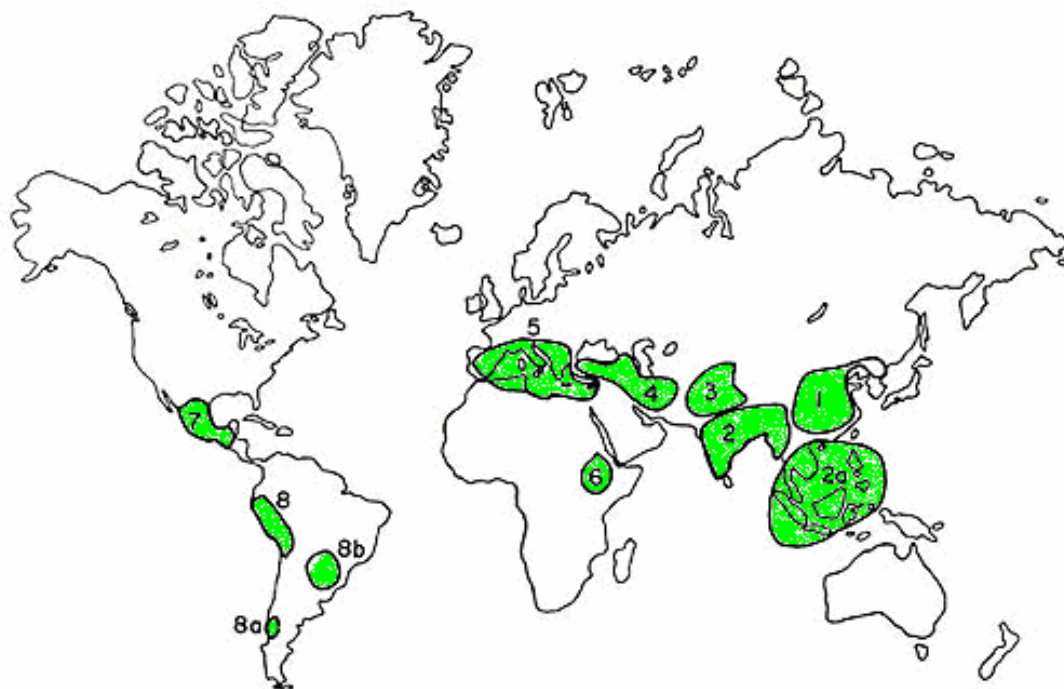


**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG NGHIỆP HÀ NỘI**

PGS.TS VŨ VĂN LIẾT

GIÁO TRÌNH QUỸ GEN VÀ BẢO TỒN QUỸ GEN



HÀ NỘI 2009

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU.....	5
<i>Chương 1</i>	7
ĐA DẠNG SINH HỌC, ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ TÀI NGUYÊN DI TRUYỀN THỰC VẬT ..	7
1.1 ĐA DẠNG SINH HỌC.....	7
1.1.1 Khái niệm đa dạng sinh học.....	7
1.1.2 Vai trò của đa dạng sinh học.....	8
1.2 ĐA DẠNG DI TRUYỀN.....	10
1.2.1 Khái niệm và ý nghĩa.....	10
1.2.2 Xác định đa dạng di truyền.....	11
1.2.3 Động thái vận động của đa dạng di truyền	14
1.3 VAI TRÒ CỦA ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ NGUỒN GEN THỰC VẬT.....	15
1.4 MỘT SỐ KHÁI NIỆM VÀ THUẬT NGỮ	18
1.5 CÁC HỌC THUYẾT VỀ NGUỒN GEN THỰC VẬT.....	22
1.5.1 Học thuyết “ Dây chuyền dị tương đồng”.....	22
1.5.2 Học thuyết Trung tâm đa dạng di truyền (Trung tâm phát sinh cây trồng)	22
1.6 CÁC TRUNG TÂM BẢO TỒN NGUỒN GEN THỂ GIỚI	32
1.7 BẢO TỒN NGUỒN GEN CỦA VIỆT NAM.....	34
<i>Chương 2</i>	40
THU THẬP NGUỒN GEN THỰC VẬT	40
2.1 XÓI MÒN NGUỒN TÀI NGUYÊN DI TRUYỀN THỰC VẬT.....	40
2.1.1 Mức độ xói mòn nguồn gen thực vật.....	40
2.1.2 Nguyên nhân xói mòn nguồn gen thực vật	41
2.1.3 Hậu quả của xói mòn nguồn gen	43
2.2 NHIỆM VỤ, XÁC ĐỊNH ƯU TIÊN THU THẬP NGUỒN GEN THỰC VẬT.....	44
2.2.1 Nhiệm vụ	44
2.2.2 Những nguồn gen cần thu thập ở Việt Nam	46
2.2.3 Xác định vùng và cây trồng ưu tiên thu thập ở Việt Nam	46
2.3 PHƯƠNG PHÁP THU THẬP	47
2.3.1 Chuẩn bị cho một cuộc thu thập nguồn gen thực vật.....	49
2.3.2 Thực hiện khảo sát cây trồng theo địa lý sinh thái	51
2.3.3 Hình thức tổ chức thu thập	59
2.3.4 Phương pháp lấy mẫu và cỡ mẫu thu thập.....	59
2.3.5 Thu thập thông tin trong quá trình thu thập nguồn gen (Passport data)	63
2.4 PHƯƠNG PHÁP THU THẬP TRUYỀN THÔNG.....	64
2.4.1 Thu thập nguồn gen hoang dại.....	64
2.4.2 Thu thập cây lấy hạt.....	64
2.4.3 Thu thập cây có củ.....	65
2.4.4 Thu thập cây ăn quả và cây thân gỗ.....	65
2.4.5 Thu thập vật liệu trồng trọt:.....	65
2.5 THU THẬP NGUỒN GEN IN VITRO.....	66
2.5.1 Khái niệm và cơ sở khoa học của thu thập nguồn gen thực vật In vitro.....	66
2.5.2 Phương pháp cơ bản nuôi cây In vitro	67
2.5.3 Hướng dẫn kỹ thuật của phương pháp.....	67
2.5.4 Một số nghiên cứu thu thập nguồn gen bằng kỹ thuật In vitro	69
2.6 THU THẬP NGUỒN GEN CÓ SỰ THAM GIA.....	72
2.6.1 Các bước thực hiện thu thập nguồn gen có sự tham gia của người dân:	73
2.6.2 Kỹ thuật họp nhóm nông dân.....	73
2.7 THU THẬP NGÂN HÀNG GEN HẠT NHÂN.....	77
2.7.1 Khái niệm:	77
2.7.2 Thu thập ngân hàng gen hạt nhân.....	78
2.7.3 Chia nguồn gen thành các nhóm di truyền khác biệt.....	80

2.7.4 Quản lý nguồn gen hạt nhân	82
2.7.5 Sử dụng nguồn gen hạt nhân.	82
2.8 PHÂN LOẠI NGUỒN GEN SAU THU THẬP	82
2.8.1 Phân loại dựa trên hệ thống phân loại thực vật.....	83
2.8.2 Phân nhóm dựa trên kiểu hình	84
2.8.3 Phân nhóm nguồn gen theo vùng địa lý sinh thái	86
2.9 XÂY DỰNG CƠ SỞ DỮ LIỆU	87
Chương 3	89
BẢO TỒN NỘI VI	89
(In situ)	89
3.1 NHỮNG PHƯƠNG PHÁP BẢO TỒN CƠ BẢN	89
3.2 KHÁI NIỆM BẢO TỒN NỘI VI (In situ).....	90
3.3 BẢO TỒN TRÊN TRANG TRẠI	91
3.4 CÁC PHƯƠNG PHÁP BẢO TỒN NỘI VI KHÁC	116
3.4.1 Khu bảo tồn sinh quyển hoặc khu bảo vệ đa dạng.....	116
3.4.2 Phương pháp vườn hộ.....	118
Chương 4	120
BẢO TỒN NGOẠI VI	120
4.1 KHÁI NIỆM	120
4.2 BẢO TỒN HẠT (SEED GENE BANK) (đối với hạt chịu làm khô -Orthodox seed conservation).....	121
4.2.1 Thu nhận mẫu nguồn gen hạt đưa vào ngân hàng hạt.....	123
4.2.2 Đăng ký nguồn gen vào ngân hàng gen hạt.....	124
4.2.3 Độ sạch mẫu hạt nguồn gen.....	126
4.2.4 Độ ẩm mẫu hạt và làm khô trước khi bảo tồn.....	127
4.2.5 Kiểm tra chất lượng hạt nguồn gen trước khi bảo tồn	131
4.2.6 Đóng bao và tồn trữ nguồn gen	137
4.2.7 Quản lý kho bảo tồn nguồn gen	138
4.2.8 Nhân nguồn gen.....	140
4.3 BẢO TỒN NGÂN HÀNG GEN ĐỒNG RUỘNG	141
(Bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng với loài không bảo tồn hạt khô (non-orthodox) và các loài nhân giống vô tính)	141
4.3.1 Chọn điểm và thu thập nguồn gen cho bảo tồn đồng ruộng	143
4.3.2 Nguyên lý bảo tồn đồng ruộng	144
4.3.3 Bố trí sắp xếp ngân hàng gen đồng ruộng.....	146
4.3.4 Quản lý đồng ruộng	146
4.3.5 Đánh giá đặc điểm ngân hàng gen đồng ruộng.....	148
4.3.6 Sử dụng ngân hàng gen đồng ruộng	149
4.4 BẢO TỒN ĐÔNG LẠNH	149
4.4.1 Cơ sở lý thuyết của bảo tồn đông lạnh	150
4.4.2 Kỹ thuật bảo tồn đông lạnh.....	152
4.4.3 Ứng dụng bảo tồn đông lạnh với các loài thân thảo	152
4.4.4 Bảo tồn đông lạnh với các loài cây thân gỗ.....	154
4.4.5 Tính toàn vẹn di truyền của thực vật khi bảo tồn đông lạnh.....	155
4.5 BẢO TỒN IN VITRO.....	155
4.5.1 Nguyên lý bảo tồn <i>In vitro</i>	155
4.5.2 Phân loại bảo tồn <i>In vitro</i>	156
4.5.3 Những kỹ thuật cơ bản trong bảo tồn <i>In vitro</i>	157
4.6 BẢO TỒN HẠT PHẦN.....	159
4.7 NGÂN HÀNG DNA.....	159
4.7.1 Những ngân hàng DNA hiện có trên thế giới	159
4.7.2 Bảo tồn DNA hiện nay trên thế giới	159

4.7.3 Kỹ thuật chủ yếu trong tách và tồn trữ DNA.....	160
4.7.4 Ngân hàng DNA như một bảo tồn bổ sung	161
4.7.5 Luật pháp quốc tế về ngân hàng DNA.....	161
<i>Chương 5</i>	163
ĐÁNH GIÁ VÀ SỬ DỤNG NGUỒN GEN	163
5.1 NHÂN TĂNG SỐ LƯỢNG HẠT	163
5.1.1 Kỹ thuật nhân để giữ nguyên tính xác thực di truyền của nguồn gen.....	163
5.1.2 Bố trí thí nghiệm nhân hạt	164
5.1.3 Các chỉ tiêu theo dõi	164
5.2 HỆ THỐNG HÓA THÔNG TIN	164
5.3 CÁC LOẠI THÍ NGHIỆM ĐÁNH GIÁ NGUỒN GEN	165
5.3.1 Đánh giá cơ bản	165
5.3.2 Đánh giá và mô tả đặc điểm chi tiết	165
5.4 PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM ĐÁNH GIÁ NGUỒN GEN.....	166
5.4.1 Công thức thí nghiệm trong đánh giá nguồn gen.....	166
5.4.2 Số lượng mẫu nguồn gen trong một thí nghiệm đánh giá.....	167
5.4.3 Đối chứng	167
5.4.4 Chọn điểm thí nghiệm	167
5.4.5 Kỹ thuật bố trí thí nghiệm.....	167
5.4.6 Thu thập thông tin thí nghiệm nguồn gen.....	171
5.4.7 Quản lý số liệu thu thập	174
5.4.8 Phân tích thống kê số liệu.....	175
5.5 ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐÁNH GIÁ NGUỒN GEN	178
5.6 TỔNG HỢP KẾT QUẢ VÀ TÀI LIỆU HÓA	180
5.7 SỬ DỤNG NGUỒN GEN THỰC VẬT	180
5.7.1 Nghiên cứu cơ bản:.....	180
5.7.2 Sử dụng trong các chương trình tạo giống với các mục tiêu khác nhau	180
5.7.5 Phân phối sử dụng nguồn gen.....	181
5.7.6 Sử dụng nguồn gen hoang dại và họ hàng hoang dại	183
5.7.7 Sử dụng nguồn gen cây trồng địa phương	187
5.7.8 Sử dụng nguồn gen mới tạo thành và nguồn gen cây trồng thế giới	188
TÀI LIỆU THAM KHẢO	191

MỞ ĐẦU

Nguồn gen thực vật có ý nghĩa vô cùng to lớn đối với cuộc sống con người trên trái đất, nó là nền tảng của đa dạng sinh học, đa dạng nông nghiệp, đảm bảo cho phát triển bền vững và chống nghèo đói. Con người đã nhận thức được tầm quan trọng của nguồn gen thực vật, vì vậy nhóm tư vấn Quốc tế (Consultative Group on International Agricultural Research) viết tắt là CGIAR đã được thành lập năm 1971. Một trong những sứ mệnh của CGIAR là nghiên cứu, hỗ trợ và hướng dẫn bảo tồn nguồn gen thực vật, cho đến nay tổ chức này đã có mạng lưới khắp toàn cầu gồm có 15 Trung tâm nghiên cứu Quốc tế. Mạng lưới của CGIAR hợp tác với hệ thống nghiên cứu nông nghiệp của tất cả các quốc gia, các tổ chức chính phủ và phi chính phủ. Mục tiêu tư vấn phát triển nông nghiệp bền vững, nâng cao chất lượng cuộc sống, đảm bảo an ninh lương thực, đảm bảo dinh dưỡng và sức khỏe con người, nâng cao thu nhập và cải thiện quản lý nguồn tài nguyên thiên nhiên.

Năm 1991 Viện Tài Nguyên Di Truyền Thực Vật Thế Giới (IPGRI) thành lập trên cơ sở CGIAR đặt trụ sở tại Rome, Italy. Viện có các cơ quan vùng ở Cali, Colombia (Châu Mỹ), Kuala Lumpur, Malaysia (Châu Á Thái Bình Dương), Nairobi, Kenya (Châu Phi), Aleppo, Syria (Tây Á và Bắc Phi), và Rome, Italy (Châu Âu). Năm 1996 thành lập thêm văn phòng tại Costa Rica, năm 1997 văn phòng tại Uganda và Cameroon. Tầm nhìn của IPGRI là “*Loài người ngày nay và trong tương lai có cuộc sống tốt hơn bằng tăng thu nhập, cải thiện an ninh lương thực bền vững, sức khỏe môi trường tốt hơn thông qua bảo tồn và phát triển đa dạng sinh học nông nghiệp trên nông trại và tài nguyên rừng*”. Nguồn tài nguyên được bảo tồn đa dạng tạo cơ hội tốt hơn cho sử dụng để đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng của con người trong tương lai. Ngày nay, gần một phần tư triệu loài thực vật trên trái đất đang cần được thu thập và bảo tồn, trong đó một số loài và vùng địa lý nguồn gen cần được ưu tiên thu thập và bảo tồn vì chúng đang bị đe dọa nghiêm trọng.

Việt Nam có vị trí địa lý, địa hình đa dạng cùng với lịch sử phát triển lâu đời của 64 nhóm dân tộc sinh sống và nền sản xuất nông nghiệp chiếm ưu thế. Điều kiện đó đã tạo nên nguồn tài nguyên di truyền thực vật của Việt Nam vô cùng đa dạng và phong phú. Những năm gần đây do dân số tăng nhanh, sự phát triển và phổ biến các giống cây trồng mới và sự phát triển của nền kinh tế, đa dạng tài nguyên di truyền của Việt Nam cũng đang bị đe dọa. Những nguyên nhân trên dẫn đến xói mòn nguồn gen và giảm đa dạng sinh học, một số vùng đã đến mức báo động. Việt Nam đã có những phản ứng tích cực trước nguy cơ mất đa dạng di truyền và nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Chính phủ đã thành lập Trung tâm Tài nguyên di truyền thực vật (TNDTTV) thuộc Viện Khoa học Nông nghiệp Việt năm 2005 (Quyết định số 220/2005/QĐ-TTg ngày 09/9/2005). Trung tâm TNDTTV có mạng lưới gồm 18 Viện, Trung tâm và Trạm nghiên cứu làm nhiệm vụ nghiên cứu và bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Những nhiệm vụ chính của mạng lưới Quốc gia trong quản lý và bảo tồn nguồn tài nguyên

- + Nhiệm vụ duy trì và phát triển ngân hàng gen thực vật Quốc gia: thu thập và lưu giữ nguồn gen tại ngân hàng gen (Ngân hàng gen hạt “seed genebank”, ngân hàng gen đồng ruộng “field genebank”, Ngân hàng gen *In vitro* và AND). Bên cạnh bảo tồn, nhiệm vụ đánh giá, tư liệu hoá; thu thập và bổ sung thông tin, cung cấp nguồn gen cho nghiên cứu khoa học, mở rộng sản xuất và phục vụ chọn tạo giống cây trồng
- + Xây dựng giải pháp bảo tồn và khai thác sử dụng tài nguyên thực vật gồm: đa dạng di truyền; công nghệ sinh học; sinh lý và kỹ thuật hạt giống; làm giàu thêm quỹ gen; ứng dụng tin học vào quản lý dữ liệu và thông tin tài nguyên thực vật
- + Bảo tồn thông qua sử dụng tài nguyên thực vật, phát triển và duy trì các điểm bảo tồn *In situ* nguồn gen cây trồng

- + Quản lý và đánh giá đa dạng sinh học nông nghiệp, động thái biến động đa dạng thực vật và
- + Điều phối hoạt động của mạng lưới bảo tồn quỹ gen cây trồng toàn quốc.

Bên cạnh thành lập Trung tâm TNDTTV quốc gia, nhiều chính sách và chương trình bảo tồn quỹ gen thực vật được Chính Phủ hỗ trợ, tạo điều kiện cho các nhà nghiên cứu, nhà bảo tồn tự nhiên, các địa phương và tổ chức xã hội khác tham gia vào quá trình bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật và đa dạng sinh học của Việt Nam

Giáo trình “Quỹ gen và bảo tồn quỹ gen” là một tài liệu sử dụng cho giảng dạy, nghiên cứu, tham khảo của sinh viên, học viên cao học và nghiên cứu sinh chuyên ngành Di truyền chọn giống, Khoa học cây trồng, Công nghệ rau –hoa và cảnh quan, Bảo vệ thực vật. Mục đích cung cấp cho người đọc, cán bộ giảng dạy và cán bộ nghiên cứu, sinh viên, học viên cao học và nghiên cứu sinh những kiến thức cơ bản về đa dạng sinh học, nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Những kiến thức và phương pháp thu thập, bảo tồn, đánh giá và sử dụng nguồn gen thực vật phục vụ cho chọn tạo giống cây trồng, bảo vệ môi trường sống và phát triển nông nghiệp bền vững.

Chương 1

ĐA DẠNG SINH HỌC, ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ TÀI NGUYÊN DI TRUYỀN THỰC VẬT

1.1 ĐA DẠNG SINH HỌC

Nhà địa lý người Ả Rập và một số tác giả khác của cuốn sách làm vườn thế kỷ thứ 10 sau công nguyên đã ghi nhận sự thay đổi có ý nghĩa của thế giới đạo hồi vùng nông thôn ở thời trung cổ (Watson 1983) liên quan đến đa dạng sinh học. Các cây trồng mới, hầu hết là cây lấy hạt, cây ăn quả, cây rau và một số cây trồng khác tạo nên sự đa dạng cây trồng. Tác giả Al-Jahiz (thế kỷ thứ 9 sau công nguyên) cũng ghi nhận có 360 giống chà là (*Phoenix dactylifera*) được bán ở chợ, thế kỷ sau đó Ibn Rusta cũng công bố có 78 loại nho (*Vitis vinifera*) được trồng ở vùng này. Al-Ansari đã viết về thị trấn nhỏ ở Bắc Phi năm 1400 sau công nguyên (AD) mô tả ở thị trấn này có 65 loại nho, 35 loại lê, 28 loại sung, 16 loại mơ ... Đây là những tài liệu đầu tiên đề cập đến đa dạng tài nguyên di truyền thực vật.

Alexander và Humboldt có thể là những tác giả đầu tiên xem xét nguồn gốc cây trồng từ năm 1807. Đây có thể là lý do con người phát triển từ săn bắn sang trồng trọt, quan điểm này đã được nhiều tác giả thảo luận như Ucko và Dimbleby (1969), Harlan và cs. (1976), Zeven và de Wet (1982), Smith (1995), Harris (1996) và Diamond (1997). Alphonse de Candolle trong cuốn sách ông viết năm 1882 “*Origine de Plantes Cultivées*”, đã chỉ ra nguồn gốc nơi cây trồng được thuần hóa là: Trung Quốc, Tây Nam Á (gồm Ai Cập và Châu Á). Năm 1926, trong hội nghị di truyền Quốc tế lần thứ 5 tại Berlin, CHLB Đức nhà thực vật học người Nga N. I. Vavilov đã trình bày lý thuyết của ông về trung tâm phát sinh cây trồng lần đầu tiên. Lý thuyết của ông là một công trình vĩ đại được ứng dụng đến ngày nay, ông tiếp tục nghiên cứu đến khi ông mất vào năm 1943. Harlan và cs. (1976) coi Cận Đông là Trung tâm cách mạng nông nghiệp “Center of Agricultural Innovation”, nơi lúa mạch đầu tiên được thuần hóa, sau đó là lúa mì, muộn hơn là đậu Hà Lan, đậu lăng... Các loài cây ăn quả thân leo và thân gỗ được thuần hóa đưa vào hệ thống trồng trọt cùng với các kỹ thuật nông nghiệp khác được hình thành ở Trung tâm này.

1.1.1 Khái niệm đa dạng sinh học

Khái niệm đa dạng sinh học (Biodiversity) được nhiều cơ quan quốc tế và các nhà khoa học đưa ra, bốn khái niệm được nhiều người quan tâm sau đây:

- + “Đa dạng sinh học là sự phong phú của mọi cơ thể sống có từ tất cả các nguồn trong các hệ sinh thái trên cạn, dưới nước ở biển và mọi tổ hợp sinh thái mà chúng tạo nên. Đa dạng sinh học bao gồm sự đa dạng trong loài (đa dạng di truyền hay còn gọi là đa dạng gen), giữa các loài (đa dạng loài) và các hệ sinh thái (đa dạng sinh thái)” (theo công ước đa dạng sinh học năm 1992)
- + “Đa dạng sinh học là đa dạng các loài thực vật, động vật, vi sinh vật tồn tại và tác động qua lại lẫn nhau trong một hệ sinh thái. Trong hệ sinh thái nông nghiệp, tác nhân thụ phấn, thiên địch, giun đất, vi sinh vật đất là thành phần đa dạng chìa khóa, chúng đóng vai trò sinh thái quan trọng trong quá trình chuyển gen, điều khiển tự nhiên, chu kỳ dinh dưỡng và tái thiết lập cân bằng”
- + Đa dạng sinh học nông nghiệp được nêu ra trong những năm 1980, trong lý thuyết chung của đa dạng sinh học, tương tự đa dạng dạng sinh học, đa dạng sinh học nông

nghiệp có những mức khác nhau, liên quan đến đa dạng hệ sinh thái nông nghiệp cũng như các loài cây trồng và gia súc. “Đa dạng sinh học nông nghiệp là biến dị di truyền trong quần thể, các giống và chủng, với nghĩa rộng hơn nó bao gồm cả hệ vi sinh vật đất trong khu vực trồng trọt, côn trùng, nấm, các loài hoang dại cũng như văn hóa địa phương”.

- + “Đa dạng sinh học là biến dị có mặt trong tất cả các loài thực vật và động vật, vật liệu di truyền của chúng và hệ sinh thái nơi các biến dị đó xảy ra. Đa dạng ở ba mức (1) đa dạng di truyền (biến dị trong gen và trong kiểu gen); (2) đa dạng loài (sự phong phú các loài) và (3) đa dạng sinh thái (cộng đồng loài và môi trường của chúng)

Ba mức độ của đa dạng sinh học là đa dạng di truyền, đa dạng loài và đa dạng hệ sinh thái được khái niệm như sau:

- + Đa dạng di truyền:

Đa dạng di truyền là nhiều gen trong một loài, mỗi loài có các cá thể, mỗi cá thể là tổ hợp các gen đặc thù, có nghĩa là loài có các quần thể khác nhau, mỗi quần thể có tổ hợp di truyền khác nhau. Do vậy bảo tồn đa dạng di truyền phải bảo tồn các quần thể khác nhau của cùng một loài.

- + Đa dạng loài:

Đa dạng loài là nhiều loài trong một vùng hay một nơi sinh sống tự nhiên (rừng mưa, rừng ngập mặn và nơi sinh sống tự nhiên khác). Loài có thể tạo thành các nhóm, mỗi nhóm có cùng một số đặc điểm hay tập tính sinh sống nào đó.

- + Đa dạng hệ sinh thái:

Đa dạng hệ sinh thái là nhiều hệ sinh thái trong một địa điểm, một hệ sinh thái có một cộng đồng các sinh vật sống, các sinh vật sống này tác động qua lại với môi trường tự nhiên của hệ sinh thái, một hệ sinh thái có thể bao trùm một phạm vi rộng hoặc phạm vi hẹp khác nhau. Trong một hệ sinh thái có thể chia thành các hệ sinh thái phụ tùy theo nhu cầu nghiên cứu và bảo tồn của vùng và quốc gia.

1.1.2 Vai trò của đa dạng sinh học

- + **Vai trò của đa dạng sinh học đến đời sống con người**

Đa dạng hệ động và thực vật đem lại cơ hội tuyệt vời không chỉ cho tạo giống cây trồng, vật nuôi mà còn nhiều lợi ích khác lớn hơn trong tương lai. Một số sử dụng trực tiếp như cung cấp dinh dưỡng, phát triển bền vững và các cây trồng thích nghi với điều kiện địa phương. Những giá trị sử dụng gián tiếp như tạo môi trường sinh thái, sức khỏe cộng đồng, tác nhân thụ phấn và điều khiển sinh học, hệ sinh vật đất. Đa dạng sinh học đem lại sự phát triển nông nghiệp bền vững và sự thịnh vượng cho con người hiện tại và trong tương lai.

Tóm tắt vai trò của đa dạng sinh học với đời sống con người

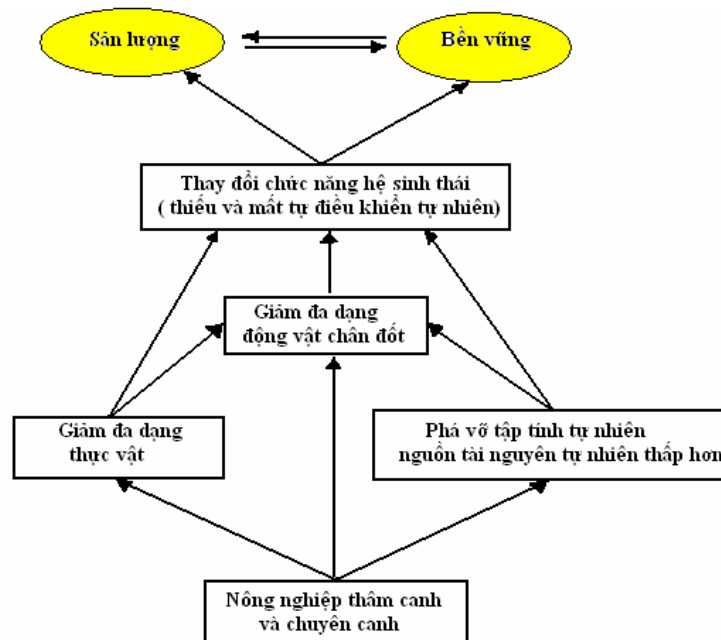
- Lương thực
- Dinh dưỡng
- Thuốc chữa bệnh
- Bảo tồn văn hóa, tập quán và phát triển bền vững

- + **Vai trò đa dạng sinh học với hệ sinh thái nông nghiệp**

Ngày nay, các nhà khoa học trên thế giới đã quan tâm nhiều hơn đến vai trò và ý nghĩa của đa dạng sinh học đối với hệ thống nông nghiệp (Swift và cộng sự, 1996). Các nghiên cứu cho rằng trong khi hệ sinh thái tự nhiên là sản phẩm cơ bản của đa dạng thực vật thông qua dòng năng lượng, dinh dưỡng và điều tiết sinh học. Đa dạng giảm dẫn đến thiên tai,

dịch bệnh đối với nông nghiệp nghiêm trọng hơn, đa dạng tạo ra cân bằng sinh học giữa dịch bệnh và thiên địch, điều hòa khí hậu, bảo tồn tài nguyên nước và tài nguyên đất

Các quá trình của dòng năng lượng và cân bằng sinh học đang bị ảnh hưởng do thâm canh và canh tác độc canh, do canh tác thâm canh và độc canh cần đầu tư cao các chất hóa học (thuốc trừ sâu, thuốc trừ cỏ và phân bón). Điều khiển tự nhiên vận động di truyền quần thể bị thay thế bằng các tác động của con người. Những hoạt động thâm canh, chọn lọc của con người đã thay thế quá trình tiến hóa và chọn lọc tự nhiên. Ngay cả sinh trưởng và thu hoạch, độ màu mỡ của đất cũng không trải qua chu kỳ dinh dưỡng tự nhiên. Giảm đa dạng thực vật và dịch bệnh có thể là nguyên nhân ảnh hưởng đến chức năng hệ sinh thái, sản lượng nông nghiệp và sự bền vững như minh họa tại sơ đồ sau:



Hình 1.1 : Ảnh hưởng thâm canh đến đa dạng và chức năng của hệ sinh thái nông nghiệp
(Nguồn: Miguel A. Altieri and Clar I. Nicholls, 1999)

+ Đa dạng sinh học duy trì và nâng cao sức khỏe môi trường sống

Môi trường sống của con người, hệ động thực vật phụ thuộc vào nguồn nước, tài nguyên đất và không khí. Đa dạng tạo ra cân bằng không khí, điều hòa nhiệt độ, ẩm độ không khí phù hợp với sinh vật sống. Ví dụ số lượng thực vật giảm gây ra mất cân bằng lượng CO₂ và O₂ trong không khí ảnh hưởng đến tất cả sự sống trên trái đất. Mất đa dạng chu trình vật chất và chu trình sinh học xảy ra không hoàn chỉnh gây ra những mất cân bằng như nói trên. Tương tự như vậy, một số côn trùng, nấm hay vi sinh vật có ích khử độc tố tự nhiên hay sinh ra từ quá trình sinh học khác không còn nguồn thức ăn do mất đa dạng, chúng giảm số lượng thậm chí biến mất. Độc tố sinh ra trong tự nhiên hay từ sinh vật sống khác tồn dư nhiều hơn là nguyên nhân ảnh hưởng đến môi trường.

Đa dạng sinh học không những bảo tồn, duy trì số lượng nguồn tài nguyên nước và đất, nó còn giúp tăng độ màu mỡ của đất, nâng cao chất lượng nguồn nước cho con người và các sinh vật.

Đa dạng có vai trò làm giảm nhưng tác động của con người đến môi trường, như ngăn ngừa và phân giải khí thải, chất thải, ngay cả chất thải rắn do các hoạt động của con người tạo ra chuyển thành dạng hữu ích hoặc ít độc hại hơn.

Thế giới đã có công ước bảo vệ đa dạng sinh học, công ước được hoàn thiện tại Nairobi vào tháng 5/1992 và có hiệu lực từ 29/12/1993. Công ước là công cụ pháp lý giải quyết các vấn đề liên quan đến đa dạng sinh học toàn cầu. Công ước bao gồm cách tiếp cận tổng thể bảo tồn đa dạng sinh học, sử dụng bền vững tài nguyên thiên nhiên, sự chia sẻ bình đẳng, công bằng các lợi ích của việc sử dụng tài nguyên di truyền. Công ước có 42 điều và 3 phụ lục, tìm hiểu sâu hơn tham khảo tại trang website www.biodiv.org.

Thế giới đã hình thành mạng lưới đa dạng sinh học quốc tế và vùng, bên cạnh mạng lưới còn có các cơ quan quốc tế khác tham gia vào quá trình bảo vệ đa dạng sinh học toàn cầu như minh họa trong hình 1-2



Hình 1-2 : Các chương trình và cơ quan vùng đa dạng sinh học nông nghiệp quốc tế

1.2 ĐA DẠNG DI TRUYỀN

1.2.1 Khái niệm và ý nghĩa

Khái niệm đa dạng di truyền được nhiều tài liệu đề cập, theo công ước đa dạng sinh học năm 1992 đa dạng di truyền và đa dạng loài được nêu như sau:

- + Đa dạng di truyền là sự phong phú những biến dị trong cấu trúc di truyền của các cá thể bên trong loài hoặc giữa các loài; những biến dị di truyền bên trong hoặc giữa các quần thể
- + Đa dạng loài là sự phong phú các loài được tìm thấy trong các hệ sinh thái tại một vùng lãnh thổ xác định thông qua điều tra, kiểm kê tài nguyên di truyền thực vật

Khái niệm đa dạng di truyền cũng được các nhà nghiên cứu khác đưa ra, ba khái niệm khác được trình bày dưới đây:

- + Đa dạng di truyền (Genetic diversity) là biến dị di truyền có mặt trong một quần thể hoặc loài.
- + Đa dạng di truyền là nhiều gen trong một loài, mỗi loài có các cá thể là tổ hợp gen đặc thù của chúng, điều này có nghĩa là loài có các quần thể khác nhau, mỗi quần thể có tổ hợp di truyền khác nhau. Do vậy để bảo tồn đa dạng di truyền phải bảo tồn các quần thể khác nhau của loài (Wanda W. Collins và cộng sự 1999, Mohd Said Saad và V. Ramanatha Rao, 2001)
- + Đa dạng di truyền là biến dị của sinh vật sống đã di truyền lại các biến dị di truyền đó cho thế hệ sau, nó tạo các loài và quần thể thích nghi với môi trường, sinh trưởng và thay đổi thích nghi với môi trường khi môi trường thay đổi

1.2.2 Xác định đa dạng di truyền

Xác định đa dạng di truyền dựa trên kiểu hình đã được nghiên cứu trước đây, ngày nay trên cơ sở của di truyền phân tử và công nghệ sinh học, đa dạng di truyền còn được xác định dựa trên chỉ thị phân tử.

+ Xác định đa dạng di truyền dựa trên kiểu hình:

Xác định mức độ đa dạng của quần thể của loài dựa trên kiểu hình cần theo dõi, đánh giá tất cả các tính trạng, bộ số liệu thu được từ đánh giá kiểu hình được phân tích bằng các mô hình toán thống kê để xác định mức độ đa dạng.

+ Xác định đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị phân tử:

Sự phát triển của di truyền phân tử mức độ đa dạng di truyền được xác định trên cơ sở mức độ đa hình hay đồng hình dựa vào chỉ thị phân tử.

Một số mô hình thống kê xác định đa dạng di truyền khi có số liệu đánh giá kiểu hình hay marker phân tử như: mô hình toán thống kê dựa trên khoảng cách Ơ – Klit (Euclidean Distance) của Gower (1985), khoảng cách Rogers' Distance (1972), khoảng cách Roger cải tiến, đa hình Reynold (1983); đa hình di truyền tiêu chuẩn của Nei (Nei's Standard Genetic Dissimilarity) (1978 và 1983).

Dựa trên kiểu hình một số tham số được tính như sự phong phú của loài (S), phong phú tương đối (R), tần xuất của loài và chỉ số đa dạng.

+ Sự phong phú của loài (species richness): phân tích mức độ phong phú loài của mỗi cộng đồng, đây là phương pháp xác định đa dạng đơn giản nhất và tìm ra số loài trong cộng đồng. Nó chỉ xác định số loài tìm thấy khi quan sát mẫu (ký hiệu là S). Minh họa của giá trị S có thể thông qua đồ thị và nó cung cấp thông tin về mức độ phong phú của mỗi loài trong cộng đồng.

Một số công thức tính giá trị S như sau:

$$S = n + ((n-1)/n)^k$$

Trong đó: S = sự phong phú của loài (species richness); n = tổng số loài có mặt trong quần thể mẫu; k = số loài duy nhất tìm thấy trong một mẫu.

Công thức tính khác tương tự là :

$$S = E + k(n-1)/n$$

Trong đó : E = tổng số loài trong mỗi mẫu; k = số loài hiếm/duy nhất; n = số mẫu quan sát

Khi xem xét đa dạng tại một địa phương tính theo công thức

$$S = cA^z$$

Trong đó: c = số đặc thù của mỗi loài; A = diện tích nghiên cứu; z = chu vi đường dốc

+ Tính mức độ phong phú tương đối (Relative abundance) là tỷ lệ của mỗi loài có mặt trong cộng đồng

$$\text{Phong phú tương đối} = \frac{\text{Số cá thể của một loài}}{\text{Tổng số cá thể của toàn bộ cộng đồng}}$$

+ Tính phân bố (hay tần suất) của mỗi loài trong cộng đồng bằng tính số cộng đồng mà loài đó có mặt. Công thức phổ biến nhất để tính đa dạng loài là chỉ số đa dạng Simpson:

$$D = N(N-1) / \sum n(n-1)$$

Trong đó: D = chỉ số đa dạng; N = tổng số sinh vật của tất cả các loài; n = số cá thể của một loài đặc thù

Giá trị D cao chỉ ra rằng ở địa điểm đó còn ổn định và nguyên trạng, D thấp địa điểm đó đã có xáo trộn và không còn nguyên trạng, chỉ số này áp dụng cho thực vật nhưng cũng có thể áp dụng cho động vật

Một số chỉ số đa dạng sinh học được đề xuất của một số tác giả như:

Chỉ số α - diversity để xác định đa dạng trong một cộng đồng (Simpson, 1949; Shannon và Weaver, 1963 và McIntosh, 1967).

Chỉ số β - diversity xác định đa dạng giữa các cộng đồng (Whittaker, 1960, Cody, 1975, Wilson and Shmida, 1984)

Chỉ số γ -diversity xác định đa dạng các giống địa phương (Schluter và Ricklefs, 1993, Halfter, 1988).

Chỉ số đa dạng Simpson cho giá trị bằng số đa dạng trên tổng số loài (species richness) và tỷ lệ cá thể trong hệ sinh thái. Mặc dù các chỉ số này đưa ra số lượng phân bố các cá thể của loài trong cộng đồng, nhưng không thể tính biến động giữa loài.

+ Chỉ số Shannon-Weiner đã cải tiến trên cơ sở chỉ số Simpson (A. Roy, S.K. Tripathi, S.K. Basu, 2003; John Porter và Henning Hogh-Jensen, 2002)

Xác định đa dạng sinh học theo chỉ số Shannon-Weiner hay chỉ số thông tin theo công thức:

$$H' = -[\sum(p_i)(\ln p_i)]$$

Trong đó : H' là số lượng đa dạng trong một hệ sinh thái, độ lớn của H' phản ánh mức độ phong phú của loài, p_i là sự có mặt của mỗi loài so với tổng số loài (có giá trị từ 0 - 1) và log tự nhiên p_i

Ví dụ : Một lô mẫu nguồn gen có 5 loài (sp1, sp2, sp3, sp4 và sp5), với tổng số quan sát trong lô mẫu 160 cá thể.

Trong đó:

loài 1 (sp1) = 26 cá thể

loài 2 (sp2) = 32 cá thể

loài 3 (sp3) = 45 cá thể

loài 4 (sp4) = 18 cá thể

loài 5 (sp5) = 39 cá thể

Tính chỉ số đa dạng theo Shannon-Weiner như sau:

- Tính giá trị P_i = Số cá thể của mỗi loài/ tổng số cá thể theo dõi
- $p_1 = 26/160 = 0,16$, có thể nói loài sp1 có 16% trong tổng số loài trong lô mẫu theo dõi.
- Log giá trị p_i trên $\log p_1 = \ln(0,16) = -1,82$
- H' của loài sp1 = $(p_i)(\ln p_i) = (0,16)(-1,82) = -0,30$

Tiếp tục tính các giá trị p_i và $\log p_i$ với các loài khác, sau khi tính giá trị đa dạng của các loài ta có giá trị trong bảng sau:

Bảng 1-1: Tính giá trị p_i của một số loài

Loài (sp)	sp1	sp2	sp3	sp4	sp5	Tổng (\sum)
Số cá thể (N)	26	32	45	18	39	160
Tỷ lệ ($N/\sum N$) (p_i)	0,16	0,20	0,28	0,11	0,24	-----
$\ln p_i$	-1,82	-1,61	-1,27	-2,18	-1,41	-----
$(P_i)(\ln p_i)$	-0,30	-0,32	-0,36	-0,25	-0,34	-1,57 (- H')

Kết quả cuối cùng $H' = -[\sum(P_i)(\ln P_i)] = -[-1,57] = 1,57$

Khi tính được giá trị của nhiều lô mẫu, lô mẫu nào có giá trị H' cao sẽ đa dạng hơn.

- + Chỉ số Simpson : Phương pháp khác tính đa dạng sinh học là chỉ số đa dạng sinh học Simpson bằng công thức:

$$H' = 1/\sum(p_i^2)$$

Trong đó: p_i tính như trong chỉ số Shannon-Weiner

Những chỉ số này đôi khi cho kết quả khác nhau vì mỗi chỉ số đặt mức độ quan trọng của các yếu tố khác nhau, đặc biệt là hai yếu tố sự phong phú của loài hoặc nhiều loài, họ hàng liên quan. Mỗi chỉ số cho mức độ quan trọng của yếu tố khác nhau, do vậy không nên so sánh giá trị của các chỉ số khác nhau khi xác định đa dạng di truyền.

Khi xác định đa dạng so sánh tại một địa điểm nhưng ở 2 thời gian khác nhau hoặc là 2 vị trí khác nhau, cần thiết tính loài đó vắng mặt ở một điểm hay thời gian này, nhưng có mặt ở điểm khác hay thời gian khác. Các loài này có $p = 0,0$ nhưng để tính log cho $p = 0,001$ và sử dụng chỉ số đa dạng Simpson

- + Mô hình thống kê đa dạng di truyền bằng chỉ số đa dạng di truyền của Shannon Weaver (Dẫn theo Lưu Ngọc Trinh, 2002) như sau:

$$H' = \frac{\sum_{i=1}^k p_i(\log_2 p_i)}{\log_2 n}$$

Trong đó : k là số lượng các mức quan sát của chỉ tiêu cần tính và p_i là tỷ lệ của mức quan sát thứ i , n là tổng số quan sát

- + Hệ số Simpson đa dạng số lượng giống lúa (Dẫn theo Lưu Ngọc Trinh, 2002)

$$H' = 1 - \sum_{i=1}^k (f_i)^2$$

Trong đó: f_i là tần suất của giống địa phương thứ i trong k lần quan sát

Đa dạng di truyền được hình thành trong quá trình phát triển của quần thể, nó là kết quả của tương tác giữa kiểu gen và môi trường. Tương tác kiểu gen (genotype) và môi trường (environment) ký hiệu là GEI (genotype x environment interactions). GEI là hiện tượng hai hay nhiều kiểu gen phản ứng khác nhau với sự thay đổi của môi trường (Paolo, 2002). Xác định mức độ tương tác kiểu gen môi trường dựa trên các mô hình toán học. Ví dụ mô hình tình hiệu quả tương tác kiểu gen và môi trường bằng hồi quy nhân tố. Mô hình hồi quy nhân tố đầy đủ có thể bao gồm các thành phần hồi quy được tính bằng công thức của (Denis, 1980, 1988):

$$Y_{ij} = \mu + [\sum_k p_k \cdot G_{ik} + \alpha_i] + [\sum_h \delta_h \cdot E_{jh} + \beta_j] + [\sum_{hk} G_{ik} \cdot \theta_{kh} \cdot E_{jh} + \sum_h \alpha'_{ih} \cdot E_{jh} + \sum_k \beta'_{jk} \cdot G_{ik} + \varepsilon_{ij}]$$

Trong đó p_k hệ số hồi quy hiệp phương sai kiểu gen G_{ik} ; α_i số dư hiệu quả kiểu gen Φ_h là hệ số hồi quy hiệp phương sai môi trường E_{jh} ; β_j là số dư hiệu quả môi trường; θ_{kh} hệ số hồi quy qua các hiệp phương sai G_{ik} và E_{jh} ; α'_{ih} là hồi quy kiểu gen i của hiệp phương sai môi trường đặc thù E_{jh} ; β'_{jk} là môi trường j hệ số hồi quy của hiệp phương sai kiểu gen cụ thể G_{ik} , và ε_{ij} hiệu quả tương tác sai số. Tất cả tham số của mô hình được coi là cố định.

Ứng dụng di truyền phân tử phân tích đa dạng di truyền dựa vào marker phân tử được trình bày trong phần bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật chương 3 và chương 4 của giáo trình.

1.2.3 Động thái vận động của đa dạng di truyền

Đa dạng di truyền luôn luôn thay đổi qua cả không gian và thời gian, diễn hình là thay đổi số lượng và kiểu đa dạng di truyền trong một loài và giữa các loài trong phạm vi tự nhiên của nó. Đa dạng di truyền có thể thay đổi qua thời gian dài và ngay cả trong một thời gian ngắn sau một số thế hệ của loài đó. Sự thay đổi đa dạng di truyền của một loài trong tự nhiên đã tạo ra động lực thúc đẩy sử dụng nguồn gen cho cải tiến cây trồng. Khi có hiểu biết sự vận động của đa dạng con người đưa ra quyết định quản lý, bảo tồn thúc đẩy đa dạng di truyền theo hướng có lợi cho con người. Đa dạng di truyền bị tác động của một số quá trình tự nhiên liên tục, quá trình tự nhiên này là đột biến, di thực, trôi dạt di truyền và chọn lọc.

- Đột biến tự nhiên:

Thực vật sống trong điều kiện tự nhiên, chịu tác động của các yếu tố môi trường như bức xạ, các tia, nhiệt độ... là những nguyên nhân gây ra đột biến tự nhiên. Đột biến có thể ở mức nhiễm sắc thể, DNA hay mức protein, nó làm sai lệch di truyền so với loài ban đầu, sai lệch này được nhân lên hay lặp lại qua các thế hệ, dưới tác động của di truyền và chọn lọc tự nhiên tạo ra quần thể mới, loài mới. Như vậy đột biến đã tạo thêm đa dạng di truyền ở mức cá thể hay mức loài.

Đột biến dưới tác động của chọn lọc tự nhiên tạo ra quần thể hay loài thích nghi hơn với thay đổi môi trường, bởi vì chọn lọc tự nhiên sinh vật giữ lại những biến dị có lợi và đào thải những biến dị không có lợi. Khi chọn lọc có tác động của con người hướng vận động của đa dạng thay đổi, do con người chọn lọc giữ lại biến dị có lợi cho mình, đôi khi biến dị đó không có lợi cho sinh vật. Tuy nhiên dưới hình thức nào đa dạng di truyền cũng thay đổi theo hướng thích nghi hơn và là động lực tiến hóa của sinh vật

Lịch sử và tỷ lệ đột biến một loài và nguyên lý di truyền còn có liên quan đến một số quá trình khác như thay đổi địa lý và dân số... Đa dạng di truyền duy trì một dấu vết lịch sử cho phép nhìn nhận lại quá khứ phát triển của các loài như thế nào? Phản ứng của nó với thay đổi khí hậu như băng giá hoặc các sự kiện khí hậu khác làm giảm mạnh lượng cùng một thời điểm và được tái lập và phát tán sau khi có các điều kiện môi trường thuận lợi hơn.

- Sự di thực (migration) và trôi dạt di truyền:

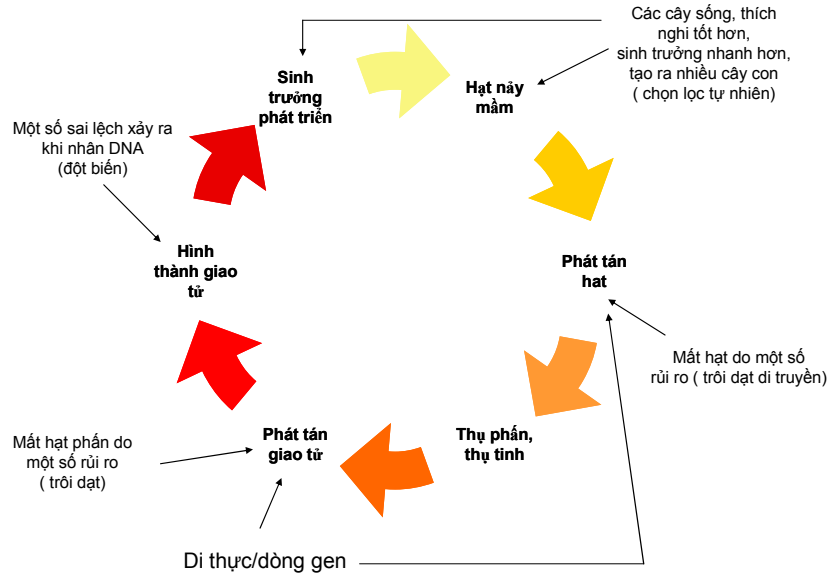
Sự di thực hay trôi dạt di truyền thường là sự vận động đa dạng di truyền trong một loài. Ở thực vật, sự kiện này xảy ra khi phát tán phần, hạt giống và nhân giống sinh dưỡng như mầm, chồi, rễ ở các loài có thể tái sinh vô tính. Sự di thực cũng gọi là dòng gen, nó xảy ra cả ở quần thể vô tính khi gặp khu vực mới và hỗn hợp quần thể do phát tán phần hay hạt giống. Sự di chuyển gen xảy ra phụ thuộc vào tần xuất sinh sản và khoảng cách không gian tạo điều kiện cho phần và hạt phát tán

Trôi dạt di truyền hoặc trôi dạt di truyền ngẫu nhiên, là hình thức đơn giản của thay đổi đa dạng di truyền, cụ thể hơn là sự thay đổi tần xuất các allele khác nhau qua các thế hệ. Ví dụ hạt phấn chứa các allele khác nhau khi thực hiện thụ phấn nhờ gió hoặc côn trùng đến các cá thể hay quần thể khác. Khi quần thể tạo ra hạt và phát triển thành thế hệ mới không còn giữ nguyên kiểu gen của quần thể ban đầu. Một số trường hợp mất đa dạng di truyền qua các thế hệ do nguyên nhân này

- Chọn lọc:

Quá trình chọn lọc ảnh hưởng đến đa dạng di truyền, chọn lọc tự nhiên đã tạo cho quần thể thích nghi hơn với môi trường, nhưng chọn lọc tự nhiên không tạo ra thích nghi giống nhau giữa các cá thể trong quần thể mà nó xảy ra theo rất nhiều hướng. Những cá thể này phù hợp tốt hơn với môi trường sống và nó di truyền lại cho thế hệ con cái của nó các tính trạng thích nghi đó. Như vậy tần suất allele thích nghi cao hơn thế hệ bố mẹ chúng. Chính đây là nguyên nhân cơ bản của trôi dạt di truyền và tần suất allele có lợi cho sinh vật nhưng chưa hẳn đã có lợi cho con người.

Thay đổi đa dạng di truyền qua thời gian và ý nghĩa quan trọng cho quản lý các loài thực vật. Bởi vì thay đổi đa dạng xảy ra qua thời gian cho nên số thế hệ sẽ có ảnh hưởng lớn đến thay đổi đa dạng di truyền. Điển hình, chọn lọc tự nhiên có thể mất một thời gian dài hàng chục, hàng trăm năm thậm chí hàng 1000 năm để thay đổi đa dạng di truyền của một quần thể hay một loài. Hơn nữa, quá trình thay đổi qua các thế hệ lại không có mức độ và xu hướng giống nhau. Đột biến tăng đa dạng di truyền còn di thực, trôi dạt và chọn lọc lại làm giảm đa dạng di truyền. Chọn lọc tự nhiên và trôi dạt di truyền tăng đa dạng di truyền khác nhau giữa các quần thể, di chuyển có xu hướng đồng nhất di truyền, giảm sự khác nhau giữa các quần thể. Thúc đẩy đa dạng di truyền tự nhiên có ý nghĩa quan trọng trong quản lý loài và câu hỏi có liên quan về tính trạng “ bình thường” và “ sức khỏe “ của đa dạng di truyền. Xác định mức độ đa dạng di truyền tại các thời điểm, địa điểm, thế hệ khác nhau sẽ có giá trị khác nhau. Như vậy cần chú ý khi thiết kế nghiên cứu nguồn gen và các giá trị thay thế. Ví dụ sự khác nhau về đa dạng di truyền giữa các cây bố mẹ và hạt của chúng, giữa các mẫu, giữa các cây mọc hoang và cây trồng có quản lý và chỉ ra chỉ ra rằng điều kiện quản lý nguồn gen phải phù hợp hoặc trong phạm vi trung bình biến dị của chúng



Hình 1-3 : Các quá trình ảnh hưởng đến đa dạng di truyền

1.3 VAI TRÒ CỦA ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ NGUỒN GEN THỰC VẬT

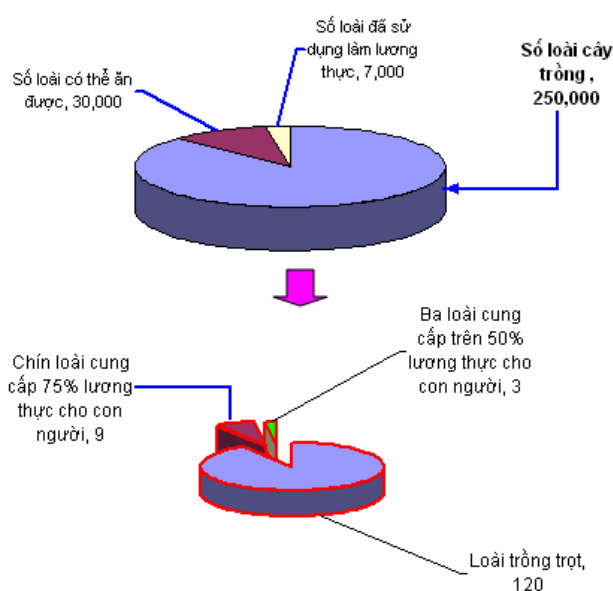
Bảo tồn và quản lý đa dạng di truyền các loài thuần hóa đã cải thiện sản lượng nông nghiệp trong 10.000 năm, các quần thể đa dạng tự nhiên đã cung cấp lương thực và các sản phẩm khác lâu dài hơn, số lượng lớn các loài cung cấp hàng nghìn sản phẩm thông qua nông nghiệp và thu hái tự nhiên. Mức độ sản phẩm cao và bền vững thông qua tác động tối đa với hệ sinh thái nông nghiệp, cải thiện hệ sinh thái tự nhiên.

- Nguồn gen cung cấp lương thực, thực phẩm, dinh dưỡng và các nhu cầu khác của con người

Nguồn gen cây trồng có vai trò vô cùng quan trọng đối với nông nghiệp, môi trường, đa dạng sinh học và bảo tồn nguồn tài nguyên khác như đất và nước cho sự sống của con người. Trong lĩnh vực nông nghiệp sử dụng nguồn gen thực vật (Mohd Khalid và Mohd Zin, 2001) góp phần đảm bảo lương thực, dinh dưỡng cho đời sống con người. Con người thuần hóa các loài cây trồng và vật nuôi từ các loài hoang dại là bước phát triển quan trọng trong lịch sử phát triển của xã hội loài người, nó cung cấp lương thực cho con người hiện nay và là điều kiện tiên quyết của phát triển dân số và dân tộc. Con người bắt đầu thuần hóa

cây trồng vật nuôi khoảng 10.000 năm trước đây ở khu vực Châu Á, những cây trồng, vật nuôi đầu tiên là lúa mỳ, lúa mạch, đậu, dê, lợn và cừu. Sự thuần hóa xảy ra độc lập ở các vùng khác nhau.

Như vậy, nguồn gen thực vật từ xa xưa đã là nguồn cung cấp lương thực và dinh dưỡng cho con người và đầu vào của các hoạt động nông nghiệp. Mặc dù, thực vật hoang dại có số loài rất lớn, nhưng chỉ một số ít thực sự được thuần hóa. Số loài cây thuần hóa chỉ một số lượng rất nhỏ nhưng vô cùng quan trọng với con người. Ba cây trồng (lúa mỳ, lúa nước và ngô) cung cấp 50% năng lượng cho loài người, và ước tính 30 cây trồng chủ yếu hiện nay đã cung cấp 95% năng lượng cho con người. Trái đất chia thành 17 tiểu vùng sinh thái, nhưng chỉ có một số tiểu vùng và với 12 cây trồng chủ yếu cung cấp năng lượng cho con người trên trái đất là lúa mỳ, lúa nước, ngô, kê, cao lương, khoai tây, mía, đậu tương, khoai lang sắn, đậu thường và các loài có liên quan (*Phaseolus*) và chuối. (Diamond, 2002)



Hình 1-4 Vai trò cung cấp lương thực, thực phẩm của nguồn gen

Nguồn gen cây trồng toàn cầu là một công việc khổng lồ, tổng quát nguồn tài nguyên di truyền bao gồm loài hoang dại và họ hàng hoang dại, các giống bản địa, giống địa phương, các dòng, vật liệu ưu tú và các giống cây trồng mới được phát triển bởi các nhà khoa học. Chúng được sử dụng gieo trồng, thu hái đáp ứng cho nhu cầu của nông dân và người tiêu dùng. Ngoài cung cấp lương thực, dinh dưỡng nhiều nguồn gen có giá trị văn hóa và tinh thần và nguồn thuốc chữa bệnh cho con người.

Đến nay, nguồn tài nguyên di truyền cung cấp lương thực và sử dụng trong nông nghiệp đã được tất cả các quốc gia quan tâm, thu thập bảo tồn. Các nghiên cứu và báo cáo thực trạng tài nguyên di truyền cây trồng đối với lương thực và nông nghiệp (State of the World's Plant Genetic Resources - SoW-PGRFA) được thực hiện định kỳ hàng năm. Các báo cáo chỉ ra rằng một số ít cây ngũ cốc cung cấp đủ cho tổng nhu cầu lương thực, mặc dù vậy năng lượng của lương thực, thực phẩm cung cấp cho người dân ở mỗi tiểu vùng khác nhau. SoW-PGRFA đã báo cáo hiện nay có 1.300 ngân hàng gen đã và đang thu thập nguồn gen cây lương thực chính, bảo tồn 5,5 triệu mẫu nguồn gen trong đó lúa mỳ và lúa nước chiếm 50% tổng số mẫu bảo tồn.

- Nguồn gen góp phần đa dạng sinh học và nông nghiệp

Phát triển nông nghiệp bền vững phụ thuộc vào đa dạng sinh học, đa dạng di truyền. Nông nghiệp phụ thuộc chặt chẽ vào đa dạng di truyền, có nghĩa là không có sản xuất lương

thực tách biệt độc lập với đa dạng sinh học và đa dạng di truyền trên hành tinh. Sâu đất, ong, lúa mạch đại, hoa lan và rừng nhiệt đới đây là sự pha tạp, nhưng chúng là chỉ thị của đa dạng và của mối liên hệ giữa nông nghiệp và tự nhiên. Đa dạng sinh học, đa dạng di truyền là một thuật ngữ phổ biến được các nhà khoa học, các nhà chính sách sử dụng để nói mức độ giữa có của tự nhiên, nhưng phụ thuộc lẫn nhau. Thực vậy, tất cả các loài trên trái đất có thể mạnh hơn hay yếu hơn phụ thuộc vào loài khác, mỗi loài có thể biến mất hay tồn tại phụ thuộc vào loài khác. Một mức độ lớn hơn, rừng nhiệt đới là một ví dụ, nó cân bằng CO₂ trong khí quyển và cung cấp oxy cho sự sống, như vậy không có chúng tương lai của loài người sẽ rất nguy hiểm. Canh tác chiếm phần lớn đất đai hơn bất kỳ hoạt động nào của con người ở hầu hết các nước cho nên không ngạc nhiên là nông nghiệp và đa dạng cũng phụ thuộc lẫn nhau.

Đa dạng nông nghiệp là một phần của đa dạng sinh học, nó bao gồm tất cả các giống cây trồng, giống cải tiến, giống địa phương. Giống cải tiến là kết quả chọn tạo giống hiện đại, có năng suất cao nhưng khá đồng nhất về di truyền, giống địa phương là giống được người dân chọn lọc và phát triển qua một thời gian dài, chúng biểu hiện mức độ đa dạng di truyền cao. Đa dạng nông nghiệp góp phần đảm bảo an ninh lương thực và sinh kế cho con người, giúp sản xuất nông nghiệp vững chắc, nó là mắt xích đầu tiên của chuỗi lương thực. Tài nguyên di truyền được phát triển và bảo toàn của người dân là nguồn vật liệu cho các nhà chọn giống cây trồng, cây lâm nghiệp.

