

KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH NGUYÊN NHÂN KHÔNG HẠT CỦA BƯỞI DA XANH VÀ MỘT SỐ CÂY CAM, QUÝT TUYỂN CHỌN

Đỗ Minh Phú¹, Huang Qui Xiang², Đỗ Đình Ca³,
Nguyễn Duy Hưng³, Nguyễn Thị Hương³

TÓM TẮT

Việc xác định nguyên nhân không hạt của các giống cây có múi không hạt chọn lọc trong tự nhiên có ý nghĩa khoa học và thực tiễn rất lớn, không chỉ tìm ra bản chất di truyền của chúng mà còn là cơ sở khoa học cho việc chọn lọc giống và xây dựng biện pháp kỹ thuật canh tác thích hợp để phát triển các giống và cây giống không hạt tuyển chọn ổn định, bền vững. Kết quả nghiên cứu đã xác định được nguyên nhân không hạt của một số giống cây có múi trong sản xuất như bưởi Da Xanh, cam V2 và một số cây cam, quýt mới được tuyển chọn trong tự nhiên (Cam mật (H-1), cam Xã Đoài (XM-2), Quýt Cao (QC-1) và Quýt ngọt (QN-1) là hoàn toàn khác nhau. Giống bưởi Da Xanh, Quýt ngọt là những giống “tự bất hòa hợp” (self-incompatibility) và giống cam V2, Cam mật (H-1), Quýt Cao (QC-1), cam Xã Đoài (XM-2) là những giống bất dục đực (male sterility). Không có giống nào là đa bội hoàn chỉnh là 3x, 5x hoặc 7x.

Từ khóa: Quýt Cao, tam bội, tự bất hòa hợp, bất dục đực, bất dục cái.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Không hạt hoặc rất ít hạt là một tiêu chuẩn chất lượng rất quan trọng của các loại quả có múi đối với thị trường quả tươi và cho công nghiệp chế biến nước quả. Đây cũng là một trong những mục tiêu chính trong công tác chọn tạo giống cây có múi của các nước trên thế giới và Việt Nam hiện nay. Hiện tượng quả không hạt ở cây ăn quả có múi thường do các nguyên nhân chủ yếu sau:

- Tam bội thể (3x), hoặc thể bội hoàn chỉnh là 5x, 7x, v.v.: Cây mất khả năng tạo ra tế bào sinh dục, do vậy quả sẽ hoàn toàn không hạt trong mọi điều kiện canh tác.

- Hiện tượng trinh sản (*Parthenocarpy*) hay hiện tượng quả điếc, xảy ra có thể do:

+ Tình trạng bất dục đực hoàn toàn hoặc từng phần (*male sterility*);

+ Tình trạng bất dục cái hoàn toàn hoặc từng phần (*female sterility*); và

+ Tình trạng tự bất hòa hợp (*self-incompatibility*) làm tế bào trứng không được thụ tinh dẫn đến không hạt.

Ngoài ra, một số nghiên cứu gần đây cho biết đặc tính không hạt có thể do đột biến gen hoặc do

một gen nào đó điều khiển, do vậy đã có một hướng nghiên cứu làm bất hoạt gen (*antisense*) để phục vụ cho công việc lai hữu tính.

Dựa vào các nguyên nhân trên, rất nhiều các phương pháp chọn tạo giống không hạt đã được các nhà khoa học xây dựng. Tuy nhiên, các phương pháp nhân tạo, kể cả các phương pháp có ứng dụng công nghệ sinh học như: Dung nạp tế bào trần (protoplast) hoặc chỉ thị phân tử, v.v...thì thời gian tạo được một giống để đưa ra sản xuất mất rất nhiều thời gian, thông thường 15 – 20 năm. Do vậy, bên cạnh việc tạo giống bằng các phương pháp nhân tạo, việc chọn lọc các biến dị trong sản xuất ngoài tự nhiên có vị trí rất quan trọng. Dưới tác động của điều kiện môi trường (nắng, mưa, sấm, sét, v.v...) rất nhiều biến dị tốt, không hạt hoặc rất ít hạt ở cây có múi đã được hình thành và đó là những vật liệu tốt cho công tác chọn tạo giống chất lượng cao. Trong thực tế hiện nay, hầu hết các giống cây có múi chất lượng cao, không hạt trồng trên thế giới là những giống chọn lọc từ những biến dị trong tự nhiên. Các giống nhân tạo rất ít, chỉ chiếm khoảng 5%.

Ở Việt Nam cũng đã có nhiều giống cây có múi không hạt hình thành tự nhiên được chọn lọc phát triển trong sản xuất như: Bưởi Năm Roi, bưởi Da xanh, Cam sành không hạt, Cam mật, Quýt đường không hạt, v.v... và gần đây, trong khuôn khổ đề tài “Nghiên cứu tuyển chọn và phát triển giống cam, quýt không hạt ở miền Bắc” cũng đã phát hiện được nhiều cây giống cam và quýt không hạt hoặc rất ít

¹ Sinh viên cao học, Học viện Nông nghiệp, Trường Đại học Quảng Tây, Trung Quốc

² Trường Đại học Quảng Tây, Trung Quốc

³ Viện Nghiên cứu Rau quả

hạt ở một số vùng trồng cam quýt ở miền Bắc. Tuy nhiên, nguyên nhân không hạt hoặc ít hạt của các giống và các cây giống tuyển chọn trên chưa được nghiên cứu xác định, trừ giống bưởi Năm Roi được xác định là “Tự bất hòa hợp” và 02 cây Quýt đường không hạt tuyển chọn tại Lai Vung – Đồng Tháp là do bất dục cái (PGS. TS. Nguyễn Văn Bé - 2006, Nguyễn Bá Phú- 2012, Đại học Cần Thơ).

