

Chuyên đề: Tạo giống bằng phương pháp nuôi cấy hạt phấn và hợp nhất tế bào trần

Công nghệ tế bào thực vật là một lĩnh vực quan trọng của công nghệ sinh học, cho phép tạo ra các giống cây trồng mới với nhiều đặc tính ưu việt. Trong đó, nuôi cấy hạt phấn và hợp nhất tế bào trần là hai kỹ thuật đột phá, giúp khắc phục những hạn chế của các phương pháp tạo giống truyền thống.

I. Tạo giống bằng phương pháp nuôi cấy hạt phấn (hoặc noãn chưa thụ tinh)

1. Khái niệm

Nuôi cấy hạt phấn là kỹ thuật nuôi các hạt phấn (tế bào giao tử đực, n) hoặc noãn chưa thụ tinh (tế bào giao tử cái, n) trong môi trường dinh dưỡng nhân tạo để chúng phát triển thành các cây đơn bội (n). Sau đó, gây lưỡng bội hóa các cây đơn bội này để tạo ra các cây lưỡng bội ($2n$) hoàn chỉnh có kiểu gen thuần chủng.

2. Cơ sở khoa học

Cơ sở của phương pháp này dựa trên hai đặc tính quan trọng của tế bào thực vật:

- **Tính toàn năng của tế bào:** Mỗi tế bào (ở đây là hạt phấn hoặc noãn) đều chứa toàn bộ thông tin di truyền của cơ thể và có khả năng phát triển thành

một cơ thể hoàn chỉnh khi được nuôi cấy trong điều kiện thích hợp.

- **Khả năng phát triển của giao tử:** Hạt phấn và noãn có thể phát triển trực tiếp thành cây mà không cần qua thụ tinh.

3. Quy trình thực hiện

Quy trình tạo giống bằng nuôi cấy hạt phấn thường gồm các bước sau:

1. **Chọn lọc cây bố mẹ:** Lựa chọn các cây bố mẹ có đặc tính tốt, thường là các cây lai F1 để tận dụng ưu thế lai và sự đa dạng di truyền.
2. **Nuôi cấy hạt phấn/noãn:** Tách các bao phấn (chứa hạt phấn) hoặc noãn từ hoa của cây đã chọn và nuôi cấy chúng trong môi trường dinh dưỡng nhân tạo đặc biệt để kích thích phát triển thành các mô đơn bội (mô sẹo) hoặc phôi đơn bội.
3. **Tái sinh cây đơn bội (n):** Từ mô đơn bội, sử dụng hormone sinh trưởng phù hợp để chúng phát triển thành các cây đơn bội hoàn chỉnh. Các cây này có bộ nhiễm sắc thể đơn bội (n) và thường bất thụ.
4. **Lưỡng bội hóa:** Xử lý các cây đơn bội bằng hóa chất **Colchicine**. Colchicine có tác dụng ngăn cản sự hình thành thoi phân bào trong quá trình nguyên phân, làm cho bộ nhiễm sắc thể nhân đôi nhưng tế bào không phân chia, kết quả là tạo ra tế bào lưỡng bội (2n).
5. **Tạo cây lưỡng bội (2n) thuần chủng:** Các tế bào lưỡng bội này phát triển thành cây lưỡng bội hoàn chỉnh. Do tất cả các cặp gen đều ở trạng thái đồng hợp (ví dụ: AA, bb, DD), nên các cây này là dòng thuần chủng tuyệt đối.

6. **Chọn lọc và nhân giống:** Đánh giá và chọn lọc các dòng thuần có đặc tính mong muốn để đưa vào sản xuất.

4. Ưu điểm và ý nghĩa

- **Rút ngắn thời gian tạo dòng thuần:** Đây là ưu điểm lớn nhất. Phương pháp lai hữu tính truyền thống phải mất từ 7-10 năm tự thụ phấn liên tục để tạo dòng thuần. Trong khi đó, nuôi cấy hạt phấn chỉ mất 1-2 năm.
- **Tạo ra các dòng thuần chủng đồng nhất:** Các cây tạo ra có kiểu gen đồng hợp tử về tất cả các gen, rất có giá trị trong nghiên cứu di truyền và sản xuất giống.
- **Tăng hiệu quả chọn lọc:** Vì cây đơn bội chỉ có một alen cho mỗi gen, nên các gen lặn (cả có lợi và có hại) đều được biểu hiện ngay ra kiểu hình, giúp cho việc chọn lọc trở nên dễ dàng và chính xác hơn.

5. Ví dụ minh họa

- **Ví dụ 1:** Tại Việt Nam, các nhà khoa học đã tạo ra giống lúa DR2 thuần chủng từ tổ hợp lai giữa hai giống CR203 và C70. Giống lúa này có khả năng chịu nóng, kháng bệnh tốt và cho năng suất cao.
- **Ví dụ 2:** Tạo ra các giống lúa mì, ngô, thuốc lá, cà chua đơn bội, sau đó lưỡng bội hóa để nhanh chóng có được các dòng thuần chủng mang các đặc tính nông học quý giá như kháng sâu bệnh, năng suất cao.

