹ, nước ấm hoặc nước vôi trong trước khi gieo trồng để tránh nấm bệnh. Hạt của những dòng có ngủ nghỉ cần phá ngủ trước khi gieo, như dòng 103S có thời gian ngủ sinh lý sau thu hoạch cần phá ngủ nếu chưa qua giai đoạn ngủ nghỉ. Lô hạt đã qua thời gian ngủ sinh lý vẫn có đặc điểm là nảy mầm không đều, sức nảy mầm thấp khoảng (70-75%) trong khi lô hạt có tỷ lệ nảy mầm cao (85-90%). Vì vậy vẫn có thể dùng thuốc phá ngủ cho lô hạt đã qua thời gian ngủ.

Ngâm ủ hạt giống: Dòng TGMS và PGMS thường hở vỏ trấu nên ngâm ủ cần có kỹ thuật là không loại bỏ hạt lửng, thời gian ngâm 36-40 giờ liên tục đãi bằng nước sạch khoảng 6 giờ 1 lần.

Chuẩn bị đất gieo mạ như kỹ thuật sản xuất lúa khác làm đất kỹ, lên luống và bón lót sau đó gieo. Lượng phân bón cho 01 ha đất mạ là 15- 20 tấn phân chuồng + 50kgN + 80 – 90 P₂O₅ + 50K₂O. Bón lót toàn bộ phân chuồng + lân + 50% đạm và 50% kali còn lại bón thúc cho mạ 2 lần, lần 1 khi mạ có 3 lá lần 2 trước khi cấy.

Chăm sóc mạ: sau khi gieo giữ ẩm 4-5 ngày cho mạ mọc, sau đó tưới một lớp nước mỏng 1-2cm, khi mạ ra 1,5-2,5 lá tiến hành phun MET với liều lượng 850g/ ha giúp cho mạ đẻ sớm, đẻ nhiều; khi mạ có 4-4,5 lá tiến hành bón thúc 30% đạm và toàn bộ kali, số đạm còn lại bón thúc cho mạ 2 lần, lần 1 khi mạ có 3 lá lần 2 trước khi cấy.

Kỹ thuật cấy và chăm sóc lúa

Chuẩn bị ruộng cấy: cấy ải, bừa kỹ, bón lót đầy đủ bao gồm phân chuồng, vôi (nếu đất chua), lân + 50% lượng N + 50% Kali.

Mật độ cấy 70 khóm/m², cấy một danh chia thành từng băng rộng 1,5m giữa các băng để lối đi 25 – 30 cm thuận lợi cho kiểm tra, khử lẫn chọn lọc

Lượng phân bón: 10 tấn phân chuồng/ha, tỷ lệ N:P:K = 1:1:1, liều lượng 120kgN/ha trên đất phù sa sông Hồng. Bón lót toàn bộ phân chuồng, lân, vôi + 50% đạm + 50% kali, bón thúc 1 để nhánh 40% N, bón thúc 2 thúc đồng 10% N và 50% kali. Thời kỳ đẻ nhánh, phân hoá đồng, trở bông phun thêm vi lượng Zn, Bo hoặc hỗn hợp các nguyên tố vi lượng.

Kỹ thuật chăm sóc ruộng nhân dòng như quản lý sâu bệnh và cỏ dại như sản xuất giống khác

Kiểm tra ruộng nhân dòng thời kỳ trở vì thời kỳ cảm ứng 8-10 ngày trước trở, nếu nhiệt độ trung bình ngày biến động 20-24⁰C với dòng TGMS và độ dài chiếu sáng ngắn hơn 12h 20 phút đảm bảo cho kết hạt và năng suất khi nhân dòng

Khử lẫn và thu hoạch

Trong thời kỳ sinh trưởng sinh dưỡng có thể quan sát thấy một số cá thể biến dị về hình thái, cần loại bỏ tất cả các cây khác dạng. Thời kỳ trở quan trọng nhất là kiểm tra hạt phân loại bỏ những cá thể thay đổi điểm nhiệt độ chuyển hóa tính dục, đặc biệt chuyển hóa tính dục ở nhiệt độ cao của dòng TGMS. Khử lẫn trước

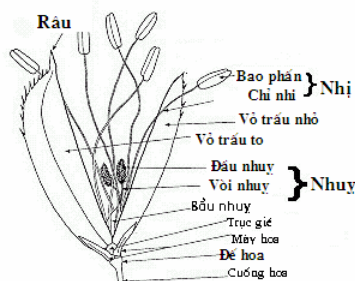
thu hoạch có vai trò quyết định đến chất lượng hạt siêu nguyên chủng của các dòng.

8.3 Kỹ thuật sản xuất hạt nguyên chủng ở một số cây tự thụ phấn

8.3.1 Kỹ thuật sản xuất hạt giống lúa nguyên chủng

a) Đặc điểm nguồn gốc cây lúa

Cây lúa trồng *Oryza sativa* L. là cây hàng năm và là cây lương thực quan trọng nhất ở nước ta. Trung tâm phát sinh lúa trồng có nhiều ý kiến cho rằng Trung Quốc và Ấn Độ là trung tâm phát sinh lúa trồng ở Châu Á (Ting 1993, Shampath, S. và N. Rao 1951). Chang T.T. (1976) lúa trồng Châu á *Oryza sativa* L. từ lưu vực sông Ganges dưới chân dãy núi Himalaya qua Myanma đến Bắc Thái Lan qua Lào đến Việt Nam và Nam Trung Quốc. Theo Khush GS., 1997 thì hai loài phụ *Indica* và *Japonica* có nhiều nguồn gốc, *Indica* có thể được thuần hoá ở chân núi Himalaya ở Tây Ấn Độ, lúa *Indica* phát tán rộng khắp vùng nhiệt đới và á nhiệt đới của Ấn Độ. Loài phụ *Japonica* di thực về từ miền Nam Trung Quốc đến phía Bắc, miền Nam và Đông Nam Châu á, Tây Châu Phi và Brazil hình thành các loại hình sinh thái khác nhau. Lúa là cây tự thụ phấn có cấu tạo hoa lưỡng tính, nhị và nhụy trong cùng một hoa. Hoa có cấu tạo hai vỏ trấu là vỏ trấu lớn và vỏ trấu nhỏ, trong hoa có 6 nhị được mạng 6 bao phấn cấu tạo hoa mô tả đầy đủ



Hình 8.8: Cấu tạo hoa lúa

b) Hạt giống gốc:

Sản xuất hạt giống lúa nguyên chủng phải được nhân lên từ lô hạt siêu nguyên chủng hoặc hạt tác giả có chứng chỉ hạt giống

c) Chọn ruộng sản xuất:

Chọn ruộng liên khu, đất tốt và đồng đều và điều kiện tưới tiêu thuận lợi, giao thông vận chuyển dễ dàng

d) Cách ly:

Khu ruộng sản xuất hạt giống lúa nguyên chủng cách ly với các khu sản xuất lúa khác 3 m hoặc cách ly thời gian khi trở lệch với khu sản xuất lúa liền kề ít nhất là 15 ngày

e) Làm đất :

Làm đất kỹ theo các phương pháp bình thường, nhưng phải lưu ý những ruộng vụ trước cấy loại lúa khác thì phải cày ải hoặc cày vỡ trước khi làm đất ít nhất 15- 20 ngày để diệt cỏ dại và những hạt rụng ở vụ trước mọc lại gây lẫn cơ giới.

f) **Làm mạ:**

Xử lý hạt giống: hạt giống siêu nguyên chủng phải được phơi lại, làm sạch trước khi ngâm ủ. Lọc giống bằng nước muối hoặc nước bùn có tỉ trọng 1,13 để loại bỏ lép lửng sau đó rửa sạch bằng nước sạch cho hết nước muối hoặc nước bùn rồi đưa vào ngâm. Ngâm ủ giống ở các khu riêng biệt và phải làm sạch trước khi đưa giống vào ngâm tránh lẫn giống. Ngâm hạt giống trong thời gian 60 giờ (nếu mùa đông ngâm bằng nước ấm 2 sôi 3 lạnh) trong quá trình ngâm phải đãi rửa chua 3 lần là sau 12 giờ, lần 2 sau 24 giờ, lần 3 sau 48 giờ. Sau 60 giờ vớt đãi sạch để ráo nước cho vào ủ khi mầm dài bằng 1/2 hạt thóc là đủ tiêu chuẩn gieo.

Kỹ thuật gieo: Mạ sản xuất giống nguyên chủng phải cách xa các khu vực khác để tránh lẫn cơ giới. Gieo đồng đều và mật độ thưa để mạ cứng cây đánh dành, lượng hạt giống gieo phù hợp từ 0,2 đến 0,4 kg thóc giống trên 10m² đất mạ. Chăm sóc, làm cỏ, tưới nước, phân bón và phòng trừ sâu bệnh kịp thời đảm bảo cho mạ sinh trưởng phát triển tốt, sạch bệnh, đã đẻ được 2 - 3 nhánh trong ruộng mạ

g) **Quản lý ruộng sản xuất hạt giống lúa nguyên chủng**

Chuẩn bị đất và bón lót: làm đất kỹ sản phẩm để thuận tiện cho điều tiết nước và chăm sóc. Bón lót toàn bộ phân chuồng, lân và 30% đạm, 50% lượng kali của quy trình kỹ thuật của giống

Kỹ thuật cấy: Mạ cây đủ tuổi, không để mạ ôi, cấy thành băng, mỗi băng khoảng 10 - 15 hàng lúa lại để lối đi 30 cm để đi lại chăm sóc và khử lẫn. Mật độ và số danh cây: mật độ 55 – 60 khóm/m², cấy 1 danh là phù hợp với sản xuất hạt giống lúa nguyên chủng

Bón phân thúc lần 1 sau cấy 15 - 20 ngày 50% lượng đạm theo quy trình, bón thúc lần 2 trước khi phân hoá đồng toàn bộ số phân còn lại, chú ý giai đoạn này cần đủ kali để đảm bảo chất lượng hạt giống

Tưới nước đầy đủ theo nhu cầu nước của cây lúa, đặc biệt không để thiếu nước thời kỳ trổ

Phòng trừ cỏ dại, sâu bệnh áp dụng kỹ thuật IPM với ruộng sản xuất hạt giống lúa là tốt nhất. Những cỏ dại nguy hiểm đối với hạt giống lúa nguyên chủng là cỏ lồng vực cạn (*Echinoocloa colona*), cỏ lồng vực nước (*Echinoocloa crusgalli*) cỏ lồng vực tím (*Echinoocloa glaurescens*) cỏ đuôi phượng (*Leplochioa chinesnis*) và lúa cỏ (*Oryza sativa* L. var. *fatua prain*). Những bệnh nguy hiểm như bạc lá (*Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzicola*), đạo ôn (*Pyricularia oryzae*), khô vằn (*Rhizoctonia solani*) hoa cúc (*Ustilaginoidea virens*)

h) **Khử lẫn:**

Khử lẫn lần 1: thời kỳ mạ trước khi nhổ cấy khử bỏ cây lẫn, cỏ phân biệt bằng màu sắc thân lá mạ với giống lẫn

Khử lẫn lần 2: khi lúa con gái cũng chủ yếu phân biệt bằng màu sắc thân lá

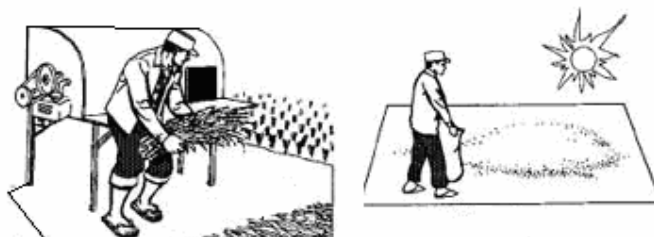
Khử lẫn lần 3: khi trổ xong: Căn cứ vào màu sắc thân lá, chiều cao, dạng cây, dạng bong, dạng hạt để khử lẫn và

Khử lần lần thứ 4 : Trước khi thu hoạch, đây là lần khử lần quan trọng nhất, phải căn cứ vào tất cả các đặc điểm thân , lá và hạt để loại bỏ triệt để cây khác dạng, sâu bệnh và còi cọc

i) **Thu hoạch và chế biến hạt giống**

Chuẩn bị dụng cụ thu hoạch đầy đủ và là dụng cụ riêng cho mỗi loại giống. Như sân phơi, phương tiện vận chuyển, tuốt đập, và các dụng cụ bảo quản phải riêng biệt cho mỗi loại giống hoặc phải vệ sinh sạch nhiều lần trước khi thu hoạch.

Tách hạt bằng máy tuốt nhỏ để không làm xây sát hạt, vỡ hạt giống sau đó phải làm sạch tạp chất, trấu và các lẫn tạp khác. Phơi trên sân xi măng hoặc sân gạch khi nắng gắt cần phơi dày, phơi đến khi độ ẩm đạt 13%. Trong trường hợp trời mưa và có điều kiện làm khô dùng máy sấy



Hình 8.9 Tuốt đập bằng máy nhỏ và làm khô tự nhiên
(nguồn Manual for Hybrid Rice Seed Production, IRRI)

Làm sạch, phân loại và đóng bao: Làm sạch hạt lép lửng và tạp chất bằng quạt, rê sau đó đóng bao, bảo quản nơi khô ráo, thoáng để hạt giống không bị mất sức nảy mầm. Sử dụng máy phân loại hạt sẽ cho lô hạt giống đồng đều hơn là một tiêu chuẩn chất lượng hạt giống lúa.

j) **Kiểm nghiệm và cấp chứng chỉ hạt giống**

Sản xuất hạt giống phải được kiểm nghiệm và cấp chứng chỉ phẩm cấp hạt nguyên chủng với cơ quan kiểm nghiệm do Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn quy định

8.3.2 Kỹ thuật sản xuất hạt giống cà chua nguyên chủng

a) **Đặc điểm cây cà chua**

Cà chua (*Lycopersicon esculentum* Mill) có nguồn gốc ở Nam Mỹ bởi vì các loài dại tìm thấy ở Ecuador đến Chile, cũng có bằng chứng cà chua có nguồn gốc từ Mexico. Điều này có nghĩa là cà chua đã phát tán từ Nam Mỹ, đến Châu Âu trước khi đến nước Mỹ. Cà chua trồng *L. esculentum* có thể tiến hóa từ loài dại *Lycopersicon pimpinellifolium* bản địa ở Peru và Ecuador. Loài *L. esculentum* var. *cerasiforme* (cà chua anh đào) là một loài dại ở nhiệt đới và á nhiệt đới. *L. esculentum* là một loài cây trồng rất đa dạng về màu sắc, kích thước, dạng quả và phân thành hai nhóm sinh trưởng hữu hạn và vô hạn. Cây rau rất phổ biến ở Châu Á cũng như nước ta. Sản xuất hạt cà chua (các giống và dòng thuần) thực hiện dễ dàng vì không cần có khu vực cách ly lớn, số lượng hạt tạo ra từ một cây nhiều, một cây có thể cho hàng nghìn hạt. Kỹ thuật canh tác trong sản xuất hạt cà chua không khác nhiều so với sản xuất bình thường.

b) Yêu cầu ngoại cảnh:

Cà chua ở nước ta thường được trồng chính vào vụ đông, tuy nhiên gần đây nhiều giống cà chua chịu nhiệt đã được phổ biến ra sản xuất có thể trồng các vụ sớm và muộn, nhưng sản xuất hạt giống nên bố trí vào chính vụ để có năng suất và chất lượng hạt giống tốt

c) Hạt giống gốc

Sản xuất hạt giống cà chua thuần cấp nguyên chủng phải được nhân lên từ lô hạt siêu nguyên chủng hoặc hạt tác giả có chứng chỉ hạt giống

d) Chọn ruộng :

Chọn ruộng đất tốt , thoát nước, làm đất và lên luống để trồng sản xuất hạt cà chua. Những đất vụ trước không trồng cây họ cà để tránh lây nhiễm bệnh vào cà chua giống cần sản xuất.

e) Cách ly:

Cà chua là cây tự thụ phấn và cấu trúc hoa thích hợp cho tự thụ phấn hoa lưỡng tính, đực và cái trên cùng một hoa. Nhưng có một số giống cà chua như (*Lycopersicon pimpinellifolium*) và giống *L. esculentum* có kiểu vòi nhụy thò ra khỏi hoa rất dễ tiếp xúc với côn trùng để nhận phấn ngoài cần phải phủ lưới cách ly khi sản xuất hạt cà chua là cần thiết tránh để côn trùng thực hiện truyền phấn lô hạt không đảm bảo độ thuần. Cách ly đối với cà chua theo tiêu chuẩn Việt Nam là 50 m với sản xuất hạt nguyên chủng và 25 m với sản xuất hạt xác nhận. Với loài cà chua phổ biến ở nước ta là loài *Lycopersicon esculentum* Mill.

f) Vườn ươm:

Vườn ươm trồng cây con cà chua cho sản xuất hạt giống nên gieo thưa hơn với sản xuất bình thường đảm bảo cho cây con khỏe. Lượng hạt giống gieo trung bình 2 - 2,5 g hạt/m² vườn ươm.

g) Kỹ thuật trồng và quản lý ruộng sản xuất hạt giống nguyên chủng:

Sức khỏe cây là tiền đề cho sức khỏe của hạt cà chua do vậy tạo điều kiện chăm sóc tối ưu , phòng trừ sâu bệnh kịp thời là một yêu cầu trong sản xuất hạt cà chua. Chăm sóc tốt cũng là điều kiện cho năng suất quả và hạt cao tạo điều kiện giảm giá thành hạt giống.

Làm đất lên luống như tồng cà chua trong sản xuất, đất cày bừa kỹ để tơi xốp, lên luống với rộng mặt luống 1 đến 1,2 m , chiều rộng rãnh 25 - 30 cm , sâu rãnh 20 - 25 cm để thoát nước tốt. Mật độ khoảng cách trồng với những giống chiều cao cây trung bình hàng cách hàng 70 cm, cây cách cây 45 cm với sản xuất hạt giống là hợp lý. Những giống cao cây và phân cành mạnh có thể trồng thưa hơn, nhưng giống thấp cây, phân cành yếu có thể trồng dày hơn để có năng suất hạt cao.

Phân bón cho sản xuất hạt cà chua đảm bảo cân đối lượng đạm, lân và kali, phân hữu cơ là phân chuồng hoai mục không sử dụng phân tươi để truyền mầm bệnh sang ruộng sản xuất giống. Lượng phân bón tùy theo giống, đất và mùa vụ, nhưng lượng bón trung bình 15 - 20 tấn phân chuồng , 100 kg N, 70kgP₂O₅ và 120 kg k₂O/ha.

Làm dàn và tỉa cành : Sau trồng một tháng có thể làm dàn để đỡ cây và đỡ quả, tỉa bớt cành nhỏ, lá già thường xuyên để thông thoáng tạo điều kiện tiếp nhận ánh sáng của các tầng lá và giảm khả năng lây nhiễm bệnh.

Các kỹ thuật khác như tưới nước, làm cỏ, phòng trừ sâu bệnh được áp dụng như sản xuất bình thường, cần chú ý phòng trừ sâu bệnh và tỉa nhỏ cây bệnh đảm bảo cho chất lượng lô hạt giống. Đặc biệt là bệnh nấm, vi khuẩn và virus như bệnh đốm vòng (*Alternaria solani* Sorauer), đốm nâu (*Stemphylium solani* Weber), khảm (*Tobacco mosaic virus*), héo xanh (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*), héo xanh vi khuẩn (*Pseudomonas solanacearum*).



Hình 8.10: Một số sâu bệnh hại cà chua

h) Khử bỏ cây khác dạng và cây bị bệnh:

Dựa vào các đặc điểm như kiểu cây, lá, quả và đặc biệt là đặc điểm của quả chín loại bỏ tất cả những cây khác dạng (off-type) ra khỏi quần thể ruộng giống. Ngoài loại bỏ cây khác dạng cây sâu bệnh, cây còi cọc, dị dạng cũng loại bỏ triệt để là một kỹ thuật quan trọng với sản xuất hạt giống cà chua

i) Thu hoạch chế biến hạt giống:

+ Thu hoạch

Số quả thu hoạch tùy thuộc vào loại quả to hay nhỏ, thường thu 30 quả trên cây với loại quả to, 40 quả với loại trong bình và 50 quả trên cây với loại quả nhỏ. Chọn quả và để trên cây đến khi chín hoàn toàn mới thu hoạch để hạt già và chín sinh lý hoàn toàn. Nếu thu sớm thì đặt trong nơi mát, khô che đậy cẩn thận 3 - 4 ngày đến khi chín đỏ. Đựng quả thu hoạch trong túi lưới ni lông, nếu dụng cụ chứa khác khi quả bị dập hạt nằm trong nước của quả thời gian dài gây ảnh hưởng đến sức sống và giá trị gieo trồng của hạt.

+ Tách hạt:

Hai phương pháp tách hạt bằng tay hoặc tách bằng máy, nếu tách hạt bằng tay tốt nhất đựng quả trong túi lưới ni lông mắt nhỏ. Dùng chân làm dập quả nát hết thịt quả sau đó cho vào chậu lớn để lên men tách hạt ra khỏi thịt quả, để thúc đẩy quá trình lên men cần đè một vật nặng lên trên để túi quả ngập trong nước dịch quả. Quá trình lên men phụ thuộc vào nhiệt độ phòng, nếu nhiệt độ phòng trên 25°C quá trình lên men 01 ngày là đủ, nếu thấp hơn cần 2 ngày nhưng không nên quá 3 ngày ảnh hưởng đến chất lượng hạt. Tiếp theo mở túi đổ hạt ra chậu hoặc xô rồi cho nước sạch vào khuấy tan rửa sạch và gạn nước ra khỏi xô chậu, hạt lắng lại phía dưới. (đãi lấy hạt) làm như vậy một số lần đến khi hạt hoàn toàn sạch



Hình 8.11: Đãi hạt cà chua sau lên men
(nguồn R.T.Opeña, J.T.Chen, T.KalbandP.Hanso, AVRDC. 2001)

Tách hạt bằng máy khi sản xuất quy mô lớn, đảm bảo thời gian và chất lượng hạt giống. Đưa quả giống vào máy tách hạt gọi là extractor, hỗn hợp thịt quả và hạt được thu vào xô, chậu để lên men như phương pháp tách hạt bằng tay. Có thể thay thế lên men bằng sử dụng axit HCL 0,7% với tỷ lệ 7 ml HCL cho 1 kg hỗn hợp hạt và thịt quả, khi cho axit phải khuấy đều và để trong 40 phút rồi cho nước rửa và gạn lấy hạt như phương pháp tách hạt bằng tay. Chú ý không sử dụng nồng độ cao và thời gian dài hơn sẽ ảnh hưởng đến chất lượng hạt giống

+ **Làm khô hạt:**

Đặt hạt trong túi lưới sạch để róc hết nước trong mát một ngày, có thể làm róc nước nhanh bằng cách quay túi để loại nước ra khỏi túi đựng hạt. Sau đó cho hạt ra các khay để phơi khô. Khay phải có phủ lưới ni lông, có thể đưa hạt vào máy để sấy khô, chất lượng tốt hơn trong trường hợp trời mưa. Máy sấy phải duy trì nhiệt độ 28 - 30 °C trong 3 - 4 ngày nếu cao hơn ảnh hưởng đến khả năng nảy mầm của hạt. Trong quá trình sấy hoặc phơi phải thường xuyên đảo để hạt khô đồng đều.

+ **Đóng gói và bảo quản**

Bao bì và mẫu mã đóng gói là khác nhau giữa các công ty, cơ sở sản xuất. Thông thường để bảo quản hạt cà chua 3 - 5 năm hạt được đựng trong túi manila, túi giấy thiếc, túi ni lông, lọ thủy tinh. Nhưng tốt nhất là đựng trong túi thiếc, túi kim loại kín chân không và không bị hút ẩm. Đặt hạt đã đóng gói trong kho bảo quản mát và khô, nhiệt độ kho bảo quản không vượt quá 20°C và độ ẩm không vượt quá 30%.

j) Kiểm nghiệm và chứng chỉ hạt giống

Đăng ký kiểm nghiệm khi bắt đầu sản xuất để được cấp chứng chỉ hạt giống cơ sở pháp lý khi hạt lưu thông trên thị trường

8.3.3 Kỹ thuật sản xuất hạt giống cà tím nguyên chủng

a) **Nguồn gốc, đặc điểm**

Cà tím (*Solanum melongena* L.) có nguồn gốc từ Ấn Độ và ngày nay được trồng ở khắp vùng nhiệt đới, á nhiệt đới và vùng có khí hậu ẩm. Cà tím là một cây rau phổ biến ở Ấn Độ, Trung Quốc, Nhật Bản và Việt Nam. Tên tiếng Anh “eggplant” được bắt nguồn từ dạng quả của loài rau này giống như trứng gà. Một số cây cà làm rau ở nước ta là cà tím, cà bát và cà pháo. Tài liệu này giới thiệu

quy trình kỹ thuật sản xuất hạt giống cho cà tím, một loại cà đang được ưa chuộng ở nước ta và có thể xuất khẩu, quy trình cũng có thể áp dụng cho sản xuất hạt giống cà bát và cà pháo. Cây cà nói chung không yêu cầu khắc khe ánh sáng ngày dài để ra hoa, hoa cà có thể là hoa đơn hoặc hoa chùm là là hoa hoàn chỉnh phù hợp cho tự thụ phấn

b) Giống cà tím:

Giống cà tím rất đa dạng về dạng quả và màu sắc, chọn giống sản xuất hạt cần chọn có dạng quả màu sắc phù hợp với thị trường ở nước ta và có những đặc điểm nông học mong muốn như ngắn ngày, năng suất cao, chống chịu sâu bệnh và đặc biệt là chịu nóng ẩm của Miền Bắc. Hiện nay chưa có giống cà tím chọn tạo trong nước được công nhận giống, chủ yếu là giống địa phương và nhập nội. Căn cứ vào hình dạng quả có thể chia thành các nhóm giống quả tròn và nhóm giống quả dài.

c) Yêu cầu điều kiện môi trường

Thời gian sinh trưởng của cà tím để lấy hạt khoảng 120 ngày và là cây yêu cầu nhiệt độ ấm cho sinh trưởng phát triển, cà tím sinh trưởng tốt nhất dưới điều kiện nhiệt độ 21°C đến 29°C. Nhiệt độ ban ngày 25 -32°C nhiệt độ ban đêm 21- 27°C là tốt nhất cho sản xuất hạt giống. Nhiệt độ thấp hơn tỷ lệ đậu quả giảm, nhiệt độ cao hơn và độ ẩm cao cũng làm giảm năng suất đáng kể. Cà tím có khả năng chịu hạn và lượng mưa cao, nhưng sẽ không chống chịu đối với đất sũng nước trong thời gian dài bởi vì độ ẩm cao kéo dài cây cà dễ bị bệnh nấm thối rễ. Cây cà cũng không chống chịu được sương muối trong mùa đông.

d) Lô hạt giống gốc

Lô hạt giống đưa vào sản xuất hạt nguyên chủng phải là lô hạt tác giả hoặc hạt siêu nguyên chủng có chứng chỉ hạt giống

e) Chọn đất và khu vực sản xuất

Đất sản xuất hạt giống cà tím cần chọn đất tốt, thoát nước và tưới tiêu thuận lợi. Cần tránh tuyệt đối những ruộng cây trồng vụ trước là những cây thuộc họ cà như khoai tây, cà chua và ớt. Chọn đất sản xuất hạt giống luân canh với lúa nước là tốt nhất để tránh lây một số bệnh vi khuẩn và nấm đến ruộng sản xuất hạt giống. Đất sét pha cát cho thu hoạch sớm và năng suất cao hơn đất thịt nặng. pH thích hợp cho sản xuất hạt giống cà tím là 5,5 đến 6,5

f) Cách ly

Mặc dù cà tím là cây tự thụ phấn nhưng do cấu tạo hoa đầu nhụy nhô cao hơn bao phấn do vậy rất dễ nhận phấn ngoài. Khả năng nhận phấn ngoài tùy thuộc giống, điều kiện sinh thái và hoạt động của côn trùng. Theo kết quả nghiên cứu các giống của Ấn Độ tỷ lệ giao phấn từ 2 – 48%, các giống của Trung Quốc 3 – 7%, các giống từ Trung tâm nghiên cứu và phát triển rau Quốc tế (AVRDC) từ 0 – 8%. Như vậy sản xuất hạt giống cần cách ly tốt, cách ly không gian khi sản xuất hạt giống nguyên chủng là 200m, hạt xác nhận là 100m

g) Vườn ươm:

Cũng như cây họ khác, giai đoạn trong vườn ươm rất quan trọng cần được quan tâm như chọn đất, làm đất kỹ, nhỏ lên luống để gieo hạt. Gieo trong vườn ươm

để điều kiện chăm sóc tốt, đất đai đồng đều và cây con khỏe mạnh, đồng đều trước khi đưa ra ruộng sản xuất thời gian trong vườn ươm khoảng 5 tuần. Xử lý hạt giống trước khi gieo, hạt giống mới thu hoạch không cần xử lý. Đối với hạt đã qua bảo quản cần xử lý bằng ngâm hạt trước khi gieo trong nước ấm 50°C với thời gian 30 phút sau đó tráng qua nước lạnh và hong khô mới đem gieo nâng cao sức nảy mầm và tỷ lệ nảy mầm. Hạt có thể xử lý bằng thiram để ngăn ngừa nấm bệnh hại rễ cây con. Phương pháp gieo ươm cây con có thể là trong nhà kính, nhà lưới, gieo trên khay hoặc trực tiếp trên luống đất. Gieo trên khay có ngăn để không làm rối rễ cây con, cây con đồng đều hơn và khi cây con đủ tiêu chuẩn trồng ra ruộng sản xuất thuận lợi. Đất gieo cây con có thể là hỗn hợp đất, phân chuồng, trấu, rơm rác mục hoặc đất thương mại (chế biến sẵn) như đất than bùn + cát... Chăm sóc cây con trong giai đoạn vườn ươm để tạo ra cây con khỏe mạnh gồm kỹ thuật tưới phân vô cơ pha loãng cho cây con sau gieo 2 tuần, tỉa bỏ cây còi cọc, sâu bệnh. Nếu gieo trên luống cần có rơm mục, trấu phủ luống để khi tưới không gây văng đất và xô hạt cũng như cây con. Luống gieo hạt phải thoát nước, tỉa bớt cây con khi cây có một lá thật đảm bảo mật độ thưa cho cây con khỏe

h) Kỹ thuật trồng và quản lý ruộng sản xuất

Trồng khi cây con có 3 - 4 lá thật, khỏe mạnh, không bị bệnh, không bị ngộ độc, luyện cây trước khi nhổ trồng 6 - 9 ngày như tưới nhẹ, phơi hoặc tháo lưới che. tưới nước đậm trước khi trồng 12 - 14 giờ tránh đứt rễ, nhổ cây con vào buổi chiều hay những ngày trời mát. Làm đất lên luống trồng với chiều rộng luống 1,5 m cao 20 - 25 cm trồng 1 hàng, cây cách cây 50 cm với 13.333 cây/ha. Kỹ thuật phủ luống để giảm cỏ dại và giữ độ ẩm đất bằng ni lông, phủ trước khi trồng và sau khi phủ tạo lỗ trên ni lông tại vị trí trồng cây con.

+ Bón phân

Cây cà tím yêu cầu đất tốt, cần bón thêm phân chuồng để cung cấp dinh dưỡng và cải tạo đất lượng bón 10 tấn phân chuồng. Lượng phân vô cơ tùy theo đất, Viện Nghiên Cứu Và Phát Triển Rau Châu Á khuyến cáo lượng bón trung bình 170 kg/ha N, 70 kg/ha P₂O₅, và 180 kg/ha K₂O phù hợp cho sản xuất hạt giống cà tím.

Bảng 8.1: Tỷ lệ phân bón thúc cho cà tím qua các thời kỳ sinh trưởng

Đvt: (%)

Loại phân	Bón lót	3 tuần sau trồng	6 tuần sau trồng	Thời kỳ thu hoạch	Tổng
N	30	15	15	40	100
P	50	0	50	0	100
K	30	15	15	40	100

Tưới nước đặc biệt quan trọng đối với những vùng không có hoặc ít mưa trong thời vụ trồng cà tím. Tưới nước quan trọng nhất thời kỳ ra hoa và đậu quả. Thiếu nước thời kỳ này dẫn đến thối các hoa cuối chùm và quả dị dạng, kích thước và năng suất giảm. Cây héo rũ vào buổi sáng là một chỉ thị cây

cần tưới nước. Cà tím thuộc loại rễ phát triển trung bình với vùng rễ sâu 90 cm ở những nơi đất thoát nước tốt. Đất được tưới ẩm trong tầng đất 45 cm là ít nhất.

Có thể áp dụng phương pháp tưới:

- + Tưới rãnh
- + Tưới theo độ ẩm đất và
- + Tưới theo nhu cầu của cây.

Phương pháp tưới thông thường là tưới theo rãnh hoặc tưới phun

+ ***Làm giàn và tỉa cành***

Sau trồng một tháng có thể làm giàn cho cây để đỡ quả, tùy theo giống những giống quả dài và lớn cọc giàn có thể cao 80 - 120 cm, cọc cắm cạnh cây để đỡ cây. Tia cây thoáng để có màu quả sáng, chất lượng quả cao, mỗi cây chỉ để một số cành quả nhất định, sản xuất hạt giống chỉ nên để ba cành quả còn lại cắt bỏ. Đồng thời cắt bỏ những lá già lá héo dưới tán để thông thoáng và ánh sáng đầy đủ trong tán cây.

+ ***Phòng trừ cỏ dại và sâu bệnh***

Cà tím sinh trưởng phát triển kém nếu nhiều cỏ dại, cỏ dại cũng là nơi sâu bệnh trú ẩn phá hoại. Trừ cỏ dại bằng cơ giới hoặc hoá chất, làm cỏ bằng tay hoặc kỹ thuật canh tác được áp dụng với trang trại nhỏ, đầu tư thấp. Với diện tích lớn có thể áp dụng phương pháp phủ ni lông đen hạn chế cỏ dại đồng thời giữ ẩm tốt cho đất. Nhiều loại sâu bệnh hại trên cà tím, một số sâu bệnh chính là bệnh nấm, bệnh vi khuẩn như các cây họ cà khác, sâu đục thân, đục quả, rệp. Những bệnh nguy hiểm là bệnh do nấm (*Pythium*, *Phytophthora* and *Rhizoctonia*) vi khuẩn, virus như cà chua. Biện pháp phòng trừ áp dụng kỹ thuật IPM giống như đã trình bày trong phòng trừ sâu bệnh sản xuất hạt giống cà chua thuần.

i) ***Thu hoạch và chế biến hạt giống***

+ ***Thu hoạch***

Thu hoạch quả màu sáng, quả to, chắc không dập vỡ để tách hạt giống. Thu hoạch được làm bằng tay, dùng dao sắc cắt từng quả, thu hoạch khi quả đã chín hoàn toàn để đảm bảo chất lượng hạt giống. Thu hoạch 6 - 12 quả tốt nhất trên một cây không thu quả sâu bệnh, còi cọc, dị dạng. Khối lượng quả thu giống 300 - 400 giống quả to, 100 - 150 g với g với giống quả nhỏ (tùy theo giống)

+ ***Tách hạt, phơi khô và đóng gói hạt giống :***

Quả thu hoạch bảo quản 3 - 4 ngày để quả mềm và hạt chín hoàn toàn, dùng dao cắt 1/3 đầu quả nơi không chứa hạt, sau đó bổ và lấy hạt trong trường hợp số lượng ít, số lượng nhiều lấy hạt bằng làm nát hoặc ngâm nước để làm nát quả để tách hạt ra khỏi thịt quả. Sau đó hạt được làm sạch bằng nước bằng đãi hoặc xối nước. Phơi hoặc sấy đến khi đạt độ ẩm hạt đạt 8%, làm sạch, đóng gói và bảo quản hạt giống. Năng suất hạt giống rất khác nhau đối với mỗi giống, nhìn chung năng suất có thể đạt 600 - 800 kg/ha.

j) ***Kiểm nghiệm và chứng chỉ hạt giống***

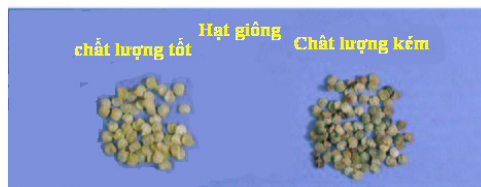
Đăng ký kiểm nghiệm khi bắt đầu sản xuất để được cấp chứng chỉ hạt giống cơ sở pháp lý khi hạt lưu thông trên thị trường

8.3.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống ớt cay và ớt ngọt nguyên chủng

a) Nguồn gốc, đặc điểm

Cây ớt (*Capsicum annum* L.) thuộc họ cà *Solanaceae*, chi *Capsicum* có 4 loài trong đó loài *C. annum* (ớt cay và ớt ngọt) là loại rau phổ biến ở nước ta. Cây ớt được thuần hóa ở Mexico cách đây 6000 năm, như vậy ớt có nguồn gốc ở Mexico và vùng lân cận. Ớt là cây tự thụ phấn nhưng có khả năng nhận phấn ngoài rất lớn, đôi khi trên 90% do vậy sản xuất hạt giống ớt có những kỹ thuật đặc thù. Ớt là cây thân thảo hàng năm, rễ ớt là rễ cọc hình thành hệ thống rễ ăn sâu khoảng 14 đến 18 cm. Lá ớt là lá đơn, trơn bóng và không có lông điển hình của cây họ cà. Chùm hoa là hoa đơn hoặc 2, 3 hoa, hoa màu trắng, bao phấn màu hơi xanh.

Nghiên cứu quy trình sản xuất hạt giống ớt ngọt hoặc ớt cay *Capsicum* spp. có độ thuần cao và chất lượng tốt được các nhà sản xuất hạt giống quan tâm. Độ thuần cao trên cơ sở không để giao phấn với các dạng khác, chất lượng tốt là hạt nguyên vẹn, đầy hạt, tỷ lệ nảy mầm cao trên 70% và không bị sâu bệnh. Để tạo ra lô hạt giống thuần, chất lượng tốt cần quan tâm điều kiện khí hậu, đất đai, đồng ruộng và kỹ thuật sản xuất phù hợp.



Hình 8.12: Hạt giống ớt chất lượng tốt và chất lượng kém
(nguồn T.Berke, T.Kalb., AVRDC. 2001)

b) Yêu cầu điều kiện ngoại cảnh

Cây ớt thích hợp trong điều kiện khô, nhiệt độ 18 – 27°C với ớt ngọt và ớt cay 21 – 33°C, nhiệt độ ban đêm rất quan trọng đối với ớt, đặc biệt giai đoạn tạo quả và hạt. Nhìn chung ớt không ra quả khi nhiệt độ ban đêm trên 24°C với ớt ngọt và trên 30°C đối với ớt cay. Đất trồng ớt tương tự như cà chua, nhưng yêu cầu đạm, lân và kali thấp hơn. Đất thoát nước tốt và pH thích hợp trồng ớt và sản xuất hạt giống từ 6,5 – 7,5.

c) Giống ớt

Giống ớt ngọt và ớt cay hiện nay được trồng ở nước ta chủ yếu là những giống địa phương như ớt sừng bò, chìa vôi và một số giống mới tạo ra như giống ớt cay 01 do Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam chọn tạo, giống ớt cay ưu thế lai F1 của công ty giống cây trồng Miền Nam lai tạo. Ngoài ra còn một số giống nhập nội từ Trung Quốc, Đài Loan và Nhật Bản.



Hình 8.13: Quả ớt cay và ớt ngọt
(nguồn T.Berke, T.Kalb. , AVRDC. 2001)

d) Lô hạt giống gốc

Sản xuất hạt giống ớt nguyên chủng phải nhân từ lô hạt siêu nguyên chủng hoặc hạt tác giả có chứng chỉ cấp giống

e) Chọn đất và khu vực sản xuất

Ruộng sản xuất hạt giống cần chọn ruộng cây trồng trước là cây họ đậu hay cây lương thực là phù hợp, tránh chọn ruộng vụ trước trồng ớt vì hạt, quả rụng mọc lại sẽ làm lẫn giống và giao phấn giữa giống sản xuất và giống vụ trước mọc lên. Ruộng sản xuất hạt giống cũng tránh những ruộng cây trồng trước là khoai lang, cà chua, cà tím để phòng lây sâu bệnh cho ruộng sản xuất hạt giống.

f) Cách ly

Ớt là cây tự thụ phấn xong có tỷ lệ nhận phấn ngoài cao đặc biệt khi có mặt của côn trùng như ong nó có thể nhận phấn ngoài đến 90%. Do vậy ruộng sản xuất giống cần cách ly với ruộng sản xuất thương phẩm và khu vực sản xuất cây cùng loài ít nhất là 200 m hoặc cách ly bằng lưới ni lông chắn côn trùng. Phương pháp cách ly tối ưu là trồng trên diện tích rộng ít nhất là 1 ha, xung quanh trồng các cây cao như ngô, mía và khi thu hoạch hạt giống chỉ thu những cây giữa lô sản xuất.

g) Vườn ươm

+ Thời vụ sản xuất hạt giống.

Ớt sinh trưởng phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ 18 -27°C với ớt ngọt và 21 - 33°C với ớt cay. Nhiệt độ ban đêm rất có ý nghĩa đối với sản xuất hạt giống, nhiệt độ ban đêm 24°C thích hợp với ớt ngọt và 30°C thích hợp với ớt cay. Với yêu cầu điều kiện khí hậu của cây ớt như trên ở Miền Bắc thời vụ sản xuất hạt giống ớt cay có thể trồng trong 3 thời vụ:

Vụ đông xuân: gieo hạt tháng 10-12, trồng tháng 1 – 2, thu hoạch tháng 4 - 5 đến tháng 6 -7.

Vụ hè thu: gieo hạt tháng 6 – 7 , trồng tháng 8 – 9 và thu hoạch tháng 1 – 2.

Vụ Xuân hè: Gieo hạt tháng 2 – 3, trồng tháng 3 – 4 và thu hoạch tháng 7 – 8.

Thời vụ gieo trồng sản xuất hạt giống ớt ngọt trồng vào 2 thời vụ là

Vụ đông xuân: Gieo tháng 11 – 12 trồng tháng 1 – 2 và

Vụ hè thu: gieo tháng 6 – 7 trồng tháng 8 – 9.

Tuy nhiên để sản xuất hạt thuận lợi nhất cho thu hoạch, chế biến hạt giống là vụ hè thu gieo hạt tháng 6 – 7 và thu hoạch vào tháng 1 – 2.

+ Kỹ thuật sản xuất giai đoạn vườn ươm

Chọn đất: Đất vườn ươm cũng cần chọn ruộng như sản xuất hạt đất thịt nhẹ hoặc đất pha cát là tốt nhất. Ruộng luân canh với cây họ đậu hoặc cây ngũ cốc như ngô, lúa tránh lây truyền bệnh cây trồng trước vào cây con. Cây bừa kỹ sạch cỏ dại đất nhỏ ,

toi xới bón lót phân chuồng hoai mục 8 – 10 tấn và 60 – 70 kgP₂O₅ lân/ha sau đó bừa trôn đều phân lên luống 1 – 1,2 m, cao 25 – 30 cm, rãnh 30 cm thoát nước. Mặt luống được san phẳng trước khi gieo hạt đảm bảo cho hạt không bị rơi xuống các khe đất sâu.

Gieo hạt : Lượng hạt gieo cho sản xuất giống mật độ thưa cho cây con sinh trưởng phát triển tốt, cây khỏe, mập sạch sâu bệnh. Lượng hạt gieo 0,3 – 0,5 g/m² vườn ươm. Gieo đều bằng trộn hạt với cát hoặc tro bếp gieo đi gieo lại vài lần, gieo xong phủ đất bột trên đất bột phủ lớp rơm mục sạch đảm bảo khi tưới không bị xô hạt. Gieo trong điều kiện nhiệt độ thấp dưới 20°C cần ủ hạt nứt nanh mới gieo nâng cao tỷ lệ nảy mầm và tỷ lệ sống của cây con.

Chăm sóc: tưới nước, làm cỏ phòng trừ sâu bệnh cho vườn ươm. Khi cây mọc tưới phân đạm loãng khoảng 2 – 3 ngày một lần. Che vườn ươm khi mưa to hoặc sương muối. Khi cây con có 4 – 5 lá thật đủ tiêu chuẩn trồng ra ruộng sản xuất hạt giống

h) Kỹ thuật trồng và chăm sóc

Ruộng sản xuất hạt giống đất thịt nhẹ cát pha và thoát nước phù hợp cho sản xuất hạt sau khi cày bừa kỹ, lên luống với chiều rộng luống là 1m đủ để trồng 2 hàng, cao luống 25 – 30 cm và rãnh 30 – 35 cm thoát nước tốt khi mưa. Bỏ hốc trồng ớt ngọt, ớt cay sản xuất hạt giống với khoảng cách hàng x hàng là 60 cm và cây cách cây 40 cm tùy theo giống. Những giống thấp cây trồng dày hơn để tăng năng suất hạt.

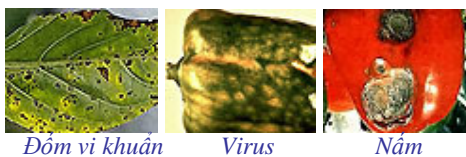
Bón phân: bón lót trước khi trồng có thể bón theo hốc lượng 15 – 20 tấn phân chuồng/ha (không bón phân chuồng tươi), 120-125 kg N, 60 – 70 kg P₂O₅ và 140 – 160 kg K₂O. Nếu đất chua bón thêm 800 đến 1000 kg vôi trên ha. Bón lót toàn bộ phân chuồng và lân vào hốc lấp đất bột rồi đặt cây con, mỗi hốc chỉ được trồng một cây. Phân đạm và kali dùng bón thúc trong quá trình sinh trưởng của ớt kết hợp với xới vun, phân kali tập trung bón vào các đợt hoa tăng chất lượng hạt giống.