Việc nghiên cứu xác định bản chất di truyền không hạt của các cây giống tuyển chọn trong tự nhiên có ý nghĩa khoa học và giá trị thực tiễn rất lớn đối với sản xuất, vì không chỉ tìm ra bản chất di truyền của chúng mà còn là cơ sở khoa học cho việc chọn lọc giống và xây dựng biện pháp kỹ thuật canh tác thích hợp để phát triển các giống và cây giống không hạt tuyển chọn một cách ổn định, bền vững. Đây cũng là mục đích nghiên cứu đối với giống bưởi Da xanh và một số cây giống cam, quýt mới tuyển chọn.

2. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHẠM VI NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các cây giống không hạt bản địa được chọn lọc trong tự nhiên và nhập nội gồm:

- Bưởi Da Xanh, 8 năm tuổi, trồng tại vườn tập đoàn Viện Nghiên cứu Rau quả, không hạt;

- Cam V2, 7 năm tuổi, giống nhập nội, trồng tại thị trấn Cao Phong, huyện Cao Phong, Hòa Bình, có trung bình 0 – 4 hạt/quả;

- Cây cam Mật (H-1), tuyển chọn trong quần thể cam Xã Đoài trồng ở xóm Minh Hồ, xã Minh Hợp, Quỳnh Hợp, Nghệ An năm 2012, có trung bình 0 – 4 hạt/quả;

- Cây cam Xã Đoài (XM-2), tuyển chọn trong quần thể cam Xã Đoài trồng ở thị trấn Cao Phong, huyện Cao Phong, Hòa Bình năm 2012, có trung bình 0 – 6 hạt/quả;

- Cây Quýt Cao (QC-1), tuyển chọn trong quần thể cam Xã Đoài, trồng ở thị trấn Cao Phong, huyện Cao Phong, Hòa Bình năm 2012, có trung bình 0 – 4 hạt/quả;

- Cây Quýt ngọt (QN-1), tuyển chọn trong quần thể cam Xã Đoài, trồng ở thị trấn Cao Phong, huyện Cao Phong, Hòa Bình năm 2012, có trung bình 0 – 4 hạt/quả.

2.2. Nội dung nghiên cứu

Phân tích, xác định nguyên nhân do đa bội thể (3x, 5x, 7x, v.v...) của giống bưởi Da Xanh và các cây cam, quýt tuyển chọn.

Xác định nguyên nhân do bất dục đực (*male sterility*) và bất dục cái (*female sterility*) của giống bưởi Da Xanh và các cây cam, quýt tuyển chọn.

Xác định nguyên nhân do tự bất hòa hợp (self-incompatibility) của giống bưởi Da Xanh và các cây cam, quýt tuyển chọn.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Phân tích, đánh giá mức bội thể (*ploidy*) bằng máy phân tích bội thể Ploidy Analyzer.

Xác định nguyên nhân do bất dục đực (*male sterility*) bằng việc đánh giá khả năng nảy mầm của hạt phấn trong phòng thí nghiệm.

Thu ngẫu nhiên khoảng 30 hoa vừa nở vào buổi sáng (8 – 10 giờ). Tách và lấy tất cả các bao phấn của hoa, gieo vào môi trường dinh dưỡng (MS + 0,4 mg/l BA + 30 mg/l đường; pH = 5,8); 30 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 1 hoa; để trong tối ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Hạt phấn được đếm sau 24 giờ gieo. Mỗi hoa đếm 5 lần, quan sát dưới kính hiển vi Olympus CX 31 bằng 3 thị trường vật kính 10X.

Xác định nguyên nhân do bất dục cái (*female sterility*) bằng quan sát và đếm số lượng tiểu noãn dưới kính hiển vi Olympus CX 31, so sánh với bầu noãn cùng độ lớn của cây có hạt. Bầu noãn được thu ở giai đoạn hoa tàn.

Xác định nguyên nhân do tự bất hòa hợp (self-incompatibility):

Nhận biết đặc tính “*tự tương bất hòa hợp*” bằng quan sát sinh trưởng của ống phấn trong vòi nhụy cái sau khi tự thụ 7 – 8 ngày.

Trên cây nghiên cứu, chọn ngẫu nhiên 10 cành hoa. Trên mỗi cành lựa chọn để lại 2 – 3 hoa đơn ở vị trí đầu của mỗi cành. Tiến hành thí nghiệm thụ phấn với các công thức:

Công thức 1: Tự thụ, dùng phần hoa của chính cây tuyển chọn thụ phấn cho hoa cây tuyển chọn.

Công thức 2: Thụ phấn cho cây tuyển chọn bằng phấn của 2 giống khác, cụ thể: Thụ phấn cho bưởi Da Xanh bằng phấn của 2 giống bưởi đỏ và bưởi pummelo; cho cam V2 bằng phấn của 2 giống Quýt Ngọt và cam Xã Đoài XM-2; cho cam Xã Đoài XM-2 bằng phấn của giống Quýt cao và Quýt ngọt; cho Quýt Cao bằng phấn của giống cam V2 và Cam Xã Đoài có hạt; cho Quýt ngọt bằng phấn của giống cam Xã Đoài và Quýt Cao; và cho Cam mật H-1 bằng phấn của giống cam Vân Du.