Trong khi đa dạng sinh học “sự giàu có” khác với khí hậu, địa hình, thực tế canh tác.... Các trang trại đa canh cây trồng và hệ thống chăn nuôi với đồng cỏ tự nhiên là giàu có hay đa dạng sinh học hơn các trang trại chuyên canh. Hệ thống canh tác thâm canh tìm kiếm năng suất cao nhất với một số lượng hạn chế các loài cây trồng và vật nuôi, chắc chắn yếu hơn và giảm sự cạnh tranh trong tự nhiên. Canh tác ảnh hưởng đến hệ sinh vật trong đất đóng vai trò duy trì độ màu mỡ của đất hoặc ong là tác nhân giao phấn nếu quần thể ong giảm sẽ dẫn đến giảm năng suất cây trồng. Những nông dân chăn nuôi gia súc họ đã trừ một số cỏ dại và côn trùng gây hại cho gia súc của họ, điều này đe dọa đến sản xuất trồng trọt. Mất hay giảm sự đa dạng di truyền sẽ có tác động to lớn đến sản xuất lương thực và nông nghiệp do:

- + Phát sinh dịch bệnh, ví dụ ngô miền Nam nước Mỹ những năm 1970 đã giảm năng suất 1% tương đương 2 tỷ đô la do bệnh bạc lá, tình trạng này được khắc phục sau khi nhập các giống ngô từ Mexico
- + Khi mất các loài bản địa dẫn đến ảnh hưởng đến năng suất cây trồng vật nuôi. Một nghiên cứu của Hoa Kỳ cho kết quả ước tính thiệt hại kinh tế do mất hệ động vật và cỏ bản địa đến 97 tỷ đô la. Do đó khi phát triển các cây trồng vật nuôi cải tiến cần hiểu biết khả năng ảnh hưởng của chúng đến các loài bản địa. Chính vì mức độ quan trọng của đa dạng di truyền đối với nông nghiệp các nước trên thế giới đã có các chính sách để bảo tồn đa dạng di truyền
- Nguồn gen là nguồn vật liệu cho chọn tạo giống cây trồng
 - Nguồn gen thực cung cấp trực tiếp hay gián tiếp nguồn vật liệu cho các chương trình chọn tạo giống cây trồng mới, đến nay nguồn gen được sử dụng cho 5 mục tiêu chính sau:
 - Các giống và dòng vô tính thương mại
 - Bố mẹ cho chương trình lai
 - Nghiên cứu di truyền
 - Trao đổi nguồn gen
 - Nguồn vật liệu trồng trọt – hạt, các cơ quan sinh dưỡng, mô, tế bào

Tác động của nguồn tài nguyên di truyền thực vật đến chọn tạo giống cây trồng là rất lớn như chương trình INGER (International Network for Genetics Evaluation of Rice). Chương trình đánh giá nguồn gen lúa Quốc tế đã đánh giá 40.000 loài từ 1975 đến nay và sử dụng các nguồn gen này ở 34 nước. CGIAR (Consultative Group on International Agricultural Research) trực tiếp phổ biến 575 giống cây trồng ra sản xuất ở 62 Quốc gia. Vai trò của nguồn gen lúa ngày càng tăng, trước năm 1965 chỉ có 3 giống lúa được phổ biến ra sản xuất đến năm 1976 đã có 222 giống lúa được phổ biến ra sản xuất qua sử dụng nguồn gen của chương trình INGER. Nguồn tài nguyên di truyền thực vật giúp phát triển sản xuất trên toàn thế giới, đặc biệt là những nước kém phát triển. Khoảng 65 triệu ha giống cây trồng cải tiến từ vật liệu của INGER chiếm khoảng 60% sản xuất lúa gạo của thế giới.

- Nguồn gen thực vật trong môi trường cảnh quan
- Ngoài mục tiêu tạo giống nguồn gen thực vật thường được sử dụng trực tiếp trong nông nghiệp, kinh tế - xã hội và cảnh quan tại các thành phố, khu du lịch và khu sinh quyển của mỗi quốc gia.
- Cây xanh thành phố và sinh quyển
- Cây cảnh
- Sinh thái, du lịch

Những nghiên cứu cũng khẳng định, chỉ có đa dạng di truyền mới đảm bảo cho phát triển bền vững, đảm bảo cho các hoạt động khác của con người, chỉ có đa dạng mới có một hệ thống kinh tế, xã hội hưng thịnh, cho phép những người nghèo nhất được tiếp cận với nhu cầu lương thực và dinh dưỡng (shiva 1994)

1.4 MỘT SỐ KHÁI NIỆM VÀ THUẬT NGỮ

Trong phần này cung cấp cho các nhà nghiên cứu, giảng viên, sinh viên học viên cao học và nghiên cứu sinh những khái niệm và thuật ngữ đã được các nhà khoa học thế giới nêu ra để tham khảo. Do vậy đôi khi chỉ một thuật ngữ nhưng có rất nhiều khái niệm khác nhau.

Mẫu nguồn gen (Accession): là một mẫu nguồn gen thực vật trong một bộ hay một ngân hàng gen được bảo tồn ngoại vi (*Ex-situ*) và nó được sử dụng cho các mục đích khác nhau.

Mẫu nguồn gen (Accession): là một mẫu nguồn gen thu thập trong ngân hàng gen, nó như một quyển sách trong thư viện với tiêu đề (loài, quần thể, dòng bố mẹ), tác giả (người thu thập hoặc nhà tạo ra giống) và mô tả tóm tắt (thông tin kiểu hình, ngày thu thập...). Mẫu nguồn gen là một túi hạt, mô cây, mắt, đoạn cành của cây ăn quả....

Mẫu nguồn gen vô tính (Propagule): là một mô, một cơ quan hoặc một phần của cây có thể nhân thành một cây hoàn chỉnh (hạt, đoạn cành, củ...).

Nguồn tài nguyên di truyền (Genetic resources): nguồn gen thực vật, động vật hay sinh vật khác chứa các đặc điểm có lợi thực sự hoặc giá trị tiềm năng (IBPGR 1991).

Nguồn tài nguyên di truyền (Genetic resources): là gen, tổ hợp di truyền hoặc tần suất di truyền cho các tính trạng mong muốn của quần thể. Trong nông nghiệp nguồn tài nguyên di truyền sử dụng để tăng sản lượng, chống chịu bất thuận, cải thiện dinh dưỡng, tăng giá trị, vẻ đẹp, thẩm mỹ và khả năng thích nghi

Vật liệu di truyền (Germplasm): vật liệu di truyền hình thức cơ sở tự nhiên của di truyền và nó chuyển từ thế hệ này sang thế hệ tiếp theo qua phương tiện tế bào (IBPGR 1991).

Vật liệu di truyền (Germplasm) là một bộ nhân giống mang những nguồn di truyền mong muốn (gen, tổ hợp gen hay tần suất gen)

Đa dạng di truyền (Genetic diversity): biến dị di truyền có mặt trong một quần thể hoặc loài.

Đa dạng di truyền (Genetic diversity) là biến dị của sinh vật sống đã di truyền lại qua các thế hệ tạo thành các loài và quần thể thích nghi với môi trường. Các loài và quần thể này tiếp tục thay đổi để thích nghi khi môi trường thay đổi

Đa dạng sinh học (Biodiversity): tổng các biến dị giữa các loài hay trong một loài của tất cả các sinh vật sống (Friis-Hansen và Sthapit 2000).

Vốn gen (Genepool): tổng số đa dạng di truyền có mặt trong một quần thể đặc thù.

Trôi dạt di truyền (Genetic drift): sự thay đổi không thể biết trước về tần xuất allele xảy ra bên trong quần thể nhỏ

Xói mòn di truyền (Genetic erosion): mất đa dạng di truyền giữa các quần thể hay trong một quần thể của cùng một loài hoặc giảm nền di truyền của một loài qua thời gian

Gen (Gene): một đơn vị chức năng của di truyền, một gen là một đoạn của DNA mang các mã di truyền chức năng, hóa sinh đặc thù trong cơ thể sống hoặc trong phòng thí nghiệm (Friis-Hansen và Sthapit 2000)

Kiểu gen (Genotype): sự tổ hợp di truyền của một thực vật, bao gồm tất cả các tính trạng có thể di truyền

Dòng gen (Geneflow): sự trao đổi vật chất di truyền giữa các quần thể, sự trao đổi này do phương thức sinh sản ở thực vật hoặc di thực thực vật và vật liệu trồng trọt (như sự phát tán giao tử và hợp tử hoặc do con người phát tán các giống cây trồng mới đến nông dân...)

Kiểu hình (Phenotype): toàn bộ đặc điểm của một thực vật, kiểu hình của một thực vật là kết quả tương tác giữa kiểu gen và các điều kiện môi trường, quá trình này có thể tóm tắt bằng công thức tương tác $G \times E$ (kiểu gen \times môi trường = kiểu hình)

Hệ sinh thái nông nghiệp (Agroecosytem): một điểm sản xuất nông nghiệp gồm tất cả hệ sinh vật và các yếu tố môi trường bên trong nó, mỗi yếu tố đều có những chức năng hỗ trợ con người, một hệ ổn định với dòng chu kỳ của vật chất và năng lượng (Gliessman 1998).

Nông lâm (Agroforestry): sự hỗn hợp của cây gỗ, cây bụi trong khu vực sản xuất nông nghiệp

Hệ thống canh tác (farming system): tất cả các yếu tố của một trang trại tác động qua lại trong một hệ thống, bao gồm con người, cây trồng vật nuôi, thực vật, động thực vật hoang dại, môi trường, xã hội, kinh tế và hệ sinh thái của chúng (Friis-Hansen và Sthapit 2000)

Bảo tồn (conservation): là quản lý và sử dụng sinh quyển nhân tạo, do vậy nó có thể cho năng suất và lợi ích ổn định nhất ở các thế hệ nhân, trong khi vẫn duy trì tiềm năng của nó đáp ứng nhu cầu của các thế hệ trong tương lai. Như vậy bảo tồn đảm bảo chắc chắn, giữ gìn, duy trì và sử dụng bền vững, phục hồi và tăng cường môi trường tự nhiên (Friis-Hansen và Sthapit 2000)

Bảo tồn ngoại vi (*Ex situ* conservation): chuyển nguồn gen từ nơi gốc gieo trồng, sinh sống của nó đến nơi khác để bảo tồn trong ngân hàng hạt, đồng ruộng, vườn thực vật, bảo tồn trong *In vitro*, bảo tồn hạt phấn hay ngân hàng DNA.

Bảo tồn nội vi (*In situ* conservation) có một khái niệm khác nhau như sau:

Bảo tồn nội vi (*In situ* conservation): "Sự bảo tồn hệ sinh thái và các tập tính tự nhiên, duy trì hay lấy lại quần thể độc lập hiện có của loài trong môi trường tự nhiên xung quanh chúng, nơi chúng phát triển và có các thuộc tính phân biệt" (Reid và cs. 1993:305); Bảo tồn *In situ* nguồn tài nguyên di truyền đã thuần hóa, tập trung trên nông trại nông dân như là một phần của hệ sinh thái hiện có, trong khi các hình thức khác của bảo tồn *In situ* liên quan đến sinh trưởng của quần thể thực vật hoang dại trong tập tính tự nhiên của chúng (dự trữ di truyền).

Bảo tồn nội vi (*In situ*): được coi là một đặc thù để duy trì các quần thể biến dị trong môi trường canh tác hoặc môi trường tự nhiên của chúng, trong cộng đồng của chúng hình thành, cho phép quá trình tiến hóa tự nhiên xảy ra (Qualset và cs. 1997).

Bảo tồn nội vi (*In situ*): thực hiện để duy trì nguồn tài nguyên di truyền trong điều kiện tự nhiên. Với nguồn tài nguyên di truyền cây trồng, đây là công cụ cho canh tác tiếp theo của nguồn tài nguyên di truyền trong hệ thống canh tác, nơi chúng có thể tiến hóa, nền tảng cơ bản là các trung tâm phát sinh và đa dạng cây trồng của N.I. Vavilop (Brush 1991).

Bảo tồn nội vi (*In situ*): là phương thức tồn trữ trong hệ sinh thái nông nghiệp, nơi chúng phát sinh, các giống trồng trọt địa phương, do người dân sử dụng các phương pháp và tiêu chuẩn chọn lọc của riêng họ tạo thành (FAO 1989; Bommer 1991; Keystone Centre 1991; Louette và Smale 1996).

Bảo tồn Nội vi (*In situ*): của đa dạng sinh học là bảo tồn sự có mặt của nhiều loài trong quần thể hoặc giữa các quần thể, sử dụng trực tiếp trong nông nghiệp hoặc sử dụng là nguồn gen, chúng sinh trưởng phát triển liên tục trong môi trường sống đa dạng như vậy (Brown 2000).

Bảo tồn trên nông trại

Bảo tồn trên nông trại (On-farm conservation): là quản lý bền vững đa dạng di truyền của các giống cây trồng do địa phương phát triển, liên quan đến loài cỏ hoặc cây hoang dại hình thành trong hệ thống canh tác nông - lâm, làm vườn hay nông nghiệp truyền thống (Maxted và cs. 1997).

Bảo tồn trên nông trại (On-farm conservation): một cách tiếp cận của bảo tồn *In situ*, trồng trọt bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật trên ruộng nông dân

Thích nghi (Adaptation): là quá trình tiến hóa của loài thay đổi theo thời gian phù hợp với môi trường sống của chúng

Đặc điểm (Character): biểu hiện kiểu hình như là một cấu trúc hoặc thuộc tính chức năng của sinh vật, kết quả của tương tác của một gen hay một nhóm kiểu gen với môi trường (International Board for Plant Genetic Resources- IBPGR 1991).

Đặc điểm chỉ thị (Characterization): mức độ của các tính trạng thực vật có khả năng di truyền cao, có thể nhận biết bằng mắt thường rõ ràng và biểu hiện ngang bằng ở tất cả các môi trường để phân biệt kiểu hình.

Đặc điểm nông học (Agromorphological characteristic): một tính trạng kiểu hình của thực vật, có thể là hình thái, nông học hay tính trạng sử dụng, được nông dân hay các nhà nông học sử dụng để nhận biết giống cây trồng

Tự thụ phần (Inbreeder): một thực vật tự thụ phần trong sinh sản sinh học trái ngược với giao phần

Giao phần (Outbreeder): một thực vật tự bất hợp trong sinh sản, trái ngược với tự thụ phần

Loài (Species): một nhóm hoặc các quần thể tự nhiên có khả năng giao phối, sinh sản cách ly với các nhóm khác (IBPGR 1991)

Quần thể (Population): một nhóm cá thể của cùng loài sống trong cùng một vùng sinh thái địa lý (Gliessman 1998)

Giống (Variety): một đơn vị phân loại của loài, dưới loài phụ và trong hệ thống phân loại, là một nhóm đồng nhất, bao gồm không có biến động về kiểu hình, đồng nghĩa với cultivar (IBPGR 1991)

Giống (Cultivar): một giống trồng trọt được thuần hóa, chọn tạo đồng nghĩa với variety (Friis-Hansen và Sthapit 2000)

Giống cây trồng hiện đại (Modern Variety (MV): một giống cây trồng được tạo bởi các nhà tạo giống hiện đại, đồng nghĩa với HYV

Giống năng suất cao (High-Yielding Variety (HYV): một giống cây trồng do nhà tạo giống phát triển, thiết kế để đạt năng suất tối đa (thường trong điều kiện đầu tư cao). HYVs thường được khuyến khích bởi các dự án nông nghiệp và đe dọa đến các giống địa phương của cùng loài.

Giống bản địa (Landrace): một giống cây trồng được thuần hóa từ loài hoang dại hoặc họ hàng hoang dại của chúng, chưa có chọn lọc và nông dân gieo trồng, nó thích nghi với các điều kiện môi trường địa phương.

Giống địa phương (Local variety): là giống cây trồng do người dân chọn lọc bằng phương pháp và theo tiêu chuẩn của họ. Giống địa phương có thích nghi cao với điều kiện địa phương, phù hợp với điều kiện canh tác và thị hiếu tiêu dùng của địa phương đó

Giống địa phương thường biểu hiện biến động cao, nhưng là một quần thể có thể nhận biết. Giống địa phương thường có tên địa phương, có các đặc điểm và thuộc tính đặc thù, một số chín sớm và một số chín muộn. Mỗi giống có một đặc điểm nổi bật về sự thích nghi với loại đất đặc thù, phù hợp với phân loại đất theo truyền thống của nông dân nặng-nhẹ, khô-ẩm, ẩm-lạnh, tốt-xấu... Chúng cũng có thể được phân loại phù hợp với tiêu dùng cây lấy bột, cây lương thực, cây lấy sợi, cây làm thuốc..... Tất cả các đặc điểm, tính trạng của quần thể là thích nghi với điều kiện khí hậu, canh tác địa phương (Harlan 1975)

Họ hàng hoang dại (Wild relative): một loài không trồng trọt có quan hệ với cây trồng mức độ xa hoặc gần (thường là cùng chi). Nó không được sử dụng thông thường trong nông nghiệp nhưng có thể có mặt trong hệ sinh thái (như cỏ trên đồng ruộng hoặc tổ hợp các loại cỏ trên đồng cỏ)

Chọn lọc tự nhiên (Natural selection): là chọn lọc sử dụng các yếu tố sinh học và phi sinh học của môi trường, nền tảng cơ bản của tiến hóa, nó có thể hoạt động tại mức gen, tế bào, dòng vô tính, cá thể hay quần thể của loài (IBPGR 1991)

Chọn lọc (Selection): bất kỳ một quá trình nào tự nhiên hay nhân tạo làm thay đổi cân bằng một kiểu gen nào đó hoặc nhóm các kiểu gen của thể hệ tiếp theo, thường biểu hiện một kiểu gen khác (IBPGR 1991)

Kiến thức bản địa (Indigenous Knowledge) (IK): hiểu biết hoặc truyền thống hiện có trong một cộng đồng địa phương

Đánh giá (Evaluation): đánh giá các đặc điểm của thực vật như năng suất, đặc điểm nông sinh học, khả năng chống chịu bất thuận sinh học và phi sinh học, các tính trạng hóa sinh, tế bào, toàn bộ biểu hiện có thể ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường.

1.5 CÁC HỌC THUYẾT VỀ NGUỒN GEN THỰC VẬT

Nguồn gen thực vật có tầm quan trọng to lớn, vì thế nó thu hút sự quan tâm của toàn nhân loại, của các quốc gia và các nhà khoa học trên thế giới tham gia nghiên cứu, thu thập lưu giữ và bảo tồn. Ba nhà thực vật học đã có những đóng góp vĩ đại cho những lý thuyết về nguồn gen thực vật nói chung và nguồn gen cây trồng nói riêng là Augustin-Pyramus de Candolle, Charles Darwin và Nikolai I. Vavilov. Những điểm chính của các học thuyết này tập trung vào nguồn gốc phát sinh loài

1.5.1 Học thuyết “ Dãy biến dị tương đồng”

Nikolai I. Vavilov đưa ra lý thuyết về “Dãy biến dị tương đồng(1920)” (Law of Homologous Series in Variation -1920) và lý thuyết “Trung tâm phát sinh cây trồng” (1926) (Centers of Origin of Cultivated Plants -1926).

Học thuyết về dãy biến dị tương đồng của N. I. Vavilov là một cơ sở khoa học của thu thập, bảo tồn nguồn gen, cơ sở định hướng cho chọn giống cây trồng. Đặc điểm hay tính trạng tìm thấy ở một loài này có thể tìm thấy ở một loài khác, phụ thuộc vào quan hệ họ hàng của nó. Một nguyên lý chỉ dẫn cho những đặc điểm còn chưa khám phá hoặc chưa tìm thấy trong tự nhiên. Khoa học di truyền phân tử về genome và bản đồ gen đã cung cấp những nền tảng khoa học cho sự đúng đắn của học thuyết này.

Những điểm chính của học thuyết

- Các loài càng gần nhau thì càng có những biến dị giống nhau
- Biến dị xảy ra ở các đặc điểm chung hoặc trong vùng sinh thái đặc thù
- Chọn lọc tự nhiên đã tạo ra các kiểu hình đảm bảo phù hợp cho môi trường đặc thù, ví dụ như chống bệnh
- Những chứng minh phân tử cũng cho kết quả tương tự

1.5.2 Học thuyết Trung tâm đa dạng di truyền (Trung tâm phát sinh cây trồng)

Augustin-Pyramus de Candolle (1778-1841) nhà thực vật học người Thụy Sĩ đã công bố cuốn sách nổi tiếng “Nguồn gốc của thực vật trồng trọt”, p. 233-236 và p. 387-397, D. Appleton and Company, New York. Đặc biệt là cây táo và cây ngô đã sử dụng rất nhiều kiến thức để xác định nguồn gốc thực vật trồng trọt như:

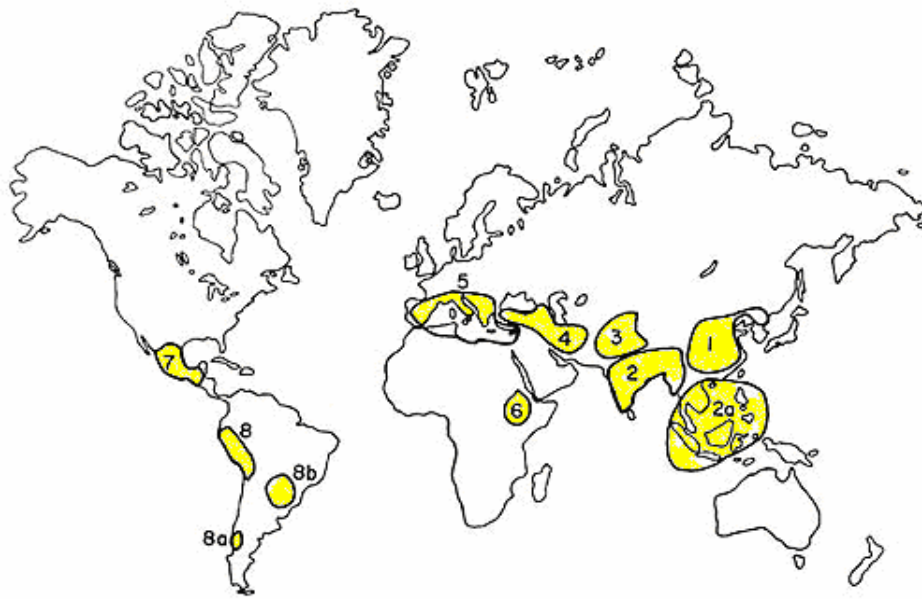
- Sự có mặt của các loài hoang dại
- Lịch sử
- Tên (ngôn ngữ)
- Địa chất
- Mẫu biến dị

Sau A. Candolle một loạt công trình công bố của Charles Darwin 1809 người Anh như: Nguồn gốc các loài bằng công cụ chọn lọc tự nhiên, Bảo tồn các loài ưa thích trong

đấu tranh cho sự sống (1959) "*On the Origin of the Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*" (1859) hoặc nguồn gốc các loài "*The Origin of the Species*"

N. I. Vavilov đã quan tâm đến nguồn gốc phát sinh thực vật, bởi vì ông quan tâm đến đa dạng di truyền và theo ông chúng có quan hệ với nhau. Năm 1926 ông đã viết một bài luận về nguồn gốc thực vật trồng trọt (*Origin of Cultivated Plants*) và đề nghị một xác định mức độ tin cậy đối với trung tâm phát sinh cây trồng bằng phân tích mô hình biến dị. Vùng địa lý có đa dạng nguồn gen lớn nhất là vùng phát sinh thực vật, điều này đặc biệt đúng nếu diễn dị được điều khiển bởi gen trội và nếu vùng đó cũng chứa loài hoang dại của cây trồng đó. Ông đã đề xuất 8 trung tâm phát sinh cây trồng và một số trung tâm phụ, những phát minh của ông được thừa nhận rộng rãi đến ngày nay. Sau đó ông cũng phát triển phân loại nhóm vùng sinh thái, sử dụng các tính trạng phản ứng với độ dài ngày, lạnh, bệnh và thích nghi với môi trường đặc thù

N. I. Vavilov cho rằng: quy luật locus cơ bản của nguồn gen cây trồng là ở các vùng núi, biểu hiện bởi sự có mặt của các allele trội. Trong cuốn sách (*The Phytogeographical Basis for Plant Breeding* (N. I. Vavilov 1935), ông đã tóm tắt và nhóm các trung tâm thành 8 trung tâm chính như sau:



Hình 1-5 : Trung tâm phát sinh cây trồng của N.I.Vavilop (Nguồn: Jack R. Harlan. 1992)

Những loài cây trồng chủ yếu có nguồn gốc phát sinh sơ cấp hoặc thứ cấp từ các trung tâm trên gồm:

Trung tâm Trung Quốc (1)

- 1) Mạch trần (*Avena nuda*), trung tâm thứ cấp
- 2) Đậu tương (*Glycine max.*)
- 3) Đậu Adzuki (*Vigna angularis*)
- 4) Đậu tương (*Phaseolus vulgaris*), dạng lặn, trung tâm thứ cấp
Trúc (*Phyllostachys spp.*)
- 5) Mustard lá (*Brassica juncea*) trung tâm thứ cấp
- 6) Đào (*Prunus persica*)
- 7) Chanh (*Citrus sinensis*)
- 8) Vùng (*Sesamum indicum*), nhóm địa phương, thấp cây, trung tâm thứ cấp

- 9) Chè (*Tea sinensis*)

Trung tâm Ấn Độ (2)

- 1) Lúa (*Oryza sativa*)
- 2) Kê (*Eleusine coracana*)
- 3) Đậu mỗ (*Cicer arietinum*)
- 4) Đậu bướm (*Vigna aconitifolia*)
- 5) Đậu nho nhe (*Vigna umbellata*)
- 6) Đậu ngựa (*Macrotyloma uniflorum*)
- 7) Đậu măng (*Vigna unguiculata*)
- 8) Cà tím (*Solanum melongena*)
- 9) Cải củ đuôi chuột (*Raphanus caudatus*)
- 10) Khoai sọ (*Colocasia antiquorum*)
- 11) Dưa chuột (*Cucumis sativus*)
- 12) Bông (*Gossypium arboreum*), 2X
- 13) Đay (*Corchorus capsularis*)
- 14) Hồ tiêu (*Piper nigrum*)
- 15) Chàm (*Indigofera tinctoria*)

Trung tâm Indo-Malaya (2a)

- 1) Củ từ (*Dioscorea* spp.)
- 2) Bưởi (*Citrus maxima*)
- 3) Chuối (*Musa* spp.)
- 4) Dừa (*Cocos nucifera*)

Trung tâm Trung Á (3)

- 1) Lúa mì làm bánh (*Triticum aestivum*), bread wheat
- 2) Lúa mì gậy (*Triticum compactum*), club wheat
- 3) Lúa mì nỏ (*Triticum sphaerococcum*), shot wheat
- 4) Mạch đen (*Secale cereale*), trung tâm thứ cấp
- 5) Đậu Hà Lan (*Pisum sativum*)
- 6) Đậu lăng (*Lens culinaris*)
- 7) Đậu mỗ (*Cicer arietinum*)
- 8) Vừng (*Sesamum indicum*), trung tâm sơ cấp
- 9) Lanh (*Linum usitatissimum*), trung tâm sơ cấp
- 10) Hoa rum (*Carthamus tinctorius*), trung tâm sơ cấp
- 11) Cà rốt (*Daucus carota*)
- 12) Củ cải (*Raphanus sativus*), radish, trung tâm sơ cấp
- 13) Lê (*Pyrus communis*)
- 14) Táo (*Pyrus malus*)
- 15) Cây óc chó (*Juglans regia*)

Trung tâm Cận Đông (4)

- 1) Lúa mì (*Triticum monococcum*), einkorn wheat
- 2) Lúa mì cứng (*Triticum durum*), durum wheat
- 3) Lúa mì (*Triticum turgidum*), Poulard wheat
- 4) Lúa mì không râu (*Triticum aestivum*), một trung tâm sơ cấp
- 5) Mạch hai hàng (*Hordeum vulgare*), giống bản địa
- 6) Mạch đen (*Secale cereale*)
- 7) Yến mạch đỏ (*Avena byzantina*)
- 8) Đậu mỗ (*Cicer arietinum*), trung tâm thứ cấp
- 9) Đậu lăng (*Lens culinaris*), một nhóm lớn giống bản địa

- 10) Đậu Hà Lan (*Pisum sativum*), giống bản địa
- 11) Linh lăng xanh (*Medicago sativa*)
- 12) Vừng (*Sesamum indicum*), một nhóm sinh thái riêng biệt
- 13) Lanh (*Linum usitatissimum*), rất nhiều giống bản địa
- 14) Dưa (*Cucumis melo*)
- 15) Hạnh nhân (*Amygdalus communis*)
- 16) Sung (*Ficus carica*)
- 17) Lựu (*Punica granatum*)
- 18) Nho (*Vitis vinifera*)
- 19) Mơ (*Prunus armeniaca*), trung tâm sơ cấp

Trung tâm Địa Trung Hải (5)

- 1) Lúa mì cứng (*Triticum durum*)
- 2) Yên mạch vò (*Avena strigosa*)
- 3) Đậu ván (*Vicia faba*)
- 4) Bắp cải (*Brassica oleracea*)
- 5) Ô liu (*Olea europaea*)
- 6) Rau diếp (*Lactuca sativa*)

Trung tâm Abyssinia (6)

- 1) Lúa mì cứng (*Triticum durum*)
- 2) Lúa mì (*Triticum turgidum*), Poulard wheat (an exceptional wealth of forms)
- 3) Lúa mì (*Triticum dicoccum*), Emmer wheat
- 4) Lúa mạch (*Hordeum vulgare*), barley (an exceptional diversity of forms)
- 5) Đậu mỗ (*Cicer arietinum*), trung tâm sơ cấp
- 6) Đậu lăng (*Lens culinaris*), trung tâm sơ cấp
- 7) Kê ngón (*Eleusine coracana*), finger millet
- 8) Đậu Hà Lan (*Pisum sativum*), trung tâm sơ cấp
- 9) Lanh (*Linum usitatissimum*), trung tâm sơ cấp
- 10) Vừng (*Sesamum indicum*), trung tâm gốc
- 11) Đậu dầu (*Ricinus communis*), trung tâm sơ cấp
- 12) Cà phê (*Coffea Arabica*)

Trung tâm Nam Mexico và Trung Mỹ (7)

- 1) Ngô (*Zea mays*)
- 2) Đậu thường (*Phaseolus vulgaris*)
- 3) Ớt (*Capsicum annuum*)
- 4) Bông núi (*Gossypium hirsutum*)
- 5) Gai dầu (*Agave sisalana*)
- 6) Bí đỏ, bí xanh (*Cucurbita* spp)

Trung tâm Nam Mỹ (Peru, Ecuador, Bolivia) (8)

- 1) Khoai lang (*Ipomoea batatas*)
- 2) Khoai tây (*Solanum tuberosum*)
- 3) Đậu lima (*Phaseolus lunatus*)
- 4) Cà chua (*Lycopersicon esculentum*)
- 5) Bông hải đảo (*Gossypium barbadense*) (4X)
- 6) Đu đủ (*Carica papaya*)
- 7) Thuốc lá (*Nicotiana tabacum*)

Trung tâm Chiloe (8a)

- 1) Khoai tây (*Solanum tuberosum*)

Trung tâm Brazil and Paraguay (8b)

- 1) Sắn (*Manihot utilissima*)
- 2) Lạc (*Arachis hypogaea*)
- 3) Cacao (*Theobroma cacao*), trung tâm thứ cấp
- 4) Cao su (*Hevea brasiliensis*)
- 5) Dứa (*Ananas comosus*)

Trong bài giảng (gồm 47 chủ đề) của Jules Janick, 2005 trường Đại học Purdue University, Hoa Kỳ đã chi tiết các Trung tâm phát sinh cây trồng của N. I. Vavilop bao gồm các loài cây trồng chính ở mỗi Trung tâm.

Cây trồng vùng Viễn Đông (Far Eastern Crops)

- 1) Đậu Adzuki (*Vigna angularis*)
- 2) Chuối vàng (*Musa cavendishii*)
- 3) Chuối đỏ (*M. Paradisiaca*)
- 4) Chuối xanh (*M. Sapientum*)
- 5) Đậu tương (*Glycine hispida*)
- 6) Dừa (*Cocos nucifera*)
- 7) Kê *Panicum miliaceum*
- 8) Củ từ (*Dioscorea spp.*)
- 9) Mía (*Saccharum sinense*)
- 10) Lúa (*Oryza sativa*)

Trung tâm Trung Quốc: là Trung tâm độc lập lớn nhất, bao gồm các vùng núi Trung và Tây Trung Quốc và những vùng đất thấp liền kề, với tổng số 136 loài bản địa trong có có một số loài cây trồng rất quan trọng.

Cây ngũ cốc và cây họ đậu

- 1) Kê bông ngô (*Panicum miliaceum*)
- 2) Kê Ý (*Panicum italicum*)
- 3) Kê Nhật Bản (*Panicum frumentaceum*)
- 4) Cao Lương (*Andropogon sorghum*)
- 5) Kiệu mạch (*Fagopyrum esculentum*)
- 6) Lúa mạch trâu nhỏ (*Hordeum hexastichum*)
- 7) Đậu tương (*Glycine hispida*)
- 8) Đậu Adzuki (*Phaseolus angularis*)
- 9) Đậu nhung (*Stizolobium hassjoo*)

Cây lấy rễ, củ và cây rau

- 1) Củ từ Trung Quốc (*Dioscorea batatas*)
- 2) Radish (*Raphanus sativus*)
- 3) Cải Trung Quốc (*Brassica chinensis*, *B. pekinensis*)
- 4) Hành (*Allium chinense*, *A. fistulosum*, *A. pekinense*)
- 5) Dưa chuột (*Cucumis sativus*)

Cây ăn quả và quả hạch

- 1) Lê (*Pyrus serotina*, *P. ussuriensis*)
- 2) Táo Trung Quốc (*Malus asiatica*)
- 3) Đào (*Prunus persica*)
- 4) Mơ (*Prunus armeniaca*)
- 5) Anh đào (*Prunus pseudocerasus*)
- 6) Óc chó (*Juglans sinensis*)
- 7) Vải (*Litchi chinensis*)

Cây lấy đường, làm thuốc và cây lấy sợi

- 1) Mía (*Saccharum sinense*)

- 2) Anh túc (*Papaver somniferum*)
- 3) Sâm (*Panax ginseng*)
- 4) Long não (*Cinnamomum camphora*)
- 5) Gai dầu (*Cannabis sativa*)

Trung tâm Ấn Độ: Vùng này có hai trung tâm phụ(2)

Trung tâm chính (2a) (Hindustan): gồm Assam và Burma, không bao gồm Bắc Ấn Độ và Punjab, các tỉnh biên giới miền Bắc. Trung tâm này có 117 loài bản địa.

Cây ngũ cốc và cây họ đậu

- 1) Lúa (*Oryza sativa*)
- 2) Đậu mỗ (*Cicer arietinum*)
- 3) Đậu chim (*Cajanus indicus*)
- 4) Đậu Urd (*Phaseolus mungo*)
- 5) Đậu xanh (*Phaseolus aureus*)
- 6) Đậu nho nhe (*Phaseolus calcaratus*)
- 7) Đậu bò (*Vigna sinensis*)

Rau và cây lấy củ

- 1) Cà tím (*Solanum melongena*)
- 2) Dưa chuột (*Cucumis sativus*)
- 3) Radish (*Raphanus caudatus*) (pods eaten)
- 4) Khoai sọ (*Colocasia antiquorum*)
- 5) Củ mỡ (*Dioscorea alata*)

Cây ăn quả

- 1) Xoài (*Mangifera indica*)
- 2) Cam (*Citrus sinensis*)
- 3) Quýt (*Citrus nobilis*)
- 4) Chanh yên (*Citrus medica*)
- 5) Me (*Tamarindus indica*)

Cây lấy đường, dầu và cây lấy sợi

- 1) Mía (*Saccharum officinarum*)
- 2) Cọ dầu (*Cocos nucifera*)
- 3) Vừng (*Sesamum indicum*)
- 4) Hướng dương (*Carthamus tinctorius*)
- 5) Bông (*Gossypium arboreum*)
- 6) Bông phương đông (*Gossypium nanking*)
- 7) Đay (*Corchorus capsularis*)
- 8) Lục lạc (*Crotalaria juncea*)
- 9) Dâm bụt (*Hibiscus cannabinus*)

Cây gia vị, kích thích, nhuộm màu và các loài khác

- 1) Gai dầu (*Cannabis indica*)
- 2) Hồ tiêu (*Piper nigrum*)
- 3) Gôm Ai Cập (*Acacia arabica*)
- 4) Đàn hương (*Santalum album*)
- 5) Chàm (*Indigofera tinctoria*)
- 6) Quế (*Cinnamomum zeylanticum*)
- 7) Khổ sâm (*Croton tiglium*)
- 8) Tre nứa (*Bambusa tulda*)

Trung tâm Indo-Malayan (2b): Có 55 loài cây:

Ngũ cốc và họ đậu

1) Bo bo “Job’s tears” (*Coix lacryma*)

2) Đậu nhung (*Mucuna utilis*)

Cây ăn quả

1) Bưởi chùm (*Citrus grandis*)

2) Chuối (*Musa cavendishii*, *M. paradisiaca*, *H. Sapientum*)

3) Mít hột (*Artocarpus communis*)

4) Mãng cụt (*Garcinia mangostana*)

Cây lấy đường, dầu, gia vị và cây có sợi

1) Quả lai (*Aleurites moluccana*)

2) Cọ dầu (*Cocos nucifera*)

3) Mía (*Saccharum officinarum*)

4) Cỏ ba lá (*Caryophyllus aromaticus*)

5) Đậu khấu (*Myristica fragrans*)

6) Hồ tiêu (*Piper nigrum*)

7) Chuối sợi (*Musa textiles*)

Các cây trồng Cận Đông

1) Đậu lăng (*Lens culinaris*)

2) Đậu mỗ (*Cicer arietinum*)

3) Cây mận (*Prunus cerasifera*)

4) O lư (*Olea europaea*)

5) Lúa mạch (*Hordeum vulgare*)

6) Ó chó (*Juglans regia*)

7) Quả hạnh (*Amygdalus communis*)

8) Mơ (*Prunus armeniaca*)

9) Chà là (*Phoenix dactylifera*)

10) Lúa mì (*Triticum aestivum*)

11) Sung (*Ficus carica*)

Trung tâm Trung Á (3): Gồm Bắc Ấn Độ, Afghanistan, Tadjikistan, Uzbekistan, và miền Tây Tian-Shan. Có 43 loài và rất nhiều lúa mì.

Cây lấy hạt và đậu

1) Lúa mì thường (*Triticum vulgare*)

2) Lúa mì bông dày (*Triticum compactum*)

3) Lúa mì đốm (*Triticum sphaerococcum*)

4) Đậu (*Pisum sativum*)

5) Đậu lăng (*Lens esculenta*)

6) Đậu ngựa (*Vicia faba*)

7) Đậu mỗ (*Cicer arietinum*)

8) Đậu xanh (*Phaseolus aureus*)

9) Mustard (*Brassica juncea*)

10) Lanh (*Linum usitatissimum*)

11) Vừng (*Sesamum indicum*)

Cây lấy sợi

1) Gai (*Cannabis indica*)

2) Bông (*Gossypium herbaceum*)

Cây rau

1) Hành (*Allium cepa*)

2) Tỏi (*Allium sativum*)

3) Spinach (*Spinacia oleracea*)

- 4) Cà rốt (*Daucus carota*)

Cây ăn quả

- 1) Hồ chăn (*Pistacia vera*)
- 2) Lê (*Pyrus communis*)
- 3) Hạnh (*Amygdalus communis*)
- 4) Nho (*Vitis vinifera*)
- 5) Táo (*Malus pumila* (*M. sieversii*))

Trung tâm cận Đông (4): Bao gồm phần nhỏ của Châu Á , toàn bộ dãy Cápcas, Iran, và cao nguyên Turkmenistan. Vùng này có 83 loài

Cây có hạt và cây họ đậu

- 1) Lúa mì Einkorn (*Triticum monococcum*) ($2n = 14$)
- 2) Lúa mì cứng (*Triticum durum*) ($2n = 28$)
- 3) Lúa mì Ba lan (*Triticum turgidum*) ($2n = 28$)
- 4) Lúa mì thường (*Triticum vulgare*) ($2n = 42$)
- 5) Lúa mì phương Đông (*Triticum orientale*)
- 6) Lúa mì Ba Tư (*Triticum persicum*) ($2n = 28$)
 - a. *Triticum timopheevi* ($2n = 28$)
 - b. *Triticum macha* ($2n = 42$)
 - c. *Triticum vavilovianum*, branched ($2n = 42$)
- 7) Lúa mạch 2 râu (*Hordeum distichum*, *H. nutans*)
- 8) Lúa mạch đen (*Secale cereale*)
- 9) Yến mạch Địa Trung Hải (*Avena byzantina*)
- 10) Yến mạch thường (*Avena sativa*)
- 11) Đậu lăng (*Lens esculenta*)
- 12) Đậu Lupine (*Lupinus pilosus*, *L. albus*)

Cây thức ăn gia súc

- 1) Cỏ linh lăng (*Medicago sativa*)
- 2) Cỏ ba lá (*Trifolium resupinatum*)
- 3) Cỏ Ca ri (*Trigonella foenum graecum*)
- 4) Đậu tằm (*Vicia sativa*)
- 5) Đậu tằm lông (*Vicia villosa*)

Cây ăn quả

- 1) Sung (*Ficus carica*)
- 2) Lựu (*Punica granatum*)
- 3) Táo (*Malus pumila*) một trong các trung tâm
- 4) Lê (*Pyrus communis*) and others
- 5) Mọc qua (*Cydonia oblonga*)
- 6) Anh đào (*Prunus cerasus*)
- 7) Táo gai (*Crataegus azarolus*)

Trung tâm Địa Trung Hải (5): Bao gồm xung quanh biển Địa Trung Hải , vùng này có 84 loài quan trọng có Ô lửu, rau và cỏ.

Ngũ cốc và cây họ đậu

- 1) Lúa mì cứng (*Triticum durum expansum*)
- 2) Lúa mì kiến (*Triticum dicoccum*)
- 3) Lúa mì Ba Lan (*Triticum polonicum*)
- 4) Lúa mì spelta (*Triticum spelta*)
- 5) Yến mạch Địa Trung Hải (*Avena byzantina*)
- 6) Yến mạch cát (*Avena brevis*)

- 7) Cỏ Canarygrass (*Phalaris canariensis*)
- 8) Đậu cỏ (*Lathyrus sativus*)
- 9) Đậu Hà Lan hạt rộng (*Pisum sativum*)
- 10) Đậu Lupine (*Lupinus albus*) and others

Cây thức ăn gia súc

- 1) Cỏ bao lá Ai Cập (*Trifolium alexandrinum*)
- 2) Cỏ ba lá trắng (*Trifolium repens*)
- 3) Cỏ ba lá đỏ thẫm (*Trifolium incarnatum*)
- 4) Cỏ Serradella (*Ornithopus sativus*)

Cây có dầu là cây lấy sợi

- 1) Lanh (*Linum usitatissimum*) và hoang dại (*L. angustifolium*)
- 2) Cải dầu (*Brassica napus*)
- 3) Mù tạt đen (*Brassica nigra*)
- 4) Oliu (*Olea europaea*)

Cây rau

- 1) Củ cải đường vườn (*Beta vulgaris*)
- 2) Cải bắp (*Brassica oleracea*)
- 3) Turnip (*Brassica campestris*, *B. Napus*)
- 4) Rau diếp (*Lactuca sativa*)
- 5) Măng tây (*Asparagus officinalis*)
- 6) Cần tây (*Apium graveolens*)
- 7) Diếp xoăn (*Cichorium intybus*)
- 8) Củ cải vàng (*Pastinaca sativa*)
- 9) Đại hoàng (*Rheum officinale*)

Cây có dầu và cây gia vị

- 1) Cây Carum (*Carum carvi*)
- 2) Cây hòi (*Pimpinella anisum*)
- 3) Húng tây (*Thymus vulgaris*)
- 4) Bạc hà cay (*Mentha piperita*)
- 5) Ngải đắng (*Salvia officinalis*)
- 6) Hupblông (*Humulus lupulus*)

Trung tâm Abixini (6): (=Ethiopia) và một phần Somali. Là Trung tâm có 38 loài

Cây có hạt và cây họ đậu

- 1) Lúa mì cứng (*Abyssinian, Triticum durum abyssinicum*)
- 2) Lúa mì Ba Lan (*Triticum turgidum abyssinicum*)
- 3) Mỳ kiều (*Triticum dicoccum abyssinicum*)
- 4) Lúa mì Ba Lan (*Triticum polonicum abyssinicum*)
- 5) Lúa mạch (*Hordeum sativum*) (loại hình rất đa dạng)
- 6) Lúa miến hạt (*Andropogon sorghum*)
- 7) Kê trần châu (*Pennisetum spicatum*)
- 8) Kê Châu Phi (*Eleusine coracana*)
- 9) Đậu bò (*Vigna sinensis*)
- 10) Lanh (*Linum usitatissimum*)

Loài khác

- 1) Vừng (*Sesamum indicum*), trung tâm sơ cấp
- 2) Đậu hải ly (*Ricinus communis*), một trung tâm
- 3) Cải xoong vườn (*Lepidium sativum*)
- 4) Cà phê (*Coffea arabica*)

- 5) Mướp tây (*Hibiscus esculentus*)
- 6) Nhựa thơm (*Commiphora abyssinicia*)
- 7) Chàm (*Indigofera argente*)

Trung tâm Nam Mexican và Trung Mỹ: Gồm miền Nam Mexico, Guatemala, Honduras và Costa Rica.

Cây có hạt và đậu

- 1) Ngô (*Zea mays*)
- 2) Đậu thường (*Phaseolus vulgaris*)
- 3) Đậu Lima (*Phaseolus lunatus*)
- 4) Đậu Tepary (*Phaseolus acutifolius*)
- 5) Đậu mít (*Canavalia ensiformis*)
- 6) Rau giền hạt (*Amaranthus paniculatus leucocarpus*)

Cây bầu bí

- 1) Bầu Malabar (*Cucurbita ficifolia*)
- 2) Bí ngô đông (*Cucurbita moshata*)
- 3) Su su (*Sechium edule*)

Cây lấy sợi

- 1) Bông cạn (*Gossypium hirsutum*)
- 2) Bông Bourbon (*Gossypium purpurascens*)

Cây khác

- 1) Khoai lang (*Ipomea batatas*)
- 2) Hoàng tinh (*Maranta arundinacea*)
- 3) Hồ tiêu (*Capsicum annum*, *C. Frutescens*)
- 4) Đu đủ (*Carica papaya*)
- 5) Ổi (*Psidium guayava*)
- 6) Điều (*Anacardium occidentale*)
- 7) Anh đào dại (*Prunus serotina*)
- 8) Cochenial (*Nopalea coccinellifera*)
- 9) Ngô anh đào (*Lycopersicum cerasiforme*)
- 10) Cacao (*Theobroma cacao*)
- 11) Thuốc lá (*Nicotiana rustica*)

Trung tâm Nam Mỹ (8): (62 danh mục cây trồng) Ba trung tâm phụ:

Cây có củ

- 1) Khoai tây Andean (*Solanum andigenum*) ($2n = 96$)
- 2) Các loài khoai tây trồng: 14 hoặc hơn số nhiễm sắc thể của loài $2n$ từ 24 – 60
- 3) Khoai tây không độc (*Tropaeolum tuberosum*) vùng ven biển Peru và vùng nhiệt đới Á nhiệt đới không tưới của Ecuador, Peru và Bolivia

Cây lấy hạt và cây họ đậu

- 1) Ngô bột (*Zea mays amylacea*)
- 2) Đậu Lima (*Phaseolus lunatus*), trung tâm thứ cấp
- 3) Đậu thường (*Phaseolus vulgaris*), trung tâm thứ cấp

Cây lấy củ rễ

- 1) Chuối hoa (*Canna edulis*)
- 2) Khoai tây (*Solanum phureja*) ($2n = 24$)

Cây rau

- 1) Cà chua (*Lycopersicum esculentum*)
- 2) Anh đào đất (*Physalis peruviana*)
- 3) Bí ngô (*Cucurbita maxima*)

- 4) Ớt (*Capsicum frutescens*)
- Cây lấy sợi
- 1) Bông Ai Cập (*Gossypium barbadense*)
- Cây ăn quả và cây khác
- 1) Hoa say (*Passiflora ligularis*)
 - 2) Ổi (*Psidium guajava*)
 - 3) Ký ninh (*Cinchona calisaya*)
 - 4) Thuốc lá (*Nicotiana tabacum*)

Trung tâm Chiloe (8b)

- 1) Cà chua thường (*Solanum tubersum*)(2n = 48)
- 2) Dâu tây dại (*Fragaria chiloensis*)

Trung tâm Brazilian-Paraguayan (8c)

- 1) Sắn (*Manihot utilisima*)
- 2) Lạc (*Arachis hypogaea*)
- 3) Cao su (*Hevea brasiliensis*)
- 4) Dứa (*Ananas comosa*)
- 5) Giẻ Brazil(*Bertholletia excelsa*)
- 6) Điều(*Anacardium occidentale*)
- 7) Dưa gang tía(*Passiflora edulis*)

1.6 CÁC TRUNG TÂM BẢO TỒN NGUỒN GEN THẾ GIỚI

Bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật, tập trung lớn nhất trong mạng lưới của IPGRI. Mạng lưới có sự tham gia của các quốc gia và các cơ quan nghiên cứu nông nghiệp Quốc tế cây mận

Bảng 1-2: Các Trung tâm nông nghiệp Quốc tế (IARCs) trong nhóm tư vấn nghiên cứu nông nghiệp Quốc tế

Từ viết tắt	Cơ quan	Năm thành lập	Các chương trình nghiên cứu	Cơ quan tại nước
IRRI	Viện nghiên cứu lúa Quốc tế (International Rice Research Institute)(IRRI)	1960	Lúa	Philippines
CIMMYT	Trung tâm cải tiến ngô và lúa mỳ Quốc tế (International Maize and Wheat Improvement Centre) (CIMMYT)	1964	Ngô, lúa mỳ, lúa mạch và triticale*	Mexico
IITA	Viện nghiên cứu Nông nghiệp Nhiệt đới (International Institute of Tropical Agriculture) (IITA)	1965	Ngô, lúa, đậu bò, khoai lang, củ mỡ, sắn	Nigeria
CIAT	Trung tâm Nông nghiệp nhiệt đới (Centre Internacional de Agricultura Tropical)	1968	Sắn, đậu, lúa, cỏ thức ăn gia súc	Colombia
WARDA	Hiệp hội phát triển lúa Tây Phi (West Africa Rice Development Association)	1971	Lúa	Ivory Coast
CIP	Trung tâm cây có củ Quốc tế (International Potato Centre)	1972	Khoai tây và cây có củ khác	Peru
ICRISAT	Viện nghiên cứu cây trồng vùng Nhiệt đới bán khô hạn	1972	Đậu mỗ, đậu ngọc (pigeonpea), kê, cao lương,	India

	(International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics)		lạc	
IBPGR	UB nguồn tài nguyên di truyền thực vật Quốc tế (International Board for Plant Genetic Resources)	1974	Nguồn tài nguyên di truyền thực vật	Italy
ICARDA	Trung tâm nghiên cứu nông nghiệp vùng khô hạn (International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas) (CIARD)	1976	Lúa mỳ, lúa mạch, đậu faba, đậu lăng, đậu mỗ cây thức ăn gia súc và triticale	Syria
ISNAR	Cơ quan hỗ trợ nghiên cứu nông nghiệp Quốc tế (International Service for National Agricultural Research)	1980	Nghiên cứu nông nghiệp quốc gia	Netherlands

Ghi chú: *Triticale* × *Triticosecale*) là loài lai giữa lúa mỳ (*Triticum*) và lúa mạch đen (*Secale*)

Bảng 1- 3 : Số mẫu nguồn gen lưu giữ tại các cơ quan nghiên cứu quốc tế (van Sloten, 1990a)

Tổ chức	Số mẫu nguồn gen
CIAT	66.000
CIMMYT	70.000
CIP	12.000
ICARDA	87.000
ICRISAT	96.000
IITA	36.000
ILCA	9.000
IRRI	83.000
WARDA	6.000
	466.000
	35%

Ghi chú: Tổng số mẫu nguồn gen đang lưu giữ toàn cầu ước khoảng 2.600.000; số mẫu nguồn gen duy nhất trên toàn thế giới 1.050.000 mẫu năm 1981 đến nay ước khoảng 1.300.000 mẫu.

Bảng 1-4: Nguồn gen cây lương thực (Anderson *et al.*, 1988)

Cây trồng	Số mẫu trong ngân hàng gen chính (1000)	Số mẫu khác biệt (1000)	% vật liệu di truyền đã thu thập		Mức độ bị đe dọa
			Cây trồng	Hoang dại	
Lúa mỳ	400	125	95	60	Trung bình
Lúa	200	70	70	10	Trung bình
Ngô	70	60	90	n.e.*	n.a.
Lúa mạch	250	50	40	10	Trung bình
Lúa miến	90	20	80	10	cao

Đậu	65	33	50	10	Trung bình/thấp
Lạc	33	10	70	50	Thấp
Khoai lang	8	3	60	1	Cao
Khoai tây	42	30	95	n.e.	Thấp
Đậu đũa	18	12	75	1	Cao

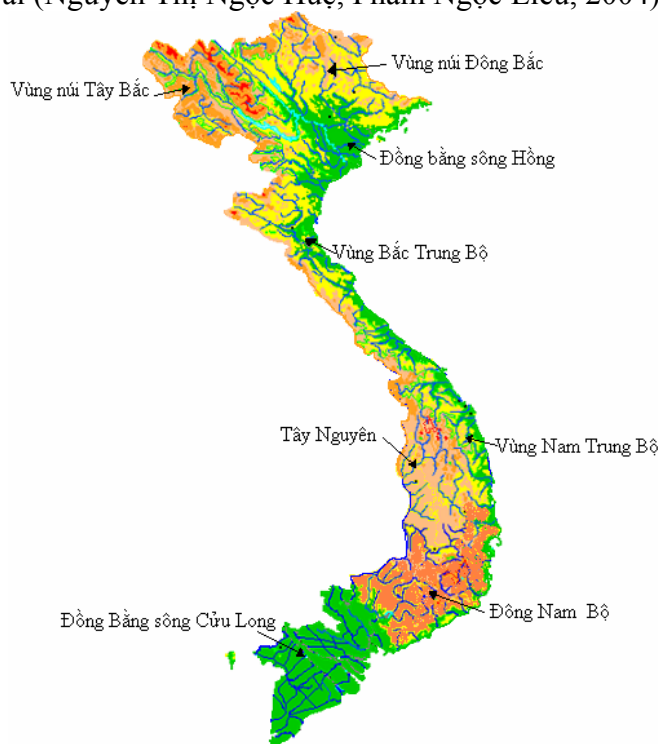
Source: IBPGR 1984; n.a. Không đủ thông tin; n.e. không ước tính

1.7 BẢO TỒN NGUỒN GEN CỦA VIỆT NAM

Nguồn tài nguyên di truyền thực vật của Việt Nam rất đa dạng do đặc điểm điều kiện sinh thái, địa hình và dân tộc. Việt Nam chia thành 8 vùng sinh thái, mỗi vùng có điều kiện địa hình, đất đai, thổ nhưỡng và khí hậu khác nhau đã hình thành nên các thảm thực vật và loài thực vật phong phú và đa dạng. Theo các tài liệu thống kê (tré de Groombridge, 1992), Việt Nam là một trong 25 nước có mức đa dạng sinh học cao nhất thế giới với dự tính có 20.000 đến 30.000 loài thực vật. Theo Nguyễn Nghĩa Thìn, 1997 tổng số các loài thực vật toàn quốc là 11.373 loài của 2.524 chi và 378 họ thuộc 7 ngành.

Vùng Tây Bắc và Đông Bắc Bộ có địa hình núi cao, có 4 mùa rõ rệt trong năm, mùa đông lạnh nhiệt độ thấp thích hợp với một số loài cây Á nhiệt đới như lê, đào, mận. Địa hình núi cao phân chia thành các tiểu vùng như huyện Sa Pa tỉnh Lào Cai, huyện Sìn Hồ tỉnh Lai Châu một số loài cây ăn quả, hoa ôn đới cũng sinh trưởng phát triển ở vùng này. Một số loài cây thuốc đặc hữu, quý hiếm ở điều kiện sinh thái Sapa như thảo quả (*Amomum tsao-ko* Crev. et Lem)

Vùng đồng bằng Bắc Bộ phì nhiêu, đa dạng của các loài cây lương thực như lúa, ngô, khoai lang. Ngoài ra đồng bằng Bắc Bộ còn đa dạng nhất nguồn gen cây ăn quả địa phương và nhập nội như cây vải (Nguyễn Thị Ngọc Huệ, Phạm Ngọc Liễu, 2004)



Hình 1-7 : Các vùng sinh thái ở Việt Nam

Vùng Bắc Trung Bộ và Nam Trung bộ là vùng chịu ảnh hưởng của gió Lào, khô và nóng và phân chia thành các tiểu vùng khá rõ, tiểu vùng phía tây dãy núi Trường Sơn, độ dốc lớn, thảm thực vật đa dạng hơn vùng ven biển. Nguồn gen vùng ven biển phong phú các loài có khả năng chịu hạn, mặn điển hình. Ví dụ giống lúa lóc Nghệ An là địa phương có khả năng chịu hạn và phục hồi sau hạn cao, nguồn gen quý cho chọn tạo giống chịu hạn và mặn.

Vùng Đông Nam Bộ là vùng điển hình khô hạn của Việt Nam, những cây trồng đặc thù chịu hạn như điều, cao su có nguồn gen đa dạng nhất trong cả nước

Vùng Tây nguyên là quê hương của các cây công nghiệp, các giống cây lương thực, cây lấy hạt có nhiều đặc điểm và tính trạng quý đặc biệt khả năng chịu hạn. Tây Nguyên hiện là một trong vùng đa dạng nhất của cả nước

Vùng Đồng bằng Sông Cửu Long thảm thực vật, cây lương thực và các loài thực vật đặc trưng của đất ngập nước.