Tưới nước và xới vun: ớt cần độ ẩm đất khoảng 70% là phù hợp, đất sũng nước ảnh hưởng đến sinh trưởng phát triển và khả năng chống chịu. Thông thường xới vun và tưới nước tập trung vào hai lần:

- + Lần thứ nhất sau trồng 20 – 25 ngày
- + Lần thứ 2 sau lần một 20 – 25 ngày.

i) Phòng trừ sâu bệnh

Ớt có một số loại sâu bệnh phá hoại trên cây, quả và hạt , một số bệnh có thể truyền qua hạt giống như đốm vi khuẩn (*Xanthomonas axonopodis*) và một số bệnh virus như virus thối thân (PMMV), và đốm thuốc lá (TMV). Một số bệnh nấm như bệnh héo rũ (*Fusarium*), sương mai (*Phytophthora*) và bệnh thán thư (*Colletotrichum*)



Hình 8.14: Một số sâu bệnh hại ớt

(nguồn T.Berke, T.Kalb. , AVRDC. 2001)

j) Khử lẫn

Khử bỏ cây khác dạng, sâu bệnh, cây xấu, đột biến dị dạng trong quá trình sản xuất hạt giống ít nhất 2 lần trước khi ra hoa để tránh cây lẫn giao phấn , đặc biệt khử lẫn giai đoạn trước khi thu hoạch để đảm bảo chất lượng hạt giống. Căn cứ để xác định cây khác dạng dựa vào màu sắc thân lá, dạng cây, màu sắc hoa và quả, dạng quả. Những cây có đặc điểm khác với quần thể giống đều phải nhổ bỏ đi.

k) Thu hoạch chế biến hạt giống:

+ Thu hoạch

Thu hoạch khi quả chín hoàn toàn màu chín điển hình của giống, thông thường là màu đỏ nhưng có một số giống có màu khác như màu vàng. Quả thu hoạch giữ trong điều kiện nhiệt độ mát và khô (25°C và độ ẩm 50%) để hạt chín hoàn toàn. Các giống thu hoạch và bảo quản riêng tránh lẫn giống khi tách hạt.

+ Tách hạt

Hạt ớt có thể tách từ quả tươi hoặc phơi khô , nếu phơi khô cần phơi trong 1 tuần ở nhiệt độ 40°C. Tách hạt bằng tay hoặc vò (khi vò tránh làm dập vỡ hạt) làm sạch hạt giống bằng xối nước sạch hoặc đãi.



Hình 8.15: Tách hạt ớt

(nguồn T.Berke, T.Kalb. , AVRDC. 2001)

+ Làm khô

Hạt sau khi tách được làm khô bằng sấy hoặc phơi. Hạt được đưa lên các tấm lưới mắt nhỏ sấy ở nhiệt độ 25°C và 50% độ ẩm trong 1 tuần. Nếu không có máy sấy áp dụng phương pháp phơi làm khô hạt , phơi nơi trời ẩm, thông gió tốt không trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời, đảo thường xuyên để lô hạt khô đồng đều.

+ Đóng bao và bảo quản

Hạt ớt có thể bảo quản được 3 - 5 năm, hạt được đóng gói trong túi ni lông, túi giấy bạc, túi kim loại, lọ thủy tinh đặt trong kho bảo quản mát và khô với nhiệt độ không quá 20°C và độ ẩm không vượt quá 30%

l) Kiểm nghiệm và chứng chỉ hạt giống

Đăng ký kiểm nghiệm khi bắt đầu sản xuất để được cấp chứng chỉ hạt giống cơ sở pháp lý khi hạt lưu thông trên thị trường

8.3.5 Kỹ thuật sản xuất hạt giống đậu tương nguyên chủng

a) Đặc điểm

Đậu tương thuộc họ *Fabaceae*, họ phụ *Faboideae*, tộc *Phaseoleae*, tộc phụ *Glycininae*. Chi *Glycine* phân làm 2 chi phụ là *Glycine* and *Soja* , Đậu tương thuộc (*Glycine*) tên loài *Glycine max* (L.) Merr. Đậu là cây thân thảo hàng năm, phân cành, thấp cây trừ dạng nhiều năm thân leo và bán leo. Số lượng giống đậu tương rất

lớn và có những đặc điểm khác nhau về quả, số hạt trên quả, dạng lá. Thông thường lá lông chim có 3 thùy. Màu sắc vỏ hạt và rốn hạt cũng có phạm vi rộng, vỏ hạt đa số màu vàng, nâu xám nhưng cũng có những màu khác như xanh nhạt và trắng.

b) Yêu cầu ngoại cảnh

Đậu tạo hạt giống chất lượng tốt nên chọn thời vụ có điều kiện ngoại cảnh phù hợp như ẩm, nhưng nhiệt độ không quá cao. Nhiệt độ cao và ẩm độ cao là nguyên nhân của sâu bệnh như nấm rữa, *Phomopsis longicolla*, nở cổ rễ, lụi vi khuẩn. Đậu tương thích hợp nhiệt độ từ 20-30°C, ánh sáng 14 giờ hoặc ngắn hơn, đậu hạt kém khi nhiệt độ trên 35°C

c) Chọn đất và khu vực sản xuất

Đậu tương thích hợp với nhiều loại đất, tốt nhất là thịt pha cát, tơi xốp và phải thoát nước. Đất thích hợp là thịt pha sét hoặc thịt pha cát, tơi xốp, màu mỡ và thoát nước tốt. Đất không có tuyến trùng, mầm bệnh và vụ trước không trồng cây họ đậu. Khu đất tốt nhất để sản xuất hạt tốt, chắc chắn và tỷ lệ nảy mầm cao.

- Đất phải thoát nước
- Đảm bảo khoảng cách cách ly
- pH của đất từ 5,8 đến 6,5.

d) Cách ly

Mặc dù đậu là cây tự thụ phấn hoàn toàn nhưng giao phấn vẫn có thể xảy ra mức độ tùy thuộc vào những yếu tố sau:

- + Đặc điểm giống và cấu trúc hoa,
- + Yếu tố môi trường, gió và nhiệt độ,
- + Tác nhân thụ phấn và tập tính nở hoa,
- + Khoảng cách cách ly
- + Hàng cây chắn
- + Hàng và ô trồng
- + Số giống
- + Số cây của mỗi giống
- + Sự có mặt của nguồn phấn khác
- + Vùng và yếu tố khí hậu

Một số loài đậu có khả năng nhận phấn ngoài rất cao như đậu trắng (*Phaseolus vulgaris*) từ 1 đến 25%; đậu ngự (*Phaseolus lunatus*) từ 1 đến 89% phụ thuộc vào điều kiện khác nhau. Vì vậy khi sản xuất hạt giống đậu vẫn cần cách ly và có loại cách ly đến 150 m như đậu trắng. Đậu tương khi sản xuất hạt giống đều cần cách ly ít nhất là 25 m với hạt xác nhận và 50 m với hạt nguyên chủng. Theo tiêu chuẩn Việt Nam (10 TCN 314-2003) ruộng sản xuất đậu tương cách ly không gian ít nhất 3 m

e) Kỹ thuật gieo trồng

Làm đất: sản xuất giống nên được thực hiện sớm trước khi gieo trồng ít nhất 15 ngày, cày ải hoặc dầm diệt cỏ dại, sâu bệnh. Cày bừa kỹ, lên luống để độ ẩm đồng đều, hạt nảy mầm và rễ phát triển tốt. Đất trồng cần lên luống cao, làm rãnh thoát nước tốt. Rộng mặt luống trồng 2 hàng 60 đến 80cm tùy giống thấp cây hay cao cây,

cao 25 – 30 cm. Rộng rãnh 30 – 35cm, sâu 30 -40 cm. Áp dụng công nghệ phủ nilong trên mặt luống để giảm sâu bệnh và cỏ dại



8.16 Kỹ thuật phủ luống bằng nilong

(G. Lal, S.H. Lai, S. Shanmugasundaram và T. Kalb. AVRDC. 2001)

Thời vụ xác định dựa trên yêu cầu ngoại cảnh của cây đậu tương. Nước ta các vùng khác nhau có thời vụ khác nhau, miền Bắc thích hợp trong vụ xuân và vụ đông, miền Nam có thể trồng 3 vụ/năm, nhưng sản xuất hạt giống nên chọn vụ khô và nhiệt độ cao

Hạt giống gốc: theo quy định, có chứng chỉ, trước khi gieo, hạt giống cần được phơi lại dưới nắng nhẹ và sau đó thử độ nảy mầm để có biện pháp xử lý. Tốt nhất chỉ nên sử dụng những giống có tỷ lệ nảy mầm trên 85 %, ngoài ra, có thể xử lý hạt giống với chế phẩm vi sinh vật để thúc đẩy sự hình thành nốt sần sớm và nhanh. Xử lý hạt tránh nhiễm sâu bệnh trong đất đến hạt, cây con. Một vài loại thuốc xử lý hạt như Arasan, Captan, Topsin-M, Benlate (2 – 3 g/kg hạt giống) và thuốc Basudin 10H, Furadan 3H (50 – 100 g/kg hạt giống). Hạt nên xử lý với thuốc sát khuẩn ít nhất 3 ngày trước khi cấy vi khuẩn *Rhizobium*.

Mật độ gieo: thay đổi theo giống và đất canh tác mật độ khoảng 500.000 cây trên hectare, tương ứng với 60 – 80 kg hạt/ha. Khoảng cách hàng tùy thuộc vào giống, trung bình hàng x hàng từ 20 – 40 cm , cây x cây từ 10 – 20 cm , số hạt gieo 01 hạt với sản xuất hạt tác giả và SNC, 2 - 3 hạt với sản xuất xác nhận. Độ sâu gieo tùy giống những giống hạt nhỏ độ sâu gieo khoảng 25 mm, đậu tương khoảng 2- 3cm. Tỉa, dặm ngay khi thấy mắt khoảng đảm bảo năng suất ruộng giống, tỉa những khóm quá nhiều cây chỉ nên để 01 cây/khóm.

Phân bón: mức phân bón cũng như thời gian bón tùy thuộc vào giống, mùa vụ và đất. Nhìn chung, mức độ phân bón được khuyến cáo cho đậu đỗ là 50 - 80 kg N, 40 - 60 kg P₂O₅ và 30 – 40 kg K₂O trên ha. Phân hữu cơ rất quan trọng với đậu tương không những bổ sung dinh dưỡng mà còn là điều kiện cho nốt sần phát triển. Trong trường hợp có chủng phân vi sinh, có thể sử dụng lượng phân đạm ít hơn.

Tưới nước: theo nhu cầu của cây nhưng không qua sũng nước, quá ẩm dễ gây bệnh thán thư (*Anthraco*) và bệnh vi khuẩn, khi cây con mọc mầm nên tưới ít hơn đến giai đoạn ra hoa. Nhu cầu nước cao nhất từ lúc trổ hoa và tiếp tục cho đến khi đậu quả. Nên tưới rãnh ở giai đoạn sau để không gây độ ẩm không khí cao trong quần thể tránh bệnh hại. Bệnh hại đậu tương gồm bệnh héo cây con, đốm lá , rỉ sắt và khảm. Sâu hại phổ biến là dòi đục nõn, sâu đục thân, đục quả cần phòng trừ sớm và triệt để, vệ sinh đồng ruộng. Biện pháp luân canh đậu tương với lúa nước giảm sâu bệnh có hiệu quả



gỉ sắt sương mai vi khuẩn sùi lá

8.17 Một số bệnh hại đậu tương

(G. Lal, S.H. Lai, S. Shanmugasundaram và T. Kalb. AVRDC. 2001)

f) **Khử lẫn**

Khử lẫn loại bỏ toàn bộ cây khác dạng, cây bị bệnh, cây còi cọc. Cây khác dạng và cây xấu do môi trường không thuận lợi, do đột biến, do phân ly hoặc do giao phấn. Các giai đoạn khử lẫn quan trọng là giai đoạn nảy mầm, cây con ra hoa và trước thu hoạch. Giai đoạn nảy mầm và giai đoạn ra hoa căn cứ vào màu sắc mầm và hoa để nhận biết cây khác dạng. Giai đoạn trước thu hoạch là quan trọng nhất căn cứ vào đặc điểm hình thái, màu sắc thân, lá, quả, đây là giai đoạn quyết định độ thuần của lô hạt giống

g) **Thu hoạch chế biến hạt giống**

Thu hoạch: đậu tương, khi chín, lá chuyển vàng và bắt đầu rụng. Thu hoạch khi quả chuyển từ xanh sang vàng hoặc vàng nâu, giai đoạn này quả hơi mềm và 10 – 15% quả còn xanh. Thu hoạch khi hạt trong quả phát triển đầy chắc và hạt bắt đầu tách rời khỏi vỏ quả. Để để nơi thoáng cho hạt tiếp tục chín, không xếp cây quá dày để tạo ẩm dẫn đến hư hỏng hạt giống. Thu vào buổi sáng lúc còn sương để quả còn dai sẽ tránh hạt bị tách ngoài đồng. Thu hoạch bằng cách chặt sát gốc hoặc có thể thu quả tùy giống và chỉ thu những cây đúng giống và không bị sâu bệnh

Tách hạt : quả đậu nên đập ngay sau khi thu, hạt sẽ không bị nấm mốc và côn trùng tấn công. Tuy nhiên tách hạt phụ thuộc vào độ ẩm hạt nếu độ ẩm hạt cao dễ gây tổn thương hạt giống. Phương pháp tách hạt bằng tay hoặc bằng máy, đập tách hạt đậu tương là phổ biến ở nước ta.

Phơi sấy: hạt đậu phơi nắng hoặc sấy khô đến độ ẩm bảo quản 10 – 12%. Hạt quá khô hoặc có ẩm độ dưới 7% dễ trở thành “hạt đá” và sẽ nảy mầm không tốt. Nếu sấy hạt cần đảm bảo nhiệt độ sấy (30 – 35°C) trong 48 giờ.

Làm sạch hạt: hạt nên được làm sạch các tạp chất, vật rắn và hạt bị nhẵn, teo đảm bảo chất lượng hạt giống. Phương pháp phổ biến nhất là sàng, sấy hạt. Nếu sản xuất trên diện rộng, sử dụng máy làm sạch sẽ hiệu quả và kinh tế hơn. Sau khi làm sạch, hạt được chứa trong bao có gắn nhãn để dễ nhận diện giống..

Phân loại , xử lý nấm bệnh và đóng bao: hạt được phân loại bằng tay hay máy đảm bảo hạt giống đồng đều, sau khi phân loại xử lý nấm bệnh và một hạt (*Bruchus obtectus*). Đóng bao như các hạt giống cây trồng khác, hạt đậu tương phải được tồn trữ thích hợp để duy trì sức sống và tỷ lệ nảy mầm. Thời gian bảo quản có thể từ 6 tháng đến 20 tháng hoặc lâu hơn nếu như phải tồn trữ cho một vài vụ. Tuổi thọ của hạt trong quá trình tồn trữ chịu ảnh hưởng rất nhiều bởi chất lượng ban đầu của hạt, ẩm độ và nhiệt độ. Nhìn chung, ẩm độ hạt đậu tương từ 8 – 10% an toàn để cất trữ thời gian dài.

h) **Kiểm nghiệm và chứng chỉ hạt giống**

Đăng ký kiểm nghiệm khi bắt đầu sản xuất để được cấp chứng chỉ hạt giống cơ sở pháp lý khi hạt lưu thông trên thị trường

8.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống ưu thế lai một số cây tự thụ phấn

8.4.1 Kỹ thuật sản xuất hạt giống lúa lai F1 hệ 3 dòng sử dụng bất dục đực CMS

Phát triển lúa lai phụ thuộc rất lớn vào quy trình kỹ thuật sản xuất hạt lai, quy trình cho năng suất hạt lai cao, giá thành hạ thì mới được nông dân chấp nhận. Năng suất thấp, giá thành cao khó được chấp nhận và không có khả năng mở rộng trong sản xuất. Ở Trung Quốc đã tổ chức một hệ thống sản xuất hạt lúa lai từ viện nghiên cứu đến các địa phương. Những cố gắng lớn trong việc nghiên cứu quy trình kỹ thuật nâng cao năng suất hạt lai từ 0,14 tấn/ha ở Trung Quốc đến nay năng suất đã vượt 2,5 tấn/ha. Nông dân sản xuất có thể chấp nhận ở mức 1 đến 2,5 tấn/ha. Sản xuất hạt lúa lai F1 hệ ba dòng và 2 dòng khác nhau cơ bản về duy trì dòng bố mẹ. Lúa lai hệ ba dòng cần duy trì ba dòng là dòng bất dục CMS (dòng A), dòng duy trì (dòng B) và dòng phục hồi (dòng R). Kỹ thuật duy trì ba dòng trên để đảm bảo độ thuần duy truyền của dòng là vô cùng quan trọng để hạt lai F1 có liên quan đến sản xuất hạt lai. Lúa lai hệ 2 dòng duy trì dòng bất dục (TGMS hoặc PGMS) cần trong điều kiện thích hợp, dòng R duy trì như với lúa lai hệ 3 dòng.

8.4.1.1 Hạt bố mẹ đưa vào sản xuất hạt lai F1

Hạt bố mẹ phải đảm bảo độ thuần di truyền cao, tốt nhất ở cấp nguyên chủng và có chứng chỉ hạt giống bố mẹ

8.4.1.2 Xác định thời gian gieo và thời vụ

Điều kiện khí hậu ảnh hưởng lớn đến năng suất hạt, ngày gieo bố mẹ phải đảm bảo trong thời gian trở có điều kiện như sau:

- Nhiệt độ trung bình 24-30⁰C.
- Độ ẩm trong phạm vi 70-80%.
- Nhiệt độ chênh lệch ngày đêm 8-10⁰C.
- Ánh sáng đầy đủ và gió nhẹ.
- Không có mưa liên tục 3 ngày liền trong thời kỳ trở.

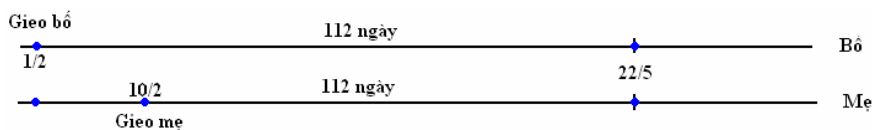
Năng suất hạt bị ảnh hưởng khi nhiệt độ <20⁰C và > 35⁰C, lúa lai hệ hai dòng điều kiện nhiệt độ và ánh sáng đặc biệt quan tâm của giai đoạn cảm ứng nhiệt độ của dòng TGMS, cảm ứng ánh sáng của dòng mẹ PGMS để bất dục hoàn toàn. Nhiệt độ hay ánh sáng để bất dục tùy thuộc vào mỗi dòng mẹ cụ thể.

8.4.1.3 Xác định thời gian gieo bố và mẹ để nở hoa trùng khớp

Dòng bố, mẹ của hầu hết các tổ hợp lai có thời gian sinh trưởng khác nhau, bởi vậy điều khiển để chúng nở hoa trùng nhau là cần thiết, những nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng tối ưu là mẹ nở hoa trước bố 1-2 ngày. Căn cứ xác định ngày gieo để bố, mẹ trùng khớp:

- Thời gian sinh trưởng khác nhau (GDD).
- Số lá khác nhau (LND).
- Hiệu quả tích nhiệt (EAT).

- + Căn cứ vào thời gian sinh trưởng: Thời gian sinh trưởng xác định trên cơ sở sự khác nhau giữa dòng bố và mẹ về thời gian từ gieo đến trổ hoặc đến trổ 50%, ví dụ IR58025A thời gian từ gieo đến trổ 50% là 102 ngày và bố là IR40750 thời gian từ gieo đến 50% trổ là 112 ngày, trong trường hợp này khoảng cách thời gian gieo mẹ là 10 ngày như sơ đồ sau.



8.18 Thời điểm gieo bố và mẹ để bố mẹ trổ trùng khớp

Phương pháp thời gian sinh trưởng dễ làm nhưng bị ảnh hưởng mạnh của điều kiện môi trường hoặc mầm cảm của giống với nhiệt độ khác nhau do đó phương pháp này đôi khi không chắc chắn.

- + Căn cứ vào số lá : Số lá của giống ổn định, điều kiện môi trường ảnh hưởng chủ yếu đến tốc độ ra lá.

Phương pháp xác định số lá:

- Chọn 10-12 cây mẹ trong ruộng mẹ.
- Đo thẻ bằng Plastic
- Tính lá từ lá thật thứ nhất mở đánh dấu bằng sơn.
- Đếm số lá định kỳ 3-5 ngày.
- Cấy các cây mẹ trên vào cùng 1 ruộng tiếp tục đếm đến khi lá đồng mở.
- Tính trung bình sau các lần đếm để biết số ngày xuất hiện 1 lá.

Đếm số lá dưới 1 lá (0,2 lá là lá mới nhú, 0,5 lá khi lá mở 1 nửa, 0,8 lá khi hầu hết lá đã mở. Sau khi đã ghi nhận được số lá tốc độ ra lá ta có thể xác định được thời gian gieo mẹ thích hợp để trổ trùng khớp.

- + Căn cứ vào hiệu quả tích nhiệt EAT (Effective Accumulated Temperature)

Quá trình ra hoa của các giống lúa bị ảnh hưởng mạnh bởi sự biến động của nhiệt độ môi trường. Khi quan sát thời gian sinh trưởng khác nhau của cùng một giống trồng ở Ấn Độ, ở những địa phương mà nhiệt độ thay đổi thường xuyên thì căn cứ thời gian sinh trưởng là không chính xác, để xác định ngày gieo dưới điều kiện như thế, căn cứ vào EAT có độ tin cậy cao hơn. Tổng tích nhiệt hữu hiệu là lượng nhiệt cây tích lũy được từ gieo đến trổ (ký hiệu EAT), lượng nhiệt tích lũy này khá ổn định với các dòng giống.

Phương pháp xác định:

- Gieo dòng A và R.
- Cấy mạ đúng giai đoạn.
- Ghi ngày trổ.
- Ghi nhiệt độ trung bình hàng ngày từ gieo đến trổ.
- Tính EAT của mỗi dòng bằng công thức:

$$EAT = (T - H - L)$$

Trong đó : T là nhiệt độ trung bình hàng ngày, H là nhiệt độ vượt quá giới hạn T-30, L là nhiệt độ thấp hơn giới hạn 12⁰C.

Khi biết EAT của các dòng bố, mẹ có thể xác định được thời gian gieo khác nhau của chúng. Ví dụ IR58025 A có EAT = 1400⁰C trong khi dòng R là IR29723 R yêu cầu EAT = 1580⁰C chênh lệch là 180⁰C. Như vậy IR29723 gieo trước khi đạt EAT = 180⁰C mới gieo dòng A (IR58025).

8.4.1.4 Số bố trong sản xuất hạt lai F1

Ngoài xác định thời điểm gieo bố mẹ để trở trùng khớp, thông thường trong sản xuất hạt lai cần gieo 2 – 3 bố, trong trường hợp gieo 3 bố cần bố trí một bố sớm hơn 3 ngày và một bố muộn hơn 3 ngày

Gieo	30/1	1/2	2/2	3/2	4/2	5/2	6/2	7/2	8/2	9/2	10/2	11/2	12/2	13/2	14/2	15/2	16/2
Mẹ																	
Bố 2																	
Bố 1																	
Bố 3																	
Trở	30/4	1/5	2/5	3/5	4/5	5/5	6/5	7/5	8/5	9/5	10/5	11/5	12/5	13/5	14/5	15/5	16/5
Mẹ																	
Bố 2																	
Bố 1																	
Bố 3																	

Hình 8.19: Thời điểm gieo bố mẹ

Ví dụ : Dòng mẹ (A) có thời gian từ gieo đến trở là 90 ngày, như vậy mẹ gieo vào 13/2 sẽ trở vào 13/5. Bố (R) có thời gian sinh trưởng từ gieo đến trở 100 ngày như vậy nếu gieo để bố mẹ trở trùng khớp cần gieo ô vào 3/2 bố sẽ trở vào 13/5. Nếu gieo thêm bố 1 vào 30/1 và bố 2 vào 6/2, như vậy thời gian trở các bố trở sẽ bao trùm toàn bộ giai đoạn trở của mẹ

8.4.1.5 Kỹ thuật làm mạ lúa lai

Xử lý hạt giống: phơi trong nắng nhẹ, nước ấm hoặc nước sôi trước khi gieo trồng để tránh nấm bệnh. Ngâm ủ hạt giống, hạt mẹ thường có tỷ lệ hờ vỏ trấu khi ngâm ủ cần có kỹ thuật đặc thù khác lúa thuần là không loại bỏ hạt nổi, thời gian ngâm ngắn 36-40 giờ liên tục đãi bằng nước sạch khoảng 6 giờ 1 lần.

Chuẩn bị đất gieo mạ: như kỹ thuật sản xuất lúa khác làm đất kỹ , lên luống và bón lót sau đó gieo. Lượng phân bón cho 01 ha đất mạ là 10-15 tấn phân chuồng + 50kgN + 80 – 90 P₂O₅ + 50K₂O. Bón lót toàn bộ phân chuồng + lân + 50% đạm và 50% kali còn lại bón thúc cho mạ 2 lần, lần 1 khi mạ có 3 lá lần 2 trước khi cấy.

Chăm sóc mạ: sau khi gieo giữ ẩm 4-5 ngày cho mạ mọc, sau đó tưới một lớp nước mỏng 1-2 cm, khi mạ ra 1.5-2,5 lá tiến hành phun thuốc trừ cỏ cho mạ vì mật độ gieo thưa nên cỏ phát triển nhanh lấn át mạ.

Phun MET (Multi Effects Triazole) với liều lượng 850g/ ha giúp cho mạ đẻ sớm, đẻ nhiều; khi mạ có 4 - 4,5 lá tiến hành bón thúc 30% đạm và toàn bộ kali, số đạm còn lại bón trước khi cấy 7 – 10 ngày.

8.4.1.6 Chọn ruộng cấy

Nơi sản xuất hạt lai nên chọn ruộng tốt, bằng phẳng , tưới tiêu hoàn toàn chủ động. Đây là yêu cầu rất quan trọng để điều chỉnh bố mẹ trở trùng khớp, nếu ruộng không bằng phẳng hoặc tưới tiêu không chủ động rất khó điều chỉnh bố mẹ trở trùng khớp.

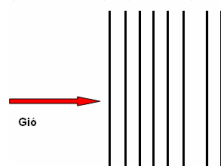
8.4.1.7.Cách ly:

Cách ly trong ruộng sản xuất hạt lai là điều kiện bắt buộc, hạt phấn của lúa nhỏ có thể bay xa nhờ gió. Có các phương pháp cách ly như sau:

- + Cách ly không gian: Cánh ly không gian 100m là thoả mãn cho sản xuất hạt lai; bắt buộc trong phạm vi này không có sản xuất lúa khác.
- + Cách ly thời gian: Những nơi khó cách ly bằng không gian thì cách ly thời gian giai đoạn trổ của bố mẹ sớm hay muộn hơn 21 ngày so với sản xuất lúa khác trong khu vực.
- + Cách ly bằng vật chắn: Một số nơi đặc điểm địa hình tự nhiên như núi, sông, rừng có thể là những vật chắn cách ly hiệu quả cho sản xuất hạt lai. Các cây trồng có thể làm vật chắn như ngô, mía, điền thanh những phải có phạm vi trồng 30m. Cách ly bằng vật chắn nhân tạo như dùng nilông cao 2m cũng có thể cách ly với phạm vi sản xuất nhỏ nhưng tốt nhất là đồi, núi làm vật chắn cách ly tự nhiên.

8.4.1.8. Tỷ lệ hàng, hướng hàng và phương pháp cấy

Sản xuất hạt lai (hạt bố, mẹ) được trồng theo tỷ lệ hàng và mật độ nhất định. Tỷ lệ hàng và mật độ có ảnh hưởng rất lớn đến năng suất hạt lai, tỷ lệ hàng hay cân đối số hàng bố (R) và hàng mẹ (A), ví dụ tỷ lệ 2 : 8 nghĩa là 2 hàng bố 8 hàng mẹ. Mặc dù vậy tỷ lệ hàng cũng khác nhau phụ thuộc vào khí hậu, quản lý dòng bố, mẹ. Một số tỷ lệ thường áp dụng như sau: 2: 8; 2 : 12 ; 3: 10... Các yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ hàng là: Chiều cao của dòng bố; sinh trưởng và sức khoẻ của dòng bố; cỡ bông và số lượng phấn của dòng; thời gian và độ mở các hoa dòng CMS; độ trổ thoát của dòng CMS. Hướng hàng bố trí cắt ngang hướng gió (gió tại thời điểm nở hoa).



Hình 8.20: Hướng hàng trong sản xuất hạt lúa lai

8.4.1.9 Phương pháp cấy

Thông thường mạ của dòng A và R cấy khi chúng được 21 - 25 ngày tuổi, đảm bảo trổ và nở hoa của dòng A và R trùng khớp nhau; cây mạ già làm ra hoa sớm, cây mạ non chậm quá trình ra hoa. Trình tự cấy bố, mẹ trong sản xuất hạt lai phụ thuộc vào thời gian sinh trưởng của bố, mẹ. Nếu mẹ có thời gian sinh trưởng ngắn hơn bố 10 ngày thì cấy mạ dòng R trước xong mới cấy dòng A. Nếu mẹ có thời gian sinh trưởng dài hơn bố 10 ngày thì cấy dòng A trước trong khuôn 8 hàng. Nếu bố, mẹ có thời gian sinh trưởng như nhau thì có thể cấy cùng 1 lúc nhưng không được để lẫn mạ.

Mật độ khoảng cách cấy tùy thuộc vào tổ hợp lai, thông thường có mật độ khoảng cách cấy như sau: Dòng R được cấy 2 hàng cặp với 8 hàng mẹ, thường có 2 kiểu cặp 1 bên và 2 bên. Cây 2-3 cây mạ/khóm, khoảng cách 30 x 15cm. Dòng A được cấy trong khuôn mẫu các dòng R, cấy 1-2 cây mạ/khóm với khoảng cách 15 x 15cm.



Hình 8.21: Kỹ thuật cấy hàng bố mẹ trong sản xuất hạt lúa lai

8.4.1.10 Thời điểm nở hoa trùng khớp của các dòng bố, mẹ

Nở hoa trùng khớp giữa các dòng bố, mẹ là rất quan trọng, thời gian nở hoa của một số dòng bố, mẹ ảnh hưởng đến sự kết hạt, để nhận được mức độ kết hạt cao dòng A và R cần phải nở hoa cùng 1 thời gian trong ngày trong thời kỳ ra hoa. Điều này đảm bảo số lượng hạt phấn tối ưu và đầu nhụy nhận được số hạt phấn tối đa. Sự khác nhau nhỏ về thời gian nở hoa của các dòng bố, mẹ có thể điều khiển bằng khua sương đọng trên hoa để thúc nở hoa nhanh hoặc phun nước để trì hoãn ra hoa.

- + Dự đoán nở hoa của bố, mẹ: ngay cả khi đã điều chỉnh thời gian gieo dòng bố, mẹ thì các dòng bố mẹ nhiều khi cũng không trở trùng khớp, do đó phải dự đoán điều chỉnh ở hoa của bố, mẹ. Dự đoán dựa vào quan sát phân hoá đòng của bố mẹ. Nhìn chung phân hoá đòng khi đẻ nhánh tối đa và ra hoa sau bắt đầu phân hoá đòng khoảng 30 ngày. Thời gian bắt đầu phân hoá đòng phụ thuộc vào thời gian sinh trưởng của giống.

Phương pháp điều chỉnh

- + Trường hợp 1: Bố chậm hơn mẹ (khác nhau 5-6 ngày). Biện pháp phun Urea 2% ngay cho mẹ để làm chậm nở hoa của dòng mẹ hoặc phun phân lân để ra hoa của dòng bố sớm hơn lên.
- + Trường hợp 2: Bố quá sớm khi mẹ quá muộn, thời gian chênh nhau khoảng 8-10 ngày: trì hoãn bố bằng tháo nước, thúc mẹ bằng phun phân phosphat, nếu mẹ là quá muộn có thể tăng mức nước trong ruộng.
- + Trường hợp 3: Chênh lệch giữa bố và mẹ trên 15 ngày trì hoãn ra hoa sớm bằng cắt bông của nhánh chính, phun Urea 2% hoặc bón đạm 30-40kg/ha.

Bảng 8.2: Thời gian sinh trưởng và thời gian từ gieo đến trổ

Thời gian sinh trưởng	Ngày bắt đầu phân hoá đòng sau gieo
95-100	40-45
105-110	50-52
115-120	60-62
125-130	65-70

8.4.1.11 Phun GA3

Vai trò của gibberelic axit trong sản xuất hạt lúa lai F1 rất quan trọng, những tác dụng chính của GA3 là:

- + Giúp cho dòng A trở thoát
- + Tăng thời gian mở hoa
- + Mở rộng góc mở hoa
- + Kéo dài vòi nhụy
- + Điều chỉnh chiều cao cây dòng bố
- + Mở rộng góc lá dòng.
- + Tăng nhánh hữu hiệu.

Kỹ thuật phun GA3

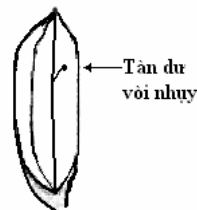
- + Thời gian phun GA3: phun GA3 hiệu quả cao khi 5-10% trổ, lần thứ nhất phun 40% còn lại 60% phun vào ngày thứ 2, phun vào lúc 8-10 giờ sáng hoặc 4-6 giờ chiều, tránh ngày mưa và gió to.
- + Liều lượng phun GA3 có lợi cho tỷ lệ kết hạt nhưng chi phí lớn, nên nhiều nghiên cứu cho thấy lượng 40-60g/ha là tối ưu. GA3 không hoà tan trong nước vì vậy phải hoà tan trước trong cồn 70% (1gGA3 trong 25-40ml cồn) pha trước 1 ngày trước khi phun, khi phun cần có nước trong ruộng 3-5cm.

8.4.1.12 Thụ phấn bổ sung

Thụ phấn bổ sung nhằm nâng cao khả năng tung phấn và hứng phấn để tăng tỷ lệ kết hạt bằng rung dòng bố để phấn bay sang dòng mẹ, thường dùng sào hoặc dây kéo để rung. Thời gian thụ phấn bổ sung tốt nhất khi 30-40% hoa dòng mẹ mở, rung 3-4 lần trong ngày, khoảng cách giữa các lần là 30 phút và thực hiện liên tục trong suốt thời gian trổ.

8.4.1.13 Khử lẫn

Khử lẫn là công việc rất quan trọng để đảm bảo độ thuần di truyền của giống lai, khử lẫn là loại bỏ những cây không mong muốn, cây khác dạng ra khỏi quần thể giống. Khử lẫn có thể thực hiện bất kỳ thời gian nào nhưng thường tập trung vào 3 thời kỳ chính. Khử lẫn lúc đẻ nhánh tối đa dựa dạng cây lúa để nhận biết cây khác dạng trong hàng, ngoài hàng. Khử lẫn lúc ra hoa giai đoạn này rất quan trọng và để nhận biết cây khác dạng không thể nhận biết ở giai đoạn trước, chúng có thể ra hoa sớm hơn hoặc muộn hơn. Kích thước, hình dạng và góc độ lá dòng, cây có hoa và hạt phấn vàng (hạt phấn hữu dục), độ trổ thoát của bông cũng là một căn cứ để khử lẫn. Ngoài ra còn loại bỏ cây bị bệnh, cây xấu, sinh trưởng kém. Khử lẫn trước khi thu hoạch là cơ hội cuối cùng để loại bỏ cây lẫn, nhận biết qua dạng hạt, dạng bông, độ thò vòi nhụy, tỷ lệ kết hạt, đặc biệt tàn dư vòi nhụy trên vỏ trấu... để khử bỏ cây khác dạng và cây có hạt không phải là hạt lai.



8.4.1.14 Thu hoạch bảo quản

Thu dòng bố trước để đảm bảo cho tránh lẫn cơ giới sau đó mới thu dòng mẹ. Thu hoạch phải vào ngày thời tiết khô ráo, không có mưa. Thu ngày nào tốt đập tách hạt và phơi ngay ngày đó. Tuốt đập bằng máy tuốt nhỏ, tốc độ thấp để tránh dập gãy hạt giảm chất lượng hạt lai. Làm khô bằng phơi hoặc sấy nhưng nguyên tắc chung là nhiệt độ không quá cao, độ ẩm 13% đưa vào bảo quản. Hạt lai dễ mất sức nảy mầm do vậy bảo quản trong điều kiện ẩm độ và nhiệt độ thấp.

8.4.2 Kỹ thuật sản xuất hạt cà chua ưu thế lai F1

Giống cà chua ưu thế lai có nhiều ưu điểm hơn giống thuần, giống lai thường cho năng suất cao, thời gian sinh trưởng thường ngắn và chín đồng đều hơn. Nhiều giống lai có chất lượng và khả năng chống chịu tốt. Chính vì ưu điểm điểm này nhiều nông dân thích trồng giống cà chua lai hơn giống thuần. Tuy nhiên sản xuất hạt ưu thế lai của cà chua không dễ dàng, thứ nhất yêu cầu lao động cao, đặc biệt vào thời gian lai. Theo AVRDC cần 2 - 3 cán bộ kỹ thuật cho 0,1 ha mẹ hoặc 4 - 6 cán bộ kỹ thuật lai trong 3 tuần với 0,1 ha cây mẹ. Cũng may mắn lao động ở các nước đang phát triển cũng như nước ta không khó khăn và giá lao động không cao.

a) Hạt bố mẹ

Hạt bố mẹ đưa vào sản xuất hạt cà chua lai yêu cầu có độ thuần di truyền cao, sạch bệnh thông thường cấp hạt nguyên chủng có chứng chỉ phẩm cấp

b) Yêu cầu ngoại cảnh đối với sản xuất hạt cà chua ưu thế lai

Sản xuất hạt cà chua ưu thế lai điều kiện môi trường phù hợp cho năng suất cao, chất lượng hạt giống tốt. Điều kiện môi trường yêu cầu mùa khô, nhiệt độ ban ngày 21 - 25 °C và nhiệt độ ban đêm 15 - 20 °C, nhiệt độ trong thời gian đậu quả không vượt quá 30°C. Ẩm độ không nên vượt quá 60% trong thời gian quả chín, nếu vượt quá 60% tăng khả năng nhiễm bệnh và giảm năng suất. Hạt lai sản xuất trong mùa mưa nhìn chung năng suất và chất lượng rất kém.

c) Chọn đất

Không trồng cà chua trên những ruộng cây trồng trước là cây họ cà, ớt để tránh tích lũy bệnh. Cà chua thích hợp loại đất tốt, thoát nước, thuận lợi tưới tiêu và có pH từ 6,0 đến 7,0 là tối ưu. Trồng cà chua trên đất luân canh sau lúa sẽ giảm bệnh giun tròn, giảm nhiễm bệnh.

d) Cách ly

Sản xuất hạt cà chua ưu thế lai đồng thời trồng hai ruộng bố và mẹ, hai ruộng bố mẹ cần đảm bảo khoảng cách cách ly là 50 m, nhưng nếu ruộng bố mẹ quá xa nhau khó khăn thu phần và lai.

e) Những kỹ thuật đặc thù:

Cây sinh trưởng phát triển tốt cho năng suất quả và hạt tốt, do vậy các biện pháp kỹ thuật cần áp dụng tối ưu như bón phân, tưới nước và phòng trừ sâu bệnh đầy đủ theo nhu cầu của giống và kịp thời. Trồng dòng bố và mẹ khác ruộng, khu vực trồng dòng mẹ, mật độ thưa để cây sinh trưởng, phát triển tốt nhiều hoa, hoa to. Cả dòng

bố và mẹ đều trồng hàng đôi trên luống, cao luống 20 cm (vì trong mùa khô), rộng luống 150cm. Theo AVRDC khoảng cách trồng cây mẹ cách cây mẹ 50 cm hàng mẹ cách hàng mẹ 70cm, cây bố cách cây bố 40cm , hàng bố cách hàng bố 70 – 80cm là phù hợp.

f) Làm dàn và tỉa cành

Các cây mẹ được làm dàn đỡ để thuận lợi trong quá trình khử đực, thụ phấn và mang quả , quả không bị chạm đất dễ gây thối. Giữa các cây bố chỉ những dòng sinh trưởng vô hạn mới cần làm dàn còn sinh trưởng hữu hạn, cây thấp không cần làm dàn để giảm chi phí sản xuất.

Dòng bố và mẹ phải có 100% số cây có thuần cao , đồng đều, không sâu bệnh, sinh trưởng phát triển tốt. Độ thuần xác định qua kiểu cây, dạng lá và quả, đặc biệt căn cứ vào dạng quả, kích thước quả, màu sắc quả và độ đồng đều để xác định cây khác dạng. Cây bố mẹ phải điển hình của dòng về mọi đặc điểm. Khử bỏ toàn bộ cây khác dạng, cây sâu bệnh trước khi thực hiện lai.



Hình 8.23: Kỹ thuật làm giàn cà chua trong sản xuất hạt lai
(nguồn R.T.Opeña, J.T.Chen, T.KalbandP.Hanso, AVRDC. 2001)

g) Khử đực:

Tự thụ phấn là rất nguy hiểm trong sản xuất hạt ưu thế lai. Để ngăn ngừa sự tự thụ phấn phải khử đực trên toàn bộ cây mẹ trước khi phấn chín và tung phấn. Hình ảnh hoa mẹ trước và sau khi khử đực như được trình bày hình 64. Thời điểm khử đực thường 55 - 65 ngày sau gieo các nụ hoa từ chùm hoa thứ 2 được chọn để khử đực , những hoa có cánh hoa hé ra khỏi nụ nhưng chưa mở, màu của tràng hoa hơi vàng ngay cả màu nhợt. Các hoa của trim hoa thứ nhất đều cắt bỏ



Hình 8.24: Thời điểm khử đực phù hợp để tạo hạt lai
(nguồn R.T.Opeña, J.T.Chen, T.KalbandP.Hanso, AVRDC. 2001)

Dụng cụ khử đực như panh, kéo, tay, gang tay đều được khử trùng trước khi khử đực bằng cồn 95% để tránh nhiễm phấn. Sử dụng điểm nhọn, sắc của panh để mở nụ chọn khử đực, sau đó tách mở nón bao phấn. Thân trọng lấy nón phấn ra ngoài nụ để lại nguyên đài, tràng và cánh hoa. để nhận biết quả lai với quả tự thụ phấn tại thời điểm thu hoạch sử dụng kéo cắt một số lá đài



Hình 8.25: Kỹ thuật khử độc hoa cà chua
(nguồn R.T.Opeña, J.T.Chen, T.KalbandP.Hanso, AVRDC. 2001)

h) Thu thập sử dụng và bảo quản phần bổ

Thu thập hoa từ cây bố để lấy phần, thời gian lấy phần tốt nhất vào buổi sáng trước khi tung phân, tránh lấy phần vào ngày mưa. Lấy bao phần từ các hoa bố vào túi bóng kính, sau đó hong khô phần bằng cách đặt túi bóng kính đựng hoa bố dưới ánh sáng đèn 100W khoảng cách 30cm, trong thời gian 24 giờ (nhiệt độ hong khô khoảng 30°C), cũng có thể hong phần dưới nắng. đưa phần đã hong khô vào cốc , trùm lên một lưới mắt nhỏ (200 - 300 mắt/cm²) và sau đó bịt kín nó với một cái cốc khác vừa khít như một cái vung. Tiếp theo lắc cốc 10 - 20 lần để phần rơi ra cốc và lấy phần thu được đưa vào cốc nhỏ để mang đi thụ phần lai. Phần cà chua có thể bảo quản được một ngày với điều kiện trong phòng nhiệt độ bình thường, nhưng thụ phần tươi tỷ lệ đậu quả tốt hơn phần bảo quản. Nếu thời tiết không thuận lợi cho thụ phần đóng gói kín bảo quản trong lạnh có thể giữ được phần h một tháng hoặc tủ bảo quản lạnh 2- 3 ngày hạt phần giảm sức sống không ở mức có ý nghĩa.



8.26 phương pháp rũ phân (nguồn R.T.Opeña, J.T.Chen, T.KalbandP.Hanso, AVRDC. 2001)

i) Thụ phần:

Nhìn chung, sau khi khử độc 2 ngày thì tiến hành thụ phần, cố gắng tránh ngày mưa. Khi tràng hoa màu vàng sáng, đầu nhụy nổi rõ là thời điểm thụ phần phù hợp.



Hình 8.27: Kỹ thuật thụ phần lai cà chua
(nguồn R.T.Opeña, J.T.Chen, T.KalbandP.Hanso, AVRDC. 2001)

Phần được đựng trong cốc nhỏ và nông, như vậy có thể nghiêng hoa để chấm đầu nhụy vào phần trong cốc. Hoặc để phần lên đầu ngón tay và chấm đầu phần lên đầu nhụy, quá trình thụ phần như vậy thường thực hiện 3 lần trong 1 tuần và liên tục trong 3 - 5 tuần. Nếu thụ phần thành công thì sau 1 tuần quả được hình thành. Những hoa không lai cắt bỏ hết tránh lẫn tạp khi thu hoạch

j) Tạo quả:

Số quả trên cây lai phụ thuộc vào nhiều yếu tố như dòng bố mẹ, kết quả lai. Thông thường trên một cây mẹ để 30 quả với giống quả to, 40 quả với giống quả trung bình và 50 quả với giống quả nhỏ.

k) Thu hoạch:

Thu hoạch sau 50 - 60 ngày sau khi thụ phần nhưng có thể dài hơn khi nhiệt độ thấp (mát). Giữ quả cho đến khi chín hoàn toàn để hạt giống phát triển bình thường và đầy đủ. Nếu thu hoạch sớm cần để trong máy có che đậy 3 hoặc 4 ngày cho quả chín hoàn toàn.

l) Tách hạt, làm khô, đóng gói và bảo quản :

Kỹ thuật giống như đối với hạt giống cà chua thuần, tách hạt bằng lên men hoặc a xít, làm khô bằng phơi hoặc sấy. Trong khi phơi hoặc sấy cần đảo để lô hạt giống khô đều, phủ lưới khi phơi sấy tránh nhiễm bệnh vào lô hạt giống.