- Thu, xử lý mẫu và quan sát:

Sau 7 – 8 ngày thụ phấn, hoa được thu về để xử lý và quan sát. Cắt bộ phận cái của hoa và cố định trong dung dịch cồn + axit axêtic tỷ lệ 3:1 trong 24 – 48 giờ sau đó rửa sạch bằng cồn 70⁰ ba lần.

Sau khi đã cố định và rửa sạch bằng cồn 70⁰, nhụy được cắt làm 3 - 4 đoạn nhỏ: núm nhụy, vòi đoạn trên, vòi đoạn dưới và bầu noãn. Quan sát sự vươn dài của ống phấn bằng cách nhuộm với a-ni-lin xanh (Aniline blue) 0,1%. Sau đó cố định mẫu trong ống nhựa bằng dung dịch cố định: axit axêtic/ êtanôn theo tỷ lệ 1:3 trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Chuyển mẫu cố định sang 70% êtanôn và để 10 phút trong phòng thí nghiệm. Làm tuần tự như vậy với êtanôn 50% và 30%. Rửa nước cất 2 lần sau mỗi công đoạn. Chuyển mẫu qua đĩa petri chứa dung dịch NaOH 8 M. Đậy nắp, để qua đêm trong phòng thí nghiệm. Sau rửa lại mẫu và để mẫu ở phòng thí nghiệm 10 phút. Tiếp tục chuyển mẫu sang dung dịch 0,1% (trọng lượng/ thể tích) a-ni-lin xanh trong 108 mM K₂HPO₄ (pH = 11) trong 2 giờ và đặt trong tối phòng thí nghiệm. Đặt mẫu lên lam và đậy bằng lamén. Quan sát dưới ánh sáng có bước sóng ngắn UV= 330 – 385 nm bằng kính huỳnh quang (Optika) để biết được ống phấn vươn tới đầu và noãn có được thụ tinh hay không.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích, xác định nguyên nhân do đa bội thể

Các nghiên cứu đã chứng minh rằng: Các giống có số lượng nhiễm sắc thể ở thể đa bội hoàn chỉnh lẻ (2n = 3x, 5x, 7x, vv...) đều có khả năng cho quả không hạt. Nguyên nhân là cây ở thể đa bội hoàn chỉnh lẻ, quá trình phân chia giao tử bị rối loạn, hạt phấn được sinh ra mất sức nảy mầm, hoặc hợp tử được hình thành (nhờ sự kết hợp của giao tử đực và giao tử cái) thường bị chết ở giai đoạn phát triển sau khi được hình thành, do đó tạo nên quả không hạt. Trong thể đa bội hoàn chỉnh lẻ thì thể tam bội (2n =

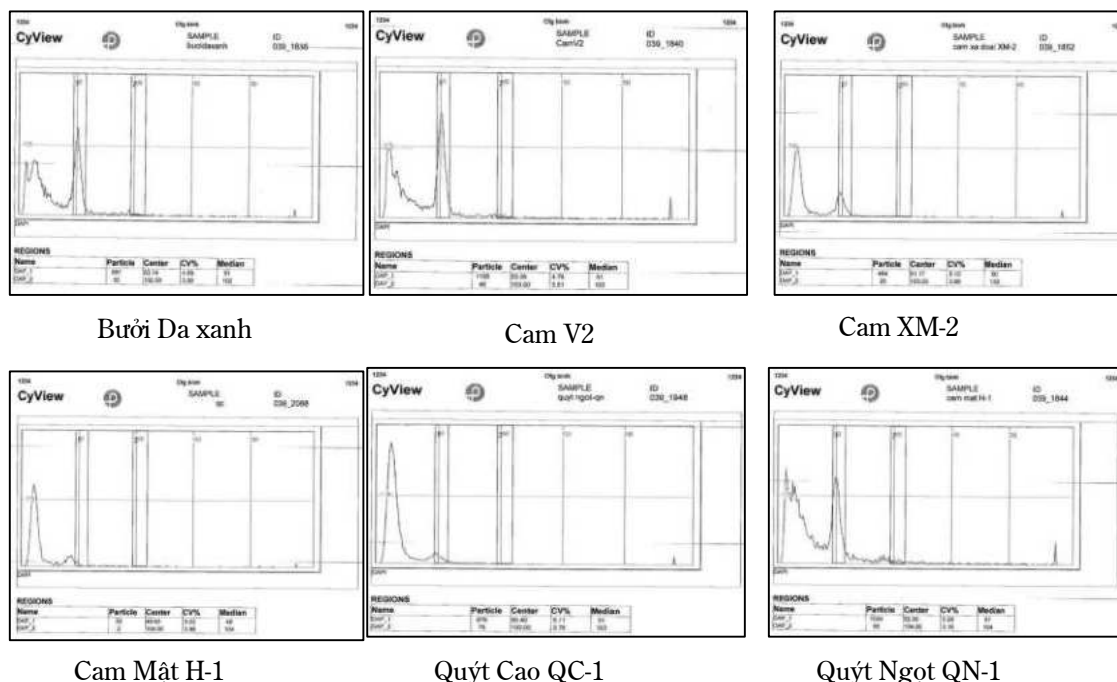
3x) là dạng cây vừa có khả năng cho quả không hạt, vừa có khả năng sinh trưởng, chống chịu tốt và cho năng suất chất lượng cao. Các cây tam bội có thể được tạo ra bằng các phương pháp lai tạo khác nhau, nhưng cũng được hình thành một cách tự nhiên trong sản xuất khi thụ phấn tự do hoặc khi lai giữa cây nhị bội với nhị bội. Các nhà khoa học cũng chứng minh được rằng việc hình thành cây tam bội phụ thuộc lớn vào giống, điều kiện môi trường, vùng sản xuất. Đối với chanh (*Citrus limon*) có khoảng 4% cây tam bội khi lai với các loài, giống khác, quýt Clementin có tỷ lệ là 1% và quýt King (cam sành của Việt Nam) là 6 -7% khi trồng ở California và Sicil (Geraci và cộng sự, 1975); với quýt Wilking tới 14,6% (Soost, 1987). Giống cam ngọt Ortanique tangor khoảng 25%, Temple tangor 6,8% và Sugeka orangelo 23% (Wakana và cộng sự, 1981).