Ngày nay, do nhiều nguyên nhân như sự tăng dân số, nhu cầu lương thực và nhu cầu khác của con người ngày càng tăng dẫn đến khai thác rừng và các nguồn tài nguyên một cách quá mức, thiên tai, dịch bệnh và sự phát triển nhanh của các giống cây trồng mới có năng suất cao dẫn đến nguồn tài nguyên di truyền ở nhiều vùng sinh thái đã suy giảm nghiêm trọng. Suy giảm nhanh và mức độ mạnh nhất là các vùng đồng bằng, nơi có điều kiện canh tác thuận lợi, mật độ dân số cao, điều kiện kinh tế phát triển. Nông dân có khả năng đầu tư cao để sử dụng các giống cây trồng cải tiến và giống lai. Những vùng khó khăn, canh tác nhờ nước trời, nông dân nghèo, khả năng đầu tư thấp do vậy mức độ đa dạng cây trồng, đặc biệt là các giống bản địa và giống địa phương có mức đa dạng cao hơn vùng khác. Ví dụ mức độ đa dạng nguồn gen thực vật tại huyện Điện Biên, tỉnh Điện Biên khảo sát năm 2003 trình bày trong bảng 1-5:

Bảng 1-5: Khảo sát nguồn gen thực vật tại huyện Điện Biên tỉnh Điện Biên
(Số liệu điều tra tại 6 xã của huyện Điện Biên năm 2003)

STT	Tên Việt nam	Tên khoa học	Số hộ trồng
1	Hành ta	<i>Allium ascalonicum</i> L.	45
2	Hành củ	<i>Allium cepa</i> L.	12
3	Hành hoa	<i>Allium fistulosum</i> L.	15
4	Tỏi	<i>Allium sativum</i> L.	18
5	Hẹ	<i>Allium tuberosum</i> Rottl. Và Spreng.	10
6	Dứa gai	<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr	16
7	Bình bát	<i>Annona reticulata</i> L.	2
8	Lạc	<i>Arachis hypogaea</i> L.	25
9	Cau	<i>Areca catechu</i> L.	8
10	Mít	<i>Artocarpus melinoxyla</i> Gagn.	25
11	Cải bắp	<i>Brassica capitata</i> L.	6
12	Cải bẹ trắng	<i>Brassica chinensis</i> L.	50
13	Su hào	<i>Brassica gemmifera</i> Zink.	20
14	Cải bẹ xanh	<i>Brassica juncea</i> L.	24
15	Dong riềng	<i>Canna edulis</i> Ker	15
16	Ớt chỉ thiên	<i>Capsicum fasciculatum</i> Bail.	21
17	Đu đủ	<i>Carica papaya</i> L.	47
18	Riềng	<i>Catimbum muticum</i> (Roxb.) Holtt.	6
19	Vú sữa	<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	2
20	Cải cúc	<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	4
21	Chanh ta	<i>Citrus aurantifolia</i> Sw.	11

22	Bưởi	<i>Citrus grandis</i> L.	9
23	Chanh yên (tây)	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm	6
24	Cam núi	<i>Citrus macroptera</i> Montr.	7
25	Cam sành	<i>Citrus nobilis</i> Lour	3
26	Quýt	<i>Citrus reticulata</i> Blco.	2
27	Tía tô	<i>Coleus scutellaroides</i> Benth	16
28	Khoai môn nước	<i>Colocassia esculenta</i> (L.) Schott	14
29	Dưa leo	<i>Cucumis sativus</i> L.	11
30	Bí đỏ cuống tròn	<i>Cucurbita maxima</i> L.	35
31	Bí rợ	<i>Cucurbita moschata</i> Duch.	41
32	Bí đỏ	<i>Cucurbita pepo</i> L.	47
33	Nghệ	<i>Curcuma domestica</i> L.	13
34	Sả	<i>Cymbopogon citratus</i> L.	4
35	Nhãn	<i>Dimocarpus longan</i> var. <i>local</i> Lour.	19
36	Củ mỡ	<i>Dioscorea alata</i> L.	9
37	Củ từ	<i>Dioscorea esculenta</i> (Lour.) Burk	7
38	Củ mài	<i>Dioscorea persimilis</i> Prain & Burkill	8
39	Rau ngổ	<i>Enhydra fluctuans</i>	12
40	Kinh giới	<i>Esholigia ciliata</i> L.	11
41	Sì	<i>Ficus benjamina</i> L.	5
42	Sung lông	<i>Ficus drupacea</i> Corner	2
43	Ngái	<i>Ficus maliformis</i> King.	4
44	Sung	<i>Ficus rasemosa</i> L.	7
45	Sung xanh	<i>Ficus virens</i> Ait.	1
46	Đậu nành	<i>Glycine max</i> (L.) Merr	34
47	Rau giấp cá	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	17
48	Rau muống	<i>Ipomoea aquatica</i> Forssk.	5
49	Khoai lang	<i>Ipomoea batatas</i> Lamk.	3
50	Đậu ván	<i>Lablab purpureus</i> (L.) Sweet sub sp.	24
51	Bầu	<i>Lagenaria siceraria</i> (Mol.) Stadley	39
52	Vải	<i>Litchi sinensis</i> Radlk.	4
53	Trứng gà	<i>Lucuma mammosa</i> Gaertn	9
54	Mướp khía	<i>Luffa acutangula</i> (L.)	12
55	Cà chua	<i>Lycopersicon carasiforme</i> Alef.	15
56	Cà chua thóc	<i>Lycopersicon esculentum commune</i> Alef.	9
57	Xoài	<i>Mangifera indica</i> L.	11
58	Sắn	<i>Manihot esculenta</i> Grantz	27
59	Hồng xiêm	<i>Manilkara achras</i> (Mill) Fosb.	8
60	Mướp đắng	<i>Momordica charantia</i>	24
61	Gấc	<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng	15
62	Dâu ta	<i>Morus australis</i> Poir.	17
63	Đậu mè	<i>Mucuna cochinchinensis</i> (Lour.) Merr	26
64	Chuối	<i>Musa</i> sp.	51
65	Húng quế	<i>Ocimum basilicum</i> L.	13
66	Hương nhu	<i>Ocimum gratissimum</i> L.	7
67	Lúa	<i>Oryza sativa</i> L.	130
68	Củ đậu	<i>Pachirhizus erosus</i> L.	18
69	Mơ lông	<i>Paederia lanuginosa</i> Wall.	3

70	Mơ leo	<i>Paederia scandens</i> (Lour.) Merr.	7
71	Me rừng	<i>Phyllanthus emblica</i> L.	3
72	Trầu không	<i>Piper betle</i> L.	3
73	Lá lốt	<i>Piper lolot</i> C.	15
74	Rau răm	<i>Polygonum odoratum</i> Lour.	11
75	Đinh lăng	<i>Polyscias fruticosa</i> (L.) Harms	9
76	Mơ	<i>Prunus armeniaca</i> L.	4
77	Ổi	<i>Psidium guajava</i> L.	21
78	Đậu rồng	<i>Psophocarpus tetragonolobus</i> L.	19
79	Sắn dây	<i>Pueraria thomsoni</i> Benth	12
80	Lựu	<i>Punica granatum</i> L.	3
81	Cải củ	<i>Raphanus sativus</i> L.	23
82	Hoa hồng	<i>Rosa chinensis</i> Jacq.	9
83	Su su	<i>Secchium edule</i> (Jacq.) Swartz.	4
84	Mía	<i>Shaccharum officinarum</i> L.	12
85	Cà dái dê (tím)	<i>Solanum melongena</i> L.	19
86	Cà pháo	<i>Solanum undatum</i> L.	15
87	Me	<i>Tamarindus indica</i> L.	4
88	Dưa núi	<i>Trichosanthes cucumerina</i> L.	17
89	Đậu xanh	<i>Vigna radiata</i> L.	29
90	Đậu nho nhe	<i>Vina umbellata</i> (Thunb.) Ohwi & Ohashi var.	42
91	Khoai môn	<i>Xanthosoma sagittifolium</i> L.	11
92	Ngô	<i>Zea mays</i>	112
93	Gừng	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	13
94	Táo ta	<i>Ziziphus manritiana</i> (Lamk.)	6

Nguồn : Vũ Văn Liết, Đồng Huy Giới, 2003

Kết quả khảo sát và thu thập cho thấy mức độ đa dạng phụ thuộc vào những yếu tố chủ yếu sau:

- + Điều kiện tự nhiên, kinh tế xã hội : các xã xa trung tâm và đang giao thông số lượng giống địa phương, nguồn gen phong phú hơn các xã gần trung tâm
- + Dân tộc khác nhau mức độ phong phú khác nhau, trong 4 dân tộc khảo sát, dân tộc Mông có bộ giống địa phương phong phú nhất, tiếp đó là dân tộc Thái, dân tộc Kinh hầu hết sử dụng các giống cải tiến
- + Địa hình cao nguồn gen phong phú hơn địa hình thấp, bằng phẳng và có tưới
- + Địa phương có rừng nguồn gen phong phú hơn địa phương không có rừng
- + Nguồn gen giống địa phương, cây hoang dại khá phong phú trong vườn hộ

Những nghiên cứu khác cũng cho kết quả tương tự, vùng núi dân tộc ít người mức độ đa dạng còn khá cao, các giống địa phương chiếm tỷ lệ lớn hơn so với các giống mới.

Bảng 1-6: Tỷ lệ giống lúa địa phương của khu vực miền núi và đồng bằng

Địa phương	Tổng số giống	Số giống địa phương	
		Số lượng	Tỷ lệ(%)
Bản Tát (Tân Minh, Đà Bắc, Hòa Bình)	22	17	77,27
Bản Cang (Đoàn Kết, Đà Bắc, Hòa Bình)	25	15	60,00
Thôn Yên Minh (Yên Quang, Nho Quan, Ninh Bình)	10	4	40,00
Thôn Quảng Mão (Thạch Bình, Nho Quan, Ninh Bình)	11	4	41,67
Thôn Đồng Lạc (Nghĩa Lạc, Nghĩa Hưng, Nam Định)	12	3	25,00
Thôn Kiên Thành (Nghĩa Lợi, Nghĩa Hưng, Nam Định)	12	3	25,00

Nghiên cứu của Lưu Ngọc Trinh và cộng sự năm 2001 cho thấy mức độ đa dạng của giống lúa địa phương minh họa trong bảng 1-6

Nhận thức được mức độ quan trọng của nguồn tài nguyên di truyền thực vật và xu hướng xói mòn nguồn gen thực vật. Việt Nam đã thành lập Trung tâm Tài nguyên di truyền thực vật thuộc Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam (Quyết định số 220/2005/QĐ-TTg ngày 09/9/2005 của Thủ tướng Chính phủ). Trung tâm có mạng lưới gồm 18 Viện, Trung tâm và Trạm làm nhiệm vụ nghiên cứu và bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Những nhiệm vụ được quy định bao gồm: **(a)** Duy trì và phát triển ngân hàng gen thực vật Quốc gia **(b)** Xây dựng giải pháp bảo tồn và khai thác sử dụng tài nguyên thực vật **(c)** Bảo tồn thông qua sử dụng tài nguyên thực vật, phát triển và duy trì các điểm bảo tồn *In situ* nguồn gen cây trồng; **(d)** Đa dạng sinh học nông nghiệp, động thái biến động đa dạng thực vật; **(đ)** Điều phối hoạt động mạng lưới bảo tồn quỹ gen cây trồng.

Trung tâm đã thu thập theo thứ tự ưu tiên tại các vùng có nguy cơ xói mòn nguồn gen cao và nhập nội có định hướng. Đã và đang bảo tồn 1.800 mẫu giống của khoảng 100 loài cây trồng. Hàng năm lưu giữ tốt số giống đã có và các giống mới thu thập, nhập nội về. Dự kiến đến cuối năm 2005 số mẫu giống được bảo tồn trong cả nước là 20.000 của 200 loài, trong đó tại NHGCTQG là 15.000 mẫu giống. Trung tâm cũng đã thực hiện quản lý dữ liệu và thông tin TNDTTV: Đến năm 2005 hoàn thành bốn nội dung chính:

- Phần mềm quản lý TNDTTV bằng tiếng Việt áp dụng thống nhất trên toàn quốc - Website về TNDTTV của Việt Nam có đủ lượng thông tin cần thiết cho các đối tượng truy cập trong nước và tuyên truyền quốc tế

- In ấn phẩm thông tin TNDTTV các dạng sách chuyên khảo, catalog, bản tin (newsleter), tờ bướm (brochure) cho các đối tượng sử dụng khác nhau. Cấp phát, trao đổi thông tin TNDTTV theo quy chế cấp phát thông tin nguồn gen

Trong giai đoạn 2001-2005, Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia đã cấp phát 3.494 lượt mẫu giống và 4.250 lượt dữ liệu phục vụ các mục tiêu sử dụng khác nhau, góp phần tích cực cho công tác giống cây trồng. Giống đậu xanh NTB-01 do Trung tâm nghiên cứu Nông nghiệp Duyên hải Nam Trung Bộ đã bình tuyển từ các nguồn gen đậu xanh do Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia cung cấp được công nhận là giống quốc gia.

Việt Nam cũng đã hình thành các vườn quốc gia, khu bảo tồn để bảo tồn đa dạng sinh học, trong đó có bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật. Số vườn quốc gia cả nước đến 2006 là 30 với tổng diện tích 1.166.441 ha, ngoài vườn quốc gia cả nước hiện còn có 78 khu bảo tồn thiên nhiên với tổng diện tích 1,7 triệu ha và 18 khu bảo vệ cảnh quan có diện tích hơn 120.000 ha.

Việt Nam cũng đã ban hành nhiều chính sách bảo tồn đa dạng sinh học cũng như bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Quốc hội đã ban hành “Pháp lệnh giống cây trồng số 15/2004/PL-UBTVQH11”, “Luật Sở hữu trí tuệ số 50/2005/QH11” đã được Quốc hội khoá XI kỳ họp thứ 8 thông qua ngày 29/11/2005 và có hiệu lực từ ngày 01/7/2006; “Luật nước Cộng hoà Xã hội Chủ nghĩa Việt Nam số 29/2004/QH11 ngày 03 tháng 12 năm 2004 về bảo vệ và phát triển rừng”

Chính phủ đã ban hành “Nghị định số 57/2005/NĐ-CP của Chính phủ về việc xử phạt vi phạm hành chính trong lĩnh vực giống cây trồng”; “Chỉ thị số 210/TTg ngày 6/12/1966 của thủ tướng chính phủ về việc khai thác và phát triển cây thuốc, động vật làm thuốc”. Các Bộ ban hành “Quyết định số 68/2004/QĐ-BNN ngày 24 tháng 11 năm 2004 của Bộ trưởng bộ NN & PTNT về việc bổ xung 10 loài cây trồng vào danh lục loài cây trồng được bảo hộ”. Những luật, nghị định và thông tư là những cơ sở pháp lý cho bảo tồn và nghiên cứu nguồn gen thực vật.

Câu hỏi ôn tập và bài tập của chương 1

- 1- Các khái niệm đa dạng sinh học, đa dạng di truyền
- 2- Vai trò của đa dạng sinh học và đa dạng di truyền với nông nghiệp và chọn giống cây trồng
- 3- Khi điều tra thu thập nguồn gen ở huyện Điện Biên, thu thập được tổng số 94 loài, số loài chỉ tìm thấy trong huyện là 2 loài. Hãy tính mức độ phong phú hay đa dạng loài thực vật của huyện Điện Biên
- 4- Khi thực hiện thu thập mẫu nguồn gen ở ba xã thu được 6 loài, những số cá thể của mỗi loài ở ba xã trên là khác nhau như bảng sau:

Loài \ xã	Số cá thể		
	Nà Tấu	Mường Pôn	Thanh Nưa
sp 1	26	30	60
sp 2	32	40	5
sp 3	45	20	70
sp 4	18	15	17
sp 5	39	53	45
sp 6	22	14	26

Hỏi trong ba địa phương trên, địa phương nào có mức độ đa dạng cao hơn

- 5- Các học thuyết về nguồn gen thực vật và giá trị của các học thuyết đối với nông nghiệp và chọn giống
- 6- Các Trung tâm phát sinh cây trồng và cho ví dụ một Trung tâm để minh họa
- 7- Các Trung tâm lưu giữ nguồn gen quốc tế và số lượng nguồn gen lưu trữ, bảo tồn
- 8- Vấn đề đa dạng sinh học và đa dạng di truyền ở Việt Nam hiện nay như thế nào?

Chương 2

THU THẬP NGUỒN GEN THỰC VẬT

2.1 XÓI MÒN NGUỒN TÀI NGUYÊN DI TRUYỀN THỰC VẬT

2.1.1 Mức độ xói mòn nguồn gen thực vật

Wilkes(1984) đưa ra ba mức đe dọa đến nguồn tài nguyên di truyền và đa dạng nguồn tài nguyên di truyền thực vật như sau:

- *Xói mòn di truyền (Genetic erosion):*

Xói mòn di truyền là một quá trình làm hạn chế và thu nhỏ vốn gen của một loài thực vật hay động vật, ngay cả khi có hơn một cá thể trong quần thể bị mất không có cơ hội thu lại hay lập lại ở cá thể khác và gây nguy hiểm đến đa dạng quần thể.

Xói mòn di truyền trong đa dạng nông nghiệp và chăn nuôi là sự mất đa dạng di truyền, gồm mất các gen và các tổ hợp gen đặc thù (hoặc phức hợp gen), như mất các giống địa phương các loài thuần hóa đã thích nghi với môi trường tự nhiên, nơi nó phát sinh và phát triển.

Thuật ngữ xói mòn di truyền đôi khi sử dụng với nghĩa hẹp là mất các allele hoặc các gen và nghĩa rộng là mất các giống hay các loài

Kỹ thuật cải tiến giống cây trồng phát triển đã loại trừ những giống cơ bản hay nguồn gen gốc tạo ra giống cây trồng cải tiến đó. Hơn 10.000 năm, cây trồng đã tạo ra một số lượng lớn những kiểu gen thích nghi với các điều kiện địa phương. Những giống cây trồng này là những giống địa phương, giống cây trồng nông nghiệp do người dân chọn lọc và cây bản địa. Chúng là nguồn di truyền cho các nhà tạo giống sử dụng để cải tiến nguồn gen tạo ra các giống cây trồng chịu thâm canh và năng suất cao. Ngay sau đó các giống cải tiến năng suất cao đã thay thế các đa dạng di truyền hàng nghìn năm tạo nên. Bên cạnh đó do dân số tăng, dẫn đến đất đai được sử dụng vào sản xuất nông nghiệp mở rộng hơn để đáp ứng nhu cầu của con người làm biến mất nơi sinh sống của các loài hoang dại. Các nguy cơ trên yêu cầu nhân loại phải ngay lập tức thu thập và bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật còn lại, nếu không chúng sẽ biến mất hoàn toàn. Thế giới cũng bắt đầu đưa ra những thuật ngữ và kỹ thuật mới là bền vững và đa dạng sinh học, đa dạng di truyền, bảo tồn nội vi (*In-situ*), bảo tồn ngoại vi (*Ex-situ*)... và chúng trở thành là một thành phần của sự bền vững trong tương lai

- *Nguồn di truyền dễ tổn thương (Genetic vulnerability):*

Nguồn di truyền dễ tổn thương là những loài dễ bị thay thế hay đang bị đe dọa tuyệt chủng do môi trường bất thuận, dịch bệnh và điều kiện kinh tế - xã hội khác. Nguồn tài nguyên bị mất môi trường sinh sống hoặc môi trường sinh sống bị phá vỡ, chia cắt cũng làm cho nguồn tài nguyên di truyền dễ bị tổn thương

Nguồn di truyền dễ tổn thương gây rủi ro cho nền nông nghiệp đầu tư cao để trồng cây lương thực, cây hàng hóa ở những nước phát triển. Xói mòn di truyền là sự giảm dần của đa dạng di truyền thực vật còn tồn tại di truyền là sự mỏng manh của nền tảng di truyền hẹp, canh tác độc canh trên một phạm vi rộng (sự đồng nhất của hàng triệu cây), bao trùm hàng nghìn ha. Canh tác độc canh có rủi ro cao khi gặp điều kiện bất thuận hay dịch hại, ví dụ bệnh rỉ sắt thân của lúa mì năm 1954, bệnh khô vằn ở ngô năm 1970 và nạn đói do mất mùa khoai tây ở Ai len 1840 là những minh chứng cho tính dễ tổn thương di truyền.

- *Sự tuyệt chủng (Genetic wipeout):*

Sự đe dọa thứ ba đến nguồn tài nguyên di truyền thực vật là sự biến mất của các loài tiềm năng đã tạo nên đa dạng nguồn tài nguyên di truyền, nó phá vỡ quần xã và ổn định của nguồn tài nguyên di truyền. Sự phá vỡ này có thể dẫn đến biến mất một số đa dạng di truyền mong muốn. Rất nhiều loài cây trồng và cây trồng hoang dại đã bị tuyệt chủng và cần thiết phải có chiến lược thu thập bảo tồn. Nghiên cứu của V. Holubec, 1997 cho thấy các loài hoang dại của bông ở châu Phi, nơi có nguồn gen bông đa dạng nhất thế giới, nhưng một số loài ngày nay có rất ít thông tin về chúng. Các loài bông địa phương này thuộc 4 nhóm gen nôm (A, B, E và F) đang bị đe dọa tuyệt chủng. Do vậy, con người cần xây dựng bản đồ phân bố, thu thập và bảo tồn chúng. Một số loài như *G. areysianum*, *G. incanum*; *G. capitis-viridis* còn rất ít thông tin và được xếp ở mức đe dọa tuyệt chủng nguy hiểm

2.1.2 Nguyên nhân xói mòn nguồn gen thực vật

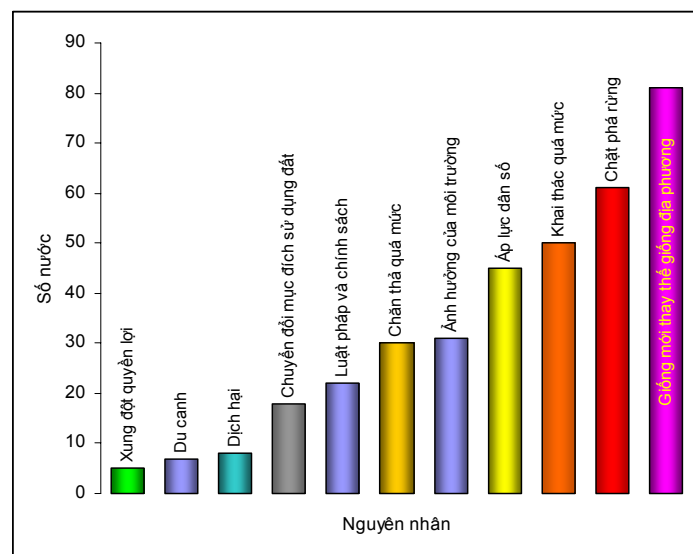
Xói mòn di truyền hay giảm đa dạng di truyền thực vật có nhiều quan điểm khác nhau gồm: giảm số lượng loài thực vật hoặc giảm đa dạng di truyền trong một loài. Ngoài ra, những sinh vật sống bên trong hay ngoài hệ sinh thái tăng lên cũng được tính đến, xem xét mức độ đa dạng di truyền (Collins and Qualset, 1999; Hillel and Rosenzweig, 2005). Loài người đã sử dụng trên 7.000 loài cây trồng để đáp ứng nhu cầu lương thực, thực phẩm và những nhu cầu cơ bản khác của mình thông qua trồng trọt hay thu hái tự nhiên. Ngày nay canh tác hiện đại và cơ giới hóa chỉ có 150 loài sử dụng dưới canh tác thâm canh, trong đó chỉ 15 loài cây trồng cung cấp trên 90 % năng lượng cho loài người. Nông nghiệp, lâm nghiệp, định cư sinh sống của con người chiếm 95% môi trường sống trên trái đất, trong khi diện tích không sử dụng chỉ khoảng 3,2%. Hoạt động của con người hiện nay chiếm 1/3 đến 1/2 sản lượng của hệ sinh thái toàn cầu. Đất trồng trọt và đồng cỏ là những phần sinh khối lớn nhất của hành tinh, chúng chiếm 40% bề mặt đất tương tự như sinh khối của rừng. Mặc dù lượng hạt thu hoạch tăng dần, nhưng chi phí đầu tư gây hại cho môi trường cũng tăng lên đáng kể (bao gồm suy thoái chất lượng nước do sử dụng phân bón, suy thoái đất trồng trọt, mất nơi sinh sống tự nhiên của động, thực vật). Bởi vậy tăng cường sản xuất nông nghiệp trước mắt, nhưng suy thoái và làm yếu hệ sinh thái trong tương lai, bao gồm cả mất tài nguyên di truyền thực vật (Foley và cs., 2005).

Trong các loài cây trồng, giống địa phương được thay thế bằng các giống cải tiến, tỷ lệ và tốc độ thay thế phụ thuộc vào loài cây trồng, vùng địa lý và môi trường. Cây lương thực như lúa nước và lúa mì bị thay thế nhanh nhất, đây là những nguyên nhân xói mòn di truyền là rất lớn (Day Rubenstein và cs, 2005). Ước tính chỉ còn 15% diện tích gieo trồng các giống lúa địa phương trong điều kiện có tưới, lúa mì địa phương chỉ còn 23%, giống ngô địa phương chỉ còn được trồng khoảng 60% diện tích ngô ở các nước đang phát triển và diện tích không đáng kể ở các nước phát triển. Gần 8.000 giống táo được trồng ở Hoa Kỳ trong thế kỷ 20, đến nay trên 95% số đó không còn tồn tại. Giống ngô địa phương ở Mexico chỉ chiếm 20% tổng số giống ngô đang có trong sản xuất, Giống lúa mì địa phương chỉ còn 10% trong tổng số 10.000 giống lúa mì của Trung Quốc đến nay còn được sử dụng.

Những nguyên nhân khác là thay đổi hệ thống sản xuất nông nghiệp gây xói mòn nguồn gen như chăn thả quá mức, thu hoạch cường độ cao, phá rừng và phát nương làm rẫy, xuất hiện của các sâu bệnh mới, chính sách và hiệp ước quốc tế (FAO, 1996). Tóm lại có nhiều nguyên nhân nhưng có hai nguyên nhân cơ bản dẫn đến các nguyên nhân xói mòn nguồn gen là (i) sự tăng dân số, đặc biệt ở các nước đang phát triển gây áp lực lên nguồn tài nguyên (ii) tăng truyền thông của du lịch và thương mại toàn cầu. Những nguyên nhân cơ bản này dẫn đến mất đa dạng về văn hóa và giảm đa dạng sinh học. (Sutherland, 2003; Maffi, 2001, 2005).

Xói mòn di truyền là một tổ hợp của các nguyên nhân, xói mòn nhanh hơn do bị phân chia môi trường sống. Hầu hết các loài đang bị đe dọa sinh sống với một quần thể nhỏ và bị chia cắt môi trường sinh sống tự nhiên của chúng xen kẽ trong các khu định cư và đất canh tác của con người. Nguyên nhân này dẫn đến cận phối và không có điều kiện cạnh tranh quần thể cao cho nên sự xói mòn diễn ra nhanh hơn

Xói mòn di truyền là một quá trình, do vậy hạn chế vốn gen của một loài động, thực vật, vốn gen bị thu hẹp ngay cả khi các cá thể từ một quần thể sống sót bị chết sẽ không có cơ hội tìm thấy hay phục hồi trong quần thể quá nhỏ của nó. Xói mòn di truyền xảy ra bởi vì mỗi cá thể sống có những gen duy nhất, khi cá thể bị mất tạo giống không có cơ hội có kiểu gen như vậy. Đa dạng di truyền thấp trong các quần thể động thực vật hoang dại, dẫn đến giảm vốn gen trong tương lai. Sự tự thụ phấn và hệ thống miễn dịch yếu của các loài dẫn đến sự tuyệt chủng thực sự.



Hình 2-1 : Những nguyên nhân chính gây xói mòn di truyền (Stanislav Magnitskiy, 2000)

Nguồn tài nguyên di truyền thực vật của Việt Nam cũng nằm trong tình trạng chung. Dân số Việt Nam tăng nhanh từ những năm 1954 đến nay (2007) dẫn đến ở vùng đồng bằng canh tác thuận lợi người dân đã khai khẩn hết đất hoang hóa để trồng trọt, những loài cây hoang dại ở vùng đồng bằng hầu như không còn hoặc có số lượng nhỏ. Cuộc cách mạng xanh những năm 1960 vào Việt Nam, những giống cải tiến, năng suất cao phổ biến ra sản xuất để giải quyết tình trạng thiếu lương thực. Các giống lúa cải tiến đã nhanh chóng thay thế các giống lúa địa phương (gié, dự, tẻ tếp, tám), các giống ngô lai thay thế các giống ngô thụ phấn tự do.

Những vùng và địa phương có điều kiện khó khăn về giao thông, đất đai kém màu mỡ, không chủ động tưới, tiêu và người dân nghèo, quá trình thay thế giống địa phương bằng giống mới diễn ra chậm hơn do:

- Giống cải tiến, giống mới khả năng chống chịu và thích nghi với điều kiện địa phương không cao bằng giống địa phương
- Người dân nghèo không có khả năng đầu tư thâm canh cao
- Trình độ canh tác của người dân thấp
- Giống địa phương có chất lượng phù hợp với thị hiếu tiêu dùng của người dân địa phương đó
- Giống địa phương phù hợp với tập quán canh tác

Những nguyên nhân này được chứng minh với vùng núi phía Bắc Việt Nam, phía tây của Miền Trung và Tây nguyên. Tuy nhiên những vùng này lại bị chi phối bằng một số nguyên nhân khác:

- Sự thay thế của giống mới đang diễn ra ngày càng mạnh mẽ
- Dân số tăng và di cư tự do cho nên cần mở rộng diện tích canh tác dẫn đến chặt phá rừng làm nương rẫy
- Chuyển đổi mục đích sử dụng như chuyển đất rừng sang trồng cây công nghiệp, xây dựng cơ sở hạ tầng, khu dân cư...
- Kỹ thuật canh tác đất dốc không phù hợp

2.1.3 Hậu quả của xói mòn nguồn gen

Những nguyên nhân trên dẫn đến tình trạng suy thoái nguồn tài nguyên đất, nước và tài nguyên di truyền thực vật cũng diễn ra ngày một nghiêm trọng hơn. Thiên tai, mất mùa, bão, lũ và thời tiết bất thuận xảy ra thường xuyên và ngày càng nặng nề cũng là một hậu quả của suy thoái tài nguyên và mất đa dạng. Những hậu quả chính được tóm tắt như sau:

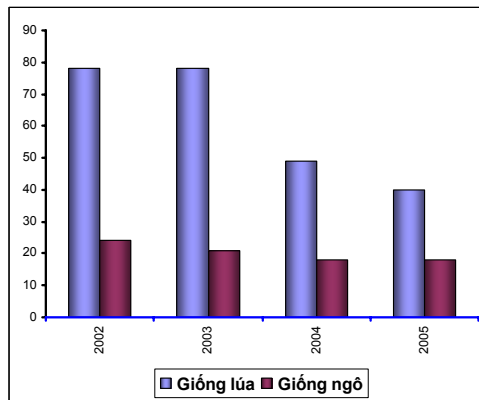
- Mất đa dạng sinh học do giảm nguồn gen thực vật, mất nguồn thức ăn của động vật và vi sinh vật
- Suy yếu môi trường sinh thái
- Sản xuất kém ổn định và phát triển không bền vững
- Xói mòn và suy giảm số lượng, chất lượng nguồn tài nguyên đất
- Xói mòn và suy giảm số lượng, chất lượng nguồn tài nguyên nước
- Thiên tai xảy ra khốc liệt hơn
- Phát sinh dịch bệnh và nhiều dịch bệnh mới
- Mất dần văn hóa, tập quán và kiến thức bản địa

Nông nghiệp, lâm nghiệp và nơi sinh sống của con người đòi hỏi 95% môi trường trái đất, trong khi diện tích trái đất không phát triển thêm (Lacher et al., 1999). Dân số toàn cầu ngày càng tăng, nhu cầu của con người về lương thực ngày càng cao, nhu cầu thực phẩm, nhiên liệu và các nhu cầu khác cũng tăng nhanh chóng. Con người khai thác tự nhiên quá mức, mở mang thêm đất trồng trọt, khai thác rừng làm nguyên liệu cho công nghiệp chế biến... Đây là nguyên nhân cơ bản nhất dẫn đến suy thoái và giảm nguồn tài nguyên, trong đó có nguồn tài nguyên di truyền thực vật.

Suy giảm nguồn gen xảy ra mạnh mẽ sau cuộc cách mạng xanh những năm 1960 do các giống cải tiến, giống ưu thế lai có năng suất cao ra đời thay thế những giống cây trồng địa phương năng suất thấp. Việt Nam cũng trong tình trạng tương tự, những giống cây trồng địa phương đặc biệt là cây lương thực như lúa, ngô suy giảm nghiêm trọng về số lượng giống và diện tích gieo trồng, nhiều giống lúa đã mất như lúa dự, lúa gié của đồng bằng sông Hồng. Các tỉnh miền núi, vùng sâu, vùng xa mức độ đa dạng giống địa phương phong phú hơn nhưng cũng đang trong tình trạng đe dọa suy giảm.

Diện tích đất canh tác giảm do dân số tăng ở miền núi cũng là một nguyên nhân quan trọng, trước đây một hộ nông dân có 3 – 4 nương canh tác, nay chỉ có 1 – 2 nương, chu kỳ luân canh các nương quá ngắn dẫn đến đất không có khả năng phục hồi độ màu mỡ. Các giống cây lương thực địa phương (lúa, ngô) không sinh trưởng, phát triển được trên đất đã nghèo kiệt, năng suất thấp. Nông dân bỏ hóa hoặc chuyển sang sử dụng cho mục đích khác, đây cũng là một nguyên nhân giảm số lượng và diện tích gieo trồng các giống địa phương ở các tỉnh miền núi, Việt Nam

Ví dụ số lượng giống lúa ngô địa phương của huyện miền núi Điện Biên suy giảm qua 4 năm minh họa tại hình 2-2



Hình 2-2 : Mức độ suy giảm giống lúa và ngô địa phương của huyện Điện Biên, tỉnh Điện Biên qua 4 năm (nguồn Vũ Văn Liết, Đồng Huy Giới 2006)

Nguồn gen cây trồng đã và đang suy giảm mạnh đòi hỏi con người phải có những giải pháp thu thập, bảo tồn đảm bảo cho an ninh lương thực và phát triển bền vững trong tương lai.

2.2 NHIỆM VỤ, XÁC ĐỊNH ƯU TIÊN THU THẬP NGUỒN GEN THỰC VẬT

2.2.1 Nhiệm vụ

Xác định ưu tiên thu thập những nguồn gen đang bị đe dọa tuyệt chủng, những nguồn gen quý, đặc hữu của mỗi vùng, mỗi quốc gia. Thu thập thông tin về tình trạng của nguồn gen và vật liệu trồng trọt trên thực tế và đồng ruộng, mức độ xói mòn di truyền và mức độ bị đe dọa tuyệt chủng của chúng trong vùng và địa phương, trên cơ sở đó xác định ưu tiên thu thập và bảo tồn (Frankel và Hawkes, 1975). Những thông tin như vậy cần biết trước khi tiến hành thu thập nguồn gen. Để khảo sát và thu thập nguồn gen thành công phụ thuộc vào ba yếu tố là: (i) sự hợp tác tốt với địa phương, (ii) có khả năng tài chính, nguồn nhân lực và (iii) có kiến thức và kỹ năng nghiên cứu về nguồn gen thực vật.

R.K. Arora đưa ra hai mức nhiệm vụ thu thập nguồn tài nguyên di truyền thực vật là thu thập nguồn gen đặc thù và thu thập theo mục tiêu rộng.

- Nhiệm vụ đặc thù: (*Specific missions*)

Thu thập những biến dị đặc thù, cây trồng hoặc vật liệu đặc thù của những cây lương thực chính lúa, lúa mỳ hoặc ngô. Nguồn gen lúa chống chịu điều kiện bất thuận như hạn, mặn, ngập, nguồn gen ngô chịu hạn, ngô chất lượng cao và nguồn gen cây trồng, cây hoang dại hoặc họ hàng hoang dại đặc hữu. Ấn Độ thực hiện thu thập đặc thù đã tập trung thu thập dạng lúa mỳ thích nghi với vùng đất mặn ở miền Tây đồng bằng Ấn Độ, dạng ngô và lúa chịu lạnh ở độ cao 2000 m của dãy núi Himalayan, thu thập các loài hoang dại đặc thù, đơn vị phân loại liên quan của cây nông nghiệp và cây làm vườn

- Thu thập phạm vi rộng (*Broadbased missions*)

Mục tiêu này đề cập đến đa dạng tối đa trong các cây khác nhau (nhiệm vụ thu thập nhiều cây) có mặt ở trong vùng và thực hiện trong cùng thời gian thu thập. Arora, 1988 phân làm hai loại như minh họa trong bảng 2-1

Thiết kế hai hình thức thu thập này tùy thuộc vào cây trồng ưu tiên, vùng ưu tiên, nhu cầu đặc thù của nhà tạo giống để có nguồn biến dị di truyền phong phú nhất. Biến dị di truyền lớn giúp cho cơ hội nhận biết và khai thác những tính trạng mong muốn, lượng biến dị thu thập phụ thuộc vào mức độ xói mòn, nguồn gen đặc hữu và các loài hoang dại. Trọng tâm của nhiệm vụ thu thập nguồn gen để nhận biết và hiểu rõ mức độ đa dạng di truyền ở

khu vực hay loài cây trồng khảo sát và thực tế canh tác trên đồng ruộng, mức độ đa dạng hay ít phổ biến của nguồn gen đặc thù.

Bảng 2-1: Phân loại thu thập nguồn gen

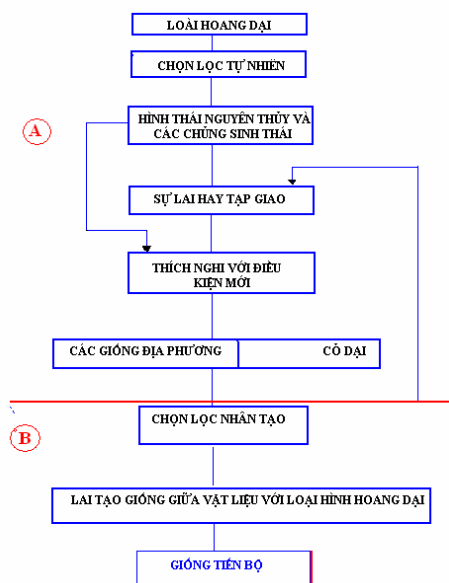
Phân loại	Những điểm chú ý
I. Thu thập không cân đối	
Cây làm vườn, cây trồng, cây thuốc và loài hoang dại	Cần quan tâm loài cây và vùng đặc thù
Cây lấy củ, rễ và cây thức ăn gia súc	Cần quan tâm loài cây và vùng đặc thù
II. Thu thập thông thường /cân đối	
Cây lấy hạt, rau , cây có sợi, cây họ đậu và cây có dầu	Sự thu thập chi tiết với cây trồng ưu tiên

Xem xét biến dị hiện có trong quần thể và các loài khác nhau của nguồn tài nguyên di truyền Frankel và Soule, 1981; Hawkes, 1983 phân loại như sau:

- Các giống bản địa, giống địa phương
- Loài hoang dại mà loài cây trồng đã tiến hóa từ loài này
- Loài hoang dại con người sử dụng
- Loài hoang dại có tiềm năng sử dụng
- Các giống cũ hoặc giống tiến bộ mới.

Các loại trên có mối quan hệ chặt chẽ với nhau, mỗi loại bao gồm cả các dòng hoặc vật liệu di truyền và phân loại rộng hơn nữa như đề nghị của Chang (1985).

Những nguồn gen cần thu thập được nhiều tác giả đề cập đến là dựa trên quá trình hình thành các nguồn gen di truyền hiện nay, để có nhìn nhận đầy đủ hơn về đa dạng nguồn gen cần phải thu thập và bảo tồn.



Hình 2-3: Các loại/ dạng khác nhau của tài nguyên di truyền thực vật hình thành tự nhiên hay nhân tạo. Nguồn: Arora, Nayar and Pandey, 1990

2.2.2 Những nguồn gen cần thu thập ở Việt Nam

Ngày nay để nhận biết những tài nguyên di truyền cần thu thập bao tồn có thể phân loại thành 4 nhóm chính như sau:

Nguồn gen cây hoang dại

- Cây lương thực : như củ mài, mít rừng
- Cây rau : các loại rau rừng, rau gia vị
- Cây ăn quả: sung, vả
- Hoa, cây cảnh : lan rừng, các loài hoa dại
- Cây thức ăn gia súc: cỏ dại, lạc dại...
- Cây thuốc:

Nguồn gen cây trồng bản địa và địa phương

- Cây lúa
- Cây ngô
- Cây ăn quả
- Cây rau
- Hoa, cây cảnh

Nguồn gen cây trồng cải tiến

- Dòng và giống lúa cải tiến
- Giống lúa ưu thế lai
- Dòng và giống ngô thụ phấn tự do
- Giống ngô ưu thế lai
- Dòng và giống cây ăn quả
- Dòng và giống cây rau
- Dòng và giống hoa, cây cảnh

Nguồn gen cây trồng quốc tế

- Cây lương thực
- Cây ăn quả
- Hoa, cây cảnh
- Cây rau
- Các dòng và quần thể
- Dòng bất dục
- Dòng phục hồi
- Dòng duy trì
- Dòng thuần
- Dòng tự bất hợp
- Dòng ưu thế cái

2.2.3 Xác định vùng và cây trồng ưu tiên thu thập ở Việt Nam

Những vùng ưu tiên thu thập là vùng có sự đa dạng cao, nhưng nguy cơ xói mòn tài nguyên di truyền, nguồn gen quý hiếm, đặc hữu và nguồn gen có giá trị kinh tế. Những vùng còn đa dạng di truyền cao của Việt Nam là miền núi Tây Bắc, Đông Bắc, Các huyện Miền núi Trung Bộ, Đông Nam Bộ và Tây nguyên. Những vùng này đang suy giảm đa dạng do áp lực dân số, di dân tự do, điều kiện bất thuận, khai thác quá mức, chặt phá rừng, mở rộng diện tích trồng trọt và mở rộng diện tích các giống cây trồng mới. Ví dụ các giống ngô

địa phương ở Tây Nguyên những năm gần đây suy giảm nghiêm trọng về số lượng và diện tích do các giống ngô ưu thế lai mà điển hình là giống ngô CP 888

Xác định cây trồng ưu tiên dựa trên nguyên tắc trên, nhưng sự ưu tiên thay đổi theo thời gian, theo vùng trên cơ sở phát triển kinh tế xã hội của vùng và giai đoạn nhất định. Việt Nam trong giai đoạn hiện nay có thể xếp thứ tự ưu tiên như sau:

- Lúa
- Ngô
- Cây thuốc
- Rau
- Hoa
- Các loài hoang dại

Đặc biệt những nguồn gen trên có những biến dị và tính trạng quý như chịu hạn, chịu ngập, chịu mặn, chống chịu bệnh, chua phèn và những cây trồng đặc sản địa phương.

2.3 PHƯƠNG PHÁP THU THẬP

Từ thế kỷ 18 các nhà tạo giống cây trồng, các nhà nông nghiệp đã khảo sát và thu thập nguồn gen, tập trung vào các loài thực vật có giá trị kinh tế và giá trị sử dụng đặc biệt như cây ăn quả, cây lương thực phục vụ chọn tạo giống và phát triển nông nghiệp. Quá trình và phương pháp thu thập, bảo tồn được khẳng định mạnh mẽ hơn sau những học thuyết của Darwin về biến dị của các loài thực vật. N.I. Vavilov và cộng sự của ông đã tạo ra sự quan tâm sâu sắc, thực sự về giá trị của đa dạng di truyền thực vật phục vụ cho cải tiến di truyền cây trồng, đáp ứng nhu cầu ngày càng cao của con người. Khái niệm về trung tâm phát sinh cây trồng thế giới và đa dạng di truyền được nêu thành lý thuyết khoa học. Nhiều cơ quan nghiên cứu đã tiến hành thu thập nguồn gen thực vật với nhiều mục đích khác nhau. Phương pháp thu thập phân thành hai hình thức truyền thống và hiện đại. Hai hình thức có những điểm chung, vì thu thập hiện đại là một hoạt động nằm trong thu thập truyền thống, thu thập hiện đại thu thập cả những nguồn gen cần sử dụng hiện tại hoặc chưa sử dụng nhưng sẽ sử dụng trong tương lai. Thu thập truyền thống chỉ thu thập nguồn gen phục vụ cho nhu cầu hiện tại. Cả hai hình thức hoạt động đều góp phần tăng đa dạng nguồn gen và vật liệu di truyền cần thiết cho nghiên cứu phát triển.

Bảng 2-2 : So sánh mục tiêu và phương pháp tiếp cận của hình thức thu thập nguồn gen truyền thống và hiện đại

Khảo sát và thu thập nguồn gen truyền thống	Thu thập nguồn vật liệu di truyền hiện đại
1. Khu vực thực vật có hoa hoặc cho sinh khối lớn...	Khu vực hay vùng đa dạng di truyền, các trung tâm sơ cấp, thứ cấp, đại diện hoặc liên quan đến sinh thái nông nghiệp hay địa sinh thái
2. Thu thập trên cơ sở khảo sát địa sinh thái hoặc địa lý, tiếp cận tỉnh hoặc địa lý	Như trên, tiếp cận địa lý là động lực
3. Cây có hoa của một khu vực hoặc một vùng	Nguồn tài nguyên di truyền, phân bố và đa dạng theo mục tiêu sử dụng (cây ngũ cốc, cây lấy dầu, cây lấy sợi, cây thuốc, thức ăn gia súc...)
4. Các công việc nghiên cứu chuyên sâu với các nhóm hoặc một nhóm	Nghiên cứu cả tiến hóa, thuần hóa (bao gồm cả minh chứng khảo cổ và cổ sinh học)
5. Phân loại đa dạng gồm cả những	Vốn gen cây trồng bao gồm: loài hoang dại trong

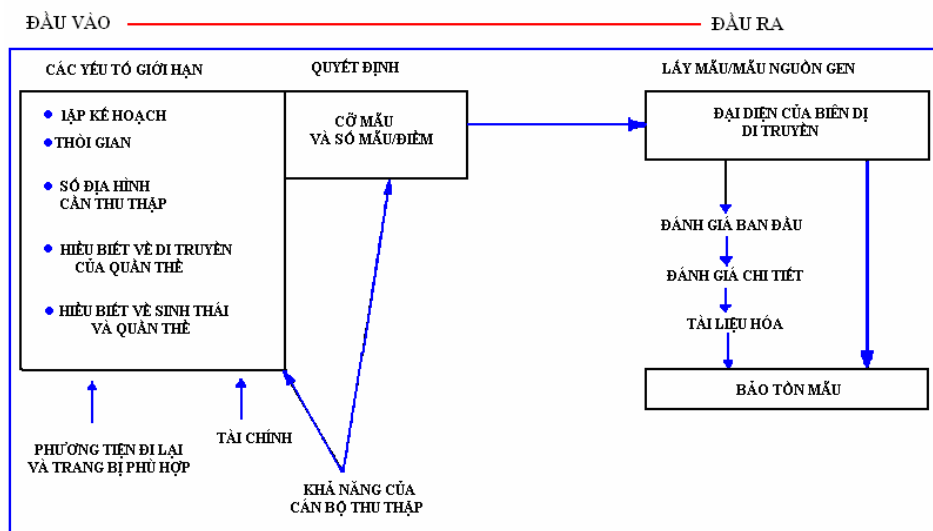
loài chính và đại diện (tiếp cận phân loại)	một đơn vị cơ bản, cấu trúc quần thể liên quan, tự bất hợp, nguồn vật liệu di truyền là giống địa phương, các giống bản địa, hình thức chuyển đổi, nguồn tài nguyên di truyền đã cũ hoặc có triển vọng (tiếp cận di truyền)
6. Tổng hợp nhóm kinh tế trên cơ sở sử dụng, thông tin của thực vật học dân tộc, thu thập các cây cảnh hoang dại, nghiên cứu các cây có hoa tiềm năng	Sự dụng liên kết với các dạng nông sinh học, tính trạng mong muốn, giống địa phương, đa dạng liên kết với các nhân tố dân tộc học

Bảng 2-3: So sánh phương pháp tiếp cận và kỹ thuật thu thập nguồn gen thực vật truyền thống và hiện đại

Thu thập truyền thống	Thu thập hiện đại
1. Thu thập phạm vi rộng các loài và các vùng sinh thái khảo sát để thu thập	Phạm vi hẹp, nhóm cây trồng và loài hoang dại, thu thập tại các vùng/khu vực sinh thái nông nghiệp có canh tác nông nghiệp khác nhau
2. Phân loại đại diện loài và trên loài	Thu thập vật liệu chính mức dưới loài
3. Biến dị đại diện ở các cây trồng thông thường và biến dị cực đại đến biến dị nhỏ nhất (nhóm trồng trọt đại diện cho biến dị cực đại)	Trong một đơn vị thu thập/vốn gen, đại diện đầy đủ của phạm vi biến dị, các dạng thông thường thông qua thu thập ngẫu nhiên, các dạng hiếm thông qua thu thập theo đường chéo (xu hướng)
4. Đơn vị chức năng của nghiên cứu/thu thập là loài. Sự khác nhau rộng theo tính trạng hình thái và phân bố địa lý	Đơn vị chức năng là một quần thể và đơn vị được phân giới bởi dòng gen
5. Thu thập hoa, quả vật liệu trong phạm vi biến dị đại diện	Khảo sát thu thập dựa trên chu kỳ sinh sản, nhân giống hàng năm hay lâu năm
6. Thời kỳ khảo sát là đại diện đầy đủ của vật liệu	Khảo sát lặp lại theo mùa xuất hiện hoặc chín để đại diện đầy đủ cho biến dị
7. Dữ liệu ghi nhận hạn chế ở mức môi trường sống, địa phương, kích thước, màu sắc, các bộ phận của cây, sử dụng...	Dữ liệu ghi nhận mọi khía cạnh, điểm, môi trường, các đặc điểm khác
8. Vật liệu thu thập và bảo quản khô, có khung chỉ thị nhận biết mẫu trong trạng thái sống, các loài đại diện trên cơ sở vườn thực vật và dữ liệu kiểu hình được ghi nhận	Vật liệu thu thập là hạt, hạt phấn, phôi, mô dinh dưỡng có thể nhân và bảo tồn, vật liệu sống được biểu hiện trên ngân hàng gen đồng ruộng, trồng lại, sử dụng và đánh giá

Cả hai hoạt động cần tiến hành song song, cho chúng ta hiểu biết để phục vụ cho cả nghiên cứu và bảo tồn đầy đủ hơn, bảo vệ môi trường sống, vùng tự nhiên trong nghiên cứu thực vật, nông nghiệp, cây làm vườn, lâm nghiệp và nông - lâm. Vì vậy, thu thập cả hai hình thức sẽ cho hiểu biết rộng hơn về phân loại hình thái cây trồng, sinh thái, sinh dưỡng, canh tác, phân bố cây trồng, tiềm năng kinh tế và đa dạng sinh học.

Năm 1978 Williams đã đưa ra sơ đồ tiếp cận quá trình lấy mẫu và thu thập nguồn gen từ khi bắt đầu đến kết thúc như hình 2-4



Hình 2-4 Tiếp cận quá trình lấy mẫu và thu thập nguồn gen

Nguồn : Williams, 1978

2.3.1 Chuẩn bị cho một cuộc thu thập nguồn gen thực vật

a) Thành lập nhóm cán bộ thu thập nguồn gen

Nhóm chuyên gia thu thập là nhóm liên ngành, có chuyên môn sâu một số lĩnh vực khác nhau về thực vật học, di truyền, chọn giống, nông học, sinh thái học, xã hội học. Những người hiểu biết về dân tộc học, kiến thức bản địa có vai trò quan trọng trong quá trình thu thập. Nhóm cần một kỹ thuật viên thành thạo sử dụng trang thiết bị phân tích, đo lường và thiết bị bảo quản mẫu nguồn gen sau thu thập. Nhóm phân công trách nhiệm cho các thành viên, trưởng nhóm, cán bộ hậu cần, cán bộ chuyên môn chính... Phân công công việc chuẩn bị như xây dựng kế hoạch, xây dựng mẫu biểu thu thập thông tin, liên hệ địa phương, chuẩn bị hậu cần... Sau khi công tác chuẩn bị hoàn tất, họp nhóm để thống nhất kế hoạch hoạt động và những kỹ thuật chung. Số lượng một nhóm ít nhất là 6 người gồm 01 nhóm trưởng, 2 đến 3 cán bộ chuyên môn sâu, một cán bộ xã hội học và 01 kỹ thuật viên.

b) Nghiên cứu các tài liệu thứ cấp

Thu thập nguồn gen cần ứng dụng những kiến thức về lấy mẫu quần thể, hiểu biết về đa dạng sinh học, đa dạng di truyền và môi trường, các khía cạnh về văn hóa, kinh tế-xã hội của canh tác nông nghiệp khu vực thu thập. Lập kế hoạch chuẩn bị chu đáo cho một chương trình thu thập nguồn gen đã được nhiều nhà khoa học đề cập đến như Bennett (1970), Harlan (1975b), Hawkes (1976, 1980), Arora (1981a) and Chang (1985). Khía cạnh kỹ thuật cần có hiểu biết trước khu vực điều tra thu thập về văn hóa cộng đồng, các nhóm dân tộc sinh sống, tôn giáo, tập quán, các loài cây trồng và đa dạng hiện có. Những thông tin như vậy được tổng hợp và phân tích trước khi tiến hành cuộc thu thập nguồn gen. Những thông tin như vậy giúp:

- Giảm chi phí và tiết kiệm thời gian
- Chiến lược lấy mẫu phù hợp
- Không để thiếu hay mất cơ hội thu thập nguồn gen
- Chuẩn bị đầy đủ trang thiết bị, dụng cụ, phương tiện và các đồ dùng cần thiết khác.

Thu nhận kiến thức sinh thái nông nghiệp, phân bố cây trồng và thực vật. Điều kiện sinh thái nông nghiệp liên quan đến phân bố các loài thực vật, giống và nhóm cây trồng cũng như họ hàng hoang dại của chúng. Những kiến thức này nhà thu thập có thể thu nhận thông qua các sách và tài liệu đã xuất bản, các trang web địa phương, số liệu thống kê hay các nghiên cứu khác trước đó, thậm chí các báo cáo kinh tế xã hội của địa phương hàng năm. Ngoài những thông tin chung cần tìm hiểu thêm những thông tin chi tiết hơn về mùa vụ thu hoạch các loại cây trồng, các cây trồng kinh tế, cây trồng đặc thù và cây trồng phổ biến tại khu vực khảo sát, thu thập.

Sử dụng sách phân loại đã xuất bản về tên và đặc điểm của các loài cây trồng: nghiên cứu những tài liệu này giúp cán bộ thu thập tiếp cận nhanh hơn với nguồn gen, nắm được nhóm cây, họ, loài và có thể nhận biết, phân biệt nguồn gen tại địa phương so với các vùng khác. Đồng thời có thể xác định được địa điểm có mức độ đa dạng cao nguồn gen, để thu thập đầy đủ và số lượng thu thập nhiều hơn. Nhận biết các loài có mức độ đa dạng thấp hay hiếm để có kế hoạch thu thập chi tiết và cỡ mẫu nhỏ, phạm vi lấy mẫu phải hẹp hơn. Những thông tin thứ cấp này có thể bổ sung vào tài liệu thu thập làm phong phú và đầy hơn thông tin cần thiết cho các nghiên cứu tiếp theo sử dụng.

Thăm các trung tâm hay trạm trại thu thập bảo tồn tài nguyên di truyền trước khi thực hiện cuộc thu thập: thăm các Viện nghiên cứu, các trường Đại học, vườn thực vật và khu bảo tồn thu thập thêm thông tin về nguồn gen, nơi cuộc thu thập sẽ thực hiện. Thông qua các cuộc thăm nhận biết những nguồn gen đã thu thập, những tài nguyên chưa có hoặc chưa đầy đủ cần quan tâm hơn trong quá trình thu thập. Bên cạnh đó thảo luận với các nhà chọn giống, các nhà thực vật học, cung cấp thêm những thông tin khoa học về nguồn gen, kinh nghiệm và nhu cầu của họ về nguồn gen

c) Liên hệ hay hợp đồng với địa phương

Trước khi thực hiện chuyến thu thập, cần liên hệ với địa phương để có sự thống nhất và nhận được sự giúp đỡ trong quá trình thu thập. Những cơ quan địa phương có liên quan đến nguồn gen là Sở KHCN và sở Nông nghiệp & PTNT cấp tỉnh, phòng Nông nghiệp hay phòng Kinh tế cấp huyện, UBND xã, trưởng thôn. Đôi khi hệ thống khuyến nông địa phương có thể trợ giúp cho quá trình thu thập rất hiệu quả. Liên hệ và thỏa thuận với địa phương những nội dung chính như sau:

- Cho phép khai thác các tài liệu sẵn có tại địa phương như số liệu thống kê, các loại bản đồ, báo cáo kinh tế-xã hội hàng năm, báo cáo sản xuất nông nghiệp
- Cho phép tiến hành thu thập tại các địa điểm: huyện, xã, bản, khu vực bảo tồn địa phương, rừng và khu tự nhiên hoang dại
- Có ý kiến chỉ đạo xuống cấp huyện, cấp xã và cấp thôn
- Triệu tập các cuộc họp với nông dân khi cần thiết
- Trợ giúp phương tiện đi lại
- Cử người dẫn đường
- Phiên dịch tiếng địa phương đối với vùng dân tộc ít người
- Điều kiện ăn ở cho đoàn cán bộ thu thập nguồn gen

d) Xây dựng kế hoạch chi tiết cho chuyến thu thập

Kế hoạch chi tiết bao gồm nhiều kế hoạch nhỏ như kế hoạch về thời gian, kế hoạch làm việc, kế hoạch hội họp, kế hoạch đi lại và kế hoạch tài chính. Kế hoạch càng chi tiết cuộc thám hiểm thu thập nguồn gen càng có kết quả tốt. Một ví dụ một đoàn cán bộ thu thập nguồn gen tại huyện Kỳ Sơn, tỉnh Nghệ An thu thập nguồn gen lúa và ngô địa phương diễn ra 10 ngày từ 10 tháng 3 đến 20 tháng 3 năm 2007.

Bảng 2-4 : Kế hoạch thu thập nguồn gen lúa, ngô địa phương tại huyện Kỳ Sơn, Nghệ An năm 2007

Ngày	Thời gian	Nội dung	Người chủ trì
5/3	8h-17h	Họp nhóm cán bộ thu thập, phân công công tác chuẩn bị	Nguyễn Văn A
6/3-9/3		Chuẩn bị vật tư, thuê phương tiện	Nguyễn Văn B
6/3-9/3		Sơ tầm tài liệu thứ cấp của huyện Kỳ Sơn	Nguyễn Văn C
6/3-9/3		Liên hệ thống nhất kế hoạch với tỉnh, huyện	Nguyễn Văn E
10/3	7h-12h	Hà Nội đi Vinh bằng ô tô	Cả đoàn
	13h-17h	Làm việc với sở Tài nguyên và môi trường	ông A+B
	13h-17h	Làm việc với sở NN&PTNT	Bà C+E
11/3	7h30	Rời Vinh đi huyện Kỳ Sơn	cả đoàn
12/3	8h-17	- Thăm chợ huyện - Thảo luận với phòng Kinh tế và Trạm khuyến nông: liên hệ các xã, thôn và thu thập số liệu của huyện	Cả đoàn
13/3	8h 14h-17h	- Rời thị trấn Mường Xén đến xã Huổi Tụ - Thăm chợ xã - Làm việc thu thập thông tin và thảo luận với cán bộ Nông nghiệp, cán bộ địa chính, cán bộ lâm nghiệp xã	Ông A+ bà E Ông B + bà C
		

d) Chuẩn bị hậu cần cho chuyến thu thập

Hậu cần cho chuyến thu thập tùy thuộc vào khả năng của cơ quan thu thập, nguồn tài chính và khả năng hỗ trợ của địa phương. Những yêu cầu tối thiểu cho một cuộc thu thập có thể liệt kê như sau:

- Kinh phí : ăn ở, đi lại, mua vật tư, mua vật liệu, trả công hướng dẫn, phiên dịch, quà cho địa phương và nông dân.
- Tài liệu: mẫu biểu đã in và photo, sổ ghi chép, bản đồ, sách hướng dẫn và những tài liệu đã xuất bản cần thiết có liên quan đến nguồn gen.
- Trang thiết bị và vật tư: kính lúp, la bàn, phích lạnh, tủ định ôn, môi trường nuôi cấy nếu thu thập *in vitro*, giấy Ao và A₄, thẻ, bút các loại, thước các loại, ghim, túi và hộp đựng mẫu, dao, panh, kéo, nước cất. Máy chụp ảnh mẫu, máy quay Vidio, máy ghi âm
- Tư trang cá nhân phù hợp cho đi địa phương và đi rừng, lều bạt và túi ngủ

2.3.2 Thực hiện khảo sát cây trồng theo địa lý sinh thái

Nghiên cứu địa lý sinh thái là tiến trình thu nhận, kiểm tra, so sánh và phân tích các loại số liệu hiện có, đi đôi với so sánh phân loại nguồn gen trong một vùng. Nói chung bước đầu tiên cần thiết phát triển chiến lược cho bảo tồn, sử dụng nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Trước khi thu thập bảo tồn cần có những hiểu biết nhất định về phân loại, đa dạng di truyền, phân bố địa lý, sinh thái thích nghi. Hiểu biết các nhóm thực vật cũng như địa lý, sinh thái, khí hậu cộng đồng dân tộc, tập quán canh tác của vùng mục tiêu. Những phân tích giúp xác định thời gian thu thập nguồn gen khi nào? ở đâu và như thế nào? Ở đâu có thể bảo tồn tốt nhất thuận lợi cho đánh giá và quản lý nguồn gen. Khảo sát địa lý sinh thái làm cơ sở xây dựng phương pháp tiếp cận, quyết định phương pháp bảo tồn *In situ* và *Ex situ* của toàn bộ chiến lược bảo tồn. Khảo sát sinh thái đặc biệt quan trọng áp dụng với bảo tồn các loài hoang dại

a) Các bước thực hiện khảo sát cây trồng theo địa lý sinh thái

- Nhận biết các chuyên gia phân loại, chuyên gia có chuyên môn sâu về nguồn gen
- Nhận biết và thu thập bản đồ của vùng hoặc điểm nghiên cứu
- Ranh giới và đặc điểm của vùng mục tiêu

Maxted và cộng sự 1995, đã có những bàn luận về nghiên cứu địa sinh thái đối với các nhóm nguồn gen hoang dại cho rằng nên bao gồm các đặc điểm địa lý để tăng giá trị dự đoán. Nó nên chứa đựng khu vực phân bố của các nhóm mục tiêu hoặc diện tích tối thiểu của khu vực cây có hoa là ranh giới tốt nhất. Các nhà bảo tồn ở Malawi đã phát triển lý thuyết này để nghiên cứu trên cây điền thành (*Sesbania*), những thông tin được tài liệu hóa bao gồm những biến dị cực kỳ đặc thù, sự phân bố của toàn vùng bán sa mạc Shaharan Châu Phi.

Phân loại khí hậu nông nghiệp cũng có thể sử dụng để nhận biết ranh giới nghiên cứu và chia thành các vùng mục tiêu, trên cơ sở các thông số khí hậu, thời tiết trong một số loại mô hình khái quát. Young 1987 liệt kê các phương pháp phân loại chính còn Koppen, 1936 phân loại dựa trên lượng mưa và nhiệt độ trung bình hàng tháng và hàng năm. Holdridge, 1967 phân loại dựa trên hệ thống vùng sinh sống trên cơ sở tỷ lệ thoát hơi nước tiềm năng. FAO và IIASA (international Institute for Applied Systems Analysis) phân loại dựa trên nhiệt độ thời kỳ trồng trọt, độ dài thời kỳ trồng trọt và mùa mưa. Emberger 1955 phân loại môi trường Địa Trung Hải trên cơ sở lượng mưa trung bình hàng năm, nhiệt độ trung bình tối thiểu, tháng lạnh nhất và nhiệt độ trung bình tối đa của tháng ấm nhất.