8.28 Phủ lưới khi sấy hạt giống

(nguồn R.T.Opeña, J.T.Chen, T.KalbandP.Hanso, AVRDC. 2001)

8.4.3 Kỹ thuật sản xuất hạt giống cà tím ưu thế lai F1

a) Nguồn gốc đặc điểm

Giống ưu thế lai cà tím là một tiến bộ trong nông nghiệp ở các nước. Những giống ưu thế lai ở các nước sản xuất hạt giống đều do các công ty tư nhân thực hiện cung cấp cho thị trường. Nước ta tạo giống cà tím ưu thế lai còn hạn chế, chủ yếu là giống nhập nội. Tuy vậy xu hướng chung của thế giới cũng như nước ta là sử dụng giống ưu thế lai vì năng suất cao, chất lượng tốt và chống chịu với điều kiện bất thuận, sâu bệnh tốt hơn giống thuần. Sử dụng giống ưu thế lai là xu hướng tất yếu vì để bảo hộ bản quyền tác giả giống cây trồng trong nền kinh tế thị trường và hội nhập

b) Yêu cầu ngoại cảnh

Yêu cầu môi trường cho sản xuất hạt lai F1 tương tự như sản xuất hạt giống thuần. Nhiệt độ quan trọng đối sinh trưởng phát triển, đặc biệt chênh lệch nhiệt độ ngày và đêm của giai đoạn phát triển quả và hình thành hạt. Lượng mưa nhỏ trong thời kỳ ra hoa và thụ phấn là phù hợp với sản xuất hạt lai F1. Đất trồng sản xuất hạt lai chọn đất tốt, thoát nước và sạch bệnh và yếu tố thành công trong sản xuất hạt lai và nâng cao năng suất cũng như chất lượng hạt lai.

c) Các giống cà tím ưu thế lai F1

Giống cà ưu thế lai đang có trong sản xuất ở nước ta chủ yếu là giống nhập nội từ Trung Quốc, Nhật Bản và các nước khác.

d) Hạt giống gốc

Cũng như cây trồng khác khi sản xuất hạt lai yêu cầu lô hạt giống của dòng bố, mẹ nguyên chủng có chứng chỉ hạt giống

e) Chọn đất và khu sản xuất

Đất sản xuất hạt giống cà tím cần chọn đất tốt, thoát nước và tưới tiêu thuận lợi. Cần tránh tuyệt đối những ruộng cây trồng vụ trước là những cây thuộc họ cà như khoai tây, cà chua và ớt. Chọn chân đất sản xuất hạt giống cây luân canh với lúa nước là tốt nhất để tránh lây một số bệnh vi khuẩn và nấm cho ruộng sản xuất hạt giống. Đất sét pha cát cho thu hoạch sớm và năng suất cao hơn đất thịt nặng. pH thích hợp cho sản xuất hạt giống cà tím là 5,5 đến 6,5

f) Cách ly

Mặc dù cà tím là cây tự thụ phấn nhưng do cấu tạo hoa đầu nhụy nhô cao hơn bao phấn do vậy rất dễ nhận phấn ngoài. Khả năng nhận phấn ngoài tùy thuộc giống,

điều kiện sinh thái và hoạt động của côn trùng. Theo kết quả nghiên cứu các giống của Ấn Độ tỷ lệ giao phấn từ 2 – 48%, các giống của Trung Quốc 3 – 7%, các giống từ Trung tâm nghiên cứu và phát triển rau Quốc tế (AVRCD) từ 0 – 8%. Như vậy sản xuất hạt giống cần cách ly tốt, cách ly không gian là 200m xung quanh không trồng cây họ cà.

g) Kỹ thuật vườn ươm

Cũng như cây họ khác, giai đoạn trong vườn ươm rất quan trọng cần được quan tâm như chọn đất, làm đất kỹ, nhổ lên luống để gieo hạt. Gieo trong vườn ươm để điều kiện chăm sóc tốt, đất đai đồng đều tạo cây con đồng đều, khỏe mạnh trước khi đưa ra ruộng sản xuất. Thời gian cây con trong vườn ươm khoảng 5 tuần. Xử lý hạt giống trước khi gieo:

- Hạt giống mới không cần xử lý trước khi gieo.
- Đối với hạt đã qua bảo quản cần xử lý bằng ngâm hạt trước khi gieo trong nước ấm 50°C với thời gian 30 phút sau đó tráng qua nước lạnh và hong khô đem gieo nâng cao sức nảy mầm và tỷ lệ nảy mầm. Hạt có thể xử lý bằng thiram để ngăn ngừa nấm bệnh hại rễ cây con. Phương pháp gieo ươm cây con có thể là trong nhà kính, nhà lưới, gieo trên khay hoặc trực tiếp trên luống đất. Gieo trên khay có ngăn để không làm rối rễ cây con, cây con đồng đều hơn và khi cây con đủ tiêu chuẩn trồng chuyển ra ruộng sản xuất thuận lợi.



8.29 Vườn ươm cây con cà tím

(nguồn N.C. Chen, H.M. Li, and T. Kalb. AVRDC. 2001)

Đất gieo cây con có thể là hỗn hợp đất, phân chuồng, trấu, rác mục hoặc đất thương mại (chế biến sẵn) như đất than bùn + cát... Chăm sóc cây con trong giai đoạn vườn ươm để tạo ra cây con khỏe mạnh bao gồm tưới phân vô cơ pha loãng cho cây con sau gieo 2 tuần, tỉa bỏ cây còi cọc, sâu bệnh. Nếu gieo trên luống cần có rơm mục, trấu phủ luống để không gây văng đất và xô hạt cũng như cây con khi tưới. Luống phải thoát nước, tỉa bớt cây con khi cây có một lá thật đảm bảo mật độ thưa cho cây con khỏe mạnh.

h) Kỹ thuật gieo trồng

Kỹ thuật gieo trồng như thời vụ, làm đất, bón phân, chăm sóc tương tự như kỹ thuật trồng trực tiếp sản xuất hạt giống cà tím thuần. Luôn luôn cắt tỉa lá già, cành và sạch cỏ dại tạo thông thoáng trong ruộng sản xuất hạn chế nhiễm bệnh



i) Những kỹ thuật đặc thù của sản xuất hạt giống lai F1

Xác định thời vụ gieo trồng bố mẹ để nở hoa cùng nhau: Nguyên tắc là bố nên ra hoa sớm hơn mẹ 7 – 10 ngày, như vậy nguồn phấn sẽ đầy đủ trong thời gian lai. Lượng cây bố và hoa bố để cung cấp đủ phấn cho lai là rất quan trọng cần có những nghiên cứu để xác định. Căn cứ để xác định gieo trồng bố, mẹ dựa vào thời gian sinh trưởng hoặc hiệu quả tích nhiệt của bố và mẹ từ trồng đến ra hoa. Tỷ lệ trung bình là 5 – 6 cây mẹ có một cây bố cung cấp phấn, nhưng tỷ lệ này có thể điều chỉnh phù hợp với mỗi tổ hợp lai. Khử đực hoa mẹ và thu hoa bố để thụ phấn bằng tay được thực hiện đồng thời trong một thời điểm để đậu quả và hạt tốt hơn do vậy ra hoa tập trung của bố và mẹ là rất quan trọng. Dòng bố và mẹ ra hoa tập trung phụ thuộc chủ yếu vào kỹ thuật trồng trọt như bón phân, tưới nước, xới vun, làm cỏ.. Các biện pháp kỹ thuật áp dụng cho ruộng bố và ruộng mẹ như nhau, không bón phân nhiều lần và bón phân, chăm sóc bố mẹ cùng thời điểm. Khử lẫn đối với sản xuất hạt lai F1 được tiến hành trước khi lai, loại bỏ toàn bộ cây khác dạng, cây bệnh, cây còi cọc trên cả ruộng mẹ và ruộng bố.

j) Kỹ thuật lai

Trước khi bắt đầu khử đực tất cả các hoa đã nở, quả đã đậu đều phải cắt bỏ trên ruộng cây mẹ. Thời gian lai khử đực và thụ phấn có thể kéo dài trong phạm vi 25 – 35 ngày tùy theo giống và tập tính nở hoa của bố mẹ tổ hợp lai. Hoạt động lai nên tập trung vào những lứa hoa đầu đến 2/3 cây, không nên lai những đợt hoa cuối chất lượng hạt giống kém.

Khử đực

Các hoa sẽ nở sau 1 – 2 ngày được chọn để khử đực, ở giai đoạn này cánh hoa vẫn còn màu trắng. Khử đực khi hoa còn non để gây hại đến vòi nhụy và bầu nhụy, nhưng khử đực hoa già khi cánh hoa đã chuyển sang màu tím, phấn chín khả năng đã tự thụ phấn là rất cao. Dùng panh sắc mở hoa ngắt toàn bộ nhị đực và bao phấn ra ngoài không gây hại đến vòi và bầu nhụy (như cà chua). Sau khi khử đực bao cách ly ngay các hoa đã khử đực

Thu thập phấn bố

Thu phấn từ các hoa bố chưa tung phấn vào buổi sáng vào dụng cụ chứa là cốc, sau một thời gian bao phấn vỡ, rung hoa để phấn rơi vào bình hoặc cốc nhỏ. Không thu hoa bố trên những cây khác dạng, cây còi cọc, cây sâu bệnh.

Thụ phấn

Các hoa đã khử đực một đến hai ngày nhụy đã chín hoàn toàn có thể tiến hành thụ phấn để lai. Dùng kéo nhỏ sắc cắt đài hoa mẹ, vòi nhụy nhô ra được nhúng vào cốc phấn bố, phương pháp thụ phấn giống như đối với cà chua là đưa phấn bố lên đầu ngón tay rồi chấm vào đầu nhụy hoa mẹ đã khử đực. Sau khi thụ phấn tiếp tục bao cách ly, tất cả các hoa không lai trên cây mẹ đều cắt bỏ

Số quả lai trên một cây tùy theo kích thước quả và số hạt trên quả

+ Quả to lai 4 – 6 quả/cây

- + Quả trung bình 6 – 10 quả
- + Quả nhỏ 12 – 15 quả/cây

k) Thu hoạch và chế biến hạt giống

Thu hoạch

Thu hoạch trong sản xuất hạt giống phải đảm bảo quả chín hoàn toàn để có chất lượng hạt giống tốt. Thu hoạch quả chín hoàn toàn căn cứ vào màu sắc quả, thường khi chín quả chín chuyển sang màu vàng. Đối với hạt lai, hạt chín hoàn toàn sau khi lai khoảng 50 – 55 ngày, tuy nhiên cũng có thể thay đổi phụ thuộc vào dòng bố mẹ và điều kiện môi trường.

Tách hạt, phơi khô

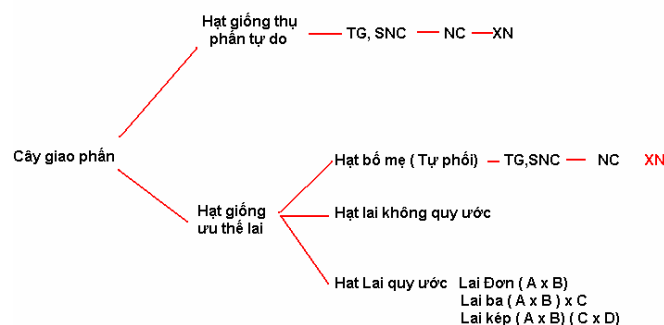
Quả thu hoạch bảo quản 3 – 4 ngày đến khi quả mềm ra và hạt chín hoàn toàn, cắt bỏ 1/3 đầu quả vì phần này hoàn toàn không có hạt. Các phương pháp tách hạt chủ yếu là cắt, vò, ngâm dầm nát tách hạt bằng tay hoặc máy tách hạt. Sau đó hạt được rửa, làm sạch bằng nước. Trong trường hợp sản xuất nhỏ thì phương pháp tách hạt bằng bỏ quả tách khô bằng tay phù hợp nhất. Hạt sau khi tách được làm khô bằng phơi hay máy sấy, trong quá trình phơi sấy phải đảo thường xuyên để hạt khô đều. Độ ẩm bảo quản của hạt cà tím là 8% đưa vào đóng gói bảo quản trong các kho chuyên dụng. Năng suất hạt lai cà tím khoảng 600 – 800 kg do vậy tìm hiểu các kỹ thuật nâng cao năng suất hạt lai cần thiết nhằm hạ giá thành, tăng lợi nhuận trong sản xuất hạt giống.

CHƯƠNG 9

KỸ THUẬT SẢN XUẤT HẠT GIỐNG CÂY GIAO PHẦN

Những cây giao phần rất đa dạng về cấu trúc hoa, phương thức sinh sản và giao phần. Những cây giao phần điển hình ở họ hòa thảo như ngô (*Zea Mays* L.), cây họ bầu bí: dưa hấu (*Citrullus lanatus*), dưa chuột (*Cucumis sativus*), bí đỏ (*Cucurbita moschata*), bí xanh (*Cucurbita pepo*), bầu (*Lagenaria siceraria* Mol.), mướp (*Luffa aegyptiaca* Mill.). Cây họ thập tự như bắp cải (*Brassica oleracea* var. *capitata*), su hào (*Brassica canlorapa* Pasq hoặc *Brassica oleracea* var. *caulorapa*), su lơ (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), cải (*Brassica* sp. L.). Những cây rau thuộc họ hành tỏi: hành tây (*Allium cepa* L.), tỏi (*Allium sativum* L.). Cây rau thuộc họ hoa tán như carrot (*Daucus carota* L.). Cây rau gèn (*Amaranthus*) thuộc họ rau gèn (*Amaranthaceae*)

Các loại hạt giống ở nhóm cây giao phần



Hình 9.1: Các loại và cấp hạt giống ở cây giao phần

9.1 Sản xuất giống thụ phấn tự do ở cây giao phần (OP)

Những kỹ thuật cơ bản sản xuất hạt giống thụ phấn tự do ở cây giao phần cũng như cây tự thụ phấn, người sản xuất hạt giống phải có những kiến thức cơ bản về sinh sản, di truyền quần thể và những đặc điểm đặc thù của mỗi loài cây trồng, ngay cả đặc điểm của từng giống để áp dụng kỹ thuật phù hợp. Cây giao phần để duy trì kiểu gen xác thực cần có kỹ thuật chọn lọc, tái tổ hợp để tạo lập lô hạt giống SNC, NC và xác nhận khoa học. Kỹ thuật chung của sản xuất hạt giống thụ phấn tự do cây giao phần qua ba vụ như sau:

Vụ 1: Gieo trồng vườn vật liệu và chọn dòng

Gieo trồng trong khu cách ly, cách ly về không gian và thời gian theo yêu cầu và tiêu chuẩn hạt giống của mỗi loài cây trồng. Gieo trồng trong điều kiện tối ưu của loài, quản lý dịch hại tốt, đồng đều về môi trường. Chỉ gieo trồng một hạt, 01 cây/khóm. Số lượng cá thể gieo trồng phải lớn đảm bảo giữ nguyên đa dạng di truyền kiểu gen của giống đó, số lượng cá thể khác nhau giữa các loài cây trồng nhưng tối thiểu quần thể >1000 cá thể. Đánh giá để chọn cá thể tốt nhất, đúng giống, thu riêng chia số hạt làm 2 phần, một phần đưa đi so sánh dòng ở vụ 2, một phần cất trữ. Chọn các cá thể đồng đều trên ruộng chọn giống để tránh hiện tượng cận phối

Bảng 9.1 Khoảng cách cách ly tối thiểu với một số cây giao phấn

TT	Cây trồng	Khoảng cách tối thiểu (m)	
		Sản xuất hạt nguyên chủng	Sản xuất hạt xác nhận
1	Cây ngô	400	200
2	Bắp cải	1600	1000
3	Su lơ	1600	1000
4	Cây họ bầu bí	800	400
5	Hành	1000	400

9.1.3 Độ lớn quần thể:

Sản xuất giống ở cây giao phấn quần thể không được quá nhỏ dẫn đến cận phối và suy thoái giống, với các loài cây trồng khác nhau yêu cầu độ lớn quần thể khác nhau. Nguyên tắc độ lớn quần thể phải đảm bảo mức độ đa dạng di truyền của một giống cao nhất như ngô cỡ quần thể từ 8000 – 12000 cá thể, nhưng các cây họ bầu bí có thể nhỏ hơn khoảng 3000 – 5000 cá thể

9.1.4 Chọn lọc:

Trong sản xuất hạt giống thụ phấn tự do chọn lọc là một kỹ thuật quan trọng, cần áp dụng những kỹ thuật chọn lọc để duy trì quần thể như chọn lọc hỗn hợp, chọn lọc hỗn hợp tải tiến, chọn lọc bắp trên hàng hoặc bắp trên hàng cải tiến. Chọn lọc cần tiến hành trước khi thụ phấn hiệu quả chọn lọc cao hơn. Ví dụ chọn lọc loại bỏ cây bệnh, cây khác dạng ra khỏi quần thể giống ngô cần chọn lọc loại bỏ trước khi tung phấn bởi vì chọn lọc muộn khi những cây này đã cho phần cá thể khác trong quần thể hiệu quả chọn lọc thấp.

9.2 Sản xuất hạt giống ưu thế lai ở cây giao phấn

Cũng như cây tự thụ phấn sản xuất hạt giống được thực hiện ở giai đoạn nhân và duy trì dòng bố mẹ và sản xuất hạt lai F1

- + Giai đoạn 1: Nhân dòng bố mẹ
- + Giai đoạn 2: Sản xuất hạt lai F1

9.2.1 Nguyên lý nhân và duy trì dòng bố mẹ ở cây giao phấn

Dòng bố mẹ ở cây giao phấn có đặc điểm khác với cây tự thụ phấn là các dòng tự phối thuần dòng hợp. Do hệ quả tự phối các dòng bố mẹ tự phối suy giảm về sức sống, khả năng chống chịu cho nên quá trình duy trì và nhân dòng rất khó khăn.

Những nguyên tắc chung khi nhân dòng bố mẹ:

- + Khi nhân dòng phải nắm được đầy đủ đặc điểm của dòng bố mẹ như thời gian sinh trưởng, khả năng chống chịu...
- + Áp dụng các phương pháp chọn lọc khi nhân dòng để không làm thay đổi di truyền của dòng tự phối bố mẹ
- + Thực hiện nhân và duy trì dòng trong điều kiện tối ưu để có năng suất nhân dòng cao nhất và không làm thay đổi di truyền.
- + Giảm bớt số lần nhân dòng bố mẹ bằng cách nhân dòng một lần cung cấp hạt bố mẹ cho sản xuất hạt lai một số vụ
- + Nhân giống bố mẹ cần cách ly tuyệt đối với tất cả các loại dòng bố mẹ và theo yêu cầu cách ly với mỗi loài cây trồng, tối thiểu khoảng cách cách ly là 1500 m hoặc sản xuất nhân dòng trong nhà lưới

Nhân dòng bố mẹ ở cây giao phấn rất khác nhau ở một số họ như họ hòa thảo (ngô) dòng bố mẹ là dòng tự phối thuần (ký hiệu I hoặc S), cây họ thập tự dòng bố mẹ có thể là các dòng tự bất hợp (SI), cây họ bầu bí dòng bố mẹ có thể là những dòng ưu thế cái (PF)

a) Nguyên lý dòng bố mẹ tự phối

Mục tiêu duy trì dòng tự phối là duy trì khả năng, đặc điểm và tính xác thực di truyền của dòng gốc, hạn chế chi phí khử lẫn, cần thực hiện mức cao nhất của cách ly đồng ruộng, loại bỏ triệt để cây khác dạng. Phương pháp thụ phấn phù hợp và ghi chép và đeo thẻ cho thế hệ và dòng xác thực nhất (Vasal and Gonzalez, 1999b). Mặc dù có những biện pháp ngăn ngừa vẫn có sự thay đổi xảy ra do phân ly của di tích dị hợp còn tồn tại trong dòng thuần, đột biến, lẫn cơ giới, thay đổi môi trường và lẫn sinh học.

Hạn chế nhân dòng bằng bảo quản lạnh sẽ giảm bớt rủi ro lẫn tạp và trôi dạt di truyền (genetic drift). Duy trì các dòng tự phối liên quan đến tự thụ phấn, thụ phấn sib chi em hoặc cả hai. Tự thụ để duy trì dòng hợp còn sib để tránh suy giảm sức sống của dòng tự phối. Thụ phấn sib có thể làm bằng tay hoặc bằng trồng trong khu cách ly, tất cả cây khác dạng đều được khử bỏ trước trổ cờ.

Duy trì dòng tự phối theo hai phương pháp chủ yếu

- + Tự phối tiếp tục: Trồng bố mẹ và tiếp tục tự phối, phương pháp này ngày nay ít áp dụng vì làm thay đổi di truyền của dòng bố mẹ theo su hướng tiếp tục suy giảm. Tuy nhiên vẫn áp dụng trong một đến hai vụ đầu tiên của quá trình nhân và duy trì dòng tự phối.
- + Thụ phấn chị em (sib): Là phương pháp chọn những cá thể điển hình lai từng cặp hoặc hỗn hợp phấn của các cá thể chọn thụ cho từng cây chọn. Phương pháp này được áp dụng phổ biến vì chống được suy thoái và tăng số hạt nhân dòng của mỗi vụ. Lai từng cặp áp dụng ở những thế hệ nhân đầu ngay sau vụ tự phối và thụ phấn hỗn hợp áp dụng ở những vụ tiếp sau từ vụ 4 trở đi

b) Nguyên lý nhân dòng bố mẹ tự bất hợp

Khi sử dụng tự bất hợp trong sản xuất hạt lai ở cây họ thập tự quá trình nhân và duy trì dòng bố mẹ bằng tự phối, nhưng để tự phối phải phá vỡ được tự bất hợp. Có hai phương pháp thực hiện tự thụ phấn là:

Phương pháp 1: Thụ phấn sớm 3 ngày trước khi nở hoa vì phản ứng tự bất hợp chỉ xảy ra 2 ngày trước khi nở hoa. Như vậy thụ phấn trước 3 ngày có thể thụ phấn thụ tinh bình thường đối với các dòng tự bất hợp. Xác định các nụ đúng thời điểm có thể thụ phấn tự phối liên tục 8 giờ trong ngày. Tuy nhiên thụ phấn nụ gặp khó khăn do hoa của họ thập tự nhỏ và rất mềm khi thao tác khử đực, thụ phấn dễ gây tổn thương hoa

Phương pháp 2: Phá vỡ tự bất hợp để tự phối bằng dung dịch muối ăn loãng (NaCl 8%) xử lý trên bề mặt đầu vòi nhụy rồi lau khô sau đó thụ phấn bằng bao phấn chín của cùng cây hoặc cây khác trong dòng là thụ phấn chị em

- + Tìm nụ gần nở hoa trên cành hoa (nụ già nhất)
- + Dùng panh cắt các gai và cẩn thận mở nụ hoa cho đầu nhụy hoàn toàn lộ ra
- + Nhẹ nhàng gấp bỏ các bao phấn chưa chín ra khỏi hoa

- + Nhỏ dung dịch muối lên đầu nhụy, sử dụng một que gỗ nhỏ làm đều dung dịch trên đầu nhụy, chờ 15 phút cho dung dịch muối phá vỡ tính tự bất hợp, sau đó làm khô đầu nhụy bằng giấy mềm hoặc giấy thấm không để sót và phải đảm bảo hoàn toàn không còn dung dịch muối trên đầu nhụy
- + Sử dụng panh gấp ao phần chín trong hoa hoặc hoa liền đó bóp bao phấn vỡ và chà lên đầu nhụy và phải đảm bảo cho phần bám chặt trên mặt đầu nhụy.

Thụ phấn như trên thu được số lượng hạt bố mẹ rất nhỏ, để tăng số lượng hạt bố mẹ thường thực hiện lai đơn cung cấp hạt cho lai kép tạo hạt lai thương mại

c) Nguyên lý nhân dòng bố mẹ ưu thế cái

Nhân dòng bố mẹ ưu thế cái trong sản xuất hạt lai được sử dụng trong họ bầu bí như dưa chuột. Dòng ưu thế cái có tỷ lệ hoa cái gấp 13 lần hoa đực đã giảm công khử đực trong sản xuất hạt lai. Nhưng trong giai đoạn nhân dòng cần tăng tỷ lệ hoa đực và có thể thực hiện bằng kỹ thuật gieo trồng và xử lý hóa chất. Trồng nhân dòng mẹ (PF) với mật độ dày hơn, tăng lượng bón phân kali và khi phân hóa hoa phun hóa chất kích thích hình thành hoa đực. Các hóa chất được khuyến cáo sử dụng là Gibbrellin, AgNO₃, Thiosulfate bạc [Ag(S₂O₃)], Aminoethoxyvinylglycine (AVG).

9.2.2 Nguyên lý sản xuất hạt lai F1 ở cây giao phấn

a) Hạt giống bố mẹ

Hạt giống bố mẹ đưa vào sản xuất hạt lai phải đảm bảo giữ nguyên được kiểu gen trong quá trình nhân dòng và đạt cấp nguyên chủng. Nhân dòng bố mẹ ở cây giao phấn là một kỹ thuật vô cùng phức tạp và rất dễ thay đổi kiểu gen so với dòng bố mẹ gốc do giao phấn.

b) Chọn đất và khu sản xuất

Nguyên lý chọn đất và khu vực sản xuất như đối với sản xuất hạt giống thụ phấn tự do và theo yêu cầu của mỗi loài cây trồng. Yêu cầu chung là đất tốt, thoát nước thuận lợi tưới tiêu

c) Cách ly

Các ly sản xuất hạt lai ở cây giao phấn ô cùng quan trọng, tùy thuộc vào tác nhân giao phấn nhờ gió hay côn trùng và loài cây trồng yêu cầu cách ly khác nhau. Những cây hai năm như cải bắp, su lơ vụ thứ nhất sinh trưởng sinh dưỡng không cần cách ly nhưng vụ 2 sản xuất hạt yêu cầu cách ly nghiêm ngặt. Theo tiêu chuẩn Việt Nam cách ly trong sản xuất hạt dưa hấu lai là 1000 m, ngô là 300m

d) Xác định thời vụ gieo trồng để bố mẹ nở hoa trùng nhau

Kỹ thuật xác định thời vụ gieo trồng bố mẹ nở hoa trùng nhau tương tự sản xuất hạt lúa lai, tuy nhiên đối với đa số cây giao phấn không thật khắt khe như lúa.

e) Vườn ươm

Những cây trồng yêu cầu giai đoạn vườn ươm như các cây họ thập tự, bầu bí khi làm vườn ươm cần chọn nơi đất cao, thoát nước và có mái che tránh mưa. Mật độ gieo cây con thưa hơn sản xuất cho cây con khỏe trồng ra ruộng sản xuất hạt F1. Nhưng cây trồng yêu cầu diện tích vườn ươm không lớn có thể gieo trong nhà kính, nhà lưới để thuận lợi chăm sóc cây con. Kỹ thuật chăm sóc vườn ươm như bón phân, tưới nước, phòng trừ sâu bệnh ở mức thâm canh cao và tối ưu với loài cây trồng.

f) Kỹ thuật trồng

Làm đất lên luống

Làm đất được thực hiện sớm trước khi gieo trồng để diệt cỏ dại, mầm bệnh. Lên luống theo kỹ thuật cụ thể của mỗi loài. Đối với sản xuất hạt giống chỉ lên luống trồng hàng đơn hoặc luống đôi thuận tiện cho việc thụ phấn, khử độc. Ví dụ cây ngô khi sản xuất hạt lai luống đơn trồng 1 hàng để thuận tiện cho bố trí số hàng bố và số hàng mẹ, nhưng bắp cải có thể trồng hai hàng trên luống..

Bón phân

Bón phân trong sản xuất hạt giống ưu thế lai tương tự như đối với sản xuất hạt giống thụ phấn tự do đó là bón cân đối các loại phân đa lượng N, P và K, Ngoài ra một số loài yêu cầu phân trung lượng và vi lượng nâng cao chất lượng, sức sống hạt giống như bắp cải, cải củ, dưa chuột. Căn cứ vào yêu cầu của cây và dinh dưỡng đất để bón bổ sung vi lượng.

Phòng trừ sâu bệnh cỏ dại

Áp dụng như sản xuất hạt giống cây trồng khác, sử dụng kỹ thuật IPM để nâng cao hiệu quả sản xuất hạt giống

Khử độc, thụ phấn tạo hạt lai

Một số cây trồng yêu cầu khử độc khi sản xuất hạt lai như ngô, dưa chuột, dưa hấu, bí.. Nguyên tắc khử độc trước khi hoa tung phấn, khử độc triệt để, tiến hành thường xuyên trong suốt thời kỳ ra hoa. Thụ phấn bổ sung bằng tay để tăng năng suất hạt lai, những loài cây giao phấn nhờ côn trùng, khu sản xuất cần đặt thêm các tổ ong số lượng khuyến cáo là 2 tổ ong cho 01 ha sản xuất hạt lai

Thu hoạch, chế biến và bảo quản hạt giống

Thu hoạch khi hạt chín sinh lý, đảm bảo chất lượng hạt và tránh hao hụt hạt giống, tuy nhiên các loài cây trồng khác nhau phương pháp thu hoạch, chế biến và bảo quản hạt giống cần có những kỹ thuật riêng. Những nguyên tắc cơ bản như sau:

- + Thu hoạch vào ngày nắng ráo, không có mưa
- + Căn cứ vào màu sắc vỏ quả, hạt, râu lá bi để thu đúng thời điểm, những loài cây trồng cần căn cứ vào vỏ quả khó nhận biết như dưa hấu thì ngoài căn cứ màu sắc vỏ quả cần kiểm tra hạt chín
- + Những loài cây trồng quả chín không đồng đều sau thu hoạch cần bảo quản để tất cả các quả hạt chín mới tách hạt. Ví dụ cải bắp sau thu 10 – 14 ngày mới đập tách hạt.
- + Tách hạt bằng tay hoặc máy, nếu bằng máy cần điều chỉnh tốc độ để không gây tổn thương hạt giống
- + Sau khi tách hạt tiến hành làm khô, làm sạch, phân loại, xử lý bệnh ngay và bảo quản hạt giống

9.3 Kỹ thuật sản xuất hạt giống nguyên chủng ở một số cây giao phấn

9.3.1 Sản xuất hạt giống ngô thụ phấn tự do nguyên chủng

a) Những ưu điểm và khái niệm giống ngô thụ phấn tự do

Giống ngô thụ phấn tự do là kết quả của chiến lược và phương thức tạo giống ngô thương mại cho vùng đất rộng lớn của thế giới thứ 3. Các giống ngô thụ phấn tự do có nhiều ưu điểm :

- + Năng suất cao
- + Thích ứng rộng
- + Bảo tồn, nhân , thay thế và cung cấp hạt giống đơn giản
- + Giá hạt giống rẻ và sử dụng được nhiều thế hệ.

Việt Nam đã tạo ra được nhiều giống ngô thụ phấn tự do phổ biến rộng rãi trong sản xuất như VM-1, TSB1, TSB2 , MSB49, Q2 và Q63... Sản xuất giống ngô thụ phấn tự do bao gồm giống địa phương, giống nhập nội , giống tổng hợp

b) Đặc điểm và nguồn gốc cây ngô

Một số bằng chứng chỉ ra rằng ngô được thuần hóa từ loài cỏ mexican hoang dại teosinte (*Zea mays ssp. Parviglumis* hoặc *ssp mexicana*). Những bằng chứng khảo cổ học chứng minh rằng thời gian thuần hóa ngô vào khoảng 5000 đến 10.000 năm trước đây, mặc dù nguồn gốc gần đây của ngô từ teosinte, những cây này khác biệt sâu sắc về hình thái. Một điểm khác biệt chủ yếu là teosinte điển hình có nhánh cờ dài trên đỉnh bông cờ trong khi ngô có nhánh đỉnh cờ ngắn bằng bắp. Phân tích di truyền nhận thấy rằng *teosinte branched 1 (tb1)* như là một gen tương hợp rộng điều khiển sự khác biệt này.

Ngô Maize (*Zea mays* L.) là một thành viên của họ hòa thảo *Poaceae* (*Gramineae*) và là cây giao phấn nhờ gió có hoa đơn tính cùng gốc (monoecious) hoa đực là bông cờ hoa cái là bắp. Cờ ngô dạng bông chùm gồm nhiều hoa đực tạo thành gié hoa, các gié hoa đính trên trục bông cờ, mỗi hoa có 3 nhị mang bao phấn, vì vậy một bông cờ có thể tạo ra lượng phấn rất lớn khoảng 2 đến 25 triệu hạt phấn trong thời gian 5 – 12 ngày (Hall et al., 1982; Poehlman, 1979), như vậy có 500 hạt phấn $\text{cm}^2/\text{ngày}$. Râu ngô trên bắp là vòi nhụy hoa cái, có thể vươn dài khỏi lá bị nhận phấn và có sức sống rất tốt , nó có thể nhận phấn rất sớm và cũng có thể sống và nhận phấn sau phun râu 1 tuần.

c) Yêu cầu ngoại cảnh

Ngô là cây có khả năng thích nghi rộng với điều kiện môi trường và được trồng ở nhiều điều kiện sinh thái. Nhìn chung ngô phù hợp với nhiệt độ trung bình 68 đến 72° F (20 – 27°C). Đất tốt và thoát nước , lượng mưa từ 500 đến 1100mm trong giai đoạn sinh trưởng phát triển của ngô. Ngô có nhu cầu nước và đạm ở mức cao hơn so với các cây lấy hạt khác, nó mẫn cảm với môi trường ở giai đoạn trổ cờ tung phấn và phun râu. Mặc dù có một số giống chịu hạn nhưng hầu hết các giống bị hạn thời kỳ trổ cờ phun râu sẽ giảm năng suất

d) Lô hạt giống gốc

Lô hạt giống đưa vào sản xuất hạt nguyên chủng là lô hạt siêu chủng hoặc lô hạt tác giả có chứng chỉ hạt giống

e) Chọn đất và khu vực sản xuất

Chọn đất tốt thoát nước, thuận lợi và chủ động tưới tiêu. Cây ngô thích hợp đất có thành phần cơ giới nhẹ, pH trung tính và đất có tầng canh tác dày. Ruộng sản xuất hạt giống phải đồng đều và có diện tích tối thiểu trồng 8000 – 12000 cây.

f) Cách ly

Sản xuất hạt giống ngô thụ phấn tự do yêu cầu cách ly với các cây trồng cùng loài ít nhất là 400 m với sản xuất hạt nguyên chủng. Cũng có thể áp dụng cách ly thời gian ruộng sản xuất giống phải trỗ cờ và phun râu trước khu vực sản xuất xung quanh 20 ngày. Theo CIMMYT khoảng cách cách ly như bảng 9.2

g) Chuẩn bị đất gieo trồng

Làm đất kỹ, bằng phẳng và sạch cỏ dại sau đó lên luống trồng để chủ động tưới và tiêu nước với ruộng sản xuất giống. Lên luống trồng hàng đơn đối với sản xuất ngô để thuận lợi cho chăm sóc và khử lẫn.

Bảng 9.2: Khoảng cách cách ly trong sản xuất hạt giống ngô

Hạt giống	Hạt giống lai	OPV
Hạt tác giả	Tuyệt đối	300 m
Nguyên chủng	400m	300m
Xác nhận	200m	200m

h) Quản lý ruộng sản xuất

Gieo hạt: Hạt siêu nguyên chủng hoặc hạt tác giả đưa vào sản xuất nguyên chủng cần phơi lại trong nắng nhẹ trước khi gieo. Mật độ khoảng cách gieo trồng tùy theo giống với những giống có chiều cao trung bình khoảng cách hàng 70 cm cây x cách cây 25-30 cm.

Bón phân: Phân bón cho sản xuất giống tùy thuộc vào giống và đất trồng mức bón cho sản xuất hạt giống có thể áp dụng phân chuồng 10 -15 tấn + 90 – 120 kg N+ 70 đến 90 P₂O₅ + 70 đến 90 K₂O. Thời kỳ bón áp dụng như đối với sản xuất nhưng chú ý bón phân kali vào thời kỳ 7 đến 9 lá để nâng cao chất lượng hạt giống. Sản xuất giống cần bón thêm phân vi lượng như magnesium, boron , zinc và molybdenum.

Tưới nước: Nước rất quan trọng với ngô cần tưới đủ nước theo yêu cầu của cây ngô trong suốt thời gian sinh trưởng độ ẩm đất thích hợp ở mức 70 – 80%, đặc biệt sau khi gieo và thời kỳ trỗ cờ, phun râu.

Quản lý dịch hại: Ngô có một số sâu bệnh hại như sâu xám thời kỳ cây con, sâu ăn lá sâu đục thân đục bắp, rệp, bệnh đốm lá, khô vằn... phòng trừ kịp thời không để nấm bệnh gây hại trên hạt giống

i) Khử lẫn

Khử lẫn được tiến hành trước khi trỗ cờ loại bỏ toàn bộ cây khác dạng, sâu bệnh khỏi quần thể giống

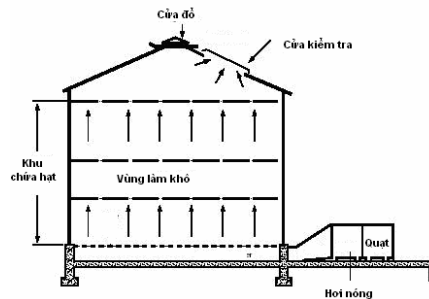
j) Thụ phấn

Sản xuất hạt giống thụ phấn tự do cho nên quần thể hoàn toàn tự do thụ phấn là yếu tố quan trọng đảm bảo quần thể ổn định di truyền, đúng giống. Có thể thụ phấn bổ sung bằng thu phấn của nhiều cây ở các điểm khác nhau trên ruộng giống để thụ phấn bổ sung cho các cá thể chọn.

k) Thu hoạch chế biến hạt giống

Thu hoạch khi hạt chín sinh lý nhận biết qua độ khô của lá bi và râu khô chuyển màu đen hoàn toàn, khi hạt chín sinh lý thường độ ẩm hạt còn khá cao 30 – 38%,. Sau khi thu để bắp cho hạt tiếp tục chín khi hạt giảm độ ẩm đến 25% tiến hành tách hạt, làm sạch sơ bộ và làm khô đến độ ẩm 11 - 12%, làm sạch, phân loại và đóng bao.

Làm khô: Làm khô bằng sấy hoặc phơi đảm bảo độ ẩm giảm đến 11 - 12%, thời gian sấy phụ thuộc máy và độ ẩm hạt nhưng không nên quá chậm hạt dễ bị mốc. Đặc biệt khi sản xuất diện tích lớn, sử dụng hệ thống thiết bị, máy móc tách hạt, làm sạch, sấy khô để hạ giá thành hạt giống. Hệ thống sấy thường dựa trên nguyên lý sấy bằng hơi nóng từ nguồn năng lượng than hoặc điện như mô tả hình 9.3.



Hình 9.3: Sơ đồ sấy hạt giống ngô

Sấy theo hai giai đoạn

- + Sấy bắp: Tùy theo độ ẩm bắp khi thu hoạch để áp dụng quy trình sấy phù hợp. Khi độ ẩm hạt 16% - 18% tẽ hạt bằng máy chuyên dụng.
- + Sấy hạt: Hạt sấy ở nhiệt độ không quá 44⁰C cho tới khi đạt độ ẩm <11%.

9.3.2 Kỹ thuật sản xuất hạt giống dưa chuột thụ phấn tự do

a) Nguồn gốc và đặc điểm

Dưa chuột (*Cucumis sativus*) nằm trong họ bầu bí có nguồn gốc ở Châu Á và Châu Phi, chi dưa chuột bao gồm một số loài như dưa gai, dưa mật, dưa thơm (*anguria*, *melo* và *sativus*). Dưa chuột tương tự như cây họ bầu bí khác là cây hàng năm thân bò leo, tập tính sinh trưởng vô hạn, hữu hạn và compact, cây compact có lóng ngắn hơn cây hữu hạn hay vô hạn.. Rễ dưa chuột ăn sâu khoảng 0,9 m nhưng tập trung ở tầng đất 15 – 20cm, là loại thân leo có 3 loại lùn, trung bình và cao. Dưa chuột thuộc lớp 2 lá mầm, lá thật có 5 cánh chia thùy nhọn, hoa dưa chuột màu vàng có 5 cánh đường kính hoa 2 – 3 cm. Dưa chuột là cây có hoa đơn tính cùng gốc, tuy nhiên đặc điểm này tùy thuộc vào giống, có dòng thuần cái (gynoecious) những dòng này có số hoa cái gấp 13 lần các dòng khác, còn gọi là “PF” (predominantly female), tuy nhiên cũng có một số ít hoa đực. Những giống này trồng tạo quả không hạt. Hạt dưa chuột dạng bẹt hình oval dài 10 – 15 mm, vỏ hạt nhẵn trắng đến đen mỗi cạnh hạt có một rãnh, phôi được bao quanh bởi ngoại nhũ, phôi lớn, hai lá mầm và nội nhũ thoái hóa hoàn toàn. Khối lượng 1000 hạt khoảng 25g. Ngoài việc dùng để ăn tươi, dưa chuột cũng được sử dụng để muối chua, đóng hộp. Nhu cầu sản xuất dưa chuột ngày một tăng do vậy cần có những kỹ thuật sản xuất hạt giống chất lượng tốt cung cấp cho sản xuất.

b) Yêu cầu môi trường

Dưa chuột sinh trưởng tối ưu ở nhiệt độ 18-24°C, sinh trưởng giảm khi nhiệt độ dưới 16°C và trên 30°C. Đặc biệt dưa chuột trong giai đoạn cây con rất mẫn cảm với nhiệt độ không khí thấp và sương muối. Dưa chuột là cây ưa ánh sáng ngày ngắn thời gian chiếu sáng 10 – 12 giờ/ngày. Đất trồng dưa chuột có thể đất cát, đất phù sa đất sét nhưng đất tốt giàu mùn, thoát nước, thoáng khí và độ pH thích hợp từ 5,8 đến 6,8.

c) Các giống dưa chuột:

Các giống dưa chuột trồng phổ biến ở nước ta là giống địa phương. Các giống này được phân thành 2 nhóm theo kích thước quả:

- + Nhóm quả ngắn: Chiều dài quả khoảng 10cm, đường kính 2,5-3 cm. Nhóm này có thời gian sinh trưởng ngắn (65-80 ngày tùy thời vụ trồng).
- + Nhóm quả trung bình: quả có kích thước khoảng 15-20 x 4,5cm. Thời gian sinh trưởng từ 75-85 ngày.
- + Nhóm quả dài

d) Sinh trưởng và biểu hiện giới tính

Dưa chuột là cây hàng năm có tua leo và lá có lông, sinh trưởng hữu hạn hoặc vô hạn hoặc không leo giàn. Những giống không leo giàn thường có lông ngắn hơn loại sinh trưởng vô hạn. Dưa chuột có một số hình thức biểu hiện giới tính, hầu hết là hoa đơn tính cùng gốc. Một số giống chỉ tạo ra hoa cái là những dòng đơn tính hay thuần cái. Số hoa cái nhiều hơn 13 lần số hoa cái trên các giống hoa đơn tính cùng gốc. Các dòng này được gọi là “PF” (Predominantly female) hoa cái trên các dòng chiếm ưu thế nhưng cũng có một số ít hoa đực. Thông thường sự thụ phấn của các dòng PF phụ thuộc vào cung cấp phân bón. Hiện nay có rất nhiều giống trồng trong nhà lưới không có thụ phấn vẫn hình thành quả và tạo ra quả không hạt. Biểu hiện giới tính ở dưa chuột phụ thuộc vào một số yếu tố như mật độ trồng, áp lực cây, cường độ ánh sáng. Giảm tỷ lệ hoa cái trong các giống có thể xảy ra khi bị áp lực mật độ dày, tán công của côn trùng, gây hại của gió và phối hợp của cường độ ánh sáng yếu nhiệt độ môi trường cao. Chất ethephon ở nồng độ 125 – 250ppm có tác dụng tăng số hoa cái ở các dòng thuần cái.

e) Kỹ thuật gieo trồng và chăm sóc:

Thời vụ trồng sản xuất hạt giống: vụ xuân gieo hạt từ tháng 1 đến tháng 2 và vụ đông gieo hạt từ tháng 9 đến tháng 10

Chọn đất trồng sản xuất hạt giống:

Đất thịt nhẹ, đất cát pha thoát nước tốt và giữ được ẩm; pH tối ưu của dưa chuột 5,8 -6,8 nhìn chung pH dưới 5,8 cần bón vôi trước khi trồng dưa chuột 8 – 12 tuần, khi pH trên 6,5 có thể làm giảm một số nguyên tố vi lượng. Đất chưa trồng các cây thuộc họ bầu bí để tránh lây nhiễm sâu bệnh.

f) Cách ly:

Khu sản xuất có thể sử dụng cách ly thời gian hoặc không gian. Cách ly không gian với các khu sản xuất khác với hạt giống nguyên chủng là 800m và hạt giống xác nhận là 400m không có sản xuất dưa chuột và các cây họ bầu bí. Cách ly thời gian khó khăn hơn đối với dưa chuột vì nở hoa rải rác và kéo dài.

g) Lên luống và gieo hạt:

Sau khi làm đất bằng cày bừa kỹ tiến hành lên luống nếu trồng hàng đôi chiều rộng mặt luống 80cm – 100cm tùy giống, cao 25 – 30cm. Bỏ hốc hàng cách hàng 60 cm, cây cách cây 40cm, theo Wayne L. Schrader Đại học California cây các cây 21 – 31 cm, hàng cách hàng 91 – 183 cm tùy theo giống. Sau đó gieo hạt, mỗi hốc chỉ gieo một hạt đảm bảo chọn lọc khử lẫn sau này. Trước khi gieo cần xử lý bằng ủ hạt nứt nanh mới gieo đảm bảo mọc đều và tỷ lệ cây sống cao. Nếu kỹ thuật gieo theo hàng khi rạch hàng cách hàng 60 – 70 cm sau đó bón phân lót phủ đất bột trước khi gieo hạt. Làm tunnel phủ luống sau khi trồng tránh nhiệt độ thấp, sương muối, mưa, cỏ dại, sâu bệnh hại cây con.