Việc xác định mức bội thể của các cây đa bội được dựa trên kỹ thuật định lượng ADN trong nhân tế bào đã được nhuộm một chất gây huỳnh quang (fluorochrome) bằng đầu dò huỳnh quang (Arumuganathan và Earle, 1991) và kết quả được xử lý bằng một phần mềm có sẵn và trình bày dưới dạng biểu đồ, đỉnh biểu đồ tương đương với lượng ADN của nhân tế bào.

Xác định nguyên nhân không hạt của các giống bưởi Da Xanh, cam V2 và các cây cam, quýt tuyển chọn: Cam Xả Đồi XM-2, Cam mật H-1, Quýt Cao và Quýt ngọt bằng máy phân tích đa bội (CyFlow Ploidy Analyzer) chúng tôi nhận thấy rằng: Phổ của các giống và cây tuyển chọn trên hoàn toàn nằm trong khoảng giới hạn nhị bội (hình 1). Do vậy có thể kết luận: Bản chất/ đặc tính di truyền không hạt của các giống bưởi Da Xanh và các cây tuyển chọn: Cam Xả Đồi XM-2, Cam mật H-1, Quýt Cao và Quýt ngọt không phải do đa bội hoàn chỉnh lẻ tam bội 3x, 5x hay 7x (bảng 1, hình 1).

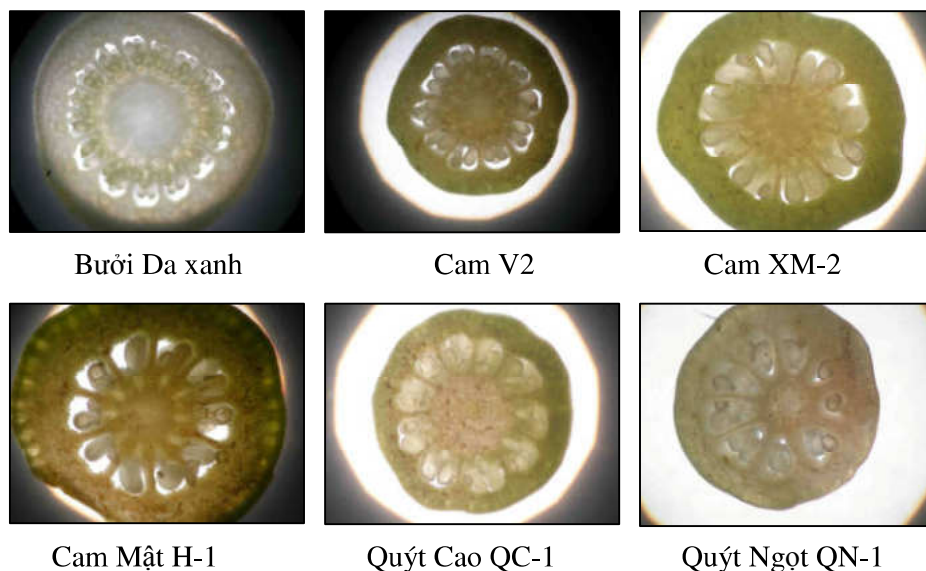
Bảng 1. Kết quả phân tích đa bội và xác định nguyên nhân bất dục đực và cái

TT	Mẫu giống	Kết quả phân tích đa bội			Sự phát triển của tiểu noãn		Khả năng nảy mầm của hạt phấn	
		2x	3x	5x	Bình thường	Bất thường	Nảy mầm bình thường	Không nảy mầm
1	Bưởi Da Xanh	×	0	0	×	0	×	0
2	Cam V2	×	0	0	×	0	0	×
3	Cam XM-2	×	0	0	×	0	0	×
4	Cam mật H-1	×	0	0	×	0	0	×
5	Quýt Cao QC-1	×	0	0	×	0	0	×
6	Quýt ngọt QN-1	×	0	0	×	0	×	0



Hình 1. Mức bội thể của các cây giống quan sát

3.2. Kết quả xác định nguyên nhân do bất dục đực (male sterility) và bất dục cái (female sterility)



Hình 2. Noãn và tiểu noãn của các cây giống quan sát

Tính tạo quả không hạt (*Parthenocarpy*) đã được xác định do 3 dạng bất dục: Bất dục cái (*female sterility*), bất dục đực (*male sterility*) và tự bất hòa hợp (*self-incompatibility*).