II. Tạo giống bằng phương pháp hợp nhất (dung hợp) tế bào trần

1. Khái niệm

Hợp nhất tế bào trần là kỹ thuật loại bỏ thành cellulose của tế bào thực vật, sau đó cho các tế bào trần (protoplast) của hai loài khác nhau dung hợp với nhau để tạo thành tế bào lai. Tế bào lai này sau đó được nuôi cấy để phát triển thành cây lai mang bộ nhiễm sắc thể của cả hai loài bố mẹ.

2. Cơ sở khoa học

Phương pháp này dựa trên:

- **Khả năng loại bỏ thành tế bào:** Thành tế bào thực vật có thể bị phân hủy bởi các enzyme đặc hiệu (cellulase, pectinase) mà không làm tổn thương màng sinh chất và các bào quan bên trong.
- **Khả năng dung hợp của tế bào trần:** Khi không còn vách ngăn cứng nhắc, các tế bào trần có thể hòa nhập vào nhau dưới tác động của các tác nhân kích thích.
- **Tính toàn năng của tế bào lai:** Tế bào lai sau khi dung hợp có khả năng phân chia và phát triển thành một cây hoàn chỉnh.

3. Quy trình thực hiện

1. **Chuẩn bị tế bào trần:** Tách tế bào từ hai loài cây khác nhau (ví dụ: tế bào lá). Xử lý chúng bằng enzyme cellulase và pectinase để loại bỏ hoàn toàn thành tế bào, thu được các tế bào trần.

2. **Dung hợp tế bào trần:** Đưa các tế bào trần của hai loài vào cùng một môi trường nuôi cấy. Sử dụng các tác nhân gây dung hợp như **polyethylene glycol (PEG), xung điện cao áp, hoặc ion Ca^{2+} nồng độ cao** để kích thích màng sinh chất của chúng hòa vào nhau.
3. **Nuôi cấy tế bào lai:** Chọn lọc các tế bào lai thành công và nuôi cấy chúng trong môi trường dinh dưỡng đặc biệt. Tế bào lai sẽ tái tạo lại thành tế bào và phân chia tạo thành mô sẹo (callus).
4. **Tái sinh cây lai:** Chuyển mô sẹo sang môi trường có hormone sinh trưởng phù hợp để kích thích sự phát triển của rễ và chồi, tạo thành cây lai hoàn chỉnh. Cây lai này mang bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội của cả hai loài.

4. Ưu điểm và ý nghĩa

- **Tạo ra các giống lai khác loài (lai xa):** Đây là ý nghĩa quan trọng nhất. Phương pháp này cho phép kết hợp vật chất di truyền của những loài rất xa nhau về mặt di truyền, mà phép lai hữu tính thông thường không thể thực hiện được do các rào cản sinh sản (bất thụ, không tương hợp).
- **Mở ra tiềm năng tạo giống mới:** Tạo ra các giống cây trồng mang những đặc tính độc đáo mà không có ở bất kỳ loài nào trong tự nhiên, ví dụ như cây vừa cho củ, vừa cho quả.
- **Chuyển gen giữa các loài:** Là một công cụ hữu hiệu để chuyển các gen quy định tính trạng mong muốn (kháng bệnh, chịu hạn...) từ cây hoang dại vào cây trồng.

5. Ví dụ minh họa

- **Ví dụ 1 (Kinh điển):** Thành tựu nổi bật nhất là việc tạo ra cây **Pomato** (hoặc Tomtato) từ việc dung hợp tế bào trần của cây khoai tây (potato) và cây cà chua (tomato). Về lý thuyết, cây này có thể cho củ khoai tây ở dưới đất và quả cà chua trên thân. Tuy nhiên, trên thực tế, cây lai này sinh trưởng kém, năng suất thấp và chưa được ứng dụng rộng rãi trong nông nghiệp.
- **Ví dụ 2:** Các nhà khoa học đã thành công trong việc dung hợp tế bào trần của hai loài thuốc lá khác nhau là *Nicotiana glauca* và *Nicotiana langsdorffii* để tạo ra cây lai mà phép lai hữu tính không thực hiện được.

III. Bảng so sánh hai phương pháp

Tiêu chí	Nuôi cấy hạt phấn	Hợp nhất tế bào trần
Nguyên liệu	Hạt phấn hoặc noãn chưa thụ tinh (tế bào đơn bội n) từ một cây.	Tế bào trần (tế bào sinh dưỡng $2n$ đã loại bỏ thành) từ hai loài khác nhau.
Mục đích chính	Tạo dòng thuần chủng ($2n$) trong thời gian ngắn nhất.	Tạo giống lai mới mang bộ NST của hai loài khác nhau (lai xa).
Cơ sở khoa học	Tính toàn năng của tế bào, khả năng phát triển của giao tử và kỹ thuật lưỡng bội hóa.	Tính toàn năng của tế bào, khả năng dung hợp của tế bào trần.
Sản phẩm	Cây lưỡng bội ($2n$) có kiểu gen đồng hợp tử hoàn toàn về tất cả các gen.	Cây lai song nhị bội (mang bộ NST $2n$ của cả hai loài bố mẹ).
Ý nghĩa ứng dụng	Rút ngắn thời gian chọn giống, nâng cao hiệu quả chọn lọc gen lặn, phục vụ công tác lai tạo.	Vượt qua rào cản không tương hợp trong lai xa, tạo ra các giống cây trồng có đặc tính hoàn toàn mới.