Hình 9.4 : Phương pháp làm vòm ni lông tránh nhiệt độ thấp và sương muối cho dưa chuột
(Nguồn Wayne L. Schrader, Jose L. Aguiar, Keith S. Mayberry, 2002)

h) Phân bón cho sản xuất hạt giống dưa chuột:

Lượng phân bón tùy thuộc vào giống và độ phì của đất trồng: theo các kết quả nghiên cứu của trường Đại học Hawaii thì để sản xuất cần bón cân đối N-P₂O₅-K₂O-MgO-CaO và lượng phân hóa học cần bón là 1600 đến 2200 kg N-P-K/ha với tỷ lệ 15-15-15 là phù hợp. Đất trồng đồng bằng sông Hồng lượng bón 10-15 tấn phân chuồng hoai mục + 70kg N + 40kg P₂O₅ + 100 kg K₂O

Phương pháp bón:

- + Bón lót trước khi trồng toàn bộ phân chuồng + Lân + 1/3 đạm + 1/3 kali. Bón vào hố trồng rồi lấp một lớp đất bột 3 – 5 cm trước khi gieo hạt.
- + Bón thúc lần 1 khi cây có 2 – 3 lá thật kết hợp xới vun, làm cỏ với số phân 1/3 đạm và 1/3 kali còn lại
- + Bón thúc 2 khi cây có tua cuốn kết hợp làm giàn 1/3 đạm + 1/3 kali, bón thúc 3 khi có quả rộ toàn bộ số phân còn lại.

i) Chăm sóc ruộng sản xuất giống

+ Vun xới và làm giàn:

Cây cao 10 cm có 2-3 lá thật vun gốc ngay để cây khỏi đổ và không bò lan ra trên mặt đất. Khi cây cao 20 cm bắt đầu có tua cuốn thì phải cắm giàn. Vật liệu làm giàn có thể bằng tre, lũa và cây dóc, số lượng vật liệu làm giàn khá lớn khoảng 40.000 cây làm giàn/ha. Nếu có khả năng đầu tư làm khung kiên cố như khung bê tông số lượng cây giàn giảm đi và hiệu quả sản xuất giống cao hơn. Có hai kiểu giàn là

giàn chữ A với những nơi sản xuất không có khung kiên cố và giàn đứng với những nơi có khung kiên cố.

+ **Tưới nước và bón thúc:**

Dưa chuột cần lượng nước cao cho sinh trưởng sinh dưỡng và sinh trưởng sinh thực, ngay cả những nơi có lượng mưa lớn khi gặp hạn năng suất dưa chuột cũng giảm đáng kể. Tưới nước giữ độ ẩm cho đất ở mức 60-70%, phương pháp tưới rãnh được áp dụng chủ yếu cho sản xuất hạt giống dưa chuột.

+ **Phòng trừ cỏ dại và sâu bệnh**

Phòng trừ cỏ dại đối với dưa chuột rất quan trọng cho sinh trưởng phát triển của cây, hạn chế sâu bệnh gây hại. Phòng trừ cỏ dại có thể tiến hành bằng tay kết hợp với xới vun hoặc dùng thuốc trừ cỏ. Dưa chuột có một số loài sâu bệnh gây hại do vảy đối với ruộng sản xuất hạt giống phòng trừ là rất quan trọng, đặc biệt là những bệnh nấm, vi khuẩn và virus có thể lây truyền qua hạt. Sâu bệnh thường gặp ở dưa chuột như bọ chết (*Diabrotica balteata*), rệp (*Aphis gossypii*), nở cổ rễ (*Colletotrichum lagenarium*); đốm lá (*Pseudomonas lachrymans*), vi khuẩn héo rũ (*Erwinia tracheiphila*); mốc sương (*Pseudoperonospora cubensis*); bệnh ghẻ cua (*Cladosporium cucumerinum*). Bệnh sương mai, dùng booc đô 1% hay zinep 80% pha loãng với nước theo nồng độ 0,4% để phun phòng trừ nấm. Ngoài ra còn có những thuốc khác và nên chọn những thuốc sinh học trong phòng trừ bệnh hại.

j) **Thu hoạch và tách hạt**

+ **Thu hoạch**

Độ chín của quả ảnh hưởng đến chất lượng hạt giống, để có chất lượng hạt giống cao nhất thu hoạch khi quả chín hoàn toàn. Nhận biết khi quả chín hoàn toàn dựa vào màu sắc quả, khi chuyển từ màu xanh sang màu vàng, cũng có thể bỏ quả để kiểm tra độ chín của hạt. Sau khi thu hoạch tách hạt ngay khỏi thịt quả bằng tay và dụng cụ, phơi khô và bảo quản hạt.

Tách hạt bằng lên men tự nhiên hoặc xử lý axit cũng được sử dụng khi sản xuất lớn, các quả đạt tiêu chuẩn thu hoạch được cắt thành các lát mỏng và ngâm nước để làm mềm thịt quả, lên men trong điều kiện bình thường 4 – 6 ngày. Sau lên men thêm dung dịch HCl (90ml) hoặc H₂SO₄ (30ml) vào 12 kg hỗn hợp thịt quả dưa đã cắt thành các lát mỏng. Sau khi xử lý axit 15 – 30 phút thêm vào nước sạch, khuấy đều hỗn hợp thịt quả sẽ nổi lên còn hạt chín chìm dưới đáy của dụng cụ chứa. Lấy hạt ra bằng cách gạn chiết phần nổi để bỏ đi, phần hạt cho vào túi lưới dãi sạch, rửa lại bằng nước sạch và chuyển sang giai đoạn làm khô.

+ **Phơi khô, làm sạch và bảo quản**

Phơi khô được thực hiện ngay sau khi tách hạt, có thể phơi khô trong điều kiện tự nhiên hay máy sấy, nhiệt độ giai đoạn đầu làm khô hạt không được vượt quá 40°C và làm khô đến khi độ ẩm hạt đạt 6% thì làm sạch và bảo quản. Làm sạch sau khi phơi có thể lộ hạt bị lẫn tạp chất, những tàn dư của thịt quả trên vỏ hạt phải được làm sạch bằng máy quạt hoặc sàng xảy bằng tay, loại bỏ hạt hỏng, hạt chưa chín. Hạt dưa chuột khi bảo quản cần có độ ẩm hạt 6,5% đóng gói, bảo quản trong điều kiện nhiệt độ và độ ẩm thích hợp có thể giữ sức sống của hạt 5 – 7 năm.

9.3.3 Kỹ thuật sản xuất hạt giống bắp cải thị phần tự do

a) *Nguồn gốc và đặc điểm*

Hầu hết các dạng hoang dại của bắp cải đã được tìm thấy ở vùng biển Địa Trung Hải và nơi đây được coi là quê hương của cây bắp cải. Nền văn minh La Mã cổ đại và Hy Lạp đầu tiên đã nhận biết được giá trị của cây bắp cải. Cây bắp cải dễ trồng và bảo quản trở thành cây rau phổ biến trên thế giới. Tuy nhiên giai đoạn đầu cây bắp cải được trồng với mục tiêu làm thuốc như nước vắt để chữa khản giọng, lá bắp cải đắp chữa vết loét nhanh lên da non. Thời kỳ La Mã và Hy Lạp cổ đại bắp cải đã được trồng mở rộng ở châu Âu. Ngày nay bắp cải được trồng phổ biến trên thế giới trong đó có Việt Nam. Sinh trưởng sinh dưỡng và sinh trưởng sinh thực của cây con bắp cải thường là trục mầm đỏ, hai lá mầm và rễ cọc có các rễ con xung quanh. Ba lá đầu tiên có cuống nhưng những lá sau cuống không hoàn toàn và dính trực tiếp vào thân và cuộn thành bắp theo các hình khác nhau như tròn, oval hoặc oval dài. Hạt bắp cải nhỏ và tròn, đường kính 2 – 3 mm, khối lượng 1000 hạt khoảng 3,6 g, phôi lớn và rất ít nội nhũ.

b) *Yêu cầu ngoại cảnh*

Bắp cải (*Brassica oleracea*) là cây hai năm, năm đầu tạo ra bắp sinh trưởng sinh dưỡng và năm tiếp theo ra hoa kết hạt sinh trưởng sinh thực, bắp cải được coi là cây xứ lạnh nhiệt độ sinh trưởng, phát triển tốt nhất từ 10 đến 25°C. Bắp cải không phản ứng ánh sáng, nhưng mô phân sinh đỉnh sinh trưởng cần nhiệt độ thấp 4 – 7 °C trong 4 – 6 tuần để xuân hoá để phân hoá hoa. Để cuống hoa phát triển thường phải dùng dao khía đầu, bóc lá cuộn nhưng không gây tổn thương ngồng hoa. Cuống hoa có thể dài 1 – 2 m, bông hoa bắp cải thuộc loại hoa chùm, 4 cánh, màu vàng. Quá trình nở hoa bắt đầu từ dưới lên đỉnh của hoa chùm. Sau khi thụ phấn quả kéo dài và khô gọi là kiểu quả nang cải. Bắp cải yêu cầu đất tốt, hàm lượng mùn cao và pH từ 6 – 6,5

c) *Giống bắp cải thị phần tự do*

Các giống bắp cải ở nước ta hiện nay CB26, CB1, Bắc Hà, Lạng Sơn, Hà Nội và những giống nhập từ Trung Quốc, Nhật Bản

d) *Kỹ thuật trồng*

Thời vụ: Gieo như thời vụ bắp cải vụ sớm, gieo hạt vào cuối tháng 7 đầu tháng 8 trồng vào đầu tháng 9 đến tháng 12 thu hoạch bộ phận sinh dưỡng (bắp) sau trồng chuyển để sản xuất hạt và thu hoạch vào tháng 4 – 5 năm sau. Như vậy sản xuất hạt giống bắp cải cần 2 vụ:

Vụ 1: Trồng và sản xuất giai đoạn sinh dưỡng

Vụ 2: Trồng sản xuất hạt giống

Chọn đất và khu vực sản xuất: Chọn khu vực sản xuất giống đất tốt thuận lợi tưới cho bắp cải trong vụ 1 (vụ đông) và tiêu trong vụ 2 (vụ xuân) sản xuất hạt. Đất nặng, giàu mùn và độ pH từ 6 - 6,5 là tối ưu cho sinh trưởng phát triển của bắp cải sản xuất hạt giống. Tránh những khu vực vụ trước có trồng cây họ thập tự như súp lơ, su hào, các loại cải để giảm lây truyền bệnh vào ruộng giống và cây lẫn vụ trước.

e) *Cách ly:*

Cải bắp là cây giao phấn tuy nhiên vụ 1 không cần cách ly vì cây chưa ra hoa, vụ 2 sản xuất hạt giống phải cách ly theo TCN-318-98. Ruộng sản xuất hạt giống nguyên chủng là 1500 m và cách ly 1000 m với sản xuất hạt giống xác nhận.

f) Vườn ươm:

Đất làm vườn ươm cần chọn nơi đất cao, thoát nước vì thời vụ gieo cây con ở Miền Bắc vẫn còn mưa. Cày bừa kỹ, sạch cỏ dại và bón lót phân chuồng hoai mục 7-8 tấn/ha. Lên luống 1,2 – 1,5 m thuận lợi cho chăm sóc. Làm giàn chống mưa, nắng cho bắp cải con trong vườn ươm. Hạt bắp cải nhỏ, diện tích vườn ươm không yêu cầu lớn cho nên có thể gieo trong nhà kính nhà lưới để thuận lợi chăm sóc cây con. Gieo hạt vườn ươm bắp cải tương tự như sản xuất đại trà, xử lý hạt bằng nước nóng 50°C trong 15 – 20 phút hoặc hóa chất trước khi gieo để tăng nảy mầm và giảm nấm bệnh. Gieo cây con sản xuất giống thưa hơn sản xuất thương phẩm để cây con khỏe mạnh. Lượng hạt giống bắp cải trồng cho một ha trung bình 0,3 đến 0,6 kg, như vậy cần diện tích vườn ươm cần khoảng 300 m².

g) Trồng vụ 1(sản xuất giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng)

Làm đất trồng tốt nhất trước khi trồng 10 -15 ngày để đất thông thoáng, sạch cỏ dại thuận lợi cho ra ngô cây con. Lên luống trồng chiều rộng 1 – 1,2 m đủ trồng hai hàng, cao luống 15-20cm. Rãnh luống rộng 25-30 cm thoát nước tốt đầu vụ. Mật độ trồng vụ 1 tùy giống và mùa vụ , sản xuất giống trồng vụ chính mật độ khoảng 3 vạn cây/ha tương đương khoảng cách trồng hàng cách hàng 50 cm và cây cách cây 50 cm. Phân bón cho 1 ha 20 – 25 tấn phân chuồng + 30 – 40 kg P₂O₅ + 70 – 80 kg N + 70 – 80 K₂O/ha. Bón phân lót theo hốc trồng 100% phân chuồng + lân + 50% kali + 30% đạm

Bón thúc 1 sau ra ngô 10 -1 15 ngày phân hữu cơ

Bón thúc 2 khi cây trái lá bằng 50% đạm

Bón thúc 3 khi cây bắt đầu cuốn 20% đạm + kali còn lại

Bón phân rất quan trọng để có tiềm năng ngồng hoa to , số hoa nhiều tăng năng suất hạt ở vụ 2. Ngoài ra để chất lượng hạt giống tốt tùy theo đất cần bón thêm vi lượng như S lượng 10-18 kg/ha, Mg với lượng 5 – 10kg/ha và B với lượng 0.454 kg hòa trong 5 lít nước để phun hoặc tưới.

Xới xáo làm cỏ: Xới phá váng đặc biệt giai đoạn cây con khi gặp mưa để đất thoáng tạo điều kiện cho bộ rễ phát triển. Xới xáo thực hiện 2 – 3 lần tùy theo mức độ cỏ dại và thời tiết cũng như loại đất. Tưới nước ngay sau khi ra ngô và trong thời gian cây bén rễ nếu hạn cần tưới 1 tuần một lần để tỷ lệ cây sống cao. Bắp cải sinh trưởng tối ưu khi duy trì độ ẩm đất trong suốt giai đoạn sinh trưởng của cây là 60%.

h) Khử lẫn:

Khử lẫn hai lần, lần 1 khi cây trái lá bằng và lần 2 khi bắp đã cuốn chặt. Loại bỏ toàn bộ cây khác dạng, cây xấu, sâu bệnh và không cuốn khoắc cuốn không chặt.

i) Thu hoạch vụ 1:

Chọn những cây khỏe thân mập đúng giống dùng dao sắc chặt vát trên đầu bắp, không được làm dập nát và ảnh hưởng đến thân, đỉnh sinh trưởng phân hóa mầm hoa ở vụ 2. Nếu không thu hoạch lá có thể để nguyên bắp nhưng dùng dao sắc chích đỉnh bắp để ngồng hoa đâm ra dễ dàng.

j) Kỹ thuật trồng vụ 2:

Chọn ruộng trồng vụ 2 yêu cầu cách ly nghiêm ngặt, đất màu mỡ và đặc biệt thoát nước tốt. Làm đất lên luống như vụ 1. Bón phân lót trước khi trồng phân chuồng + lân và ka li với lượng 6 – 8 tấn phân chuồng + 40 – 50 kgP₂O₅ và 30kgK₂O/ha. Những gốc chọn được ở vụ 1 đem trồng vào ruộng sản xuất hạt, khoảng cách trồng 50 x 40 cm. Các biện pháp chăm sóc khác như sản xuất ở vụ 1. Vụ xuân cây bắt đầu ra hoa, để tăng tỷ lệ kết hạt khu vực sản xuất nên đặt một số tổ ong làm tác nhân thụ phấn. Mỗi cây chỉ nên để 3 – 4 ngồng hoa sẽ cho nhiều hoa, quả và hạt mẩy còn lại cắt tỉa bớt những cành xấu, nhỏ và ra muộn.

Làm giàn đỡ canh hoa là kỹ thuật quan trọng sản xuất hạt giống bắp cải, điều kiện miền Bắc nước ta thời kỳ ra hoa kết hạt của cải là thời gian bắt đầu của mùa mưa, canh hoa bắp cải cao dễ bị đổ gãy khi gặp mưa.



Hình 9.5: Làm giàn đỡ canh hoa bắp cải

Khử lần ở vụ 2 được tiến hành trước khi cây ra hoa, loại bỏ toàn bộ cây khác dạng, cây bị bệnh, cây còi cọc và dị dạng.

k) Phòng trừ sâu bệnh

Bắp cải thường bị một số sâu, bệnh phá hoại như sâu tơ (*Plutella xylostella* Linnaeus); sâu khoang (*Spodoptera litura* Fabricius), sâu xám (*Agrotis ypsilon* Hufnagel), rệp bắp cải (*Breviconryne brassicae*), rệp đào (*Myzus persicae* Sulzer), bọ nhảy (*Phyllotera striolata* Fabricius). Những bệnh hại là: Bệnh đốm vòng do nấm (*Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc.), bệnh thối hạch do nấm (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary), bệnh sương mai do nấm (*Peronospora parasitica* Pers.), bệnh thối nhũn do vi khuẩn (*Erwinia carotovora*), bệnh héo vàng do nấm (*Fusarium* spp. *Pythium* spp. *Rhizoctonia* spp.)

Biện pháp phòng trừ áp dụng kỹ thuật IPM với kỹ thuật chủ yếu là luân canh cây trồng, vệ sinh đồng ruộng, xử lý hạt giống trước khi trồng, phương pháp thủ công bắt ngắt sâu bệnh.

l) Thu hoạch, tách hạt và bảo quản

Sự chín không đều của quả trên bông hoa và xu hướng tách vỏ quả tạo ra khó khăn để thu được năng suất hạt tối đa. Với lý do này thu hoạch hạt lại được thực hiện bằng tay, dùng dao sắc cắt hoa. Nếu giống thụ phấn tự do có thể được thu hoạch bằng máy. Thu hoạch khi quả màu vàng và hạt màu nâu. Thu hoạch vào buổi sáng khi tan sương để giảm tách quả rơi mất hạt. Sau khi thu bó canh hoa treo làm khô, dưới có vật hứng hạt rơi (ni lông hoặc mẹt), phơi khô như vậy 10 - 14 ngày thì đập tách hạt hoặc tách hạt. Nếu tách hạt bằng máy cần điều chỉnh tốc độ hợp lý để không làm dập vỡ hạt. Tách hạt và vỏ quả và làm sạch hạt bằng quạt, sàng, xẩy, sau đó phân loại hạt để đóng gói và bảo quản.

Làm khô hạt và bảo quản: Hạt bắp cải có thể giữ sức nảy mầm 4 - 6 năm, nếu làm khô hạt đến độ ẩm 6% và bảo quản ở ẩm độ thấp <50%. Khi làm khô hạt giống không nên ở nhiệt độ trên 45°C với hạt có ẩm độ thấp có thể làm khô dưới điều kiện nhiệt độ cao hơn.

9.3.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống su hào thụ phấn tự do (OP)

a) Nguồn gốc và đặc điểm

Nguồn gốc cây su hào chưa được biết chính xác, nhưng nó đã được người cổ Hy Lạp biết đến và mô tả tập tính sinh trưởng và đặc điểm thể kỷ thứ nhất trước công nguyên. Trong quyển sách nấu ăn cổ nhất ở cho vua tại thành La Mã do Apicius viết cũng có mô tả cây su hào. Charlemagne hoàng đế của đế chế La Mã 800 năm trước Công Nguyên đã cho trồng su hào trên tất cả lãnh địa của ông ta. Su hào cũng được tìm thấy ở miền Bắc Ấn Độ và sau đó ở Trung Quốc và Châu Phi. Cây su hào (*Brassica canlorapa Pasq* hoặc *Brassica oleracea var. caulorapa*) thuộc họ thập tự (*Cruciferea*). Thân của cây su hào phát triển phình to ra thành củ khí sinh trên mặt đất trong chứa rất nhiều chất dinh dưỡng và được làm thực phẩm (rau). Bộ tán lá phát triển từ thân củ tương tự như bắp cải, vỏ củ có màu tím hoặc xanh và bên trong màu trắng đục. Su hào cũng là cây có hoa hoàn chỉnh giao phấn nhờ côn trùng, như vậy trong sản xuất hạt phải đảm bảo cách ly với các cây cùng họ và giống khác để đảm bảo chất lượng hạt giống.

b) Yêu cầu môi trường

Su hào sinh trưởng phát triển trong điều kiện nhiệt độ thấp, phù hợp nhất từ 19 đến 22°C, yêu cầu đất tốt thoát nước, đất trung bình tốt hơn là đất nhẹ, độ pH thích hợp là hơi kiềm > 7,0 phù hợp với trồng su hào. Như vậy đối với sản xuất hạt giống su hào ở nước ta chỉ sản xuất được ở một số nơi như Sa Pa (Lào Cai) , Đồng Văn (Hà Giang) và Sìn Hồ (Lai Châu) là những nơi đáp ứng được yêu cầu về môi trường

c) Một số giống su hào đang trồng ở nước ta

Các giống su hào đang trồng ở nước ta gồm hai nhóm, nhóm giống su hào đại phương và nhóm nhập nội. Su hào dọc tằm (su hào trứng): củ bé, tròn, cọng lá nhỏ, phiến lá nhỏ và mỏng. Tiêu biểu là giống su hào Sapa cũ, thời gian sinh trưởng từ gieo đến thu hoạch 75-80 ngày. Su hào dọc trung (hay su hào dọc nhỏ): củ tròn, to, mỏng vỏ, cọng và phiến lá to hơn, dày hơn loại su hào dọc tằm điển hình là su hào Hà Giang, thời gian sinh trưởng 90-105 ngày. Su hào dọc đại (su hào bánh xe): củ to hơi dẹt, vỏ rất dày, cọng và phiến lá rất to, dày. Thời gian sinh trưởng 120-130 ngày. Đặc trưng là su hào Tiểu Anh Tử (Trung Quốc) hoặc Thiên An Tử (Nhật Bản)

d) Kỹ thuật trồng

+ Chọn đất và cách ly

Đất trồng su hào đất tốt,, thịt trung bình đến nặng, thuận lợi tưới tiêu và đất hơi kiềm thuận lợi cho sinh trưởng phát triển của cây. Cách ly trong sản xuất hạt su hào giống như đối với bắp cải, nhưng chọn đất và khu cách ly ngay từ khi trồng chứ không phải từ vụ 2 như bắp cải

+ Vườn ươm

Thời vụ gieo trồng su hào sản xuất giống có thể gieo trồng vụ chính gieo tháng 10 và tháng 11 và vụ muộn gieo vào tháng 12. Kỹ thuật làm vườn ươm tương tự như đối với bắp cải, chú ý gieo mật độ thưa để cây con khỏe. Cây trong vườn ươm được 4 – 5 lá hoặc sau gieo 25 – 28 ngày đem trồng ra ruộng sản xuất, nếu trồng cây con quá tuổi cây sẽ sinh trưởng kém, ra hoa sớm và năng suất hạt giống thấp. Trước khi nhổ cây 4-5 ngày không tưới nước phân để luyện cây giống, giúp bộ rễ mới phát triển và bén rễ nhanh khi trồng ra ruộng sản xuất hạt. Tưới nước nhẹ trước nhổ trồng để dễ nhổ và không đứt rễ cây con.

+ Kỹ thuật trồng

Làm đất, lên luống: Đất được cày bừa kỹ, lên luống chiều rộng luống 80 – 100 cm thuận tiện cho làm giàn đỡ cây khi ra hoa, cao luống 25-30 cm để thuận lợi cho tưới nước, chăm sóc, khử lẫn và tiêu nước. Sau khi lên luống bỏ hốc bón lót và trồng, khoảng cách hốc phụ thuộc vào khoảng cách trồng, rộng hốc 30 cm, sâu 30 – 35cm, bón phân lót, lấp đất bột và đặt cây. Mật độ trồng tùy thuộc vào giống như giống dọc tầm trồng với khoảng cách 20 x 25cm, giống dọc nhỏ với khoảng cách 30 x 35cm và giống dọc đại trồng với khoảng cách 35 x 40cm để đảm bảo mật độ từ 55.000 đến 75.000 cây/ha.

e) Chăm sóc

Phân bón: Phân chuồng hoai mục: 15-20 tấn + 15 – 20 kg N và 20 – 30 kg K₂O/ha bón vào hốc hoặc trộn đều trên mặt luống trước khi trồng. Bón thúc kết hợp tưới và xới vun, tưới kết hợp với phân đạm 4 – 5 ngày một lần, sau khi cây bén rễ lần đầu bằng phân chuồng pha loãng. Những lần bón thúc sau pha phân đạm với nồng độ thấp khoảng 1%, tổng lượng đạm cho quá trình sinh trưởng là 60 kg N/ha, khi củ bắt đầu phình ngừng tưới và bón phân. Xới phá váng và làm cỏ hai lần, lần thứ nhất sau khi ra ngôi được 15-20 ngày, lần thứ 2 sau lần trước khoảng 15 ngày. Đến tháng 1 củ su hào bắt đầu dài ra và vuren cao ra ngồng hoa, các chồi lách phát triển thành các cành hoa, thời gian này hạn chế bón đạm và tưới nước và tăng cường bón lân.

Phòng trừ sâu bệnh: Tất cả các loại sâu bệnh hại cải bắp cũng đều hại su hào đặc biệt là Các bệnh chủ yếu và thói nhũn, thói hạch, đốm vòng và sâu hại nguy hiểm là sâu xám thời kỳ cây con, sâu tơ, rệp. Cần áp dụng biện pháp phòng trừ kịp thời như đối với bắp cải.

f) Làm giàn

Làm giàn có tác dụng đỡ cây khi các cành mang quả không bị đổ đảm bảo năng suất hạt, làm giàn cho su hào giống như đối với bắp cải.

g) Thụ phấn bổ sung

Su hào và bắp cải là những cây rau giao phấn nhờ côn trùng để tăng năng suất hạt vào thời kỳ nở hoa tung phấn nên thả thêm côn trùng (ong) để tăng khả năng kết hạt, tăng năng suất hạt giống.

h) Thu hoạch, tách hạt và bảo quản

Thu hoạch hạt giống khi quả chín hoàn toàn căn cứ vào màu sắc quả, khi quả chuyển từ xanh sang khô vàng có thể thu hoạch. Thu vào ngày nắng ráo phơi và đập để tách hạt. Phơi hoặc sấy đến độ ẩm bảo quản như hạt bắp cải thì đóng gói bảo quản.

9.3.5 Kỹ thuật sản xuất hạt giống su lơ thụ phấn tự do

a) Nguồn gốc, đặc điểm

Su lơ (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.; n=9) thuộc chi *Brassica* họ thập tự có nguồn gốc vùng Địa Trung Hải. Su lơ cũng là cây hai năm và yêu cầu nhiệt độ thấp để phân hóa và ra hoa. Tuy nhiên có một số giống hàng năm có thể ra hoa và kết hạt trong điều kiện Châu Á. Ở nước ta có thể sản xuất hạt giống ở Sa Pa tỉnh Lào Cai, Sìn Hồ tỉnh Lai Châu và Đà Lạt tỉnh Lâm Đồng. Các bộ phận hoa hình thành từ cụm hoa (bộ phận làm rau), cụm hoa thấp và dạng ô hơn hoa bắp cải, không có cành hoa chính và các nhánh sinh ra từ cành chính, các đặc điểm khác của nở hoa và thụ phấn không khác so với bắp cải. Rễ su lơ ăn nông ở tầng đất 10-15cm và phạm vi rộng chỉ 35-50cm



9.6 Hoa su lơ xanh (*Brassica oleracea* var. *Italica*)

b) Yêu cầu môi trường

Su lơ rất mẫn cảm với nhiệt độ, nhiệt độ thích hợp cho sản xuất hạt giống như bắp cải, cây sinh trưởng và phát triển tốt là 15-18°C. Từ 25°C trở lên cây mọc kém, chậm, hóa già, hoa lơ bé và dễ nở. Trái lại ở giai đoạn su lơ đang ra hoa nếu nhiệt độ dưới 10°C hoa lơ cũng bé, phẩm chất kém. Nhiệt độ thích hợp cho sản xuất hạt giống su lơ là 18 – 22°C thuận lợi ra hoa và kết hạt. Đất trồng su lơ sản xuất hạt giống yêu cầu giàu mùn, thoát nước tốt và pH từ 6,0 – 7,0, độ ẩm đất thích hợp 60 – 80%, nếu quá thấp hoặc quá cao đều không tốt cho sinh trưởng, phát triển và tạo hạt của su lơ. Giai đoạn sinh trưởng su lơ cần ánh sáng ngày ngắn nhưng khi ra hoa kết hạt ánh sáng ngày dài thích hợp hơn.

c) Các giống su lơ

Su lơ đơn (hay sớm): Để trồng vụ sớm. Giống này lá nhỏ dài, trên mặt phiến lá có lớp phấn trắng mỏng, gù hoa trắng, gạo nhỏ, mặt mịn mỏng, ăn ngon, nặng từ 1-2kg. Su lơ kép (hay đoạn): Để trồng vụ chính và muộn. Cây lùn, hoa to, nặng từ 1,5-3kg, màu trắng ngà (trắng sữa), lá cây mỏng và bầu, hơi nghiêng về một phía, nõn tía. Su lơ xanh những năm gần đây cũng được đưa vào trồng ở nước ta, nhưng chủ yếu hạt giống giống su lơ được nhập từ Nhật Bản hay rung Quốc. Hoa và cuống hoa màu xanh, hoa nhỏ và thưa, chịu nhiệt và ẩm khá hơn su lơ trắng.

d) Kỹ thuật trồng trọt

Chọn đất và cách ly: đất và khu vực sản xuất hạt giống su lơ đất tốt, giàu mùn, độ pH trong phạm vi 6,0 đến 7,0. Khu sản xuất giống phải cách ly với các khu vực trồng cây cùng họ 1600m đối với sản xuất hạt giống nguyên chủng và 1000m đối với sản xuất hạt giống xác nhận. Làm đất kỹ, lên luống với chiều rộng mặt luống 1 m là phù hợp cho sản xuất hạt giống, rộng rãnh 25 – 30 cm.

Vườn ươm

Đất vườn ươm cần chọn nơi đất tốt, có mái che, nếu không có mái che cố định cần có vật liệu như ni lông, cốt làm mái che tạm khi gặp sương muối hoặc mưa muộn. Làm đất, lên luống và bón phân lót trước khi gieo hạt. Đất làm nhỏ, tơi xốp lên luống và bón phân 200- 300 kg chuồng hoai mục trên ha, trộn đều trên mặt luống. Thời vụ gieo vào tháng 10 hoặc tháng 11 để trồng vào tháng 11 – 12, xử lý hạt trước khi gieo bằng ngâm nước nóng 50°C từ 25-30 phút để diệt các loại nấm bệnh bám ở vỏ hạt giống, đồng thời tăng tỷ lệ mọc của hạt khi gieo. Lượng hạt gieo trên 1m² khoảng 3,5-4g (1ha gieo từ 400-600g). Gieo đều trên mặt luống, sau khi gieo phủ lên lớp rơm mục để tránh xô hạt khi tưới, tiếp theo phải tưới giữ ẩm từ 65-70%.

Kỹ thuật trồng

Sau khi lên luống với chiều rộng mặt luống 1 m, bỏ hốc, bón lót và đem cây con ra trồng. Khoảng cách trồng với sản xuất hạt giống thích hợp 60 x 45 cm. Bón lót vào hốc gồm phân chuồng, lân, kali trộn đều nhau rồi bón theo hốc trồng là tốt nhất. Mỗi hốc bón từ 800-1000g. Bón xong đảo đất cho đều rồi phủ lớp đất bột mỏng mướt đặt cây con tránh rễ non tiếp xúc trực tiếp với phân. Cây con sau gieo 40 đến 45 ngày đủ tuổi trồng, tùy theo nhiệt độ nếu nhiệt độ ẩm liên tục có thể trồng sớm hơn tránh để cây con quá già.

Lượng phân bón cho một ha: Phân chuồng ủ hoai mục 40 tấn + Phân đạm urê 50kg + Phân lân 25kg + Phân kali 70kg.

Chăm sóc

Xới vun và tưới nước: sau khi trồng phải tưới nước 2 lần mỗi ngày vào buổi sớm và chiều mát, trong 7-8 ngày liền (dùng ô doa có lỗ nhỏ, tưới vào gốc để tránh làm hỏng hoa). Tưới đậm 1-2 ngày 1 lần. gặp thời tiết nồm không được tưới nước. Phải xới đất trước khi vun, giống sớm chỉ vun cao 1 lần sau khi trồng khoảng 12-15 ngày, giống muộn vun thêm lần thứ 2 sau đó 10-12 ngày.

Bón thúc: Dùng nước giải, nước phân hoặc phân đạm pha loãng để thúc 2-3 lần. Lượng phân bón thúc cho 1ha như sau:

+ Phân bắc, phân nước 20 tấn

+ Đạm urê 80-100kg

Các kỳ bón thúc:

+ Lần 1: sau khi trồng hoảng 15 ngày, dùng phân bắc pha 1/10, phân đạm 20 kg urê để tưới.

+ Lần 2; sau đó 10-12 ngày cũng thúc như vậy.

+ Lần 3: khi cây đã chéo nõn, lúc này tập trung số phân mục vào giữa luống rồi cho nước vào rãnh, lấy gáo té đều lên mặt luống.

Phòng trừ sâu bệnh: Ngoài những loại sâu bệnh tương tự như các cây thập tự như rệp, sâu tơ, sâu ăn lá, bệnh thối lá, sulơ thường bị bệnh thối cổ rễ (*Plasmodiophora brassicae*) và bệnh gổ đen vi khuẩn (*Xanthomonas campestris*). Nguồn bệnh chủ yếu lây lan qua hạt giống và phát triển mạnh trong điều kiện độ ẩm của đất quá cao (trên 90%). Vì vậy, cần phải xử lý hạt giống trước khi gieo và tránh tưới nước quá ẩm gây độc hại cho bộ rễ sulơ. Các sâu bệnh khác phòng trừ như những cây khác trong họ thập tự.

e) Kỹ thuật đặc thù của sản xuất hạt giống

Khoét cụm hoa: Để hỗ trợ cho canh hoa phát triển vươn lên một kỹ thuật nên thực hiện là khoét nhẹ (lạo) cụm hoa ở vị trí trung tâm của cụm hoa khi cụm hoa đã hoàn chỉnh. Các giống có cụm hoa chặt có thể khoét sớm để có nhiều cành hoa bên hơn và tăng năng suất hạt. Làm giàn đỡ cành hoa giống như đôi với bắp cải, cũng có thể cắm cọc giữ hoa, mỗi cây cắm một cọc, chiều dài cọc khoảng 1 m

Khử lẫn: Khử cây khác dạng trước khi hoa nở để đảm bảo chất lượng lô hạt giống. Căn cứ vào đặc điểm hình thái của cây như chiều cao, dạng cây, màu sắc lá và cụm hoa, dạng lá, dạng cụm hoa để loại bỏ toàn bộ những cây khác với cây khác trong quần thể.

Ngoài khử cây khác dạng khi các nhánh hoa đã nhô cao, thì tiến hành tỉa bỏ những nhánh hoa phát triển kém, mọc dày... để cho ngồng hoa được thoáng và có thể tập trung chất dinh dưỡng để nuôi các nhánh chính. Ở những nhánh hoa này, khi thấy chùm hoa sau đã nhỏ dần (hiện tượng đuôi chồn) thì nên cắt ngọn.

f) Thu hoạch, tách hạt, chế biến và bảo quản hạt giống

Thu hoạch khi quả đã chuyển sang màu nâu và cũng chưa bị nứt kiểu nứt của quả cải khi bóp nhẹ bằng tay, thu hoạch trong thời điểm trời nắng để khi cắt hoa về có thể phơi được ngay. Có nhiều cách thu, phơi và tách hạt như phơi và tách hạt bằng tay, bằng sấy, đập... Phơi hạt trong nắng nhẹ hoặc sấy ở nhiệt độ thấp đến khi độ ẩm hạt đạt 7% thì làm sạch rồi đóng gói bảo quản trong kho nhiệt độ và độ ẩm thấp.

9.3.6 Kỹ thuật sản xuất hạt giống cải củ thụ phấn tự do

a) Nguồn gốc, đặc điểm

Cải củ (*Raphanus sativus* L., n = 9) thuộc họ thập tự và có thể có nguồn gốc từ Tây Á, Ai Cập, La Mã và Hy Lạp cổ đại, ngày nay cải củ đã phổ biến khắp thế giới. Cải củ có loại hình hai năm và có loại hàng năm, loại hình hàng năm có nguồn gốc Châu Á không yêu cầu nhiệt độ lạnh để ra hoa, nhưng loại hai năm. Cả hai loại đều tạo ra các rễ và lá từ thân ngắn (còn gọi là củ). Cụm hoa là dạng hoa hữu hạn điển hình, các hoa có màu trắng, hồng... và giao phấn rất cao nhờ côn trùng là ong. Các hoa nở khoảng 8 giờ sáng và thích hợp trong điều kiện ẩm. Quả cải củ khác với các cây khác trong họ (quả cải) mà là quả đậu 2,5 đến 7,5cm và rỗng bên trong.

b) Yêu cầu môi trường

Củ cải ưa khí hậu mát 18 – 25°C, đặc biệt giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng, khí hậu ẩm rất phù hợp cho sản xuất hạt giống, các đợt nóng và hạn dài sẽ làm giảm năng suất đáng kể. Nhiệt độ 32°C trở lên là nguyên nhân làm đầu nhụy khô và hạt phấn không thể nảy mầm trên đầu nhụy. Cải củ thích hợp trồng trên những loại đất nhẹ, giàu mùn, pH 6,0 – 6,5

c) Các giống cải củ

Các giống cải củ trồng ở nước ta hiện nay có các giống địa phương như giống Tứ liên, giống mới tạo thành như giống cải củ số 8, số 9. Ngoài ra còn giống nhập nội từ các nước như Trung Quốc, Nhật Bản và giống của các công ty giống liên doanh cung cấp hạt giống trên thị trường

d) Kỹ thuật trồng trọt

Chọn đất: đất tốt, giàu mùn, thành phần cơ giới nhẹ và thoát nước thích hợp cho trồng sản xuất giống. Đất sản xuất hạt giống không có cây trồng trước cùng họ để tránh lây truyền bệnh và lẫn giống.

Cách ly: Cây củ là cây giao phấn nhờ côn trùng do vậy cách ly với cây cùng họ và giống khác cần 1600m đối với sản xuất hạt nguyên chủng và 1000m đối với sản xuất giống xác nhận

Gieo trồng: Đất được chuẩn bị kỹ, cày bừa nhỏ lên luống với chiều rộng mặt luống 1,2 đến 1,5m. Bón phân lót trước khi trồng gồm phân chuồng 20- 25 tấn/ha (vì phân chuồng rất quan trọng để cho năng suất hạt cao) + 5 kg K_2O /ha trộn đều trên mặt luống, sau 2 – 3 ngày gieo hạt, nếu gieo hàng thì rạch hàng bón lót khoảng cách hàng x hàng 25 – 30 cm. Lượng hạt gieo trung bình 15 – 17 kg hạt/ha, sau khi gieo xong lấp lớp đất bột mỏng và phủ một lớp rơm rạ lên trên để tránh trôi hạt khi trời mưa.

Chăm sóc: Lượng phân bón cho cây củ sản xuất hạt tùy theo loại đất nhưng trung bình 20 – 25 tấn phân chuồng + 120 kg N + 50 P_2O_5 + 100 K_2O trên ha. Bón lót toàn bộ phân chuồng + 5 kg N + 5 kg K_2O + 25kg P_2O_5

Bón thúc

Lần 1: Bón khi cây 2 – 3 lá tưới phân loãng

Lần 2: Sau lần 1 khoảng 7 – 10 ngày

Lần 3 khi củ bắt đầu phát triển

Lần 4: Sau khi trồng vụ 2 khoảng 15 – 20 ngày

Lần 5 Khi trổ bông

Lần 6 : Sau lần 5 khoảng 7 ngày

Tưới nước đầy đủ để giữ độ ẩm đất đặc biệt trong thời gian ra hoa và đậu quả, xới vun nhẹ 2 lần và làm cỏ kết hợp với bón thúc. Tỉa thưa hai lần lần thứ nhất khi cây 3 – 4 lá và lần 2 sau lần 1 từ 7 – 10 ngày. Phòng trừ sâu bệnh tương tự như các cây khác trong họ thập tự như bắp, ngô

e) Kỹ thuật đặc thù của sản xuất hạt giống

Trồng : Khi củ đã tiêu chuẩn thu hoạch cây củ bắt đầu chuyển sang pha sinh trưởng sinh thực còn gọi là vụ 2. Chọn củ đẹp, đúng giống, sạch bệnh cắt bỏ 2/3 chỉ lấy 1/3 và 15 – 18 lá. Theo kinh nghiệm sau khi cắt chắm vào tro bếp chờ cho vết cắt se lại đem trồng. Ruộng trồng vụ 2 làm đất lên luống như kỹ thuật trồng vụ 1, trồng theo hàng khoảng cách 30 x 40 cm. Chú ý khi trồng ấn chặt để củ nhanh bén rễ

Chăm sóc : bón thúc 3 – 4 lần trong vụ 2 để tăng năng suất hạt có thể bón thêm phân vi lượng như Bo, Molybdate và kẽm. Tưới nước trong vụ 2 cần ít nhất là 2 lần bằng tưới phun, nếu tưới rãnh cần tháo cạn sau khi nước đã ngấm đều trên luống.

Làm giàn, bấm ngọn khi bông hoa phát triển cắm cọc để đỡ cành hoa, đồng thời bấm ngọn để phát triển nhiều cành cho nâng cao năng suất hạt.

Khử lẫn: Loại bỏ cây khác dạng trước khi hoa nở, đồng thời làm cỏ sạch và đặc biệt những cây cỏ dại cùng họ để tránh nhận phấn từ những loài cỏ dại với lô sản xuất hạt giống cây củ.

f) Thu , tách hạt, chế biến và bảo quản hạt giống

Thu hoạch quả chín trên cơ sở quan sát màu quả chuyển từ màu xanh sang màu vàng lục. Cắt cả cành treo ở nơi thoáng 5 – 7 ngày sau phơi khô tách hạt. Nếu thời tiết không thuận lợi có thể dùng máy sấy để làm khô rồi tách hạt. Phơi hạt khô đến độ ẩm 6 – 8% đưa vào đóng túi và bảo quản

9.3.7 Kỹ thuật sản xuất hạt dưa hấu thụ phấn tự do

Theo Frank J. Dainello, khoa học làm vườn của trường đại học Texas những vùng khô hạn trồng giống dưa hấu thụ phấn tự do thích hợp hơn trồng dưa hấu ưu thế lai

a) Nguồn gốc và đặc điểm

Mặc dù dưa hấu có nguồn gốc từ trung Phi nhưng được người Ai Cập cổ trồng đầu tiên và cũng được trồng ở Châu Á, Liên bang Nga và Trung Đông khoảng 100 năm trước đây. Dưa hấu thời kỳ này sử dụng để uống nước vì thịt quả của nó có tới 90% nước, làm lương thực, thức ăn gia súc và lên men rượu. Nước ta một số vùng dưa hấu ngoài ăn quả chín, dưa hấu xanh còn được sử dụng làm rau, muối chua. Dưa hấu hoang dại thuần hóa thời kỳ đầu rất đắng, nhưng nó mất vị đắng nhanh do quá trình trồng trọt và chọn lọc hạt giao phấn. Dưa hấu là loại cây dây leo hàng năm, nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng của dưa dẫu 20 -30°C, hệ thống rễ phát triển rộng và sâu, lá xẻ thùy sâu màu xanh tối, là loại cây có hoa đơn tính cùng gốc và giao phấn nhờ con trùng. Hạt dưa nằm lẫn trong thịt quả và có màu biến động từ đen đến trắng, khối lượng 100 hạt từ 100 đến 250 g. Rễ dưa hấu phân bố rộng nhưng nông, rễ phụ có thể ăn sâu đến 60 cm, dưa hấu là cây hàng năm, thân bò leo thân có khía cạnh, lá hình tim sẻ từ 3 – 7 thùy và có màu xanh mốc. Hoa nhỏ hơn các cây trong nhóm dưa không có màu sắc sỡ. Dưa hấu là cây giao phấn có hoa đơn tính cùng gốc. Tuy nhiên có một số giống có hoa thuần cái, thuần đực và lưỡng tính rất phức tạp.

b) Yêu cầu môi trường

Dưa hấu là cây thích hợp sinh trưởng phát triển trong điều kiện nhiệt độ cao, phạm vi nhiệt độ thích hợp từ 21 – 30°C, nhưng có thể chịu được nhiệt độ tới 35°C. Dưa hấu không phản ứng với quang chu kỳ, nhưng nó như cây khác trong họ bầu bí khi nhiệt độ cao và ngày dài ảnh hưởng đến tỷ lệ hoa cái và hoa đực trên cây. Đất trồng dưa hấu phù hợp là đất nhẹ, cát pha, pH từ 6,0 đến 7,0 nếu đất thịt cần bón phân hữu cơ cải tạo độ xốp đất. Cây dưa hấu cũng như các cây khác trong họ bầu bí có khả năng chịu hạn, tuy nhiên đảm bảo độ ẩm đất 70 – 80% thời kỳ sinh trưởng mạnh và hình thành quả là điều kiện để nâng cao năng suất quả và hạt.

c) Các giống dưa hấu

Các giống dưa hấu thụ phấn tự do ở nước ta như giống dưa hấu Đông Anh, giống sugar baby, giống số 2. Ngoài ra còn các giống địa phương có ở các vùng khác nhau, đặc biệt các giống của đồng bào dân tộc, tuy nhiên hầu hết chất lượng không cao nhưng khả năng chống chịu bất thuận và ngoại cảnh rất tốt.

d) Kỹ thuật trồng trọt

Chọn đất và cách ly: dưa hấu sản xuất hạt giống nên chọn đất có thành phần cơ giới nhẹ, thoát nước tốt pH tối ưu từ 6,5 đến 7,0 và thuận lợi tưới tiêu và đặc biệt cây

trồng trước không phải là cây họ bầu bí. Khu sản xuất cách ly với các sản xuất cây cùng họ với hạt giống nguyên chủng là 1000 m, hạt xác nhận 500m

Thời vụ : sản xuất hạt giống dưa hấu tối ưu vào thời gian có nhiệt độ ban ngày 23 – 28°C và nhiệt độ ban đêm 18 – 20°C. Ở Miền Nam có thể trồng nhiều vụ trong năm, phổ biến gieo trồng sau mùa lũ tháng 8 - 9, Miền Trung gieo trồng vụ từ tháng 12 đến tháng 1. Miền Bắc trồng sản xuất hạt giống vào vụ xuân hè gieo 5 – 10/2. Điểm lưu ý dưa hấu không chống chịu được với sương muối, những vùng có sương muối cần gieo bầu để có thể che bảo vệ cây con khi gặp sương muối.