Qua các nghiên cứu, các nhà khoa học đã khẳng định rằng bất dục cái là nguyên nhân trực tiếp làm quả không hạt và là một

đặc điểm di truyền (Yamamoto và cs, 1995, 2001). Nguyên nhân của bất dục cái là sự thui chột hợp tử và được kiểm soát bởi 2 gen (Nesumi và cs, 2001). Do vậy để xác định khả năng bất dục cái chỉ cần soi túi phôi và xác định xem các tiểu noãn có bị thui chột hay không. Wakana (2005) cho rằng, thể bất dục cái có khả năng cho quả không hạt ổn định

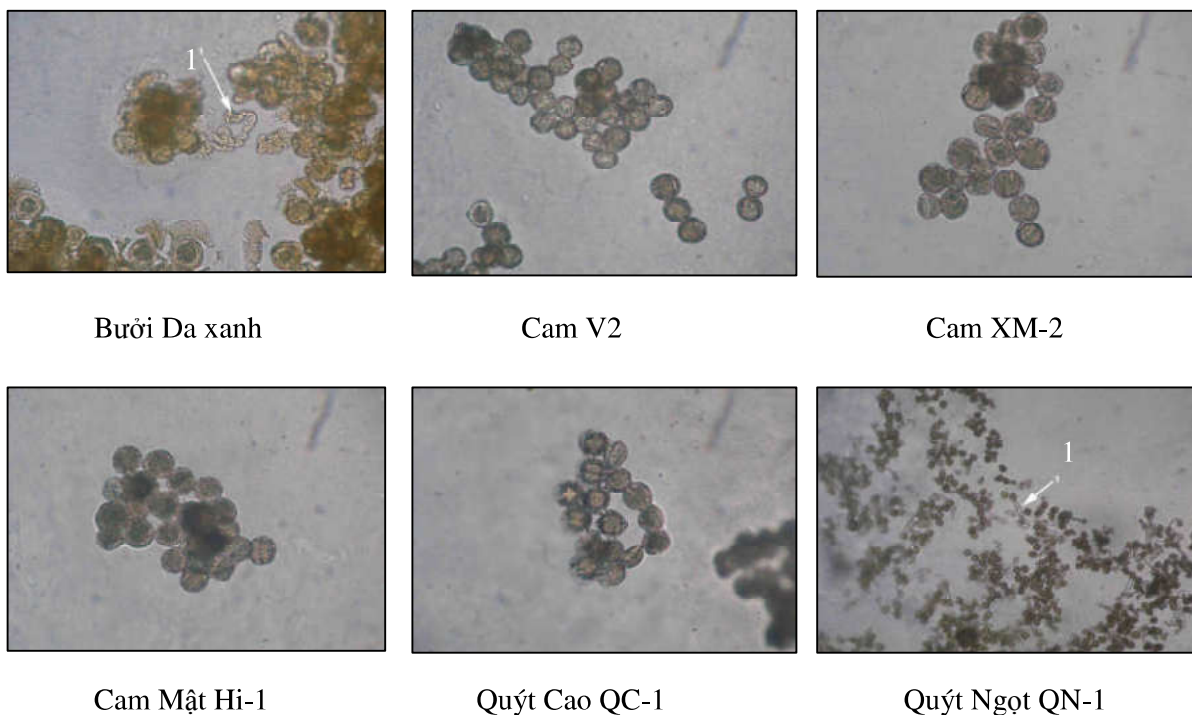
hơn thể bất dục đực vì khả năng thụ tinh hoàn toàn không xảy ra do túi phôi đã bị thui chột.

Tiến hành quan sát tiêu noãn của các giống bưởi Da Xanh, cam V2 và các cây cam, quýt tuyển chọn: Đối với Cam Xã Đoài XM-2, Cam mật H-1, Quýt Cao và Quýt ngọt ngay sau khi cánh hoa rụng chúng tôi nhận thấy rằng tiêu noãn trong túi phôi của tất cả các giống đều phát triển bình thường, không có hiện tượng bị thui chột (hình 2). Điều đó chứng tỏ các giống bưởi Da Xanh, cam V2 và các cây cam, quýt tuyển chọn: Cam Xã Đoài XM-2, Cam mật H-1, Quýt Cao và Quýt ngọt không phải là các giống bất dục cái (bảng 1, hình 2).

Bất dục đực cũng là nguyên nhân tạo quả không hạt. Thực chất bất dục đực chính là hiện tượng hạt phấn hình thành không bình thường và mất khả năng thụ phấn thụ tinh. Những giống bất dục đực thường ít hoặc không có hạt. Hiện tượng bất dục đực do nhiều nguyên nhân, song cũng có thể do đột biến gen và

bất dục đực ở cam quýt được di truyền tế bào chất (Wakana, 2005), vì vậy khi sử dụng giống bất dục đực làm cây mẹ trong lai tạo giống, khả năng tạo ra con lai bất dục đực rất cao. Để xác định bất dục đực ở cam quýt, phương pháp đơn giản nhất là quan sát bao phấn và đánh giá sức sống của hạt phấn thông qua nuôi cấy hạt phấn trên môi trường nhân tạo.

Từ thí nghiệm nuôi cấy hạt phấn của 30 hoa lấy ngẫu nhiên của các giống chúng tôi thu được kết quả như sau: Trong 6 mẫu giống chỉ có 2 mẫu là có hạt phấn nảy mầm bình thường là bưởi Da Xanh và Quýt Ngọt, còn lại phần của các mẫu giống cam V2, cam Xã Đoài XM-2, Cam mật H-1 và Quýt Cao đều không có khả năng nảy mầm. Điều này có thể kết luận nguyên nhân không hạt hoặc rất ít hạt của giống cam V2 và các cây tuyển chọn cam Xã Đoài XM-2, Cam mật H-1 và Quýt Cao là do bất dục đực (bảng 1, hình 3).