Young 1987 đã giới thiệu phân loại của Koppen sử dụng cho các điểm rộng và của FAO cho các vùng sinh thái đặc thù. Các quốc gia cũng hệ thống phân loại riêng như hệ thống phân loại của Kenya phân theo vùng khí hậu nông nghiệp và đã chia Kenya thành 7 vùng sinh thái dựa trên tỷ lệ lượng mưa trung bình hàng năm, bốc hơi nước tiềm năng và nhiệt độ (Kenya soil survey, 1982)

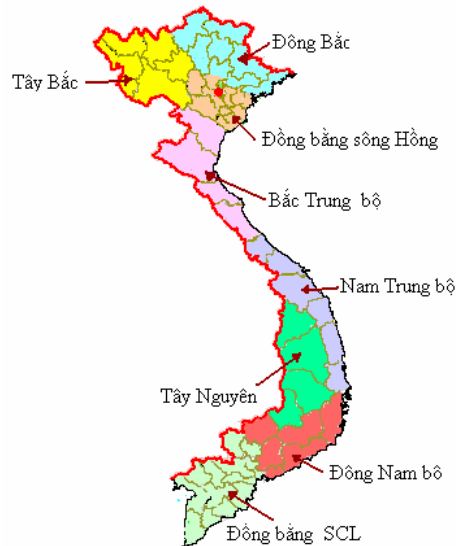
Appa Rao và cộng sự 1989 đã phân loại khí hậu vùng Malawi là một ví dụ minh họa cơ sở phân loại vùng sinh thái nông nghiệp:

- Cao nguyên bằng phẳng
- Khu cao đồi núi
- Khu bề mặt xói mòn kỷ thứ 3
- Thung lũng phân cách bởi vách đứng
- Thung lũng trung du đất cao

Thung lũng trung du đất thấp (vùng cực Nam) độ cao 250m so với mực nước biển, rất nóng và khô, lượng mưa trung bình hàng năm 700 - 800 mm tập trung từ trung tuần tháng 11 đến cuối tháng 3. Cây trồng chủ yếu là lúa miến và bông, vùng thung lũng trung du đất cao với độ cao 300-600 m so với mực nước biển, nóng và ẩm ở miền Bắc cao hơn miền Nam, lượng mưa trung bình 800 - 1000mm. Vùng núi dốc đứng theo hướng từ vùng đất thấp này đến vùng cao nguyên (800-1600m so với mực nước biển) của vùng bề mặt xói mòn với diện tích khoảng 80% và cây thân gỗ, ngô, lạc, thuốc lá, chè và cà phê. Vùng đất cao cách ly với các vùng khác với độ cao 2000m so với mực nước biển đến 3000m. Độ cao cao hơn chủ yếu bảo tồn hoang dại và rừng. Trung bình lượng mưa hàng năm biến động mạnh <1000mm đến 2500mm tại độ cao cao nhất.

Việt Nam chia thành 8 vùng sinh thái dựa trên địa hình, khí hậu thủy văn, thổ nhưỡng, sử dụng đất, điều kiện đất đai, nhiệt độ, lượng mưa, độ ẩm không khí, mùa vụ trồng trọt. Phân vùng sinh thái của nước ta rất phù hợp cho thu thập, bảo tồn và khảo sát nguồn tài nguyên di truyền thực vật

- Vùng Miền núi Tây Bắc Việt Nam có địa hình núi cao, đất dốc, nhiệt độ mùa đông thấp, có nhiều dân tộc ít người sinh sống. Đây là vùng sinh thái có nguồn gen khá đa dạng, cây ngũ cốc lúa cạn, ngô và lúa có tuổi ở những thung lũng, một số điểm có độ cao phù hợp cho một loài cây Ôn đới, Á Nhiệt đới và các loài hoang dại khác. Ví dụ mận Bắc Hà, lê Đồng Văn, đậu tương Mường Khương, lúa xén cù...

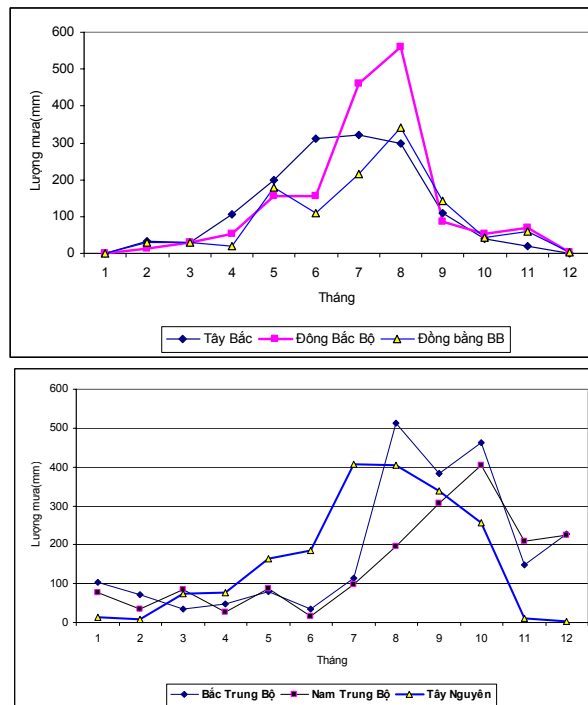


Hình 2-5: Các vùng sinh thái của Việt Nam

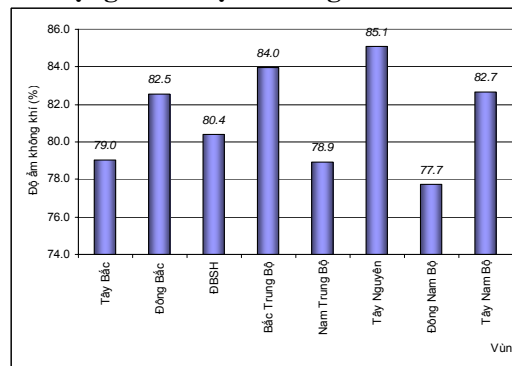
- Vùng Đông Bắc Bộ có địa hình núi cao, lượng mưa lớn, nhiệt độ thấp hơn vùng đồng bằng sông Hồng. Vùng này cũng khá đa dạng về dân tộc, tập quán canh tác cũng như điều kiện đất đai. Do vậy mức độ đa dạng khá khác biệt so với các vùng khác, những cây trồng và cây rừng đặc hữu như giẻ Cao Bằng, chè Thái nguyên, hồng Lạng Sơn...
- Vùng đồng bằng sông Hồng: đất phù sa sông Hồng màu mỡ, địa hình bằng phẳng nơi cao nhất không quá 25 m, khí hậu ôn hòa hơn (lượng mưa, nhiệt độ), khá đồng nhất về dân tộc sinh sống. Canh tác lúa nước, rau màu, cây ăn quả và hoa chiếm ưu thế, nhưng nguồn gen cây hoang dại, giống bản địa hạn chế hơn các vùng khác. Những giống cây trồng địa phương quý như cải Đông Du, lúa tám thơm, vùng ven biển có lúa chiêm bầu, cây ăn quả đặc sản như vải thiều, nhãn lồng...
- Vùng Bắc Trung Bộ địa hình dốc từ Tây sang Đông, sông ngắn, độ dốc lớn, chịu ảnh hưởng của gió Lào (nóng và khô). Vùng này có thể chia thành hai tiểu vùng là tiểu vùng phía Tây dọc theo dãy Trường Sơn, có điều kiện khí hậu điển hình vùng Bắc Trung Bộ, một phần đất là loại Andosols tương tự như Tây Nguyên và Đông Nam bộ đã hình thành nguồn tài nguyên thực vật hoang dại và giống bản địa phong phú. Vùng đồng bằng ven biển, loại đất cát ven biển Arenosols chiếm ưu thế, nguồn gen cây ngắn ngày, chịu hạn, chịu nóng và chịu mặn như lúa, lạc, đậu tương, vùng rất quý hiếm như lạc sen, lúa lóc Nghệ An..
- Vùng Nam Trung Bộ điển hình ẩm độ không khí thấp hơn các vùng khác và phân làm hai mùa rõ rệt là mùa mưa và mùa khô. Đất nâu vàng vùng bán khô hạn Lixisols chiếm ưu thế và loại đất Arenosols –Arr của vùng này đã tạo nên nguồn gen cây trồng vùng khô hạn điển hình như bông, nho, dưa hấu, đậu, lạc..

- Đông Nam Bộ điển hình của độ ẩm không khí thấp, khô nóng (minh họa trong đồ thị 2-7), nóng, loại đất đỏ bazan (loại đất Andosols) chiếm ưu thế và phân làm hai mùa rõ rệt là mùa mưa và mùa khô. Cây trồng ưu thế là cà phê, cao su, điều và tiêu..
- Tây Nguyên điển hình về độ cao, loại đất đỏ bazan (loại đất Andosols) chiếm ưu thế và phân làm hai mùa rõ rệt là mùa mưa và mùa khô. Cây trồng ưu thế là cà phê, cao su, điều và tiêu và rất đa dạng nguồn gen địa phương và cây hoang dại
- Tây Nam Bộ là đồng bằng lớn nhất Việt Nam, địa hình bằng phẳng, khí hậu ôn hòa, phân làm hai mùa rõ rệt là mùa mưa và mùa khô chịu ảnh hưởng mùa nước của sông Mê Kông. Loại đất chua mặn Fluvisols hình thành ở những vùng đất trũng khó thoát nước. Nguồn gen cây lúa nước, và cây hoang dại rừng ngập mặn phong phú nhất Việt Nam

Ví dụ lượng mưa của ba vùng Đông Bắc, Tây Bắc và đồng bằng Bắc bộ có diễn biến và lượng khác nhau và khác rõ rệt so với các vùng Bắc Trung Bộ, Nam Trung Bộ và Tây Nguyên như đồ thị sau:



Hình 2-6 : Lượng mưa một số vùng sinh thái của Việt Nam



Hình 2-7: Ẩm độ không khí bình quân năm của 8 vùng sinh thái

Nhiệt độ bình quân, độ ẩm không khí, độ dài ngày, lượng bức xạ... giữa 8 vùng sinh thái của Việt Nam cũng khác nhau rất rõ rệt. Miền Bắc một năm có 4 mùa, nhưng miền Nam phân thành hai mùa khô và mùa mưa

Đất đai có ý nghĩa rất quan trọng hình thành nên nguồn tài nguyên di truyền thực vật, cây hoang dại, giống bản địa, giống địa phương và giống cải tiến. Đặc điểm của đất và là một tiêu chí để phân vùng sinh thái ở nước ta. Đất của các vùng sinh thái Việt Nam khác nhau như loại đất đen (R) –Luvisols(LV) ở một số cánh đồng nhỏ như Sơn La, Hoà Bình, Cao Bằng và Hà Giang. Loại đất này có hàm lượng mùn cao (7-8 %), đất trung tính và hơi kiềm, thành phần cơ giới trung bình và nặng. Đất xám feralit phát triển trên đá phiến sét (Xfs) là loại đất phổ biến nhất vùng núi Đông Bắc và Tây Bắc nước ta có thành phần cơ giới trung bình và nặng, độ dốc từ 15 – 30°, tầng dày khoảng 1 m, hàm lượng mùn khá nhưng lân và kali tổng số cũng như trao đổi nghèo. Đất xám feralit phát triển trên đá macma axit (Xfa) có ở Lào Cai, Lạng Sơn thành phần cơ giới nhẹ, kết cấu nhẹ, tầng đất mỏng, hàm lượng mùn thấp, lân và kali thấp, pH chua đến rất chua. Đất đỏ nâu trên đá vôi ở Sơn La, Lai Châu và Hoà Bình, Cao Bằng, Lạng Sơn và vùng núi Thanh Hoá thành phần cơ giới nặng, kết cấu tối xốp, hàm lượng mùn khá, pH từ 4,5 đến 6. Loại đất này chủ yếu trồng lúa nương. Đất nâu vàng phân bố chủ yếu ở Lạng Sơn, Cao Bằng, Sơn La, loại đất này thành phần cơ giới nặng, khá tối xốp, đất chua, giàu mùn, dinh dưỡng trung bình lúa nương giống địa phương trồng chủ yếu trên đất này. Như vậy đất đai là một yếu tố hình thành đa dạng nguồn tài nguyên di truyền thực vật ở các vùng sinh thái. Vùng núi phía Bắc Việt Nam là vùng trồng cả lúa nước và lúa cạn, rất đa dạng về nguồn gen giống lúa địa phương. Số lượng giống lúa nếp có thể là nguồn gen khổng lồ nhất Việt Nam và khu vực như những giống nếp nổi tiếng nếp Tan nhe, Tan lo ở Sơn La và nếp Ngọt cẩm bun, nếp Cẩm của các tỉnh vùng núi Tây Bắc... Vùng ven biển Bắc Trung bộ và Nam Trung Bộ có đất xám feralit phát triển trên đá macma axit (Xfa) như ở Nghệ An thành phần cơ giới nhẹ, tầng đất mỏng, hàm lượng mùn, lân và kali thấp, pH chua đến rất chua. Đất cát biển điển hình phân bố từ Thanh Hoá đến Thừa Thiên Huế, đất từ cát pha đến cát pha sét hàm lượng mùn thấp từ 1 – 1,5%, lân tổng số 0,03 đến 0,09%, kali 0,1 – 1%, khả năng giữ phân và nước kém. Vùng duyên hải Nam Trung bộ đất nâu vàng vùng bán khô hạn, hơi chua tầng đất mặt và tầng dưới phản ứng kiềm yếu, các chất dinh dưỡng như mùn, N, P₂O₅, K₂O thấp, P₂O dễ tiêu cao, K₂O trao đổi khá. Loại đất vùng này đã góp phần hình thành nên nguồn gen chịu cây chịu hạn, chịu mặn rất phong phú. Vùng Tây Nguyên đất xám, xám Glây (Xg) là loại đất thành phần cơ giới nhẹ, dễ chặt bí thường khô hạn, chua ít đến chua pH_{KCl} từ 3,0 – 4,5, hàm lượng Ca²⁺, Mg²⁺ trao đổi thấp. Nhiều loài cây hoang dại quý hiếm, nguồn gen cây trồng như lúa cạn, ngô địa phương và các loài cây cà phê, ca su... phong phú nhất cả nước

Nhận biết phân loại nguồn tài nguyên di truyền dựa trên phân loại sinh thái địa lý khi nghiên cứu các loài hoang dại, các nhà nghiên cứu sẽ tra cứu cả các mẫu nguồn gen và ngân hàng gen của phân loại mục tiêu. Các mẫu phù hợp thu thập có thể nhận biết sử dụng trong tài liệu hóa nguồn gen. Mặc dù vậy một số lượng nhỏ mẫu được sử dụng làm vật liệu trồng trọt hoặc các thực vật đặc hữu (Vavilov). Các nhà bảo tồn tập trung nghiên cứu ngân hàng gen để có dữ liệu sinh thái địa lý hình thành cơ sở khoa học cho các nghiên cứu khác

b) Thu thập và phân tích dữ liệu thu thập nguồn gen

Một nguồn gen thu thập có thể nhận biết được, cần thiết cho các nhà nghiên cứu tiếp cận, nghiên cứu và sử dụng. Ngân hàng gen thường được tập hợp thành các cơ sở dữ liệu hardcopy hoặc softcopy. Trong khảo sát địa lý sinh thái các loài hoang dại, bước thứ nhất là phân tích dữ liệu để tài liệu hóa theo phạm vi đa dạng của nguồn gen bảo tồn *Ex situ* hoặc *In situ*. Một mẫu nguồn gen này so sánh với toàn bộ đa dạng của nhóm mục tiêu thông qua

phân tích dữ liệu sinh thái địa lý. Như vậy nguồn gen thường xem xét phạm vi rộng và sẽ hoàn thiện hơn nguồn gen thu thập. Sau đó, so sánh những điều kiện địa lý sinh thái để nhóm nguồn gen và đa dạng di truyền nổi bật thành các nhóm, chỉ tiêu này so sánh sự khác biệt nguồn gen rõ nét hơn.

Những loài cây trồng rất khó thực hiện so sánh dựa trên điều kiện địa lý sinh thái, mặc dù vậy, bảo tồn nguồn gen cây trồng vẫn có thể liệt kê nguồn gen bảo tồn trong ngân hàng gen và các dự án bảo tồn trên trang trại với các nhóm nguồn gen mục tiêu của điều kiện địa lý sinh thái.

c) Số liệu nhóm từ các mẫu thu thập

Các nhà bảo tồn cho rằng thu thập ngân hàng gen trên dữ liệu địa sinh thái đặc thù có cả ưu điểm và nhược điểm. Hầu hết ngân hàng gen trong tình trạng tương đối mới, những dữ liệu của nó có xu hướng ngày càng cập nhật đầy đủ hơn nhờ công nghệ tin học và máy tính. Điều này đã tạo ra hạn chế quá trình cập nhật và xây dựng cơ sở dữ liệu phức tạp hơn. Để đảm bảo số liệu về nguồn gen đặc thù phải rõ ràng tiếp cận, tài liệu hóa phải làm thẻ và mã hóa theo thứ tự và cần có các chương trình phần mềm chuyên dụng. Mặt khác, ngoài nguồn gen được bảo tồn trên đồng ruộng hoặc phải trồng đôi hạt hoặc giữ mẫu giống nghiên cứu trong ngân hàng gen bảo tồn. Toàn bộ nguồn gen sẽ không thể chi tiết các biến dị của chúng trong một nhóm nguồn gen mục tiêu. Khi sử dụng hardcopy nhà nghiên cứu có thể nhìn trên một trang liệt kê mẫu nguồn gen để nhận biết và so sánh rõ ràng hơn

Những phần mềm chuyên dụng, phân loại dữ liệu đặc thù của mẫu nguồn gen trong ngân hàng gen sẽ phù hợp với nghiên cứu địa sinh thái cây trồng, dữ liệu khi thu thập (passport data), đặc điểm và dữ liệu đánh giá

Số liệu khi thu thập có thể so sánh, để gắn nhãn nghiên cứu địa sinh thái của các loài hoang dại. Dữ liệu này ghi nhận trên hiện trường khi đi thu thập nguồn gen. Các nhà thu thập nguồn gen thường sử dụng phiếu thu thập nguồn gen đặc thù để thu nhận thông tin, nhưng nhiều nước sử dụng mẫu phiếu của IPGRI hoặc cải tiến nó thích hợp với điều kiện cụ thể của địa phương. Các loại dữ liệu cần thu thập với các mẫu nguồn gen của cây trồng địa phương theo Moss và Guarino, 1995 như sau:

- Tên người thu thập
- Ngày thu thập
- Phân loại nhận biết
- Mô tả ngắn về hình thái sử dụng danh mục tiêu chuẩn mô tả hình thái
- Tên địa phương của mẫu nguồn gen nơi thu thập
- Nguồn thu thập (trên thực địa, ruộng, đồi, kho, chợ, vườn...)
- Mô tả phương pháp lấy mẫu sử dụng
- Tên địa phương (thôn, xã, huyện, tỉnh) vĩ độ, kinh độ nếu có thể
- Tên nông dân cung cấp
- Nhóm dân tộc và ngôn ngữ của nông dân
- Vùng sinh thái nông nghiệp
- Độ cao, độ dốc
- Loại đất
- Hệ thống canh tác, công thức luân canh, mức đầu tư
- Ngày gieo, ngày thu hoạch
- Vật liệu gieo trồng (hạt, củ, hom...)
- Bộ phận sử dụng
- Phương pháp chọn lọc của nông dân

Thông thường, người thu thập cũng ghi nhận những quan sát về những biến dị về kiểu hình và những biến động hình thái đáng quan tâm, triệu chứng sâu bệnh hại. Họ cũng có thể

ghi nhận những thông tin do nông dân cung cấp khi phỏng vấn hay thảo luận nhóm. Như thông tin về khả năng chịu hạn, chịu sương muối, mức độ miễn cảm với sâu bệnh, chất lượng, chu kỳ sinh trưởng. Những dữ liệu này là cơ sở đầu tiên trong giai đoạn nghiên cứu địa sinh thái của các loài hoang dại. Số liệu này cũng rất cần thiết cho người sử dụng nguồn gen khi thiết kế các thử nghiệm và đánh giá trên đồng ruộng, bố trí thí nghiệm ở điều kiện môi trường phù hợp hơn với nguồn gen nghiên cứu.

Nhiều báo cáo thu thập nguồn gen cây trồng như Appa Rao, 1979, Arora, 1980.. Những báo cáo này đã mô tả vùng mục tiêu, lịch trình hoạt động, tóm tắt vật liệu thu thập và bản đồ các địa phương, dữ liệu khi thu thập (PD) gắn với các mẫu thu thập. Theo mẫu của IPGRI và ICRISAT, số liệu về đặc điểm và đánh giá của ICRISAT, phân tích một số đặc điểm đã được xuất bản năm 1996. Ví dụ những quan sát chính được mô tả trong thu thập nguồn gen cao lương như sau

- Tên địa phương của các mẫu nguồn gen cao lương: có 13 tên địa phương như Mapila ở Chidoma và cả nước, là cây trồng phổ biến ở vùng đất thấp, nhưng diện tích trồng trở nên nhỏ hơn ở vùng có lượng mưa cao hàng năm ở phía Bắc. Những biến dị trong loài vì thế cũng nhỏ hơn
- Mùa vụ: mùa mưa chủ yếu từ tháng 12 đến tháng 4, mùa mưa tại phía Bắc đến muộn hơn, do vậy thu thập tiến hành từ trung tuần tháng 3 đến trung tuần tháng 4 năm 1979. Bắt đầu ở thung lũng Shire lên phía Bắc, điểm thăm thứ 2 ở miền Nam vì giống địa phương ở đây chín muộn hơn vào tháng 5
- Loại mẫu nguồn gen thu thập: thu thập bắt đầu với tất cả giống địa phương, loại có 2 màu chín muộn hơn với một số hình thái kê (*Durra*) và cao lương Nhật (*Guinea*) và giống lai giữa các giống này. Thử nghiệm tìm hiểu đặc điểm 224 mẫu nguồn gen có 90% vật liệu có thể phân loại là *Guinea* và giống ưu thế lai của chúng.
- Những biến dị được ghi nhận: chiều cao cây, đẻ nhánh, đường kính thân, diện tích lá, chiều dài lông, dạng và kích thước bông, màu và kích thước hạt, màu và kích thước mày, cấu tạo nội nhũ. Giống cao lương địa phương ở những vùng chín sớm hơn do phản ứng ánh sáng ngày dài. Có thể chia giống địa phương thành các nhóm theo hạt như: rộng hạt, độ xếp xít của hạt, độ uốn của bông, độ ngọt nội nhũ, dạng tinh bột và dạng nghiền để sử dụng cho hai mục đích sử dụng hạt và bột...
- Mức độ xói mòn di truyền: chương trình khuyến nông quốc gia hình như là mối đe dọa chính đến xói mòn di truyền cao lương địa phương, do tuyên truyền phổ biến các giống cải tiến năng suất cao và giống lai.

d) Khảo sát nguồn thông tin khác

Trong một cuộc khảo sát địa sinh thái với các nhóm thực vật hoang dại, dữ liệu các mẫu nguồn gen ở mức từ ngân hàng gen (cũng có thể là bảo tồn *In situ*) và từ các mẫu thu thập để hệ thống hóa và so sánh. Đây là cơ sở để phân tích nghiên cứu, cần thiết cho xây dựng chiến lược bảo tồn, mặc dù vậy phải vẫn phải có hỗ trợ để hoàn chỉnh thông tin từ các nhóm thu thập và tư vấn của chuyên gia, giảng viên về: kiểu hình, sinh thái, thích nghi, phương thức sinh sản (thụ phấn, tạo giống và phổ biến giống), phương thức gieo hạt giống, yêu cầu nảy mầm của loài, biến dị kiểu gen, tương tác sinh học (sâu bệnh, cỏ dại) và thực vật học.

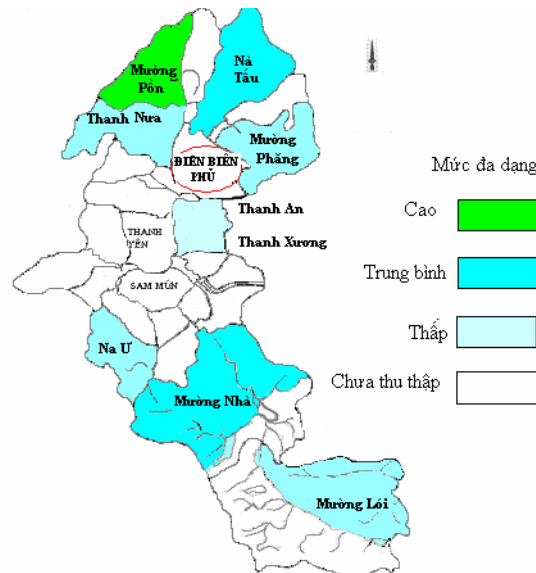
Nhà khoa học bảo tồn nguồn gen có dữ liệu mẫu nguồn gen trong ngân hàng gen, nhưng cũng cần tham khảo dữ liệu từ nguồn khác, so sánh với dữ liệu trong ngân hàng gen của mình để phát triển hoàn thiện mô tả nguồn gen trong vùng mục tiêu. Hầu hết các loại dữ liệu được liệt kê như đã đề cập cũng phù hợp đối với các loài cây trồng. Những dữ liệu có thể rất khác nhau, nhưng nhà địa sinh thái cây trồng sẽ cần những thông tin cơ bản như sau:

- Cây trồng sinh trưởng ở đâu trong vùng mục tiêu
- Kiểu hình của cây trồng đó khác vùng khác trong vùng mục tiêu như thế nào
- Biểu hiện biến dị của cây trồng qua kiểu hình và các tính trạng đánh giá
- Những vấn đề nông học chủ yếu cây trồng trong vùng mục tiêu (hạn, sâu, bệnh)
- Bắt đầu với những thông tin chung về vùng địa lý của sản xuất, phân bố cây trồng chính. Nhiều quốc gia có bản đồ lớn chứa đựng nhiều thông tin đặc thù về nông nghiệp có thể khai thác nhưng thông tin quan trọng

Phân tích dữ liệu địa sinh thái

Phân tích dữ liệu địa sinh thái cây trồng với mục tiêu mô tả phân bố của cây trồng, tình trạng đặc điểm của các biến dị đặc thù hoặc tổ hợp các đặc điểm. Bước thứ nhất thường phân tích dựa trên bản đồ

Trong nghiên cứu các nhóm hoang dại, quần thể địa phương mỗi nhóm được ghi nhận biểu hiện chung chồng lên bản đồ cơ bản của địa hình, khí hậu, thực vật hoặc đất đai. Mỗi nhóm biểu hiện bằng một ký hiệu khác nhau. Các mẫu và mẫu nguồn gen có thể được phân biệt phản ánh bằng khoảng trống hoặc lấp kín của các ký hiệu. Những đặc điểm hình thái hoặc sinh thái đặc thù của mỗi quần thể có thể biểu hiện bằng nét đậm hoặc ký hiệu cải tiến khác (Maxted và cộng sự 1995; Guarino, 1995). Đơn giản hơn nhà địa sinh thái cây trồng có thể sử dụng phân loại khí hậu nông nghiệp của vùng mục tiêu hoặc môi trường sinh trưởng của các cây trồng mục tiêu như: bản đồ cơ bản hoặc bản đồ hành chính, có màu để phản ánh những cây trồng quan trọng của mỗi huyện (phần trăm đất trồng trọt, mức độ sản xuất). Qua bản đồ như vậy sẽ biết được mức độ đa dạng của từng khu vực thu thập, những nơi còn trống chưa thu thập nguồn gen. Một ví dụ về thu thập nguồn gen các giống lúa và ngô địa phương tại huyện Điện Biên tỉnh Điện Biên năm 2003-2004 thể hiện trên bản đồ đa dạng như sau:



Hình 2-8 Mức độ đa dạng nguồn gen cây trồng ở sáu xã của huyện Điện Biên, Điện Biên

Nguồn: Vũ Văn Liết, Đồng Huy Giới năm 2003

Có thể sử dụng những ký hiệu khác nhau, nhưng lưu ý có nhiều vật liệu có hình thái và di truyền giống nhau nhưng tên khác nhau hoặc ngược lại, đôi khi có tên địa phương giống nhau nhưng hai nguồn gen lại khác nhau, đặc biệt với giống địa phương và các loài hoang dại. Do vậy các dữ liệu đánh giá và mô tả đặc điểm nên phối hợp trong các bản đồ phân bố nguồn gen

Sản phẩm tiếp theo của nghiên cứu địa sinh thái là cơ sở dữ liệu về địa lý sinh thái, khu vực thu thập bảo tồn nguồn gen, biểu đồ hay sơ đồ tổng quát và các báo cáo khoa học

Cơ sở dữ liệu: chứa đựng những số liệu thô về địa sinh thái, thu được từ nhãn và mã ký hiệu, số liệu ban đầu của các mẫu nguồn gen.

Biểu đồ, đồ thị cung cấp những thông tin ngắn gọn về nhóm, phân bố, sinh thái và kiểu hình của các nhóm mục tiêu

Báo cáo khoa học: trình bày, phân tích các dữ liệu của cơ sở dữ liệu, mô hình hóa và sử dụng, đồng thời có những khuyến nghị cho bảo tồn và sử dụng nguồn gen

Những sản phẩm này liên quan chặt chẽ với nghiên cứu cây trồng. Cơ sở dữ liệu có thể của những lĩnh vực và cấu trúc khác nhau trong nghiên cứu các nhóm hoang dại và cũng gồm có các dữ liệu mẫu nguồn gen, mặc dù vậy nó vẫn là những số liệu thô sử dụng cho nhiều mục đích nghiên cứu khác nhau như : lịch sử và phân bố của các nhóm dân tộc khác nhau, các tiểu vùng khí hậu nông nghiệp trong vùng mục tiêu, đặc điểm địa phương và địa lý, xây dựng pháp luật, quy định cho bảo tồn và tạo điều kiện tiếp cận nguồn tài nguyên bao gồm cả tài nguyên di truyền thực vật.

Báo cáo cũng có thể bao gồm kết quả phân tích diện tích của vùng mục tiêu, diện tích có đa dạng sinh cao, khu vực còn nhiều loài hoang dại, khu vực còn chứa đựng những tính trạng cần quan tâm, khu vực có kiểu hình các giống hoặc nhóm giống địa phương đặc biệt, khu vực cần tiến hành thu thập lại và thu thập bổ sung, khu vực có nguy cơ xói mòn tài nguyên di truyền hay đe dọa xói mòn.

2.3.3 Hình thức tổ chức thu thập

- Tổ chức đoàn cán bộ có chuyên môn điều tra thu thập: hình thức này đảm bảo độ chính xác cao nhưng chi phí tốn kém về nhân lực khoa
- Xây dựng mạng lưới thu thập, bảo tồn và trao đổi nguồn gen
- Hợp đồng thu thập với các cơ quan chuyên môn địa phương
- Hợp tác quốc tế trao đổi nguồn gen

2.3.4 Phương pháp lấy mẫu và cỡ mẫu thu thập

a) Nguyên lý lấy mẫu trong thu thập nguồn gen

Chiến lược lấy mẫu phụ thuộc vào loài cây trồng là cây tự thụ phấn, giao phấn hay sinh sản vô tính và khả năng trao đổi gen giữa các quần thể, cũng như mục đích thu thập đa dạng di truyền tại khu vực. Mặc dù vậy, lý thuyết lấy mẫu phụ thuộc chủ yếu vào những hiểu biết về phương thức biến dị, di truyền của quần thể. Nhìn chung có một số ít loài đã có những thông tin về biến dị di truyền của loài. Hầu hết các loài biểu hiện biến dị trên các điều kiện địa lý rất rộng và có thêm những biến dị trong nội bộ quần thể. Môi trường sinh thái hoặc các yếu tố quyết định đến đa dạng di truyền và kiểu sinh thái được nhận biết rõ nhất ở các giống bản địa và giống địa phương. Các yếu tố khí hậu như nhiệt độ trung bình, tối đa, tối thiểu, lượng mưa, mùa ngủ nghỉ, sinh trưởng, cường độ ánh sáng, độ dài chiếu sáng sẽ phản ánh đầy đủ qua phản ứng các đặc điểm sinh trưởng và phát triển của thực vật (Bennett, 1970). Các yếu tố như vậy dẫn đến các dạng biến dị, trong khi địa hình và thổ nhưỡng quyết định những dị đặc biệt hay thể khảm. Do đó cần xem xét đến các yếu tố trên trong lấy mẫu và tần suất mẫu. Rõ ràng rằng kiểu biến dị địa lý cũng sẽ bao gồm các đặc điểm chống chịu bệnh, đặc điểm hình thái và các đặc điểm đáng chú ý khác cũng như các biến dị số lượng phù hợp cho chọn tạo giống cây trồng. Mặc dù giống và dòng dõi có thể giống nhau về hình thái nhưng chúng khác nhau rất lớn về những đặc tính đặc biệt là đặc tính sinh lý. Biến động trong một quần thể, đặc biệt là ở một địa phương phụ thuộc vào hệ thống tạo giống

của các loài, phương thức duy trì quần thể dị hợp ở các loài giao phấn và phương thức duy trì cấu trúc di truyền ở các loài tự thụ phấn. Ngày nay các nhà khoa học đã chứng minh rằng các quần thể như thế chứa nhiều biến dị di truyền và dị hợp. Phương pháp lấy mẫu phải đảm bảo thu thập đại diện các biến dị trong quần thể cũng như những biến dị theo địa lý, sinh thái khác nhau

Các nguyên lý chọn điểm và số lượng mẫu liên quan đến đa dạng di truyền đã được Marshall và Brown (1975), Hawkes (1980), Chang (1985) nêu ra và thảo luận, nhưng sử dụng phương pháp tùy thuộc rất lớn vào cách tiếp cận. Lấy mẫu tự nhiên và ngẫu nhiên theo khoảng thời gian xác định trước là thỏa mãn cho sự chính xác của lấy mẫu. Khoảng thời gian có thể rộng nếu điều kiện sinh thái và thổ nhưỡng, môi trường đồng nhất. Lấy mẫu theo những điểm nhỏ, cân đối trong một vùng nếu vùng đó có thay đổi nhanh theo độ cao và địa hình, loại đất, kỹ thuật canh tác hay môi trường sinh thái, mức độ thay đổi có thể quan sát nhận biết được một cách rõ ràng.

Lấy mẫu ở điều kiện tự nhiên đặc thù hay lặp lại với các loài hoang dại của hệ thống gen, lấy mẫu nên ở nhiều điểm riêng biệt trong cùng một khu vực. Nhận biết các dạng đặc thù như các giống chống chịu hạn, chống chịu bệnh. Đối với họ hàng hoang dại hay các nhóm cây cỏ, thu thập từ các quần thể xung quanh hoặc bên trong ruộng canh tác. Theo Chang, 1985 cũng nên thu thập chúng ở những nơi thích hợp như nơi giao thoa thổ nhưỡng-sinh thái và môi trường sống tự nhiên

Phương pháp lấy mẫu hỗn hợp tại một điểm bằng thu hoạch ngẫu nhiên các bông, quả cùng một số lượng trên một cây nhưng ở vài điểm trên cây đó.

Đường đi lấy mẫu trên ruộng: cán bộ thu thập đi ngang qua điểm hoặc ruộng 2 lần theo hình chéo hoặc zigzag và tránh lấy mẫu quanh đường biên.

Phương pháp lấy mẫu theo kẻ ô sẽ có đại diện tối đa của một quần thể nếu điểm lớn và có điều kiện thổ nhưỡng - sinh thái khác biệt

Phương pháp kiểu lấy mẫu đám (clustered sampling pattern): thu thập một vài mẫu trong một khu vực nhỏ và trên một khu vực rộng cần thu thập ở một số điểm diện tích nhỏ như vậy. Lấy mẫu đám cho phép thu được biến dị lớn của cả môi trường địa lý và vị trí địa lý khác nhau. Phương pháp này rất phù hợp cho thu thập mẫu nguồn gen cây hoang dại.

Những khu vực có vấn đề về sức khỏe nguồn gen, nên thu thập những cây khỏe mạnh. Những nơi sâu bệnh hại, điều kiện bất thuận nhưng thường lại có những kiểu gen quý

b) Tần suất và cỡ mẫu thu thập nguồn gen

Tần suất lấy mẫu (số mẫu trên một điểm) và cỡ mẫu sẽ không chế bằng mức đa dạng di truyền và dòng gen trong một nhóm (vật liệu cây trồng hoặc hoang dại) và sinh thái nông nghiệp của điểm thu thập. Cán bộ thu thập nên sử dụng phương pháp tiếp cận thực tế, quan sát tại chỗ để đưa ra kỹ thuật lấy mẫu phù hợp nhất.

Cỡ mẫu cũng như số mẫu tối ưu trên một điểm đảm bảo chứa 95% tất cả các allele tại locus ngẫu nhiên trong quần thể mục tiêu với mức tin cậy lớn hơn 0.05 (Hawkes, 1976; Marshall và Brown, 1975).

Hawkes (1980) chỉ ra rằng khoảng 50 hạt trên một bông hoặc bắp để đảm bảo có tổng số 2.500 đến 5.000 hạt với mẫu là phổ biến ở cây trồng có biến động cao. Với loài có bông, và gié như kê 2.000 đến 4.000 hoặc hơn, mỗi phần của bông yêu cầu lấy số lượng là 50 hạt.

Lấy mẫu ngô trên ruộng cứ 10 - 20 bước chân thu một bắp, và chia theo mặt cắt ngang cứ 5 - 10 hàng lấy mẫu trên một hàng.

Lấy mẫu với cây có quả mọng như cà chua, ớt, dưa chuột cơ bản cũng tương tự như ngô, mỗi quả chứa 50 hạt và khoảng 50 - 100 quả thu ngẫu nhiên và hỗn hợp hạt thành một mẫu.

Những loài quả có ít hạt lấy số quả lớn hơn để đạt 2.500 – 5.000 hạt một mẫu, một số cũng không thể thu được 100 đến 1.000 hạt như vậy số hạt trên mẫu có thể nhỏ hơn.

Hạt nên thu từ những cây sạch bệnh, thu hạt hoặc quả đã chín hoàn toàn để đảm bảo sức sống của hạt nguồn gen.

Những quần thể biến động mạnh cần thu cỡ mẫu lớn hơn và có thể phân thành nhiều mẫu phụ từ một số phần thu thập dựa trên sự khác biệt của các mẫu. Đồng thời cần thu mẫu có lựa chọn bên cạnh thu mẫu ngẫu nhiên. Số lượng mẫu được Chang gợi ý năm 1985 như sau:

Bảng 2-5 : Loại quần thể, điểm và số mẫu thu thập theo Chang,1985

Kiểu quần thể	Điểm/ngày	Số cây (bông)/điểm
Ít cải tiến	20-40	15-30
Không cải tiến(Nguyên thủy)	10-20	30-50
Hoang dại	10-15	40-60
Giao phấn	10-15	30-60

Một số tác giả khác khuyến nghị lấy mẫu không ngẫu nhiên không nên hỗn hợp với mẫu ngẫu nhiên mà để riêng rẽ. Khuyến cáo cũng đề cập cần lấy nhiều điểm hơn trên một khu vực để thu được số hạt lớn hơn trên một điểm. Cán bộ thu thập cũng có thể điều chỉnh và lựa chọn phương pháp để tăng hiệu quả lấy mẫu vừa đạt được mục tiêu và phù hợp với khả năng, đặc biệt khi thực hiện thu thập trên một vùng rộng lớn và cây lâu năm như cây ăn quả, cây lấy rễ, cây lấy củ.

- Tổng lượng mẫu khô của một mẫu nguồn gen khi thu bằng hạt như sau:
- Những loại cây hạt nhỏ từ 50 -100g như hạt vừng, cải, rau giền
- Những loài cây hạt vừa thu từ 200- 250 g/ một mẫu nguồn gen hạt,
- Những loại cây hạt lớn từ 500g với hạt lớn hơn (đậu , lạc)

c) Khu vực thu thập tại một điểm

Theo Hawkes, 1980 có bốn địa điểm có thể thu được nguồn gen ở một khu vực là

- Ruộng nông dân
- Bếp và vườn hộ
- Chợ
- Khu vực hoang dại tự nhiên

Mặc dù vậy, điểm thu thập quan trọng nhất là trên ruộng nông dân và nó cung cấp những quan sát chắc chắn về sức khỏe nguồn gen của giống địa phương, giống cũ, những cây lương thực chính và những cây trồng khác. Thu thập phụ thuộc vào địa phương, diện tích nông trại, những nơi còn canh tác tự cung, tự cấp có nguồn gen và đa dạng và giàu có hơn so với vườn hộ và chợ nhỏ. Thời điểm thu thập phù hợp nhất là trước mùa thu hoạch của nông dân.

d) Thu thập loài hoang dại họ hàng của các loài cây trồng

Thu thập họ hàng hoang dại của các loài cây trồng phụ thuộc vào nhu cầu của các nhà tạo giống và chương trình cải tiến cây trồng. Họ hàng hoang dại và các nhóm có liên quan sử dụng thuật ngữ của Harlan và de Wet (1971) có thể phân loại thành vốn gen sơ cấp, thứ cấp và tam cấp.

Các loài hoang dại trong vốn gen sơ cấp có thể lai với các giống trồng trọt, nhưng các loài trong vốn gen thứ cấp khó khăn hơn và vốn gen tam cấp chỉ sử dụng cho một số cây

trồng và giới hạn ở một số tính trạng di truyền. Các loài hoang dại biểu hiện tính dị hợp di truyền và không đồng nhất cao giữa các loại vật liệu di truyền, nhìn chung chúng có tỷ lệ giao phấn cao hơn các cây trồng đã thuần hóa hoặc mức độ đa bội, tự bất hợp cũng xảy ra mức cao hơn. Ví dụ loài lúa dại *Oryza longistaminata* là tự bất hợp trong khi biến dị này không tìm thấy ở lúa trồng.

Biến dị di truyền của các loài hoang dại cung cấp nguồn gen quý cho phát triển giống cây trồng như:

- Chống chịu sâu bệnh điều khiển bởi một số gen chủ yếu
- Chống chịu môi trường bất thuận như mặn, hạn, ngập, sương muối
- Sức sống của cơ quan sinh dưỡng cao như mía, khoai tây
- Hàm lượng protein cao ở sắn và yến mạch
- Hàm lượng dầu cao ở cọ dầu
- Độ dài sợi ở bông
- Thích nghi với điều kiện sinh thái như cây nhỏ
- Rễ khỏe hơn của dứa
- Thân lớn hơn ở lúa mỳ
- Tỷ lệ sinh khối và sinh trưởng mạnh hơn và cho năng suất cao hơn ở cây ngũ cốc
- Hệ thống bất dục đực tế bào chất và khả năng phục hồi ở nhiều loài cây
- Các vốn gen loài hoang dại có thể chia làm hai nhóm dựa trên mức độ ưu tiên như sau:

Bảng 2-6: Phân loại vốn gen

<i>Khai thác dễ dàng</i>	
Con cái hoang dại	Có quan hệ mật thiết với cây trồng và thuộc vốn gen sơ cấp
Các loài hoang dại khác	Có quan hệ xa hơn thuộc vốn gen thứ cấp
<i>Nhóm khó khai thác</i>	
Loài hoang dại	Quan hệ xa hoặc không cùng chi thuộc vốn gen tam cấp

Nhóm đại diện các loài hoang dại có liên quan đến cây trồng gồm chi trong đó có số lớn các loài và các biến dị khác biệt của các loài. Cần xem xét kỹ lưỡng để thu thập các nhóm phân bố trong tự nhiên gồm các loài đặc hữu, dạng hiếm và loài có nguy cơ đe dọa tuyệt chủng có phạm vi phân bố hẹp, cục bộ và biên độ sinh thái hẹp. Một số loài có phân bố rộng hơn, công việc thu thập có thể áp dụng chiến lược thu mẫu thuận lợi hơn như cỏ, cây thức ăn gia súc họ đậu, mức đa dạng tối đa có thể thu giữa 2.000 – 3.000m theo địa hình một mẫu.

Những khó khăn gặp phải khi thu thập loài hoang dại

- Biến động thời gian hạt chín giữa các loài lớn và ngay trong quần thể tự nhiên (ngay ở một điểm/địa phương) trong phạm vi phân bố của loài
- Mật độ quần thể, số quả, hạt trên cây không đáp ứng đủ vật liệu
- Hoa/quả có sự ngủ nghỉ, đặc biệt với cây quả thu mất ngủ để nhân giống vô tính sinh dưỡng

Sự nhận biết các loài trên thực địa yêu cầu có kiến thức và kỹ năng về hệ thống phân loại thực vật, kiến thức sinh thái, địa lý và nhân chủng học cũng yêu cầu cán bộ thu thập nguồn gen hiểu biết về nguồn gen.

Thu thập nguồn gen hoang dại thường tốn nhiều lao động và thời gian để thu được các loài hay vật liệu hoang dại mong muốn. Các loài sinh trưởng ở đường hoặc vùng sinh thái riêng biệt khác nhau. Các loài đặc hữu và hiếm thường ở những nơi hiểm trở như đỉnh núi, hoang mạc...đôi khi phải thu hạt trên đỉnh những cây cao. Mức độ cao của lưu giữ nguồn gen hoang dại yêu cầu phân chia các loài hoang dại, nhận biết những tính trạng có giá trị, phù hợp với cây trồng nông nghiệp để duy trì bảo tồn những vật liệu này. Do vậy công việc thu thập nguồn gen hoang dại cần thiết mặc dù có nhiều khó khăn như đã trình bày trên

e) *Chiến lược thu mẫu nguồn gen của Hawkes, 1980: Những điểm nổi bật*

Thu thập hạt (Cây trồng và loài hoang dại)

- Thu từ (30-) 50 (-100) cá thể một điểm (50 hạt cho mỗi cây thu ngẫu nhiên trên cây).
- Mẫu ở các thời điểm khác nhau ghi rõ thời gian.
- Lựa chọn mẫu trên phạm vi rộng của môi trường có thể. Như vậy có thể thu được tất cả các allele với tần xuất 95% hay hơn của quần thể.
- Thay đổi phương thức thu thập nguồn gen hoang dại, ở những nơi quần thể thưa thớt thì mẫu cho một quần thể có thể trong phạm vi vài km²
- Nếu trong một quần thể có những biến động hình thái thì mỗi điểm lấy mẫu riêng rẽ chứ không áp dụng như một quần thể
- Nếu lấy mẫu theo đường chéo của một số hình thái không phải là mẫu ngẫu nhiên
- Lấy toàn bộ cụm hoa cũng như các hạt khi cần thiết như một chứng cứ
- Tạo phòng mẫu nơi có thể.
- Chụp ảnh.
- Ghi chép tỷ mỉ trên hiện trường.

Thu thập cơ quan sinh dưỡng: thu thập cơ quan sinh dưỡng với những loài cây trồng

- Mỗi mẫu phân biệt trong một làng/bản.
- Lặp lại theo khoảng thời gian trên một khu vực.
- Thu thập hạt bổ sung nếu có thể, phương pháp như với thu thập hạt.
- Thu thập cơ quan sinh dưỡng với các loài hoang dại
- Thu thập một chồi, mầm, cành giâm, cành chiết từ 10-15 cá thể và hỗn hợp thành mẫu, với cơ quan sinh dưỡng lớn có thể số mẫu nhỏ hơn từ diện tích khoảng 100 x 100 m.

2.3.5 Thu thập thông tin trong quá trình thu thập nguồn gen (Passport data)

Thông tin cần thu thập cùng với mẫu nguồn gen là những thông tin cần thiết cho những nghiên cứu và hoạt động tiếp theo của nghiên cứu nguồn gen như: tài liệu hóa, đánh giá, phân loại, bảo tồn và sử dụng. Ghi chép thông tin tại điểm thu thập nguồn gen chi tiết theo mẫu chung của IPGRI hoặc cụ thể của mỗi quốc gia. Số lượng thông tin phụ thuộc vào thời gian trong quá trình thu thập, nhưng phải có những thông tin tối thiểu nhất theo quy định cho mỗi loài cây. Có rất nhiều loại mẫu biểu sử dụng thu thập thông tin nguồn gen thực vật và mẫu nguồn gen cho từng loài cây trồng đặc thù cũng như loài cây hoang dại

Để thu thập đầy đủ thông tin cần thiết kể mẫu phiếu thu thập thông tin trước khi tiến hành thu thập nguồn gen. Mẫu phiếu được các nhà chuyên môn (thực vật, sinh thái, di truyền, xã hội học) thiết kế sau đó ít nhất có ý kiến phản biện của 2 nhà khoa học khác và được sử dụng để thu thập thử. Sau khi thu thập thử, cán bộ thu thập nhận biết ưu nhược điểm của mẫu phiếu sẽ điều chỉnh, bổ sung thành mẫu phiếu thu thập nguồn gen chính thức.

2.4 PHƯƠNG PHÁP THU THẬP TRUYỀN THỐNG

2.4.1 Thu thập nguồn gen hoang dại

Thu thập nguồn gen cây hoang dại áp dụng với những nguồn gen sau:

- Những loài cây hoang dại đang bị xói mòn hoặc đe dọa tuyệt chủng
- Cây hoang dại họ hàng với cây trồng cần sử dụng làm vật liệu tạo giống
- Cây hoang dại có giá trị kinh tế cần khai thác sử dụng
- Những loài cây hoang dại khác, do số lượng quá lớn cho nên thường chỉ thực hiện điều tra, tài liệu hóa để quy hoạch quản lý và bảo tồn tại chỗ. Các loài cây hoang dại tồn tại thành quần thể, nhưng mỗi kiểu gen có thể tự nhân lên trên diện tích rộng lớn.
- Thu thập chỉ một củ từ mỗi một trong 10-15 cá thể làm mẫu hỗn hợp
- Diện tích điểm lấy mẫu có thể 100 x 100m hoặc nhỏ hơn
- Lấy mẫu ở nhiều điểm tốt hơn là lấy nhiều cây ở ít điểm
- Chọn điểm lấy mẫu trên phạm vi môi trường càng lớn càng tốt
- Bổ sung bằng mẫu hạt nếu được
- Làm tiêu bản nếu thời gian cho phép

2.4.2 Thu thập cây lấy hạt

Mẫu thu thập: Chiến lược lấy mẫu phụ thuộc vào từng loài cây, đặc biệt là phương thức sinh sản, mức độ chu chuyển gen giữa các quần thể v.v... Tuy nhiên điều đó thường không biết trước nên việc thu thập cần bao trùm cả vùng bằng cách lấy mẫu ngẫu nhiên với khoảng cách không gian nhất định (lấy mẫu kiểu phân ô). Khoảng cách phụ thuộc vào sự đa dạng của điều kiện môi trường. Chẳng hạn, nếu vùng thu thập tương đối đồng nhất về khí hậu, loại đất, thảm thực vật, biện pháp canh tác, các giống cây trồng và vĩ độ, khoảng cách không gian có thể rất lớn (20-50 km hoặc hơn). Ngược lại, nếu các yếu tố môi trường thay đổi mạnh (nhất là vĩ độ), thì mẫu thu thập phải nhiều hơn (chẳng hạn mỗi một km, hoặc 100m độ cao). Việc lấy mẫu phải theo nguyên tắc lấy mẫu quần thể chứ không phải lấy mẫu cá thể.

Điểm lấy mẫu: điểm lấy mẫu là vùng mà trong đó mẫu của quần thể được thu thập. Mỗi mẫu sẽ mang số hiệu thu thập riêng với những ghi chép nhất định, ví dụ:

- Tên giống (cả tên địa phương) và tên loài (tên La tinh)
- Địa điểm thu thập, mùa vụ, điều kiện tự nhiên
- Điều kiện sinh thái, chế độ canh tác ở nơi thu thập
- Những tính trạng chủ yếu: năng suất, khả năng chống chịu sâu, bệnh và điều kiện ngoại cảnh bất thuận.
- Ghi tên chức vụ, chuyên môn của người thu thập
- Cần tuân theo chế độ kiểm dịch thực vật đã ban hành để tránh lây lan dịch hại nhất là các loài dịch hại nguy hiểm.

Việc chọn điểm thu thập phụ thuộc vào: (i) sự đa dạng của môi trường; (ii) kiểu phân bố và mật độ cá thể trong quần thể; (iii) quan sát những biến dị hiếm trong quần thể. Độ biến động giữa các điểm càng lớn thì điểm lấy mẫu càng gần nhau.

Số cây và hạt thu thập mỗi cây trong từng mẫu: thông thường phương pháp lấy mẫu được thực hiện theo kiểu ngẫu nhiên hay lấy mẫu không lựa chọn. Sai số lấy mẫu nhỏ nhất khi mẫu lớn. Phương thức chung là lấy mẫu ngẫu nhiên bằng cách thu thập cây theo một

khoảng cách nhất định dọc theo mặt cắt ngang cho đến khi không ít hơn 50 nhưng không nhiều hơn 100 cây. Mỗi cây lấy 50 hạt, sao cho mỗi mẫu chứa từ 2.500 đến 5.000 hạt. Nếu loài cây chỉ có quả nhỏ và ít hạt có thể thu một số quả của ba cây sát bên cạnh để đủ 50 hạt. Nếu loài cây có nhiều chùm quả, bông, v.v... với số lượng hạt lớn, thì chỉ thu một phần của mỗi cây để có đủ 50 hạt.

Nếu quần thể thu thập có độ biến động lớn, người thu thập có thể lấy mẫu lớn hơn hoặc khu vực phân ô lấy mẫu nhỏ hơn

2.4.3 Thu thập cây có củ

Thu thập cây lấy củ khó khăn hơn so với cây lấy hạt. Những khó khăn chủ yếu gồm:

- Tốn nhiều thời gian hơn để thu thập
- Phải thu hoạch vào đúng giai đoạn chín vì thu hoạch non khó bảo quản, để già cây chết khó tìm kiếm
- Vật liệu công kênh khó bảo quản và vận chuyển
- Mẫu thu thập khó giữ sống trong quá trình vận chuyển và bảo quản dài

Thu thập vật liệu trồng trọt: vật liệu trồng trọt là những vật liệu sử dụng nhân vô tính (dòng vô tính), chứ không phải là quần thể, vì thế việc lấy mẫu mang tính chọn lọc. Phương pháp lấy mẫu theo những tiêu chí sau:

- Thu thập từng giống (kiểu hình thái phân biệt được bằng mắt thường) khác biệt tại mỗi chợ hoặc mỗi làng
- Lấy mẫu lặp lại ở khoảng cách 10-50 km trong vùng; khoảng cách phụ thuộc vào khoảng cách giữa các chợ hoặc các làng/bản
- Thu thập toàn bộ các kiểu hình thái ở mỗi điểm thu thập. Mẫu trùng lặp có thể chỉnh lý và loại bỏ sau
- Bổ sung bằng mẫu hạt nếu có

2.4.4 Thu thập cây ăn quả và cây thân gỗ

Khác với cây lấy hạt, thu thập cây ăn quả và cây thân gỗ cũng khó và phức tạp hơn vì hạt của một số cây ăn quả nhiệt đới và cây thân gỗ như chôm chôm, cà phê, cao su, cacao hạt khó bảo quản hoặc không thể bảo quản trong điều kiện bình thường, hạt sống rất ngắn. Vì vậy, nếu thu thập hạt cần được gieo ngay, thông thường những loài cây này thu thập bộ phận sinh dưỡng như chồi, đoạn cành để giâm hoặc ghép. Nếu thu thập bằng hạt phải có điều kiện bảo quản tốt, nếu thu thập bộ phận sinh dưỡng phải giâm bằng kỹ thuật phù hợp hoặc mắt phải ghép lên gốc ghép và mỗi kiểu gen phải được giữ lâu dài trên cây lớn.

Số lượng hạt hoặc cành giâm thu thập cần phải được cân nhắc kỹ lưỡng trước khi lên kế hoạch thu thập. Cây thường phân bố rải rác nên lấy mẫu chỉ thực hiện từng cây cụ thể chứ không lấy mẫu theo quần thể như đối với cây hàng năm và cây thấp thân bụi.

2.4.5 Thu thập vật liệu trồng trọt:

Cố gắng thu thập hạt hoặc quả bất kỳ ở đâu có thể được; nếu không thu cành hoặc mắt, bộ phận vô tính, v.v...

Nếu cây được trồng từ hạt thì coi cả làng/bản là một điểm thu thập và thu thập kiểu ngẫu nhiên từ 10-15 cá thể.

Nếu cây được nhân bằng phương pháp vô tính từ các giống được chọn lọc, thu thập từng giống khác biệt và giữ mỗi giống thành mẫu riêng

Thu thập càng nhiều điểm càng tốt, thu thập rải rác ở những khoảng cách nhất định trong cả vùng

Hạt hoặc cành thu thập được phải được giữ mát và ẩm, tốt nhất là giữ nguyên hạt trong quả và chuyển về trạm nghiên cứu ngay, nếu hạt cây đó thuộc loại khó bảo quản.

2.5 THU THẬP NGUỒN GEN *IN VITRO*

Thu thập *In vitro*: thu thập mẫu của loài cây trồng từ quần thể của chúng trong tự nhiên hay trong môi trường hoang dại. Đơn vị thu thập có thể là hạt, hoặc bộ phận sinh dưỡng phụ thuộc vào loài, tuy nhiên một số loài không thể thu thập bộ phận sinh dưỡng, hạt hoặc hạt tươi vì khó vận chuyển mẫu sống từ nơi thu thập về nơi bảo tồn, hoặc vật liệu thu thập quá lớn như cây dừa vật liệu thu là quả dừa. Phương pháp thu thập tiến bộ cho những loài cây này được áp dụng là thu thập phôi, đưa vào túi vô trùng nuôi cấy và nảy mầm chúng (Assy-Bah và cộng sự 1989) là thu thập *In vitro*, phương pháp được áp dụng với nhiều cây trồng như Cacao, nho, cà phê, cọ dầu, chuối.. và có thể thu nhiều dạng cơ quan khác nhau như mô, đỉnh sinh trưởng, hạt...

Đầu những năm 1980 trong quá trình tìm kiếm hướng sử dụng tốt hơn công nghệ sinh học thực vật, IPGRI và Ủy ban tài nguyên di truyền thực vật quốc tế (IBPGR) đã gợi ý ứng dụng công nghệ sinh học thực vật (nuôi cấy mô tế bào *In vitro*) để thu thập nguồn gen thực vật. Sử dụng nuôi cấy mô để phát triển và đổi mới thu thập nguồn gen thực vật *In vitro*, đặc biệt là những loài đặc thù khó thực hiện thu thập bằng phương pháp khác. Năm 1984, IPGRI đã khuyến nghị sử dụng với một số loài thực vật Châu Á và chương trình nghiên cứu khởi đầu ở nhiều nước. Sự kiện này đã dẫn đến đề xuất một khóa đào tạo lý thuyết, nguyên lý và thực tế thu thập nguồn gen *In vitro* trong tháng 4 và tháng 5 năm 1990. Từ 1990 đến nay nhiều cơ quan nghiên cứu về thu thập *In vitro*, ngày nay công nghệ này đã có rất nhiều tiến bộ và thành công ở nhiều loài thực vật.

2.5.1 Khái niệm và cơ sở khoa học của thu thập nguồn gen thực vật *In vitro*

Nhu cầu của kỹ thuật mới thu thập nguồn gen, các nhà thu thập giàu kinh nghiệm trên cơ sở khảo sát và những thông tin thu thập được. Đặc biệt những kiến thức của họ như kiến thức về khí hậu, chu kỳ sinh trưởng phát triển của thực vật, kinh tế và chỉ tiêu thông dụng nhất được đưa vào trong quá trình để thu thập những tài nguyên di truyền. Những kiến thức và kinh nghiệm cho thấy một số loài trong quá trình thu thập gặp rất nhiều khó khăn và tốn công như không đúng mùa vụ, mất mùa, sâu bệnh, số lượng quá ít, không thu thập được bằng hạt hay cơ quan sinh dưỡng... Ngoài ra khi mẫu thu thập được cũng có thể bị nấm bệnh gây hại trong quá trình vận chuyển, hạt mất sức nảy mầm nhanh...

Do những khó khăn trên cần có những kỹ thuật tiến bộ thay thế nâng cao hiệu quả thu thập. Một trong những tiến bộ kỹ thuật đó là thu thập *In vitro*. Năm 1982 IBPGR (nay là IPGRI) giới thiệu của Ủy ban tư vấn bảo tồn *In vitro*, mục tiêu là xác định tình trạng hiện tại của bảo tồn *In vitro* nguồn gen và cơ hội phát triển phương pháp trong thu thập nguồn tài nguyên di truyền thực vật

Để bảo tồn nguồn gen không thể thu thập bằng phương pháp khác, kỹ thuật nhân vô tính *In vitro* đã khẳng định là thích hợp (Withers, 1980; 1982). Những nghiên cứu cơ sở về kỹ thuật nuôi cấy *In vitro* như thanh trùng, nuôi cấy nhân cây thích hợp để thu thập các vật liệu di truyền, nhưng không ở mức đầy đủ như nhân giống *In vitro*. Những thành công và hỗ trợ của Đại học Nottingham Vương Quốc Anh đã kết luận được tiềm năng của thu thập *In vitro* và những công bố năm 1984 (IBPGR) phương pháp thực hiện trên cây thân gỗ như cacao (*Theobroma cacao* L.) và phôi của cây dừa (*Cocos nucifera* L.). Từ các kết quả nghiên cứu đã phân tích, tổng hợp thành phương pháp.