Làm đất và gieo trồng: dưa hấu tốt nhất luân canh với cây trồng như lúa nước, làm đất kỹ và lên luống, chiều rộng luống 2,5 – 3 m, cao luống 25 đến 30 cm để thoát nước tốt. Bỏ hốc trồng với khoảng cách hàng cách hàng 100 đến 120 cm, cây cách cây 80 – 90 cm. Bón lót trước khi gieo hạt, nếu gieo hạt trực tiếp mỗi hốc 2 – 3 hạt nhưng khi cây có 3 – 4 lá tia định cây mỗi hốc chỉ để 1 cây thuận lợi cho chọn lọc khử bỏ cây khác dạng. Khi gieo nhiệt độ thấp ngâm nước ấm để hạt nứt nanh mới gieo để đảm bảo tỷ lệ nảy mầm. Lượng hạt gieo khoảng 2 kg hạt/ha

Phân bón: cho dưa hấu sản xuất hạt giống phân hữu cơ và tỷ lệ phân vô cơ thích hợp là 20 tấn phân hữu cơ và N:P:K là 80:80:80 tùy theo loại đất. Trong điều kiện nước ta nhiều nghiên cứu cho thấy lượng bón thích hợp là 20 – 30 tấn phân hữu cơ hoai mục + 90 kgN + 90 kg P₂O₅ + 90 kg K₂O. Bón lót 100 % phân chuồng + lân + 20% đạm + 30 Kali. Số còn lại chia đều bón thúc vào các đợt xới xáo, làm cỏ và tưới nước, đặc biệt tưới thúc vào thời điểm bắt đầu ra quả và ra quả rộ. Bón đạm quá cao ảnh hưởng làm chậm quá trình chín và chất lượng hạt giống suy giảm. Xới vun 2 -3 lần trong giai đoạn cây đạt 2 – 5 lá, xới vun gốc và làm sạch cỏ dại kết hợp bón thúc. Phủ nilon trên mặt luống, giảm bớt cỏ dại và giữ ẩm tốt, tuy nhiên chi phí sản xuất hạt giống cao. Khi có quả nên lót dưới quả một lớp trấu để tránh thối quả và hạt khi quả tiếp xúc trực tiếp với đất

e) Tia cành, đề dây và khử lẫn:

Tia bớt cành và quả không cần thiết để tập trung nuôi quả lấy hạt, nương dây để dưa bò đều trên mặt luống, đề dây cho các đốt phát sinh rễ hút dinh dưỡng tốt hơn. Khử bỏ cây khác dạng cây sâu bệnh trước khi hoa nở để đảm bảo chất lượng hạt giống thụ phấn tự do

f) Thụ phấn bổ sung

Thụ phấn bổ sung tăng tỷ lệ đậu quả và kết hạt, đặc biệt quan trọng để tăng năng suất hạt giống. Thụ phấn bổ sung vào buổi sáng, ngắt hoa bố cắt bỏ cánh hoa rồi nháp đầu nhụy hoa mẹ. Thụ phấn bổ sung được thực hiện liên tục suốt trong thời kỳ nở hoa của dưa hấu. Thụ phấn bổ sung nhờ côn trùng thả 2 tổ ong trong một khu vực sản xuất 1 – 2 ha.

g) Phòng trừ sâu bệnh.

Côn trùng hại dưa gồm: Bọ xít đốm (*Diabrotica undecimpunctata howardi*), bọ xít sọc (*Acalymma vittata*), rệp dưa (*Aphis gossypii*), sâu đục dây (*Melittia cucurbitae*), bệnh đốm lá vi khuẩn (*Erwinia tracheiphila*), đốm lá do nấm (*Pseudomonas lachrymans*), bệnh phấn trắng (*Erysiphe cichoracearum*).

Biện pháp phòng trừ: áp dụng kỹ thuật IPM để phòng trừ sâu bệnh trong các khâu xử lý hạt giống, làm đất, luân canh với cây trồng nước là biện pháp hiệu quả giảm sâu bệnh hại dưa hấu.

h) Thu hoạch, tách hạt và chế biến hạt giống

Thu hoạch quả chín để tách hạt giống căn cứ vào chuyển màu của vỏ hạt từ xanh sang vàng. Ngay nay nhiều giống dưa hấu có màu vỏ khác nhau nên ngoài căn cứ vào chuyển màu của vỏ hạt cần kiểm tra hạt trước khi thu hoạch ngoài đồng. Sau khi thu hoạch bỏ quả làm đôi, tách hạt bằng tay được làm chủ yếu, làm sạch bằng rửa nước sạch nhiều lần hoặc làm sạch bằng lên men. Thịt xung quanh hạt có thể lên men trong 48 giờ và khi đó dễ dàng làm sạch thịt quả xung quanh hạt bằng rửa nước. Phương pháp tách thịt quả khỏi hạt nhanh là xử lý axit dùng 25 đến 30 ml axit Hydrocloric hoặc 8 – 10 ml H_2SO_4 công nghiệp cho 5 kg thịt quả chứa hạt trong 20 – 30 phút, sau đó rửa sạch và những hạt nổi cũng được loại bỏ. Phơi khô trong nắng nhẹ hoặc sấy đến khi đạt độ ẩm bảo quản là 10,5 % đóng gói và bảo quản trong điều kiện nhiệt độ và độ ẩm thấp trong quá trình bảo quản cho kinh doanh.

9.3.8 Kỹ thuật sản xuất hạt giống bí xanh thụ phấn tự do

a) Nguồn gốc, đặc điểm

Bí xanh có nguồn gốc Trung và bắc Mỹ và được sử dụng phổ biến của những người định cư, loài *C. pepo* đã có cách đây 8000 năm trước công nguyên, loài hoang dại thịt quả hơi đắng. Thông qua chọn lọc của con người tạo giống bí xanh theo hai hướng là ăn tươi và bảo quản từ loài hoang dại, có thịt quả đắng có nguồn gốc ở Ấn Độ. Trên thế giới có hai loại là bí xanh mùa đông và bí xanh mùa hè. Ở nước ta bí xanh (bí đao, bí phần, bí trắng) chủ yếu là loại rau mùa hè. Ngoài giá trị làm rau bí xanh còn là nguyên liệu cho chế biến như bánh kẹo, mứt. Bí xanh có ưu điểm lớn nhất là loại rau sạch, mát, bảo quản và vận chuyển dễ dàng. Rễ bí xanh là rễ chùm có rễ cái phát triển mạnh, hệ thống rễ chùm (rễ sợi) của bí xanh phát triển mạnh theo sự phát triển của thân. Lá bí xanh mùa đông lớn dạng thận, có xẻ thùy hoặc không. Lá bí xanh mùa hè ở nước ta có hình tam giác và xẻ thùy, những thùy chính xẻ thùy sâu. Thân bí xanh là thân leo có tua cuốn và thân cắt ngang có 5 góc (ngũ giác) trên thân có lông cứng nhọn. Hoa bí xanh là hoa đơn tính cùng gốc tràng hoa có màu vàng sáng đến vàng da cam, quả màu xanh và có vỏ cứng.

b) Yêu cầu môi trường

Bí xanh là cây hàng năm mùa ấm, nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng, phát triển của cây là 25-27⁰C. Hạt có thể nảy mầm ở 13-15⁰C nhưng tốt nhất là 25⁰C. Thời kỳ cây con yêu cầu nhiệt độ thấp hơn (20-22⁰C), nhưng tại thời điểm ra hoa, nhiệt độ cần tới 25-30⁰C. Bí xanh yêu cầu ánh sáng ngày ngắn, quang chu kỳ có ảnh hưởng mạnh đến ra hoa và biểu hiện giới tính của bí xanh. Hoa đực chỉ ra khi ánh sáng ngày dài nóng, ngày dài ấm thích hợp cho phát triển hoa đực nhưng lại trì hoãn phát triển của nhụy và phát triển của quả. Cây sinh trưởng tốt trong điều kiện cường độ chiếu sáng mạnh nhưng quả phát triển lại yêu cầu cường độ chiếu sáng giảm. Quả đang lớn gặp ánh sáng chiếu trực tiếp dễ bị rám, thối và sớm rụng. Làm giàn cho bí xanh là một trong những tác dụng nhằm hạn chế cường độ chiếu sáng trực tiếp vào

quả để nâng cao sản lượng, phẩm chất và thời gian cất giữ. Cũng như bí ngô, bí xanh có khả năng chịu hạn nhưng cần tưới đủ nước để có năng suất hạt cao. Hai giai đoạn là giai đoạn sinh trưởng và giai đoạn ra hoa, đậu quả có yêu cầu độ ẩm khác nhau. Giai đoạn ra hoa đậu quả cần độ ẩm cao hơn 70-80%. Bí xanh yêu cầu đất tốt, thoát nước và có hàm lượng mùn cao, độ pH tốt nhất đối với sinh trưởng phát triển của bí xanh là 5,5 - 7,5, bí đao mẫn cảm với đất mặn.

c) *Các giống bí xanh*

Các giống bí xanh chủ yếu ở nước ta là các giống địa phương và giống nhập nội, giống tạo thành trong nước còn hạn chế.

d) *Kỹ thuật trồng trọt bí xanh sản xuất hạt giống*

Thời vụ: Sản xuất hạt giống bí xanh nên trồng chính vụ gieo từ 25/1 đến 25/2 và thu hoạch hạt giống vào tháng 7. Đầu vụ nhiệt độ thấp ảnh hưởng đến nảy mầm và sinh trưởng của cây con, do vậy nên gieo trong bầu trong vườn ươm để tăng tỷ lệ nảy mầm và thuận tiện chăm sóc

Chọn đất và cách ly: bí xanh yêu cầu đất tốt, thoát nước và có hàm lượng mùn cao, độ pH tốt nhất đối với sinh trưởng phát triển của bí đao là 5,5 - 7,5, bí đao mẫn cảm với đất mặn. Cũng như bí ngô, bí xanh có khả năng chịu hạn nhưng cần tưới đủ nước để có năng suất hạt cao. Hai giai đoạn là giai đoạn sinh trưởng và giai đoạn ra hoa đậu quả có yêu cầu độ ẩm khác nhau. Giai đoạn ra hoa đậu quả cần độ ẩm cao hơn 70-80%. Cách ly khi sản xuất hạt giống bí xanh giống như các cây trồng họ bầu bí, cách ly không gian 800 m với hạt giống nguyên chủng và 400 m với sản xuất hạt giống xác nhận

Làm đất, bón phân, gieo hạt: Bí xanh trồng sản xuất hạt giống thụ phấn tự do thành khu cách ly với các sản xuất cây họ. Cày bừa đất kỹ lên luống cao tùy theo trồng hàng đôi hay hàng đơn để xác định chiều rộng bề mặt luống. Trồng hai hàng và làm giàn bề mặt luống thích hợp là 1,5 m, cao luống 30 – 40 cm để thoát nước, nếu trồng hàng đơn bề mặt luống 70 cm.

Đào hố trồng : Nếu trồng hàng đơn khoảng cách cây là 50 cm, nếu hàng kép trồng hàng cách hàng 60 cm, hốc cách hốc 80 cm, các hố trên luống trồng hàng đôi đào so le. Kích thước hố trồng với đường kính 30-40cm, sâu 30 – 40 cm, đào hố trước khi trồng ít nhất 10 ngày. Bón phân lót vào các hố rồi gieo hạt (với kỹ thuật không làm vườn ươm) hoặc đặt cây con

Phân bón cho sản xuất hạt giống bí xanh: phân bón cho bí xanh thường phân làm hai, một nửa cho bón lót vào hố và một nửa cho bón thúc vào 2 thời kỳ. Tỷ lệ phân đa lượng cho sản xuất hạt giống bí xanh là 1: :1 đến 1:2:2 cộng với phân hữu cơ và vi lượng. Lượng phân bón tùy theo đất để xác định, nhưng nhìn chung lượng phân bón thích hợp cho sản xuất hạt giống là : Phân chuồng : 20-25 tấn + 37 kg N + 34 kg P₂O₅ + 35 kg K₂O. Ngoài ra sản xuất hạt giống nếu cung cấp thêm phân vi lượng sẽ nâng cao năng suất quả và hạt của bí xanh. Lượng cung cấp phân đa lượng và vi lượng thời kỳ nuôi quả như sau:

Bảng 9.3: Lượng phân bón cho sản xuất hạt giống bí xanh

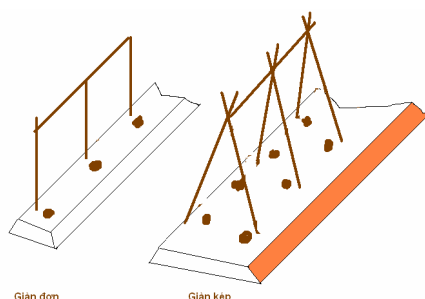
N%	P%	K%	Ca%	Mg%
3.5-6.0	0.25-0.60	2.75-5.0	1.0-2.5	0.3-0.6

Mn ppm	Fe ppm	B ppm	Cu ppm	Zn ppm
50-300	50-300	25-75	5-60	20-50

Toàn bộ phân chuồng, 2/3 phân lân, 1/2 kali và 1/4 phân đạm dùng để bón lót khi gieo hạt hoặc cấy cây giống. Sau khi bỏ hốc, bón phân chuồng xuống trước, phân hóa học bón sau, đảo đều với đất, lấp kín phân và gieo hạt. Mỗi hốc gieo 2- 3 hạt, sau tỉa định cây chỉ để lại 1 cây/hốc. Số phân còn lại bón kết hợp với xới vun trong thời gian sinh trưởng và trong thời gian nuôi quả

Xới vun, làm cỏ: khi cây có 1-2 lá thật, xới phá váng, làm cỏ kết hợp bón thúc bằng phân nước và phân đạm pha loãng rồi vun nhẹ cho cây. Khi cây 5-6 lá thật, xới xáo lần 2 kết hợp bón thúc lần 2. Khi cây chuẩn bị làm giàn (trước ra hoa) xới xáo lần 3 kết hợp bón thúc nuôi quả. Đối với bí không làm giàn, xới xáo toàn bộ mặt luống, làm cỏ, bón thúc hết phân hóa học, tưới đẫm và trải rạ đỡ quả.

Làm giàn.



Hình 9.7: Phương pháp làm giàn cho bí xanh

Giàn để đỡ cây, đỡ quả tận dụng không gian. Nếu trồng luống đơn làm giàn đứng hoặc giàn chữ A hai luống một gian, luống kép giàn chữ A giữa hai hàng trên luống. Làm giàn sớm để bí leo thời điểm làm giàn thích hợp khi bí lan được 40 – 50 cm. Vật liệu làm giàn bằng tre, dóc, nứa hoặc giàn kiên cố. Nếu giàn kiên cố có thể làm khung và trên khung là lưới thép đan mắt vuông hoặc mắt hình theo. Gian cố định nâng cao năng suất quả, hạt do thông thoáng trong ruộng bí tốt hơn giàn cắm bằng tre, dóc.

Bấm ngọn tỉa cành

Bấm ngọn tỉa cành để bí phân nhánh cho nhiều quả hơn, cắt bỏ lá già, héo tạo sự thông thoáng trong ruộng tránh sâu bệnh. Bí xanh ra nhiều nhánh, các nhánh đều ra quả. Do vậy, cần bấm bớt ngọn và hoa đực để tập trung gieo nuôi quả. Mỗi cây để 2-3 nhánh chính, mỗi nhánh để 2-3 quả. Đặt cho cuống quả nằm đúng chỗ giao nhau của hai cây dóc để khi quả lớn không làm xô dây, tụt giàn. Nếu để bí bủ tròn đất, khi có quả cần lót rơm rạ để cho quả khỏi bị thối.

Phòng trừ sâu bệnh:

Sâu hại bí gồm bộ cánh cứng là bọ xít (*Diabrotica baltrata*), (*Acalymma vittatum*), (*D. Undecimpanctata*), dòi đục quả (*Diapheni nitidalis*), rệp bí (*Anasa tristis*), sâu đục dây (*Melittia cucurbitae*). Những bệnh hại bí chủ yếu

là bệnh ghẻ quả do nấm (*Cladosporium cucumerinum*), bệnh phấn trắng do nấm (*Erysiphe cichoracearum*). Trên bí xanh thường bị các loại bệnh hay gặp trên dưa chuột như sương mai, phấn trắng. Biện pháp phòng trừ giống như đối với dưa chuột. Thời kỳ cây con thường bị sâu xám cắn gốc. Cây lớn hay gặp sâu xanh, sâu róm, họ ban miêu. Dùng Dipterex pha nồng độ 0.1% phun 600-800 lít/ha.

e) **Thu hoạch, bảo quản để giống**

Quả bí 50-60 ngày tuổi là cú thể thu hoạch. Bí non có thể sử dụng ở tuổi 25-30 ngày thu làm giống hoặc làm rau. Nếu thu để dự trữ phải để già, vỏ cứng, có lớp phấn trắng giữ được lâu, sau khi thu hoạch xếp ngay lên giàn bảo quản. Giàn bí để nơi sáng sủa, thoáng gió, thường xuyên kiểm tra phát hiện quả thối để nhặt bỏ, không để lây sang quả khác. Lấy hạt giống ở những quả thật già, nẩy đều, cùi dày, ruột nhỏ. Bỏ lấy hạt, đãi sạch, phơi kỹ rồi bảo quản nơi khô, mát.

9.3.9 Kỹ thuật sản xuất hạt mướp đắng thụ phấn tự do

a) **Nguồn gốc và đặc điểm**

Cây mướp đắng (*Momordica carantia*) thuộc họ bầu bí cùng với dưa chuột, bí đao là cây để làm thuốc, chưa biết rõ nguồn gốc nhưng nhiều nghiên cứu cho rằng Trung Quốc hoặc Ấn Độ là quê hương của cây mướp đắng. Nó là loại thân leo sinh trưởng nhanh và được trồng rộng khắp Châu Á. Quả của nó rất giàu các chất như sắt, Ca, P và vitamin C và nguồn vi ta min A rất tốt. Ở các nước như Sri Lanka, Việt Nam... cây mướp đắng được trồng như một loại rau rất ưa thích. Quả mướp đắng sử dụng làm thuốc cho một số bệnh như đường ruột, thuốc giun.. Thành phần dinh dưỡng trên 100 g như sau:

Bảng 9.4: Thành phần dinh dưỡng trong mướp đắng

Năng lượng	25 cal
Hàm lượng nước	92.4 g
Protein	1.6 g
Chất béo	0.2 g
Carbohydrate	4.2 g
Calcium	20 mg
Phosphorus	70 mg
Sắt	1.8 mg
Carotene	126 mcg
Thiamine	70 mcg
Riboflavin	90 mcg
Niacin	0.5 mg
Vitamin c	88 mg

Các đặc điểm khác nó có chung với họ bầu bí, tuy nhiên vỏ quả rất khác biệt với các cây cùng họ, sần sùi và có các khía sâu trên vỏ quả

b) Yêu cầu môi trường

Mướp đắng yêu cầu môi trường tương tự như các cây họ bầu bí khác, nó là cây hàng năm nhưng cũng có thể trồng nhiều năm với những khu vực không có sương muối mùa đông. Nó sinh trưởng phát triển tốt ở vùng đất thấp đến độ cao 1000m. Nhiệt độ tối ưu cho thời kỳ sinh trưởng đầu là 18°C, và thích hợp trong phạm vi nhiệt độ 24 – 27°C. Nó chịu nhiệt độ thấp tốt hơn các cây khác trong họ bầu bí nhưng không chịu được sương muối. Là cây thích nghi rất rộng với điều kiện mưa nhưng có tưới là điều kiện để cho năng suất cao. Mướp đắng có thể trồng ở nhiều loại đất nhưng thích hợp là đất nhẹ, thoát nước, giàu mùn, độ pH thích hợp 6,0 – 6,7 nhưng có thể chịu được đất kiềm pH đến 8,0

c) Các giống mướp đắng

Các giống mướp đắng là giống thụ phấn tự do hay giống ưu thế lai F1. Ở nước ta những giống mướp đắng chủ yếu giống địa phương, những giống ưu thế lai là những giống nhập nội từ các công ty giống nước ngoài. Nhìn chung có ba loại giống là : (1) giống mướp đắng quả nhỏ quả dài 10 – 20 cm, khối lượng quả 100 – 300g, màu quả xanh đậm. (2) Giống rất đắng, quả dài 30 – 60 cm, khối lượng quả 200 – 600 g, màu xanh nhạt với các u lồi trên vỏ quả trung bình. (3) dạng quả hình tam giác, hình nón, quả dài 9 – 12 cm, khối lượng 300 – 600g màu xanh tối, nốt sần và u lồi trên vỏ quả từ trung bình đến cao.

d) *Chuẩn bị đất trồng*: Chuẩn bị đất trồng như các cây dưa chuột gồm cày bừa, lên luống với rộng mặt luống 90 cm, cao luống 20 – 30 cm, có thể trồng hàng đơn hoặc hàng đôi. Điều kiện nhiệt độ thuận lợi gieo hạt trực tiếp nếu đầu vụ nhiệt độ thấp có thể gieo bầu rồi đặt ra ruộng sản xuất

e) Kỹ thuật trồng

Gieo hạt trực tiếp: Mật độ thích hợp cho sản xuất giống là 6500 đến 11000 cây/ha. Trong điều kiện thâm canh cao để tăng năng suất hạt khoảng cách trồng là 50 x 50 cm như vậy khoảng 40000cây/ha. Trung bình khoảng cách hàng 1,2 đến 1,5 m khoảng cách cây 40 – 60 cm, bở hốc sâu 20 cm bón lót phủ đất và gieo hạt

Làm bầu: hạt gieo trong các túi bầu, thoát nước, trộn đất, trấu và phân bón cho vào bầu trước khi gieo. Mỗi bầu gieo 2 – 3 hạt sau đó tỉa chỉ để lại 1 cây con tốt nhất khi cây có 4 – 6 lá thật, duy trì độ ẩm đất bầu nhưng không sũng nước. Cây con đủ tiêu chuẩn trồng sau gieo 10 – 15 ngày, chuyển ra ruộng trồng tráng làm đứt rễ cây con khi trồng, mật độ khoảng cách như gieo thẳng

Phân bón: mướp đắng yêu cầu dinh dưỡng cân đối, tỷ lệ phân bón tùy thuộc vào loại đất trung bình tổng lượng bón là 15 tấn phân chuồng + 184 kg N + 112 P₂O₅ và 124 kg K₂O trên ha. Bón lót và bón thúc chia làm 4 lần, lần thứ nhất khi cây có 4 – 6 lá thật và các lần sau cách lần trước 2 tuần. Có thể gợi ý các lần bón như sau:

Bảng 9.5: Lượng phân và phương pháp bón phân cho sản xuất hạt mướp đắng

Thời gian	PC	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Bón lót	10	28	28	28
Thúc 1		30	7	15
Thúc 2		30	7	15

Thức 3		30	7	15
Thức 4		30	7	15

Làm giàn: cây mướp đắng sinh trưởng và vươn dài của thân rất nhanh trong 2 tuần sau trồng, làm giàn sẽ tăng năng suất quả và hạt giống, thu hoạch và chăm sóc thuận lợi. Giàn mướp đắng có thể làm theo các loại như giàn cố định và đan lưới mắt cáo, giàn chữ A hoặc cắm cọc làm giàn đơn.

Tưới nước, làm cỏ: Mướp đắng là cây chịu hạn rất tốt, bộ rễ ăn sâu khoảng 50 cm. Trong mùa khô cần tưới nước 10 ngày còn trong mùa mưa cần thoát nước.

f) **Phòng trừ sâu bệnh:** mướp đắng giống như cây khác trong họ bầu bí nó là kỹ chủ của virus khảm dưa hấu (*Watermelon mosaic potyvirus*), phấn trắng lông (*Sphaerotheca fuliginea* Poll), đốm héo vàng do nấm (*Fusarium* spp.), đốm vi khuẩn và tuyến trùng hại rễ... Biện pháp phòng trừ tổng hợp IPM được áp dụng và phun thuốc trừ nấm kịp thời để đảm bảo chất lượng hạt giống.

g) **Thụ phấn**

Những lứa hoa đầu của mướp đắng ra sau trồng khoảng 45 – 55 ngày sau gieo, quá trình ra hoa kéo dài trong 6 tháng. Mướp đắng là cây giao phấn nhờ côn trùng, đặc biệt là ong. Hoa mướp đắng nở và chỉ tồn tại trong một ngày cho nên hỗ trợ thụ phấn là rất cần để tăng năng suất quả và hạt



Hình 9.8: Hoa cái mướp đắng

Để hỗ trợ thụ phấn ngoài thả côn trùng trong ruộng sản xuất giống cần thụ phấn bổ sung bằng tay. Cây mướp đắng có hoa đơn tính cùng gốc, các hoa đực thường nhiều hơn hoa cái thông thường tỷ lệ 25:1. Ngày dài là nguyên nhân hoa đực nở trước hoa cái đến 2 tuần, còn ngắn ngày thì ngược lại hoa cái nở trước hoa đực. Phun hooc môn sau khi có 6 – 8 lá thật có thể tăng số quả gấp đôi. Ví dụ phun GA3 nồng độ 25 – 100ppm tăng hoa cái 50% và có thể thực hiện xử lý này đến 80 ngày



Hình 9.9: Bệnh khảm Bệnh phân trắng

h) Thu hoạch và chế biến hạt giống

Thu hoạch hạt giống khi quả chín hoàn toàn để đảm bảo chất lượng hạt giống, căn cứ để thu hoạch hạt giống dựa vào màu sắc quả khi chuyển từ màu xanh sang vàng. Tách hạt, phơi sấy và bảo quản tương tự như dưa chuột.

9.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống lai ở một số cây giao phấn

9.4.1 Nhân dòng tự phối trong sản xuất hạt giống ưu thế lai ở ngô

Hạt bố mẹ tự phối là nền tảng để sản xuất hạt giống ngô lai quy ước và một số dạng giống ngô lai không quy ước. Phát triển các dòng tự phối tốt là yếu tố quan trọng nhưng là một quá trình khó và tốn kém. Theo Hallauer và Miranda, 1997 khoảng 10.000 dòng S2 hoặc S3 chỉ có khoảng 01 dòng được sử dụng trong giống lai thương mại. Nhiều nguyên nhân của những khó khăn và chi phí cao gồm a) giảm sức sống và những biểu hiện tính trạng có hại làm các dòng tự phối không thể sử dụng được. b) Công việc đánh giá khả năng phối hợp chi phí cao khối lượng công việc lớn c) Thực chất các dòng tự phối ngoài khả năng tổ hợp có năng suất cao cũng cần có nhiều tính trạng khác đặc biệt trong sản xuất hạt lai đơn. So với giống ngô thụ phấn tự do dòng tự phối thấp hơn, sức sống kém, thân mảnh, râu và bắp nhỏ, năng suất thấp hơn. Bên cạnh có chúng thường mắc cảm hơn với điều kiện bất thuận và sâu bệnh, nói chung dòng tự phối rất mắc cảm với điều kiện bất thuận tạo ra vấn đề lớn trong sản xuất hạt lai.

a) Phát triển dòng tự phối ngô và đặc điểm của chúng

Nguồn dòng tự phối thiếu những đặc điểm phù hợp có thể gây ra hàng loạt khó khăn trong sản xuất hạt lai. Các dòng tự phối ngô có một tương tác chặt hơn giữa kiểu gen và môi trường (G x E) so với cây trồng khác do vậy cần phải biết đầy đủ thông tin về môi trường nơi sản xuất nhân dòng, đặc biệt thông tin nở hoa đồng bộ, năng suất hạt trên dòng mẹ, khả năng phân của dưỡng bộ, phản ứng với phân bón, sâu bệnh và thuốc phòng trừ. Minh họa ngày ra hoa khác nhau khi biến động về môi trường (Lauer, M., pers. comm., 1998).

Bảng 9.6: Ngày ra hoa và thời gian nở hoa khi sản xuất ở môi trường khác nhau của 5 dòng bố mẹ

Hạt bố mẹ	Ra hoa	Vùng Glendale (1100m)		Tây Harare (1500 m)	
		Ngày bắt đầu ra hoa	Thời gian nở hoa	Ngày bắt đầu ra hoa	Thời gian nở hoa
N3	Phun râu	64	17	73	19
Sc	Tung phần	67	11	75	16
SX6	Phun râu	63	14	73	21
K64r/RL7	Tung phần	64	16	74	22
SR52	Tung phần	65	15	70	16

Nguồn: Havazvidi, 1990.

b) Dòng mẹ tự phối

Phát triển dòng tự phối là quan trọng nhất để có lợi nhuận trong sản xuất hạt giống ngô lai. Hoegemeyer và Gutormsen (1996) phát hiện các dòng tự phối rất khác nhau về khả năng nảy mầm và sức sống khi gieo dưới điều kiện lạnh và ẩm. Frey (1981) nhấn mạnh dòng mẹ có khả năng chịu nóng và chịu hạn sẽ có năng suất và chất lượng tốt hơn. Ngoài ra dòng mẹ cần có những đặc điểm mong muốn là

- + Năng suất hạt cao
- + Chất lượng hạt tốt
- + Chống đổ
- + Nhú râu tốt
- + Nở hoa đồng đều
- + Trổ cờ tốt
- + Chống thời bắp

c) Dòng bố tự phối

Dodd (1998) đã thảo luận về “điểm nổi bật của xu hướng lai cùng giống” trong sản xuất hạt giống ngô ưu thế lai qua 10 năm và liên quan tới giảm phần của các dòng bố. Ông chỉ ra rằng sử dụng giảm phần là một xu hướng không tránh khỏi khi chúng ta đẩy năng suất hạt lên cao trong cây sẽ có cạnh tranh giữa hạt và phần. Mặc dù vậy ông cho rằng ngoài chú ý đến sản xuất dòng mẹ cũng rất cần quan tâm đến sản xuất dòng bố, các dòng bố có phần tốt cho phép tăng số hàng mẹ và thường ít gặp khó khăn trong trổ trùng khớp. Các phương pháp đánh giá khả năng tạo phần bao gồm a) phương pháp của (Wych, pers. comm., 1998), lấy và cân 15 mẫu cờ trước khi tung phần và sau khi tung phần, sự khác nhau về khối lượng là một chỉ tiêu đánh giá khả năng tạo phần của dòng bố b) bao cách ly 10 bao cờ trên dòng thu phần hàng ngày (5-10 ngày) phần thu được đo trong ống đồng và kiểm tra sức sống bằng kính hiển vi. c) Đánh dấu cây khi bắt đầu tung phần, hàng ngày rung phần của các cây đó vào tờ giấy đen so sánh với lượng phần của một giống tiêu chuẩn (Thielen, 1986). Ngoài ra dòng bố cũng phải có đặc điểm là có chiều cao cây thích hợp và ổn định.

d) Duy trì dòng tự phối ngô

Mục tiêu duy trì dòng tự phối là duy trì khả năng, đặc điểm và tính xác thực di truyền của dòng gốc hạn chế chi phí khử lẫn. Đồng ruộng cần thực hiện mức cao nhất của cách ly đồng ruộng duy trì mức cao nhất, loại bỏ triệt để cây khác dạng, duy trì phương pháp thụ phấn và ghi chép và đeo thẻ cho thế hệ và dòng xác thực

nhất (Vasal and Gonzalez, 1999b). Mặc dù có những biện pháp ngăn ngừa sự thay đổi xảy vẫn có thể xảy ra do phân ly của di tích dị hợp còn tồn tại trong dòng thuần, đột biến, lẫn cơ giới, thay đổi môi trường và lẫn sinh học. Hạn chế nhân dòng bằng bảo quản lạnh sẽ giảm bớt rủi ro lẫn tạp và trôi dạt di truyền (genetic drift). Duy trì các dòng tự phối liên quan đến tự thụ phấn, thụ phấn sib hoặc cả hai, tự thụ để duy trì dòng hợp còn sib để tránh suy giảm sức sống của dòng tự phối. Bố mẹ tự phối có thể trồng bắp trên hàng từ những dòng tự phối sau đó hỗn hợp để tăng lượng hạt. Các cây khác dạng được loại bỏ trên từng hàng sớm trước khi trổ cờ như phương pháp bắp trên hàng. Thụ phấn sib có thể làm bằng tay hoặc trồng trong khu cách ly, tất cả cây khác dạng đều được khử bỏ trước trổ cờ.

e) Duy trì các dòng thế hệ đầu S1 đến S4

(maintaining early generation lines S1 – S4)

Trồng tối thiểu 75 – 100 cây trên các hàng 3 – 5 m, khử bỏ cây khác dạng, chọn các cây là lai từng cặp. Khi thu hoạch chọn các bắp trên các cây đúng với mô tả của dòng gốc, hỗn hợp hạt của các bắp chọn. Nếu cần số lượng hạt giống lớn có thể thực hiện theo phương pháp trồng dòng trong khu cách ly, loại bỏ cây khác dạng trước khi nở hoa rồi để tự do thụ phấn. Khi thu hoạch chọn các bắp đúng như mô tả của dòng gốc hỗn hợp tạo lập lô hạt tác giả hoặc SNC thế hệ 1

f) Duy trì các dòng tự phối mức độ cao (maintaining highly inbred lines S₅+))

+ Thử nghiệm con cái.

Vụ 1: Trồng dòng tự phối tự thụ các cây có đặc điểm và tính trạng đồng nhất và đúng mô tả của dòng gốc được thu hoạch riêng từng cây. Bắp đúng với mô tả của dòng gốc được chọn và tách hạt riêng.

Vụ 2: Mỗi bắp thu được ở vụ 1 gieo thành 1 hàng, đánh giá loại bỏ hàng khác dạng rồi cho tự do thụ phấn sau đó chọn các hàng đúng mô tả của dòng gốc, thu hoạch các bắp tự thụ riêng, loại bỏ bắp khác dạng. Tách hạt các bắp chia làm 2 phần, một phần cất trữ riêng để thử nghiệm con cái tiếp theo, phần còn lại của tất cả các bắp hỗn hợp tạo lập lô hạt SNC hoặc tác giả thế hệ 2.

+ Giao phối anh em nửa máu (sib-mating)

Dòng tự phối trồng với hỗn hợp hạt, các cây không đồng nhất loại bỏ trước khi trổ cờ. Thu phần hỗn hợp phần ngang bằng nhau của các cây để thụ phấn cho từng cây hoặc lai cây với cây hoặc trồng trong khu cách ly cho tự do thụ phấn. Các cây đồng nhất đúng mô tả dòng gốc, hỗn hợp hạt. Hạt của mỗi cây chia làm 2 phần, một phần để thực hiện giao phối vụ tiếp theo phần còn lại hỗn hợp tạo thành lô hạt SNC hoặc tác giả.

+ Các phương pháp cải tiến được giới thiệu trên để duy trì tính xác thực di truyền và sức sống của các dòng thế hệ đầu bằng giao phối anh em nửa máu (sib-mating) tốt hơn là tự giao phối (self-mating)

g) Sản xuất hạt bố mẹ nguyên liệu

Hạt bố mẹ nguyên liệu yêu cầu số lượng lớn hàng năm để trồng hàng trăm đôi khi hàng nghìn hectare hạt giống ngô ưu thế lai thương mại (Wych, 1988). Với số lượng lớn hạt bố mẹ như vậy thông thường là hạt nguyên chủng cung cấp cho sản xuất hạt

lai đơn. Hạt nguyên chủng bố mẹ nhân phải dưới những quy định khắt khe để đảm bảo chất lượng đến khâu sản xuất cuối cùng là sản xuất hạt lai. Có 3 bước cơ bản để nhân hạt nguyên chủng a) Thiết lập và duy trì nguồn cung cấp hạt tác giả và SNC b) nhân số lượng hạt tự phối c) tạo hạt lai đơn cung cấp cho lai 3 và lai kép.

Nhân nguyên hạt chủng có thể sử dụng hạt tác giả những thế hệ đầu, nhưng thông thường sử dụng các thế hệ tiên bộ thông qua 6 hoặc nhiều hơn chu kỳ nhân hạt tác giả, nhân hạt tác giả sử dụng phương pháp duy trì dòng tự phối thế hệ cao (S_5^+) để đảm bảo đồng nhất của chúng. Đảm bảo sự đồng hợp và đồng nhất về kiểu cây của các dòng tự phối ngang bằng về di truyền với dòng gốc. Nhân hạt tự phối nguyên chủng phải nhân từ hạt tác giả.

Sản xuất hạt nguyên chủng tự phối phải tuân theo một loạt các tiêu chuẩn quy định khắt khe, đặc biệt về tiêu chuẩn cách ly, số hàng bảo vệ xung quanh, tỷ lệ tối đa cây khác dạng. Hạt nguyên chủng tự phối được xem là hạt thương mại cung cấp cho sản xuất hạt lai, nhưng đánh giá chất lượng khắt khe hơn hạt nguyên chủng giống ngô thụ phấn tự do. Theo tiêu chuẩn ngành 10 TCN 312-2003 cách ly không gian 500 m với nhân dòng bố mẹ

9.4.2 Sản xuất hạt giống ngô lai

a) Các giống ngô ưu thế lai

Giống ngô ưu thế lai đã được sử dụng trong sản xuất trên phạm vi rộng từ những năm 40 của thế kỷ 20. Ở Mỹ giống ngô ưu thế lai sử dụng trong sản xuất khoảng 1% năm 1933 đến năm 1945 đã có 90% diện tích trồng ngô của nước Mỹ sử dụng giống ngô ưu thế lai. Để tạo giống ngô ưu thế lai cần thực hiện tạo các dòng tự phối theo những đặc điểm mong muốn từ quần thể dị hợp. Tiếp theo là thử khả năng phối hợp của các dòng tự phối, những dòng có khả năng tự phối nhân dòng và sản xuất hạt lai cung cấp cho sản xuất. Sản xuất hạt ngô lai có 3 loại là lai đơn, lai ba và lai kép. Lai đơn là lai giữa 2 dòng tự phối, lai 3 là một lai đơn làm mẹ lai với một dòng tự phối khác, lai kép là lai giữa hai lai đơn khác nhau.

Lai kép:

Ưu điểm của lai kép:

- Biến động di truyền lớn hơn lai đơn và lai ba
- Thích nghi với môi trường cao
- Thời gian trổ cờ, tung phân dài hơn
- Chất lượng tốt hơn
- Giá hạt giống rẻ
- Biến dị lớn là cơ hội cung cấp cho tạo giống những đặc điểm mong muốn

Nhược điểm:

- Năng suất và khả năng chống chịu sâu bệnh kém hơn lai đơn và lai ba
- Bấp nhỏ, kiểu cây và kiểu bắp biến động lớn không đồng đều
- Trong điều kiện môi trường thích hợp tiềm năng thấp hơn lai đơn

Lai đơn:

Hiện nay trên thị trường 90% hạt giống ngô ưu thế lai là lai đơn

Ưu điểm của lai đơn

- Bấp to, đồng nhất về cây, bắp

Phát huy hết tiềm năng trong môi trường thuận lợi và cho năng suất tối đa
Khả năng chống chịu sâu bệnh tốt hơn

Nhược điểm

Giá hạt giống cao

Thời gian nở hoa ngắn

Khi đầu tư thấp(phân bón) năng suất giảm mạnh

Lai ba:

Năng suất và chất lượng hạt tốt hơn lai kép

Những ưu điểm và nhược điểm là trung bình giữa lai đơn và lai kép

Sản xuất hạt giống ngô lai giữa các dòng tự phối cần nghiên cứu nắm chắc đặc điểm các dòng tự phối đưa vào sản xuất hạt lai như: nảy mầm, thời gian sinh trưởng, thời gian từ trồng đến ra hoa, đặc điểm nở hoa, lượng phân của dòng bố, chiều cao, khả năng phối hợp của bố mẹ.

b) Chọn đất sản xuất:

Ngô là cây có khả năng thích ứng rộng, tuy nhiên để đạt năng suất hạt lai cao cần chọn đất tốt, tưới tiêu thuận lợi. Không sản xuất giống trên ruộng vụ trước trồng ngô tránh cây vụ trước mọc lẫn.

c) Cách ly

Khu đất sản xuất hạt lai phải cách ly với các khu sản xuất khác với lai kép và lai 3 là 183m, lai đơn cách ly 366 m (theo CIMMYT và OHIO University). Xung quanh có trồng bố hoặc cây cao chắn yêu cầu cách ly có thể ngắn hơn.

d) Thời vụ :

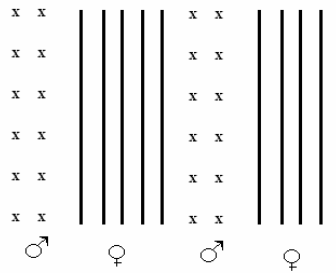
Thời vụ phụ thuộc vào tổ hợp, điều kiện sinh thái của vùng sản xuất. Nguyên tắc bố trí thời vụ để trở cò phun râu vào lúc thời tiết thuận lợi, không có mưa, gió nhẹ, nhiệt độ 20 - 27°C. Thời vụ gieo bố mẹ cũng căn cứ vào thời gian sinh trưởng để gieo, đảm bảo cho bố mẹ trở trùng nhau (mẹ có thể trở trước vì nhụy ngô có sức sống dài hơn phấn) . Phải đánh dấu hàng bố mẹ khi trồng và vẽ sơ đồ ruộng lai để nhận biết dễ dàng ở thời gian khử đực và thụ phấn

e) Phương pháp điều chỉnh bố mẹ trở cò phun râu trùng nhau:

Bố mẹ có thời gian sinh trưởng như nhau có thể trồng cùng một thời vụ như vậy trở cò tung phấn hoàn toàn là trùng khớp. Khi bố sớm hơn so với mẹ bón phân cho hàng bố để làm bố chậm lại. Đốt lửa cũng có thể trì hoãn trở cò tung phấn của bố. Tuy nhiên bố gieo hai thời vụ sẽ đảm bảo chắc chắn hơn. Mỗi thời vụ cách nhau 1 tuần. Bố trí thời vụ để bố 1 có 50% cây bố tung phấn và khi đó có 10% mẹ phun râu là phù hợp trong trường hợp gieo 2 bố.

f) Tỷ lệ hàng bố mẹ:

Trong sản xuất hạt lai tỷ lệ hàng bố mẹ 2 : 4 và 2: 6, nghĩa là 2 hàng bố 4 hàng mẹ hoặc 2 hàng bố 6 hàng mẹ. Tỷ lệ 2: 6 đặc biệt được áp dụng phổ biến trong sản xuất hạt lai kép



Tỷ lệ hàng bố, mẹ trong sản xuất hạt lai đơn

9.10 tỷ lệ hàng bố mẹ trong sản xuất hạt lai đơn

g) **Quản lý ruộng sản xuất hạt lai:**

Phân bón, trừ cỏ và tưới nước như sản xuất hạt lai giữa các giống. Phân bón cần xem xét với lượng thích hợp để chi phí sản xuất hạt lai không quá cao.

h) **Khử lẫn:**

Phải loại bỏ toàn bộ cây khác dạng ra khỏi ruộng sản xuất trước khi tung phấn. Cán bộ kỹ thuật khử lẫn là những người có kinh nghiệm và hiểu biết các dòng trong tổ hợp lai đi dọc theo hàng nhỏ bỏ hoặc cắt bỏ cây khác dạng, cây sâu bệnh.

i) **Khử đực:**

Cờ trên các cây hàng mẹ phải được rút hoặc cắt bỏ trước khi tung phấn. Tiêu chuẩn không được quá 1% cây mẹ trở cờ trên hàng mẹ khi đã 5% cây mẹ phun râu. Tổng số không quá 2% cây mẹ có cờ trong 3 ngày liên tiếp trên các hàng mẹ đã phun râu. Khả năng tung phấn của ngô khi cờ nhú 2,5 cm và bao phấn nhú ra khỏi vỏ hoa (vỏ trấu). Không cắt hoặc rút lá khi khử đực cờ, vì nếu rút mất 2 lá cuối cùng với cờ năng suất ngô có thể giảm đến 7%. Cắt cờ thường xuyên 2 - 6 lần tùy thuộc vào dòng mẹ trở cờ tập trung hay không tập trung, và thời gian phun râu. Thông thường phải khử đực hàng ngày. Ngày nóng, mát khả năng tung phấn dễ dàng cần rút cờ khử đực thường xuyên hơn. Một số dòng mẹ có xu hướng tung phấn ngay khi cờ còn nằm trong bẹ lá. Khi đó phải rút cả lá để ngăn ngừa tung phấn và chuyển cờ mẹ đi xa khỏi khu vực sản xuất. Những bắp phun râu nghi ngờ đã nhận phấn của chính nó cắt bỏ trong quá trình khử đực. Khử đực cũng có thể tiến hành bằng máy để giảm chi phí công lao động trong sản xuất hạt lai. Máy khử đực là “High clearance tractors”. Trong trường hợp sử dụng bắt đực đực trong sản xuất hạt ngô lai không mất công khử đực, tuy nhiên nếu bắt đực không hoàn toàn vẫn tiến hành khử đực như kỹ thuật đã trình bày.

j) **Thu hoạch, tách hạt và phân loại:**

Thu hoạch hàng bố trước để làm hạt thương phẩm. Vệ sinh loại bỏ tất cả bắp hạt rơi rụng rồi mới thu hoạch giống (hàng mẹ) Không nên để hàng mẹ quá dài trên ruộng, thu khi chín độ ẩm hạt 30% là thích hợp. Tách hạt khi độ ẩm 25% hoặc thấp hơn để không gây hại đến hạt giống, bên cạnh đó cần điều chỉnh tốc độ máy tách hạt để không làm dập vỡ hạt, phân loại và loại bỏ hạt khác dạng trước khi phơi khô.

Làm khô: Làm khô bằng máy hoặc phơi đảm bảo độ ẩm giảm đến 11 - 12%, thời gian sấy phụ thuộc máy và độ ẩm hạt nhưng không nên quá chậm hạt dễ bị mốc.

Làm sạch, phân loại và xử lý nấm bệnh: Sau khi tách hạt, hạt được làm sạch bằng quạt sạch hết mảy và tạp lẫn khác. Phân loại theo kích thước hạt và xử lý thuốc trừ nấm. Thuốc trừ nấm có hiệu quả đang được sử dụng là captan. Sau khi xử lý nấm đóng bao, gắn nhãn để bảo quản và kinh doanh hạt giống.