Ghi chú: 1- Hình ảnh ống phấn

Hình 3. Hạt phấn của các cây giống nuôi cấy trên môi trường nhân tạo

3.3. Kết quả xác định nguyên nhân do tự bất hòa hợp (Self-incompatibility)

Tự bất hòa hợp là một hiện tượng di truyền ngăn cản sự tạo hạt ở những cây trồng tự thụ. Đối với

những accession (vật bổ sung) tự bất hòa hợp, tự thụ thường hạt phấn không nảy mầm được trên đầu nhụy hoặc ống phấn không thể xuyên tới noãn sào để các tinh tử thụ tinh với tiêu noãn (Ton và Krezdorn, 1967). Hearn, 1969 đã phát hiện rằng hầu hết các

giống bưởi, một số giống quýt và một vài giống lai tự nhiên hoặc nhân tạo là tự bất hòa hợp. Hệ thống không tương hợp nhau của cây có múi là một dạng gametophytic (thể giao tử) mà Soost (1968) cho rằng đó là dạng gien “S” có trong một số accession. Một số accession tự bất hòa hợp có khả năng tạo quả không hạt khi trồng thuần, nhưng khi trồng hỗn hợp các accession tự bất hòa hợp với những cây có nhiều nhị đực thường có nhiều quả có hạt, trừ khi chúng là bất dục cái (Hearn, 1969; Iwamasa và Oba, 1980; Li, 1980). Do vậy để xác định tính tự bất hòa hợp ở cây có múi chỉ cần làm các thí nghiệm cho tự thụ và thụ

phần chéo với một vài giống khác, quan sát sự nảy mầm của hạt phần trên đầu nhụy và sự vươn dài của ống phấn đến đầu trong vòi nhụy có thể biết được noãn có được thụ tinh hay không ?.

Kết quả quan sát sự nảy mầm cũng như sự vươn dài của ống phấn trong vòi nhụy của các tổ hợp tự thụ và thụ phần chéo với các giống khác nhau của các giống bưởi Da Xanh, cam V2 và các cây cam, quýt không hạt tuyển chọn: Cam Xã Đoài XM-2, Cam mật H-1, Quýt Cao và Quýt ngọt chúng tôi thu được kết quả như sau (bảng 2, hình 4):

Bảng 2. Sự vươn dài ống phấn trong vòi nhụy ở các công thức thụ phấn khác nhau

TT	Giống	Công thức thụ phấn	Kết quả hình ảnh
1	Bưởi Da Xanh	Tự thụ	Ống phấn chỉ vươn tới 1/2 vòi nhụy
		Thụ với phần bưởi đỏ	Ống phấn xuyên tới noãn
		Thụ với phần bưởi pummelo	Ống phấn xuyên tới noãn
2	Cam V2	Tự thụ	Hạt phấn không nảy mầm trên đầu nhụy
		Thụ với phần Quýt ngọt	Ống phấn xuyên tới noãn
		Thụ với phần cam Xã Đoài XM-2	Hạt phấn không nảy mầm trên đầu nhụy
3	Cam Xã Đoài XM-2	Tự thụ	Hạt phấn không nảy mầm trên đầu nhụy
		Thụ với phần Quýt Cao	Hạt phấn không nảy mầm trên đầu nhụy
		Thụ với phần Quýt ngọt	Ống phấn xuyên tới noãn
4	Cam mật H-1	Tự thụ	Hạt phấn không nảy mầm trên đầu nhụy
		Thụ với phần cam Vân Du	Ống phấn xuyên tới noãn
5	Quýt Cao QC-1	Tự thụ	Hạt phấn không nảy mầm trên đầu nhụy
		Thụ với phần cam V2	Hạt phấn không nảy mầm trên đầu nhụy
		Thụ với phần cam Xã Đoài có hạt	Ống phấn xuyên tới noãn
6	Quýt ngọt QN-1	Tự thụ	Hạt phấn không nảy mầm trên đầu nhụy
		Thụ với phần cam Xã Đoài có hạt	Ống phấn xuyên tới noãn
		Thụ với phần Quýt Cao	Hạt phấn không nảy mầm trên đầu nhụy

Kết quả ở bảng 2 và hình 4 cho thấy:

- Các giống bưởi Da xanh, cam V2 và các cây tuyển chọn không hạt đều có khả năng thụ tinh với ít nhất là 1 giống không phải là bất dục đực.

- Giống quýt ngọt khi thụ phấn với cam Xã Đoài XM-2 thì hạt phấn có khả năng nảy mầm và xuyên tới noãn, trong khi đó tự thụ thì hạt phấn không có khả năng nảy mầm ngay trên đầu nhụy, mặc dù hạt phấn được nuôi cấy trên môi trường nhân tạo lại có khả năng nảy mầm rất tốt. Điều đó chứng tỏ cây Quýt

ngọt không hạt tuyển chọn có đặc tính tự bất hòa hợp (hình 4).

- Đối với giống bưởi Da Xanh, ống phấn của hạt phấn nảy mầm chỉ xuyên được 1/2 vòi nhụy mà không tới được noãn, trong khi đó các phần của bưởi đỏ và bưởi pummelo đều có khả năng nảy mầm và xuyên tới noãn sào để thụ tinh với các tiểu noãn (hình 4). Điều này cũng chứng tỏ rằng đặc tính không hạt của bưởi Da xanh là do tự bất hòa hợp (self-incompatibility).