2.5.2 Phương pháp cơ bản nuôi cây *In vitro*

Thiết lập nuôi cây *In vitro* trong phòng thí nghiệm cơ động gồm:

- Chọn lọc mô phù hợp để khử trùng và nuôi cấy
- Cắt kích thước mô phù hợp
- Loại bỏ phần dư thừa, sâu bệnh bằng rửa sơ bộ
- Tiệt trùng bề mặt mô thực vật
- Rửa bỏ chất tẩy
- Cắt bỏ những phần không cần thiết hoặc gây hại cho mô
- Cấy mô vào bình dinh dưỡng và nút kín
- Chuyển nguồn gen vào tủ định ôn

Để bảo vệ mô cây do nhiễm trở lại, tẩy trùng bề mặt mô và cấy vào môi trường thực hiện trong buồng vô trùng, khi cấy phải điều khiển nhiệt độ, chất lượng và cường độ ánh sáng, độ dài ánh sáng để mô sinh trưởng và phát triển tối ưu, môi trường dinh dưỡng cũng phải đảm bảo tối ưu cho mô sinh trưởng và phát triển. Dưới điều kiện đảm bảo mô ban đầu tạo ra nhiều đỉnh sinh trưởng bên và có thể chia ra để nhân tăng số lượng, điều kiện môi trường phù hợp một đỉnh sinh trưởng sẽ phát sinh rễ có thể trồng ra ngoài đất

Mô hình này áp dụng hệ thống không bất định, ví dụ có thể tạo ra một cây từ tiền đỉnh trong trường hợp các mô điểm hoặc phôi hợp tử. Từ những nuôi cấy này có thể tạo ra đỉnh *de novo* (phức hợp tổng hợp phân tử) ở hình thái bất định từ hầu hết các mô, cơ hội nâng cao khả năng nhân vô tính hỗn hợp trong thời gian ngắn, để bảo tồn di truyền hệ thống nhân vô tính không bất định là phù hợp. Nó không làm thay đổi di truyền do biến dị xô ma khi nuôi cấy mô tế bào. Như vậy, bất kỳ loại mô nào khi nhân đều tạo ra mô bất định sẽ bị loại bỏ. Nhà nghiên cứu phải dự tính được vấn đề này và có phương pháp tiến bộ mềm dẻo nhất để ứng dụng nuôi cấy *In vitro* như: mô lá có thể tạo ra cây qua phát sinh phôi xô ma; bầu nhụy qua nuôi cấy tạo phôi vô sinh và thụ phân *In vitro*.

Một số vấn đề lưu ý khi ứng dụng phương pháp thu thập *in vitro* trên thực địa:

- Thu thập *In vitro* là một hoạt động hỗ trợ và không đơn thuần là nhân giống
- Công việc trên thực địa ở mức giới hạn và chỉ thực hiện trong giai đoạn cần thiết và điều kiện không thuận lợi cho phương pháp khác.
- Lựa chọn phương pháp này thay cho phương pháp khác để vượt qua một số giới hạn của công việc thực địa.

2.5.3 Hướng dẫn kỹ thuật của phương pháp

Chọn lọc mô phù hợp để nuôi cấy: vị trí tốt, mô khỏe, bề mặt mô sạch bệnh, mô trẻ đang sinh trưởng là phù hợp để nó tiếp tục sinh trưởng trong *In vitro*

Cắt mô với kích thước phù hợp: hạn chế tối đa hư hỏng bề mặt mô, nếu có thể loại bỏ những phần ngoài mô vì nó nhiễm bẩn, nhiễm bệnh hoặc bị tổn thương

Loại trừ đất bám bẩn, sâu bệnh bằng nước: chú ý đôi khi tại thực địa không đủ nước để rửa, do vậy cần đem nước đi theo

Khử trùng bề mặt mô: nơi không đủ nước sạch để rửa có thể sử dụng thuốc tẩy trùng mang theo và tránh gây độc cho mô. Dung dịch tẩy không quy ước, có thể sử dụng nước sạch, thuốc trừ nấm nông nghiệp hoặc các thuốc tổng hợp nồng độ thấp. Tẩy trùng bề mặt tiếp theo thực hiện dưới điều kiện vô trùng, khử trùng và nuôi cấy trong lọ hoặc bình phù hợp hơn. Khử trùng bề mặt lặp lại một lần nữa khi đưa mẫu về đến phòng thí nghiệm cơ động, khử trùng tốt hơn là không sử dụng các chất hóa học khử trùng độc hại vì nó có thể

gây hại cho mô. Một thực tế là khi giữ nhiều mô phân sinh như vậy nên thu cả lá, lá bắc hay vỏ hạt để bảo vệ mô

Rửa nước tẩy và sâu bệnh trước khi cắt bỏ các phần không cần thiết: nước rửa phụ thuộc nồng độ và độc tố của sản phẩm sử dụng, đồng thời với kỹ thuật khử trùng cần cẩn thận loại bỏ nấm, vi khuẩn tiếp tục và ngăn tái nhiễm bản, nấm bệnh và vi khuẩn

Cắt bỏ những phần không cần thiết và phần hư hỏng: bước này cũng cần giữ gìn cẩn thận để quá trình cắt không gây bẩn và nhiễm bệnh đối với mô nuôi cấy

Cấy mô vào môi trường: cấy mô đã chuẩn bị vào môi trường đã có dinh dưỡng phù hợp và đầy nút. Bước này cần chú ý đến một số kỹ thuật như chọn lọc, ống nghiệm, số lượng mô nuôi cấy và môi trường nuôi cấy

Dụng cụ và thiết bị: dụng cụ như bình, lọ, ống nuôi cấy thuận lợi cho mang theo, có thể xách tay được, không quá nặng. Trong một số trường hợp sử dụng bình hoặc túi plastic phù hợp hơn vì nó mềm dẻo, nhẹ, dễ mang theo trong quá trình thu thập. Tuy nhiên những dụng cụ bằng chất dẻo, plastic phải đảm bảo phù hợp cho khử trùng làm sạch và ngăn cản nhiễm bản và nhiễm bệnh trong quá trình nuôi cấy. Môi trường nuôi cấy phải thiết kế phù hợp với mục đích và mỗi loài cây. Nếu phát triển của mô phải có kích thích (kích thích nảy mầm của phôi, kích thích phát triển của trục mầm), môi trường nuôi cấy phải bổ sung các chất kích thích sinh trưởng phù hợp. Môi trường trong bảo tồn nguồn gen trái ngược với môi trường thu thập vì bảo tồn là giữ nguồn gen lâu dài, do vậy chất kích thích trong môi trường phải ở mức tối thiểu và phải cho thêm chất làm chậm sinh trưởng (retardant regulator) vào môi trường nuôi cấy. Môi trường tối thiểu cũng hạn chế sự phát triển của các vi sinh vật trong môi trường nuôi cấy. Môi trường cũng có thể cho thêm các chất kháng sinh để làm chậm sinh trưởng và tránh ảnh hưởng của vi sinh vật và nấm. Môi trường lỏng thuận lợi cho nuôi cấy nhưng kém hiệu quả kìm hãm sinh trưởng của vi sinh vật. Dụng cụ đựng môi trường lỏng không được rò rỉ.

Chuyển mô nguồn gen vào tủ ủ định ôn: bước này kéo dài và nhiều rủi ro khi chuyển từ phòng này đến phòng khác trong phòng thí nghiệm. Bảo vệ vật liệu đã nuôi cấy trong khi vận chuyển, điều này liên quan đến cả môi trường và dụng cụ chứa, tránh lắc và thay đổi nhiệt độ trong quá trình vận chuyển, có thể sử dụng tủ lạnh trong quá trình vận chuyển tránh hư hỏng của vật liệu.

Những kỹ thuật khác khi thu thập nguồn gen In vitro trên đồng ruộng: Những kỹ thuật trên đã phân tích những yêu cầu nuôi cấy trong điều kiện hiện trường. Nhóm yếu tố thứ 2 cần xem xét là những yếu tố trái ngược với tự nhiên, mức độ thu thập *In vitro* và kinh nghiệm của cán bộ thu thập là vấn đề trọng tâm của cuộc thu thập.

Rất nhiều loài cùng được thu thập, do vậy áp dụng nhiều phương pháp khác nhau phù hợp cho mỗi loài, mỗi loài phải sử dụng các hỗ trợ thích hợp theo yêu cầu của loài. Phòng thí nghiệm cơ động phải là phòng đa năng đáp ứng yêu cầu nêu trên. Thu thập *In vitro* yêu cầu cán bộ có kiến thức và phương pháp khoa học hơn là kinh nghiệm

Phương pháp cấy và trang thiết bị cũng phải phù hợp trên đồng ruộng và tính toán những thiết bị cần thiết nhất các điều kiện hỗ trợ và tiện nghi khác trên hiện trường hạn chế ở mức tối thiểu. Những vấn đề cần quan tâm khác là xe để có thể chở các thiết bị cần thiết, nơi tập kết gần khu thu thập nhưng cũng gần những địa điểm có những dịch vụ tối thiểu như điện, nước để duy trì các nguồn gen trong *In vitro* trong điều kiện tối thiểu.

- Hộp đựng dụng cụ
- Bình, lọ nuôi cấy
- Bàn làm việc
- Tủ cấy

- Tủ định ôn

Thu thập *In vitro* thành công phải có những các kỹ thuật rất mềm dẻo, phương tiện và dụng cụ ở tối thiểu và cần có sự chuẩn bị kỹ lưỡng và chu đáo trước khi thu thập như

- Môi trường nuôi cấy
- Dụng cụ nuôi cấy đã dán nhãn trước (nhãn trắng)
- Khử trùng làm sạch toàn bộ thiết bị trước
- Chuyển các dụng cụ nuôi cấy vào phòng vô trùng di động

Những yếu tố gây nhiễm vi sinh vật khi thu thập In vitro

Một số yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến nhiễm vi sinh vật nội sinh khi thu thập vật liệu trên đồng ruộng

- Những mô già thường nhiễm hơn mô non (Bernstein và Carroll,1977)
- Mô nằm dưới đất như rễ, thân ngầm... mức độ nội sinh nhiễm cao hơn và cực kỳ khó làm sạch (Roy và Saha,1997)
- Mầm sinh dưỡng và mầm hoa thường chứa vi sinh vật trong mô hỗn hợp và nó được giữ ngay cả khi tẩy trùng bề mặt mô (Merkle, 1997)

Nhiễm bản và bệnh cũng có thể do môi trường

- Những mô thu thập vùng nhiệt đới có độ ẩm cao tỷ lệ nhiễm cao hơn khu vực có nhiệt độ thấp và khô (Pence,1999)
- Những loài sa mạc biểu hiện nhiễm nấm và vi khuẩn bề mặt ít hơn vùng khác và dễ làm sạch hơn những vùng ẩm độ cao (McKay ,1999).
- Những tác nhân nguy hiểm trong thu thập nuôi cấy mô (IVC) là *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium* và *Bacillus*... Trong quá trình nuôi cấy cần sử dụng một số chất kháng sinh.

Ví dụ: xử lý thuốc trừ vi khuẩn khi thu thập họ hành người ta thường sử dụng *Ciprofloxacin* nồng độ 5 - 100mg/l, họ cam quýt sử dụng *Ampicillin* 100mg/l hoặc *Chloramphenicol* 2,5mg/l, cà phê sử dụng *Gentamycin* 100mg/l... Thuốc trừ nấm khi thu thập cà phê sử dụng [(*Butylamino*) carbonyl]-1 H-benzimidazol - 2-yl] carbamic acid methyl 1 - 1,5g/l, thuốc lá 10 -50mg/l

2.5.4 Một số nghiên cứu thu thập nguồn gen bằng kỹ thuật In vitro

a) Thu thập nguồn gen cây chuối

Luz M. Montoya Henna và cộng sự đã thực hiện và có kết quả thu thập *In vitro* với chuối. Chuối là một nguồn tài nguyên di truyền thực vật đang có nguy cơ xói mòn. Jaramillo,1983 chỉ ra rằng nguồn gen các giống và dạng hoang dại (Musa AA, BB, ABB, AAA và AAAB...) ngày càng ít và biến mất khỏi trung tâm đa dạng di truyền của loài cây này. Do vậy IPGRI đã có chương trình ưu tiên thu thập bảo tồn *Ex situ* bắt đầu từ năm 1983. Cây chuối là cây nhân giống vô tính bởi vì quả của nó không hạt (parthenocarpic) khi thu thập truyền thống là thu chồi mầm rất khó khăn và chi phí lớn . Phương pháp thu thập *In vitro* phù hợp hơn

Thu thập mầm cao 30 - 50 cm, loại bỏ các phần không cần thiết và các bẹ lá để được mầm dài 8 cm và đường kính 5 cm, khử trùng bề mặt mầm bằng chlorine 5,25% (sodium hypochlorite) trong 20 phút, rửa bằng nước tiệt trùng 5 phút, trong một số trường hợp có thể rửa bằng xà phòng hoặc nước rửa, tiếp theo ngâm trong dung dịch chống oxy hóa (ascorbic acid 100mg/L) trong 10 phút. Sau đó giảm kích thước vật liệu bằng kim và dao mổ đến 4 - 5

cm để nuôi cấy *In vitro*. Khử trùng mô bằng cồn 70% và đưa mô vào môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962).

Bảng 2-7: Môi trường cho thu thập *In vitro* nguồn gen cây chuối AAA của cv Valery tại CATIE, Costa Rica

Môi trường	Thành phần
1(đ/c)	MS, vitamin, sucrose, agar
2	MS, than hoạt tính, vitamin, sucrose, agar
3	MS, than hoạt tính, vitamin, sucrose, agar benomyl, gentamycin
4	MS, vitamin, ampicillin, sucrose, agelrite
5	MS, vitamin, chloramphenicol, sucrose, agelrite

Nguồn: Valerie C. Pence và cộng sự 2002

Môi trường bổ sung thêm vitamin, than hoạt tính (activated charcoal) 0,15%, thuốc trừ nấm và vi khuẩn phổ rộng (benomyl 100mg/L, gentamycin, 100mg/L ampicillin 100mg/L; chloramphenicol 100mg/L) nhưng nồng độ thấp tránh độc cho mô. Môi trường cũng có thêm đường sucrose 30g/L, Difco agar 7 g/L hoặc Gelrite 2 g/L

Cắt để giảm kích thước, trong điều kiện buồng di động nhưng đảm bảo khuát gió và phun ethanol và cồn 70% để khử trùng. Sau khi công việc thực địa hoàn tất, mô nuôi cấy đưa vào hộp, hộp đã phun cồn 70% khử trùng, chuyển đến phòng thí nghiệm di động nhiệt độ $26 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm 80%, ánh sáng 16 giờ chiếu sáng và 8 giờ tối, cường độ ánh sáng 50 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Vệ sinh và kiểm tra khử trùng buồng nuôi cấy, dụng cụ, mô có thể sống 5 - 7 ngày sau khi cấy. Đánh giá mức độ hóa nâu của mô nuôi cấy theo thang điểm 0 - 3 như sau:

- 0 - không nâu
- 1-thỉnh thoảng có vết nâu
- 2-Hóa nâu trung gian
- 3- hóa nâu

Kết quả là sau 5 ngày nuôi cấy chỉ có môi trường 3 nhiễm nấm 20%, 7 ngày sau nuôi cấy môi trường 2 cũng nhiễm 20% vi khuẩn chỉ ra rằng nếu thời gian thu thập kéo dài hơn tỷ lệ nhiễm ngày càng cao. Có sự khác nhau về hóa nâu khi cắt bằng kim và kéo, hóa nâu lớn hơn chỉ bằng kéo hay bằng tay. Các mẫu sống 100% và phụ thuộc vào kỹ thuật khử trùng bề mặt mô, không có sự sai khác có ý nghĩa với các môi trường khác nhau

b) Thu thập nguồn gen họ cam quýt (Abdenago Brenes Hines và cộng sự, 2002)

Hạt là nguồn vật liệu chính, đơn giản và kinh tế nhất trong thu thập và bảo tồn nguồn gen cây trồng, trong trường hợp những loài cây nhân giống vô tính, hạt cứng có thể sử dụng kỹ thuật khác thay thế như *In vitro* (withers, 1987). Họ cam quýt *Citrus* L. nhân giống vô tính sinh dưỡng bằng ghép, chiết hoặc giâm cành là phổ biến để giữ nguyên được kiểu gen, ngay cả trong trường hợp có hạt bình thường. Nhưng khả năng nảy mầm của hạt cam quýt bị suy giảm nhanh nếu độ ẩm giảm xuống dưới 70% và như vậy trong điều kiện nhiệt đới hạt mất sức nảy mầm nhanh và dẫn đến ngủ nghỉ. Phương pháp thay thế thu thập hạt là thu thập *In vitro* với các vi mô và hạt như một phương tiện thu thập, bảo tồn giá trị nguồn gen họ cam quýt.

Navarro(1984) nghiên cứu kỹ thuật nuôi cấy mô truyền thống với chi *Citrus* đã nêu ra kỹ thuật quan trọng được ứng dụng như sau:

- Nuôi cấy phôi tâm để nhận được các cây từ kiểu gen cây mẹ các giống đơn phôi

- Nuôi cấy bầu nhụy để nhận được các cây phôi tâm từ quả không hạt đa phôi
- Vi ghép để thu được cây sạch bệnh

Không sử dụng lạnh trong quá trình này, thu thập trong thời kỳ ngủ nghỉ như mùa đông ở khu vực Á Nhiệt đới, mô non là nguồn tốt nhất cho vi ghép (Skirvin, 1981; Marte, 1987). Mặc dù vậy, nguyên lý chính của thu thập *In vitro* là trong điều kiện vô trùng, do vậy thời gian từ thực địa đến khi đưa vào phòng thí nghiệm cần ngắn nhất. Trường hợp thu thập trong thí nghiệm này là *Citrus sinensis* L. Các cành non, thẳng khoảng 8 cm lấy từ phần non của cây cắt ra khỏi cây, sau đó cắt thành đoạn nhỏ (vi mô) từ 3 - 4 cm, trong trường hợp thu mẫu là cơ quan sinh dưỡng, thu mẫu hạt cũng thu những hạt từ những quả chín, khỏe mạnh và loại bỏ vỏ hạt trước khi khử trùng bề mặt để nuôi cấy *In vitro*.

Khử trùng bề mặt vi mô sinh dưỡng bằng ngâm nước rửa sodium hypochlorite từ 3 - 5% trong 3 phút, sau đó rửa nhẹ 2 lần bằng nước đã tiệt trùng (01 phút một lần). Đối với thu hạt khử trùng bề mặt quả bằng lửa đèn cồn, sau đó lấy hạt và loại bỏ vỏ hạt, hạt được ngâm 3 phút trong nước tiệt trùng hoặc trong dung dịch sodium hypochlorite 3% trong 3 phút, sau đó rửa nhẹ 2 lần bằng nước sạch (mỗi lần 1 phút), tiếp theo cấy vào môi trường đã chuẩn bị trước.

Môi trường sử dụng cho cả hạt và vi mô sinh dưỡng

Môi trường MS

- MS+ampicillin (100mg/L) + benomyl (50mg/L) (*Môi trường MS-AB*)
- MS+ chloramphenicol (2,5mg/L) + benomyl (50mg/L) (*Môi trường MS-CB*)
- Môi trường được hấp trong nồi hấp ở 121°C và 15 p.s.i trong 20 phút, bổ sung chất kháng sinh vào môi trường sau khi hấp. Khử trùng để hạn chế nguồn lây nhiễm như làm sạch bề mặt bề mặt dụng cụ, nơi làm việc (khay kim loại 53 x 30 cm) và kệ, ghim với ethanol 70% sau đó hơ trên lửa đèn cồn. Sau khi nuôi cấy, mô được đưa vào thí nghiệm có điều khiển môi trường (27±2°C, cường độ ánh sáng 2.500 lux, độ dài chiếu sáng 16 giờ và 8 giờ tối/ngày).
- Sau 2 - 4 ngày đánh giá mô sau nuôi cấy trên hiện trường
- Phần trăm mô nhiễm bệnh
- Phần trăm mô phục hồi trở lại
- Phần trăm vi mô sinh dưỡng chuyển màu nâu
- Tỷ lệ phục hồi một nửa tạm thời

Tình trạng phục hồi của mẫu được xác định bằng một trong những đặc điểm sau:

- Khỏe mạnh, không nhiễm bệnh, không bị hoại sinh
- Nhiễm từng phần, nhưng số còn lại đủ để khử trùng tạo thành mẫu mới cho vào môi trường *In vitro* nuôi cấy
- Một số phần hoại sinh, nhưng vẫn đủ làm nguồn vật liệu khử trùng và nuôi cấy

Kết quả cho thấy trên 87,7% vi mô sinh dưỡng phục hồi sau 2 - 4 ngày nuôi cấy, sau 2 ngày tỷ lệ nhiễm thấp chỉ 3,3% nhiễm khuẩn, sau 4 ngày tỷ lệ nhiễm tăng lên 13,3% nấm bệnh, hai môi trường MS-AB và MS-BC không khác biệt và đều đạt 100% phục hồi có khả năng nuôi cấy được. Đối với hạt khô bóc vỏ giảm nhiễm nấm bệnh (trung bình 16,7%), không nhiễm khuẩn, hạt biểu hiện nảy mầm cao (83,3%). Môi trường MS-CB phù hợp cho thu thập hạt bằng phương pháp thu thập *In vitro*.

Bảng 2-8: So sánh các phương pháp xử lý bề mặt và môi trường khi thu thập *In vitro* với vi mô sinh dưỡng của cây họ cam quýt

Xử lý	Số mẫu phục hồi trung bình sau 2 ngày(%)	Số mẫu phục hồi trung bình sau 4 ngày(%)	Tỷ lệ nhiễm sau 2 ngày(%)		Tỷ lệ nhiễm sau 4 ngày(%)	
			Nấm	Vi khuẩn	Nấm	Vi khuẩn
Tất cả xử lý	87,7	0	3,3	87,7	13,3	3,3
Khử trùng bề mặt						
3% NaClO	80	0	0	80	6,7	0
5% NaClO	93,3	0	6,7	93,3	20	6,7
Môi trường						
MS	80	0	10	80	20	10
MS-AB	80	0	0	80	10	0
MS-CB	100	0	0	100	10	0

Nguồn : Abdenago Brenes Hines và cộng sự, 2002

c) Thu thập cây khoai sọ (Mary Taylor, 2002)

Cây khoai sọ (*Colocasia esculenta* L. var *esculenta*) là một cây trồng lấy củ quan trọng là cây rau và cũng là cây lương thực của nhiều nước. Nhu cầu cần thu thập bảo tồn khi bệnh bạc lá do nấm *Phyophthora colocasiae* lan rộng đến Hoa Kỳ những năm 1993. Sử dụng *In vitro* thu thập nguồn gen cây khoai sọ được giới thiệu đầu tiên vào giữa những năm 1980 với sự hỗ trợ của dự án cây có củ của UNDP/FAO. Thu thập và duy trì nguồn gen cây khoai sọ bằng nuôi cấy mô do South Pacific Commission (SPC), sau đó quỹ EU hỗ trợ và thực hiện nuôi cấy mô trong phòng thí nghiệm tại đại học Nam Thái Bình Dương, Samoa. Những năm gần đây dự án thu thập nguồn gen khoai sọ bằng phương pháp *In vitro* được hỗ trợ của AusAID. Nuôi cấy mô trực tiếp từ cây trên đồng ruộng, các bước sử dụng các phòng thí nghiệm di động như đã trình bày. Gồm dụng cụ chứa có gắn nhãn có môi trường đã khử trùng, dụng cụ khử trùng, kẹp, ghim, kéo. Một hộp nhỏ chứa tác nhân ướt, đĩa petri, giấy tiệt trùng, để cất mẫu, dao nhỏ, bình plastic nhỏ đã khử trùng đựng các dụng cụ và cồn để khử trùng

Dùng dao cắt chồi rễ và các lá cây mẹ sau đó dùng dao sắc cắt tia chồi, rễ nhỏ hơn đến khi còn khoảng 4 cm là mô thu thập, thân hành cơ bản xấp xỉ 1 cm², không cần rửa sạch bằng nước, đất được lau sạch trong quá trình cắt tia bằng khăn

Từ giai đoạn này tất cả được làm bằng tay bên trong hộp cát tông với phía trước mở và hộp đã được tẩy trắng trước khi sử dụng. Ngâm mô thu thập trong dung dịch NaClO 2% cộng thêm chất giữ ẩm trong 15 phút. Trong quá trình tẩy trùng bình chứa phải lắc liên tục. Sau khi khử trùng bóc bớt những mô bên ngoài bằng dụng cụ đã khử trùng, nếu có thể thì khử trùng dụng cụ trên ngọn lửa đèn cồn

Mô sau khi đã khử trùng được cấy lên môi trường MS và hàn kín, lần nuôi cấy này được giữ đến khi đưa về phòng thí nghiệm để bảo tồn, đặt chúng trong phòng sinh trưởng 2 - 4 tuần và luôn luôn kiểm tra tình hình nhiễm bệnh. Sau giai đoạn này mô được tiếp tục cắt nhỏ đến khoảng chiều dài 01 cm với kích thước củ 0,2cm² và chuyển đến môi trường sạch

2.6 THU THẬP NGUỒN GEN CÓ SỰ THAM GIA

Thu thập nguồn gen cây trồng có sự tham gia của người là một phương pháp tiếp cận dựa trên những cơ sở khoa học chính là: (1) thu thập nguồn gen là thu thập tại các địa phương, người dân ở đó đã sinh sống, canh tác sản xuất nhiều năm, nhiều thế hệ họ hiểu các cây trồng, các loài hoang dại về nơi sinh sống, giai đoạn sinh trưởng phát triển của chúng, điều kiện của vùng sinh thái và tiểu vùng; (2) người dân địa phương có những kiến thức bản địa quý; (3) Người dân địa phương là chủ thể của bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật.

Phương pháp này được tổng kết từ một chương trình thu thập nguồn gen giống lúa và ngô địa phương tại huyện Điện Biên, tỉnh Điện Biên của nhóm cán bộ trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội năm 2004 - 2005

2.6.1 Các bước thực hiện thu thập nguồn gen có sự tham gia của người dân:

- Thành lập đoàn cán bộ thu thập
- Xây dựng kế hoạch và chuẩn bị cho đợt khảo sát, thu thập
- Liên hệ với địa phương
- Đến hiện trường trình bày mục đích yêu cầu với lãnh đạo địa phương
- Tiến hành thu thập tại hiện trường
- Thảo luận với nhóm nông dân để thu thập thông tin ban đầu
- Nông dân thực hiện thu thập mẫu tại nhà và cung cấp thông tin về nguồn gen khi nó không có trên đồng ruộng

2.6.2 Kỹ thuật họp nhóm nông dân

Họp để thảo luận và thu thập thông tin, thu thập mẫu nguồn gen tổ chức tại thôn bản. Những nông dân được mời đến thảo luận nhóm là những nông dân có kinh nghiệm trong sản xuất, nắm được các giống cây trồng, vật nuôi của địa phương. Số lượng một nhóm nông dân từ 15 - 20 người.

Cán bộ thu thập cần chuẩn bị nội dung và mẫu phiếu thu thập trước khi họp nhóm để nêu chủ đề thảo luận phù hợp. Chủ đề thảo luận để thu thập nên ngắn gọn dễ hiểu để người dân có thể tham gia thảo luận.



Hình 2-9: Họp nhóm thu thập nguồn gen giống lúa, ngô địa phương tại bản Phiêng Ban xã Thanh Nưa huyện Điện Biên tỉnh Điện Biên năm 2005.

Nội dung thảo luận được ghi lại trên tờ giấy A0 để mọi thành viên nhóm nông dân đều hiểu, nắm được và theo dõi, bổ sung thêm.

Những chủ đề thảo luận chính:

- Điều kiện tự nhiên của địa phương:
- Diện tích đất, các loại đất của thôn bản đang canh tác và chưa canh tác, diễn biến lượng mưa, nhiệt độ trong năm
- Điều kiện xã hội
- Dân số, lương thực, thu nhập
- Những loại cây trồng chính nông dân đã và đang sử dụng
- Cây lương thực
- Cây rau
- Cây ăn quả
- Cây thuốc

Nhóm nông dân liệt kê các loại cây, tiếp theo trong mỗi loài cây nhóm liệt kê các giống, số hộ đang gieo trồng và kỹ thuật canh tác của nông dân với mỗi giống đó

Ví dụ: ở bản Phiêng Ban, xã Thanh Nưa huyện Điện Biên năm 2003 nhóm nông dân liệt kê nhưng cây trồng chính sau:

- Lúa nương
- Lúa ruộng
- Ngô nương
- Ngô bãi
- rau cải
- Sắn
- Nhãn
- Đu đủ

Thảo luận tiếp những giống lúa nương đang trồng:

- Khẩu nia
- Khẩu lương phương
- Khẩu mà cha

Mô tả những cây trồng nông dân đang sử dụng và ghi nhận những thông tin nông dân cung cấp là những thông tin ban đầu về nguồn gen như minh họa sau:

GIỐNG LÚA ĐỊA PHƯƠNG (NGỌ LIA)

(bản mô tả giống lúa địa phương do nhóm nông dân cung cấp thông tin)



**Hình 2-10 : mẫu hạt thóc giống
Ngọ nia thu tại nhà nông dân**

Phần 1: thông tin chung

- Tên giống (tên địa phương): ngô nia (khẩu nia) ; Ký hiệu: GL3
- Người thu thập: Vũ Thị Bích Hạnh
- Ngày thu thập: 21/07/05
- Nơi thu thập: Bản Pú Tửu 13- xã Thanh Xương - huyện Điện Biên - tỉnh Điện Biên
- Tên chủ hộ: Quàng Văn Hịa
- Tên thôn bản: Bản Pú Tửu 13, xã Thanh Xương, huyện Điện Biên, tỉnh Điện Biên

Phần 2: mô tả giống:

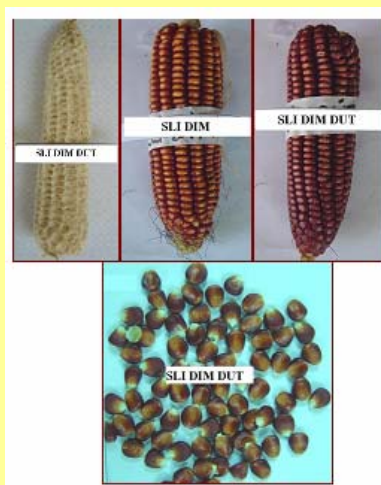
- Màu sắc thân lá : xanh
- Chiều cao cây : 100-110 cm; số nhánh: 5-6 nhánh; bông: 4 bông
- Thời gian sinh trưởng : 180-185 ngày
- Chiều dài bông : 25-28 cm; P1000 hạt: 34,73 g
- Màu sắc hạt thóc : vàng; vỏ hạt: đen; hạt gạo: trắng đục
- Chất lượng: rất ngon, dẻo, có mùi thơm

- Điều kiện sinh thái của giống lúa nương: ngộ nia (khẩu nia)
Giống được trồng trên nương cao hoặc nương vừa, độ dốc tương đối lớn.
- Yêu cầu của giống về đất: yêu cầu đất tốt, đặc biệt phù hợp với các nương mới khai phá. Nếu đất xấu phải bón thêm phân.
- Năng suất trung bình : 200-250 kg/1000m² (\approx 25 tạ/ha)

Phần 3: mô tả điều kiện sinh thái và canh tác

- Dân tộc gieo trồng: Kh'Mú
- Giống yêu cầu cung cấp đầy đủ nước trong suốt quá trình sinh trưởng, song điều kiện trồng là hoàn toàn phụ thuộc vào nước trời (bố trí gieo trồng vào đầu mùa mưa trong năm)
- Thời vụ gieo trồng: gieo: từ ngày 1 đến 15/4 hàng năm; thu hoạch vào trung tuần tháng 10
- Kỹ thuật để giống: chọn chỗ lúa tốt trên nương, các cây lúa có bông to, không bị sâu bệnh, gặt từng bông để riêng làm giống. Thu bông về đập riêng, phơi riêng trên phen cọt hoặc bạt nilông đến lúc khô; chọn hạt chắc mẩy, màu sắc hạt sáng đều (sàng, xẩy sạch); đóng thóc giống vào bao tải dứa, cất kín trong hòm gỗ, để trên gác hoặc nơi khô thoáng trong nhà, tránh chuột bọ phá hại. Đến vụ sau, phơi lại một vài nắng rồi đem ngâm ủ để gieo.
- Kỹ thuật làm đất và gieo trồng: tháng hai hoặc ba dương lịch, lên nương dọn sạch cỏ; chặt, vơ cỏ thành đống lớn, để khô rồi đốt. Nếu có tiền, sẽ dùng thuốc trừ cỏ phun (2 gói trừ cỏ Aly/1000m²). Dùng trâu cày lật đất lên ở những chỗ nương phẳng, để làm. Chỗ nương khó làm thì cuốc bằng tay. Phơi nương ải trong vòng 1-2 tháng. Trước khi gieo có thể cày lại một lần nếu nương bé. Nếu nương rộng, gieo vãi hạt lúa trên mặt nương, xong mới dùng trâu bừa đất để che phủ hạt giống, chống chim chuột phá hại, đồng thời lật các gốc cỏ mới mọc lên.
- Kỹ thuật chăm sóc:
- Không bón phân cho lúa nương Ngộ nia vì nương xa nhà, khó mang phân lên nương hoặc nương tốt, không cần bón. Làm cỏ 2-3 lần hoặc hơn nếu nương nhiều cỏ. Cụ thể, sau gieo 15-20 ngày, phun thuốc cỏ Aly. Tiếp theo, nhổ cỏ bằng tay cho đến khi thu hoạch nếu cỏ thấp; cỏ mọc cao thì dùng dao phát sạch. Ít bị sâu bệnh hại nặng, nếu xuất hiện sâu bệnh thì có phun phòng bằng thuốc hóa học.

GIỐNG NGÔ ĐỊA PHƯƠNG SILI DÌM



Hình 2-11 : mẫu giống ngô Sli dìm thu thập tại Điện Biên

Phần 1: thông tin chung

- Tên giống: Sli dìm dút – Sli dìm (ngô tẻ đỏ)
- Ký hiệu: GN6
- Người thu thập: Nguyễn Văn Hà
- Ngày thu thập: 21/07/05
- Nơi thu thập: Bản Pú Tửu 13- xã Thanh Xương - huyện Điện Biên - tỉnh Điện Biên
- Tên chủ hộ: Quảng Văn Hịa

Phần 2: mô tả giống:

- Màu sắc thân: nâu nhạt và xanh nhạt; lá: xanh xẫm
- Chiều cao cây : 200-250 cm; Chiều cao đóng bắp: 130-140 cm
- Thời gian sinh trưởng : 120-125 ngày
- Chiều dài bắp : 15,5 cm; Tỷ lệ hạt/bắp: 0,9 ; P1000 hạt: 325,9 g
- Màu sắc hạt : đỏ và đỏ thẫm; màu sắc lõi: trắng
- Chất lượng: rất ngon, dẻo, rất thơm
- Năng suất trung bình : 55-60 tạ/ha

Phần 3: mô tả điều kiện sinh thái và canh tác

- Dân tộc gieo trồng: Kh'Mú
- Điều kiện sinh thái của giống ngô: Sli dìm dút – Sli dìm
- Giống được trồng trên nương cao hoặc nương thấp, độ dốc không lớn,
+ Yêu cầu của giống về đất: Yêu cầu đất trung bình, không kén đất trồng,
+ Giống yêu cầu cung cấp đầy đủ nước trong suốt quá trình sinh trưởng, song điều kiện trồng là hoàn toàn phụ thuộc vào nước mưa (bố trí gieo trồng vào đầu mùa mưa trong năm)

- Thời vụ gieo trồng: gieo: từ 15-20/3 hàng năm; thu hoạch từ 20-30/8
- Kỹ thuật để giống: chọn bắp ngô to đều, trông thích nhất để làm ngô giống. Sau đó, phơi khô cả lá bi, để trên gác bếp cho đến vụ gieo sau. Khi gieo, tẽ lấy hạt ngô ở giữa bắp ngô, bỏ phần hạt đầu và cuối bắp, loại bỏ hạt sâu bệnh hay bị mọt rồi đem gieo trực tiếp trên nương.
- Kỹ thuật làm đất và gieo: tháng một dương lịch, lên nương dọn sạch cỏ; chặt, vơ cỏ thành đồng lớn, để khô rồi đốt. Nếu có tiền, sẽ mua thuốc trừ cỏ phun (3 gói trừ cỏ Aly/1000m²). Dùng trâu cày lật đất lên ở những chỗ nương phẳng, dễ làm. Chỗ nương khó làm thì cuốc bằng tay. Phơi nương ải trong vòng 1 tháng. Khi gieo, dùng cuốc bới một hốc đúng bằng kích thước bàn cuốc, gieo 4-5 hạt giống ngô/hốc rồi lấp đất để chống chim chuột phá hại
- Kỹ thuật chăm sóc:
- Không bón phân cho ngô Sli dim dút – Sli dim
- Làm cỏ 2 lần nữa sau khi gieo. Cụ thể, sau gieo 30 ngày, ngô mọc cao khoảng 40 cm, làm cỏ lần 1. Trước khi thu hoạch 1 tháng, dùng dao phát sạch cỏ lần 2.

2.7 THU THẬP NGÂN HÀNG GEN HẠT NHÂN

2.7.1 Khái niệm:

Khái niệm ban đầu : Ngân hàng gen hạt nhân (core collection) là sự thu thập một số mẫu nguồn gen giới hạn từ toàn bộ ngân hàng gen đã có, số mẫu này có số lượng nhỏ nhất nhưng đại diện cho đa dạng di truyền của các loài cây trồng và họ hàng hoang dại trong ngân hàng gen chung (Frankel 1984)

Định nghĩa này có hai khái niệm như sau:

- Thu thập ngân hàng gen hạt nhân là thu thập một số mẫu nguồn gen hạn chế từ toàn bộ mẫu thu thập hiện có, lựa chọn để đại diện cho phổ di truyền của toàn bộ nguồn gen, nó bao gồm sự đa dạng tối đa có thể (Brown 1995). Như vậy một nguồn gen hạt nhân có thể gọi là “ Một tập hợp con” của toàn bộ nguồn gen trong ngân hàng gen
- Toàn bộ các loài cây trồng, thu thập nguồn gen hạt nhân bao gồm một số lượng giới hạn của các dòng lựa chọn để đại diện đa dạng di truyền của toàn bộ các loài cây trồng và họ hàng hoang dại của chúng. Nó là một tập hợp và ngân hàng gen tối thiểu sử dụng trong hệ thống hợp tác ngân hàng gen quốc gia và quốc tế và được bổ sung những mẫu nguồn gen còn thiếu của loài và họ hàng hoang dại, những nơi còn thiếu trong hệ thống bảo tồn.

Ngân hàng gen quốc tế thu thập nguồn tài nguyên di truyền thực vật hạt nhân để bảo tồn lâu dài cho sử dụng, các nhà tạo giống, các nhà nghiên cứu và người sử dụng khác có thể tiếp cận nguồn gen dễ dàng.

Sau 25 năm thu thập và bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật để hình thành nên ngân hàng gen thực vật vô cùng lớn, nó đã xuất hiện những khó khăn trở ngại là:

- 1) Nguồn gen thu thập và bảo tồn quá lớn dẫn đến khó khăn về cỡ mẫu và tổ chức thu thập cũng như sắp xếp bảo tồn;
- 2) Nguồn gen trong bảo tồn quá lớn nhưng số đa dạng di truyền sử dụng lại không lớn, gây cản trở nhiều mục đích sử dụng khác.

Nhận thức đầy đủ về vấn đề này cho nên Frankel 1984 đề nghị giới hạn nguồn gen bằng thu thập nguồn gen hạt nhân, thiết lập từ một bộ mẫu nguồn gen (ngân hàng gen) đã thu thập. Số lượng tối thiểu nhưng đại diện đa dạng di truyền toàn bộ ngân hàng gen, đại diện cho mỗi cây trồng, loài hoang dại hoặc một nhóm của loài trong ngân hàng gen lớn đã có. Nó không lặp lại như thu thập thu thập nguồn gen tổng toàn bộ trước đó

2.7.2 Thu thập ngân hàng gen hạt nhân

Thu thập mẫu hạt nhân có lợi giảm bớt khối lượng công việc và mức độ phức tạp khi bảo tồn, nhân giống, đổi mới hạt giống, tài liệu hóa, đánh giá và sử dụng. Đặc biệt giảm bớt khối lượng công việc và chi phí trong quản lý nguồn gen. Ngân hàng gen và thu thập nguồn gen hạt nhân được sử dụng trong trường hợp:

- Nếu toàn bộ ngân hàng gen của một Quốc gia hay quốc tế sẽ có số lượng khổng lồ dẫn đến khó khăn cho hoạt động nghiên cứu, quản lý và sử dụng ngân hàng gen
- Khi số lượng mẫu lớn như ngân hàng gen chung rất khó đánh giá, hiểu biết về đa dạng của toàn bộ ngân hàng gen chung như vậy
- Khó xác định ưu tiên thu thập bổ sung vật liệu còn thiếu trong ngân hàng
- Người sử dụng khó xác định biến dị trong một ngân hàng gen lớn như vậy và biến dị nào phù hợp cho chương trình tạo giống cho môi trường mục tiêu của họ

a) Thu thập nguồn gen hạt nhân là gì?

Khởi đầu “Thu thập nguồn gen hạt nhân” (core collection) rất khó mô tả và thực hiện, đã có đến ba định nghĩa khác nhau. Khi O. Frankel và A.H.D. Brown năm 1984 đề xuất lần đầu tiên đề nghị “Thu thập mẫu hạt nhân từ về nguồn gen thu thập hiện có với số tối thiểu giống như các dòng trong ngân hàng gen”. Nhiều cỡ mẫu thu thập khác nhau đã gây khó khăn để đặc điểm hóa và đánh giá. Khái niệm trên đã đưa ra 02 định nghĩa đơn giản hơn.

Định nghĩa 1: là sử dụng để thu thập nguồn gen cây trồng đặc thù trong ngân hàng gen, định nghĩa này dễ dàng hướng đến thu thập gồm nhóm loài liên quan hoặc với một tập hợp các mẫu thu thập có cùng nhóm phân loại giúp trong mạng lưới ngân hàng gen.

Định nghĩa 2: mẫu hạt nhân là trung tâm hay phần quan trọng nhất, tâm điểm của phần quan trọng nhất. Với ý nghĩa này, mẫu hạt nhân có thể giúp nhận biết toàn bộ mẫu nguồn gen, nó có thể sử dụng để đánh giá, thu nhận thông tin, và nhận biết các thuộc tính của toàn bộ tập đoàn nguồn gen gốc

Thu thập nguồn gen hạt nhân số lượng không nên vượt quá 10% tổng lượng nguồn gen và tổng số mẫu nguồn gen. Theo Brown 1989 thu thập hạt nhân không vượt quá 2000 mẫu. Thực tế chứng minh thu thập mẫu hạt nhân dao động từ 5 - 20% và như vậy lượng mẫu lớn nhất là 2.000 mẫu nguồn gen lấy ra từ tập đoàn nguồn gen gốc

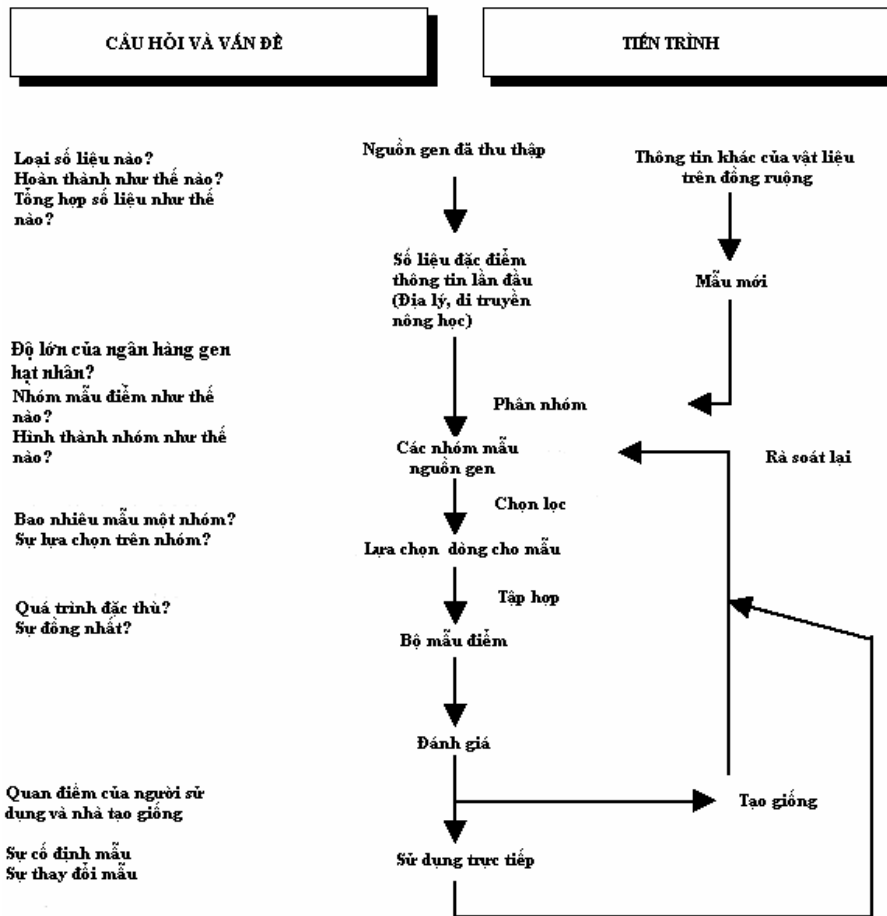
a) Phương pháp thu thập mẫu hạt nhân

Phương pháp chọn lọc thu mẫu hạt nhân có thể chia thành 5 bước như sau

- Nhận biết vật liệu đại diện trong tập đoàn ngân hàng gen gốc
- Xác định cỡ của ngân hàng hạt nhân
- Chia ngân hàng gen hạt nhân thành các nhóm riêng biệt
- Xác định số dòng trên mỗi nhóm
- Lựa chọn các dòng (entries) từ mỗi nhóm sẽ đưa vào nguồn gen hạt nhân

Sự phức tạp hay đơn giản trong mỗi bước phụ thuộc vào thông tin đã có và phương pháp sử dụng, có thể thực hiện theo 2 bước cùng một thời điểm, có thể chọn mẫu điểm sơ bộ, trên mẫu điểm sơ bộ chọn mẫu điểm tiếp để đạt được mẫu điểm cuối cùng, như vậy vừa

đảm bảo số lượng tối thiểu vừa đảm bảo mẫu điểm đại diện cho ngân hàng gen một cách chính xác và chắc chắn



Hình 2-12 : Sơ đồ mô tả dòng phát triển các bước thu thập mẫu hạt nhân
Nguồn Th.J.L.van Hintum, A.H.D. Brown, and C. Spillane T.Hodgkin, 2000

b) Phương pháp lấy mẫu thu thập

Phương pháp chọn lọc ngẫu nhiên từ ngân hàng gen gốc có thể sử dụng như là một phương pháp lấy mẫu của thu thập nguồn gen hạt nhân. Phương pháp đơn giản nhất và hầu như hiệu quả cũng thấp nhất, nhưng vẫn tốt hơn phương pháp lấy mẫu liên tục theo số thứ tự sắp xếp ngân hàng gen. Một phương pháp đơn giản cải tiến là lấy mẫu theo xác suất.

Ví dụ lấy 10% của các mẫu nguồn gen có số thứ tự mà cuối cùng của số thứ tự đó là 0, nhưng phương pháp này chỉ thỏa mãn khi không sử dụng bất kỳ thông tin nào của nguồn gen, vì nếu sử dụng như vậy sẽ cải thiện tính đại diện của mẫu nguồn gen hạt nhân. Các phương pháp thu thập mẫu hạt nhân khác được Hodgkin và cs (1995), Johnson và Hodgkin (1999), Van Hintum và cs. (2000) đã phát triển áp dụng cho các cây trồng và mục đích sử dụng khác nhau. Các mẫu gen hạt nhân cũng được xem xét thu thập dựa trên mức độ ưu tiên các tính trạng hay mẫu nguồn gen theo mục tiêu sử dụng. Ngoài ra thu thập mẫu nguồn gen hạt nhân liên quan đến mức độ xói mòn nguồn gen, số mẫu đại diện cho loài, nguồn gen hiếm, allele đặc hữu hay nghèo nàn, tính trạng, vùng sinh thái và loại vật liệu đặc thù riêng biệt (Brown và Spillane, 1999).

Nhận biết vật liệu đại diện cho ngân hàng gen gốc

Mẫu nguồn gen hạt nhân là đại diện cho toàn bộ nguồn vật liệu di truyền hay nguồn gen đã thu thập, rõ ràng là khác nhau giữa các trường hợp thu thập. Nó phụ thuộc vào nguồn vật

liệu hiện có, sự phát triển tiếp theo của mẫu hạt nhân và mục tiêu thu thập, mục tiêu sử dụng... Nhưng thu thập mẫu hạt nhân phải đại diện cho nguồn vật liệu di truyền hay ngân hàng gen đang có. Thu thập mẫu hạt nhân đã được thiết lập để bao gồm vật liệu của cây trồng trong một số nguồn gen

Cỡ mẫu điểm thu thập

Sau khi xác định vật liệu mẫu hạt nhân đại diện, bước tiếp theo cần xác định cỡ mẫu, cỡ mẫu sẽ nhỏ hơn mẫu nguồn. Theo Spillane và cộng sự cỡ mẫu hạt nhân chiếm khoảng 5 - 20% tổng số mẫu nguồn gen hiện có, đôi khi số lượng mẫu nguồn gen quá lớn số mẫu hạt nhân có thể nhỏ hơn 5% . Ví dụ lúa mạch nguồn gen có 1.600 mẫu giống khi thu thập mẫu nguồn gen hạt nhân ICRISAT lấy cỡ mẫu nhỏ hơn 0,3%, mẫu hạt nhân cây lúa miến lấy 600 mẫu từ nguồn 40.000 mẫu nguồn gen như vậy mẫu điểm chỉ chiếm 1,5%

Một số mẫu điểm cho những nguồn gen có tính trạng đặc thù như quần thể ngô địa phương có khả năng kết hợp (KNKH) tốt, tính chống bệnh... như vậy thu thập mẫu điểm bảo đảm một bộ các mẫu đại diện cho đa dạng của các tính trạng quý hiếm, hay tính trạng mục tiêu từ ngân hàng gen. Đối với các loài hoang dại, tỷ lệ thu thập mẫu điểm có thể lớn hơn như các mẫu họ cà theo Spillane và cộng sự lấy 31% và như vậy, không có một tỷ lệ cố định cho tất cả các trường hợp mà tùy theo loài mục tiêu. Brown 1989 cho rằng tỷ lệ thu thập khoảng 10% của tổng nguồn gen và chứa 70% biến dị của nguồn gen là đảm bảo. Nếu nguồn gen được chia nhóm và tỷ lệ lấy mẫu nhỏ vẫn có thể đại diện được cho nguồn gen, một nghiên cứu của ICRISAT khi chia nguồn gen thành nhóm thu thập 3% của tổng số mẫu nguồn gen cũng chứa 90% biến dị của nguồn gen đó.

2.7.3 Chia nguồn gen thành các nhóm di truyền khác biệt

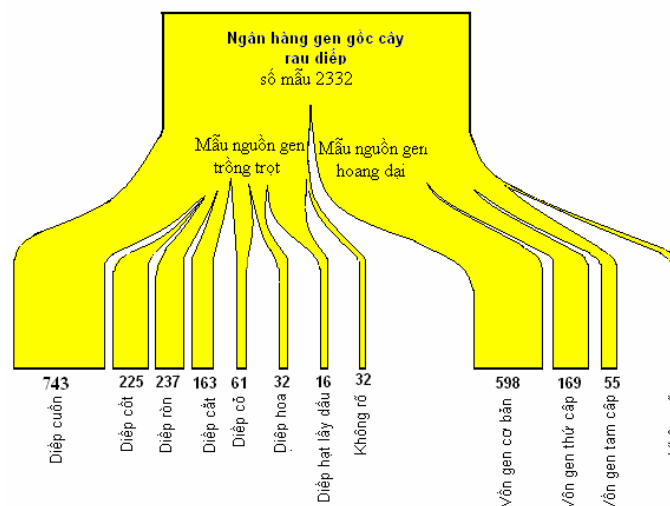
a) Chia nguồn gen thành nhóm

Sự thu mẫu đại diện cho toàn bộ đa dạng di truyền của nguồn gen hiệu quả phụ thuộc vào chia nguồn gen lần thứ nhất thành các nhóm, kỹ thuật này gọi là phân lớp, các nhóm có mức độ biến dị tối đa giữa các nhóm và tối thiểu trong một nhóm. Đây là kỹ thuật chia khóa để thu thập mẫu hạt nhân thành công. Có nhiều phương pháp tiếp cận khác nhau dựa trên thông tin đã có, vốn gen và ngân hàng gen. Hintum 1994 chia lần thứ nhất dựa trên phép phân loại, phân chia loài hoang dại theo các loài trồng và trong các nhóm này phân chia theo các loài và loài phụ theo phương thức bậc thang. Sử dụng phân loại và những kiến thức về thuần hóa, phân bố, lịch sử tạo giống, công thức luân canh, sử dụng một trật tự cấu trúc như vậy có thể phát triển thành cây đa dạng di truyền

Quá trình phân lớp thường liên quan đến tính xác thực của các nhóm phân loại, chia các loại cây trồng hoặc thành các nhóm sinh thái (nhóm sinh thái được hình thành với một lịch sử lâu dài). Ví dụ phân thành lúa mạch mùa xuân và lúa mạch mùa đông (Knupffer và Van Hintum 1995), Zhang và cộng sự ở Trung Quốc phân nhóm vùng theo vùng trồng, ở nước ta các nhóm sinh thái lúa có thể chia thành các nhóm lúa xuân và lúa mùa, lúa cạn, lúa có tưới, lúa chịu nước sâu và lúa nổi. Để phân nhóm nguồn gen cần có lượng thông tin phong phú khi thu thập ban đầu tạo ngân hàng gen gốc hoặc thông tin bổ sung trong quá trình nghiên cứu nguồn gen. Như vậy có thể phân chia thành các nhóm đồng nhất về di truyền.

Một phương pháp tiếp cận khác là tạo các nhóm tương tự như mẫu nguồn gen bằng sử dụng phân tích đa biến (Crossa và cộng sự 1995), nếu có sẵn dữ liệu về marker, đặc điểm hình thái hoặc đặc điểm khác. Nếu có thể xây dựng cây di truyền của các nhóm, sử dụng một dãy của phân tích đám (cluster), phương pháp phân tích tổ hợp hay biệt thức. Phương pháp này có thể sử dụng cùng với phương pháp phân loại mô tả trên. Trong nghiên cứu cây vùng ở Trung Quốc 14 nhóm khác nhau được thiết lập sử dụng địa lý, loại giống (giống cái

tiến, giống địa phương) và vùng sinh thái sản xuất. Phân tích đám của 14 đặc điểm hình thái, nông học và sử dụng phương pháp Ward cuối cùng của các nhóm hình thành mẫu hạt nhân cần thu thập. Trong trường hợp dữ liệu là các tính trạng số lượng, phương pháp này có thể bị ảnh hưởng bởi tương tác kiểu gen môi trường và sai số thí nghiệm



Hình 2-13 : Cây đa dạng nguồn gen cây rau diếp sau khi phân thành các nhóm từ ngân hàng gen gốc

b) Xác định số dòng (entries) trong một nhóm

Phương pháp xác định số dòng trên một nhóm trên cơ sở số mẫu nguồn gen trong mỗi nhóm. Kỹ thuật xác định số dòng trên một nhóm trên cơ sở số mẫu nguồn gen có trong mỗi nhóm, số mẫu nguồn gen của nhiều nhóm thường có các chỉ số tốt cho sử dụng và đảm bảo đa dạng trong các nhóm. Brown đề nghị cơ sở để xác định cỡ nhóm dựa trên 3 chiến lược chính là:

- Chiến lược cân bằng(C): ấn định một số dòng bằng nhau trong mỗi nhóm độc lập với số lượng mẫu nguồn gen của mỗi nhóm
- Chiến lược tỷ lệ (P): số dòng của mỗi nhóm tỷ lệ với số mẫu nguồn gen có trong mỗi nhóm
- Chiến lược cỡ mẫu logic (L): số dòng trong mỗi nhóm là loga của số mẫu nguồn gen trong nhóm đó

Bảng 2-9 : Ấn định số dòng với các nhóm khác nhau bằng chiến lược xác định cỡ mẫu trong thu thập điểm nguồn gen, nếu 30 dòng được chọn thu từ 205 mẫu nguồn gen

Nhóm	Số mẫu nguồn gen đã thu thập	Số dòng lấy mẫu điểm bằng chiến lược khác nhau		
		C	L	P
1	120	8	10	18
2	50	8	8	7
3	25	7	7	4
4	10	7	5	1
Tổng số	205	30	30	30

Mỗi chiến lược cho kết quả số dòng trong một nhóm khác nhau và hiệu quả của chúng so sánh với số công thức thực hiện, chiến lược C thường kém hiệu quả hơn hai chiến lược còn lại do vậy hai phương pháp L và P được sử dụng rộng rãi hơn.

Kỹ thuật xác định số dòng trong một nhóm dựa trên đa dạng marker: ngoài phương pháp lấy mẫu dựa trên cơ sở số mẫu nguồn gen đã thu thập, ngày nay lấy mẫu số dòng còn

dựa trên đa dạng marker. Phương pháp này dựa trên số liệu thu được bằng phân tích marker phân tử, trong mỗi nhóm hoặc đa dạng gen trong chúng (Brown và Schoen, 1994)

Chiến lược H, marker gen như allozyme hoặc DNA marker cho biết tần suất của các allele tại locus đa hình được đưa vào tính chỉ số đa dạng gen (h); Chỉ số này tương đương như tần suất dị hợp của quần thể giao phối hoàn toàn. Lý thuyết trên cơ sở tối đa của các allele trong tổng số mẫu hạt nhân (tổng số allele được tổ hợp trong mẫu) gợi ý rằng đóng góp của mỗi nhóm vào mẫu hạt nhân là ngang bằng với đa dạng của mỗi nhóm $\{h/(1-h)\}$. Phương pháp tiếp cận này có thể mở rộng áp dụng với số liệu số lượng. Ước lượng biến dị di truyền hiệu ứng cộng có thể áp dụng để ước lượng $\{h/(1-h)\}$ như là một yếu tố trọng số thêm. Nếu biến động môi trường là một hằng số thì các giá trị kiểu hình coi là một yếu tố trọng số bổ sung thêm của phân bố nhóm đối với đa dạng của mẫu hạt nhân.

Chiến lược M lựa chọn sử dụng marker tập trung phân biệt các dạng allele biểu hiện phạm vi locus cho mỗi mẫu nguồn gen. Nó xác định sử dụng các số liệu marker hơn là phân tích thống kê. Sử dụng chương trình đường tuyến tính để tìm tổ hợp của các mẫu nguồn gen sẽ quan sát được tối đa số allele tại mỗi locus trong mẫu hạt nhân, trong khi đó nó lại giữ cho tổng số mẫu lấy từ mỗi nhóm là ít nhất

Cả hai chiến lược đảm bảo các yếu tố đa dạng thông tin được sử dụng là ngang bằng giá trị của chúng như là một tiêu chí của tổng đa dạng bên trong các nhóm

2.7.4 Quản lý nguồn gen hạt nhân

Cán bộ quản lý nguồn gen hạt nhân cần đưa ra các quyết định về tồn trữ, nhân mẫu giống và tài liệu hóa các mẫu nguồn gen thu thập hạt nhân từ ngân hàng gen. Tiến hành đánh giá để mở rộng đa dạng hiện có của nguồn gen đồng thời giảm bớt nhưng nguồn gen không cần thiết, quá trình này gọi là cố định nguồn gen hạt nhân. Những kết quả quản lý cung cấp thêm những kiến thức và thông tin về nguồn gen hoặc những nguồn gen cần bổ sung.