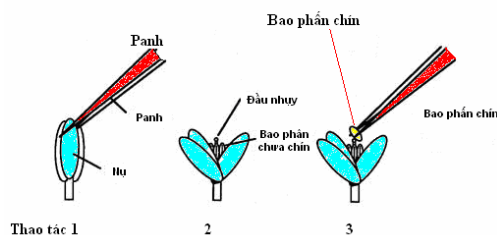
9.4.3 Kỹ thuật nhân dòng bố mẹ bắp cải ưu thế lai (sử dụng dòng SI)

Nhân dòng bố mẹ ở cây họ thập tự sử dụng SI cần phá vỡ tự bất hợp để tự thụ phấn hoặc thụ phấn chéo em. Có hai phương pháp phá vỡ tự bất hợp để tự phối duy trì và nhân dòng là:

- + Phương pháp 1: thụ phấn sớm 3 ngày trước khi nở hoa vì phản ứng tự bất hợp chỉ xảy ra 2 ngày trước khi nở hoa. Như vậy thụ phấn trước 3 ngày có thể vẫn thụ phấn thụ tinh bình thường, tìm các nụ đúng thời điểm chưa có phản ứng tự bất hợp để có thể tự phối liên tục để thực hiện tự phối. Tuy nhiên thụ phấn nụ gặp khó khăn vì hoa họ thập tự nhỏ và rất mềm
- + Phương pháp 2: phá vỡ tự bất hợp bằng dung dịch muối ăn loãng (NaCl 8%) nhỏ đều trên bề mặt đầu nhụy, để 15 phút sau đó thấm khô toàn bộ dung dịch muối, lấy phần chín của cùng hoa (hay cùng cây) thụ phấn bình thường. Phương pháp này dễ thực hiện, hiệu quả và ít tốn kém cho nên được áp dụng phổ biến.

Các bước kỹ thuật của phương pháp:

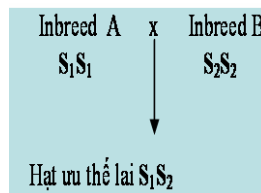
- + Tìm nụ gần nở hoa trên cành hoa (nụ già nhất)
- + Dùng panh cắt các gai và cẩn thận mở nụ hoa cho đầu nhụy hoàn toàn lộ ra
- + Nhẹ nhàng gấp bỏ các bao phấn chưa chín ra khỏi hoa
- + Nhỏ dung dịch muối lên đầu nhụy, sử dụng một que gỗ nhỏ làm đều dung dịch trên đầu nhụy, chờ 15 phút cho dung dịch muối phá vỡ tính tự bất hợp, sau đó thấm khô đầu nhụy bằng giấy mềm hoặc giấy thấm không để sót dung dịch muối ăn trên đầu nhụy
- + Sử dụng panh gấp bao phấn chín trong hoa hoặc hoa liền đó bóp bao phấn vỡ và chà lên đầu nhụy, làm như vậy 2 – 3 lần và phải đảm bảo cho phấn bám chặt trên mặt đầu nhụy.
- + Đánh dấu hoa thụ phấn
 - + Khử bỏ các hoa và nụ không thụ phấn
 - + Chăm sóc cây để hoa tự thụ phấn đậu quả, kết hạt tốt
 - + Thu hoạch hạt thụ phấn cho các bước tạo giống và sản xuất hạt giống tiếp theo



Hình 9.11: Phá vỡ tự bất hợp và thụ phấn hoa bắp cải

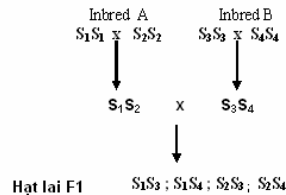
Thụ phấn nự ở cây loài *Brassica*. Sử dụng panh khéo léo để đầu nhụy nhô ra (1 và 2) Chải nhẹ bao phấn chín lên đầu nhụy sau khi đã xử lý loại bỏ tự bất hợp (3). Có thể lấy bao phấn của hoa khác trên cùng cây đã chín để thực hiện thụ phấn nếu bao phấn hoa xử lý chưa chín (2)

Đây là hệ thống được phát triển trong tạo giống và sản xuất hạt giống ưu thế lai với các cây *Brasicas* như cải dầu, bắp cải, cải xoăn sử dụng hệ thống tự bất hợp bào tử. Các tính trạng trội của hệ thống này có thể tạo ra các cặp allele đồng hợp của allele S (S_1S_1, S_2S_2, \dots). Hạt của dòng có kiểu gen đồng hợp duy trì bằng thụ phấn nự hoặc phá vỡ tự bất hợp bằng hóa chất để tạo ra hạt dòng S_1S_1 và S_2S_2 để đưa vào hệ thống tạo hạt lai đơn như sơ đồ sau:



Hình 9.12: Lai đơn

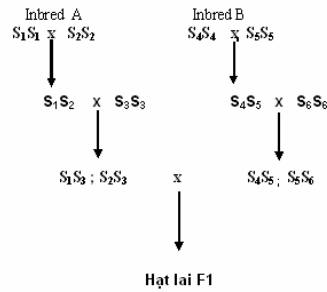
Hệ thống lai đơn yêu cầu tạo hạt tự bất hợp bằng tự thụ phấn rất lớn, cho nên thụ phấn bằng tay không đáp ứng được, để khắc phục người ta tạo hạt lai đơn làm nguyên liệu sản xuất hạt lai kép. Yêu cầu của tạo hạt lai kép cần 4 dòng đồng hợp kiểu gen S như sau



Hình 9.13: Lai kép

Hệ thống này thực hiện thụ phấn bằng tay 4 dòng bố mẹ: S_1S_1, S_2S_2, S_3S_3 và S_4S_4 tạo hạt lai đơn cung cấp cho sản xuất hạt lai kép. Như vậy hạt lai kép có số lượng lớn đáp ứng được yêu cầu thương mại.

Tạo hạt lai F1 giữa hai lai kép cũng có thể được áp dụng, vụ 1 tạo hai cặp lai đơn $S_1S_1 \times S_2S_2$ và $S_3S_3 \times S_4S_4$ được hai con lai S_1S_2 và S_3S_4 . Hai con lai này lại lai tiếp với $S_1S_2 \times S_3S_3$ và $S_3S_4 \times S_6S_6$ thu được hạt lai kép và hạt lai kép làm nguyên liệu cho tạo hạt lai thương mại cung cấp cho sản xuất như sơ đồ sau:



Hình 9.14 Sản xuất hạt lai F1 từ hai lai ba

Hệ thống này vụ 1 cần thụ phấn bằng tay 6 dòng bố mẹ S_1S_1 ; S_2S_2 ; S_3S_3 ; S_4S_4 S_5S_5 và S_6S_6 nhưng bù lại số lượng hạt lai thương phẩm tạo ra lớn và hiệu quả cao hơn.

9.4.4 Kỹ thuật sản xuất hạt giống bắp cải ưu thế lai

Cây bắp cải là cây giao phấn, mặc dù nó có cấu tạo hoa hoàn chỉnh nhưng không tự thụ phấn do tính tự bất hợp. Cây bắp cải cũng như cây khác trong họ thập tự tính tự bất hợp là kiểu tự bất hợp bào tử. Hệ thống tự bất hợp bào tử được kiểm soát di truyền bởi 1 locut có nhiều alen, các alen có thể biểu thị tính trội hay đồng trội (độc lập) ở hạt phấn và vòi nhụy. Phản ứng bất hợp của hạt phấn (kiểu hình) do bố mẹ thể sinh ra hạt phấn xác định. Sản xuất hạt ưu thế lai ở cây họ thập tự nói chung và cây bắp cải nói riêng phải sử dụng tự bất hợp hoặc công cụ di truyền khác vì các cây này không thể tiến hành khử đực và tạo hạt lai bằng tay.

a) Chọn đất

Chọn khu vực sản xuất giống đất tốt thuận lợi tưới cho bắp cải trong vụ 1 (vụ đông) và tiêu trong vụ 2 (vụ xuân) sản xuất hạt giống. Đất nặng, giàu mùn và độ pH từ 6 - 6,5 là tối ưu cho sinh trưởng phát triển của bắp cải sản xuất hạt. Tránh những khu vực vụ trước có trồng cây họ thập tự như súp lơ, su hào, các loại cải để giảm lây truyền bệnh vào ruộng giống và cây lẫn vụ trước.

b) Thời vụ

Thời vụ gieo bắp cải sản xuất hạt lai tương tự như thời vụ sản xuất hạt giống thụ phấn tự do vụ sớm, gieo hạt vào cuối tháng 7 đầu tháng 8 trồng vào đầu tháng 9 đến tháng 12 thu hoạch bộ phận sinh dưỡng (bắp). Vụ 2 chuyển từ ruộng sản xuất sang ruộng sản xuất hạt và thu hoạch vào tháng 4 – 5 năm sau. Xác định thời vụ gieo trồng để hai dòng bố mẹ nở hoa trùng khớp cũng như những cây khác, căn cứ vào thời gian sinh trưởng của bố mẹ. Một số trường hợp khi bố mẹ nở hoa không trùng nhau phải bấm ngọn, nếu một trong hai bố mẹ ra hoa sớm hơn dòng khác

c) Cách ly

Cải bắp là cây giao phấn tuy nhiên vụ 1 không cần cách ly vì cây chưa ra hoa, vụ 2 cần cách ly tuyệt đối với ruộng sản xuất khác là 1500 m

d) Vườn ươm

Cây con bắp cải được trồng trong vườn ươm hay nhà kính khoảng 30- 45 ngày trồng ra ruộng sản xuất. Kỹ thuật vườn ươm tương tự như kỹ thuật vườn ươm sản xuất hạt giống bắp cải thụ phấn tự do. Cần có hai vườn ươm riêng biệt một vườn ươm dòng bố và một vườn ươm dòng mẹ

e) Trồng vụ 1

Kỹ thuật trồng ngoài ruộng sản xuất vụ 1 như kỹ thuật sản xuất hạt giống tự thụ phấn tự do. Ở vụ 1 có thể trồng bố mẹ trên những ruộng riêng. Mật độ khoảng cách trồng thường là 60 x 40 cm khoảng 3 đến 3,5 vạn cây/ha.

f) Trồng vụ 2

- + Yêu cầu ngoại cảnh để bắp cải ra hoa là phải qua giai đoạn xuân hóa nhiệt độ thấp từ 4 – 7°C (39 đến 45°F) trong thời gian 4 đến 6 tuần. Cành hoa cao có thể đạt 1 – 2m và trật tự ra hoa từ gốc cành hoa lên đỉnh, sau khi thụ phấn lai 3 – 4 tuần thì quả chín và bắt đầu tách quả
- + Tỷ lệ hàng bố mẹ các hàng cách nhau 15 cm và khoảng cách băng hàng bố và mẹ nên 0,7-0,8 m và thường hàng bố mẹ theo tỷ lệ 2:2 để tăng giao phấn
- + Làm giàn, tia cành: Sản xuất hạt lai tốn công và phải làm giàn đỡ đỡ hoa, làm giàn thuận lợi cho quá trình phun thuốc BVTV và cắt hoa bằng tay. Giàn bằng căng dây để đảm bảo tách bố mẹ riêng rẽ không ngã sang nhau. Khe hở giữa bố và mẹ phải đảm bảo tối thiểu cho tự thụ phấn cùng dòng và tối đa cho lai. Để đảm bảo điều này có thể đặt ong ra ruộng khi 5% hoa nở.
- + Bón phân cho ruộng sản xuất hạt giống bắp cải: Bón phân cho ruộng sản xuất hạt giống cần cân đối và cần lượng phân hữu cơ lớn 15 - 20 tấn phân chuồng hoai mục trên ha, tỷ lệ P_2O_5 và K_2O kali là 100:150 kg trên ha (theo AVRCD, lượng đạm phù hợp cho sinh trưởng của giống nhưng không nên bón quá nhiều làm bắp, thân lá mềm dễ bị sâu bệnh phá hoại, dễ đổ, kéo dài sinh trưởng là một nguyên nhân tăng số hạt tự thụ trong lô hạt giống
- + Phòng trừ sâu bệnh và cỏ dại cho ruộng sản xuất hạt giống bắp cải được áp dụng như ruộng sản xuất hạt giống bắp cải tự thụ phấn tự do. Các bệnh chủ yếu và thời nhũn, thời hạch, đốm vòng. Sâu hại nguy hiểm là sâu xám thời kỳ cây con, sâu tơ và rệp.
- + Tưới nước: Bắp cải có nhu cầu nước rất cao, do bề mặt lá rộng mất nước lớn trong quá trình bốc hơi. Mức nước trong đất duy trì ở mức 60% trong suốt quá trình sinh trưởng phát triển của cây.

g) Thụ phấn

Điều khiển thụ phấn để giao phấn tối đa bằng kỹ thuật trồng, làm giàn và thả côn trùng (ong)

h) Thu hoạch, tách hạt và làm khô:

Nhìn chung hạt trên hàng bố và hàng mẹ thu hoạch riêng. Mặc dù vậy trong một số trường hợp khi cả 2 bố mẹ khả năng tự thụ là rất thấp hoặc không có khả năng tự thụ thì hạt có thể được thu cùng thời gian. Sự chín không đều của quả trên bông hoa và xu hướng tách vỏ quả tạo ra khó khăn để thu được năng suất hạt tối đa. Với lý do này thu hoạch hạt lai được thực hiện bằng tay, dùng dao sắc cắt hoa. Nếu giống tự thụ phấn tự do có thể được thu hoạch bằng máy. Thu hoạch khi quả màu vàng và hạt màu nâu. Thu hoạch vào buổi sáng khi chưa tan sương để giảm tách quả rơi mất hạt. Sau đó bó treo làm khô, dưới có vật hứng hạt rơi (ni lông hoặc mẹt), phơi khô như vậy 10 - 14 ngày thì đập tách hạt hoặc tách hạt bằng máy, nếu tách hạt bằng máy cần điều chỉnh tốc độ hợp lý để không làm dập vỡ hạt.



Hình 9.15: Thu hoạch quả bắp cải chín

Tách hạt và vỏ quả, làm khô, làm sạch hạt bằng quạt, sàng, xẩy để làm sạch lô hạt, sau đó có thể phân loại hạt để đóng gói và bảo quản. Hạt bắp cải có thể giữ sức nảy mầm 4 - 6 năm, nếu làm khô và bảo quản ở ẩm độ thấp <50% và độ ẩm hạt bảo quản không vượt qua 6%. Khi làm khô hạt giống không nên ở nhiệt độ trên 45°C với hạt có ẩm độ thấp có thể làm khô dưới điều kiện nhiệt độ cao hơn.

9.4.5 Kỹ thuật sản xuất hạt giống dưa chuột ưu thế lai

a) Nguồn gốc, đặc điểm

Dưa chuột (*Cucumis sativus*) thuộc họ bầu bí (*Cucurbitaceae*) có nguồn gốc Châu Á và Châu Phi. Những đặc điểm quan trọng với sản xuất hạt lai là biểu hiện giới tính ở dưa chuột. Như cây họ bầu bí khác biểu hiện giới tính ở dưa chuột rất phức tạp nó là cây hàng năm thân bò leo, tập tính sinh trưởng vô hạn, hữu hạn và compact, cây compact có lóng ngắn hơn cây hữu hạn hay vô hạn. Nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng 20 – 25°C, sinh trưởng kém nếu nhiệt độ thấp hơn 16°C và cao hơn 30°C. Các hoa dưa chuột có màu vàng đường kính 2 – 3 cm, hoa mọc từ nách và nhìn chung hoa đực ra sớm hơn hoa cái. Hoa cái xuất hiện sau và thông thường một nách lá chỉ có một hoa, tuy nhiên sự ra hoa đực hay hoa cái còn phụ thuộc vào môi trường, hoa đực hình thành trong điều kiện ngày dài còn hoa cái lại hình thành nhiều hơn trong điều kiện ngày ngắn. Dưa chuột có một vài tập tính nở hoa, hầu hết các giống dưa chuột là hoa đơn tính cùng gốc, các giống chỉ có hoa cái (gynoecious) số hoa cái trên cây nhiều gấp 13 lần hoa cái của các giống hoa đơn tính cùng gốc. còn gọi là “PF” (predominantly female) tuy nhiên cũng có một số ít hoa đực. Những giống này trồng tạo quả không hạt. Biểu hiện giới tính ở dưa chuột phụ thuộc vào một số yếu tố như mật độ, nhiệt độ và cường độ ánh sáng. Tỷ lệ hoa cái giảm nếu trong điều kiện mật độ quá dày, gây hại của côn trùng, ánh sáng yếu và nhiệt độ cao. Chất etephon nồng độ 125-250 ppm tăng tỷ lệ hoa cái. Đây là một đặc điểm quan trọng trong sản xuất hạt dưa chuột ưu thế lai.

b) Duy trì và nhân dòng bố mẹ

Nếu bố mẹ là những dòng có hoa đơn tính cùng gốc: dòng bố mẹ của sản xuất dưa chuột ưu thế lai là những dòng tự phối 4 – 5 đời do vậy quá trình nhân dòng bố mẹ rất quan trọng để duy trì được kiểu gen của bố mẹ. Sản xuất nhân dòng bố mẹ phải cách ly tuyệt đối 1500 m không có cây trồng hay giống cùng họ bầu bí. Áp dụng kỹ thuật nhân dòng bố mẹ tương tự như cây giao phấn khác theo hai cách, thứ nhất nếu cần lượng hạt giống gốc lớn người ta trồng bố, mẹ trong các khu cách ly rồi để thụ phấn tự do. Trước khi hoa đợt đầu nở loại bỏ toàn bộ cây khác dạng, sâu bệnh. Cách thứ 2 trồng bố mẹ chọn những cây điển hình tiếp tục tự thụ.

Thành tựu gần đây trồng chọn tạo giống dưa chuột ưu thế lai sử dụng dòng ưu thế cái hay thuần cái, trên cây chỉ có hoa cái như vậy giảm công khử đực trên các hàng mẹ trong quá trình sản xuất hạt lai. Do đặc điểm di truyền của dòng này nên khi nhân dòng cần xử lý hóa chất để nó xuất hiện hoa đực bình thường. Hai hóa chất được dùng để xử lý cho dòng thuần cái ra hoa đực là GA3 (1.000 ppm) một số dòng yêu cầu thấp hơn hoặc nitơ rất bạc AgNO_3 nồng độ pha 600 mg/L để phun vào thời kỳ cây ra hoa.

c) Kỹ thuật trồng đặc thù của sản xuất hạt dưa chuột lai F1

Kỹ thuật trồng trọt như chọn đất, thời vụ, cách ly, phân bón phòng trừ sâu bệnh... tương tự như sản xuất hạt giống thụ phấn tự do. Sau khi làm đất bằng cày bừa kỹ tiến hành lên luống nếu trồng hàng đôi chiều rộng mặt luống 80cm–100cm tùy giống, cao 25 – 30cm. Bỏ hốc hàng cách hàng 60 cm, cây cách cây 40cm. Theo Wayne L. Schrader Đại học California cây các cây 21 – 31 cm, hàng cách hàng 91 – 183 cm tùy theo giống. Các luống bố cần trồng dày hơn để tăng tỷ lệ hoa đực trên hàng bố. Tỷ lệ hàng bố và mẹ là 8: 1 là phù hợp, sau khi thụ phấn thì loại bỏ các hàng bố như vậy trên ruộng sản xuất hạt chỉ còn lại hạt lai. Kỹ thuật tăng tỷ lệ hoa cái trên hàng mẹ được áp dụng bằng kỹ thuật trồng trọt và xử lý hóa chất, trồng hàng mẹ với mật độ thưa hơn, phun hóa chất như chất etephon nồng độ 125-250 ppm tăng tỷ lệ hoa cái. Chăm sóc sau khi thụ phấn rất quan trọng để có năng suất hạt lai cao vì: quả dưa chuột dạng thuôn, chứa 3 giá noãn, quả phát triển không đều sẽ sinh ra những hạt lép và phân bố hạt không đều trong quả, năng suất thấp. Nguyên nhân quả phát triển không đều do ảnh hưởng của các yếu tố môi trường bất thuận.

d) Kỹ thuật khử đực và thụ phấn

Khử đực bằng tay áp dụng với cả hai trường hợp sử dụng mẹ là dòng đơn tính cùng gốc và dòng thuần cái. Khử đực sớm khi hoa đực chưa nở và phải tiến hành thường xuyên vào buổi sáng trong suốt quá trình nở hoa của dưa chuột. Dòng thuần cái có thể sử dụng hóa chất để khử hoa đực, hóa chất thường được sử dụng phun cho hàng mẹ để triệt tiêu hoa đực là ethylene. Thụ phấn cho dưa chuột sản xuất hạt lai người ta phải thả ong vào khu vực sản xuất, một tổ ong mật có thể đủ để thụ phấn cho 1 – 2 ha sản xuất hạt dưa chuột lai. Để tăng năng suất hạt cần thụ phấn bổ sung bằng tay, công việc thụ phấn bổ sung thực hiện vào các buổi sáng, thu hoa bố 8 – 9 giờ và thụ cho hoa mẹ 9 – 10 giờ.

e) Thu hoạch, tách hạt và bảo quản

+ Thu hoạch và tách hạt

Thu hoạch quả dưa chuột chín hoàn toàn để đảm bảo chất lượng hạt giống, quả chín biểu hiện bên ngoài là chuyển từ màu xanh sang màu vàng, cũng có thể bỏ quả để xác định hạt chín. Tách hạt bằng cắt quả thành các lát mỏng sau khi thu hoạch.

Tách hạt cũng có thể bằng lên men hoặc axit. Phương pháp lên men, cắt quả dưa chuột thành các lát mỏng, thời gian lên men 4 – 6 ngày dưới điều kiện bình thường. Nếu tách bằng axit HCl (90ml) hoặc H_2SO_4 (30ml) trộn với 12 kg quả đã thái lát trong 15 – 30 phút rồi rửa bằng nước sạch ngay sau khi lên men, vớt bỏ những hạt và thịt quả nổi rồi chắt lấy hạt đem phơi hoặc sấy làm khô hạt.

+ **Phơi sấy, làm sạch và bảo quản**

Sau khi tách hạt cần làm khô ngay để đảm bảo chất lượng hạt giống, phơi hay sấy đều không nên vượt quá 40°C và khi độ ẩm hạt đạt 6% chuyển sang làm sạch bằng quạt để loại bỏ tạp chất, tàn dư thịt quả bám trên hạt. Đóng gói và bảo quản trong kho với nhiệt độ thấp và độ ẩm kho bảo quản 6,5%

9.4.6 Kỹ thuật sản xuất hạt khoai tây ưu thế lai

Theo S.sen Chaudhuri và S.Bhaskaras ,1995, củ giống và hạt khoai tây chất lượng tốt và sạch bệnh là cơ sở chính để mở rộng diện tích trồng khoai tây gấp đôi ở các nước đang phát triển. Ở một số nước kỹ thuật nuôi cấy mô và nhân nhanh củ giống sạch bệnh đã phổ biến rộng rãi. Những nghiên cứu và thành tựu khoa học gần đây của thế giới phát triển sử dụng khoai tây hạt (true potato seed) trong sản xuất. Nó làm giảm chi phí và tăng lợi nhuận của người trồng khoai tây. Chương trình sản xuất TPS bắt đầu từ năm 1981, những năm đầu thực hiện khảo sát đánh giá các gia đình TPS, một số gia đình đã có biểu hiện UTL cao. Những công việc nổi bật đạt được trong 14 năm (1981 -1995). Những tổ hợp lai đã được thử nghiệm năng suất, chống chịu, đồng nhất và chất lượng sau thử nghiệm ở các nước khác nhau đã xác định được 6 tổ hợp lai có năng suất cao là : HPS I/13, HPS I/67. HPS II/13, HPS II/67, HPS 7/13 và HPS 7/67. Những thông tin và kỹ thuật thâm canh thích hợp sản xuất và sử dụng TPS đã được đánh giá phổ biến bởi các chương trình quốc gia và thử nghiệm trên diện rộng.

Ở Việt Nam diện tích trồng khoai tây hiện nay khoảng 40.000 ha(Đồng bằng sông Hồng 98% và Đà Lạt 450 - 500 ha) , năng suất trung bình 8 - 9 tấn. Nghiên cứu sản xuất hạt khoai tây đã được thực hiện từ năm 1978 tại Viện Cây lương thực và cây thực phẩm(Vũ Tuyên Hoàng và cộng sự,1988). Ngoài ra Viện KHKT Việt Nam và trường ĐHNHI cũng đã có những nghiên cứu về vấn đề này. Việt Nam đã tạo ra 2 giống là CFK 69-1 và Atzimba các giống này có khả năng ra hoa và kết hạt cao ở Đà Lạt (1500m). Năm 1986 - 1990 đã sản xuất được trên 100 kg hạt. 11 tỉnh đồng bằng sông Hồng đã sản xuất trên 700 ha khoai tây hạt. Sử dụng khoai tây hạt giảm chi phí 57% so với sử dụng giống bảo quan truyền thống.

a) **Đặc điểm**

Khoai tây *Solanum tuberosum* L thuộc họ cà (*Solanaceae*) *Solanum tuberosum* L. là cây thân thảo lâu năm được trồng như cây hàng năm. Cây khoai tây thích hợp trồng ở nhiệt độ mát từ 10 – 20°C (50° to 65°F) nhưng miễn cảm với sương muối, băng giá. Hoa khoai tây là loại hoa chùm và hoa lưỡng tính hoàn chỉnh, quả màu xanh giống quả cà chua nhỏ mỗi quả chứa khoảng 300 hạt



Hình 9.16: Hoa khoai tây

b) Yêu cầu ngoại cảnh

Khoai tây thích hợp với nhiệt độ khác nhau tùy theo giống, nhiệt độ tối ưu cho hình thành củ 19°C, giảm khi nhiệt độ trên 22°C và không hình thành củ khi nhiệt độ trên 30°C. Nhiệt độ tối ưu cho hình thành củ 16 – 18°C, các giống khoai tây không cảm ứng ngày dài, những ảnh hưởng đến tỷ lệ quang hợp và hô hấp, ánh sáng ngày dài phù hợp cho quang hợp và phát triển đỉnh sinh trưởng. Để sản xuất hạt yêu cầu ánh sáng 6 - 10 giờ sáng trong ngày tuần thứ 3 yêu cầu chiếu sáng 15 giờ/ngày

c) Chọn đất và khu vực trồng

Đất trồng sản xuất hạt giống khoai tây đất tốt, thành phần cơ giới nhẹ, thuận lợi tưới tiêu, pH có thể từ 5.5 đến 7.5. Chọn đất cây trồng trước không được trồng cây họ cà, nếu luân canh với cây trồng nước như lúa là tốt nhất. Chuẩn bị đất, lên luống trồng như đối với sản xuất khoai tây thương phẩm

d) Cách ly

Theo tiêu chuẩn Việt Nam (10TCN 528-2003) cách ly trong sản xuất hạt khoai tây cách ly giữa hai dòng bố mẹ là 2m cách ly khu sản xuất hạt lai với cây họ cà khác là 10m

e) Kỹ thuật trồng

- + Trồng bố mẹ với tỷ lệ bố mẹ phù hợp và phụ thuộc vào tổ hợp lai. ví dụ bố TPS 13 và TPS 67 và mẹ MF II và TPS 7 tỷ lệ thích hợp là 1: 4. Trồng ruộng mẹ và bố riêng tương tự sản xuất hạt cà chua ưu thế lai
- + Mật độ và khoảng cách trồng phụ thuộc vào đặc điểm của dòng bố mẹ với những dòng có chiều cao trung bình luống rộng 1,5 m cao 15 - 20cm, trồng hàng x hàng = 45 cm, cây cách cây 20 -25 cm.

f) Quản lý ruộng sản xuất hạt giống

- + Bón phân

Khoai tây là cây có yêu cầu dinh dưỡng cao, tùy theo giống lượng phân bón yêu cầu khác nhau. Lượng phân chuồng từ 15 – 25 tấn, 100 – 150 kg N, 50 – 70 kg P₂O₅ và 100 – 150 kg K₂O. Phân chuồng được ủ hoai mục tránh không bón phân tươi gây bệnh cho ruộng sản xuất hạt giống. Phân chuồng và lân được bón lót theo hốc hay theo hàng trước khi trồng, phân đạm và kali bón vào các thời kỳ xới vun và làm cỏ. Bón thúc tập trung lớn nhất khi cây cao 15 – 16 cm và có các lá thật hoàn toàn 30 – 40% lượng đạm và kali, lượng phân còn lại bón đều ở lần vun thứ 2 và thứ 3. Ngoài phân đa lượng cần bón bổ sung phân vi lượng như đồng, , Ca, Bo..

- + Xới vun và phòng trừ cỏ dại: xới vun ít nhất vào 3 thời kỳ là khi có lá thật hoàn toàn 15 -16 cm, lần hai sau lần thứ nhất 15 - 20 ngày và lần 3 xới vun cao trước khi hình thành củ. Kết hợp xới vun với làm cỏ và bón thúc cho khoai tây
- + Tưới nước : khoai tây có nước cần nước cao nhưng không chịu úng, độ ẩm đất thích hợp cho khoai tây 60-70%. Biện pháp tưới rãnh được áp dụng trong trồng khoai tây vào thời kỳ sau trồng, khi có lá thật hoàn chỉnh, thời gian sinh trưởng mạnh và trước khi bắt đầu hình thành củ (khoảng 60 ngày sau trồng). Khi tưới cho nước ngấm lên luống qua đêm và tháo cạn nước còn lại trong rãnh
- + Phòng trừ sâu bệnh và cỏ dại: khoai tây bị một số côn trùng gây hại như bọ cánh cứng (*Leptinotarsa decemlineata*), bọ trích hút lá (*Empoasca fabae*), rệp đào

(*Myzus persicae*). Bệnh hại khoai tây cũng như các cây họ cà khác gồm bệnh nấm như (*Phytophthora infestans*), đặc biệt nguy hiểm là bệnh vi khuẩn và vi rút như vi rút khảm ở khoai tây có cả X, S, M, Y, và A. Vi khuẩn héo xanh phòng trừ bằng hóa học hay sinh học. Biện pháp quan trọng nhất là trồng dòng bố mẹ sạch bệnh, luân canh với cây trồng nước, vệ sinh đồng ruộng, ngăn chặn bộ trích hút truyền bệnh

Phương pháp khử đực và thụ phấn tạo hạt lai:

- + Khử đực hoa dòng mẹ, kỹ thuật khử đực tương tự như khử đực hoa cà chua, khử đực từ chùm hoa thứ 2, chọn những hoa lớn, phát triển đầy đủ để khử đực những hoa còn lại cắt bỏ. Khử đực khi nụ hoa bắt đầu hé nở, cánh hoa ló ra khỏi đài hoa khoảng 0,3 cm
- + Thu phần từ hoa bố: Khi hoa bố nở ngắt bao phấn vào buổi chiều. trải nên nền khô và phẳng để bảo quản. Bao phấn khô được rây trên sàng ni lông để lấy phần. Lượng phần của TPS 13 là cao hơn TPS 67. Ví dụ 100 hoa của TPS 13 có thể lấy được 223 mg phần còn TPS 67 chỉ lấy được 166 mg.
- + Thụ phấn: TPS - 67 ra hoa sau trồng 40 ngày, mẹ MFII nở hoa sau trồng 42 ngày. Khi hoa nở tiến hành thụ phấn. Khi trồng hàng mẹ nên trồng so le để đi lại thụ phấn dễ dàng. Khi thụ phấn yêu cầu lao động cao và có kỹ thuật khéo léo. Phần thừa có thể trữ lại ở 4 °C trong 7 đến 10 ngày vẫn không mất sức sống. Thụ phấn tiến hành từ 10 đến 12 giờ và lặp lại lúc 2 - 4 giờ.

g) Chăm sóc, thu hoạch, chế biến hạt giống

Các kỹ thuật áp dụng tương tự như đối với cây họ cà , tách hạt , làm khô, làm sạch, phân loại và đóng gói.

CHƯƠNG 10

SẢN XUẤT GIỐNG Ở CÂY SINH SẢN VÔ TÍNH

10.1 Sản xuất giống ở cây sinh sản sinh dưỡng với cây sinh sản bằng củ (củ giống khoai tây)

Khoai tây là cây có khả năng sinh sản vô tính sinh dưỡng bằng củ, bản chất di truyền của cây mẹ được truyền đạt hoàn toàn cho thế hệ sau. Cho nên sự thoái hoá của giống khoai tây chủ yếu do nhiễm bệnh và già sinh lý. Do vậy kỹ thuật sản xuất củ giống khoai tây cần có các kỹ thuật khắc phục hai nguyên nhân trên.

Các bước sản xuất củ giống khoai tây:

Giai đoạn 1 : Sản xuất củ siêu nguyên chủng.

Giai đoạn 2 : Sản xuất củ nguyên chủng

Giai đoạn 3 sản xuất củ thương phẩm.

Sản xuất củ giống khoai tây SNC bằng duy trì và phục tráng giống đã thoái hóa tạo lập lô củ siêu nguyên chủng. Sản xuất duy trì áp dụng với những củ giống tác giả, SNC hoặc giống nhập nội. Cấp giống này có đặc điểm sạch bệnh và trẻ sinh lý cần duy trì cấp giống.

10.1.1 Sản xuất duy trì

Nhân và chọn lọc siêu nguyên chủng được thực hiện trong nhà màn để tránh lây truyền bệnh. Trồng giống cần duy trì là củ siêu nguyên chủng, chọn lọc những cá thể đúng giống thông qua chọn cây đúng giống, sạch bệnh sau đó chọn củ sạch bệnh, đúng giống để trồng nhân ở vụ 2.

Vụ 1:
Trồng và chọn dòng
trong nhà màn



Vụ 2:
Đánh giá chọn dòng
tạo củ SNC (elite)- 1



Vụ 3 :
Nhân trong nhà màn
hoặc khu cách ly tạo
củ SNC-2



Hình 10.1 Sơ đồ chọn lọc sản xuất củ giống khoai tây

Vụ 2 sản xuất duy trì củ siêu nguyên chủng cung cấp cho sản xuất được thực hiện trong nhà màn hoặc khu cách ly, sạch bệnh. Kỹ thuật trồng trọt được áp dụng tối ưu đối với khoai tây như kỹ thuật sản xuất hạt giống khoai tây. Những điểm kỹ thuật khác biệt là ngăn cản lây truyền và nhiễm bệnh vào lô củ giống như tưới nước, chăm sóc, thu hoạch đều có biện pháp ngăn ngừa bệnh nghiêm ngặt, xử lý nước và dụng

củ trước khi sản xuất. Khử bỏ cây bệnh và tiêu hủy ngay tránh để lây lan sang cây khỏe.

Thu hoạch củ giống khi củ đã già có thể quan sát độ tàn của thân, lá và kiểm tra một số khóm kiểm tra vỏ củ, những củ già vỏ củ chắc hơn và màu đậm hơn củ non. Thân, lá được cắt hủy trước khi thu hoạch củ giống ít nhất 10 ngày, củ siêu nguyên chủng vụ 1 và vụ 2 cần cắt hủy giây trước thu hoạch củ giống 20 ngày để ngăn ngừa bệnh truyền sang củ giống.

Bảo quản củ giống: chọn lọc củ đúng giống sạch bệnh để bảo quản củ giống trước đây chủ yếu trong các kho tán xạ, nhưng ngày nay bảo quản củ giống trong kho lạnh. Kho phải được vệ sinh và khử trùng trước khi bảo quản củ giống, khử trùng có thể sử dụng các thuốc xông hơi. Củ giống sau khi thu hoạch được bảo quản trong điều kiện 13 – 16°C độ ẩm liên kết 90 -95% từ 8 – 15 ngày để củ giảm bớt độ ẩm liên kết và chắc lại, các vết thương thâm và co lại mới đưa vào kho lạnh bảo quản. Khoai tây giống bảo quản ở nhiệt độ 3 – 5°C và độ ẩm liên kết 90 – 95% có thể bảo quản thời gian dài.

Sản xuất củ nguyên chủng và củ xác nhận được sản xuất ở khu cách ly tránh nhiễm bệnh, với củ nguyên chủng cách ly khoảng cách an toàn tránh côn trùng truyền bệnh với cấp củ giống xác nhận cách ly với sản xuất khác ít nhất 3 m theo 10 TCN 316 – 2003. Không trồng sản xuất củ giống trên đất có cây trồng trước là cây họ cà. Quá trình sản xuất chọn lọc thường xuyên loại bỏ và hủy kịp thời cây bệnh. Các biện pháp khác như trồng, bón phân, tưới nước tương tự như đối với sản xuất hạt và sản xuất củ siêu nguyên chủng. Mỗi cấp củ giống đều phải kiểm nghiệm và chứng chỉ củ giống theo quy trình kỹ thuật và phẩm cấp củ giống quy định.

10.1.2 Phương pháp sản xuất củ giống khoai tây ứng dụng công nghệ sinh học

Ngày nay công nghệ sinh học phát triển biện pháp sản xuất củ giống khoai tây chất lượng cao đã đạt được những thành tựu mới. Virus là nguyên chính làm giảm năng suất và suy thoái ở khoai tây, những virus như PVY, PVX, PVS và PLRV. Nuôi cấy đỉnh sinh trưởng là một kỹ thuật loại trừ virus hiệu quả với các giống khoai tây. Nuôi cấy đỉnh sinh trưởng kết hợp xử lý nhiệt có hiệu quả loại trừ virus PVX hoặc PVS. Phương pháp là trồng cây hoặc củ nảy mầm dưới điều kiện 36°C từ 4 đến 6 tuần có thể loại trừ bệnh và hiệu quả loại trừ bệnh tăng 67%.

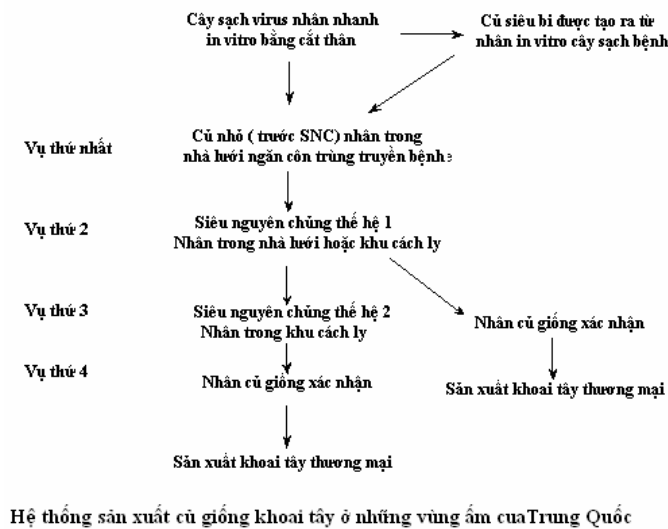
Biện pháp này gồm các bước chính:

- + Nhân đỉnh sinh trưởng trong in-vitro để loại trừ virus tạo cây sạch bệnh
- + Sản xuất củ siêu bi
- + Sản xuất củ bi
- + Sản xuất củ giống SNC

Sơ đồ sản xuất củ giống khoai tây của Trung Quốc là một quy trình khá hoàn thiện để áp dụng ở nước ta

Nhanh mô đoạn thân bằng in vitro (in vitro micropropagation)

Giai đoạn đầu của chương trình nhân giống khoai tây là tạo và sử dụng cây nhỏ in vitro, nuôi cây mô đoạn thân là con đường nhanh nhất tạo củ giống khoai tây sạch bệnh. Hệ số nhân giống rất cao nếu nhân bằng phương pháp này, nhân đoạn 1 đốt hệ số cao hơn nhiều đốt. Virus có thể xuất hiện trở lại với cây nhỏ nuôi cây mô sạch bệnh. Củ siêu bi (microtuber) tạo ra trong in vitro (in vitro tuberization). Cây con trong in vitro từ nuôi cây đỉnh sinh trưởng trong mô trường MS trong 20-25 ngày với điều kiện nhiệt độ 22,2°C và 14 giờ chiếu sáng trong ngày, bổ sung thêm 6-BA và CCC (chlorocholine chlorido) cũng như thay đổi đường sucrose để tạo củ siêu bi trong 30 – 35 ngày trong tối. Củ siêu bi có thể thu hoạch và tiếp theo nhân củ siêu bi, là một kỹ thuật tiên bộ không chỉ nhân nhân nhanh hiệu quả mà chuyển thành cây con dễ dàng. Điều chỉnh hormone hoặc hóa chất bổ sung để hình thành củ siêu bi như GA3/ABA, và 6-BA cũng như nồng độ thấp $\text{NO}_3/\text{NH}_4^+$ có thể cải thiện hệ số củ siêu bi và đường kính/khối lượng củ.



Hình 10.2: Hệ thống sản xuất củ giống khoai tây ở vùng ẩm của Trung Quốc

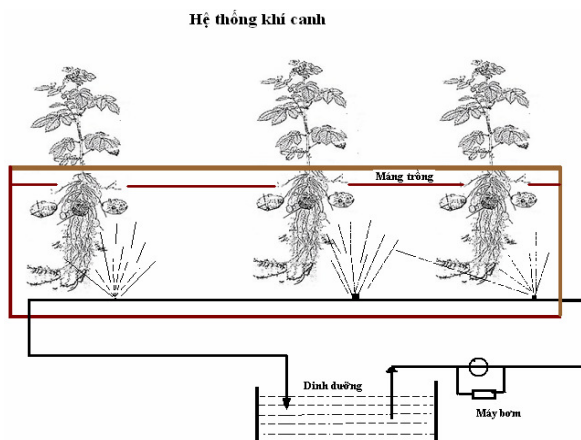
Năng suất của siêu bi cũng tăng nếu chiếu sáng 8 h/ngày (Li CH et al., 1990)

Có ba phương pháp nhân củ nhỏ

- + Trồng mật độ cao trên khay hoặc trên luống nhỏ trong nhà kính, nhà lưới với giá thể khác nhau là đất than bùn, chất khoáng. Mật độ khoảng 100 cây/khay ($0,14\text{m}^2$) có thể tạo ra 200 củ nhỏ với khối lượng 2 – 8 g (Sun HS et al., 1995).
- + Trồng khí canh : Thiết khí canh bao gồm máng trồng, bơm và hệ thống phun, hệ thống điều khiển thời gian và bể dung dịch dinh dưỡng. Thời gian đầu bơm dinh dưỡng định kỳ 3 phút một lần và thời gian phun cho 01 gốc là 30 giây. Khi cây lớn thí giảm dần 6, 10, 15 phút ban ngày và 1 đến 2 giờ vào ban đêm

Sản xuất củ nhỏ bằng khí canh và giá thể : Củ nhỏ tạo ra từ cả hai hệ thống khí canh và giá thể do máng trồng có thêm giá thể. Phương pháp này tạo ra số củ lớn hơn khí canh và giá thể riêng rẽ.

Sản xuất củ nhỏ siêu nguyên chủng và xác nhận : trước đây để tiết kiệm người nông dân trồng khoai tây thường cắt củ để trồng với mức khối lượng khoảng 75 g một phần, tuy nhiên phương pháp cắt củ gây vết thương nguyên nhân nhiễm bệnh và thoái hóa giống nghiêm trọng. Phương pháp sản xuất củ nhỏ ứng dụng CNSH đã tránh được những hạn chế đó. Nhân củ nhỏ SNC có một số yếu tố ảnh hưởng như kỹ thuật, giống, già sinh lý, mật độ trồng, phân bón.



Hình 10.3 : Sản xuất củ giống khoai tây bằng kỹ thuật khí canh

Một số kỹ thuật để nâng cao năng suất củ nhỏ siêu nguyên chủng hạ giá thành như sau :

- + Trồng mật độ dày như vậy có thể thu được số lượng củ lớn với khối lượng củ nhỏ từ 50 – 60 g, củ lớn nhất cũng chỉ 180g theo Sun ML (2001)
- + Thu hoạch sớm cũng nhận được củ nhỏ, thông thường thu sớm hơn thực tế của người dân khoảng 20 ngày. Như vậy hầu hết là củ nhỏ với khối lượng biến động từ 35 đến 110 g
- + Giai đoạn phát triển đã có nhiều mầm phát triển thân và củ tốt hơn nhưng củ có xu hướng nhỏ hơn do già sinh lý

10.2 Nhân giống vô tính bằng mắt, chồi và đoạn thân

Những cây trồng thường nhân giống bằng đoạn thân, chồi, mầm như cây sắn, chuối, dưa, nho, cây ăn quả và một số hoa cây cảnh. Với số lượng cây trong nhóm nhân giống này rất lớn nên trong tài liệu này chỉ đề cập đến những nguyên lý chính.