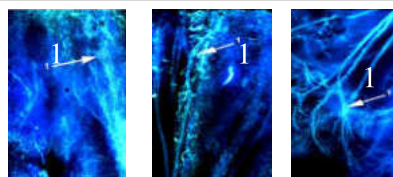
- Các cây không hạt tuyển chọn còn lại (Cam Xã Đoài XM-2, Cam V2, Cam mật H-1 và Quýt Cao QC-

1) khi tự thụ, hạt phấn đều không nảy mầm được trên đầu nhụy cái và cả khi nuôi cấy trên môi trường nhân tạo. Điều đó chứng tỏ rằng sự không có hạt của các

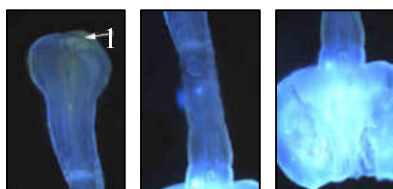
cây tuyển chọn này là do hiện tượng bất dục đực (male sterility) (hình 3, 4).



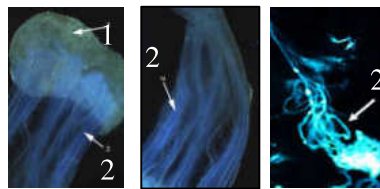
Hình 4a. Bưởi Da Xanh tự thụ
1. Hạt phấn nảy mầm trên đầu nhụy
2. Ống phấn phát triển trên đầu nhụy
3. Vị trí phát triển tới hạn của ống phấn (do bị ức chế sinh trưởng, ống phấn không thể phát triển tiếp)



Hình 4b. Bưởi Da Xanh x Bưởi Đỏ
1. Hạt phấn nảy mầm, ống phấn phát triển từ đầu nhụy cho tới bầu nhụy



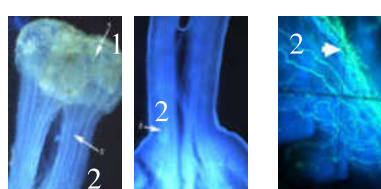
Hình 4.2a: Quýt ngọt QN-1 tự thụ
1. Hạt phấn không nảy mầm ngay trên đầu nhụy.



Hình 4.2b: Quýt ngọt x Cam xā đoài
1. Hạt phấn nảy mầm trên đầu nhụy
2. Ống phấn phát triển tới bầu nhụy



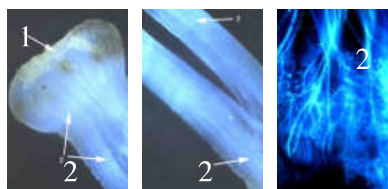
Hình 4c. Cam V2 tự thụ
Hạt phấn không nảy mầm ngay trên đầu nhụy



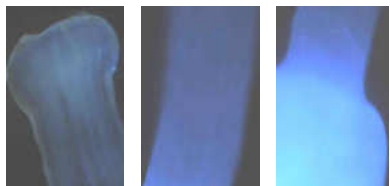
Hình 4d. Cam V2 x Quýt ngọt
1. Hạt phấn nảy mầm
2. Ống phấn phát triển tới bầu nhụy



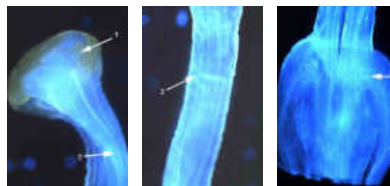
Hình 4e. Cam Xā Đoài XM-2 tự thụ
Hạt phấn không nảy mầm ngay trên đầu nhụy



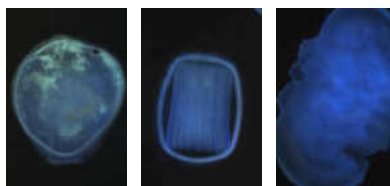
Hình 4f. Cam Xā Đoài XM-2 x Quýt ngọt
1. Hạt phấn nảy mầm
2. Ống phấn phát triển tới bầu nhụy



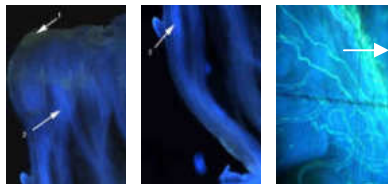
Hình 4g. Cam Xả Đoài XM-2
Hạt phấn không nảy mầm ngay trên đầu nhụy



Hình 4h. Cam Mật H1 x Cam Vân Du
1. Hạt phấn nảy mầm
2. Ống phấn phát triển tới bầu nhụy



Hình 4i. Quýt Cao QC-1 tự thụ
Hạt phấn không nảy mầm ngay trên đầu nhụy



Hình 4j. Quýt Cao x Cam Xả Đoài
1. Hạt phấn nảy mầm
2. Ống phấn phát triển tới bầu nhụy

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Đã xác định 4 nguyên nhân gây hiện tượng quả không hạt (tam bội, bất dục đực, cái và tự bất hòa hợp) của các giống bưởi Da Xanh, cam V2 và các cây cam, quýt tuyển chọn Cam Xả Đoài XM-2, Cam mật H-1, Quýt Cao và Quýt ngọt và có thể kết luận: Nguyên nhân quả không hạt của bưởi Da Xanh, Quýt ngọt (QN-1) là do tự bất hòa hợp (*self-incompatibility*); các giống và cây giống tuyển chọn còn lại (cam V2, Cam Xả Đoài XM-2, Cam mật H-1 và Quýt Cao) là do bất dục đực (*male sterility*).