2.7.5 Sử dụng nguồn gen hạt nhân.

Nguồn gen hạt nhân được thiết lập để cải tiến sử dụng và bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền. Chúng giúp cho quản lý ngân hàng gen, nên bảo tồn và sử dụng vật liệu để cải tiến như thế nào. Một số hướng sử dụng khác nhau khuyến cáo như sau:

- Giảm bớt công việc khi số mẫu nguồn gen nhỏ
- Liệt kê các dòng ưu tiên
- Tiêu chí tham khảo khi cần đánh giá toàn bộ ngân hàng gen gốc
- Bộ vật liệu tối ưu để đánh giá hoặc phát triển các phương pháp
- Quản lý nguồn gen hạt nhân giảm bớt khối lượng công việc, thuận tiện cho sử dụng khai thác để cải tiến giống cây trồng, phục vụ cho nghiên cứu và đào tạo

2.8 PHÂN LOẠI NGUỒN GEN SAU THU THẬP

Theo A.B. Damania và cộng sự phân loại nguồn gen thực vật có nhiều phương pháp phân loại khác nhau như: phân loại sắp xếp theo hệ thống phân loại thực vật, theo địa phương thu thập, sử dụng marker phân tử. Bảo tồn nguồn gen cho nghiên cứu cần có một hệ thống phân loại phù hợp, nó nhằm giúp người sử dụng dễ dàng tiếp cận để khai thác. Hệ thống phân loại đảm bảo nguyên tắc đơn giản, khai thác nhanh và đủ và chi tiết đến các biến dị, phản ánh được tất cả các đặc điểm đặc thù. Nếu phân loại theo vùng sinh thái phải phân theo các vùng địa lý sinh thái chi tiết gồm vùng chính, vùng phụ và vùng phát tán nguồn gen

Phân loại nguồn gen thực vật cũng sử dụng các phương pháp khác nhau như

- Phân loại dựa trên hệ thống phân loại thực vật
- Phân nhóm
- Phân loại dựa trên điều kiện sinh thái địa lý
- Phân loại dựa trên kỹ thuật bảo tồn và mục đích sử dụng
- Sử dụng marker phân tử trong phân loại nguồn gen

Ari Kornfeld, 1996-2000 ^[24] cho rằng ít nhất có 4 phương pháp phân loại thực vật và sự khác nhau và tương quan của các phương pháp tóm tắt như sau:

Bảng 2-10: So sánh một số phương pháp phân loại

Đơn vị phân loại	Cấu trúc mô	Cấu trúc hạt	Kiểu hình
<i>Bryophyta</i> (Ngành rêu)	Không có bó mạch Non-vascular (<i>Bryophytes</i>)		Như rêu
<i>Psilophyta</i> Dương xỉ	Các cây có bó mạch (<i>Tracheophytes</i>)	Spore Producers (sinh ra bào tử)	Như dương xỉ và cây
<i>Lycopodophyta</i> (Dương xỉ quần thể)			
<i>Cycadophyta</i> (cycads)			
<i>Ginkophyta</i> (Ginkoes)		Hạt trần (<i>Gymnosperms</i>)	Cây
<i>Coniferophyta</i> (conifers)			Gỗ, bụi
<i>Gnetophyta</i>			
<i>Angiospermophyta</i> (Cây có hoa)		Hạt kín (<i>Angiosperms</i>)	Gỗ, bụi, leo..
<i>Dicotyledons</i> (Lớp hai lá mầm)			
<i>Monocotyledons</i> (Lớp 1 lá mầm)			

2.8.1 Phân loại dựa trên hệ thống phân loại thực vật

Phân loại dựa trên phân loại thực vật được sử dụng phổ biến cho phép bảo tồn, tra cứu và sử dụng nguồn gen thuận tiện. Phương pháp này tạo ra thống nhất trên thế giới theo hệ thống của IPGRI. Phân loại theo hệ thống phân loại thực vật đảm bảo chính xác và thuận tiện trao đổi thông tin lưu trữ số lượng dữ liệu lớn. Phân loại theo trật tự từ giới đến biến chủng đến giống. Ví dụ loài hoa hồng Trung Quốc có mùi thơm, màu sắc đẹp được con người phát hiện và thuần hóa từ năm 1675 thuộc loài *Rosa bracteata* theo hệ thống phân loại như sau

Thuộc Giới thực vật: *Plantae*

Thuộc lớp 2 lá mầm : *Magnoliopsida*

Lớp phụ : *Rosidae*

Bộ -*Rosales*

Họ : *Rosaceae*

Chi: *Rosa L.*

Loài : *Rosa bracteata* J.C. Wendl.

Từ loài nguồn gen chia thành loài phụ (Subspecies), biến chủng (Varietas), mẫu nguồn gen (accession). Thông thường mẫu nguồn gen được số hóa để lưu trữ theo IPGRI. Ví dụ nguồn gen hoa hồng lai ở Mỹ lưu giữ hàng nghìn mẫu khác nhau (Nguồn Dr. Eileen W. Erlanson Macfarlane, University of Michigan) và hệ thống lưu trữ ở cấp mẫu nguồn gen mô tả trong bản sau:

Bảng 2-11: Ngân hàng gen hoa hồng ở Mỹ được số hóa như sau

Accession (mẫu)	Hybrid (Lai)	Số hoa.	Quả	Hạt	Nảy mầm	Bố mẹ
13637	blanda x arkansana	7	5	47	10,6	North Dakota
13641	blanda x arkansana	7	6	32	37,5	Manitoba
14724	blanda x arkansana	23	19	74	4,1	Mich. Colorado
13642	blanda x Woodsii	8	5	49	73,0	Michigan, S. Dakota
14744	blanda x Woodsii	12	12	135	62,0	Michigan, Utah
14769	californica x acicularis	3	2	7	57,1	Calif., B. C.
14730	californica. x nutkana	13	13	160	50,0	Calif., Wash.

2.8.2 Phân nhóm dựa trên kiểu hình

Carl Linnaeus, 1996-2006 đưa ra phương pháp phân nhóm nguồn gen thực vật dựa vào các dạng đặc điểm và trạng thái đặc điểm dựa trên cơ sở của Sokal, R. R. and F. J. Rohlf. 1981. Biometry, 2nd. Ed. W.H. Freeman & Co., San Francisco. 859 pp bao gồm:

- Đặc điểm số lượng và đặc điểm chất lượng
- Đặc điểm riêng rẽ và đặc điểm tiếp diễn
- Đặc điểm riêng rẽ như số đốt, số nhị hoa
- Đặc điểm kép chỉ hai trạng thái như số lá xanh và số lá rụng
- Đa trạng thái như các hoa đỏ, xanh, tím. Đa số các đặc điểm đa trạng thái được ghi trong dãy các đặc điểm thực vật học
- Đặc điểm tiếp diễn như trạng thái tăng trưởng chiều cao

Tiếp cận kiểu hình để phân loại từ Michel Adanson (French, 1750 đã sử dụng 65 đặc điểm phân loại họ thực vật đến R. R. Sokal và Peter H. A. Sneath. Năm 1950 thiết lập hệ thống phân loại sử dụng máy tính và nhóm Sokal và Sneath, 1963 đưa ra nguyên lý phân loại bằng số hóa

Các đặc điểm của phân loại theo kiểu hình cần:

- Tìm kiếm biểu hiện mối quan hệ tự nhiên giữa các cơ quan bằng phân tích số lớn trọng số ngang bằng nhau, các đặc điểm không tương quan. Với số lượng lớn các đặc điểm, kiểu hình dựa vào máy tính và các phương pháp thống kê, nói chung số lượng 100 – 200 vì như thế sai số là nhỏ hơn. Trong kỹ thuật thực hiện số lượng càng lớn càng tốt, đặc điểm bao gồm nhiều mức độ và cơ quan khác nhau như: các cơ quan trên thân, mô tế bào. Các nhà hình thái học khuyến cáo sử dụng trọng số ngang bằng để

tránh sai lệch do ý muốn chủ quan của người phân tích và nên chọn những đặc điểm không tương quan

- Phân loại hình thái không bao gồm phát sinh loài, tổ tiên tiến hóa của nhóm, nhưng tiến hóa được đưa vào xem xét khi phân tích đồng nhất

Các bước phân tích kiểu hình để phân nhóm gồm

- Chọn các cơ quan nghiên cứu phân loại gọi là OTUs (Operational Taxonomic Units)
- Chọn các điểm sẽ cho điểm của mỗi cơ quan
- Sử dụng toán học mô tả các mức và khoảng cách khác nhau của từng cặp đặc điểm cơ quan nghiên cứu. Ví dụ hệ số so sánh $S = \text{so sánh} = 2; \text{OTUs} \times 100$ [các cặp là 1,1 và 0,0]
- Xây dựng ma trận cho tất cả các cặp giá trị S

Sử dụng kỹ thuật đám (Cluster) để tạo ra sơ đồ hình cây, thông thường sử dụng phương pháp nhóm cặp không trọng số với các giá trị trung bình số học (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging) viết tắt là UPGMA

Ví dụ:

Phân loại	Các đặc điểm									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0
B	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1
C	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
D	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0

Ma trận tương đồng

	A	B	C	D
A	-	0,3	0,4	0,7
B		-	0,5	0,4
C			-	0,3
D				-

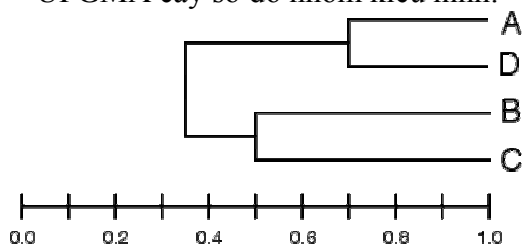
So sánh B và A có đặc điểm 1, 8 và 9 giống nhau = 0,3; so sánh C và A có đặc điểm 1, 3, 4 và 5 giống nhau = 0,4; tiếp tục so như vậy ta có kết quả như bảng trên.

Như vậy A cặp với D và B cặp với C tại giá trị tương đồng hai giá trị này trùng nhau trong phân tích đám

$$(A \text{ với } B) + (A \text{ với } C) + (D \text{ với } B) + (D \text{ với } C)$$

$$0.3 + 0.4 + 0.4 + 0.3 = 1.4/4 = 0.35$$

UPGMA cây sơ đồ nhóm kiểu hình:



Hình 2-14 Cây di truyền của bốn mẫu nguồn gen

Kết quả cây di truyền dựa trên kiểu hình như trên, có thể kết luận như sau: nếu hệ số đồng hình là 0,3, bốn mẫu nguồn gen trên có thể phân thành 2 nhóm (nhóm 1 là A và D, nhóm 2 là B và C). Nếu hệ số đồng hình là 0,5 có thể phân thành 3 nhóm (nhóm 1 A và D; nhóm 2 là B và nhóm 3 là C). Nếu hệ số đồng hình là 0,7 nghĩa là chúng có kiểu hình khác nhau 30% thì 4 mẫu nguồn gen trên khác nhau, không cùng nhóm.

Một phương pháp phân nhóm dựa trên hệ thống phân loại thực vật và bộ genome được sử dụng. Ví dụ các nhóm và loài trong chi *Oryza* như sau:

Các nhóm và loài trong chi <i>Oryza</i>			
Genome	Nhóm/Loài	Số đăng ký	Nước
	Nhóm <i>Oryza</i>		
AA	Loài <i>O. Sativa</i>	Au73030	Trung Quốc
	- <i>O. Glaberrima</i>	104042	Chad thuộc
	- <i>O. Barthii</i>	104140	Cameroon
	- <i>O. glumaepatula</i>	B308,* 100968	Brazil, Suriname
	- <i>O. longistaminata</i>	104977	Kenya
	- <i>O. meridionalis</i>	103317, 101147	Australia
	- <i>O. Nivara</i>	106148	Lào
	- <i>O. Rufipogon</i>	0413,* 105942	Trung Quốc, Thái Lan
BB	- <i>O. Punctata</i>	104071	Cameroon
CC	- <i>O. Officinalis</i>	105085	Philippines
	- <i>O. Rhizomatis</i>	105448	Sri Lanka
BBCC	- <i>O. Minuta</i>	101082	Philippines
	- <i>O. Eichingeri</i>	105160	Uganda
CCDD	- <i>O. Alta</i>	105143	Guyana
	- <i>O. grandiglumis</i>	105669	Brazil
	- <i>O. Latifolia</i>	105141	Costa Rica
EE	- <i>O. australiensis</i>	105263	Australia
	Nhóm <i>Ridleyanae</i>		
FF	Loài <i>O. brachyantha</i>	105151	Dãy núi Leone
HHJJ	- <i>O. Longiglumis</i>	105148	Indonesia
	- <i>O. Ridleyi</i>	100877	Malaysia
Không rõ	<i>O. schlechteri</i>	82047	Papua New Guinea
	Nhóm <i>Granulata</i>		
GG	Loài <i>O. granulata</i>	2422,* 106469	Trung Quốc, Việt Nam
	- <i>O. Meyeriana</i>	104987	Malaysia

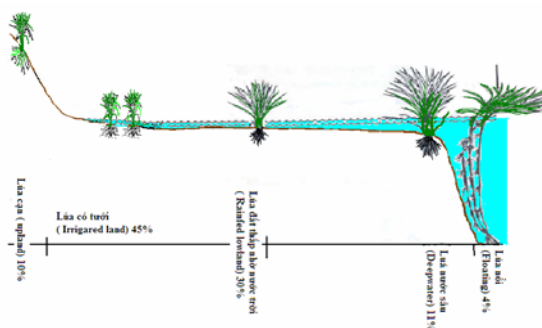
2.8.3 Phân nhóm nguồn gen theo vùng địa lý sinh thái

Phân nhóm theo địa sinh thái là dựa trên sự có mặt của những loài trong một vùng hay một điểm sinh thái nhất định. Ví dụ một số giống ngô và giống lúa địa phương chỉ có mặt ở vùng núi phía Bắc Việt Nam mà không tìm thấy ở đồng bằng sông Hồng. Như vậy phân nhóm có ưu điểm nhận biết nơi phát sinh của nguồn gen, có điều kiện sinh thái gần nhau,

gắn liền với cộng đồng địa phương cho nên không cần mô tả tất cả những thông tin này cho từng mẫu nguồn gen. Phương pháp này có nhược điểm không cho biết sâu về di truyền và biến dị của nguồn gen. Nghiên cứu của J. Valkoun, J. Giles Waines and J. Konopka về phân bố của lúa mỳ và lúa mạch hoang đại cho thấy: hai loài lúa mỳ lưỡng bội hoang đại *T. boeoticum* và *T. urartu* loài *Triticum urartu* có mặt ở miền Nam Syria, trong khi *T. boeoticum* tập trung ở miền Nam Thổ Nhĩ Kỳ. Hai loài lúa mỳ tam bội *T. dicoccoides* and *T. araraticum* ở vùng Viễn Đông.

Ví dụ phân nhóm lúa theo điều kiện sinh thái có thể phân thành

- Lúa cạn (lúa nương)
- Lúa đất cao canh tác nhờ nước trời (lúa chịu hạn)
- Lúa có tưới
- Lúa đất thấp canh tác nhờ nước trời
- Lúa chịu nước sâu
- Lúa nổi



Hình 2-15 Các nhóm lúa theo sinh thái (nguồn IRRI,2002)

2.9 XÂY DỰNG CƠ SỞ DỮ LIỆU

Cả hai công việc đánh giá và tài liệu hóa nguồn gen và được thực hiện cho sử dụng và thu thập nguồn gen. Các dữ liệu ban đầu và đặc điểm nguồn gen thuận tiện cho người sử dụng lựa chọn nguồn gen mong muốn. Do vậy thông tin và quản lý nguồn gen là một phần quan trọng của công việc thu thập bảo tồn nguồn gen thực vật. Những thông tin đưa vào cơ sở dữ liệu theo Mc Millan and Salhuana, 1983:

- 1) Xác định thông tin cơ bản và ghi nhận chúng như thế nào
- 2) Chuỗi thông tin cơ bản.
- 3) Có những công cụ phù hợp để lưu trữ và khai thác thuận tiện
- 4) Xác định thông tin thứ cấp.
- 5) Những công cụ phù hợp để lưu trữ và khai thác thông tin thứ cấp thuận tiện
- 6) Nhân được thông tin thứ cấp bằng sử dụng công cụ này
- 7) Chuyển tải thông tin cơ bản và thông tin thứ cấp đến người sử dụng

Sau khi thu thập cần có phân loại sắp xếp nguồn gen S. Eberhart và cộng sự đã đưa ra những hướng dẫn xây dựng dữ liệu hóa nguồn gen bằng bằng “bộ phụ điểm” (core subset) và phát triển để sử dụng với rất nhiều loài cây trồng bao gồm những bước sau:

- Xấp xếp, các dữ liệu và các thông tin khác nhau cho sử dụng không bị trùng lặp giữa các nhóm
- Đưa mẫu nguồn gen vào nhóm phù hợp
- Lựa chọn các mẫu cho nhóm, nhóm phụ từ nhóm chính

- Thu thập tính trạng di truyền và kiểu hình trong các nhóm cơ bản và nhóm lớn sử dụng các phương pháp phân tích đa chiều để hệ thống
- Kiểm định và điều chỉnh chính xác cuối cùng

Tinh lọc mẫu và thông tin các đặc điểm và đánh giá thực hiện để nhận được những thông tin cần thiết cho phân tích thống kê để đo mức độ di truyền và đa dạng trong nhóm điểm (core), số liệu kiểu hình và kiểu gen được sử dụng, di truyền và phân bố trên các nhân tố gen giữa các nhiễm sắc thể ảnh hưởng đến độ tin cậy của nhóm. Tối thiểu là 10 chỉ tiêu và trên 15 chỉ tiêu sẽ tốt hơn. Phân bổ các chỉ tiêu phân theo mức độ quan trọng, chỉ tiêu quan trọng nhất cho những tính trạng kiểu hình di truyền có thể cải thiện thay đổi đám sau đó sắp xếp lại trong 2 đến 3 khu. Sử dụng marker phân tử như RAPD và RFLP bất kỳ khi nào có thể. Bộ mẫu phụ điểm nên mềm dẻo có thể thêm và bớt hay thay thế thông tin. Tuy nhiên thời gian, mức độ thay đổi nên giảm tần suất và độ lớn bộ mẫu phụ

Câu hỏi ôn tập chương 2

1. Xói mòn nguồn gen thực vật, nguyên nhân chính gây xói mòn nguồn gen theo Stanislav Magnitskiy năm 2000 và tác động của xói mòn nguồn gen
2. Có mấy nhiệm vụ thu thập nguồn gen, những nguồn gen nào được ưu tiên thu thập, ở Việt Nam theo anh/chị nguồn gen nào cần ưu tiên? Vì sao?
3. Sự khác nhau giữa phương pháp, cách tiếp cận và kỹ thuật thu thập nguồn gen truyền thống và hiện đại
4. Tại sao lại thu thập nguồn gen theo điều kiện địa lý sinh thái
5. Phương pháp lấy mẫu và cỡ mẫu thu thập nguồn gen
6. Trình bày phương pháp thu thập nguồn gen truyền thống
7. Phương pháp thu thập nguồn gen In vitro, cho ví dụ thu thập nguồn gen cây chuối
8. Phân tích những ưu và nhược điểm của phương pháp thu thập có sự tham gia
9. Mục tiêu và phương pháp thu thập ngân hàng gen hạt nhân
10. Phương pháp phân loại nguồn gen sau khi thu thập
11. Trình bày phương pháp xây dựng cơ sở dữ liệu nguồn gen sau thu thập

Chương 3

BẢO TỒN NỘI VI

(In situ)

V. Ramanatha Rao đã nêu những nguyên lý bảo tồn và sử dụng nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Các thành phần nguồn tài nguyên di truyền thực vật gồm các loài hoang dại, cây trồng và họ hàng hoang dại của chúng, vật liệu di truyền được thu thập dưới dạng cơ quan sinh dưỡng, cây, hạt, mô... và bảo tồn các quần thể này trong khu bảo tồn hay tự nhiên trong nông trại (Frankel và Soule, 1981, Ramanatha Rao và cộng sự, 1997) là bảo tồn nội vi. Sự khám phá của N. Vavilop năm 1920 – 1940 là những mốc chính trong nguồn gen thực vật, đầu tiên gọi là học thuyết “Trung tâm phát sinh động, thực vật” sau khi xem xét gọi là “Trung tâm đa dạng di truyền”. Học thuyết là cơ sở để nhìn nhận và định hướng mở rộng vốn gen của cây trồng cần thiết cho sự sống của con người, sau đó sử dụng cho cải tiến và chọn tạo giống cây trồng đem lại cơ hội mới cho phát triển nông nghiệp (Harlan 1975, Ramanatha Rao, 1997). Biến dị di truyền ở thực vật có thể xem là nguồn không hạn chế và là nguồn biến dị có sẵn cho con người sử dụng, nhưng hoàn toàn không phải như vậy vì biến dị ở các trung tâm đa dạng di truyền sẽ đi đến tuyệt chủng nếu không có sự chăm sóc, bảo vệ và bởi vì các nguyên nhân gây xói mòn di truyền. Vấn đề càng trở nên nghiêm trọng khi phát triển nông nghiệp theo xu hướng tăng năng suất đáp ứng cho dân số ngày càng tăng của loài người. Những kỹ thuật canh tác mới, giống mới gọi là “Cách mạng xanh” đã tác động mạnh mẽ đến các Trung tâm đa dạng di truyền. Chúng ta cũng thừa nhận rằng sự phong phú của đa dạng di truyền hiện có trong vốn gen là tài sản tiềm năng cho con người sử dụng hiện nay và trong tương lai. Nói chung là tài nguyên di truyền là không thể phục hồi cho nên cần thiết bảo tồn ở mức loài, vốn gen hoặc tại mức đơn vị sinh thái. Đa dạng di truyền là trái ngược với tổn thương nguồn gen, nguồn gen đã được xây dựng trong cấu trúc di truyền của các giống địa phương (Anon, 1973 ; Brown, 1992). Ngoài ra, đồng nhất di truyền cũng dẫn đến tổn thương di truyền, dịch bệnh... cho nên đa dạng di truyền của tài nguyên di truyền thực vật cần thiết để duy trì sản xuất lương thực

3.1 NHỮNG PHƯƠNG PHÁP BẢO TỒN CƠ BẢN

Những tiếp cận và phương pháp bảo tồn nguồn gen: có hai tiếp cận chủ yếu để bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật là *In – situ* (bảo tồn nội vi) và *Ex-situ* (Bảo tồn ngoại vi). Mỗi phương pháp tiếp cận đều có những ưu nhược điểm nhất định. Trong thời gian qua rất nhiều loại nguồn gen thu thập, duy trì với sự hỗ trợ của kho cất trữ, nó có thể kéo dài sự sống của các hạt. Sự bảo tồn này đến một mức nào đó nó làm mất đa dạng di truyền (Frankel và Hawkess, 1975). Bảo tồn bằng cất trữ duy trì độ thuần di truyền nhưng vẫn đề gặp phải là sức sống khác nhau của các loài trong cất trữ. Bảo tồn *In situ* lại chịu ảnh hưởng của các thể hệ chọn lọc, nhận phần ngoài với các dòng khác và trôi dạt di truyền (Allard, 1970). Điều kiện cất trữ tốt kết hợp với gieo trồng phù hợp sẽ giảm ảnh hưởng của những vấn đề này đến bảo tồn *Ex situ*. Bảo tồn vật liệu cây trên đồng ruộng : là một hình thức bảo tồn ngoại vi đối với nhiều loài cây trồng quan trọng như cây ăn quả, hoa, cây cảnh, cây lâm nghiệp rất khó hoặc không thể bảo tồn bằng hạt. Như vậy chúng cần được bảo tồn bằng gieo trồng trên đồng ruộng. Bảo tồn trên đồng ruộng dễ tiếp cận cho nghiên cứu cũng như sử dụng. Một số loài phương pháp bảo tồn khác thay thế không hiệu quả (Ramanatha Rao, 1995). Nó cũng là một quan điểm chiến lược để bảo tồn nguồn gen cho nhiều loài thực vật. Đồng thời cũng cần cố gắng hoàn thiện phương pháp bảo tồn khác như bảo tồn *In vitro* , bảo tồn trên nông trại (Ramanatha Rao, 1998).

Trong mỗi phương pháp tiếp cận đã có một số phương pháp bảo tồn đã được nghiên cứu phát triển và ngày càng hoàn thiện.

Phương pháp tiếp cận 1: Bảo tồn nội vi (In – situ = on-site)

Bảo tồn nội vi là duy trì các quần thể thực vật trong điều kiện tự nhiên nơi xuất hiện tiến hóa của loài cây trồng đó. Nguồn gen thực vật được bảo tồn ở nông trại, vườn gia đình hoặc trên đồng ruộng. Các loài cây lâm nghiệp và cây hoang dại thường được tạo các vùng bảo tồn tự nhiên như vườn quốc gia hoặc khu bảo tồn. Ba phương pháp bảo tồn nội vi chính là:

- 1) Bảo tồn trên nông trại (farm conservation)
- 2) Bảo tồn trong vườn gia đình (home garden conservation)
- 3) Bảo tồn cây lâm nghiệp và cây hoang dại ở khu bảo vệ hoặc vườn quốc gia (Conservation of wild and forest plants)

Phương pháp tiếp cận 2: Bảo tồn ngoại vi (Ex – situ = off-site)

Bảo tồn ngoại vi là đưa nguồn gen ra khỏi điều kiện tự nhiên sinh sống của nó hoặc ra khỏi hệ thống sản xuất về bảo tồn ở các Trung tâm (trung tâm tài nguyên di truyền, các Viện nghiên cứu...). Phương pháp và kỹ thuật bảo tồn phụ thuộc vào loài cây trồng, hiện nay có 6 phương pháp bảo tồn khác nhau gồm:

- 1) Ngân hàng gen hạt (seed genebanks) lại bao gồm ngân hàng hạt ở các cơ quan bảo tồn và ngân hàng hạt cộng đồng (Community seed banks)
- 2) Ngân hàng gen đồng ruộng (field genebanks), các loài cây trồng khác nhau phương pháp này cũng chia ra thành 3 phương pháp nhỏ :
 - a) Các loài cây tạo ra hạt
 - b) Các loài cây ít hoặc không kết hạt
 - c) Các loài cây có thể lưu giữ bằng vật liệu vô tính có chu kỳ sống lâu năm
- 3) Bảo tồn *In vitro* với hai nhóm cây trồng, cây trồng kết hạt và cây trồng sinh sản sinh dưỡng và chia thành hai loại bảo tồn tế bào/mô và bảo tồn hạt phấn
- 4) Ngân hàng AND (DNA bank)
- 5) Bảo tồn lạnh (cryoconservation bank)
- 6) Vườn thực vật (botanical gardens)

Ngân hàng gen (Genebanks): ngân hàng gen là lưu giữ, duy trì và tái sinh các mẫu sống của các giống thực vật và các loài hoang dại đa dạng lớn của thế giới. Nguồn gen đó đảm bảo rằng các giống cây trồng cải tiến, giống địa phương và họ hàng hoang dại của chúng, củng cố vững chắc cung cấp lương thực, thực phẩm cho con người và nhà nghiên cứu sử dụng.

Trong chương này thảo luận những phương pháp và những kỹ thuật của bảo tồn In-situ, ứng dụng của nó trong bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật trên thế giới và Việt Nam.

3.2 KHÁI NIỆM BẢO TỒN NỘI VI (In situ)

Bảo tồn *In situ* có thể bảo tồn các loài dưới điều kiện cho phép chúng tiếp tục sinh sống và mở rộng. Một số loài như các loài cây thân gỗ nhiệt đới chỉ có phương pháp này là khả thi để bảo tồn. Một trở ngại của phương pháp này là khó mô tả và đánh giá được tài nguyên di truyền cây trồng vì sự lẫn lộn của chúng với điều kiện thời tiết bất thuận và sâu, bệnh hại. Bảo tồn *In situ* còn liên quan đến khía cạnh xã hội, sinh học, tự nhiên và được thảo luận ở nhiều hội thảo khoa học về sự liên kết của các yếu tố này trong bảo tồn nguồn gen và quản lý bền vững^[6]. Có nhiều khái niệm về bảo tồn nội vi, những khái niệm có những điểm

khác nhau, trong chương này nêu bốn khái niệm do các nhà nghiên cứu nguồn gen nêu từ 1991- 1997 như sau:

- Bảo tồn *In situ* được coi là duy trì các quần thể biến động trong môi trường sống tự nhiên hay canh tác của chúng trong cộng đồng cho phép quá trình tiến hóa tự nhiên xảy ra trong một phần quần thể của chúng. (Qualset và cộng sự 1997)
- Mohd Said Saad and V. Ramanatha Rao, 2001: bảo tồn *In situ* là đối ngược với *Ex situ*, lựa chọn bảo tồn *In situ* khi cần thiết phải duy trì tiềm năng tiến hóa của loài và quần thể (Frankel, 1970, Ledig, 1988, 1992) Nhìn chung nghiên cứu và giám sát đảm bảo thành công của bảo tồn *In situ* ở ba mức độ : thử nghiệm, phân tích biến dị, di truyền trong một loài mục tiêu ở khu vực đặc thù (Nghiên cứu hình thái, di truyền phân tử và những xác nhận đa dạng người sử dụng tại địa phương), kiểm kê số loài, quan sát điều kiện sinh thái và tập tính trong hệ thống canh tác (Berg, 1996)
- Bảo tồn *In situ* là duy trì nguồn tài nguyên di truyền trong cấu trúc tự nhiên cho nguồn tài nguyên thực vật. Những nguồn tài nguyên này tiếp tục được trồng trọt trong hệ thống canh tác của chúng chủ yếu ở các Trung tâm phát sinh và đa dạng cây trồng của Vavilov (Brush, 1991)
- Bảo tồn *in situ* là phương tiện để duy trì hệ sinh thái nông nghiệp cơ bản, các giống do nông dân trồng trọt và họ sử dụng các phương pháp và tiêu chí chọn lọc của họ (FAO, 1989; Bommer, 1991, Keystone, 1991)

3.3 BẢO TỒN TRÊN TRANG TRẠI

Bảo tồn *In situ* trên trang trại đôi khi gọi là bảo tồn trang trại được khái niệm “ là nông dân tiếp tục canh tác và quản lý những quần thể đa dạng cây trồng trong hệ sinh thái nông nghiệp” (Bellon và cộng sự, 1997). Bảo tồn trên trang trại gồm các loại trong hệ sinh thái nông nghiệp gồm các loài có ích và được sử dụng (cây trồng, cây thức ăn gia súc và cây lâm nghiệp) cũng như họ hàng hoang dại của nó phát triển trong khu vực lân cận.

3.3.1 Mục đích của bảo tồn trên trang trại

- Bảo tồn tiến hóa và thích nghi của các cây trồng trong môi trường tự nhiên của chúng
- Bảo tồn đa dạng ở các mức khác nhau là : hệ sinh thái, các loài và trong nội bộ một loài
- Nông dân nằm trong hệ thống nguồn tài nguyên di truyền thực vật quốc gia
- Để bảo tồn hệ sinh thái phục vụ đời sống của con người trên trái đất
- Cải thiện sinh kế của những nông dân nghèo tài nguyên thông qua phát triển kinh tế - xã hội
- Để duy trì và tăng cường sự tham gia của nông dân cũng như sự tiếp cận của họ với nguồn tài nguyên di truyền

3.3.2 Khái niệm bảo tồn trên trang trại

Bảo tồn nội vi và bảo tồn trên trang trại có nhiều khái niệm khác nhau, hai khái niệm được Brown và Maxted đưa ra năm 1997 và 2000 trình bày dưới đây:

Khái niệm do Brown đưa ra năm 2000 là “ Bảo tồn đa dạng sinh học nông nghiệp trên trang trại là duy trì đa dạng hiện có trong các quần thể của chúng của nhiều loài cây trồng được sử dụng trực tiếp trong nông nghiệp hoặc sử dụng nguồn gen trong môi trường sống mà đa dạng đó phát sinh và tiếp tục phát triển”.

Bảo tồn trên nông trại là “ Nông dân quản lý bền vững đa dạng di truyền của các giống phát triển truyền thống trong mối quan hệ với các loài và các loại hình hoang dại và trong

hệ thống canh tác nông nghiệp truyền thống, làm vườn hoặc nông lâm kết hợp (Maxted và công sự, 1997)”

3.3.3 Tầm quan trọng của bảo tồn trên trang trại

Bảo tồn trên nông trại đem lại nhiều lợi ích cho các nhà nghiên cứu, nông dân và bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật bền vững. Phương pháp này không những chỉ bảo tồn nguyên vẹn đa dạng di truyền mà còn làm cho nguồn tài nguyên phong phú và giàu có thêm, nó cũng giúp tạo ra môi trường khỏe mạnh hơn, sự thịnh vượng của con người cũng được nâng cao.

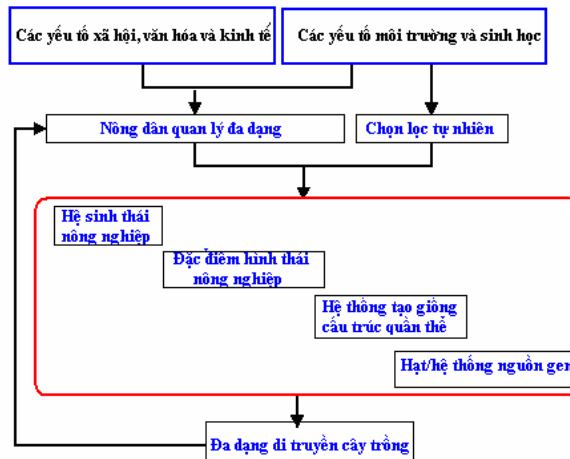
Những ưu điểm chính của phương pháp là :

- Bảo tồn quá trình tiến hóa và thích nghi: bảo tồn đa dạng sinh học nông nghiệp ở tất cả các mức trong các điều kiện môi trường địa phương, duy trì trong môi trường và hệ thống canh tác địa phương, nó giúp quá trình tiến hóa và thích nghi tiếp tục xảy ra. Như vậy ưu điểm nổi bật của bảo tồn trên trang trại là nó không chỉ bảo tồn nguồn gen hiện có mà còn phát sinh thêm những biến dị mới thích nghi với sự biến đổi của môi trường. Phương pháp bảo tồn này còn có ý nghĩa là “ Bảo tồn thúc đẩy” mở rộng đến tất cả các khía cạnh của hệ thống canh tác gồm các loài thực vật, loài hoang dại có tương tác với các loài cây trồng
- Có thể bảo tồn ở tất cả các mức là đa dạng hệ sinh thái, các loài và di truyền(loài, biến chủng, giống)
- Nông dân là chủ thể và nằm trong hệ thống bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật quốc gia và họ tham gia vào trong quá trình bảo tồn cũng như tăng đa dạng di truyền ở các khía cạnh sau
 - + Nông dân duy trì nguồn gen đã chọn lọc
 - + Nông dân đối thoại với các thành phần và tổ chức quản lý, khoa học, kinh tế - xã hội khác về bảo tồn đa dạng sinh học, sử dụng và chia sẻ lợi ích giữa các bên một cách bền vững
 - + Nông dân quản lý ngân hàng gen hoặc trình diễn nguồn gen
 - + Nông dân có thể tiếp cận ngân hàng gen thuận lợi
- Bảo tồn hệ sinh thái phục vụ con người như tạo môi trường sinh thái khỏe mạnh hơn, tránh ô nhiễm và suy thoái nguồn tài nguyên đất, nguồn tài nguyên nước phục vụ cho con người ở địa phương, khu vực và toàn cầu
- Cải thiện sinh kế cho những nông dân nghèo nguồn tài nguyên, họ có thể khai thác nguồn tài nguyên đa dạng cho rất nhiều nhu cầu khác nhau như lương thực, dinh dưỡng và tăng thêm thu nhập

Các lợi ích riêng rẽ và lợi ích chung: an ninh lương thực toàn cầu trong tương lai phụ thuộc vào chọn tạo giống như vậy bảo tồn nguồn gen là bảo tồn vật liệu cho các quá trình chọn tạo giống, đảm bảo môi trường sinh sống cho loài người, bảo tồn văn hóa và tập quán địa phương.

3.3.4 Cơ sở lý luận bảo tồn trên trang trại

Bảo tồn trên nông trại cần có những kiến thức cơ bản, hiểu biết các yếu tố ảnh hưởng đến đến các mức đa dạng nguồn gen trên trang trại, số lượng và phân bố đa dạng di truyền qua thời gian và địa điểm. Kỹ thuật duy trì và sử dụng đa dạng di truyền trên trang trại. Những yếu tố tác động đến việc ra quyết định của nông dân bảo tồn đa dạng trên nông trại của họ. Ai là người duy trì đa dạng này (nam, nữ, già, trẻ, giàu , nghèo hay nhóm dân tộc)



Mối liên kết giữa ra quyết định của nông dân và xác định đa dạng di truyền

Hình 3-1: Đa dạng di truyền cây trồng (Nguồn: D.I.Javis và cộng sự 2000)

a) Tác động của các yếu tố kinh tế và xã hội đến bảo tồn trên trang trại:

Yếu tố xã hội, kinh tế, văn hóa và đa dạng cây trồng: thể chế xã hội và văn hóa địa phương liên quan đến tập quán canh tác của nông dân, cũng như phương thức chọn lọc, bảo tồn hạt giống. Tập quán tiêu dùng, canh tác cũng dẫn đến quyết định của nông dân họ lựa chọn giống cây trồng nào cho sản xuất của họ. Một số nguồn gen do tính trạng độc đáo của nó mà nguồn gen ngoại lai không thể có được, một số liên quan đến tôn giáo tín ngưỡng. Quyền sở hữu đất đai, số lượng đất được sở hữu và quy mô trang trại cũng là yếu tố ảnh hưởng đến bảo tồn đa dạng trên trang trại cần phải quan tâm.

Ví dụ :

- ☞ Một số dân tộc miền núi phía Bắc Việt Nam như dân tộc Thái thuộc các tỉnh Sơn La, Điện Biên và Lai Châu có tập quán ăn cơm nếp, do vậy các dân tộc này có bộ giống lúa nếp, ngô nếp đa dạng hơn các dân tộc khác, việc lựa chọn và duy trì giống lúa nếp địa phương hay giống lúa nếp mới là thuận lợi hơn các giống lúa tẻ.
- ☞ Những người dân huyện Yên Minh, Đồng Văn và Mèo Vạc tỉnh Hà Giang có diện tích trồng lúa rất nhỏ, đất trên núi đá thích hợp đối với ngô và người dân cũng có phương pháp chế biến ngô độc đáo thành “mèn mén” là lương thực chủ yếu trong bữa ăn hàng ngày của họ, như vậy đa dạng di truyền cây ngô lớn hơn cây lúa và bảo tồn đa dạng cây ngô cũng thuận lợi hơn cây lúa tại vùng này

Các yếu tố xã hội

Các yếu tố giới tính, tuổi tác và tình trạng xã hội nó liên quan đến kiến thức, kinh nghiệm và khả năng tiếp cận nguồn tài nguyên di truyền của người dân. Nghiên cứu những yếu tố này cho những hiểu biết sâu sắc ai là người quan trọng trong bảo tồn đa dạng trên nông trại. Một dân tộc mà quyết định sản xuất là người phụ nữ thì phụ nữ có vai trò quan trọng hơn đối với bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật. Những người lớn tuổi thường có kiến thức bản địa rất sâu sắc và gắn bó với những cây trồng truyền thống tác động mạnh đến khả năng bảo tồn trên nông trại hơn người trẻ tuổi.

Các yếu tố kinh tế

Điều kiện kinh tế có thể là một yếu tố tác động mạnh nhất đến bảo tồn trên trang trại. Người nghèo khả năng tiếp cận với các vật tư kỹ thuật cho thâm canh như phân bón, thuốc

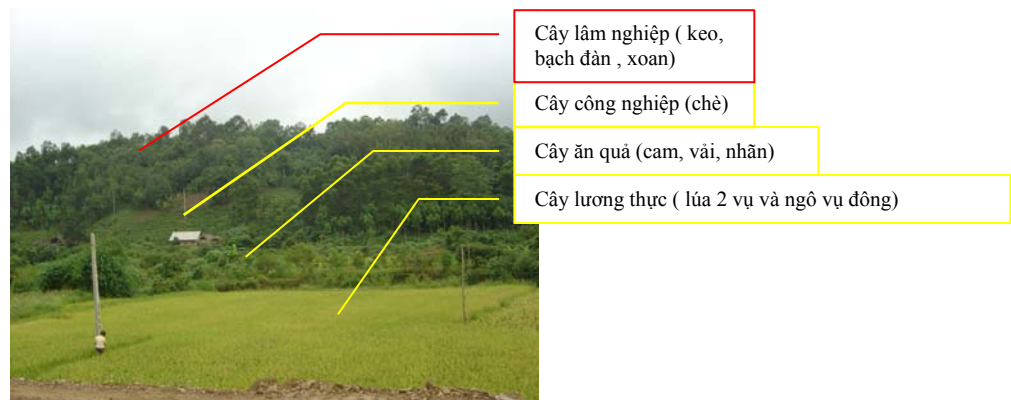
trừ sâu, trừ cỏ thấp hơn do vậy xu hướng của họ sử dụng các giống địa phương có mức đầu tư thấp sẽ phù hợp với họ

Vai trò của phân tích kinh tế đối với bảo tồn *In situ* trên nông trại: phân tích kinh tế giúp lựa chọn phương thức và chiến lược bảo tồn tốt nhất như giá trị sử dụng, giá trị đối với môi trường, đóng góp cho nền kinh tế và thu nhập của người dân địa phương. Ví dụ khu rừng là nguồn cung cấp nước cho các khu vực sản xuất thâm canh của công đồng, trong khu rừng lại có những nguồn tài nguyên di truyền thực vật quý hiếm việc phân tích lợi ích kinh tế của khu rừng để người dân nhận thức bảo tồn nguồn tài nguyên có ý nghĩa quyết định. Cây trồng có giá trị kinh tế mang lại thu nhập cho người dân hiện tại hoặc trong tương lai gần sẽ khuyến khích người dân trồng trọt và mở rộng các cây trồng đó. Ví dụ các cây thuốc tẩm của đồng bào dao huyện Sa Pa tỉnh Lào Cai trước đây gần như bị quên lãng, khi thuốc tẩm được người tiêu dùng biết đến và sử dụng rộng rãi thì nó được bảo tồn và phát triển mạnh mẽ. Tuy nhiên khi lợi ích kinh tế lớn khai thác quá mức lại có tác động người lại làm cạn kiệt nguồn tài nguyên nhanh hơn.

Các yếu tố liên quan đến lựa chọn giống cho sản xuất của người dân

Yêu cầu thâm canh là yếu tố quan trọng đầu tiên liên quan đến lựa chọn giống cho sản xuất của người nông dân. Nông dân nghèo thường lựa chọn cây trồng đầu tư thấp, nhưng nông dân khá giả thường lựa chọn nhưng giống có chất lượng cao, giá bán cao. Thứ hai điều kiện sinh thái và đất đai của nông hộ dẫn đến quyết định lựa chọn giống, nếu điều kiện sinh thái đồng nhất thường nông dân lựa chọn một số giống cho sản xuất của họ vì quản lý sản xuất thuận lợi và theo hướng sản xuất hàng hóa.

Điều kiện sinh thái, đất đai đa dạng của miền núi, nông dân sẽ lựa chọn nhiều loại cây trồng phù hợp với mỗi thửa ruộng của họ. Như vậy mức độ đa dạng cây trồng trên hộ nông dân sẽ đa dạng hơn, trong đó bao gồm cả giống địa phương, giống cải tiến. Ngược lại nông dân đồng bằng sông Hồng điều kiện sinh thái khá đồng nhất, lựa chọn cây trồng đồng nhất, đôi khi trên cả vùng rộng lớn chỉ có giống lúa thâm canh (giống cải tiến hay giống lúa lai), năng suất cao.



Hình 3-2 Đa dạng cây trồng trên một nông hộ của miền núi Việt Nam

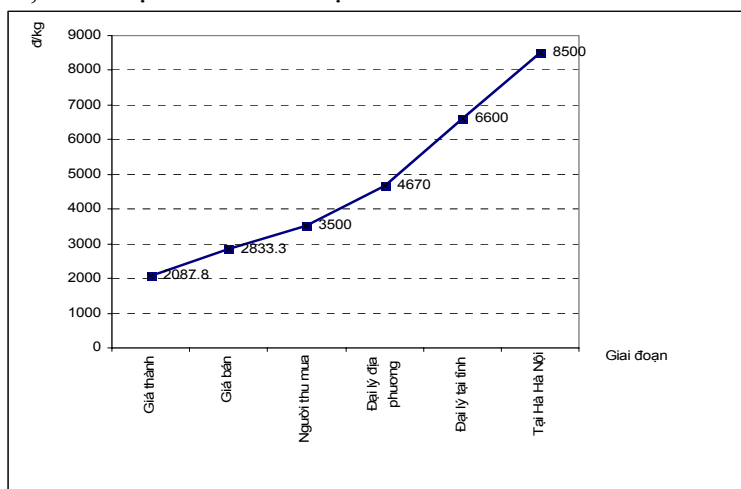
Ngoài các yếu tố tự nhiên, điều kiện kinh tế và thị trường cũng liên quan đến sự lựa chọn giống lúa của nông dân. Một số giống cây trồng địa phương và cây hoang dại khi có thị trường đã được bảo tồn và phát triển ở Việt Nam như cây thảo quả ở Lào Cai, một số giống lúa nếp địa phương của người Thái, người Mông là giống tan nhe hay tan lo, giống chè suối Giàng Hà Giang.

Mối quan hệ giữa lựa chọn giống của nông dân với đa dạng trong trang trại, sự lựa chọn đó đem lại đa dạng giống cây trồng, nhưng có thể không đem lại đa dạng di truyền vì lựa chọn giống phụ thuộc chủ yếu vào hình thái, điều kiện sinh thái và khả năng thị trường, do

vậy cần xem xét cả yếu tố loại giống nông dân lựa chọn và đa dạng di truyền của các giống đó (Meng, 1997).

Thị trường và đa dạng sinh học:

Thị trường trong vùng mục tiêu có thể có những đặc điểm liên quan đến đa dạng nguồn gen cây trồng cần được khai thác, sản phẩm của nông dân sản xuất ra được tiêu thụ ở các trung tâm như thành phố khu công nghiệp có vai trò quan trọng quyết định giá cả và duy trì sản xuất loài cây trồng đó tại địa phương. Tuy nhiên giá trị đó phụ thuộc vào nhiều yếu tố như chế biến, lưu thông và phí vận chuyển. Ví dụ giá của gạo nếp của giống nếp tan nhe tại huyện Mường Chà, tỉnh Điện Biên tiêu thụ như sau:



Hình 3-3: Giá gạo nếp tan nhe ở các giai đoạn từ sản xuất đến thị trường Hà Nội năm 2005(Nguồn Vũ Văn Liệt, Nguyễn Tử Siêm , 2005)

Minh họa trên cho thấy, để bảo tồn giống lúa nếp địa phương “tan nhe” cần tác động vào khâu sản xuất và chế biến tại chỗ để nâng cao giá trị cho người sản xuất. Những sản phẩm chưa có thị trường cần tác động các giải pháp kinh tế, xã hội để tạo ra thị trường cho sản phẩm như quảng cáo, xây dựng thương hiệu sản phẩm sẽ khuyến khích được bảo tồn trên trang trại một cách bền vững.

Nông dân quản lý đa dạng di truyền

Mức và cấu trúc đa dạng trên ruộng nông dân là kết quả của một số hoạt động như quản lý độ màu mỡ của đất, làm đất, canh tác, chọn lọc, để giống để bảo tồn đặc điểm di truyền và nâng cao hiệu quả sản xuất.

Ví dụ :

Nhiều giống lúa và ngô địa phương nông dân sử dụng lâu dài không có chọn lọc, khi thu hoạch lẫn giống này với giống khác dẫn đến thoái hóa nghiêm trọng và nông dân từ chối không lựa chọn đưa vào canh tác của họ ở nhiều địa phương miền núi Việt Nam. Người dân Kh'Mú tại huyện Kỳ Sơn tỉnh Nghệ An khi phỏng vấn năm 2005 cho biết: trước đây đất tốt những giống địa phương trồng nhiều, nay đất xấu, năng suất rất thấp nên nông dân bỏ không trồng nữa. Lý do đất xấu là do chu kỳ luân canh quá nhanh đất không kịp phục hồi, trước đây một hộ nông dân thường có 3 nương họ canh tác sau 9 -10 năm mới chuyển đến canh tác ở nương thứ 2 sau 9 đến 10 năm lại bỏ hóa nương thứ 2 chuyển đến nương thứ 3 và sau 9 -10 năm lại bỏ hóa nương thứ 3 quay về canh tác nương thứ nhất. Như vậy nương thứ nhất có khoảng 20 năm bỏ hóa để phục hồi đất. Ngày nay, do dân số tăng một hộ nông dân chỉ có 1 - 2 nương thời gian bỏ hóa chỉ còn khoảng 9 - 10 năm đôi khi không có thời gian bỏ hóa cho nên đất không đủ thời gian phục hồi.

3.3.5 Các yếu tố hệ sinh thái nông nghiệp ảnh hưởng đến đa dạng trên trang trại

+ *Các yếu tố ảnh hưởng đến đa dạng trên trang trại*

Các yếu tố hệ sinh thái nông nghiệp tác động đến đa dạng nguồn gen cây trồng có thể phân thành 2 nhóm lớn là những yếu tố phi sinh học và yếu tố sinh học

Yếu tố phi sinh học là những yếu tố tạo ra các bất thuận cho cây trồng, trong một quần thể thực vật một số thích nghi với điều kiện bất thuận đó và một số khác không thích nghi sẽ bị mất đi do chọn lọc tự nhiên. Các yếu tố phi sinh học như nhiệt độ, ánh sáng, gió, độ cao, thành phần cơ giới và dinh dưỡng của đất, độ pH, độ mặn, các độc tố như độc sắt, nhôm, sulphur... bất thuận của úng, ngập và hạn. Những yếu tố phi sinh học cũng biến đổi theo thời gian từ vụ này sang vụ khác, từ năm này qua năm khác hay trong một chu kỳ sống của cây trồng

Yếu tố sinh học cũng có tiềm năng rất lớn đối với đa dạng di truyền như hệ vi sinh vật, cỏ dại, côn trùng, nấm, tuyến trùng các cây trồng khác loài. Một số yếu tố sinh học có thể có tác động tốt nhưng một số có thể làm suy giảm đa dạng trên ruộng nông dân. Sâu bệnh hại và các sinh vật ký sinh làm mất nguồn gen nhanh chóng, ví dụ bệnh virus làm mất nguồn gen một số giống cam, quýt bản địa của Việt Nam không thể phục hồi được. Những sinh vật cộng sinh đôi khi duy trì và tăng mức đa dạng như vi khuẩn nốt sần của cây họ đậu.

Nông dân sống trong điều kiện địa phương trải qua thời gian lâu dài họ nắm được các đặc điểm sinh thái địa phương như đất đai, khí hậu, địa hình, loại đất các loại thực vật, sâu bệnh, cỏ dại và diễn biến của chúng. Người dân phân loại hệ sinh thái của họ dựa trên một số đặc điểm khác nhau là những cơ sở thúc đẩy bảo tồn, đặc biệt là bảo tồn giống địa phương. Người dân cũng có thể phân loại hệ sinh thái của họ theo lịch sử và ý nghĩa văn hóa (Martin, 1995). Người dân dựa trên cơ sở phân loại này để xác định giống nào, trồng ở đâu, trồng khi nào? đặc biệt với các điều kiện địa hình, đất đai khác nhau, ngay cả luân canh và xen canh với cây trồng nào là phù hợp. Phân loại hệ sinh thái giúp cho các nhà nghiên cứu xác định bảo tồn đa dạng giống và loài cây trồng sẽ thực hiện bảo tồn trên trang trại

Biến động của môi trường qua thời gian và không gian cần được nghiên cứu ảnh hưởng của nó đến bảo tồn đa dạng di truyền. Biến động xảy ra qua không gian như cánh đồng, cộng đồng và vùng lãnh thổ khác nhau liên quan đến khả năng thích nghi của các loài, và giống địa phương khác nhau. Để khai thác mở rộng đa dạng hay nguyên nhân thu hẹp đa dạng hay thu nhỏ kích thước quần thể từ đó tìm giải pháp khắc phục. Những biến động như thiên tai, hạn hán. Biến động qua thời gian là yếu tố quan trọng tác động đến sự tiến hóa của quần thể, quần thể đa dạng hơn, nếu biến động môi trường là diễn ra từ từ sẽ thuận lợi cho các giống địa phương phát triển thích nghi với điều kiện bất thuận. Biến động môi trường có hai ưu điểm chính đối với bảo tồn đa dạng trên trang trại: (1) Quá trình tiến hóa, nhìn chung quần thể biến động qua các thế hệ nhân có thể tăng tần suất allele mong muốn và tần suất các kiểu gen đa locus có lợi. Sự tăng lên các biến dị di truyền này rất có ích và hiệu quả cho khai thác tính chống chịu bệnh và thích nghi trong chọn tạo giống cây trồng. (Allard, 1990); (2) Một quần thể dị hợp, sự cạnh tranh giữa các cá thể tạo ra áp lực chọn lọc, nó thay đổi phụ thuộc vào cấu trúc di truyền của quần thể và điều kiện môi trường, tóm lại đa dạng môi trường tạo nên và duy trì đa dạng di truyền (Le Boulc'h và cộng sự, 1994)

Hạn chế của biến động môi trường là: ảnh hưởng đến sự tồn tại của một số loài và giống, giảm sản lượng và năng suất, ví dụ tăng độ mặn có thể giảm số lượng loài và giảm

sản lượng nghiêm trọng. Cần có giải pháp và thảo luận với cộng đồng để tìm giải pháp hạn chế tác động của biến động môi trường.

Bảng 3-1 : Xác định một số yếu tố sinh học và phi sinh học

Những số liệu chung	
- Địa hình: Sự khác nhau về độ cao, độ bằng phẳng đến núi, đặc điểm thay đổi độ cao (FAO,1990)	
Bằng phẳng	0,0 - 0,5 m
Hầu hết bằng phẳng	0,6 - 2,9 m
Hơi mấp mô	3,0 -5,9 m
Mấp mô	6,0 - 10,9m
Gò	11,0 - 15,9
Đồi	16,0 - 30m
Dốc	>30m
Núi	>30m
- Độ dốc và hướng dốc: đo độ dốc bằng độ và hướng từ phía nào sang phía nào (Đông-Tây, Nam- Bắc hay Đông Bắc - Tây Nam..)	
- Độ cao: đo bằng m so với mức nước biển dựa trên bản đồ địa hình hay đo trực tiếp bằng máy đo độ cao	
Khí hậu: <ul style="list-style-type: none"> - Phạm vi nhiệt độ: theo tháng, mùa và năm, trung bình, tối đa, tối thấp - Băng giá, tuyết, sương muối: tính bằng số ngày/năm, thời gian bắt đầu và thời gian kết thúc trong năm - Lượng mưa: theo ngày,tháng , năm, bắt đầu , kết thúc, tối đa, tối thiểu - Gió: tốc độ, hướng, mùa - Ánh sáng: chất lượng, độ dài chiếu sáng, lượng bức xạ, ngày nắng - Các sự kiện thời tiết khác 	
Số liệu về đất đai <ul style="list-style-type: none"> - Độ thoát nước: Mức độ dễ thoát nước sau mưa, thoát nước tốt, kém và khó thoát nước - Tình trạng nước: nhờ nước trời, có tưới, ngập nước, khả năng trữ nước - Ngập nước: chu kỳ ngập, thời gian , độ ngập sâu - Mức nước ngầm, độ sâu (cm) và chất lượng , ô nhiễm) - Độ mặn : đo và tính % của dung dịch đất - Độ màu mỡ của đất: xác định trong phạm vi độ sâu của rễ - Độ ẩm đất: từ rất khô - ẩm - sũng nước - Độ pH: đo trong phạm vi độ sâu rễ - Hàm lượng mùn: từ không rất cao (chưa bao giờ trồng trọt) - Đá : quan sát nghi nhận - Thành phần cơ giới: nặng , nhẹ, sét, thịt, cát, cát pha - Loại đất: theo hệ thống phân loại - Dinh dưỡng/độc tố: các nguyên tố N, P,K, Mg, S, Bo, Fe, Al, Mn 	
Các yếu tố sinh học: <ul style="list-style-type: none"> - Bệnh: xác định trên cây trồng, tần suất, mức độ và mức độ đa dạng - Sâu: xác định mức độ đa dạng, tần suất, mức độ hại. - Tác nhân thụ phấn: những côn trùng có trong khu vực - Cạnh tranh: mức độ cỏ dại và các cạnh tranh của loài khác - Loài hoang dại: quy mô và mức độ gần gũi - Tương hỗ: lợi ích tương tác sinh trưởng đối nghịch 	

Nông dân quyết định trong quá trình trồng, quản lý, thu hoạch và chế biến sản phẩm cây trồng của họ, điều này ảnh hưởng đến đa dạng di truyền của quần thể loài. Quần thể qua thời gian chúng sẽ biến đổi cấu trúc di truyền do chọn lọc, những đặc điểm hình thái phù hợp hơn đối với người dân. Thực tế trồng trọt và quản lý của nông dân sẽ ảnh hưởng đến sự tồn tại của một của một số kiểu gen, do kỹ thuật chọn lọc và quản lý đặc thù ở một điểm với điều kiện vi môi trường đặc thù. Nông dân quyết định quy mô quần thể của mỗi giống cây trồng trong một vụ hay một năm, từ đó xác định phần trăm hạt dự trữ để gieo trồng hay phần trăm mua hay đổi giống. Những quyết định này ảnh hưởng đến đa dạng giống, quyết định này cũng liên quan đến thiết lập lên môi trường, kinh tế xã hội ảnh hưởng đến nông dân (Jarvis và Hodgkin, 2000)

Thay đổi môi trường gây áp lực lên cây trồng, thực tế quản lý của nông dân có thể tác động đến đa dạng di truyền trong một quần thể địa phương. Nhiều nghiên cứu cho thấy quản lý sản xuất của nông dân có tác động đến đa dạng di truyền. Các biện pháp canh tác khác nhau của canh tác cải tiến và canh tác truyền thống, canh tác cải tiến sử dụng mức phân bón hóa học cao hơn canh tác truyền thống, làm đất bằng máy và làm đất bằng gia súc có thể tác động đến lựa chọn giống cây trồng cho sản xuất của họ khác nhau. Ví dụ canh tác truyền thống thường lựa chọn cây trồng dài ngày, rải vụ, ít thâm canh. Canh tác cải tiến ngược lại lựa chọn giống ngắn ngày, thu hoạch tập trung và thâm canh cao. Nông dân có thể quản lý môi trường bất thuận để hạn chế suy giảm đa dạng như kỹ thuật trồng xen canh để chống suy giảm độ màu mỡ của đất. Bón vôi để giảm độ chua, làm đất tối thiểu hay làm ruộng bậc thang để tránh xói mòn, trồng rừng để giữ nguồn nước, thay đổi mùa vụ để tránh hạn và sâu bệnh hại....

Sử dụng đa dạng di truyền cũng như nguồn tài nguyên tự nhiên điều hòa điều kiện bất thuận. Đa dạng loài, cây trồng, giống có thể điều hòa được các điều kiện bất thuận, đây là chiến lược quan trọng để giảm bất thuận, chống xói mòn, giữ nước, điều hòa nhiệt độ và các biến động môi trường khác

+ **Phương pháp phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến đa dạng**

Bảo tồn trên trang trại tại một điểm có rất nhiều yếu tố sinh thái nông nghiệp khác nhau như đất, nước, cỏ dại, sâu bệnh quản lý của nông dân. Đa dạng trong một điểm coi là đa dạng Alpha, Đa dạng Beta thay đổi thành phần các loài từ nơi này đến nơi khác như ruộng nông dân này đến ruộng nông dân khác, đa dạng Gamma là đa dạng trong vùng hay đa dạng của giống địa phương.

Phân tích hệ sinh thái có rất nhiều yếu tố (sinh học, phi sinh học và quản lý), như vậy không thể đồng thời nhìn nhận tất cả của bộ dữ liệu lớn như vậy. Hai kỹ thuật thông dụng để phân tích là phân tích phân loại và xếp loại. Phân tích đa biến có thể sử dụng để khai thác mối quan hệ của điểm nghiên cứu hoặc ruộng nghiên cứu với đa yếu tố sinh học, phi sinh học và quản lý, cũng như phân tích mẫu cây trồng trên cơ sở các tính trạng hình thái hoặc chỉ thị phân tử và giữa các hộ trên cơ sở đặc điểm kinh tế xã hội.

Phương pháp phân loại: Các dòng của mỗi nhóm với các đặc điểm giống nhau trong một loại. Các phương pháp phân cấp cho kết quả cây đa dạng, hoặc phân cấp kết quả đơn giản hơn thành các nhóm

Phương pháp xếp loại: sắp xếp các mẫu thành các nhóm, hoặc 2 - 3 lô, vị trí của chúng phản ánh mức độ giống nhau. Những mẫu nguồn gen có cùng mức với các đặc điểm giống nhau sẽ bố trí cạnh nhau trên ruộng nông dân. Sắp xếp các nhóm tuần tự theo mức tương quan, nếu hai biến có tương quan với một biến khác cũng có thể sử dụng một biến để đại diện cho biến kia (kỹ thuật xếp loại có thể sử dụng để nhận biết tương quan và giảm số biến trong phân tích)

Ngoài ra phân tích tương quan đa chiều dựa trên kỹ thuật sử dụng biến độc lập và biến phụ thuộc, kỹ thuật cũng có thể sử dụng phân tích phân bố của các giống với các yếu tố sinh thái hoặc các loại hộ nông dân và nhóm dân tộc, giới tính. Một số phương pháp thông dụng để liên kết biến độc lập và phụ thuộc, như phân tích tương quan kinh điển (CCA), đặc biệt phân tương quan hồi quy đa biến, phân tích biệt thức nhị phân (BDA), phân tích biệt thức đa biến (MDA)

Hệ thống thông tin địa lý:

Bản đồ mối quan hệ: một số giá trị của yếu tố môi trường ở một địa phương đặc thù có tương quan chặt với giá trị của các địa phương lân cận, mối quan hệ không gian như vậy có thể khai thác bằng công nghệ GIS là một hệ thống quản lý dữ liệu, đồng thời có thể đưa số liệu không gian lên trang đồ thị là bản đồ giấy, nhằm giúp hiểu sâu sắc hơn hệ thống sinh thái nông nghiệp. Hệ thống thông tin cho biết mức độ phong phú của loài, phân bố mức độ của các loài đang bị đe dọa. Ứng dụng GIS trong bảo tồn trên nông trại đang gặp thách thức khi phối hợp số liệu về nhân khẩu học, kinh tế - xã hội, văn hóa và thông tin khác vào thông tin địa lý

Nông dân chọn lọc và duy trì dựa trên hình thái nguồn gen: nông dân sử dụng nhiều đặc điểm hình thái của cây trồng để nhận biết và chọn lọc các giống địa phương của họ. Những chỉ tiêu hình thái này có thể có phạm vi rất rộng của hình thái nhưng thường liên kết với đa dạng di truyền cây trồng. Nông dân sử dụng các đặc điểm hình thái nông nghiệp để phân biệt và đặt tên giống cây trồng. Người bảo tồn cần có những hiểu biết về nông dân sử dụng các đặc điểm kiểu hình cho 3 mục đích : (1) thứ nhất sử dụng để phân biệt, nhận biết thường là đặt tên cho giống; (2) một số tính trạng ưa chuộng hoặc giá trị để nhận biết tính trạng mong muốn; (3) nông dân sử dụng đặc điểm hình thái để chọn lọc cây trồng trong quần thể và duy trì những đặc điểm mong muốn.