10.2.1 Những yếu tố ảnh hưởng đến nhân giống vô tính

Nhân giống vô tính sinh dưỡng tạo ra con cái là các dòng vô tính giữ nguyên được kiểu gen của giống gốc ban đầu. Tuy nhiên cây con xuất phát từ nhân giống vô tính về chất lượng có chịu một số tác động như sau :

- a) *Môi trường nhân giống và môi trường sinh trưởng phát triển*

Các cây trong dòng vô tính có thể không xảy ra thay đổi kiểu gen dưới biến động môi trường. Biểu hiện thay đổi bên ngoài (kiểu hình) của cây, hoa hoặc quả là do ảnh hưởng của khí hậu, đất đai và sâu bệnh. Một số loài cây biểu hiện kiểu hình của lá rất khác nhau khi trồng nơi đủ ánh sáng và không đủ ánh sáng. Trong vườn trồng một loại cây ăn quả thường khác nhau đáng kể giữa các cây do sự khác nhau của đất trồng, nước, cây gốc ghép và cạnh tranh quần thể. Các biến dị có thể xảy ra ở các cây trong một dòng vô tính nếu sinh trưởng nhiều năm trong điều kiện môi trường không thuận lợi và thay đổi theo chiều hướng xấu. Do vậy nhân giống cần quan tâm đến môi trường tối ưu cho loài cây trồng đó để không dẫn đến suy thoái giống.

b) Cây mẹ nhân giống

Cây con trong nhân giống vô tính đều được nhân lên từ những bộ phận sinh dưỡng của cây mẹ. Sự phát triển cá thể của cây con thông qua chu kỳ sống xảy ra ở các pha phân biệt là pha chưa thành thực (trẻ) pha chuyển tiếp và pha già, các pha này biểu hiện qua 3 hướng

- + Sinh trưởng tiềm năng để chuyển từ sinh trưởng sinh dưỡng sang sinh trưởng sinh thực điều khiển bởi đỉnh sinh trưởng (mô phân sinh), pha chưa thành thực không thể bắt đầu ra ra hoa ngay cả có điều kiện kích thích phù hợp. Như vậy trên cùng một cây thì sự thành thực là không cùng tuổi.
- + Biến động có thể xảy ra ở những tính trạng sinh lý và hình thái cụ thể bao gồm dạng lá, sức khỏe, gai nó liên kết với các pha khác nhau
- + Sự khác biệt xảy ra khả năng tái sinh của các phần khác nhau của cây như đỉnh sinh trưởng, rễ..., pha chưa thành thực có khả năng tái sinh tốt hơn pha thành thực (chín)

Hiện tượng những phần khác nhau nào của cây biểu hiện sự biến đổi pha và từ mô phân sinh tiếp tục các pha khác nhau này trong con cái sinh dưỡng của chúng gọi là “topophysis”. Các nhà làm vườn ở thế kỷ 17 và 18 tin rằng các dòng vô tính sẽ già sinh lý với tuổi cây mẹ và trẻ sinh lý chỉ có thể nhân từ hạt. Những nghiên cứu sau đó đã chứng minh rằng đời sống của dòng vô tính về lý thuyết là không bị giới hạn nếu trồng trong điều kiện môi trường phù hợp nó trẻ hoa lại bằng các đỉnh sinh dưỡng. Nhân giống từ những cây mẹ khác nhau cho sinh trưởng phát triển và chất lượng của cây con khác nhau. Khi lấy bộ phận sinh dưỡng trên cây mẹ khác nhau cho con cái có những đặc điểm sinh lý và nông sinh học khác nhau như lấy phần trên tán nhân giống cây con ra hoa sớm hơn phần dưới tán. Tương tự như vậy dễ nhận thấy ở cây thảo mộc những lóng mắt tạo ra muện hơn có thể sinh sản. Bộ phận sinh dưỡng lấy trên các phần khác nhau của cây mẹ cũng cho hình thái của cây con khác nhau. Vị trí khác nhau lấy mắt nhân vô tính cũng biểu hiện tập tính sinh trưởng khác nhau ở cây con như cây con sinh trưởng thẳng đứng hay phát triển theo chiều ngang cũng phụ thuộc vào vị trí lấy mắt nhân vô tính, thường lấy phần đỉnh sinh trưởng cây con phát triển thẳng đứng, lấy ở cành la cây con sinh trưởng ngang.

c) Phương pháp nhân giống

Nhân giống vô tính được chia thành các phương pháp khác nhau và có thể phân thành các nhóm chính sau :

- + Giống giống bằng tách chồi như chuối, dưa, dâu tây

- + Nhân giống bằng nhánh như hành, tỏi, cây hoa thủy tiên
- + Nhân giống bằng giâm cành với cây ăn quả, một số cây hoa
- + Nhân giống bằng chiết, ghép với cây thân gỗ cây ăn quả, hoa cây cảnh
- + Nhân giống bằng nuôi cấy in vitro

Phương pháp và kỹ thuật nhân cũng có ảnh hưởng đến tỷ lệ sống, chất lượng cây giống, hệ số nhân giống. Sâu bệnh trong quá trình nhân giống: Bệnh cũng là một nguyên nhân suy thoái dòng vô tính, đặc biệt là bệnh virus và vi khuẩn. Tàn dư của bệnh ở bất kể cây vô tính nào cũng là nguồn phát tán thông qua nhân giống vô tính và lây nhiễm đồng ruộng. Đặc biệt ở nước ta họ *Citrus* khi nhân giống cũng như sản xuất, bệnh virus có thể dẫn đến những tổn thất to lớn

d) Đột biến tự nhiên

Đột biến tự nhiên thường xảy ra với cây sinh sản vô tính sinh dưỡng là nguồn biến dị quý cho chọn tạo giống nhưng lại là một trở ngại trong nhân giống. Nhân giống cần loại bỏ nhưng biến dị khỏi quá trình nhân giống đảm bảo độ đúng giống của quần thể giống khi nhân vô tính. Nhân giống vô tính bằng nuôi cấy mô tế bào có thể xuất hiện các biến dị xô ma làm thay đổi quần thể vô tính cần có chọn lọc để đảm bảo độ đúng giống

10.2.2 Những kỹ thuật áp dụng nâng cao chất lượng và tỷ lệ nhân giống vô tính sinh dưỡng

i) Cây mẹ trong nhân giống vô tính

Một giống cây ăn quả được cung cấp cho sản xuất hầu hết được nhân vô tính từ một cây mẹ, nói một cách khác cây mẹ để lấy bộ phận dinh dưỡng để nhân giống cung cấp cho sản xuất. Một cây mẹ như thế có thể nhân lên thành hàng trăm đến hàng nghìn cây con. Cây mẹ có thể là một giống mới, một giống đã có trong sản xuất người sản xuất giống chỉ tiến hành nhân giống cho sản xuất hàng năm. Do vậy cây mẹ có ảnh hưởng quan trọng đến người sản xuất, cây mẹ không tốt sẽ cho các cây con kém chất lượng ảnh hưởng đến sản xuất và thu nhập của người trồng cây ăn quả lâu dài do đầu tư sản xuất nhiều năm. Chọn cây mẹ có các ưu điểm như năng suất cao, chất lượng tốt, chống chịu sâu bệnh, điều kiện bất thuận như hạn, úng... Sản phẩm có thể bảo quản, vận chuyển dễ dàng và những đòi hỏi này ngày càng nhiều, khi người ta đi vào sản xuất lớn tập trung, cung cấp cho một thị trường ngày càng rộng.

Cây mẹ đầu dòng áp dụng cả đối với cây cho mắt ghép và cây gốc ghép bởi vì gốc ghép có ảnh hưởng đến sinh trưởng, năng suất, chất lượng của cây giống. Xây dựng tiêu chuẩn cây mẹ đầu dòng cho mỗi loài cây ăn quả là rất quan trọng, bộ tiêu chuẩn này được chuẩn hóa theo tiêu chuẩn quốc gia hoặc quốc tế. Nhìn chung tiêu chuẩn cây mẹ đầu dòng bao gồm các nhóm tiêu chuẩn:

- + Nhóm chỉ tiêu di truyền
- + Các chỉ tiêu sinh trưởng phát triển
- + Các chỉ tiêu chất lượng
- + Nhóm chỉ tiêu chất lượng sản phẩm

Phương pháp tuyển chọn cây mẹ đầu dòng được thực hiện thông qua các chương trình nghiên cứu, hội thi, bình tuyển

ii) Thời vụ nhân vô tính

Phương pháp nhân khác nhau có phạm vi thời vụ thích hợp đảm bảo cho tỷ lệ sống trong nhân giống cao nhất. Ngoài tỷ lệ sống thời vụ còn ảnh hưởng đến tiêu chuẩn chất lượng cây con như chiều cao, sạch bệnh. Thời vụ chiết và ghép đối với cây ăn quả miền Bắc có thể trong vụ xuân hoặc vụ thu, mỗi loại cây cần nghiên cứu thời gian phù hợp nhất. Những cây tách chồi giâm như dứa theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Hoan, Đào Kim Thoa thì tốt nhất từ tháng 4 đến tháng 6 hàng năm

iii) Kỹ thuật vườn ươm

Vườn ươm là một khâu quan trọng trong nhân giống vô tính sinh dưỡng, các loại vườn ươm phổ biến hiện nay là nhà có mái che tạm và nhà lưới. Nhà có mái che và nhà lưới có tác dụng giảm bớt ánh nắng, che mưa, hạn chế xâm nhập của bệnh. Trong nhà lưới nhà vườn ươm có thể trồng cây con, cành giâm trực tiếp trên các luống đất hoặc trong bầu nilông

iv) Gốc ghép

được phân làm 2 nhóm là gốc ghép là cây con thực sinh và gốc ghép dòng vô tính

+ Gốc ghép cây con (cây thực sinh)

Gốc ghép cây con hình thành và phát triển từ hạt nảy mầm có những ưu điểm là sản xuất cây gốc ghép đơn giản, kinh tế và phù hợp với nhiều phương pháp ghép. Nhiều loại cây con không bị virus như cây mẹ (trừ những virus có thể truyền qua hạt), tính di truyền chưa bảo thủ nên khả năng tiếp hợp dễ hơn với mắt ghép, bộ rễ cây gốc ghép tốt hơn ăn sâu hơn. Tuy nhiên gốc ghép là cây con cũng có những nhược điểm đó là biến dị di truyền do hợp tử có thể là kết hợp của hai bố mẹ khác nhau không được kiểm soát. Những biến dị di truyền này có thể ảnh hưởng xấu đến cây ghép. Biến dị di truyền giữa các cây con từ các hạt khác nhau có thể dẫn đến sự không đồng nhất và đồng đều của cây gốc ghép, đôi khi là cây khác dạng, khác giống lựa chọn làm gốc ghép. Cây con sinh trưởng phát triển thường chậm dần đến thời gian nhân giống dài

+ Gốc ghép dòng vô tính

Gốc ghép vô tính là gốc ghép được tạo ra bằng chiết, giâm, tách chồi..., nhóm gốc ghép này có ưu điểm là rất đồng nhất về di truyền, nó còn có thể tạo sạch bệnh, thay đổi tập tính ra hoa của cây ghép. Sự phối hợp của gốc ghép vô tính với mắt ghép của các giống khác nhau cho phép chọn lọc trong quá trình ghép, mắt ghép của mỗi một giống cần được ghép kiểm tra trước. Hạn chế là cần phải sản xuất gốc ghép với một kỹ thuật tốt để có gốc ghép tốt đặc biệt là gốc ghép sạch bệnh. Sự tổ hợp hai hay nhiều (kiểu gen) cây khác nhau giữa gốc ghép và mắt ghép tạo ra phần ngọn và gốc có thể có các hình thức sinh trưởng khác nhau nếu tổ hợp hai hình thức sinh trưởng riêng rẽ giữa hai phần. Một số tổ hợp sinh trưởng rất có giá trị trong nhân giống vô tính bằng ghép, nhưng một số lại tạo ra bất lợi nên tránh. Những đặc điểm của cây ghép thay đổi có thể do một số nguyên nhân là (a) không tương hợp (b) một trong các phần ghép có những đặc điểm đặc thù được tổ hợp vào cây nhân giống như chống bệnh (c) những tương tác giữa gốc ghép và mắt ghép làm thay đổi kích thước, sinh trưởng, năng suất hay chất lượng hoa hoặc quả. Trong thực tế rất khó xác định những ảnh hưởng của tương tác giữa mắt ghép và gốc ghép với ảnh hưởng của môi

trường. Ảnh hưởng của kích thước và tập tính sinh trưởng của gốc ghép đến mắt ghép. Điều khiển kích thước đôi khi đi kèm theo thay đổi dạng cây là một ảnh hưởng có ý nghĩa của gốc ghép, gốc ghép thay đổi sức khỏe của giống cây mắt ghép. Như bằng chọn lọc ở táo, người ta chọn những mẹ gốc ghép trong phạm vi từ thấp đến cao, khi ghép đã thu được cây ghép có tán khác nhau trên các gốc ghép khác nhau. Cũng tương tự người ta đã ghép anh đào ngọt (*P. avium*) lên gốc ghép anh đào dại (*P. mahaleb*) đầu thế kỷ 18, đã tạo ra cây anh đào lớn hơn, sức sống khỏe hơn, tuổi thọ dài hơn (như gốc ghép) trong khi cây anh đào ngọt bé, sống yếu và nhanh cỗi. Tuy nhiên gốc ghép ảnh hưởng đến sức sống, kích thước cây đã được ghi nhận từ các kết quả nghiên cứu nhưng không ảnh hưởng đến tất cả đặc điểm tính trạng của loài cây của mắt ghép. Mỗi một tổ hợp ghép cần được nghiên cứu kiểm tra kỹ lưỡng ảnh hưởng của gốc ghép đến mắt ghép và nghiên cứu ảnh hưởng của gốc ghép đến mắt ghép cũng phải tính đến ảnh hưởng của yếu tố môi trường. Nên trồng gốc ghép trong điều kiện tối ưu và đất tốt để nguyên nhân gốc ghép yếu do môi trường là nhỏ nhất, khi đó đánh giá ảnh hưởng của gốc ghép đến mắt ghép chính xác hơn. Ảnh hưởng của gốc ghép đến mắt ghép rõ nét ở chiều cao cây, cây bình thường khi ghép lên gốc ghép tạo ra thấp cây hơn, thấp và lan rộng có ưu thế hơn thẳng đứng. Sự thay đổi này có thể là do thay đổi hooc môn (auxin và gibberellins) trong cây. Tuy nhiên khi cây thấp cũng cần xem xét đôi khi không do tương tác giữa gốc ghép và mắt ghép mà do virus gây ra thấp cây, như vậy phải loại bỏ cây gốc ghép có triệu chứng virus lùn cây trước khi ghép là một kỹ thuật quan trọng. Những đặc điểm ra quả sớm, hình thành mầm quả, đậu quả và năng suất quả của cây cũng bị ảnh hưởng của gốc ghép. Nhìn chung ra quả sớm có liên kết với gen lùn của gốc ghép và ra quả chậm hơn liên quan đến sức khỏe gốc ghép. Một chương trình nghiên cứu dài ảnh hưởng của ghép táo lên một số loại gốc ghép khác nhau ở Anh cho kết quả là biến động theo tuổi cây và vị trí tán cây. Người ta sử dụng 4 loại cây gốc ghép là

- + Malling 9 gốc ghép già yếu nhất cao 3,6 m
- + Malling 4 trung bình
- + Malling 1 trẻ khỏe
- + Malling 16 trẻ khỏe nhất

Kết quả cho thấy cây ghép lên gốc “malling 9” năng suất tích lũy trên cây cao nhất đến 10 năm bởi vì chúng ra quả sớm. Đến năm thứ 10 cây ghép trên gốc ghép khỏe trung bình là “Malling 4” cho năng suất vượt trội, đến năm thứ 15 thì cây ghép trên gốc malling khỏe số 1 năng suất cao nhất, đến năm thứ 20 cây ghép trên gốc cực khỏe malling 16 cho năng suất cao nhất. Như vậy ghép trên gốc trẻ khỏe tuổi thọ của cây dài hơn, cây gốc ghép lùn số quả nhiều hơn và có thể trồng mật độ dày do vậy cho năng suất cao hơn trên đơn vị diện tích. Cây gốc ghép có thể ảnh hưởng trên rất nhiều đặc điểm tính trạng khác nhau của cây như cây hồng xiêm cây gốc ghép ảnh hưởng đến ra hoa đậu quả, khi thử nghiệm gốc ghép là loài *D. lotus* (cây) đã tạo ra nhiều hoa hơn nhưng số quả lại tương tự như gốc ghép là hồng địa phương (*D. kaki*). Trong khi ở nho năng suất phụ thuộc rất lớn vào sức khỏe và mùa sinh trưởng của gốc ghép cá dạng nho của Mỹ (*Vitis labrusca*) khi ghép lên gốc ghép khỏe có

năng suất cao hơn ghép lên gốc ghép của chính nó, năng suất có thể tăng lên 30 – 150% tùy thuộc vào loại gốc ghép sử dụng

v) *Chất kích thích sinh trưởng*

Các chất kích thích sinh trưởng được sử dụng để tăng tỷ lệ sống trong quá trình nhân giống vô tính, những chất được sử dụng khá phổ biến là

- + Indolebutyric acid (IBA)
- + Naphthaleneacetic acid (NAA)
- + 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
- + Indoleacetic acid (IAA)
- + Gibberellic Acid (GA)

Ví dụ nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến tỷ lệ sống khi ghép hoa hồng từ kết quả nghiên cứu của James, Trạm Thí Nghiệm Nông Nghiệp Mỹ khi sử dụng Indole-3-butyric acid (IBA) cho kết quả như sau

Bảng 10.1: Ảnh hưởng của IBA đến tỷ lệ sống của ghép nhân giống(đvt:%)

Giống	IBA	Đối chứng
Charlamoff	100	92
Delawine	100	83
Delcon	100	57
Kanorkowa	100	82
Wedge	80	35
Ottawa 274	100	78

Hướng tới xây dựng bộ tiêu chuẩn cây giống cho nhưng cây trồng nhân giống vô tính sinh dưỡng là một đòi hỏi bức thiết của sản xuất giống cây trồng ở nước ta.

CHƯƠNG 11

CHẾ BIẾN HẠT GIỐNG

11.1 Thu hoạch

11.1.1 Thời điểm thu hoạch

Thời điểm thu hoạch khi hạt chín vì nếu thu hoạch sớm ảnh hưởng đến năng suất chất lượng hạt giống, thu hoạch muộn tổn thất hạt lớn do hạt chín quả vỡ mất hạt hoặc hư hỏng hạt ngay trên cây. Thời điểm thu hoạch rất quan trọng và cần đảm bảo nguyên lý chung sau đây:

- + Chất lượng hạt giống đặc biệt sức sống và khả năng nảy mầm
- + Năng suất hạt giống
- + Thuận tiện cho phơi sấy, chế biến (trời nắng và khô)

Loại cây thu hoạch muộn tổn thất hạt như cải, chúng tách quả và rơi hạt trên đồng ruộng cần thu đúng thời điểm khi quả màu xanh chuyển sang màu vàng. Tuy nhiên các quả trên cùng một bông không chín cùng thời gian, khi khoảng 50 số quả trên bông chín có thể thu hoạch được. Sau khi thu và bảo quản chúng trong phòng cho quá trình chín tiếp tục bằng treo cả bông hoa trên dây và có dụng cụ hứng hạt rơi phía dưới. Hạt phong lan cũng là loại quả nang thu hoạch ngay khi quả chuyển xanh sang nâu, thời gian chín rất khác nhau có loài vài tháng có loài chỉ sau thụ phấn 35 ngày hạt đã chín. Độ ẩm hạt khi thu hoạch cũng là một yêu cầu đối với hạt giống, độ ẩm hạt khi thu hoạch phụ thuộc vào loài cây trồng, thời tiết và môi trường thu hoạch. Với các loại cây trồng có thể phân thành 3 loại quả là :

- + Quả khô như các cây cải, rau diếp, đậu, củ cải đường , hành..
- + Quả thịt: quả khô sau khi thu hoạch và hạt có thể tách khi quả khô như cà tím, bí ngô, ớt
- + Quả thịt ướt : loại quả này độ ẩm cao , hạt có màng gelatin hoặc mucilat bao bọc, tách hạt bằng lên men hoặc hóa chất như cà chua, dưa chuột

Như vậy độ ẩm hạt, thời điểm thu hoạch rất phụ thuộc vào các loài cây trồng nhưng những căn cứ chủ yếu là

- + Màu sắc vỏ quả
- + Màu sắc hạt
- + Độ tàn của cây

11.1.2 Phương pháp thu hoạch

Thu hoạch bằng tay áp dụng trong điều kiện cây trồng quả không chín cùng thời điểm như cà chua, dưa chuột sử dụng tay ngắt từng quả hay chùm quả. Phương pháp này đảm bảo tốt chất lượng hạt giống và năng suất nhưng chi phí cao, dẫn đến giá thành hạt giống cao. Thu hoạch bằng máy giảm công lao động, thời gian thu hoạch ngắn an toàn hơn đối với hạt giống. Thu hoạch bằng máy cần có máy thu hoạch phù hợp với loài cây trồng, diện tích sản xuất giống phải đủ lớn, đồng ruộng thuận tiện cho cơ giới. Trong thu hoạch bằng máy kết hợp thu hoạch và tách hạt nâng cao hiệu quả với những loài cây trồng có thể thực hiện hai khâu này đồng thời như lúa, ngô.

Thu hoạch bằng máy yêu cầu công nhân có kỹ năng và hiểu biết về máy thu hoạch và yêu cầu sản xuất hạt giống

11.2 Các bước chế biến hạt giống và nguyên lý

Mục đích của việc chế biến quả hay hạt giống là để thu được những hạt giống sạch, có chất lượng cao, dễ bảo quản và xử lý khi tiến hành chế biến như chế biến sơ bộ, vận chuyển hay gieo hạt. Công nghệ chế biến bao gồm một số phương pháp, khả năng áp dụng của phương pháp này khác nhau. Công nghệ chế biến có thể được chia thành 7 bước sau đây:

- 1) Làm sạch sơ bộ: đối với các loại quả và hạt có nhiều mảnh vụn, cành, hoặc các quả lép v.v
- 2) Cắt trừ sau thu hoạch: đối với các loại quả còn tiếp tục chín sau thu hoạch hoặc cần sấy qua chờ tách hạt
- 3) Tách hạt: đối với những quả đã được thu hoạch nhưng chỉ riêng hạt giống (và đôi khi là một phần của quả) được cất giữ và đem gieo. Nếu vật liệu gieo trồng chỉ là hạt giống thì phải tiến hành tách hạt khỏi quả, thịt quả.
- 4) Loại quả và hạt có cánh: loại bỏ những phần thừa như gai, áo hạt và lông.
- 5) Làm sạch: loại bỏ các loại quả và hạt lẫn với các phần khác của quả như lá, cành, hạt lép, hạt lạ và vỏ.
- 6) Phân loại hạt: đối với các loại hạt thay đổi nhiều về khối lượng và kích thước. Phân loại hạt đảm bảo cho lô hạt đồng đều.
- 7) Điều chỉnh độ ẩm phù hợp: đối với các loại hạt mà sau các bước trên vẫn có độ ẩm cao hơn hoặc thấp hơn độ ẩm tiêu chuẩn đối với từng loại hạt phải điều chỉnh tiếp để đạt tiêu chuẩn.

Chế biến hạt giống thường được tiến hành theo bước trên nhưng không phải tất cả các loại hạt đều phải qua đầy đủ các bước mà tùy loại hạt có thể bỏ qua một số bước. Mỗi một bước trong quy trình chế biến có những kỹ thuật phù hợp tránh gây hại và nguy cơ hao hụt hạt giống. Trong quá trình chế biến có thể xảy ra kết quả không mong muốn, chế biến kỹ quá có thể phá hủy hạt, làm cho hạt mất khả năng nảy mầm hoặc giảm khả năng bảo quản. Một hệ thống chế biến hạt giống liên hoàn rất có lợi cho quản lý chất lượng hạt giống trong quá trình chế biến

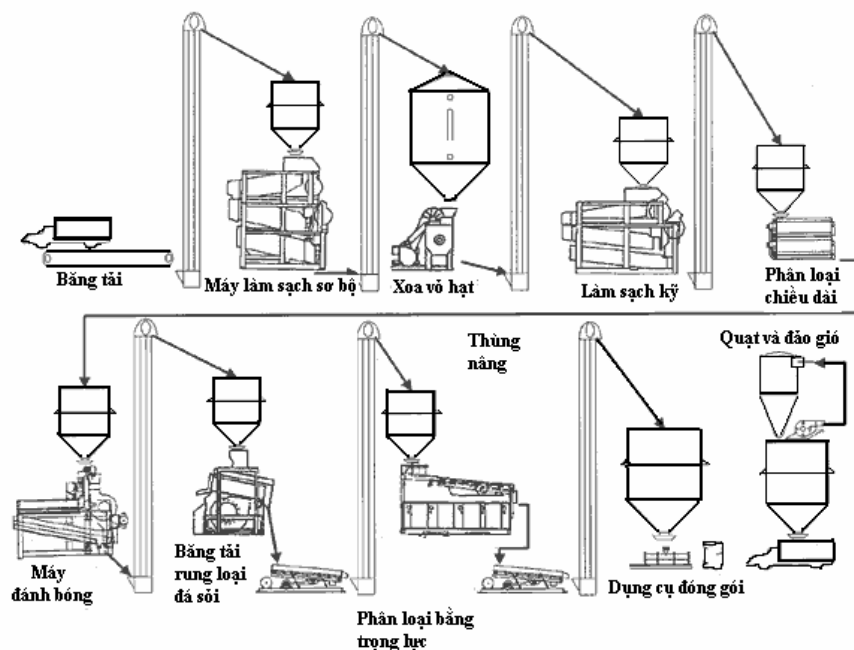
11.2.1 Làm sạch sơ bộ

Làm sạch sơ bộ chính là loại bỏ các vật to như lá, cành và quả lép. Bước làm sạch sơ bộ này được tiến hành chủ yếu là để giảm khối lượng vận chuyển và bảo quản sau thu hoạch..



Hình 11.1: Các loại lẫn tạp khi thu hoạch lúa giống cần làm sạch sơ bộ(Nguồn Mew.T.W và Misra J.K, IRRI,1994)

Thu hoạch khoai tây bằng máy, lượng vật chất chết lẫn trong lô củ giống rất lớn như đất, đá, sỏi...Ngoài ra lá, cành hoặc một số loại vật chất chết có thể mang bào tử nấm hoặc các mầm bệnh khác, chúng có khả năng lây lan sang những hạt giống đã được tách, các hạt giống ở thời kỳ đầu và cây giống. Bước làm sạch sơ bộ thường được tiến hành bằng phương pháp thủ công trước khi chuyển hạt giống đến nơi chế biến



Hệ thống chế biến hạt giống liên hoàn

Hình 11.2: Hệ thống chế biến hạt giống liên hoàn

11.2.2 Phương pháp cất trữ hạt sau thu hoạch và trước tách hạt

Cất trữ trước tách hạt có hai lý do căn bản: 1) để quả tiếp tục chín thêm đối với những quả chưa chín hoàn toàn hay còn xanh và 2) để làm cho quá trình tách hạt được dễ dàng, nếu phơi sấy ngay quả khô nhanh sẽ ảnh hưởng đến quá trình tách hạt ,thậm chí làm cứng bề mặt quả. Bảo quản sau khi thu hoạch có thể chia quả thành 2 hay 3 loại dựa trên mức độ chín. Bảo quản trong điều kiện nhiệt độ tự nhiên, thoáng mát và có độ ẩm cao. Thường xuyên đảo trộn tạo thông thoáng và giảm độ ẩm khối quả bảo quản đang tiếp tục chín. Kết thúc quá trình bảo quản khi quả chín hoàn toàn, quả đạt được màu chín điển hình và hạt chín sinh lý. Trong suốt quá trình chín tự nhiên, việc cung cấp nước cho sự chín của quả được điều chỉnh thông qua cuống nhỏ đến hạt thông qua cuống noãn. Sự bốc hơi liên tục ngăn ngừa được sự quá nhiệt của phôi hạt trong khi đó vẫn giữ được độ ẩm cao. Việc giữ được độ ẩm cao như vậy và việc tránh cho nhiệt độ tăng nhiều tạo điều kiện cho quá trình chín thêm của quả. Điều kiện môi trường trong suốt thời gian bảo quản là rất quan trọng cho việc kiểm

soát tiến trình sinh lý và chín sinh lý tiếp theo . Quả được giữ ở nhiệt độ bình thường ,ở các vùng nhiệt đới là từ 20-30° C. Độ ẩm ban đầu cao nhưng giảm dần trong quá trình chế biến. Độ ẩm cao trong quá trình cất trữ làm cho hạt giống rất dễ bị nấm tấn công .Sự thoáng mát thích hợp sẽ hạn chế nguy cơ này nhưng lại gây trở ngại cho việc sấy khô. Việc cất trữ những loại quả khô thường được tiến hành khi quả đã được đóng vào bao hoặc dụng cụ chứa. Tuy nhiên quả có thể trải lớp dày trên nền bê tông hoặc trong trong các khay.

11.2.3 Tách hạt

Tách hạt là phương pháp lấy và phân chia hạt từ các quả có vỏ bao quanh. Mục đích chính của việc tách hạt là để :

- 1) Giảm khối lượng: hạt thường chỉ chiếm 1-5% tổng trọng lượng của quả Việc giảm khối lượng giúp giảm bớt chi phí bảo quản và vận chuyển.
- 2) Dễ xử lý: hạt thường phải được kiểm tra , gia công sơ bộ và gieo một cách riêng rẽ, vì thế việc tách chúng ra khỏi quả là rất cần thiết.
- 3) Cải thiện khả năng bảo quản: các bộ phận của quả dễ bị thối rữa như là ruột của những quả có cùi, áo hạt phải được loại bỏ để tránh việc chúng bị thối rữa trong quá trình bảo quản. Nước trong các loại quả khô có thể thu hút nấm mốc và côn trùng, đặc biệt là nếu bảo quản trong điều kiện nhiệt độ tự nhiên của môi trường. Ngoài ra không tách hạt sấy hạt để giảm lượng nước sẽ trở lên khó khăn nếu.

a) Tách hạt với quả mọng

Ở một vài loại quả hạch và quả mọng, hạt thường sẵn sàng tách ra khi ruột quả đã chín hoàn toàn. Có thể tách hạt ra khỏi thịt quả bằng tay, xối nước, bằng axit H_2SO_4 hoặc HCL hay lên men. Ngày nay sử dụng nhiều loại men không độc hại đến người và hạt giống để tách hạt thay thế các axit vô cơ. Tách hạt bằng lên men và axit có thể ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm của hạt, do vậy cần có kỹ thuật chính xác. Theo Liang và Yong Tách hạt bằng phương pháp lên men đối với các loại quả hạch so với cách tách hạt bằng máy quả tươi có thể làm giảm sức nảy mầm của hạt. Một số loại quả ruột rắn khi tách hạt phải làm mềm ruột để dễ dàng tách hạt hơn bằng ngâm nước, một số loại phải châm vỏ trước khi ngâm mới làm mềm lớp ruột quả rắn chắc được. Trong thời gian ngâm khoảng 12 giờ thay nước một lần để các axit trong quá trình thủy phân không giết chết phôi, sau khi ngâm phải làm khô lại vì hạt cứng đã hút nước trong quá trình ngâm.

b) Tách hạt với quả khô

Về mặt hình thái học, quả khô được phân loại như là các quả nứt và không nứt .Các quả tách vỏ, nứt ra khi chín để phát tán các hạt của chúng, các loại quả không nứt thì vẫn đóng kín khi chín. Sự phân loại này phức tạp hơn định nghĩa đã đưa ra vì có sự dịch chuyển dần giữa các không nứt sang nứt, điều này mang một ý nghĩa thực tế đối với việc tách hạt .Quá trình tách hạt từ các quả nứt bị ảnh hưởng bởi:

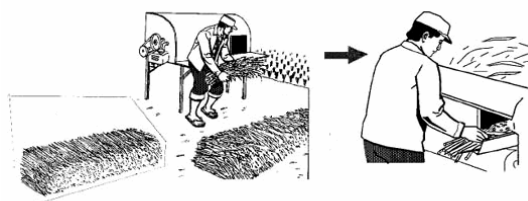
- + Loại quả: các loại quả nẻ là các bao nang, quả nang, quả thông, quả đậu và một số loại quả hợp khác. Nhưng việc tách hạt dễ dàng hay không lại thay đổi theo loài phụ ,giống hoặc nguồn gốc.

- + Giai đoạn đủ chín để thu hoạch: quả được hái khi đã chín hoàn toàn thường là chắc và nứt hơn các quả được thu hoạch sớm .Sự khác nhau có thể được khắc phục hoàn toàn hay một phần nhờ việc cắt trừ trước tách hạt.
- + Môi trường bên ngoài : đầu tiên là lượng nước trong quả sắp nứt, khi quả khô đi , nó có chiều hướng tách ra.Ở một số loại quả ,chủ yếu là quả thông ,lượng nước cân bằng với độ ẩm của không khí, do vậy khi không khí bị khô, quả mất nước và tách ra, khi không khí ẩm ướt quả có thể lấy lại nước và đóng lại ,quá trình này là do khả năng thuận nghịch .

Các loại quả khô thường được xử lý theo độ nứt .Có 4 nhóm

- a.Quả nứt tách ra khi khô
- b.Quả thông và các loại quả cuối mùa
- c.Những loại quả không nứt được tách hạt
- c.Những loại hạt không nứt không được tách hạt

Việc tách hạt thường được tiến hành trước khi đem bảo quản . nhưng với một số loại cây trồng hạt được giữ trong quả không tách đến khi gieo vãi sau vì bảo quản của những hạt chưa tách tốt hơn các hạt được tách. Bảo quản của hạt giảm có thể là do mất lớp vỏ bảo vệ của quả hoặc công lao động tách hạt quá cao làm tăng giá thành. Một số loại quả quá khó vì thể hầu như khó tránh được việc gây ra tổn thương cho hạt . Những tổn thương như vậy sẽ ảnh hưởng đến việc bảo quản



Xếp xếp cẩn thận trong tuốt lúa giồng

Hình 11.3: Tách hạt giống lúa bằng máy tuốt nhỏ (Nguồn S.S. Virmani ; Z.X. Sun ;T.M. Mou,Jauhar Ali,C.X. Mao, IRRI, 2003)

Bảng 11.1:Một số phương pháp tách hạt với các loại quả khác nhau

Loại quả	Phương pháp
Các loại quả nẻ khô, ví dụ như quả nứt vỏ và quả nang như đậu, quả thông	Sấy khô => quấy, đảo, rũ, sàng xảy
Những loại quả khô không nứt như lúa, ngô	Sấy khô => đập
Những loại quả cuối mùa ví dụ : quả thông, quả nang và một số loại quả khô hợp	Đun nóng trong lò =>đảo
Những loại quả có cùi với ruột	Đun nóng già => đảo
	Sấy
	Nhúng nước=>ngâm=>rửa
Những quả có cùi với ruột mỏng như cà chua, dưa chuột	Nhúng nước =>lên men => rửa
Những loại quả có cùi với ruột mềm	Nhúng => ngâm=>rửa
Những quả có cùi , ruột như đặc	Nhúng nước => ngâm=> rửa sạch => mài /đánh bóng
	Nhúng nước =>mài/đánh bóng

11.3 Phơi sấy hạt giống

11.3.1 Độ ẩm hạt

Hạt sau thu hoạch thường có độ ẩm cao hơn độ ẩm bảo quản, độ ẩm hạt ảnh hưởng đến tuổi thọ và nảy mầm của hạt. Độ ẩm hạt khi thu hoạch tách khỏi cây là độ ẩm liên kết (RH), cân bằng với độ ẩm không khí, nhưng những cây quả thịt như cà chua, dưa độ ẩm hạt cao hơn và có thể cao hơn do hút nước trong quá trình tách hạt. Độ ẩm hạt khi thu hoạch khác nhau liên quan đến độ ẩm không khí và nhiệt độ tại thời gian thu hoạch như bảng sau:

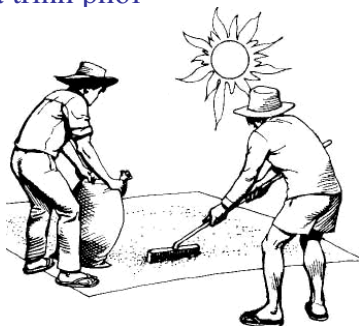
Bảng 11.2: Độ ẩm liên kết với độ ẩm hạt

Cây trồng	Độ ẩm liên kết (%) ở nhiệt độ 25°C				
	15	30	45	60	75
Ngô	6,5	8,5	10,5	12,5	15,0
Cà tím	4,7	7,0	-	-	-
Dưa chuột	6,0	7,0	7,5	8,0	9,5
Cà chua	6,0	7,0	8,0	9,0	11,0
Bắp cải	3,5	4,5	6,0	7,0	9,0

11.3.2 Phương pháp phơi, sấy

Làm khô tự nhiên bằng phơi nắng cần có bề mặt trải hạt phù hợp như sân phơi phù hợp, bạt, lưới và các dụng cụ khác. Phương pháp đảm bảo chất lượng hạt, có thể làm khô một lượng lớn cùng một điểm không cần thiết bị, năng lượng. Dụng cụ phơi và ánh nắng mặt trời đầy đủ, và có thể gây tác hại đối với hạt giống làm giảm tỷ lệ nảy mầm.

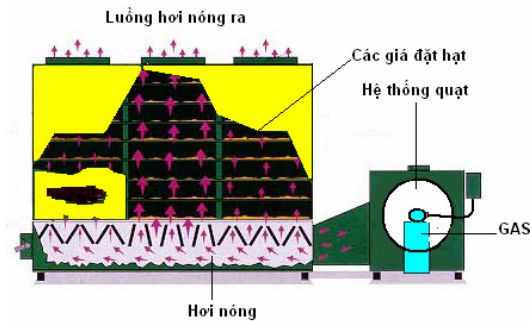
- + Nền phơi phù hợp là nền gạch hoặc xi măng
- + Có nhà trống để chứa hạt giống tạm thời khi trời mưa
- + Độ dày phơi không để gây hư hại hạt
- + Kỹ thuật đảo để lô hạt khô đều
- + Không để lẫn tạp trong quá trình phơi



Hình 11.4: Phơi hạt giống lúa (nguồn S.S. Virmani ; Z.X. Sun ; T.M. Mou, Jauhar Ali, C.X. Mao, IRRI, 2003)

Làm khô nhân tạo bằng máy sấy hoặc các thiết bị làm khô. Làm khô nhân tạo trong điều kiện thời tiết không phù hợp, chủ động đối với sản xuất, có thể điều chỉnh nhiệt độ theo ý muốn. Làm khô bằng luồng hơi nóng thổi qua các lớp hạt đến khi hạt khô đạt độ ẩm bảo quản, phương pháp này phù hợp với những loại hạt giống lượng nhỏ. Máy làm khô nhân tạo có nhiều dạng như dạng thùng quay, lô sấy đứng, lô sấy thấp. Tạo hơi nóng bằng GAS , điện hoặc than. Nhiệt độ phơi sấy rất quan trọng liên quan đến sức sống hạt theo Thomson,1979 nhiệt độ sấy tối đa không nên vượt quá 45°C nhưng tùy theo loài ví dụ

- + Ngô từ 40 – 45°C
- + Đậu từ 30 – 55°C
- + Củ cải đường từ 45°C
- + Họ thập tự từ 27- 40°C



Hình 11.5: Hệ thống sấy hạt giống bằng khí gas

11.4 Làm sạch

Làm sạch tăng chất lượng lô hạt giống bằng cải thiện độ sạch và tỷ lệ nảy mầm có nghĩa là loại bỏ khỏi lô hạt

- + Tạp chất
- + Hạt khác dạng
- + Hạt nhăn nheo
- + Hạt chưa chín
- + Hạt nhỏ
- + Hạt bị sâu bệnh hại
- + Hạt không nguyên vẹn
- + Hạt cỏ

Làm sạch lô hạt giống là loại bỏ toàn bộ hạt khác dạng và tạp chất dựa trên các đặc điểm của hạt như

- + Chiều dài, rộng, độ dày hạt
- + Dạng hạt
- + Độ chắc của hạt (khối lượng hạt)
- + Cấu trúc bề mặt hạt
- + Khác nhau về màu sắc
- + Dung dịch hạt và

+ Tính dẫn điện

Phương pháp làm sạch thực hiện bằng thủ công như quạt, sàng, xảy...và bằng các máy chuyên dụng cho chế biến hạt giống



Hình 11.6: Làm sạch thủ công (Nguồn S.S. Virmani ; Z.X. Sun ;T.M. Mou,Jauhar Ali,C.X. Mao, IRRI, 2003)

11.5 Phân loại hạt giống

Mục đích phân loại hạt để đảm bảo cho lô hạt giống có kích thước hạt đồng đều, là một tiêu chuẩn chất lượng hạt giống nó liên quan đến phát triển của hạt trong quá trình sản xuất. Phân loại hạt sẽ loại bỏ những hạt quá lớn, quá nhỏ hay dị dạng ra khỏi lô hạt giống. Thường phân loại được thực hiện bằng máy. Máy phân chia hạt theo chiều rộng và độ dày thường chế tạo có sàng bằng sắt đục lỗ tròn hoặc hình thuôn, lỗ khoan tròn phân loại theo độ dày hạt ví dụ lỗ khoan 2,2 mm những hạt có bề rộng 2,5 mm sẽ không lọt được qua mắt sàng. Phân hạt theo độ dày sàng đục lỗ thuôn hoặc rãnh. Khi hạt lăn tròn trên sàng những hạt có bề dày mỏng nhất sẽ lọt qua mắt sàng

11.6 Xử lý hạt giống

Sau khi làm sạch hạt được xử lý sâu bệnh như nấm, vi khuẩn và virus, đây là bước quan trọng bảo vệ hạt không bị hư hỏng trong quá trình bảo quản, giảm truyền bệnh ra sản xuất. Phương pháp xử lý bằng hóa học như các thuốc trừ nấm, bệnh dạng xông hơi, dung dịch hay dạng sữa. Sau khi xử lý nấm bệnh phải nhuộm màu cảnh báo cho người sử dụng

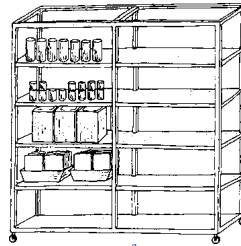
11.7 Đóng bao

11.7.1 Tác dụng của đóng bao

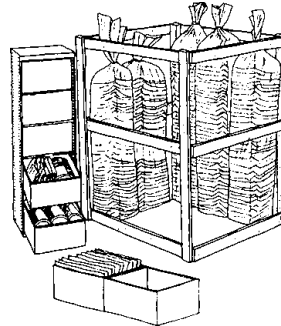
Hạt đóng bao gói giúp cho giữ được các phẩm cấp chất lượng hạt giống sau khi kiểm nghiệm, bảo quản, vận chuyển và tiêu thụ thuận lợi, phù hợp với nhu cầu của người mua. Đóng bao ngăn cản hút ẩm của hạt từ nước trong môi trường, ngăn cản sâu bệnh nhiễm vào hạt giống. Đóng bao cần được tiến hành ngay sau công đoạn cuối cùng của chế biến như sau khi phơi sấy, làm sạch và phân loại và xử lý hạt giống, sau khi đóng bao phải dán nhãn mác theo quy định, đóng bao tiến hành trong môi trường sạch và khô

11.7.2 Dụng cụ đóng bao

Dụng cụ đóng bao gói rất đa dạng tùy thuộc vào loài cây trồng, loại hạt, cấp hạt, thời gian bảo quản trước kinh doanh có thể đóng bao chứa trong các dụng cụ là thùng chứa, can, chai, bao kim loại như nhôm, bao ni lông. Kỹ thuật đóng bao phụ thuộc vào dụng cụ và phương tiện. Sau khi đóng bao đưa bao gói lên các giá để tận dụng không gian, có biển nhãn ghi rõ tránh nhầm lẫn và thuận tiện cho quản lý và kinh doanh



Hình 11.7: Giá để với loại bao nhỏ



Hình 11.8: Giá để với loại bao lớn hoặc túi bảo quản lạnh

Bước 1: Chuẩn bị đóng gói

- 1) Chuẩn bị phòng thực hiện là phòng sạch và khô, các dụng cụ phương tiện làm sạch và chuẩn bị đầy đủ để thời gian đóng gói nhanh nhất có thể. Đóng gói nhanh để tránh hút ẩm, sâu ệnh và giảm chi phí lao động
- 2) Thùng chứa hoặc khu vực chứa hạt đóng bao phải ghi nhãn rõ ràng, chuẩn bị bao tiêu chuẩn, trên bao đã ghi đầy đủ thông tin theo yêu cầu của luật hạt giống như giống, loài cây trồng cấp hạt giống khối lượng, phẩm cấp, thời gian sản xuất, thời gian sử dụng, đặc điểm nhận biết

Bước 2: Đóng gói

- 1) Cân hoặc đếm hạt giống chính xác
- 2) Đưa hạt giống và nhãn vào bên trong bao túi
- 3) Dán kín
- 4) Gắn nhãn

Bước 3 : Ghi các thông số bổ sung nếu có

Trong trường hợp bao hoặc dụng cụ chứa có ô trống cần ghi đầy đủ sau khi đóng bao. Ví dụ có thể bao chứa in sẵn phẩm cấp hạt giống vì bao in có thể dùng cho một số phẩm cấp cùng loại giống. Ngày đóng bao, người đóng bao...

Bước 4: Kiểm tra chất lượng bao

Sau khi dán và đã ghi bổ sung kiểm tra lần cuối toàn bộ bên ngoài bao, gói đảm bảo không có sai sót, thủng, hỏng

Vào sổ để quản lý



Hình 11.9: Mẫu bao bì hạt giống

11.8 Bảo quản hạt giống

Sau khi đóng bao thực hiện bảo quản và kinh doanh hạt giống. Những cây trồng hạt giống có thể tiêu thụ trong thời gian ngắn bảo quản hạt giống trong những kho chuyên dụng. Những hạt giống tiêu thụ trong thời gian dài vài tháng, vài năm cần được bảo quản trong khi mát hoặc kho lạnh và độ ẩm thấp.

Những yếu tố ảnh hưởng đến tuổi thọ hạt giống trong quá trình bảo quản

- + Các yếu tố môi trường trong quá trình chín, nếu môi trường bất thuận ảnh hưởng đến chất lượng hạt giống, ví dụ điều kiện nóng và khô sẽ rút ngắn thời gian chín
- + Hạt chưa chín sẽ mất sức sống nhanh trong quá trình bảo quản hơn hạt chín
- + Hạt thu hoạch trong thời gian nhiệt độ và ẩm độ cao dẫn đến nhiễm nấm bệnh gây hại hạt trong quá trình bảo quản
- + Hạt bị tổn thương vỏ hạt sẽ giảm sức sống nhanh trong bảo quản
- + Cấu trúc vỏ hạt cũng ảnh hưởng đến khả năng bảo quản, hạt vỏ cứng đàn hồi tốt hơn vỏ mỏng
- + Hạt chứa dầu dẫn đến hạt đá nhanh hơn hạt chứa tinh bột (Bonner và cộng sự 1994, Stubsgaard, 1992)
- + Hạt không xử lý trước khi bảo quản dễ bị côn trùng và nấm gây hại
- + Các điều kiện bảo quản như điều chỉnh độ ẩm, nhiệt độ không khí bảo quản là những yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến tuổi thọ hạt giống

Nguyên lý bảo quản dựa trên những yếu tố chính làm mất sức sống hạt giống trong quá trình bảo quản là 1) độ ẩm hạt, 2) độ ẩm môi trường bảo quản, 3) không khí (oxy). Các yếu tố trên ảnh hưởng đến hô hấp của hạt trong bảo quản, nếu cao hơn trong hạt đều dẫn đến hư hỏng hạt giống

CHƯƠNG 12

KIỂM NGHIỆM CHẤT LƯỢNG VÀ CẤP CHỨNG CHỈ HẠT GIỐNG

12.1 Mục đích và ý nghĩa kiểm tra chất lượng hạt giống

Mục đích : Xác nhận chất lượng của giống cây trồng đúng với phẩm cấp của nó theo các cấp giống quy định như giống siêu nguyên chủng, nguyên chủng và xác nhận

Ý nghĩa :

- + Tránh thất thu mùa màng do chất lượng giống xấu
- + Thực hiện tốt công tác kiểm tra có kế hoạch sử dụng giống kịp thời, tránh tổn thất do độ thuần của giống gây nên
- + Xác định tính xác thực của giống trên cơ sở đó áp dụng các biện pháp kỹ thuật thích hợp
- + Xác định mức độ lẫn tạp để có biện pháp xử lý
- + Xây dựng các tiêu chuẩn và phương pháp kiểm tra chất lượng giống
- + Tăng cường trách nhiệm của các cơ quan và tư nhân trong sản xuất giống
- + Tạo mối quan hệ tốt giữa người sản xuất và tiêu dùng

Kiểm nghiệm cấp chứng chỉ hạt giống gồm ba bước kiểm nghiệm chính là kiểm nghiệm ngoài đồng, kiểm định trong phòng và hậu kiểm với lúa lai.