- Cần nghiên cứu sâu hơn nữa về bản chất di truyền không hạt của các giống và cây tuyển chọn trên ở mức độ phân tử và để tính trạng không hạt được duy trì và ổn định trong sản xuất cần trồng thuần, cách ly đối với các giống khác để tránh thụ phấn chéo./.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Văn Bé, Nguyễn Văn Kha. Nguyên nhân có hạt trở lại của quả bưởi Năm roi (*Citrus grandis* Osb.). Tạp chí Sinh học. Trường Đại học Cần Thơ, 3/2010, trang 51 – 56.

2. Nguyễn Bá Phú và cs. Nhận diện mối quan hệ di truyền của hai cá thể quýt đường không hạt được phát hiện ở ĐBSCL bằng dấu phân tử ADN. Tạp chí

Khoa học. Trường Đại học Cần Thơ, 2011: 20a, trang 108 – 118.

3. Arumuganathan, K. and Earle, E. D. (1991a). Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry. *Plant Molecular Biology Reporter* 9, 229–233.

4. Geraci, G., Esen, A. and Soost, R. K. (1975). Triploid progenies from $2x \times 2x$ crosses of Citrus cultivars. *Journal of Heredity* 66, 177–178.

5. Hearn, C. J. (1969). Self-incompatibility and the effects of different pollen sources upon fruit characteristics of four Citrus hybrids. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 87, 183–187.

6. Iwamasa, M. and Oba, Y. (1980). Seedlessness due to self-incompatibility in Egami-Buntan, a Japanese pummelo cultivar. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Saga University* 49, 39–45.

7. Li, S. J. (1980). Self-incompatibility in ‘Matou’ wentan (*Citrus grandis* (L.) Osb.). *Hort. Science* 15, 298–300.

8. Nesumi, H., Nakano, M. and Yoshida, T. (2001). Mode of inheritance on the abnormal development of impregnated ovules derived from Mukaku-kishu. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 70, 403.

9. Soost, R. K. (1968). The incompatibility gene system in citrus. In: *Proceeding of the First International Citrus Symposium*. University of California. Riverside, California, Vol. 1, pp. 189–190.
10. Soost, R. K. (1987). Breeding citrus – genetics and nucellar embryony. In: Abbott A. J. and Atkin R. K. (eds) *Improving Vegetatively Propagated Crops*. Academic Press, London, pp. 83–110.
11. Ton, L. D. and Krezdorn, A. H. (1967). Growth of pollen tubes in three incompatible varieties of citrus. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 89, 211–215.
12. Wakana, A., Hanada, N., Park SungMin, Fukudome, I. and Kajiwara, K. (2005). Production of tetraploid forms of acid citrus cultivars by top grafting of shoots with sprouting axially buds treated with colchicine. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University* 50 (1), 93–102.
13. Wakana, S., Iwamasa, M. and Uemoto, S. (1981). Seed development in relation to ploidy of zygotic embryo and endosperm in polyembryonic citrus. In: *Proceedings of the Fourth International Citrus Congress*. International Society of Citriculture, Tokyo, Japan. Vol. 1, pp. 35–39.
14. Yamamoto, M., Matsumoto, R. and Yamada, Y. (1995). Relationship between sterility and seedlessness in citrus. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 64, 23–29.
15. Yamamoto, M., Matsumoto, R. and Kuniga, T. (2001). Inheritance of female sterility in Citrus. *Breeding Research* 3, 49–51./.

RESULTS OF DETERMINATION OF CAUSE OF SEEDLESSNESS OF DA XANH PUMMELO AND SOME SELECTED SEEDLESS ORANGE AND MANDARIN PLANTS

**Do Minh Phu¹, Huang Qui Xiang², Do Dinh Ca³,
Nguyen Duy Hung³, Nguyen Thi Huong³**

¹Master Student of Agricultural College, Quangxi University, China

²Researcher of Agricultural College, Quangxi University, China

³Researcher of Fruit and Vegetable Research Institute, Vietnam

Summary

Determining the cause of seedlessness in seedless citrus fruit varieties selected in nature on field is of great scientific and practical significance, which not only contributes to understanding their nature of genetics of them, but also plays as the scientific basis of breeding and establishing appropriate cultivation protocols for developing the seedless citrus fruit varieties and the selected plants stably and sustainably. The research has found that the reasons of seedlessness on some citrus fruit varieties, such as Da Xanh pummelo, V2 orange and some the other selected seedless citrus fruits in nature (Orange: Cam mat H-1, Xa Doai XM-2; mandarin: Quyt Cao, Quyt Ngot) are completely different. Varieties of Da Xanh pummelo, Quyt Ngot mandarin (QN-1) are *self-incompatibility* varieties, V2 orange, Mat orange (H-1), Quyt Cao mandarin (QC-1) and Xa Doai orange (XM-2) are *male sterility* varieties; and none of these are aneuploidy (3x, 5x, 7x).

Keyword: *Cao mandarin, triploid, self-incompatibility, male sterility, female sterility.*

Người phản biện: PGS.TS. Ngô Xuân Bình

Ngày nhận bài: 4/6/2013

Ngày thông qua phản biện: 8/7/2013

Ngày duyệt đăng: 16/7/2013