Tên giống cây trồng ở địa phương Việt Nam đối với giống địa phương do nông dân đặt tên theo đặc điểm đặc thù khi sử dụng như mùi thơm của gạo (tám thơm của người Kinh), (khẩu tan của người Thái), đặt tên theo địa danh như bưởi Đoan Hùng, bưởi Phúc Trạch, hồng xiêm Xuân Đình, su hào Sa Pa. Đặt tên theo điều kiện sinh thái như lúa nương, lúa nổi. Giống mới du nhập tên giống thường được nông dân đặt tên theo tên đã có do cơ quan hay cá nhân đưa giống cung cấp tên.

3.3.6 Kết hợp đánh giá trên trang trại với nhưng đánh giá tại các trạm nghiên cứu để chuẩn hóa khi bảo tồn trên trang trại

Khi đánh giá bảo tồn trên trang trại, tên cũng như các đặc điểm nguồn gen trên cơ sở những kiến thức của nông dân, đánh giá trên trang trại mẫu nguồn gen chịu nhiều yếu tố cùng biến động tạo ra sai số lớn gồm: biến động của đất, nước, khí hậu và biến động của yếu tố kinh tế- xã hội và kinh nghiệm sản xuất giữa các hộ nông dân. Do vậy để chuẩn hóa các số liệu đánh giá nguồn gen cần đánh giá ở các trạm, trại nghiên cứu để chỉnh lý và bổ sung. Thí nghiệm trên trang trại có điều kiện khống chế và giữ các yếu tố khác đồng nhất chỉ có một yếu tố mẫu nguồn gen biến động, điều kiện thí nghiệm có lặp lại, đối chứng và phương pháp thí nghiệm chuẩn xác. Tuy nhiên đánh giá nguồn gen với số mẫu nguồn gen lớn cho nên có phương pháp thí nghiệm, phương pháp đánh giá đặc thù và chỉ theo dõi những chỉ tiêu và tính trạng quan trọng

Đánh giá bảo tồn trên trang trại có nhiều yếu tố biến động, để giảm bớt sai số cần áp dụng các kỹ thuật để giảm bớt sai số, kỹ thuật giảm bớt sai số có sự khác biệt với kỹ thuật giảm bớt sai số trong thí nghiệm tiêu chuẩn ở trạm, trại nghiên cứu. Nông dân chọn ruộng và các kỹ thuật áp dụng như thực tế của nông dân đang canh tác, do vậy phương pháp tiếp cận phân tích số liệu cũng khác so với thí nghiệm trên trạm trại nghiên cứu. Các phương pháp bố trí thí nghiệm thường được sử dụng để đánh giá nguồn gen là khối ngẫu nhiên

(RCB), ô vuông la tinh (LS), khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh(RICB), Lattice, Alpha và thiết kế tăng tiến (Augmented design) cho đánh giá số mẫu giống lớn, số lần lặp lại ít hơn.



Đánh giá giống lúa địa phương trên ruộng nông dân tại bản Pá Sắng xã Than nua huyện Điện Biên tỉnh Điện Biên

Đánh giá giống lúa địa phương tại Trung tâm thực nghiệm trường Đại học Nông nghiệp I Hà Nội

Hình 3-4: Kết hợp đánh giá nguồn gen lúa địa phương trên nông trại tại Điện Biên và tại trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Thí nghiệm trong phòng thí nghiệm, nhà có mái che (nhà lưới, nhà kính) được áp dụng trong những trường hợp và tính trạng đặc biệt theo yêu cầu nhận biết nguồn gen. Ví dụ đánh giá tính chống bệnh bằng lây nhiễm nhân tạo, thí nghiệm đánh giá khả năng chống chịu điều kiện bất thuận, phân tích hàm lượng các chất trong hạt, trong sản phẩm và sử dụng công nghệ sinh học đánh giá nguồn gen.

Phân tích số liệu đánh giá nguồn gen cần phân tích biến động của mỗi đặc điểm, phân tích mối quan hệ giữa các đặc điểm, phân tích biến động từng phần của quần thể, điểm nghiên cứu, mẫu, thời gian. Phân tích biến động đơn lẻ sử dụng mô tả tổng phạm vi biến động của tính trạng hình thái, nông học đơn lẻ của quần thể như bước phân tích thăm dò, các tính trạng có thể biến động liên tục như tính trạng số lượng(chiều cao cây, sinh khối...) hoặc không liên tục (màu sắc, hoa, mùi thơm, tính kháng bệnh...). Phân tích những tính trạng đơn như vậy, thường áp dụng phân tích tần suất phân bố, mô hình, giá trị trung bình, phạm vi và độ lệch chuẩn.

Phân tích đa dạng: Chỉ số đa dạng được xác định gồm mức độ giàu có, số giống hoặc tính trạng của giống, sự ngang bằng tần suất xảy ra (sự quan sát phân bố ngang bằng giữa các loại cho kết quả đa dạng cao). Chỉ số đa dạng có thể sử dụng cho phép so sánh trong một quần thể hoặc giữa các quần thể khác nhau, chỉ số này có thể sử dụng tính tương quan với các yếu tố khác. Một số tham số sử dụng đánh giá đa dạng sử dụng thông dụng là số liệu hình thái, nông học, hệ số biến động (cv). Để phân tích chất lượng hoặc số liệu hình thái, nông học sử dụng hệ số Shannon Weaver index. Phân tích đa dạng có phân tích định tính và phân tích định lượng, phân tích định tính là xếp loại hoặc cho điểm, tính tỷ lệ phần trăm hoặc tần suất xuất hiện hay không xuất hiện

Phân tích định lượng có thể sử dụng các hệ số sau:

+ Phân tích hệ số biến động

$$CV = s/X \text{ hoặc } s/(100\%)$$

Trong đó: s là độ lệch chuẩn, X là giá trị trung bình

+ Chỉ số đa dạng xen Shannon

$$H = \sum_{i=1}^k p_i \log p_i$$

Trong đó: k là số loại, p_i là tỷ lệ của quan sát tìm trong loại i, n là cơ mẫu, fi là số quan sát trong loại i, sau đó tính $p_i = f_i/n$ do vậy loại trừ để tính tỷ lệ. H là ước lượng đa dạng quần thể mẫu

+ Chỉ số tính đa dạng (Diversity Index) của Simpson (Southwich, 1976)

$$\lambda = 1 - \sum_{i=1}^n \frac{n_i(n_i - 1)}{n(n - 1)}$$

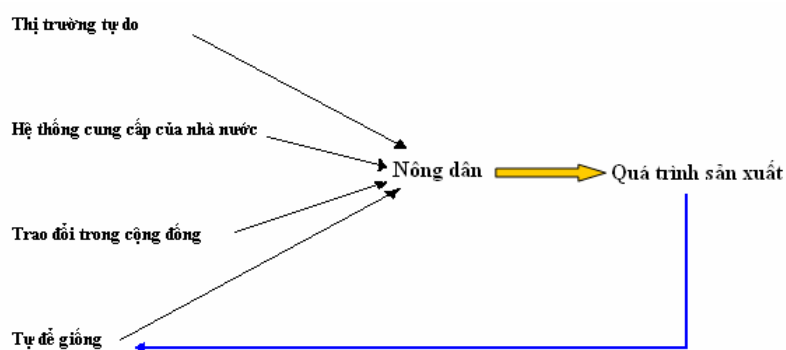
Trong đó : λ là chỉ số đa dạng

n_i số cá thể của loài trong một ô tiêu chuẩn

n là tổng số cá thể của tất cả các loài thực vật tìm thấy trong một ô tiêu chuẩn

3.3.7 Hệ thống hạt giống ảnh hưởng đến đa dạng

Hàng năm nông dân quyết định loại giống và lượng hạt giống cần thiết cho sản xuất của mình. Nguồn hạt giống nông dân nhận được từ nhiều nguồn khác nhau, mua trên thị trường tự do, công ty giống, hệ thống cung cấp của nhà nước, do trao đổi trong cộng đồng và nông dân tự để giống. Như vậy người dân có vai trò quan trọng đưa nguồn gen hiện có hay nguồn gen mới vào trong hệ sinh thái nông nghiệp. Quá trình này gọi là dòng hạt giống trong sản xuất của các trang trại.



Hình 3-5 : Dòng hạt giống trong sản xuất của người dân

Lô hạt giống của nông dân tự để giống có thể khai niệm là đơn vị vật chất hạt lấy ra từ một giống do nông dân tự chọn trong quá trình gieo trồng để tái lập giống đó trong sản xuất của họ (Louette và cộng sự 1997). Nghiên cứu dòng hạt giống trong sản xuất của nông dân để có hiểu biết sâu sắc hơn quá trình chọn lọc, tích trữ và trao đổi hạt giống tác động đến phân bố đa dạng di truyền.



Hình 3-6 : Nông dân Kh'Mú huyện Kỳ Sơn, Nghệ An lựa chọn hạt giống lúa nương để giống trồng vụ sau

Hệ thống hạt giống là tổ hợp các tổ chức, cá nhân, cơ quan nghiên cứu liên quan đến quá trình phát triển, nhân, bảo quản và kinh doanh hạt giống (Maredia và Howard, 1998). Có một số kỹ thuật trợ giúp nông dân để họ có phương thức và cơ hội tiếp cận hệ thống hạt giống và bảo quản hạt giống phục vụ cho bảo tồn.

Xác định nguồn hạt giống và nhu cầu hạt giống cho sản xuất của nông dân rất quan trọng đối với tác động bảo tồn trên trang trại. Cơ quan bảo tồn phải nắm được khi nào người nông dân có nhu cầu hạt giống từ bên ngoài để có tác động kỹ thuật bảo tồn phù hợp. Thực tế sản xuất nông nghiệp ở Việt Nam cho thấy nông dân có nhu cầu hạt giống từ bên ngoài trong 5 trường hợp sau:

- Cần giống mới năng suất cao hơn, chất lượng tốt hơn
- Không tự để giống được do mất mùa, thiên tai
- Hạt giống tự để bị hư hỏng trong quá trình bảo quản
- Do thiếu ăn hoặc có nhu cầu khác đã ăn hoặc bán hạt giống tự cất trữ
- Đổi hạt giống do hạt giống tự để là giống đã bị thoái hóa

Để bảo tồn thiết lập và xây dựng hệ thống cung cấp hạt giống cho nông dân đáp ứng nhu cầu hạt giống của người dân với chất lượng hạt giống tốt. Hệ thống cấp cấp theo định hướng theo mục tiêu bảo tồn, cung cấp ổn định, kịp thời theo vụ sản xuất. Hệ thống này đặc biệt quan trọng đối với nông dân miền núi, dân tộc ít người. Nhiều giải pháp cho bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật trên trang trại thông qua dòng hạt giống như:

- Nghiên cứu và hướng dẫn kỹ thuật hạt giống cho người dân
- Xây dựng hệ thống sản xuất và cung cấp hạt giống cộng đồng
- Chính sách khuyến khích với hệ thống cung cấp giống của nhà nước và tư nhân

Trong các giải pháp trên hai giải pháp đầu rất quan trọng đối với bảo tồn đa dạng di truyền vì nó không chỉ cung cấp hạt giống cho người dân, nó còn có thể tránh được thoái hóa nguồn gen, trôi dạt di truyền, di thực nguồn gen...

3.3.8 Xây dựng những hoạt động khởi đầu bảo tồn trên trang trại

+ *Xây dựng mạng lưới và thể chế thực hiện bảo tồn trên trang trại*

Bảo tồn trên trang trại liên quan đến rất nhiều thể chế khác nhau như tổ chức, nhân sự, kỹ thuật, chính sách. Do vậy khi thực hiện bảo tồn hoạt động quan trọng đầu tiên là xây dựng mạng lưới và khung thể chế để thực hiện. Mạng lưới và khung thể chế tốt, chặt chẽ giúp bảo tồn thành công và bền vững.

Xây dựng hệ thống tổ chức bảo tồn

Tổ chức hệ thống bảo tồn trên trang trại là một hệ thống đa thành phần gồm: (1) Nông dân là người quan trọng nhất, họ là người trực tiếp thực hiện công tác bảo tồn, cơ sở để bảo tồn thành công; (2) Nhóm hay tổ chức nông dân; (3) chính quyền địa phương cấp thôn, bản, xã, huyện và tỉnh; (4) Các cơ quan nghiên cứu và đào tạo; (5) các tổ chức xã hội khác và tổ chức phi chính phủ giúp đỡ kỹ thuật, tài chính và tổ chức cho bảo tồn; (6) Các cơ quan chính phủ đưa ra chính sách và thể chế.

Thành lập các nhóm đa ngành cùng tham gia và liên kết thực hiện quá trình bảo tồn, mức liên kết như vậy ở tất cả các cấp từ toàn cầu, vùng, mỗi quốc gia đến cấp cộng đồng, các bên tham gia được phân rõ trách nhiệm và lợi ích

Xây dựng quy định trách nhiệm của mỗi thành viên hợp tác trong bảo tồn

Nông dân: người trực tiếp thực hiện bảo tồn tham gia khảo sát, tham gia tập huấn xây dựng năng lực, đóng góp lao động, thực hiện trồng trọt, áp dụng kỹ thuật chọn lọc, tích trữ, thu thập những thông tin bảo tồn và thụ hưởng sản phẩm của bảo tồn.

Tổ chức nông dân: tổ chức theo nhóm cùng thực hiện nhiệm vụ bảo tồn, quy định và quy ước cộng đồng, hợp tác xây dựng ngân hàng giống, mùa vụ, thu hoạch và tiêu thụ sản phẩm. Thu thập thông tin chung và tham gia truyền thông, thương thảo trao đổi, sử dụng nguồn gen do nhóm nông dân quản lý.

Chính quyền cơ sở thôn xã: quản lý, thực hiện chính sách, huy động các tổ chức xã hội của địa phương tham gia, hỗ trợ và quy hoạch bảo tồn tại cơ sở.

Chính quyền cấp huyện, tỉnh : thực hiện chính sách, hỗ trợ chính sách ruộng đất, thuế, thủy lợi phí, huy động hệ thống chuyên môn, hệ thống cung cấp hạt giống hỗ trợ kỹ thuật và kinh phí và thị trường cho bảo tồn tại cơ sở

Các cơ quan nghiên cứu: hỗ trợ kỹ thuật, phương pháp, có thể đóng góp nhân lực và kinh phí bảo tồn

Các tổ chức phi chính phủ: hỗ trợ phương pháp và kinh phí bảo tồn

Các cơ quan chính phủ: Bộ NN&PTNT, Bộ KHCN, Bộ Tài nguyên môi trường và cơ quan khác xây dựng chính sách, hỗ trợ nghiên cứu và nguồn tài chính bảo tồn

Xây dựng cơ chế hợp tác

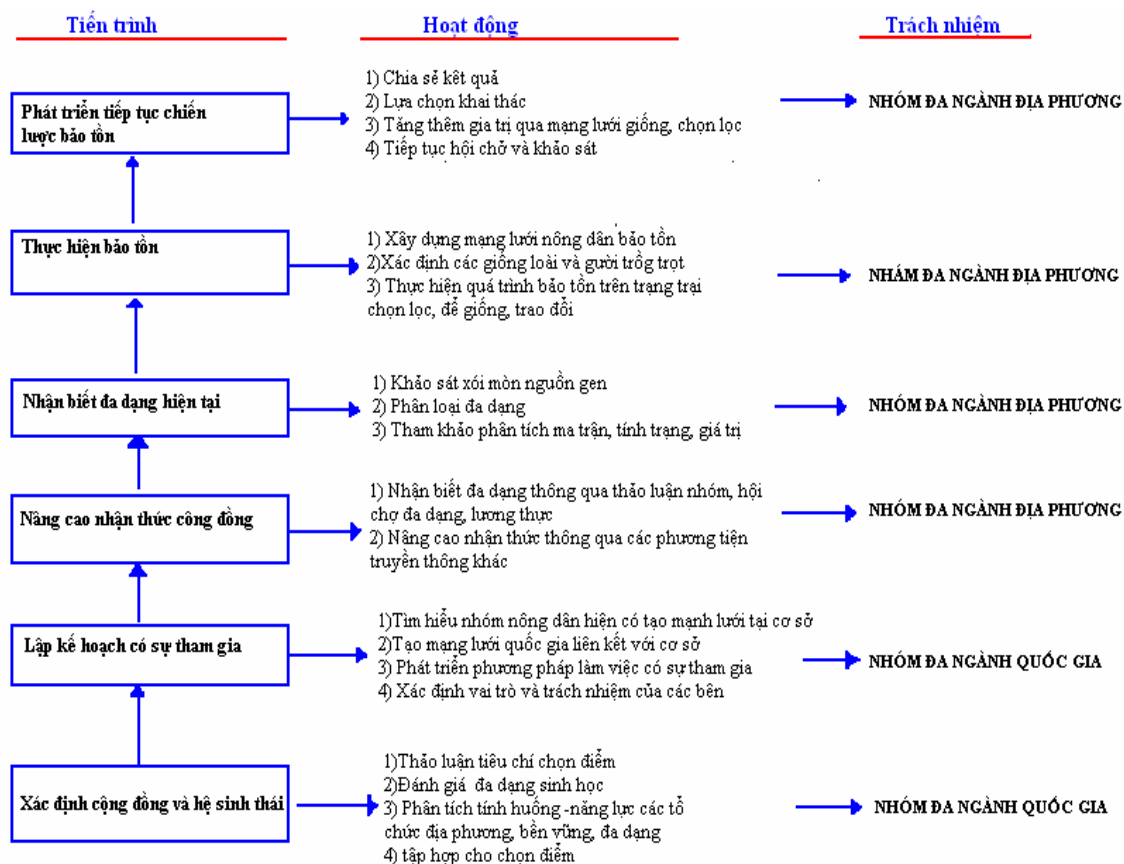
Sự hợp tác, chia sẻ giữa các bên có liên quan là yếu tố quan trọng để bảo tồn trên trang trại thành công. Sự hợp tác trên cơ sở nhu cầu của các bên có liên quan, chia sẻ lợi ích của công tác bảo tồn. Mục tiêu của các nhà bảo tồn và nhà chọn giống là duy trì và nâng cao giá trị nguồn gen, nguồn vật liệu cho chọn tạo giống cây trồng hiện tại và tương lai theo hướng tăng năng suất, chống chịu và bảo vệ môi trường cho nền nông nghiệp thâm canh và môi trường thay đổi (Frankel và cộng sự 1995). Các nhà sinh thái bảo tồn *In situ* trên nông trại nhằm duy trì quản lý hệ thống cây trồng địa phương cho một hệ sinh thái bền vững, khỏe mạnh, giảm xói mòn, sâu bệnh và ô nhiễm. Cộng đồng và nông dân hưởng lợi từ bảo tồn nguồn gen như trên, bên cạnh nguồn gen còn đảm bảo an ninh lương thực, sản xuất và phát triển bền vững, tăng thu nhập và duy trì di sản cộng đồng. Với những lợi ích to lớn đó, mỗi quốc gia cần quan tâm phương pháp bảo tồn trên trang trại như bảo tồn tài sản quốc gia, điều kiện cho phát triển đất nước bền vững.

Những bên tham gia cùng xây dựng các văn bản, quy chế, quy định liên quan đến hợp tác bảo tồn, cấp quốc tế các quốc gia và tổ chức quốc tế tham gia vào công ước bảo tồn tài nguyên di truyền, cấp quốc gia là các văn bản luật pháp, nghị định, thông tư hướng dẫn, quyết định cấp địa phương là các quy định, hợp đồng, hương ước. Các văn bản đảm bảo minh bạch, công bằng và có hiệu lực trong thực tế.

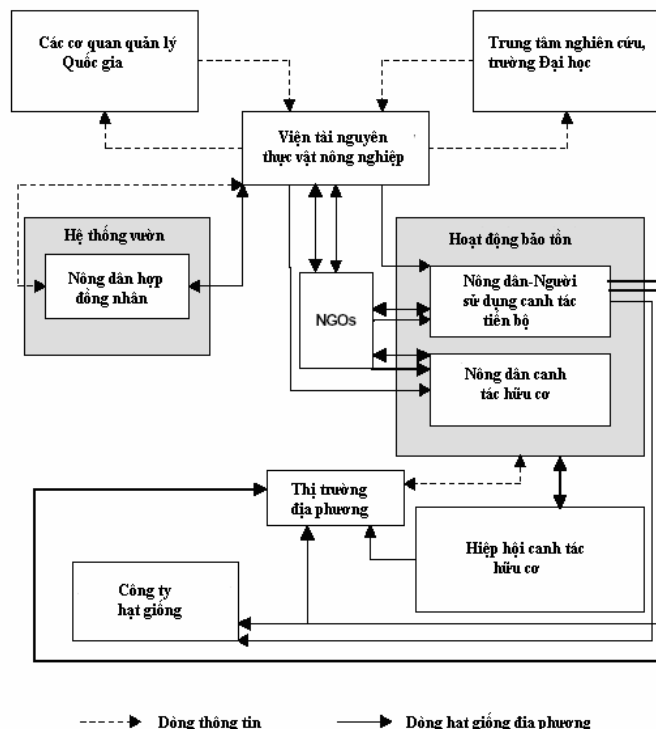
Xây dựng dự án bảo tồn các cấp để tăng hiệu quả bảo tồn, các loại dự án gồm dự án cấp Quốc gia, cấp tỉnh, cấp huyện và cấp cộng đồng. Hình thức dự án huy động được nhiều nguồn lực tham gia bảo tồn trên trang trại. Các dự án hoạt động theo tiến trình như minh họa trong hình 3-7 và 3-8

Sơ đồ chỉ ra vai trò chính của nhóm địa phương và nhóm Quốc gia, thực chất cả hai nhóm tham gia vào tất cả các tiến trình, trong một nhóm đa ngành có sự tham gia của tất cả các bên có liên quan đó cũng là phương pháp tiếp cận của phương pháp bảo tồn trên trang trại có hiệu quả. Một phương pháp tiếp cận lập kế hoạch các dự án bảo tồn trên trang trại và phân tích toàn bộ chu kỳ dự án do người Đức đề xuất gọi là “ Lập kế hoạch dự án theo hướng mục tiêu (ZOPP- Objectives -Oriented Project Planning).

Lập kế hoạch bảo tồn có sự tham gia của đa ngành ở cấp Quốc gia, tỉnh và huyện và cấp cộng đồng. Nhóm liên ngành cần có sự tham gia của cân bằng về giới nam và phụ nữ, tuổi tác, dân tộc... tăng cường sự tham gia và ra quyết định của các bên có liên quan.



Hình 3-7 : Tiến trình, hoạt động và trách nhiệm chính của các bên liên quan trong bảo tồn trên trang trại



Hình 3-8 : Mạng lưới bảo tồn trên trang trại ở Hungary
 Nguồn: D.I.Javis và cộng sự ,2000

+ **Tăng cường năng lực mạng lưới bảo tồn trên trang trại thông qua tập huấn**

Nhiệm vụ đào tạo xây dựng năng lực cho tất cả các bên có liên quan tham gia bảo tồn trên trang trại là một yếu tố quyết định cho bảo tồn thành công. Mạng lưới Quốc gia tham gia của nhiều ngành vào lĩnh vực đào tạo, tập huấn để thống nhất phương pháp và kỹ thuật bảo tồn, mạng lưới hoạt động lâu dài cần nguồn nhân lực chất lượng. Đào tạo mạng lưới Quốc gia ở nhiều trình độ khác nhau như kỹ thuật viên, đại học và trên đại học và nhiều lĩnh vực như thực vật học, cây trồng, di truyền, công nghệ sinh học, sinh thái, xã hội, sinh thái, địa lý sinh thái, bảo tồn sinh học, kinh tế...

Đối với cộng đồng những kiến thức tập huấn là những kiến thức thiết thực cụ thể như kỹ thuật trồng trọt, thu hoạch, tồn trữ, thị trường, lập kế hoạch bảo tồn. Các khóa tập huấn ngắn, phương pháp tập huấn có sự tham gia cần áp dụng trong các khóa tập huấn cho nông dân và cán bộ cộng đồng

3.3.9 Kỹ thuật bảo tồn trên trang trại

+ **Các bước thực hiện** : kỹ thuật bảo tồn trên trang trại đã được mô tả kỹ ở các phần, tóm tắt các bước thực hiện:

- Khảo sát chọn điểm
- Chọn hộ
- Gieo trồng
- Quản lý ruộng sản xuất
- Thu hoạch bảo quản

Bước 1: Chọn điểm, chuẩn bị và phương pháp tiếp cận có sự tham gia khi bảo tồn trên trang trại

Kỹ thuật tham gia có sự tham gia trong suốt quá trình từ khi chuẩn bị đến thực hiện bảo tồn bao gồm những kỹ thuật chủ yếu là: (1) Phỏng vấn thu thập những thông tin cơ bản về điều kiện tự nhiên, kinh tế xã hội và nhận biết cây trồng mục tiêu và tập trung vào thảo luận nhóm; (2) Vẽ bản đồ giải thửa, bản đồ sinh thái, bản đồ phân bố, sơ đồ mặt cắt có sự tham gia; (3) Lịch thời vụ gieo trồng, chăm sóc, thu hoạch; (4) Khảo sát thực địa đánh giá, thu thập số liệu.

Những bước cơ bản của một chương trình bảo tồn trên trang trại được trình bày trên, tuy nhiên không có một mô hình cứng nhắc mà sử dụng kỹ thuật, phương pháp mềm dẻo phù hợp với điều kiện và tình huống cụ thể của từng địa phương:

- Nhận biết cây trồng quan trọng cần bảo tồn
- Nghiên cứu các nguồn thông tin hiện có
- Tập huấn cho nhóm nghiên cứu địa phương
- Xác định các tiêu chí chọn điểm
- Khảo sát để thu thập thông tin chung
- Thảo luận và quyết định điểm bảo tồn
- Nâng cao nhận thức cộng đồng
- Chọn mẫu và phương thức thu thập số liệu

a) Nhận biết loài cây trồng mục tiêu

Loài cây trồng mục tiêu bảo tồn trên trang trại nhận biết như mục tiêu bảo tồn Quốc gia (bảo tồn quá trình tiến hóa và thích nghi của loài cây trồng, cải thiện sinh kế của nông dân...), chọn cây trồng mục tiêu có thể dựa trên một số tiêu chí sau:

Mức độ quan trọng đối với sinh kế của địa phương

Mức độ quan trọng với chương trình tạo giống quốc gia

Mức độ quan trọng với an ninh lương thực trong tương lai
Mức độ quan trọng với tiêu dùng và thương mại sản phẩm nông nghiệp
Mức độ quan trọng với đa dạng sinh học cao, nguồn gen đặc hữu của Quốc gia
Mức độ hiếm và dễ tổn thương của nguồn gen

Ngoài mục tiêu bảo tồn đa dạng tại các cấp, cần có phương pháp kế thừa hệ sinh thái trong bảo tồn, như vậy có thể hướng đến nhận biết đầy đủ các loài mục tiêu cùng với cạnh tác trong hệ sinh thái.

b) Nghiên cứu số liệu, tài liệu thứ cấp

Nghiên cứu số liệu bắt đầu với những số liệu thứ cấp như bản đồ, báo cáo hàng năm, báo cáo thống kê, những kết quả nghiên cứu trước đó và nguồn thông tin khác. Liệt kê mô tả những dạng quan trọng, biến động kiểu hình của chúng, diện tích và giá trị kinh tế. Nguồn thông tin thứ cấp này có thể thu thập tại:

Cơ sở dữ liệu của bảo tồn *Ex situ* nguồn gen thu thập: nhận biết các mẫu nguồn gen tiềm năng của loài cây trồng. Mỗi số liệu ban đầu khi thu thập có thể cung cấp thông tin biến động kiểu hình, tên địa phương, dạng sử dụng, phạm vi địa lý, thông tin sinh thái địa lý gồm độ cao, độ dốc... và những thông tin khác ở cơ sở dữ liệu Quốc gia và Quốc tế

Thu thập thông tin tại phòng lưu trữ mẫu: thu thập thông tin về tập tính tự nhiên, phân bố và đa dạng di truyền của các loài, loài hoang dại, họ hàng hoang dại đặc thù, quan sát ghi nhận, nhìn nhận và phân tích sâu đặc điểm thực vật học và dân tộc các mẫu quan sát

Những xuất bản phẩm khoa học tự nhiên và xã hội: tiếp cận thông tin này qua hệ thống cơ sở dữ liệu của các cơ quan nghiên cứu trong nước và tổ chức quốc tế như FAO, USDA và IPGRI

Thông tin từ các báo cáo của Chính phủ hay cơ quan phát triển, báo cáo có thể cung cấp những thông tin về cây trồng địa phương và hệ thống canh tác. Những báo cáo của Bộ Nông nghiệp và PTNT, Bộ KHCN và Bộ Tài nguyên và Môi trường đã xuất bản hoặc chưa xuất bản có trong hệ thống dữ liệu hoặc lưu trong những cơ quan chuyên trách, trung tâm thông tin của các Bộ, ngành, cơ quan quản lý và cơ quan nghiên cứu

Thu thập thông tin qua các chuyên gia của các tổ chức công lập hoặc tổ chức phi chính phủ (NGO), các chuyên gia và tổ chức NGO có kinh nghiệm và kiến thức địa phương trong quá trình làm việc tại cộng đồng.

c) Xác định tiêu chí chọn điểm

Xây dựng tiêu chí chọn điểm và nông dân thực hiện bảo tồn gắn với các yếu tố biến động có ý nghĩa của đa dạng di truyền như yếu tố kinh tế, xã hội, văn hóa (các dân tộc khác nhau sẽ khác nhau về quy mô sử dụng đất, mật độ dân số, hệ thống tưới, thị trường sản phẩm và lao động) và sinh thái nông nghiệp. Tiêu chí chọn điểm đảm bảo chọn được nông dân điển hình, khu ruộng bảo tồn điển hình cho bảo tồn. Địa phương khác nhau có tiêu chí chọn điểm và hộ nông dân bảo tồn khác nhau. Ngoài ra tiêu chí chọn điểm cũng xem xét các yếu tố sinh thái và địa lý đặc thù

d) Khảo sát chuẩn đoán

Khảo sát chuẩn đoán là bước tiếp theo sau khi nghiên cứu tài liệu thứ cấp, phương pháp khảo sát chuẩn đoán sử dụng công cụ RRA (Rapid Rural Appraisal), PRA (Participatory Rural Appraisal) hoặc phương pháp tiếp cận tương tự RPDE (rapid participatory diagnostic exercise). Khảo sát cung cấp thông tin cơ bản của điểm bảo tồn trong vùng mục tiêu về thực trạng sinh thái nông nghiệp và kinh tế xã hội, mức độ đa dạng nguồn gen mục tiêu và những đặc điểm cho nghiên cứu, trên cơ sở khảo sát xây dựng chiến lược bảo tồn phù hợp. Đa dạng nguồn gen mục tiêu có thể xác định bằng số giống theo tên địa phương là một trong những mục tiêu khảo sát chuẩn đoán. Những nguồn gen này được điều chỉnh và phân tích chính xác về đặc điểm di truyền sau khi nghiên cứu chi tiết sau đó. Các mức của tất cả các

yếu tố cần được ghi nhận như mật độ dân số, giao thông, khả năng tiếp cận thị trường, diện tích có tưới chủ động, diện tích canh tác nhờ nước trời, biến động độ cao và loại đất, mức độ quan trọng của sản xuất trồng trọt đến thu nhập và sinh kế của nông hộ, phân trăm thay đổi nền di truyền cơ bản, các tiêu chí khác của quốc gia và vùng quan tâm...

e) Nâng cao nhận thức cộng đồng

Truyền thông về dự án bảo tồn trên trang trại nên thực hiện trong quá trình khảo sát, các hoạt động của nông dân liên quan đến bảo tồn nhằm giúp cộng đồng nắm được mục đích, nội dung và thời gian, họ tham gia tích cực và đầy đủ vào quá trình khảo sát và thực hiện bảo tồn. Hoạt động truyền thông có thể bắt đầu trên nền tảng hợp tác giữa cộng đồng canh tác với chương trình bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật quốc gia, sự hợp tác với cộng đồng là cơ sở bền vững bảo tồn trên trang trại gồm cả nghiên cứu và giám sát dài hạn

Hoạt động nâng cao nhận thức cộng đồng cho dự án bảo tồn trên trang trại có thể tập trung vào đào tạo nông dân, tuyên truyền về giá trị của đa dạng cây trồng địa phương, xây dựng tự hào về kiến thức bản địa về canh tác giống địa phương của người dân. Các hoạt động phụ thuộc vào những cộng đồng cụ thể. Ví dụ tổ chức mít tinh, hội họp thôn bản để truyền thông hoặc hội chợ các giống đặc sản địa phương...

f) Tiếp cận có sự tham gia

Nghiên cứu để bảo tồn trên trang trại thực hiện trên cơ sở tiếp cận có sự tham gia tại tất cả các bước của quá trình bảo tồn. Nghiên cứu có sự tham gia nhấn mạnh các nhà nghiên cứu và các bên tham gia cùng nhau học tập, chia sẻ kiến thức, kinh nghiệm. Sử dụng phương pháp có sự tham gia có thể nằm trong quá trình nghiên cứu và kiến thức kinh tế, xã hội, sinh thái nông nghiệp, cây trồng, quản lý hạt giống, đặc điểm nguồn gốc các giống của nông dân để đưa vào dữ liệu của dự án. Một phương pháp tiếp cận thăm dò là không trên cơ sở những giả thuyết ban đầu, vì nó không đưa ra những dự đoán ban đầu hoặc nhóm các loại khác nhau hoặc lý do dưới kiến thức của nông dân và nông dân có khả năng đưa ra giá trị và tiêu chuẩn xác định của chính họ vào quá trình nghiên cứu. Các kỹ thuật cấu trúc cho phép thu thập các số liệu định lượng, bán cấu trúc để suy ra số liệu định tính

Tập trung: phương pháp tham gia áp dụng tốt nhất khi tập trung vào những số liệu nghiên cứu mong muốn trong một giới hạn cho nhu cầu bảo tồn trên trang trại. Phạm vi số liệu nhằm giúp nắm rõ hơn các điều kiện của địa phương, những số liệu quá xa với phạm vi nghiên cứu thì không cần thiết để giảm bớt chi phí và thời gian.

Linh hoạt: nghiên cứu có thể thay đổi thích nghi với những điều kiện thay đổi cũng như những tình huống không lường trước hoặc trái ngược là một yêu cầu chất lượng của phương pháp tiếp cận có sự tham gia... Phương pháp này áp dụng với toàn bộ thiết kế nghiên cứu cũng như quá trình phát triển kỹ thuật đặc thù và ứng dụng kết hợp chúng trong quá trình tham gia

Kỹ thuật trùng khớp: phương pháp tham gia hiệu quả nhất khi các kỹ thuật khác nhau thu thập số liệu giống nhau ở mức thu thập ít nhất. Điều này rất quan trọng để nhìn nhận phạm vi rộng cũng là để kiểm tra chéo kết quả nghiên cứu bảo tồn

Sự hợp tác: sự chuẩn bị thực hiện nghiên cứu sẽ nhận được sự hỗ trợ đầy đủ của cộng đồng địa phương, như vậy thuận lợi hơn và ít gặp những vấn đề khó khăn trong quá trình nghiên cứu. Sự hợp tác có thể từng phần, từng giai đoạn của quá trình nghiên cứu có sự hỗ trợ tích cực của các cơ quan và cộng đồng địa phương. Đồng thời phát triển ý thức học tập lẫn nhau giữa các cán bộ nghiên cứu và những người tham gia.

Chia sẻ : cán bộ nghiên cứu thiết kế dựa trên nhu cầu của địa phương, kết quả nghiên cứu lại trở lại phục vụ các nhu cầu của nhân dân địa phương đó.

g) Kỹ thuật thực hiện có sự tham gia trong bảo tồn trên trang trại

Những kỹ thuật có lợi cho nghiên cứu có sự tham gia nghiên cứu bảo tồn trên trang trại phát triển thông qua PRA hoặc RRA. Đây là những phương pháp sử dụng khảo sát thông tin, cả hai phương pháp đề nhấn mạnh và khả năng tham gia nghiên cứu. Hiện nay đã có nhiều cải tiến cho phương pháp, nhưng khác biệt là RRA học từ bên ngoài trong khi PRA phân tích và hoạt động từ những vấn đề trong nội bộ. Những kỹ thuật tham gia chủ yếu là:

- Phỏng vấn thông tin chìa khóa
- Tập trung vào thảo luận nhóm
- Kỹ thuật lập bản đồ không gian, địa hình
- Thực hành tương quan ma trận
- Lịch thời vụ
- Sơ đồ mặt cắt

Phỏng vấn thông tin chìa khóa

Phỏng vấn thu thập thông tin chìa khóa (Key Information Person) đôi khi coi là phỏng vấn thu thập thông tin sâu hoặc phỏng vấn dòng tự do, thường do một cán bộ nghiên cứu thực hiện với một số người am hiểu sâu về vấn đề đó trong cộng đồng tại thời điểm phỏng vấn. Phỏng vấn này mục đích khai thác kiến thức của một cá nhân am hiểu về cây trồng, kỹ thuật canh tác phục vụ bảo tồn, do vậy thông tin chìa khóa thực hiện với từng người với những kiến thức và lĩnh vực đặc thù. Người am hiểu của cộng đồng thường là người lớn tuổi, hoặc những cá nhân uy tín và kinh nghiệm, già làng, trưởng bản. Thảo luận nhóm cũng là công cụ hỗ trợ hữu ích cho thu thập thông tin phỏng vấn chìa khóa. Phỏng vấn nhóm KIP có thể trở thành bán cấu trúc khi sử dụng bản liệt kê của chủ đề thảo luận, hoặc ngay cả những câu hỏi quá chuẩn mực. Điều này giúp cải thiện và so sánh với các số liệu phỏng vấn khác, nhưng vẫn cho phép mỗi cá nhân cung cấp những thông tin sâu theo kiến thức và quan điểm của họ.

Sử dụng công cụ phỏng vấn trong công tác chuẩn bị cho bảo tồn trên trang trại tập trung vào phỏng vấn để thu thập các thông tin chính sau:

- Điều kiện sinh thái địa phương: đất đai, khí hậu, nguồn nước
- Tình trạng nguồn gen: số lượng, vai trò của nó đối với người dân địa phương...
- Đặc điểm của nguồn gen: cao cây, sinh trưởng, chống chịu, năng suất và diễn biến năng suất qua các năm
- Lịch sử nguồn gen: sử dụng ở địa phương khi nào? những đặc điểm nhận biết, ưu điểm và nhược điểm của nguồn gen
- Tập quán canh tác nguồn gen của người dân.
- Những khó khăn khi bảo tồn và giải pháp khắc phục

Thảo luận nhóm

Thảo luận nhóm hay phỏng vấn nhóm liên quan đến số người tham dự thảo luận, số người tùy theo điều kiện địa phương nhưng không nên dưới 5 và không vượt quá 20 người. Trong thảo luận nhóm cán bộ thu thập và bảo tồn là cán bộ thúc đẩy thảo luận nhóm (Facilitator). Thảo luận nhóm thường thảo luận bán cấu trúc với một chủ đề đặc thù nào đó, các chủ đề được dự kiến và lên kế hoạch trước để nâng cao hiệu quả buổi thảo luận. Trong quá trình thảo luận nhóm cần khuyến khích và tạo cơ hội tham gia ý kiến của tất cả các thành viên của nhóm. Kết quả thảo luận quan trọng là thu được thông tin chi tiết và rộng về dòng bảo tồn và những thông tin thu được là cơ sở dữ liệu quan trọng xây dựng kế hoạch, kỹ thuật bảo tồn.

Thành phần thảo luận nhóm rất khác nhau đối với mỗi địa phương và nguồn gen cụ thể, thường thành phần tham gia thảo luận nhóm gồm lãnh đạo cộng đồng, những người có

uy tín trong cộng đồng, nông dân và cán bộ kỹ thuật bảo tồn và một nhóm nông dân 15 – 30 người. Ví dụ nếu bảo tồn giống lúa thảo luana nhóm phụ nữ sẽ hiệu quả hơn nam, nhưng nếu bảo tồn giống cây ăn quả thảo luana nhóm nam có thể hiệu quả hơn nhóm nữ...

Sử dụng công cụ này trong bảo tồn nguồn gen trên trang trại tập trung vào các chủ đề liên quan đến bảo tồn nguồn gen gồm:

- Thu thập thông tin chung về nguồn gen
- Xác định nguồn gen cần bảo tồn
- Xác định và chọn điểm bảo tồn, chọn hộ thực hiện bảo tồn
- Kế hoạch bảo tồn
- Kỹ thuật bảo tồn
- Trách nhiệm mỗi cá nhân và cộng đồng.

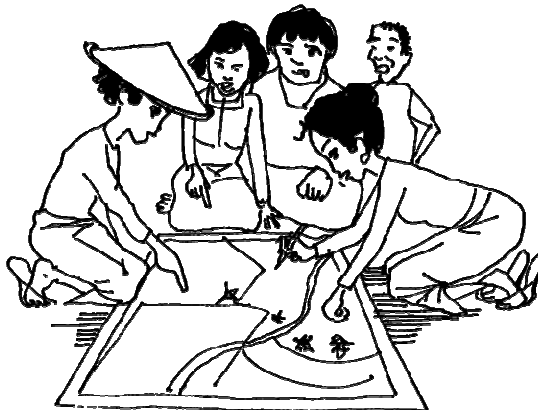


Hình 3-9 : Nhóm phụ nữ lập kế hoạch bảo tồn

Vẽ sơ đồ không gian và sơ đồ lát cắt phục vụ bảo tồn

- Các bản đồ không gian về các hộ và khu ruộng của họ trong thôn/bản
- Nhóm nông dân phân bố trong khu vực
- Các hoạt động nông nghiệp đặc thù ở mỗi khu vực
- Các giống địa phương khác nhau giữa các ruộng và cả khu đồng
- Phân bố nguồn tài nguyên (như các loại đất...)

Vẽ sơ đồ sử dụng trong bảo tồn trên nông trại cũng nhằm chọn điểm, chọn hộ bảo tồn phù hợp nhất với nguồn gen và cộng đồng. Ví dụ nguồn gen đó thích nghi với điều kiện nước trời, thông qua sơ đồ có thể chọn địa điểm phù hợp nhất. Vị trí thực hiện bảo tồn trên đất dốc hoặc ruộng bậc thang nhưng không có nguồn nước và hệ thống tưới...

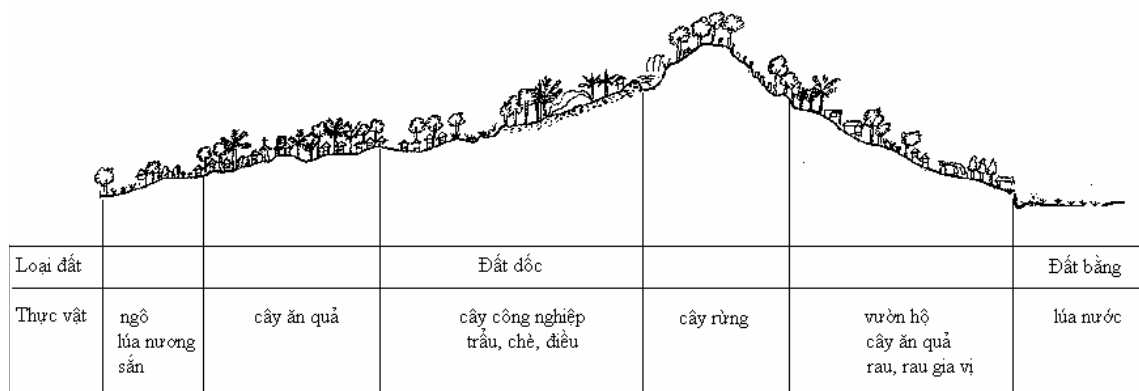


Hình 3-10: Vẽ sơ đồ không gian về hộ và khu ruộng sản xuất

Vẽ sơ đồ thôn bản có sự tham gia cần có kỹ thuật trợ giúp nhóm nông dân thực hiện với bắt đầu từ những vật, công trình cố định như con đường chính trong khu vực sau đó phát triển từng phần và hoàn thiện. Những địa phương mà trình độ văn hóa thấp có thể sử dụng các vật liệu như cành cây, lá, đá, sỏi... để biểu diễn những khu nhà, vườn, đường, khu ruộng, sông, suối... Sau khi nhóm nông dân xếp hoàn thiện cán bộ trợ giúp hoàn thiện sơ đồ không gian bằng mực lên giấy A0. Sơ đồ bảo tồn là một tài liệu được đưa vào cơ sở dữ liệu phục vụ quản lý, đánh giá, kiểm tra và sử dụng nguồn gen

Ngoài sơ đồ không gian sơ đồ lát cắt thôn bản có thể bổ sung thông tin chi tiết về địa hình, các loại đất và cây trồng trong khu vực thôn bản. Dựa trên sơ đồ mặt cắt sẽ chọn được vị trí bảo tồn phù hợp nhất. Ví dụ bảo tồn giống lúa cận địa phương không thể bảo tồn khu vực có tưới, nơi nông dân đang gieo trồng các giống lúa cải tiến Q5 và Khang dân. Bởi vì giống địa phương không cùng thời gian sinh trưởng, sâu bệnh tập trung gây hại, giống địa phương năng suất thấp nông dân sẽ không chấp nhận gieo trồng ở những ruộng có khả năng thâm canh để thu được năng suất cao.

Minh họa ở sơ đồ sau:



Hình 3-11: Sơ đồ lát cắt thôn lương năng xã hoá sơn, huyện tuyên hoá Quảng Bình

Phân tích quan hệ ma trận

Phân tích tương quan là phân loại các chỉ tiêu có mối quan hệ với nhau như lựa chọn giống, hạt giống. Trên cơ sở phân tích ma trận xác định giống cây trồng mục tiêu, nguồn cung cấp hạt giống và các kỹ thuật cho bảo tồn

- Các bước thực hiện có thể thực hiện:

- Hỏi nông dân để họ liệt kê các giống địa phương của họ đang gieo trồng
- Viết tên giống ở một cột trong một bảng,
- Các cột khác là các tiêu chí đánh giá hay lựa chọn của thành viên nhóm, chỉ tiêu để xếp loại có thể rất lớn nhưng quá trình thảo luận chỉ nên tập trung vào một số tiêu chí quan trọng cho bảo tồn như: Diện tích trồng, năng suất, chất lượng, chống chịu, giá bán....
- Thảo luận nhóm từ tiêu chí, hết tiêu chí này mới chuyển sang cột tiêu chí khác
- Công việc phân tích ma trận cần sự trợ giúp của cán bộ kỹ thuật và cán bộ quản lý

Kết quả phân tích đưa ra quyết định thực hiện bảo tồn giống nào trong thời gian đó, số lượng, kế hoạch chi tiết...những kết quả cuối cùng này phải thống nhất với các thành viên của nhóm thảo luận.

Bảng 3-2 : Sự xếp loại thực hiện từ tốt nhất đến kém nhất, ví dụ xếp loại 6 giống địa phương trên 4 tiêu chí

Giống	Diện tích trồng	Năng suất	Chất lượng	Mức độ ưa thích
Giống A	3	3	1	3
Giống B	2	1	4	2
Giống C	1	2	3	1
Giống D	4	6	2	4
Giống E	6	5	6	6
Giống F	5	4	5	5

Sau khi phân tích ma trận như ví dụ trên đã nhận biết giống E và F là những giống cần bảo tồn

Lịch thời vụ:

Nhóm nông dân thảo luận lịch gieo trồng, chăm sóc và thu hoạch diễn biến trong năm, có thể kẻ bảng các tháng trong năm trước, sau đó thảo luận và xác định lịch thời vụ cho từng giống, từng khu vực. Kỹ thuật xác định lịch thời vụ là một kỹ thuật thu thập thông tin xây dựng quy trình kỹ thuật bảo tồn cho mỗi nguồn gen phù hợp với điều kiện sinh thái địa phương

Ví dụ : Mùa vụ gieo trồng giống lúa địa phương ngộ pe trên nương của người Mông, Điện Biên khi thảo luận nhóm thu được sơ đồ mùa vụ gieo trồng như sau

Hoạt động	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Chuẩn bị đất												
Gieo trồng												
Chăm sóc												
Thu hoạch												

Công cụ thăm thực địa

Đi thực địa là cần thiết để quan sát thực tế, bổ sung và điều chỉnh bản đồ, sơ đồ mặt cắt cũng như các thông tin khác đã thu thập. Phương pháp đi ngang qua khu vực khảo sát theo một số chiều khác nhau, hướng đi thảo luận với nhóm nông dân trước để đảm bảo rằng cắt qua tất cả các địa hình, điều kiện sinh thái của điểm, ruộng đã xác định thực hiện gieo trồng bảo tồn.



Hình 3-12: Cán bộ bảo tồn và nhóm nông dân đi khảo sát thực địa khu vực gieo trồng bảo tồn nguồn gen

Khảo sát thực địa ghi nhận những nhóm thông tin quan trọng sau:

- Đất và hệ động thực vật
- Độ dốc
- Nguồn nước

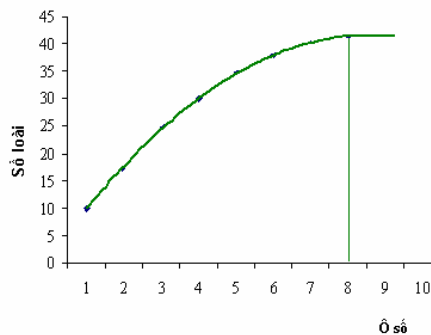
- Đa dạng cây trồng
- Tình trạng đất và sử dụng

3.3.10 Lấy mẫu thu thập thông tin phục vụ bảo tồn trên trang trại

Lấy mẫu phù hợp đại diện sẽ phản ánh sát thực cho tình trạng điểm nghiên cứu bảo tồn, tuy nhiên để đại diện cho đa dạng các yếu tố môi trường, nguồn gen và con người khu vực nghiên cứu không đơn giản. Chiến lược lấy mẫu đảm bảo nguồn tài nguyên theo nhu cầu và phục vụ cho nghiên cứu khoa học

Cỡ mẫu cần được xác định bao nhiêu hộ, bao nhiêu ô và loài cây trồng, nó phụ thuộc vào mức độ biến động giữa các mẫu, biến động lớn số mẫu nhiều hơn và biến động nhỏ và đồng nhất số mẫu cần nhỏ hơn. Biến động của các mẫu lại phụ thuộc vào đặc điểm nông hộ, loại đất của ruộng nghiên cứu và quần thể mẫu nguồn gen.

Các nhà sinh thái thực vật sử dụng phương pháp đường cong phân bố (species-area curve) để xác định cỡ mẫu tối thiểu và số mẫu đại diện cho một quần thể. Một đường cong được tạo ra do lấy mẫu diện tích trong hệ thống của các ô phân tử, các ô này càng lớn sẽ được xếp lên trên một mặt phẳng, như vậy mỗi ô sau bao gồm tất cả các ô trước đó (Barbour và cộng sự, 1987). Sau một điểm xác định còn rất ít loài mới được tìm thấy trong ô tiếp theo sẽ là số mẫu cần lấy.



Hình 3-13 : Số mẫu cần trong trường hợp này là 8 mẫu

Ngoài ra, có các phương pháp lấy mẫu khác như phương pháp lấy mẫu của các nhà xã hội học, thường lấy 5 - 10% số hộ trong thôn bản. Lấy mẫu ngẫu nhiên nhiều điểm trong toàn bộ khu vực. Lấy mẫu hệ thống là lấy mẫu tuần tự theo khoảng không gian hoặc theo thời gian đều nhau, phương pháp này có tiến bộ là tránh trùng lặp, tuy nhiên đôi khi không đại diện hết và phụ thuộc vào chủ quan của người lấy mẫu. Phương pháp lấy ngẫu nhiên có thể loại ý muốn chủ quan và nhận được phạm vi và mức độ cao nhất của các yếu tố sinh học và phi sinh học đến đa dạng nguồn gen. Một phương pháp lấy mẫu tiến bộ khác là lấy mẫu ngẫu nhiên phân lớp (Stratified Random Sampling) phương pháp này chia toàn bộ khu vực thành các khu vực nhỏ, trong một khu vực nhỏ sẽ khá đồng nhất, sau đó lấy ngẫu nhiên trong từng khu vực nhỏ đã phân chia bố trí điểm bảo tồn.

Lấy mẫu đa yếu tố biến động ví dụ trong xã có 1000 hộ được chọn tham gia nghiên cứu bảo tồn, nếu lấy mẫu 10% đại diện biến động về kinh tế xã hội là 100 hộ, mỗi hộ trồng bảo tồn 4 nguồn gen mục tiêu, mỗi nguồn gen có 3 mẫu giống được trồng trên 3 thửa ruộng khác nhau về đất và địa hình, mỗi giống tối thiểu lấy 30 mẫu đại diện cho quần thể

Tổng số mẫu = $100 \times 4 \times 3 \times 30 = 36.000$, số mẫu đưa vào phân tích với số lượng quá lớn. Như vậy lấy mẫu ngẫu nhiên đại diện cho các yếu tố biến động là cần thiết đảm bảo đại diện và giảm bớt số lượng mẫu.

Bảo tồn trên trang trại đa dạng nguồn gen còn bị ảnh hưởng bởi quá trình di truyền, kinh tế xã hội và hệ sinh thái nông nghiệp. Các yếu tố ảnh hưởng thay đổi số yếu tố hay tỷ

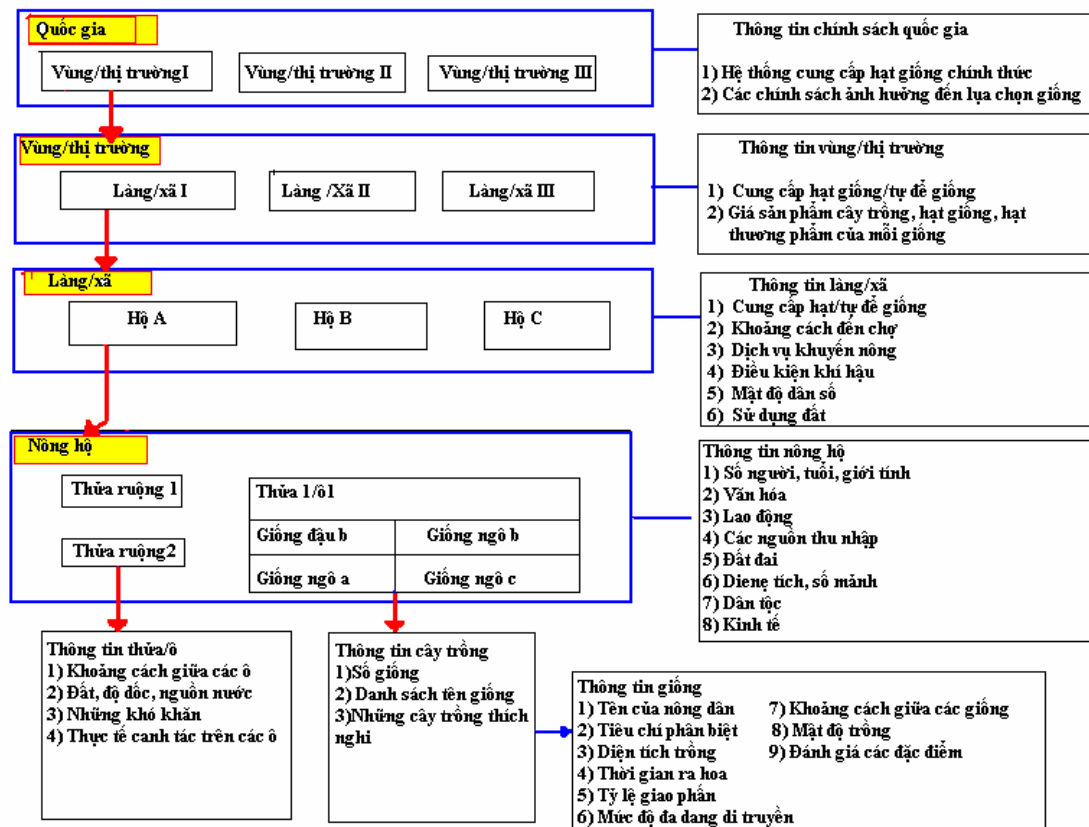
lệ giữa các yếu tố qua thời gian. Một số yếu tố là ổn định không thay đổi theo thời gian như đất, khí hậu, lượng mưa..., nhưng một số yếu tố thay đổi rất nhanh ví dụ như thị trường.

Khi bảo tồn trên trang trại phải có những nghiên cứu về thay đổi như thế nào của các yếu tố và ảnh hưởng của nó đến đa dạng di truyền. Lấy mẫu nghiên cứu qua thời gian phụ thuộc vào loài cây trồng (cây hàng năm hay lâu năm) và ảnh hưởng của các yếu tố đến dạng di truyền của mỗi loài này qua thời gian. Khi lấy mẫu qua thời gian, phân tích số liệu thu được bằng phương pháp phân tích chuỗi thời gian (Time-series analysis) của Kendall và Ord, 1990. Phương pháp phân tích này dựa trên cơ sở có thể xác định được biến động khi các quan sát là liên tục theo khoảng thời gian như nhau, hệ số tự tương quan để xác định tương đồng khi đo ở các khoảng thời gian riêng rẽ và hệ số tương quan chéo để so sánh các số liệu biến động.

3.3.11 Thu thập và thiết lập thông tin phục vụ cho bảo tồn In situ trên trang trại.

Nhóm thông tin cần thu thập phục vụ bảo tồn gồm:

- Số lượng và phân bố của đa dạng di truyền sẽ đưa vào bảo tồn trang trại
- Quá trình sẽ sử dụng duy trì đa dạng



Hình 3-14 Mô hình thu thập thông tin phục vụ bảo tồn

- Các yếu tố môi trường, văn hóa, kinh tế, xã hội ảnh hưởng đến nông dân duy trì đa dạng trên trang trại
- Đối tượng duy trì đa dạng: giới tính, tuổi tác, dân tộc, tình trạng kinh tế trong cộng đồng
- Mỗi cấp yêu cầu thu thập thông tin mức độ và loại thông tin khác nhau, từ cấp quốc gia đến vùng, cộng đồng, nông hộ và từng thửa ruộng. Cần mô tả chi tiết từng giống trong quá trình bảo tồn.

3.3.12 Kỹ thuật gieo trồng bảo tồn

Thông tin thu thập được trong quá trình khảo sát trên là cơ sở xây dựng kỹ thuật gieo trồng bảo tồn nguồn gen. Loài cây trồng, nguồn hạt giống, thời vụ gieo trồng và thu hoạch, mật độ gieo trồng. Các biện pháp canh tác khác như lượng phân bón, phòng trừ dịch bệnh, nước tưới, chế biến sau thu hoạch và thị trường tiêu thụ sản phẩm. Như vậy dựa trên thực tế canh tác của người dân, cán bộ nghiên cứu bảo tồn cần có những nghiên cứu khoa học tại địa phương để xây dựng quy trình canh tác phù hợp nhất. Những kỹ thuật cần lưu ý bổ sung, điều chỉnh trong quy trình và hướng dẫn nông dân góp phần nâng cao đa dạng, lợi ích và thu nhập của người bảo tồn

Quy trình kỹ thuật chi tiết bao gồm các phần sau:

- Đặc điểm của địa điểm gieo trồng
- Thời vụ
- Chuẩn bị đất
- Kỹ thuật gieo trồng : hạt giống, mật độ gieo, kỹ thuật gieo trồng
- Lượng phân bón và kỹ thuật bón
- Quản lý ruộng sản xuất : tưới nước, phòng trừ cỏ dại, dịch hại, sâu bệnh
- Kỹ thuật chế biến, tiêu thụ sản phẩm

Những điểm lưu ý khi thực hiện:

- Toàn bộ quá trình sản xuất và quản lý ruộng bảo tồn đều do nông dân thực hiện cho nên xây dựng quy trình phải đầy đủ, đơn giản dễ áp dụng
- Quy trình có khả năng tận dụng được kiến thức và điều kiện địa phương
- Các kỹ thuật giảm chi phí sản xuất và bảo vệ đa dạng như canh tác hữu cơ, quản lý dịch hại tổng hợp IPM hoặc ICM
- Cải tiến khâu thu hoạch, chế biến nâng cao chất lượng sản phẩm đem lại lợi nhuận cao hơn cho nông dân tham gia bảo tồn
- Tập huấn quy trình cho nông dân bảo tồn trước mỗi mùa vụ sản xuất
- Ghi chép theo dõi đơn giản

3.3.13 Thu thập và phân tích thông tin, số liệu trong và sau khi bảo tồn

Tài liệu số lượng và phân bố đa dạng di truyền trên trang trại yêu cầu thông tin về tên giống, cấu trúc di truyền quần thể, loại giống và hệ thống cung cấp hạt giống, hệ thống tạo giống. Bước thu thập thông tin và những phân tích đơn giản ban đầu có sự tham gia của người dân, những phân tích khoa học chuyên sâu được thực hiện trong các cơ quan nghiên cứu và phòng thí nghiệm.