12.2 Kiểm định đồng ruộng

12.2.1 Nội dung kiểm định ngoài đồng

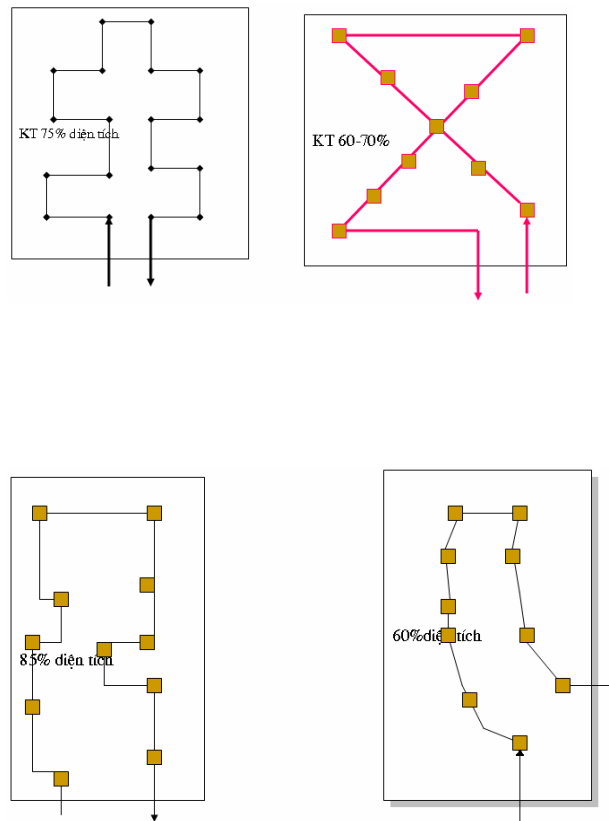
Kiểm tra ngoài đồng để đánh giá độ thuần của giống căn cứ trên các đặc điểm và tính trạng ở ngoài đồng ruộng

- Kiểm tra nguồn giống gốc đưa vào sản xuất
- Kiểm tra cách ly không gian hay thời gian theo quy định đối với mỗi loài cây trồng
- Kiểm tra tính xác thực của giống dựa trên tỷ lệ cây khác dạng (off-type)
- Xác định độ sạch đúng giống trên cơ sở cỏ dại đặc biệt là cỏ hại theo hạt giống ảnh hưởng phẩm cấp hạt
- Kiểm tra quy trình kỹ thuật gieo trồng như: độ, số danh cây, số hạt gieo trên khóm phân bón....
- Kiểm tra đánh giá được những đặc điểm tính trạng mà trong phòng không thể đánh giá được như sức sinh trưởng, mức độ nhiễm sâu bệnh đồng ruộng.

12.2.2 Phương pháp lấy mẫu kiểm tra ngoài đồng:

- Lấy mẫu: lấy mẫu dựa trên diện tích và hình dạng cụ thể của ruộng sản xuất giống.
- Lượng mẫu quy định cụ thể với từng cấp giống và loài cây trồng
- Thời gian lấy mẫu kiểm tra: thời điểm gieo trồng, để nhánh phân cành ra hoa, trổ và trước khi thu hoạch

Căn cứ kết quả kiểm tra và tiêu chuẩn của mỗi cấp hạt giống trên đồng ruộng là cơ sở cấp chứng chỉ hạt giống.(một số tiêu chuẩn phần phụ lục)



Hình 12.1: Sơ đồ lấy mẫu kiểm nghiệm đồng ruộng

12.3 Kiểm nghiệm trong phòng

12.3.1 Phương pháp chia mẫu kiểm nghiệm trong phòng

12.3.1.1 Một số khái niệm:

Lô hạt giống(seed lot): là toàn bộ lô hạt giống của một giống cây trồng nào đó mà người ta đã biết nguồn gốc và những thông tin cần thiết của quá trình sản xuất, kiểm nghiệm đồng ruộng và bảo quản.

Mẫu gốc(primary samples): bao gồm nhiều mẫu nhỏ lấy ra từ vị trí khác nhau của lô hạt giống theo phương pháp lấy mẫu quy định.

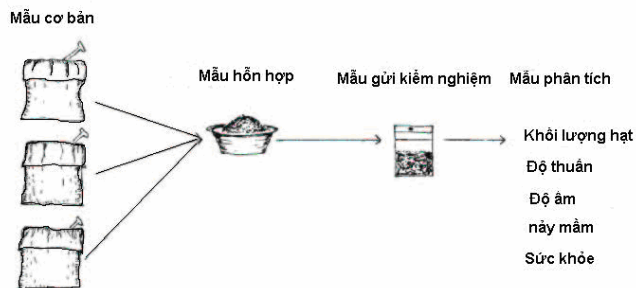
Mẫu hỗn hợp(composite samples): tất cả các mẫu lấy từ các phần khác nhau của lô hạt giống, được trộn đều với nhau tạo thành mẫu hỗn hợp

Mẫu đại diện(submitted samples): là một phần của mẫu hỗn hợp để gửi phòng kiểm nghiệm, lượng mẫu đại diện = 2 x khối lượng tối thiểu của mẫu phân tích (ISTA,1998)

Mẫu phân tích(working samples): là mẫu được chia từ mẫu đại diện thành các mẫu nhỏ hơn để phân tích các chỉ tiêu khác nhau như độ thuần, nảy mầm, khối lượng, độ ẩm, độ sạch và sức khỏe hạt giống. Lượng mẫu phân tích của mỗi loài được quy

định cụ thể của mỗi phòng kiểm nghiệm trên cơ sở kích thước và khối lượng hạt biến động từ 25 gram đến vài nghìn gram

Mỗi loại mẫu trên có phương pháp, dụng cụ lấy mẫu phù hợp để đảm bảo mẫu được lấy ra hải đại diện cho lô hạt giống kiểm nghiệm



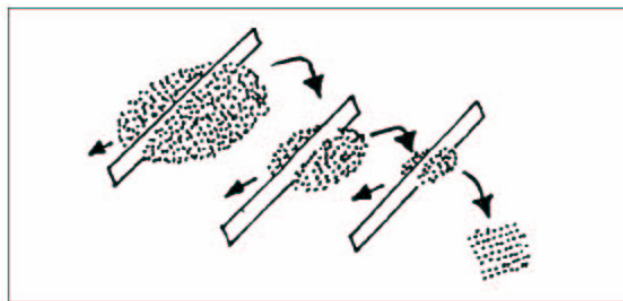
Hình 12.2: Các loại mẫu(nguồn Lars Schmidt Danida,2000)

12.3.1.2 Phương pháp chia mẫu

Mẫu đại diện (submitted samples) sử dụng cho nhiều chỉ tiêu kiểm định, mỗi mẫu sử dụng cho một chỉ tiêu gọi là mẫu phân tích (working samples), chia mẫu đại diện thành các mẫu phân tích có thể thực hiện bằng một số phương pháp.

a) Phương pháp chia mẫu cơ giới

Phương pháp này phù hợp với tất cả các loại hạt, trừ loại hạt nhẹ. Cán bộ kỹ thuật có chuyên môn chia mẫu ở các phòng kiểm định thực hiện. Mẫu đại diện được trải lên một mặt phẳng dung thước dài đều trên mặt phẳng, sau đó dùng thước chia thành 2 phần lấy lại 01 phần để tiếp tục chia, phần còn lại bỏ đi. Tiếp tục thực hiện như vậy ít nhất là 3 lần sẽ nhận được mẫu phân tích



Hình 12.3: Lấy mẫu bằng phương pháp chia đôi cơ giới (nguồn Lars Schmidt Danida,2000)

b) Phương pháp cốc ngẫu nhiên

Đây là phương pháp đặc biệt phù hợp với loại hạt yêu cầu mẫu phân tích trên 10 g và không phải loại trấu nhẹ nhỏ nảy hoặc tròn như hạt cải. Nguyên lý là 6 - 8 cốc nhỏ được đặt ngẫu nhiên trong một cái khay sau đó mẫu thô được rót ngẫu nhiên đồng đều lên trên khay, hạt rơi vào trong cốc được lấy lại tiếp tục thực hiện, hạt rơi xuống khay bỏ đi. Tiếp tục thực hiện như vậy ít nhất 3 lần nhận được mẫu phân tích.

c) Phương pháp chia đôi thay đổi

Dụng cụ chứa của khay chứa vừa khít trong các ô hình khối mở đầu và mở đáy xen nhau. Sau khi hỗn hợp mẫu đại diện, hạt được rót lên khay ngẫu nhiên như phương pháp cốc ngẫu nhiên. Như vậy một nửa mẫu còn lại trên khay và 1 nửa mẫu rơi xuống dưới. Lấy một nửa tiếp tục làm như vậy đến khi thu được lượng hạt đủ theo yêu cầu của mẫu kiểm nghiệm.

d) Phương pháp thìa

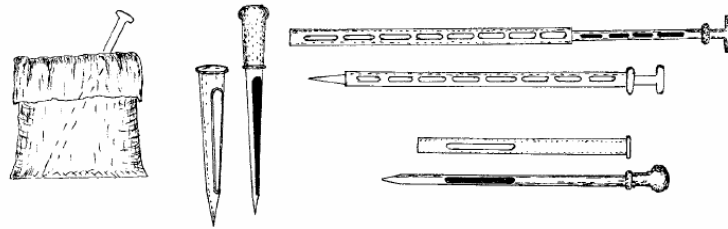
Nó là phương pháp sử dụng lấy mẫu với các loại hạt đơn, nhỏ. Hạt của mẫu đại diện được rót vào khay như phương pháp cốc sau đó rung nhẹ. Một tay cầm thìa vũa và tay khác cầm thìa thẳng lấy hạt trên khay ở các điểm khác nhau (không nhỏ hơn 5 điểm) đến khi đủ lượng yêu cầu của mẫu phân tích.

e) Phương pháp chia đôi bằng tay

Phương pháp có giới hạn nhất định với các loại hạt nhẹ, hạt được rót trộn đều trong một khuôn hình thìa nhẵn, khuôn được chia làm 2 và mỗi nửa lại chia đôi tiếp, mỗi nửa lại chia đôi, cuối cùng được 8 phần bằng nhau. Tám phần bằng nhau xếp thành hai hàng, các phần xen kẽ nhau được lấy trộn lẫn và giữ lại. Quá trình tiếp tục đến khi nhận được lượng mẫu mẫu kiểm định

12.3.1.3 Nguyên tắc lấy mẫu:

- Lấy ở nhiều phần nhỏ của lô hạt giống ở các vị trí khác nhau bằng dụng cụ lấy mẫu.



Hình 12.4: Dụng cụ và phương pháp lấy mẫu từ lô hạt giống giới (nguồn Lars Schmidt Danida, 2000)

- Mẫu hỗn hợp chính là lô hạt giống thu nhỏ từ mẫu hỗn hợp chia nhỏ thành mẫu đại diện
- Lấy mẫu phải đại diện cho lô hạt giống

Cỡ mẫu

12.1 Lượng mẫu khi giống chứa trong bao

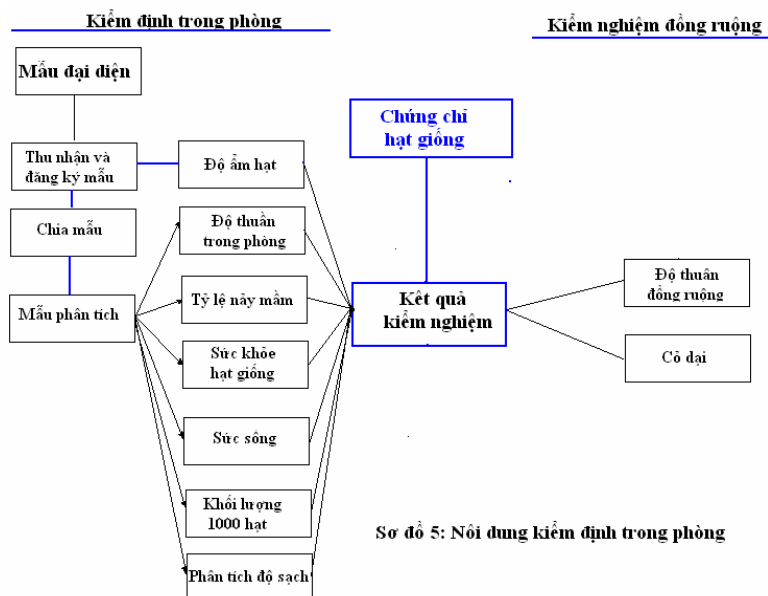
Số bao	Số mẫu/số bao	Tổng mẫu
< 5 bao	1/1	≥ 5 mẫu
6 - 30	1/3	≥ 5 mẫu
>31	1/5	≥ 10 mẫu

12.2 Lượng mẫu khi giống chứa đồ thành đồng

Khối lượng	Số mẫu gốc	Tổng số mẫu
50 kg	3	3
500	5	5
501 - 3000	1/300 kg	≥ 10 mẫu

12.3.2 Nội dung kiểm nghiệm

Kiểm tra trong phòng chủ yếu tập trung vào độ sạch, độ thuần của hạt giống, sức khỏe hạt giống, độ ẩm, độ nảy mầm và khối lượng 1000 hạt



Hình 12.5 : Nội dung kiểm nghiệm trong phòng

12.3.3 Phương pháp kiểm nghiệm một số chỉ tiêu chính

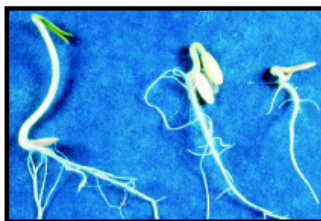
12.3.3.1 Kiểm tra độ nảy mầm

Khái niệm

- Khái niệm về nảy mầm của hạt đã được đề cập tại chương giá trị gieo trồng của hạt giống. Tuy nhiên hai khái niệm về tỷ lệ nảy mầm và sức nảy mầm có thể tham khảo sau đây để bổ xung.
- Độ nảy mầm là khả năng nảy mầm tối đa của giống trong điều kiện gieo trồng thích hợp tính bằng %
- Sức nảy mầm là khả năng hạt mọc mầm đồng đều trong một thời gian nhất định % số hạt nảy mầm/tổng số hạt

Quy định đánh giá các cây mầm

- Cây mầm bình thường: đầy đủ lá mầm, lá đầu và bộ rễ khỏe, rễ = 1/2 mầm, tiếp tục phát triển bình thường



Hình 12.6 Chất lượng cây mầm từ trái sang phải là giảm dần

Cây mầm không bình thường: không đủ khả năng để tiếp tục phát triển, thiếu khuyết nghiêm trọng, rễ không phát triển..

- Hạt ngủ
- Hạt chết: thối nhũn, biến màu

Phương pháp xác định

Phương pháp xác định nảy mầm đã được trình bày chi tiết tại chương sức sống hạt giống và giá trị gieo trồng của hạt giống. Tùy loài và điều kiện cụ thể để lựa chọn sử dụng phương pháp đảm bảo độ tin cậy cao.

12.3.3.2 Kiểm tra độ ẩm (moisture testing)

Độ ẩm là một yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến chất lượng và khả năng bảo quản hạt, bởi vậy đánh giá độ ẩm là rất quan trọng. Độ ẩm hạt có thể biểu hiện trên cơ sở tính toán khối lượng tươi và khối lượng khô của hạt sau khi sấy

Kiểm nghiệm độ ẩm hạt bằng sấy khô hay đo bằng máy đo độ ẩm độ ẩm tiêu chuẩn tùy mỗi loài cây trồng

Khái niệm : Độ ẩm hạt giống là khối lượng của mẫu hạt bị mất đi khi sấy khô, được biểu thị bằng % so với khối lượng mẫu ban đầu

Phương pháp:

Xác định độ ẩm bằng phương pháp sấy: cân khối lượng ban đầu rồi đưa vào sấy đến độ ẩm yêu cầu sau đó được tính bằng công thức

$$M = \frac{M2-M3}{M2-M1} \times 100$$

M là độ ẩm hạt

M1 Khối lượng của dụng cụ chứa

M2 : Khối lượng dụng cụ chứa có hạt ban đầu (chưa sấy)

M3: Khối lượng dụng cụ chứa có hạt sau khi sấy

Xác định độ ẩm bằng máy đo độ ẩm : có nhiều loại máy đo độ ẩm có trên thị trường. Máy đo độ ẩm xác định nhanh độ ẩm hạt, nhưng không thật chính xác nếu các thao tác kỹ thuật không chuẩn xác. 100 gam với loài hạt củ trên hoặc trong đất và 50 g với các loài khác cho vào túi polythene để đánh giá. Máy đo độ ẩm nhanh gồm các bước : nghiền hạt, cho vào máy, đo kết quả và in kết quả

12.3.3.3 Kiểm tra độ thuần di truyền

Đánh giá độ thuần thông qua tỷ lệ hạt khác dạng

Độ thuần của giống (độ đúng giống) là % số cây hoặc số hạt của cây trồng khác dạng (không đúng giống) trong tổng số mẫu.

Kiểm tra trong phòng

+ Kiểm tra hạt khô : lấy mẫu 400 hạt dùng kính lúp phóng đại kiểm tra

+ Kiểm tra cây mầm

+ Kiểm nghiệm hoá học Thử phản ứng nhuộm màu

Kiểm tra ngoài đồng

+ Căn cứ vào cây, thời gian sinh trưởng,....

+ Mức độ cỏ dại

+ Cách ly..

Đánh giá độ thuần thông qua kích thước hạt

Theo J.F. Rickman, M. Bell, David Shires, IRRI, 2003 kích thước hạt và dạng hạt là những đặc điểm rất ổn định của giống có thể sử dụng để xác định độ thuần. Trên cơ sở số liệu đo chiều dài, chiều rộng, tỷ lệ dài/rộng so với mẫu chuẩn và độ lệch chuẩn của chúng định độ thuần hay không thuần của lô hạt giống. Phương pháp lấy ngẫu nhiên 20 hạt từ mẫu đại diện đo kích thước bằng kính đo hạt hoặc thước pemere và tính trung bình, phân tích độ lệch chuẩn

12.3.3.4 Kiểm nghiệm sức sống

Sức sống của hạt là khả năng nẩy chồi của hạt giống bằng phần trăm hạt có sức sống trên tổng số hạt kiểm tra.

Phương pháp kiểm tra sức sống hạt giống

- + Kiểm tra bằng xử lý lạnh
- + Thúc đẩy già hoá nhanh
- + Kiểm tra độ dẫn điện
- + Kiểm nghiệm hoá sinh thử TZ
- + Indigo -carmin hoặc axit fucxin như trên
- + Phương pháp Hiltner
- + Kiểm tra sức khỏe cây con
- + Tỷ lệ hô hấp

12.3.3.5 Kiểm nghiệm sức khỏe hạt giống

Mức độ sạch bệnh của lô hạt giống phản ánh sức khỏe của lô hạt giống, chính vì thế kiểm tra sức khỏe hạt giống chủ yếu trên cơ sở bệnh hạt giống. Các phương pháp kiểm tra bệnh hạt giống đã được trình bày chi tiết tại chương 7 gồm kiểm tra bệnh nấm, vi khuẩn và bệnh virus

12.3.3.6 Kiểm nghiệm độ sạch (Physical purity analysis)

Kiểm tra độ sạch được xác định trong phòng coi như xác định các thành phần khác nhau trong lô hạt giống gồm hạt đúng giống, hạt loài khác, hạt cỏ dại, tạp chất và vật chất chết

Mục đích xác định độ thuần của lô hạt với thành phần hạt đúng giống

Phương pháp: Xác định độ sạch trên mẫu kiểm nghiệm được lấy ra từ khối lượng mẫu đại diện. Xác định được làm trên một mẫu phân tích hoặc trên 2 mẫu phụ có khối lượng ít nhất bằng 1/2 mẫu phân tích. Hai mẫu được kiểm nghiệm độc lập. Cân mẫu phân tích lấy đến 4 số thập phân nếu mẫu kiểm nghiệm nhỏ hơn 1g, lấy 3 số thập phân nếu mẫu có khối lượng 1 - 9,999 gam chi tiết như bảng sau:

12.3 Số thập phân tương ứng với lượng mẫu

Khối lượng mẫu(gam)	số thập phân yêu cầu	Ví dụ
<1	4	0,7145
1 - 9,999	3	1,234
10 - 99,99	2	2,35
100 - 999,9	1	155,9
>1000	0	7615

Xác định thành phần

Hạt đúng giống
Hạt khác
Hạt cỏ
Vật chất chết

$$\text{Giá trị gieo trồng của giống} = \frac{\text{Độ sạch} \times \text{độ nảy mầm}}{100}$$

Hạt sạch : hạt nguyên vẹn, đầy hạt, màu sắc sáng...

Hạt khác: giống khác, cỏ dại

tạp chất: sỏi đất, rơm rạ, lá khô...

$$\text{Tính toán Phần trăm hạt sạch} = \frac{X}{X + Y + Z} \times 100$$

X khối lượng hạt sạch

Y khối lượng tạp chất

Z khối lượng hạt khác

Tổng khối lượng mẫu

12.3.3.7 Xác định khối lượng 1000 hạt

Phương pháp xác định:

Hạt giống lấy từ mẫu hạt sạch, đếm số hạt ngẫu nhiên bằng tay hay bàn đếm xong cân tính toán bằng gam. Để chính xác phải tính hệ số biến động giữa các lần cân (ba lần)

$$\text{Hệ số biến động CV(\%)} = \frac{S}{X} \times 100 \text{ trong đó } X \text{ giá trị trung bình của 100 hạt}$$

$$S \text{ độ lệch chuẩn } S = \frac{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}{n(n-1)}$$

Trong đó n số lần nhắc lại, X là khối lượng của một lần nhắc lại

Nếu hệ số biến động không vượt quá 6 đối với hạt có vỏ trấu, không quá 4 đến với các loại vỏ khác thì các kết quả được xác định và tính toán

Ví dụ: Lấy 8 mẫu mỗi mẫu 100 hạt sạch, cân và tính toán như sau

Lần lặp lại.	1	2	3	4	5	6	7	8	Tổng	TB
KL (g)	3.81	3.69	3.75	3.79	3.82	3.72	3.71	3.79	30.08	3.76

$$\begin{aligned} \text{Độ lệch chuẩn} &= \sqrt{\frac{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}{n(n-1)}} \\ &= \sqrt{\frac{8(113.118) - 904.808}{8 \times 7}} = 0.0496 \end{aligned}$$

$$\text{Hệ số biến động} = \frac{0.0496}{3.76} \times 100 = 1.32$$

Hệ số biến động nhỏ hơn 4 mức tối đa theo quy định của ISTA do vậy có thể lấy giá trị trung bình của 100 hạt là 3,76 x10 = 37,6g là khối lượng 1000 hạt và số hạt trên 1

$$\text{kg hạt sạch là } \frac{1000 \times 1000}{36,7} = 26.600$$

12.4 Hậu kiểm (Method for conducting post control plots)

a) Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định những nguyên tắc và phương pháp đánh giá đúng giống, độ thuần và một số chỉ tiêu chất lượng khác của một lô giống, thông qua thí nghiệm đồng ruộng. Tiêu chuẩn này được áp dụng đối với các lô giống cây lương thực, cây thực phẩm, cây công nghiệp ngắn ngày đang sản xuất, kinh doanh trong phạm vi cả nước, khi có yêu cầu của cơ quan quản lý, cá nhân và tổ chức kinh doanh hoặc người sử dụng giống cây trồng.

b) Mục đích hậu kiểm

Hậu kiểm giống cây trồng nhằm xác định:

- Tính đúng giống và độ thuần của lô giống làm cơ sở để sử dụng lô giống hoặc giải quyết những nghi ngờ, tranh chấp liên quan đến chất lượng của lô giống.
- Trong trường hợp giống lai, hậu kiểm nhằm đánh giá thêm một số chỉ tiêu khác như độ bất dục đực của dòng mẹ, năng suất F1 của cùng một tổ hợp lai nhưng bố mẹ được duy trì và nhân ở những điều kiện khác nhau.

c) Thuật ngữ

Trong tiêu chuẩn này, những thuật ngữ dưới đây được biểu hiện như sau:

- + Hậu kiểm giống cây trồng - Post Control Plots - gọi tắt là hậu kiểm: là đánh giá chất lượng (chủ yếu là tính đúng giống và độ thuần) của một lô giống thông qua kiểm tra cây được gieo trồng từ mẫu hạt của lô giống đó trên ô thí nghiệm ngoài đồng. Hậu kiểm được thực hiện sau khi đã kiểm định ruộng giống và kiểm nghiệm trong phòng.
- + Tính đúng giống (tính xác thực của giống) - Varietal Trueness: một lô giống được coi là đúng giống nếu cây được gieo trồng từ mẫu hạt của một lô giống đó, trong quá trình sinh trưởng - phát triển luôn biểu hiện các tính trạng đặc trưng phù hợp với mẫu chuẩn hoặc bảng mô tả giống.
- + Độ thuần giống - Varietal Purity: là mức độ đồng nhất về các tính trạng đặc trưng của các cây được gieo trồng từ mẫu hạt giống của cùng một lô giống. Độ thuần được tính bằng tỷ lệ phần trăm số cây của chính giống đó so với tổng số cây kiểm tra.
- + Cây khác dạng - Off Type Plant: là những cây có một hoặc nhiều tính trạng khác biệt với tính trạng đặc trưng của giống được kiểm tra.
- + Bảng mô tả giống - Table of Variety Characteristics: là bảng liệt kê các tính trạng đặc trưng của một giống nhằm mô tả giống mà dựa vào đó có thể phân biệt giống này với các giống khác.
- + Mẫu chuẩn - Standard Sample: là mẫu hạt giống hoặc cây mọc từ mẫu hạt giống đó, có các tính trạng đặc trưng phù hợp với bảng mô tả giống, do chính tác giả của giống đó cung cấp hoặc được nhân từ giống tác giả và được các cơ quan có thẩm quyền công nhận.

d) Nguyên tắc hậu kiểm

Để kiểm tra tính đúng giống, thí nghiệm hậu kiểm phải được thiết kế có thể so sánh các mẫu đại diện của các lô giống tham gia hậu kiểm với mẫu chuẩn của giống đó,

thí nghiệm hậu kiểm phải được bố trí và thực hiện nhằm bảo đảm các thông tin thu được hoàn toàn chính xác.

e) Yêu cầu

Mỗi thí nghiệm hậu kiểm chỉ kiểm tra các mẫu giống của cùng một giống. Các giống khác nhau sẽ được kiểm tra ở các thí nghiệm hậu kiểm khác nhau. Thí nghiệm hậu kiểm có thể được thực hiện trước đồng thời hoặc sau khi đã sử dụng lô hạt giống. Thời gian hậu kiểm tùy thuộc mục đích của thí nghiệm hoặc yêu cầu các tổ chức, cá nhân có quyền lợi hoặc trách nhiệm liên quan đến lô giống. Ruộng hậu kiểm phải đồng đều, sạch cỏ, tuyệt đối không có cây cùng loài sót lại từ vụ trước. Trong suốt quá trình hậu kiểm, không được khử lẫn và sử dụng bất kỳ một loại thuốc diệt cỏ hoặc hormon sinh trưởng nào. Đối chứng trong thí nghiệm hậu kiểm là mẫu chuẩn của chính giống đó. Giống tham gia hậu kiểm ở cấp nào thì mẫu chuẩn ở cấp đó. Có thể thu thập, bảo quản mẫu chuẩn với khối lượng lớn để sử dụng trong nhiều vụ. Nếu lượng mẫu chuẩn cũ gần hết phải có lượng mẫu chuẩn mới chuẩn bị thay thế. Chất lượng của mẫu chuẩn mới phải được kiểm tra qua thí nghiệm so sánh với mẫu chuẩn cũ trên đồng ruộng và bảng mô tả giống. Đối với giống nhập nội từ nước ngoài, cơ quan thực hiện hậu kiểm có thể tham khảo ý kiến của các cơ quan quản lý chất lượng giống cây trồng tại các nước xuất khẩu giống đó để tìm nguồn mẫu chuẩn thích hợp hoặc bảng mô tả các tính trạng đặc trưng của giống.

f) Phương pháp tiến hành

Bố trí thí nghiệm hậu kiểm:

Thí nghiệm theo phương pháp ngẫu nhiên, không nhắc lại. Ô có dạng hình chữ nhật, được gieo trồng một mẫu hạt giống đại diện cho lô giống tham gia hậu kiểm. Các ô cách nhau một lối đi chăm sóc phù hợp với từng loại cây trồng. Diện tích của mỗi ô bảo đảm gieo trồng đủ số cây cần kiểm tra, tùy thuộc vào từng loại cây trồng và tiêu chuẩn quy định về độ thuần của loại cây trồng đó. Số cây trong một ô được tính theo công thức:

$$N = 4 \times \frac{100}{100 - S (\%)}$$

- Trong đó S (%) là tiêu chuẩn quy định về độ thuần của đồng ruộng.
- N là số cây cần kiểm tra thích hợp nhất có trong 1 ô.

Nếu điều kiện thực tế không cho phép, trong một số trường hợp số cây cần kiểm tra của một mẫu giống ít nhất cũng phải bằng $n = 1/4 N$.

Các biện pháp kỹ thuật:

- Chỉ gieo trồng mỗi hốc 1 cây hoặc 1 dảnh
- Khi chuyển cây từ vườn ươm hoặc ruộng mạ ra ruộng thí nghiệm, phải nhổ ngẫu nhiên, liền khoảnh, không được chọn cây.
- Các biện pháp kỹ thuật khác thực hiện theo các quy phạm khảo nghiệm giống đã được ban hành.

Kiểm tra và đánh giá kết quả:

Thời kỳ và số lần kiểm tra:

Việc kiểm tra được tiến hành thường xuyên trong suốt thời gian sinh trưởng và phát triển của cây, tập trung vào các thời kỳ:

- Cây con.
- Trước khi ra hoa
- Ra hoa thụ phấn.
- Đang làm hạt.

Tuỳ từng loại cây, số lần kiểm tra trong mỗi thời kỳ có thể là một hay nhiều lần. Đặc biệt chú ý những tính trạng đặc trưng chỉ xuất hiện rõ trong một thời gian ngắn.

Đánh giá tính đúng giống:

So sánh cây của các mẫu giống tham gia hậu kiểm với cây mẫu chuẩn (đối chứng) và bảng mô tả tính trạng đặc trưng của giống. Nếu đa số cây của mẫu giống có các tính trạng đặc trưng phù hợp với mẫu chuẩn hoặc bảng mô tả giống thì mẫu giống đó đảm bảo tính đúng giống và ngược lại.

Đánh giá độ thuần của giống:

Quan sát, phát hiện, đếm và ghi chép số cây khác dạng phải được đánh dấu hoặc có thẻ nhỏ bỏ nếu đã đọc khẳng định chính xác. Thống kê qua các lần kiểm tra và tính kết quả theo công thức sau:

$$P (\%) = \frac{\text{Tổng số cây kiểm tra} - \text{Số cây khác dạng}}{\text{Tổng số cây kiểm tra}} \times 100$$

P (%) lấy tới hai số lẻ sau đơn vị

So sánh kết quả với tiêu chuẩn và kết luận về độ thuần của lô giống.

Đánh giá một số chỉ tiêu khác:

Đối với các lô giống lúa lai F1 của cùng một tổ hợp lai được sản xuất trong nước, cần so sánh thêm về năng suất thực tế giữa chúng với mẫu chuẩn nhằm đánh giá đầy đủ hơn chất lượng của một lô giống. Vì vậy, thí nghiệm hậu kiểm các lô giống này phải được thực hiện 3 lần nhắc lại. Khi tiến hành hậu kiểm các dòng lúa bất dục đực đang được duy trì trong nước hay nhập nội để sản xuất giống lúa lai F1, cần kiểm tra thêm khả năng bất dục đực của các dòng này. Các cây hữu thụ (toàn bộ hay từng phần) đều được coi là cây khác dạng để tính độ thuần của dòng lúa bất dục đực theo tiêu chuẩn đã được quy định.

Công bố kết quả hậu kiểm

Cơ quan tiến hành hậu kiểm phải có kết luận về kết quả hậu kiểm và thông báo cho các cơ quan quản lý chất lượng, các tổ chức, cá nhân có trách nhiệm và quyền lợi liên quan đến lô giống trong thời gian không quá 30 ngày sau khi kết thúc thí nghiệm hậu kiểm

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. AOSA (Association of Official Seed Analysts),2004.Tetrazolium Testing Handook,No 29, AOSA
2. AVRDC ,2003, Seed Production of O.P. Tomato Lines and Hybrid Seed Production in Tomato
3. Nguyễn Bá,1975, Giải phẫu thực vật , NXB Giáo dục
4. Bashaw,E.C.1980. Apomixis and its application in crop improvement, ASA and CSSA.Pp45-63
5. T.G.Berke ,2000, Multiplying seed of pepper lines, Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC), P.O. Box 42, Shanhua, Taiwan 741 ROC
6. Bassett, M. J. 1986. Breeding Vegetable Crops. Avi Publishing, Westport
7. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn,2005, Tiêu chuẩn ngành (10TCN 322-2003) phương pháp kiểm nghiệm hạt giống cây trồng,nx Nông nghiệp
8. Brian Carnell,November 17, 2000
9. Luyện Hữu Chí và cộng sự, 1997 Giáo trình chọn giống cây trồng, NXB Nông nghiệp
10. Tạ Thị Thu Cúc, Hồ Hữu An, Nghiêm Thị Bích Hà, 2000, Giáo trình cây rau, nxb Nông nghiệp
11. Carlos Alonso-Blanco, Leónie Bentsink, Corrie J. Hanhart, Hetty Blankestijn-de Vries, and Maarten Koornneef, 2003, Analysis of Natural Allelic Variation at Seed Dormancy Loci of Arabidopsis thaliana ,Genetics, Vol. 164, 711-729, June 2003
12. Slavko Borojevic, 1990, Principle and methods of plant breeding, Elsevier Amsterdam, Oxford – New York- Tokyo
13. CIP, 1995 Production and Utilization of true potato seed in Asia, A publication of CIP's crop management
14. CFIA (Canadian Food Inspection Agency), 1997, Canadian Methods and Procedures for Testing Seed, Seed Purity and Germination, Ottawa Laboratory (Carling) - Seeds
15. David Beck,2002 , Seed Biology ,OHIO State University
16. David L. Beck, , 2002, Management of Hybrid Maize Seed Production, CIMMYT,
17. Dale T. Lindgren ,1980, Vegetable Garden Seed, Storage and Germination Requirements University of NebGuide-Lincoln, G80-503-A
18. Đường Hồng Dật,2003, Sổ tay nghề làm vườn,nxb Hà Nội
19. Trương Đích,2000, Kỹ thuật trồng các giống lạc, đậu đỗ, rau quả và cây ăn củ mới, nxb Nông nghiệp.
20. Trương Đích và cộng sự,2005 ,575 giống cây trồng nông nghiệp mới, nxb Nông nghiệp
21. George, R. A. T. 1985. Vegetable Seed Production. Longman Press, Essex.
22. Green D.E, E.L.Pinnell, L.E. Cavanah and L.F. Williams ,1965 Effect of planting date and manurity date on soybean seed quality, Agronomy Journal, 57: 165-168
23. Ene, B.N và E.W.Bean, 1975 Variation in seed quality between Cirtified seed lots of perenial rye grass and their relationship to nitrogen supply and mooisture status during seed development. Fournal of British Grassland Society 30: 195-199

24. Erv Evans, Frank A. Blazich, 1999, Overcoming Seed Dormancy: Trees and Shrubs Department of Horticultural Science, 1/99 HIL-8704
25. Eckert, C. G. 1994. Inbreeding depression and the evolutionary advantage of outbreeding. Pages 215-238, in Tested studies for laboratory teaching, Volume 15 (C. A. Goldman, Editor). Proceedings of the 15th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE), 390 pages
26. Nguyễn Văn Hiến và cộng sự, 2000, Giáo trình chọn giống cây trồng , NXB Giáo dục
27. Hector Valenzuela, Randall T. Hamasaki, and Steve Fukuda, 2005, Field Cucumber Production Guidelines for Hawaii .University of Hawaii Cooperative Extension Service Assistant Vegetable Specialist, Associate County Extension Agent, and County Extension Agent, respectively
28. Vũ Công Hậu, 1999, Cây ăn quả Việt Nam, NXB Nông nghiệp
29. D.W.Hall, 1991 xử lý và bảo quản hạt lương thực ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, NXB Nông nghiệp
30. Hudson T. Hartmann, Dale E. Kester, 1983, Plant Propagation, Principle and Practices, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey 07632, Printed in United State of America.
31. Hochmuth ,G.J, 1988 Cucuber production guide for florida. F1. Coop. Ext. Serv. Circ
32. Hector Valenzuela, Randall T. Hamasaki Steve Fukuda, 1995, Crop production Guidelines
33. Hector Valenzuela, Randall T. Hamasaki, and Steve Fukuda, 2005, Field Cucumber Production Guidelines for Hawaii .University of Hawaii Cooperative Extension Service Assistant Vegetable Specialist, Associate County Extension Agent, and County Extension Agent, respectively
34. P.R. Jennings, W.R. Coffman, and H.E. Kauffman, 1979, Rice Improvement, IRRI
35. IRRI, 1988, Hybrid rice proceeding of the International symposium on hybrid rice
36. IRRI, 2003, Seed Management, International Rice Research Institute
37. IRRI, 1999, Manual for Hybrid Rice Seed Production
38. ISTA, 1995, Understanding seed vigour, International Seed Testing Association, P.O. Box 308, 8303 Zurich, CH- Switzerland.
39. ISST, 2003, Guide for ISST proficiency Examination for seed testing, ISST
40. Iowa State University, ISU Seed Testing Laboratory 109 Seed Science Center Iowa State University Ames, Iowa 50011, 2000
41. Janet Bachmann , 2004, NCAT , Oilseed Processing for Small-Scale Producers, ATTRA Publication #IP134
42. Jennifer Bonina and Daniel J. Cantliffe , 2004, Seed Production and Seed Sources of Organic Vegetables University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences (UF/IFAS) for the people of the State of Florida
43. Jeffrey H. McCormack, Ph.D, 2004, Bean Seed Production, An organic seed production manual for seed growers in the Mid-Atlantic and Southern U.S.
44. John Milton Poehlman, Breeding field crops, Fertility-regulation mechanisms and their manipulation, AVI publishing company, INC, ISBN 0-442-27604-4, 1996, tr 129-134

45. Julian W. Sauls, Ph.D., Professor and Extension Horticulturist, Texas Cooperative Extension, Plant Propagation, An Overview of Asexual Reproduction, August 1, 2001
46. L.O. Copeland and M. B. McDonald, 1995 Principle of seed science and technology, Macmillan publishing company, New York and Collier Macmillan publishers, London
47. Lars Schmidt, 2000, Guide to handling of tropical and subtropical forest seed, Danida Forest Seed Centre
48. Lê Khả Kế, 1957 Thực vật học, NXB Giáo dục
49. Kalptaru, 1998, National Research Centre for Citrus, Nagpur City 1998
50. Koning, Ross E. 1994. Seeds and Seed Germination. Plant Physiology Information Website
51. Leónie Bentsink, Maarten Koornneef, 2002, The Arabidopsis Book, , Dreijenlaan 2, 6703 HA Wageningen
52. LeRoy Spilde, 2000, Seed Longevity and Deterioration, Plant Sciences 330
53. Vũ Văn Liết, Vũ Đình Hòa, 2005, Kỹ thuật sản xuất hạt giống rau, nxb Nông nghiệp.
54. Mew, T.W. Misra, J.K. J.F Rickman, Dr M. Bell, David Shires, 1994, 2005, Seed Quality, IRRI
55. Mark A. Bennett, 1996, Study of seed enhancements, e.g., biological seed treatments and osmoconditioning on vegetable stand establishment, Proceedings of the fifty-first annual corn & sorghum research conference 1996
56. Mike Murray, Timothy K. Hartz, Davis and Kent Radford, 2001, Cucurbit seed production in California, University of California, Davis
57. N.C. Chen, 2000, Eggplant seed production, Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC), P.O. Box 42, Shanhua, Taiwan 741 ROC
58. Niewhof, M. 1969. Cole Crops. Botany, Cultivation, and Utilization. Leonard Hill, London.
59. Nicklos S. Dudley, 1995, Agroforestry for the Pacific Technologies September 1995, Number 14, Hawaii 96701 USA
60. OHIO State University, 2000, Vegetable Seed Production - "Wet" Seeds
61. OHIO State University, 2002, Vegetable Seed Production
62. Oren L. Justice and Louis N. Bass, 1978, Principles and Practices of Seed Storage, Washington, D.C. Issued April 1978
63. Pickering CM, 1997, Breeding systems of Australian Ranunculus in the alpine region, Nordic Journal of Botany 17 (6): 613-620 1997
64. Peter Thomison, 2000, Ph.D., Ohio State Univ., Effects of cultural practices on corn and soybean seed production, Ohio State Univ
65. R. Daniel Lineberger, 2000, Origin, development and propagation of chimeras, Department of Horticultural Sciences, Texas A&M University
66. R. Daniel Lineberger, The Many Dimensions of Plant Tissue Culture Research, Texas A&M University, College Station, TX 77843, Webmaster of Aggie Horticulture
67. Richard A. Jefferson, 1994, Apomixis: A social revolution for agriculture, biotechnology and development monitor, No. 19, June, 1994

68. Richard H. Ozminkowski, Jr. and Pablo S. Jourdan, 2000, Comparison of Somatic and Sexual Interspecific Hybridization for the Development of New Brassica Vegetable Crops
69. M. A. Rashid D.P. Singh ,2000, A Manual on Vegetable Seed Production in Bangladesh, Horticulture research Centre Bangladesh Agricultural Research Institute Joydebpur, Gazipur 701
70. R.T. Opeña, J.T. Chen, T. Kalb and P. Hanson, AVRDC. 2001, Seed Production of Open-Pollinated Tomato Lines
71. R.T. Opeña, J.T. Chen, T. Kalb and P. Hanson, AVRDC. 2001, Eggplant Production
72. Ross A. Bicknell, Anna M. Koltunow, 2004 , Understanding Apomixis: Recent Advances and remaining Conundrums, The Plant Cell, vol.16, s228-s245
73. Ryutaro Tao*, Hisayo Yamane and Akira Sugiura , 2005, Cloning and Nucleotide Sequences of cDNAs Encoding S1- and S4-RNases (Accession Nos. [AB028153](#) and [AB028154](#)) from Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) , Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan
74. Stewart, R.N. and H. Dermen. 1979. Ontogeny in monocotyledons as revealed by studies of the developmental anatomy of periclinal chloroplast chimeras. Amer. J. Bot. 66, pp. 47-58.
75. S.S. Virmani ; Z.X. Sun ; T.M. Mou, Jauhar Ali, C.X. Mao, 2003, Two-line Hybrid Rice Breeding, manual, IRRI,
76. Silke Möhring, Elisabeth Esch, Günter Wricke, 2002, Breeding hybrid variety in winter rapeseed using recessive self-incompatibility, Angewandte Genetik, Universität Hannover, Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, Germany
77. Satoshi Niikura Tohoku Seed Co. Himuro, Utsunomiya, Tochigi 321-3232, Japan 2002, self-incompatibility in vegetable seed breeding
78. Nguyễn Công Tạn, Ngô Thế Dân, Hoàng Tuyết Minh, Nguyễn Thị Trâm, Nguyễn Trí Hoàn, Quách Ngọc Ân, 2002, Lúa lai ở Việt Nam, nxb Nông Nghiệp
79. Nguyễn Văn Thắng, Trần Khắc Thi, 2000, Sổ tay người trồng rau, nxb Nông nghiệp.
80. Ted Wilson, 2001, Seed Rice Production, Vol. 1 No. 9, Texas A&M University System Agricultural.
81. Tim Gutormson, 2005, Tetrazolium, Germination, Dormancy & Fungal Interactions, Seed World ,2005 Volume: 16 Number: 7
82. Trung tâm Khả kiểm nghiệm Quốc gia, 2002, Các tiêu chuẩn giống cây trồng nông nghiệp, Trung tâm KKN Quốc gia
83. Nguyễn Văn Uyển, 1995, Công nghệ sinh học, NXB Nông nghiệp
84. Nguyen Huy Uoc, 1999, Sugar can and cultivation technology, Agricultural publishing house
85. Vũ Văn Liết, Vũ Đình Hòa, 2005, Kỹ thuật sản xuất hạt giống rau, nxb Nông nghiệp.
86. Vladimir Vujanovic, Marc St-Arnaud, Denis Barabé and Geneviève Thibeault, 2000, Viability Testing of Orchid Seed and the Promotion of Colouration and Germination , Annals of Botany 86: 79-86, 2000, [Volume 86, Number 1](#) , Pp. 79-86 Oxford Journals Oxford University Press

87. C.B. Wood, S. Miles, C. Rix, J. Terry, M.I. Daws, 2006, The effect of seed oil content on viability assessment using tetrazolium: a case study using 171 species, FAO-IPGRI newsletter, Issue No.143, page 17 to 23
88. Westermann, D.T and S.E. Crothers, 1977, Plant population effects on the seed yield component of beans, Crop Science 17: 493-496