Các bước và thông tin cần xác định

Sử dụng phương pháp có sự tham gia và quan sát trực tiếp trên đồng ruộng, biên soạn danh sách giống địa phương ở các điểm/thôn bản và ghi chú tên chính xác của giống, khuyến khích nông dân không cải tiến nó hoặc khuyến khích và trợ giúp nông dân đăng ký đa dạng sinh học cộng đồng

Lặp lại phương pháp này trong một vài chu kỳ canh tác trên cùng một hộ nông dân, để đảm bảo tất cả các giống họ canh tác đã được ghi nhận những thay đổi qua thời gian

Cùng với nông dân xác định tiêu chí mô tả và nhận biết các giai đoạn khác nhau trong chu kỳ sinh trưởng

Xác định tên và mô tả giống, so sánh với nông dân khác

Nông dân xếp loại giống theo một số tiêu chí quan trọng

Thu nhận những giá trị về kích thước, phân bố trên ruộng hay ô gieo trồng cho mỗi giống, mật độ trồng, khoảng cách giữa các giống, thời gian ra hoa, thu hoạch của các giống

Sử dụng phương pháp có sự tham gia thảo luận xác định nguồn hạt giống và cải tiến nguồn cung cấp hạt giống

Thực hiện thử nghiệm đồng ruộng để đánh giá các đặc điểm của giống cùng với các giống cải tiến trên cả tiêu chí nông học và tiêu chí của nông dân

Thực hiện đánh giá bằng di truyền phân tử và công nghệ sinh học, tính chỉ số đa dạng

Phân tích so sánh giống theo tên của nông dân với xác định nhận biết di truyền (hình thái, công nghệ sinh học, di truyền phân tử)

Kiểm tra và xác định những giống (tên địa phương), giống nhau về di truyền

Tính đa dạng di truyền trung bình của một ruộng, quần thể về mức biến dị di truyền

Xác định đa dạng với kích thước đồng ruộng

Xác định mức độ hiếm của giống

Xác định giống phổ biến địa phương, giống có allele phổ biến lớn nhất

Xác định tương quan giữa tăng đa dạng giống và tăng đa dạng di truyền

Xác định số lượng biến dị của các cây trồng khác có tương quan tương tự hay không?

Phân tích thông tin có sự tham gia của người dân được áp dụng các kỹ thuật và công cụ có sự tham gia như quá trình khảo sát (phân tích xếp loại, phân tích thuận lợi khó khăn, phân tích ma trận, công cụ đánh giá kết quả bảo tồn gồm xây dựng khung logic (logframe), xây dựng các chỉ số số lượng và chỉ số chất lượng đánh giá kết quả và mục tiêu bảo tồn.

3.3.14 Tổng kết và báo cáo bảo tồn

Báo cáo tổng kết và tài liệu hóa bảo tồn trên trang trại thực hiện hàng năm, báo cáo giúp tài liệu hóa, bổ sung cơ sở dữ liệu về nguồn tài nguyên di truyền thực vật trong hệ thống nguồn tài nguyên di truyền thực vật vùng và Quốc gia. Báo cáo cũng là cơ sở cho khai thác, sử dụng và phát triển mở rộng bảo tồn với vùng khác, nguồn gen cây trồng khác. Báo cáo tùy thuộc vào kết quả bảo tồn hàng năm, nhưng những vấn đề cần tổng kết trong báo cáo gồm:

Phương pháp thực hiện: phương pháp chọn điểm, chọn hộ, phương pháp thử nghiệm, quy trình kỹ thuật, danh mục tài nguyên bảo tồn và các đặc điểm cơ bản của mỗi giống.

Một phần rất quan trọng của báo cáo là mức độ đa dạng sau bảo tồn, những biến dị mới xuất hiện trong quá trình bảo tồn trên trang trại.

Phân tích hiệu quả của bảo tồn: hiệu quả với đa dạng, hiệu quả môi trường và hiệu quả kinh tế - xã hội. Phân tích hiệu quả kinh tế cần ứng dụng nhưng phương pháp phân tích đơn giản như tính thu nhập, lợi nhuận trên yếu tố giới hạn RAVC, tỷ suất lợi nhuận.

Báo cáo ngoài cung cấp cho cơ quan nghiên cứu, các nhà môi trường, các nhà bảo tồn nhưng đặc biệt quan trọng đây là nguồn thông tin phản hồi lại cho người dân và cộng đồng địa phương.

3.3.15 Nâng cao lợi ích của người dân thực hiện bảo tồn

Bảo tồn *In situ* trên trang trại bền vững phụ thuộc vào lợi ích người nông dân thu được khi thực hiện bảo tồn, có nhiều giải pháp nâng cao lợi ích cho người nông dân thực hiện bảo tồn, tùy điều kiện mỗi quốc gia mỗi địa phương áp dụng

- Nâng cao lợi nhuận thuần trong bảo tồn bằng các giải pháp kỹ thuật để giảm chi phí đầu vào của quá trình sản xuất.
- Điều tiết của nhà nước qua chính sách thuế và hệ thống cung cấp đầu vào cho sản xuất như giống, phân bón, thuốc trừ sâu, thủy lợi và chính sách khác
- Cải tiến giống địa phương để tăng năng suất và tăng lợi nhuận như chọn lọc nâng cao độ thuần trong trường hợp giống thoái hóa
- Người dân tham gia vào hệ thống quản lý hạt giống và quá trình chọn tạo giống, nông dân được tham gia vào mạng lưới cung cấp hạt giống quốc gia và vùng
- Người nông dân cần được thu lợi nhuận từ hiệu quả hệ sinh thái nông nghiệp và môi trường chung của vùng và cộng đồng

- Đăng ký bản quyền đa dạng sinh học cộng đồng và ngân hàng gen, Cơ quan, tổ chức hay cá nhân khi sử dụng nguồn gen phải trả bản quyền cho cộng đồng và người nông dân thực hiện bảo tồn
- Đăng ký thương hiệu hàng hóa, mở rộng và khuyến khích thị trường tiêu thụ
- Hỗ trợ chế biến sau thu hoạch để tăng giá trị sản phẩm, hỗ trợ hình thành khu chế xuất và chế biến nhỏ tại cộng đồng.

Vai trò của của chính sách nông nghiệp và kinh tế quốc gia hỗ trợ hệ thống canh tác duy trì đa dạng nguồn gen bằng hỗ trợ thị trường để nông dân thu được lợi nhuận cao nhất từ sản phẩm bảo tồn, những chính sách của quốc gia có thể điều chỉnh thị trường với các giống địa phương này. Những chính sách hỗ trợ chủ yếu là:

- Chính sách thị trường, giá cả, khuyến khích thị trường tiêu thụ sản phẩm giống cây trồng địa phương, hình thành mạng lưới doanh nhân, khu chế xuất và công nghiệp chế biến nhỏ thông qua chính sách thuế
- Chính sách khoa học công nghệ: hỗ trợ và khuyến khích nghiên cứu bảo tồn
- Chính sách cũng hỗ trợ cải thiện và nâng cao hiệu quả, chất lượng của hệ thống cung cấp hạt giống cây trồng địa phương.
- Chính sách về đất đai cũng có tác dụng khuyến khích bảo tồn trên nông trại, như giảm thuế sử dụng đất nông nghiệp, giao quyền sử dụng và quy hoạch sử dụng đất.
- Chính sách vật tư nông nghiệp như trợ cước, trợ giá với phân bón, hạt giống cây trồng địa phương

3.4 CÁC PHƯƠNG PHÁP BẢO TỒN NỘI VI KHÁC

3.4.1 Khu bảo tồn sinh quyển hoặc khu bảo vệ đa dạng

Nhìn chung, đa dạng sinh học tại mức loài và mức hệ sinh thái chỉ có thể bảo tồn thông qua bảo tồn *In situ* (McNeely, 1996). Có nhiều hình thức như khu bán bảo vệ, khu dự trữ sinh quyển và khu bảo vệ nghiêm ngặt. Phương pháp này sử dụng với khu vực đa dạng sinh thái, đa dạng sinh học và loài còn phong phú, loài đặc hữu, loài quý hiếm, bảo tồn các loài hoang dại, giám sát đa dạng di truyền trong một địa phương cụ thể. Những trở ngại của phương pháp này là khó mô tả, đánh giá và dễ tổn thương nguồn tài nguyên di truyền do tác động của con người, điều kiện bất thuận và dịch hại. Những pháp pháp chủ yếu thực hiện bảo tồn:

- Xây dựng các vườn quốc gia
- Chương trình quản lý tài nguyên di truyền trên cơ sở cộng đồng
- Các trạm trại bảo tồn tại chỗ
- Xây dựng vùng đệm

Việt Nam cũng đã hình thành các vườn quốc gia, khu bảo tồn để bảo tồn đa dạng sinh học, trong đó có bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật. Tính đến 2006 đã có tổng số 30 vườn quốc gia, tổng diện tích 1.166.441 ha, ngoài vườn quốc gia cả nước hiện còn có 78 khu bảo tồn thiên nhiên với tổng diện tích 1,7 triệu ha và 18 khu bảo vệ cảnh quan có diện tích hơn 120.000 ha.

Những khu bảo tồn của Việt Nam cũng chứa đựng nguồn tài nguyên di truyền thực vật phong phú, tham gia bảo tồn, kiểm kê, khai thác và sử dụng nguồn tài nguyên di truyền thực vật ở những khu bảo tồn này có ý nghĩa quan trọng với các nhà nghiên cứu và chọn giống cây trồng. Theo Trần Thế liên 2006, khảo sát, tập hợp thực vật của 3 vườn quốc gia Pù Mát, Phong Nha- Kẻ Bàng và V=Bạch mã đã cho biết có tổng số 4.133 loài thực vật bậc cao của 1.211 chi và 224 họ, so với tổng số loài toàn quốc là 11.373 loài của 2.524 chi và 378 họ. Khảo sát bước đầu VQG Chư Mom Rây (Kon Tum) cho biết có 898 loài thực vật (Trần

Công Hùng, 2002) và ở Khu BTTN Tà Đùng (Đắk Nông) năm 2002 là 839 loài thực vật của 540 chi và 151 họ (Nguyễn Hoàng Tùng, 2002)

Bảng 3-3 : Các vườn quốc gia của Việt Nam

Vùng	TT	Tên vườn	Năm thành lập	Diện tích (ha)	Địa điểm
Trung du và miền núi phía Bắc	1	Hoàng Liên	1996	38.724	Lào Cai
	2	Ba Bể	1992	7.610	Bắc Kạn
	3	Báỉ Tử Long	2001	15.783	Quảng Ninh
	4	Xuân Sơn	2002	15.048	Phú Thọ
	5	Tam Đảo	1986	36.883	Vĩnh Phúc, Thái Nguyên, Tuyên Quang
Đồng bằng Bắc Bộ	6	Ba Vì	1991	6.986	Hà Tây
	7	Cát Bà	1986	15.200	Hải Phòng
	8	Cúc Phương	1994	20.000	Ninh Bình, Thanh Hóa, Hòa Bình
	9	Xuân Thủy	2003	7.100	Nam Định
Bắc Trung Bộ	10	Bến En	1992	16.634	Thanh Hóa
	11	Pù Mát	2001	91.113	Nghệ An
	12	Vũ Quang	2002	55.029	Hà Tĩnh
	13	Phong Nha-Kẻ Bàng	2001	200.000	Quảng Bình
	14	Bạch Mã	1991	22.030	Thừa Thiên-Huế
Nam Trung Bộ	15	Phước Bình	2006	19.814	Ninh Thuận
	16	Núi Chúa	2003	29.865	Ninh Thuận
Tây Nguyên	17	Chư Mom Ray	2002	56.621	Kon Tum
	18	Kon Ka Kinh	2002	41.780	Gia Lai
	19	Yok Đôn	1991	115.545	Đắk Lắk
	20	Chư Yang Sin	2002	58.947	Đắk Lắk
	21	Bidoup Núi Bà	2004	64.800	Lâm Đồng
Đông Nam Bộ	22	Cát Tiên	1992	73.878	Đồng Nai, Lâm Đồng, Bình Phước
	23	Bù Gia Mập	2002	26.032	Bình Phước
	24	Côn Đảo	1993	15.043	Bà Rịa-Vũng Tàu
	25	Lò Gò Xa Mát	2002	18.765	Tây Ninh
Tây Nam Bộ	26	Tràm Chim	1994	7.588	Đồng Tháp
	27	U Minh Thượng	2002	8.053	Kiên Giang
	28	Mũi Cà Mau	2003	41.862	Cà Mau
	29	U Minh Hạ	2006	8.286	Cà Mau
	30	Phú Quốc	2001	31.422	Kiên Giang

Theo Nguyễn Hoàng Nghĩa, Khu vực Miền Trung-Tây nguyên đến nay có 128 khu bảo tồn thiên nhiên, vườn quốc gia, khu dự trữ thiên nhiên, khu bảo tồn loài và sinh cảnh, khu bảo vệ cảnh quan với 2,6 triệu ha (minh họa trong bảng 3-4)

Bảng 3-4: Các khu bảo tồn có nhiệm vụ bảo tồn nội vi nguồn tài nguyên di truyền thực vật

Phân hạng	Số lượng	Diện tích (ha)
I- Vườn Quốc gia	30	1.048.866
II- Khu Bảo tồn thiên nhiên	58	1.327.746
II.1 Khu dự trữ thiên nhiên	48	1.245.021
II.2 Khu bảo tồn loài/sinh cảnh	10	82.455
III. Khu bảo vệ cảnh quan	40	228.898
Tổng	128	2.605.240

Nguồn: Nguyễn Hoàng Nghĩa (2008)

Khu vực miền Trung, Tây Nguyên có 15 vườn quốc gia và diện tích 817.146 ha đang bảo tồn đa dạng sinh học, nguồn tài nguyên di truyền động, thực vật.

Bảng 3-5 : Các vườn Quốc gia Khu vực miền Trung- Tây Nguyên

TT	Tên	Địa phương	Diện tích	Năm thành lập
1	Bến En	Thanh Hóa	16.634	1986/1992
2	Pù Mát	Nghệ An	91.113	1994
3	Vũ Quang	Hà Tĩnh	52.360	1986
4	Phong Nha-Kẻ Bàng	Quảng Bình	116.700	1986
5	Bạch Mã	Thừa Thiên-Huế	22.031	1986/1991
6	Chư Mom Rây	Kon Tum	56.621	1985
7	Kon Ka Kinh	Gia Lai	41.710	1986
8	Chư Yang Sinh	Đắk Lắk	58.947	1986
9	Yordon	Đắk Lắk	115.545	1991
10	Bidoup-Núi Bà	Lâm Đồng	73.912	1986
11	Núi Chúa	Ninh Thuận	35.553	
12	Phước Bình	Ninh Thuận	19.814	
13	Bù Gia Mập	Bình Phước	22.330	1986
14	Cát Tiên	Đồng Nai	73.878	1978/1992
15	Côn Đảo	Bà Rịa-Vũng Tàu	19.998	1984/1993

Nguồn: Nguyễn Hoàng Nghĩa (2008)

3.4.2 Phương pháp vườn hộ

Bảo tồn trong điều kiện vườn hộ giống như bảo tồn trên nông trại, nhưng mức độ nhỏ hơn. Hầu hết ở nông thôn trong vườn là một số loài cây trồng như cây ăn quả, cây hoa , cây thuốc, cây gia vị.... Với một vườn hộ, giá trị bảo tồn là không lớn nhưng cả cộng đồng giá trị của nó lại rất to lớn. Trong vườn hộ ngoài cây trồng còn có các loài hoang dại hoặc họ hàng hoang dại và như vậy bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật bằng phương pháp này có vai trò rất quan trọng

Khó khăn hiện nay do dân số tăng cho nên hầu hết vườn hộ được chuyển mục đích sử dụng như xây dựng nhà ở, công trình giao thông...Các tỉnh đồng bằng sông Hồng nhiều cộng đồng không còn vườn gia đình

Phương pháp bảo tồn nguồn gen trong vườn hộ tương tự như phương pháp bảo tồn trên trang trại, nhưng điểm khác biệt chủ yếu của bảo tồn vườn hộ trong điều kiện Việt Nam là:

- Bảo tồn trên vườn hộ diện tích nhỏ

- Áp dụng để bảo tồn cây ăn quả, hoa, cây cảnh, cây thuốc, cây rau và đặc biệt rau gia vị
- Cây làm thuốc, cây rau chủ yếu cho mục đích tự cung, tự cấp

Theo TS Lưu Đàm Cư rất nhiều loài cây thuốc của người Tày nằm trong danh sách quý hiếm đang bị đe dọa tuyệt diệt ở nước ta như ngũ gia bì gai, ba kích, hà thủ ô trắng, ké đầu ngựa..., hoặc còn rất ít ở Hà Giang như cây chàm tím. Nhóm nghiên cứu xác định 26 loài cần được bảo tồn và xây dựng mô hình vườn bảo tồn cây thuốc. Chủ hộ được lựa chọn là những ông lang người địa phương, có nhu cầu phát triển cây thuốc phục vụ hành nghề, tâm huyết với việc bảo tồn, phát triển cây thuốc. Cuối năm 2004, kết thúc hai năm khảo sát, nhóm vận động hai hội viên của Hội Đông y Việt Lâm xây dựng vườn bảo tồn tại gia đình mình rộng khoảng 1 hecta. Hiện một vườn đã thu thập được 50 loài cây thuốc, trong đó phần lớn là thuốc quý hiếm, một vườn trồng được 41 loài.

Câu hỏi ôn tập chương 3

1. Những phương pháp và cách tiếp cận của các phương pháp bảo tồn cơ bản, ưu nhược điểm của mỗi phương pháp
2. Những khái niệm bảo tồn nội vi và bảo tồn trên trang trại, mục đích và tầm quan trọng bảo tồn trên trang trại
3. Cơ sở lý luận bảo tồn trên trang trại
4. Các yếu tố ảnh hưởng đến bảo tồn trên trang trại
5. Phương pháp xây dựng mạng lưới bảo tồn trên trang trại
6. Kỹ thuật bảo tồn trên trang trại
7. Phương pháp bảo tồn nội vi khác
8. Những giải pháp nâng cao khả năng bảo tồn nội vi

Chương 4

BẢO TỒN NGOẠI VI

(*Ex situ*)

Hai chiến lược bảo tồn cơ bản *In situ* và *Ex situ*, mỗi kỹ thuật có những phương pháp và kỹ thuật khác nhau. Định nghĩa của UNCED, 1992 “Bảo tồn *Ex situ* là bảo tồn thành phần đa dạng sinh học ngoài điều kiện sinh sống tự nhiên của chúng”; “Bảo tồn *In situ* là sự bảo tồn hệ sinh thái nơi sinh sống tự nhiên, duy trì và phục hồi sự phát triển quần thể của các loài thực vật trồng trọt, thực vật thuần hóa nơi chúng đã phát triển các đặc tính đặc thù của chúng”. Bảo tồn *Ex situ* bao gồm lấy mẫu, vận chuyển, tích trữ, bảo quản các vật liệu cơ quan thu thập, trong khi bảo tồn *In situ* liên quan đến thiết kế, quản lý giám sát nguồn gen mục tiêu tại chỗ. Bảo tồn *In situ* là bảo tồn động, trong khi bảo tồn *Ex situ* là bảo tồn tĩnh hơn. Trong bảo tồn *Ex situ* có các phương pháp khác nhau, mỗi phương pháp có kỹ thuật đặc thù. Bảo tồn *Ex situ* ứng dụng công nghệ cao như bảo tồn hạt, bảo tồn *In vitro*, bảo tồn DNA, bảo tồn hạt phấn, ngân hàng gen đồng ruộng và vườn thực vật. Kỹ thuật bảo tồn *Ex situ* phù hợp cho bảo tồn cây trồng, các loài hoang dại và họ hàng hoang dại của cây trồng, trong khi bảo tồn *In situ* phù hợp với các loài hoang dại và giống địa phương

Gần đây, sau cuộc cách mạng xanh những năm 1960, các giống cây trồng cải tiến năng suất cao và đồng nhất di truyền, đặc biệt là cây lương thực lúa và lúa mì. Bên cạnh lợi ích của cách mạng xanh, hậu quả của nó làm suy giảm đa dạng của những cây trồng này tăng lên. Nông dân bỏ rơi các giống cây trồng địa phương và các giống truyền thống có khả năng thích nghi, thay thế bằng giống cải tiến đồng nhất di truyền. Để ứng phó với vấn đề này, các trung tâm nghiên cứu nông nghiệp quốc tế (IARCs) của nhóm tư vấn nghiên cứu nông nghiệp quốc tế đã bắt đầu thu thập nguồn gen của các loài cây trồng chính để bảo tồn. Ủy ban tài nguyên di truyền thực vật Quốc tế đã được thành lập, năm 1974 để xây dựng sự hợp tác toàn cầu trong nỗ lực thu thập, bảo tồn đa dạng di truyền thực vật đang bị đe dọa.

Ngày nay toàn cầu đã có trên 1.300 ngân hàng gen và vật liệu di truyền, đang duy trì và đánh giá 6.100.000 mẫu nguồn gen (FAO, 1996), tập trung lớn nhất vào nguồn gen cây lương thực như các cây ngũ cốc, một số cây họ đậu và một số loài để bảo tồn hạt. Những năm gần đây bảo tồn gen đồng ruộng cho phép bảo tồn những loài cây trồng không thể hoặc khó bảo tồn hạt. Kỹ thuật mới trong bảo tồn như bảo tồn *In vitro* và bảo tồn lạnh cũng đã phát triển và giúp tăng khả năng bảo tồn tất cả các loài và vật liệu di truyền

4.1 KHÁI NIỆM

Bảo tồn ngoại vi (*Ex situ* hoặc *Off-site*) là đưa nguồn gen ra khỏi điều kiện tự nhiên sinh sống của chúng hoặc ra khỏi hệ thống sản xuất đến lưu giữ tại các Trung tâm với các điều kiện và kỹ thuật bảo đảm sức sống của nguồn gen lâu dài, giữ nguyên được biến dị, di truyền hiện có của nguồn gen phục vụ sử dụng cho nghiên cứu và tái tạo quần thể nguồn gen.

Phương pháp bảo tồn ngoại vi phụ thuộc vào loài cây trồng, điều kiện của các cơ quan nghiên cứu để áp dụng phương pháp bảo tồn khác nhau.

- Ngân hàng gen hạt (seed genebanks) bao gồm ngân hàng hạt ở các cơ quan bảo tồn và ngân hàng hạt cộng đồng (Community seed banks)
- Ngân hàng gen đồng ruộng (field genebanks)
- Bảo tồn *In vitro* với cả hai nhóm cây trồng kết hạt và cây trồng sinh sản sinh dưỡng và chia thành hai loại bảo tồn tế bào/mô và bảo tồn hạt phấn
- Ngân hàng AND (DNA banks)

- Bảo tồn lạnh (Cryoconservation genebanks)
- Vườn thực vật (Botanical gardens)
- Ngân hàng gen (Genebanks)

Ngân hàng gen là lưu giữ, duy trì và tái sinh trở lại các mẫu sống của giống cây trồng bản địa, giống địa phương, giống cải tiến, cây hoang dại và họ hàng hoang dại. Nguồn gen trong các ngân hàng gen đảm bảo củng cố vững chắc nguồn cung cấp lương thực, thực phẩm và nhu cầu khác cho con người, sản xuất nông nghiệp và nghiên cứu hiện tại và trong tương lai.

4.2 BẢO TỒN HẠT (SEED GENE BANK)

(đối với hạt chịu làm khô -Orthodox seed conservation)

Bảo tồn ngân hàng hạt là kỹ thuật được sử dụng rộng rãi nhất để bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Hạt nguồn gen được làm khô, tồn trữ trong điều kiện nhiệt độ thấp dưới 0°C, trong lạnh hoặc lạnh sâu. Theo ghi nhận của FAO, kỹ thuật này hiện nay bảo tồn 90% của 6 triệu mẫu nguồn gen bảo tồn *Ex situ* toàn cầu. Mặc dù vậy kỹ thuật này chỉ có thể bảo tồn loài có hạt chống chịu nhiệt độ thấp và làm khô. Hạt nhiều loài không sống sót được dưới các điều kiện lạnh và làm khô như vậy. Các loài không chống chịu và các loài nhân giống sinh dưỡng như củ, mầm phải bảo tồn bằng kỹ thuật khác.

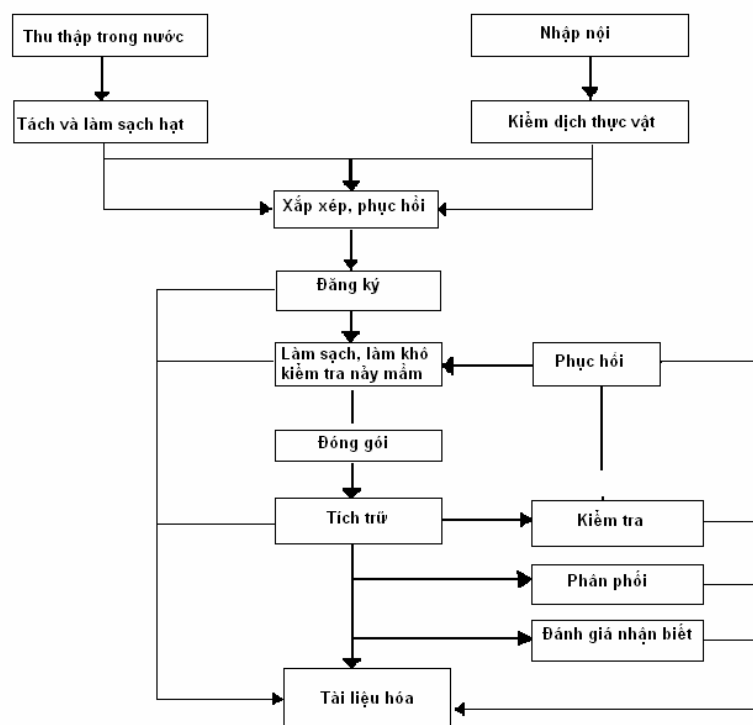
Bảo tồn ngân hàng hạt cộng đồng không cần kỹ thuật cao như tại các trung tâm bảo tồn hay các cơ quan kinh doanh. Nông dân ở nhiều nước đang phát triển phụ thuộc vào hệ thống cung cấp hạt giống không chính thức, trên cơ sở giữ lại hạt vụ trước để làm giống sản xuất cho vụ sau. Một số tồn trữ, xử lý để trao đổi hạt giống này trong nội bộ hay giữa các cộng đồng. Những thành phần tham gia cung cấp hạt giống không chính thức là một hình thức cấu trúc bản địa. Dòng thông tin và trao đổi hạt giống theo truyền thống và tập quán địa phương. Quản lý ngân hàng hạt giống cộng đồng, hệ thống cung cấp hạt giống địa phương chỉ phù hợp với một số ít loại nguồn gen. Ngân hàng hạt giống cộng đồng và thể chế có vai trò quan trọng để bảo tồn giống địa phương và sản xuất nông nghiệp. Cán bộ bảo tồn phải có kiến thức về ngân hàng hạt giống và kiến thức cộng đồng, trên cơ sở đó thiết kế bảo tồn hay cải tiến công tác bảo tồn. Ngân hàng hạt giống cộng đồng có vai trò quan trọng những đến nay nhận được rất ít hỗ trợ từ các nhà khoa học và quốc gia

Bảo tồn hạt của các loại nguồn gen khác nhau, thời gian bảo quản để áp dụng những kỹ thuật đặc thù trong bảo tồn ngân hàng gen hạt

- + Bảo tồn dài hạn nguồn gen cơ bản (*Base collection*), phải hạ độ ẩm hạt xuống 5 – 6% bảo quản trong điều kiện nhiệt độ -10 đến -20°C cho bảo tồn dài hạn.
- + Mẫu nguồn gen hoạt động (*Active collections*), hạ độ ẩm hạt xuống 8 ± 1 % bảo quản trong điều kiện nhiệt độ trên 0°C để bảo tồn trung hạn.
- + Nguồn gen công tác (*Working collections*) là vật liệu cho tạo giống, do vậy bảo tồn ngắn hạn, nó được bảo tồn trong chương trình đánh giá vật liệu của nhà tạo giống và kỹ thuật bảo tồn thông thường như tồn trữ hạt giống. Độ ẩm hạt được làm khô đến độ ẩm bảo quản (tùy theo loài), bảo quản trong điều kiện nhiệt độ môi trường

Tuy nhiên phương pháp bảo tồn hạt với mỗi loài cây trồng rất khác nhau, những loài cây hạt cứng, cây có hạt mềm, hạt lớn, hạt nhỏ... Các loài hạt cứng nhỏ hơn các loài tạo ra hạt bình thường, mặc dù vậy rất nhiều loài hạt cứng có giá trị cao như cao su (*Hevea* sp), cacao (*Theobroma cacao*) và các loài cây ăn quả thân gỗ nhiệt đới. Những loại hạt này có đặc điểm rất mẫn cảm với làm khô, ví dụ hạt mít khi giảm độ ẩm xuống dưới 28°C gây hại làm mất sức sống của hạt, kém chịu lạnh, kích thước hạt thường lớn, khối lượng 1000 hạt

vượt 500 gam, hạt sầu riêng (*Durio zibethinus*) đến 14.000 g. Như vậy những hạt này bảo tồn trong điều kiện nhiệt độ thấp nhưng lại yêu cầu độ ẩm bảo tồn cao



Hình 4-1: Sơ đồ dòng hoạt động trong bảo tồn ngân hàng hạt nguồn gen

(Nguồn N. Kameswara Rao, Jean Hanson, M. Ehsan Dullloo, Kakoli Ghosh, David Nowell and Michael Larinde, 2006)

Bảo tồn hạt khô áp dụng với nhiều cây lương thực sinh sản bằng hạt và hạt khô trong quá trình chín, nó có thể chịu được quá trình làm khô để bảo quản trong điều kiện ẩm độ thấp và lạnh. Theo Roberts, 1973 những hạt dạng này là dạng hạt khô (orthodox), bảo tồn hạt khô là phổ biến nhất trong bảo tồn *Ex situ* theo báo cáo “Thực trạng nguồn tài nguyên di truyền thực vật thế giới cho lương thực và nông nghiệp của FAO, 1996”. Nguồn gen được bảo tồn ở các trung tâm dưới hai hình thức là nguồn gen cơ bản (Base collection) và nguồn gen hoạt động (Active collection). Nguồn gen cơ bản bảo tồn dài hạn và thường được nhân lưu sang nguồn gen hoạt động. Điều kiện cơ bản của bảo tồn nguồn gen này trong điều kiện nhiệt độ - 10 đến - 20°C, thường là - 18°C, độ ẩm hạt $5 \pm 1\%$ (wb), bao đựng hàn kín. Nguồn gen hoạt động bảo tồn ngắn hạn hoặc trung hạn (đến 30 năm), do các nhà tạo giống, nhân giống, nghiên cứu và sử dụng. Điều kiện nhiệt độ bảo tồn 0 đến -10 °C, điều kiện tồn trữ ít nghiêm ngặt hơn nguồn gen cơ bản. Dưới cùng một điều kiện bảo quản hạt các loài khác nhau có tuổi thọ khác nhau. Bởi vậy, rất khó để xác định chính xác thời gian bảo tồn cho nguồn gen hoạt động. Nguồn gen cơ bản và nguồn gen hoạt động được khái niệm trên cơ sở chức năng của nó hơn là điều kiện bảo quản. Hai hình thức này giống nhau về khâu chế biến trước khi cho vào bảo tồn, nhưng lượng hạt cho vào bảo tồn khác nhau. Nguồn gen hoạt động số lượng của một mẫu lớn hơn một mẫu nguồn gen cơ bản. Một trung tâm thực hiện cả hai hình thức thì hệ thống thông tin có liên quan với nhau.

4.2.1 Thu nhận mẫu nguồn gen hạt đưa vào ngân hàng hạt

Thu nhận mẫu nguồn gen là nhận vật liệu di truyền của loài để đưa vào bảo tồn trong ngân hàng gen hạt, thu nhận mẫu là bước đầu tiên của quá trình bảo tồn ngân hàng hạt

Mục đích chủ yếu của bảo tồn hạt khô là đảm bảo giữ được đa dạng di truyền cho sử dụng hiện tại và tương lai. Bảo tồn hạt là phương pháp quan trọng để bảo tồn những nguồn tài nguyên di truyền đang bị đe dọa, nguồn gen khó bảo tồn *In situ*, bổ sung những đa dạng còn chưa đầy đủ cho sử dụng, bảo tồn và phục vụ cho chương trình tạo giống với các mục tiêu khác nhau. Bảo tồn hạt ở các nước và nước ta ưu tiên những loài cây lương thực, nguồn gen có giá trị kinh tế cao, nguồn gen bị đe dọa, nguồn gen hiếm như giống địa phương, loài họ hàng hoang dại

+ Thu nhận hạt đưa vào bảo tồn trong ngân hàng hạt

Thu nhận mẫu hạt đưa vào bảo tồn có thể từ trực tiếp trên hiện trường hoặc mẫu nguồn gen đã thu thập trước. Thu thập trên hiện trường tiến hành vào thời gian hạt của loài cây trồng chín và sức sống của hạt tốt nhất, dựa trên màu sắc quả và hạt của chúng. Màu sắc quả và hạt nhận biết thời điểm chín khác nhau giữa các loài cây trồng. Nhìn chung khi chín quả chuyển từ xanh sang màu vàng, nâu hay đỏ, vàng nâu, nâu tía. Ví dụ quả cà chua khi chín chuyển từ xanh sang màu đỏ, quả dưa chuột xanh sang vàng nâu, lúa màu xanh sang vàng rom. Tuy nhiên một loài cây trồng cũng có thể có rất nhiều loại màu sắc cần có nghiên cứu xác định thời điểm hạt chín để thu thập cho bảo tồn hạt. Hạt thu đúng thời điểm chín nâng cao tuổi thọ, khả năng nảy mầm, sức sống hạt trong quá trình bảo tồn. Kỹ thuật bảo tồn áp dụng chung cho toàn bộ mẫu hạt, do vậy yêu cầu khi thu hạt tạo thành một mẫu bảo tồn phải có độ chín đồng đều nhau.

Dụng cụ chứa mẫu hạt cho thu thập có thể sử dụng túi giấy, túi ni lông, bao vải, bình thủy tinh, bình nhựa hoặc sọt nhựa. Dụng cụ chứa đảm bảo không bị tổn thương cho hạt hay quả trong quá trình vận chuyển, tách hạt, làm khô hạt hay không bị tăng nhiệt độ quá cao gây hư hỏng hạt. Các dụng cụ chứa phải thông thoáng, mở nắp hoặc miệng túi tránh gây ẩm và ẩm độ cao trong dụng cụ chứa do hô hấp của quả và hạt.

+ Sơ chế mẫu hạt nguồn gen:

Sau khi thu nhận nguồn gen tiến hành phơi hoặc sấy để giảm độ ẩm, làm sạch và xử lý nấm bệnh. Hạt hay quả chín thường có độ ẩm cao (10 đến 20% tùy loài), ẩm độ cao gây hư hỏng hạt nhanh do hô hấp sinh ra nhiệt độ và ẩm độ cao trong khối mẫu, đây cũng là nguyên nhân dễ nhiễm bệnh vào lô hạt. Làm sạch sơ bộ, tách hạt và làm khô cần thực hiện ngay sau khi thu thập tránh những rủi ro trên và giảm khối lượng mẫu khi vận chuyển. Những phương pháp đơn giản làm sạch vỏ ngoài bằng đập, trải quả hạt trên giấy, trong phòng thoáng, với những loại quả khô dễ tách có thể tách hạt ngay. Những quả mọng bổ tách hạt hoặc sử dụng phương pháp lên men, hạt sau khi tách làm sạch bằng nước, làm khô sơ bộ bằng thấm hoặc quay trong túi lưới để ráo nước. Nếu thu thập trong thời gian dài và điều kiện môi trường nóng ẩm, hạt sau làm khô sơ bộ tiếp tục làm khô bằng chất hút ẩm như chất silic dioxyt với tỷ lệ hạt/chất hút ẩm là 3:2 đến 1 : 1, cứ một lớp túi hạt, xếp một lớp chất hút ẩm và đặt trong dụng cụ chứa kín để tránh hút ẩm trong không khí vào dụng cụ chứa.

+ Ghi nhận thông tin

Thu thập và ghi chép toàn bộ những thông tin theo yêu cầu với nguồn gen (passport data), phương pháp thu thập và nội dung những thông tin cần thiết với nguồn gen đã trình bày chi tiết trong chương 2. Những thông tin trong quá trình sơ chế cũng được bổ sung thêm và cập nhật vào cơ sở dữ liệu, ghi nhãn trên dụng cụ chứa. Sau khi hoàn thành công việc thu thập trên thực địa mẫu nguồn gen được vận chuyển về kho bảo tồn ngân hàng gen trong điều kiện bảo đảm về nhiệt độ, độ ẩm và không gây tổn thương cơ giới đến mẫu hạt nguồn gen.

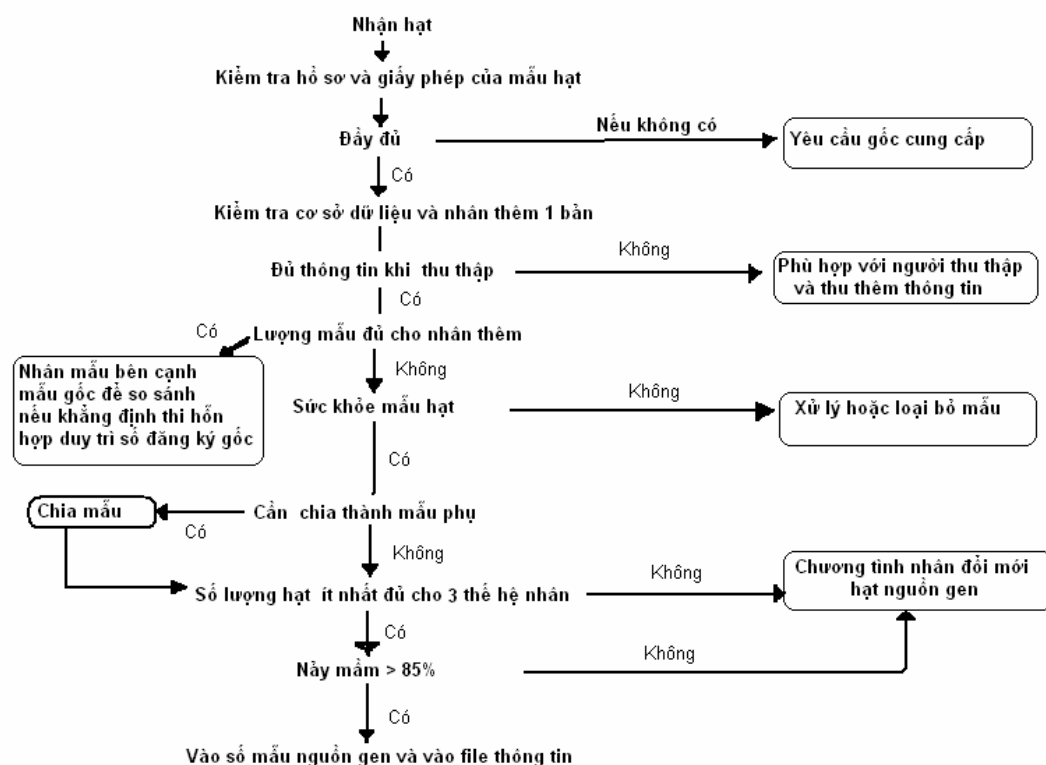
+ Kiểm tra sâu bệnh hại hạt nguồn gen

Kiểm tra bệnh hạt giống trước khi đưa mẫu nguồn gen vào kho bảo tồn, đặc biệt là mẫu nguồn gen từ nước ngoài cần thực hiện kiểm dịch nghiêm ngặt theo luật bảo vệ thực vật và kiểm dịch thực vật quốc gia, trước khi đưa đến kho ngân hàng gen hạt tránh rủi ro về dịch bệnh cho ngân hàng gen. Những mẫu có bệnh cần xử lý bằng hóa chất tẩy trùng hoặc loại bỏ trong trường hợp không thể tẩy trùng được

Sản phẩm chuyển gen (GMOs) cần nhận biết những nguy hiểm về di truyền khi bảo tồn với tập hợp các cây trồng khác, những sản phẩm này có thể chuyển gen vào các mẫu đang bảo tồn làm biến đổi nguồn gen đang bảo tồn thông qua thụ phấn. Những thông tin về nguồn gen này cần đầy đủ từ nơi cung cấp và kỹ thuật quản lý nguồn gen đặc thù với sản phẩm GMO.

4.2.2 Đăng ký nguồn gen vào ngân hàng gen hạt

Đăng ký nguồn gen là gán một số hiệu duy nhất để nhận biết mẫu nguồn gen đó, gọi là mẫu nguồn gen số: xx để phân biệt với các mẫu khác trong ngân hàng gen. Đồng thời số ký hiệu này phục vụ cho quản lý, tra cứu và sử dụng nguồn gen, số này được gán trước khi đưa mẫu vào ngân hàng. Các bước thực hiện đăng ký mẫu nguồn gen thực hiện như mô tả trong sơ đồ sau:



Hình 4-2: Các bước thực hiện đăng ký mẫu nguồn gen vào ngân hàng gen hạt

(Nguồn N. Kameswara Rao, Jean Hanson, M. Ehsan Dulloo, Kakoli Ghosh, David Nowell and Michael Larinde, 2006)

Bước 1: Kiểm tra hồ sơ và các văn bản pháp lý của nguồn gen

Thông tin của người thu thập (passport information) gồm: tên giống, tên người thu thập, thông tin di truyền, vật liệu di truyền, vật liệu cải tiến, chọn lọc để tránh trùng lặp trong ngân hàng gen. Thông tin tối thiểu cần có trong cơ sở dữ liệu như sau:

- Thông tin về thu thập
- Tên thông thường, chi , loài
- Số hiệu thu thập
- Địa phương thu thập
- Ngày thu thập
- Số cây thu thập
- Thông tin hoàn chỉnh sau thu thập
- Tên thông thường, chi , loài, giống
- Tên mẫu hoặc những đặc điểm nhận biết liên quan đến mẫu
- Thông tin về phả hệ và phương pháp tạo giống
- Kiểu hình
- Chủ sở hữu của mẫu nguồn gen

Ngoài thông tin ban đầu khi thu thập nguồn gen, nghiên cứu nhận biết, phân biệt mẫu nguồn gen khi đăng ký thông qua thí nghiệm trồng các mẫu nguồn gen cạnh nhau trong nhà có mái che hoặc trên đồng ruộng. Đánh giá tất cả các đặc điểm, tính trạng hình thái của mẫu nguồn gen phân biệt giữa các mẫu, cần ít nhất một đặc điểm khác biệt với các mẫu khác. Đánh giá tính khác biệt giữa các mẫu nguồn gen có thể áp dụng phương pháp đánh giá tính khác biệt của khảo nghiệm DUS (của UPOV,1991), phân tích thống kê xác định dựa trên tham số t-test

Khi so sánh kiểu hình, không đủ minh chứng tính khác biệt giữa các mẫu nguồn gen, có thể sử dụng phương pháp hóa sinh để phân biệt như điện di protein hạt và isozyme để bổ sung cho so sánh hình thái. Marker DNA như AFLPs, SSRs và SNPs cũng là công cụ mạnh xác định sự khác biệt giữa các mẫu, có thể áp dụng để kiểm tra mối quan hệ di truyền giữa các mẫu một hỗ trợ đáng tin cậy và hiệu quả.

Bên cạnh những thông tin nhận biết, mỗi mẫu nguồn gen phải có chứng chỉ vệ sinh an toàn và sạch bệnh nấm, vi khuẩn, virus và côn trùng gây hại. Bệnh nấm, vi khuẩn và virus ký sinh trong hạt nguy hiểm và rất khó loại bỏ bằng xử lý thuốc hóa học hay các biện pháp xử lý khác. Trong trường hợp không xử lý được phải loại bỏ và thu thập mẫu nguồn gen khác thay thế.

Chất lượng mẫu hạt đủ cho bảo tồn, chất lượng mẫu hạt được đánh giá trên tỷ lệ nảy mầm, sức sống của hạt. Tỷ lệ nảy mầm của mẫu hạt cây trồng không được thấp hơn 85%, loài hoang dại không nhỏ hơn 75%.

Số lượng mẫu hạt tối thiểu để đăng ký là đơn vị cơ bản của đăng ký mẫu nguồn gen (*base unit*) có thể ước lượng cỡ mẫu tiêu chuẩn cho loài bằng công thức sau:

$$BS = (PP \times NP)/(GR \times FG)$$

Trong đó: BS là số hạt yêu cầu cho đăng ký; PP = quần thể mong muốn mỗi lần nhân; NP là số lần nhân tối thiểu GR là % nảy mầm điều kiện tiêu chuẩn ; FG là % nảy mầm đồng ruộng (nhỏ hơn nảy mầm tiêu chuẩn 1% với điều kiện tốt và 5% với điều kiện đồng ruộng xấu)

Ví dụ

- + Quần thể mong muốn mỗi lần nhân là 100 cá thể
- + Tỷ lệ nảy mầm = 95%
- + Tỷ lệ nảy mầm đồng ruộng = 90% (ruộng xấu)
- + Số lần nhân tối thiểu = 3 lần nhân

$$\text{Đơn vị cơ bản hoặc số hạt tối thiểu để đăng ký} = \frac{(100 \times 3)}{(0,95 \times 0,90)} = 351 \text{ hạt}$$

Cuối cùng là những văn bản pháp lý cho bảo tồn nguồn gen như văn bản thỏa thuận với người thu thập hay sở hữu nguồn gen (có thể là cá nhân, một tổ chức như Viện nghiên cứu, công ty...) cho phép bảo tồn và sử dụng mẫu nguồn gen

Trường hợp mẫu nguồn gen không đủ những điều kiện như trên, cần hoàn chỉnh và bổ sung trước khi đăng ký. Ví dụ: mất số liệu thông tin ban đầu, số lượng và chất lượng không đảm bảo, sâu bệnh hại hay chưa đúng thủ tục pháp lý.

Bước 2: Thủ tục đăng ký nguồn gen

Mẫu nguồn gen đã đủ những điều kiện tối thiểu trên sẽ tiến hành đăng ký mã số nguồn gen theo thủ tục sau:

- Xếp các vật liệu theo thứ tự tên giống (theo vần alphabe của chữ cái)
- Kiểm tra lại gói mẫu theo danh sách mẫu đã chuẩn bị trước
- Nếu danh sách không đáp ứng có thể sửa hay điều chỉnh lại danh sách
- Kiểm tra lại dữ liệu ban đầu để đưa mã số cho mẫu nguồn gen
- Đưa mã số nguồn gen theo thứ tự
- Viết mã số nguồn gen lên túi và danh sách
- Đưa toàn bộ thông tin vào file cơ sở dữ liệu của ngân hàng gen

Phương pháp làm mã số cho ngân hàng gen mới: hệ thống mã số cho ngân hàng gen phải đảm bảo đơn giản, thực tế, dễ sử dụng. Thường sử dụng dãy số tự nhiên làm mã số, cộng thêm những ký hiệu khác để có thông tin thêm. Ví dụ mẫu nguồn gen của Việt Nam có thể có dãy mã VNGR-1, VNGR-2... Trong trường hợp ngân hàng gen rất lớn cần ký hiệu mã số theo loài cây trồng, xếp các loài trong cùng chi thành một nhóm. Không ký hiệu các cây trong cùng một dãy số ví dụ từ 1 - 500 là mẫu nguồn gen lúa, 501-1000 là mẫu nguồn gen ngô, 1001 - 1500 là mẫu nguồn gen đậu tương sẽ nhầm lẫn và rất khó quản lý ngân hàng gen hạt.

4.2.3 Độ sạch mẫu hạt nguồn gen

Làm sạch hạt trước khi đưa vào kho tồn trữ nhằm loại bỏ tạp chất, vật chất vô cơ và các chất hữu cơ, hạt khác loài, hạt sâu bệnh, hạt chưa chín để nâng cao chất lượng mẫu trước khi bảo tồn. Làm sạch còn giảm kích thước mẫu khi đưa vào kho đỡ tốn không gian kho và chi phí bảo tồn

Quá trình làm sạch sơ bộ tại nơi thu thập chưa tách hạt, cần phải tách hạt ra khỏi quả, cành ở giai đoạn này, tách hạt với các loại quả khác nhau phương pháp tách, độ ẩm khi tách khác nhau để không gây tổn thương hạt. Hạt của loài cây trồng có lớp chất nhầy (mucilate) bao bọc hạt, như cà chua, dưa chuột tách hạt bằng phương pháp lên men hoặc dùng axit để tách hạt (tham khảo giáo trình sản xuất giống và công nghệ hạt giống). Làm sạch hạt mẫu nguồn gen có thể thực hiện 5 hoạt động cơ bản:

- Loại bỏ các tạp chất bằng sàng với kích thước mắt sàng khác nhau, loại bỏ tạp chất và những hạt không cùng kích thước với mẫu nguồn gen (hạt lép, lửng, méo mó, dị dạng)
- Kiểm tra bệnh và côn trùng trên hạt để loại bỏ những hạt nhiễm sâu bệnh
- Kiểm tra hạt tổn thương cơ giới
- Phân tích độ sạch và bổ sung vào cơ sở dữ liệu
- Sau khi làm sạch kiểm tra lại lần cuối các chỉ tiêu
- Làm sạch mẫu hạt có thể thực hiện bằng thủ công hay bằng các thiết bị làm sạch chuyên dụng, khi làm sạch bằng máy cần chú ý tốc độ để không tổn thương mẫu hạt

Mẫu phân tích độ sạch được lấy ra từ mẫu nguồn gen, cân bằng cân điện tử, chia lấy mẫu phân tích có thể áp dụng phương pháp chia đôi thay đổi. Sau khi làm sạch, cân khối

lượng hạt sạch, khối lượng tạp chất, khối lượng hạt khác dạng và tính độ sạch bằng công thức:

$$\text{Độ sạch (\%)} = \frac{\text{Khối lượng hạt sạch (g)}}{\text{Khối lượng mẫu (g)}} \times 100$$

Ví dụ : Tổng khối lượng mẫu = 250 g; khối lượng hạt sạch = 245,2g, tạp chất = 3,5 g, hạt khác = 1,3 g tính độ sạch thu được kết quả

$$\text{Độ sạch (\%)} = \frac{245,2 \times 100}{250} = 98,08\%$$

Các thông tin sau làm sạch bổ sung vào cơ sở dữ liệu như loại mẫu, phương pháp tách hạt, phương pháp làm sạch, ngày làm sạch, tổng khối lượng mẫu nguồn gen sau khi làm sạch, mức độ tạp chất và phần trăm độ sạch của mẫu

4.2.4 Độ ẩm mẫu hạt và làm khô trước khi bảo tồn

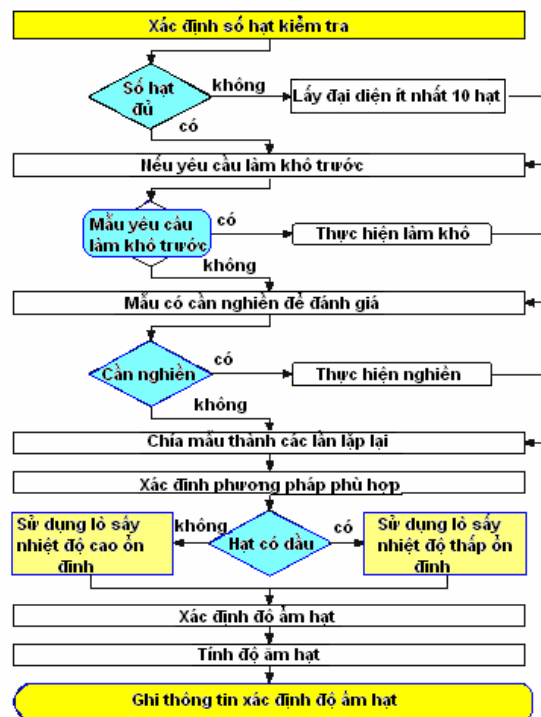
+ Xác định độ ẩm hạt

Độ ẩm hạt (SMC) là tổng lượng nước trong hạt bao gồm cả nước tự do và nước liên kết trong tế bào của hạt. Xác định độ ẩm hạt bằng hai phương pháp chính là (1) phương pháp sấy và (2) máy đo độ ẩm hạt, độ ẩm hạt được tính:

$$\text{SMC}(\%wb) = \frac{\text{Khối lượng tươi} - \text{khối lượng khô}}{\text{Khối lượng tươi}} \times 100$$

Ghi chú: SMC là độ ẩm hạt, wb là khối lượng tươi (ISTA,2005)

Phương pháp sấy thực hiện theo quy trình của ISTA,2005 như sau:



Hình 4-3: Sơ đồ dòng quá trình xác định độ ẩm hạt
(Nguồn N. Kameswara Rao và cộng sự 2006)

Nhiệt độ sấy đối với hạt của các loài khác nhau có yêu cầu nhiệt độ sấy khác nhau, một số loài yêu cầu nhiệt độ cao, ổn định nhưng một số loài khác yêu cầu nhiệt độ sấy thấp ổn

định. Theo ISTA, 2005 hạt có dầu sấy ở nhiệt độ thấp, hạt không có dầu sấy ở nhiệt độ cao hơn. Ví dụ một số loài quan trọng trong bảng 23:

Bảng 4-1: Xác định độ ẩm hạt một số loài cây trồng quan trọng bằng phương pháp sấy
(ISTA, 2005)

Xác định độ ẩm hạt một số loài cây trồng khi sấy bằng nhiệt độ thấp, ổn định

Ớt (<i>Capsicum</i>)	Hạt lanh (<i>Linum</i>)	Vừng (<i>Sesamum</i>)
Bông (<i>Gossypium</i>)	Lạc (<i>Arachis</i>)	Đậu tương (<i>Glycine</i>)
Cà tím (<i>Solanum</i>)	Hành (<i>Allium</i>)	Tất cả các loài thân gỗ
<i>Brassica</i>	Củ cải (<i>Raphanus</i>)	

Xác định độ ẩm hạt một số loài cây trồng khi sấy bằng nhiệt độ cao, ổn định

Măng tây (<i>Asparagus</i>)	Dưa chuột (<i>Cucumis</i>)	Bí (<i>Cucurbita</i>)
Đậu (<i>Phaseolus</i>)	Rau diếp (<i>Lactuca</i>)	Cao lương (<i>Sorghum</i>)
Cà rốt (<i>Daucus</i>)	Ngô (<i>Zea</i>)	Cà chua (<i>Lycopersicon</i>)
Đậu mỗ (<i>Cicer</i>)	Lúa (<i>Oryza</i>)	Dưa hấu (<i>Citrullus</i>)

Làm khô trước khi xác định độ ẩm hạt nếu độ ẩm trên 17% thực hiện như sau:

- Cân 2 mẫu hạt, mỗi mẫu 4 - 5 g cả khối lượng cốc chứa hạt
- Đặt mẫu trong phòng thí nghiệm với điều kiện ẩm và khô
- Cân lại mẫu gồm cả cốc chứa
- Tính độ ẩm hạt trên khối lượng tươi

Dụng cụ và thiết bị cần thiết cho phương pháp xác định độ ẩm bằng sấy chủ yếu gồm: Tủ sấy đối lưu luồng khí khô, chu kỳ 15 phút hay ngắn hơn, có khả năng duy trì ổn định trong phạm vi 1°C, có nhiệt kế chính xác 0,5°C. Dụng cụ chứa hạt sấy không bị ăn mòn, kính, thủy tinh, kích thước và chiều cao của dụng cụ đựng mẫu đảm bảo phù hợp với kích thước mẫu, cân phân tích chính xác 0,001 - 0,0001g.

Cỡ mẫu và lấy mẫu kiểm tra độ ẩm: Ngân hàng gen hạt thường có số lượng hạn chế, cho nên lấy mẫu phân tích thường lấy mẫu nhỏ. Sử dụng 2 lần lặp lại mỗi mẫu 0,5 đến 1 gam hoặc tối thiểu 10 hạt để xác định độ ẩm. Mẫu phải đại diện cho mẫu nguồn gen. Lấy mẫu một lần giữ hạt trong bình chứa kín, ổn định độ ẩm tránh làm thay đổi độ ẩm. Hạt một số loài yêu cầu nghiền để xác định độ ẩm

- Dán nhãn và cân khối lượng của hộp sấy, có cả nắp đồng thời ghi khối lượng vào cột (W1) của sổ theo dõi để tính độ ẩm
- Cho hạt đã chuẩn bị trước ngẫu nhiên vào 2 hộp sấy (mỗi mẫu hạt 0,5 đến 1 gam) đậy nắp và cân khối lượng (W2)
- Đưa hộp sấy đã có hạt vào tủ sấy 130 - 133°C, sấy 1 - 4 giờ tùy theo loài (ví dụ 4 giờ với ngô, 2 giờ với cây ngũ cốc khác)
- Lấy hộp mẫu ra khỏi tủ sấy để nguội trong 45 phút, cân khối lượng (W3)

$$\text{Độ ẩm (\%)} = \frac{W2 - W3}{W2 - W1} \times 100$$

Trong đó

W1 là khối lượng hộp sấy có cả nắp

W2 khối lượng hộp chứa hạt trước khi sấy có cả nắp

W3 hộp mẫu đã sấy

Độ ẩm mẫu hạt là trung bình 02 lần nhắc lại được tính như ví dụ sau:

Ví dụ

$$\text{Độ ẩm hạt lần lặp lại 1} = \frac{14,86 - 14,43}{14,86 - 10,32} \times 100 = 9,47$$

$$\text{Độ ẩm lần lặp lại 2} = \frac{14,99 - 14,53}{14,99 - 10,14} \times 100 = 9,45$$

$$\text{Độ ẩm hạt (\% wb)} = \frac{9,47 + 9,45}{2} = 9,46$$

Nếu mẫu có làm khô trước, sử dụng công thức sau để tính độ ẩm cuối cùng của mẫu

$$\text{Độ ẩm cuối cùng (\%)} = (M1 + M2) - \frac{M1 \times M2}{100}$$

Trong đó: $M1$ là % độ ẩm làm khô lần đầu, $M2$ là % độ ẩm sau khi sấy (lần 2)

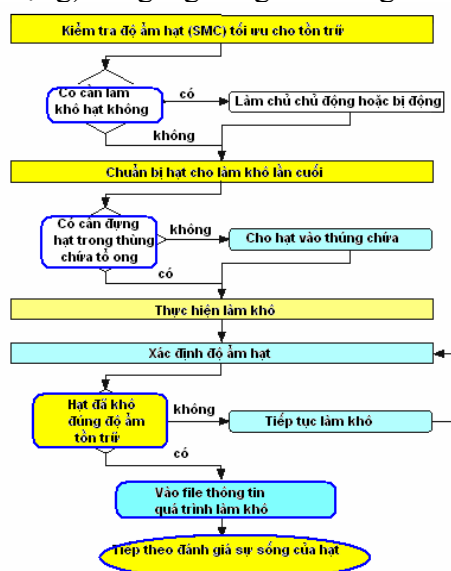
Với những hạt cây có dầu sấy ở điều kiện nhiệt độ thấp ổn định và thời gian sấy dài hơn, đặt hộp sấy tại $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ và sấy trong thời gian 17 ± 1 giờ.

Phương pháp xác định độ ẩm khác là dùng máy đo độ ẩm, máy đo cần điều chỉnh độ chính xác theo tiêu chuẩn của phương pháp sấy, kiểm tra với mỗi loài cây trồng, những thao tác kỹ thuật khi kiểm tra bằng phương pháp sấy rất quan trọng để đảm bảo độ chính xác. Ngày nay nhiều ngân hàng gen hạt sử dụng công nghệ cao để xác định và giám sát độ ẩm như bộ cảm biến số (digital humidity sensor), phương pháp này dựa trên lượng hơi nước thoát ra làm thay đổi cân bằng nước trong kho tồn trữ. Mẫu hạt đựng và buộc kín và xác định dựa trên đường cong chia độ (calibration), phương pháp này biểu hiện thông qua độ ẩm liên kết (RH).

Phương pháp ống chia độ (calibration) để đo độ ẩm hạt nhanh, mối quan hệ chính xác của số trên thước đo độ ẩm với độ ẩm thực của hạt khi xác định bằng sấy của ISTA gọi là phương pháp ống nhiệt. Trên cơ sở nhiều mẫu của nhiều giống, nhiều khu vực, nhiều năm khác nhau và phạm vi độ ẩm thông thường của các loài (6 - 25%). Đường cong chia độ (calibration) được thiết lập từ điểm của các ô trái ngược đánh giá bằng sấy,

Xác định độ ẩm bằng máy đo độ ẩm gồm 3 bước

- Lấy hai mẫu ngẫu nhiên có khối lượng và thể tích yêu cầu của máy đo đặc thù
- Đặt mẫu trong buồng hạt và đọc
- Độ ẩm (phần trăm khối lượng) là ngang bằng với trong bình 2 lần đọc



Hình 4-4: Quá trình làm khô hạt nguồn gen
(Nguồn N. Kameswara Rao và cộng sự 2006)

Làm khô hạt thực hiện sớm ngay sau khi nhận được mẫu hạt, tránh hư hỏng hạt, bảo tồn hạt khô yêu cầu độ ẩm hạt thấp, bảo tồn cơ bản khoảng 3 đến 7% tùy theo loài, bảo tồn nguồn gen hoạt động khoảng 3 đến 8% với loài khó tồn trữ dài như hạt có dầu, từ 7 đến 11% với loài bảo tồn tốt như hạt các cây ngũ cốc, tuy nhiên nó phụ thuộc vào nhiệt độ của kho tồn trữ

Độ ẩm cân bằng và đường cân bằng độ ẩm: độ ẩm hạt cân bằng với độ ẩm liên kết của môi trường xung quanh, cần hiểu rõ mối quan hệ này trong quá trình làm khô hạt, mối quan hệ giữa RH và SMC của hạt một số loài như bảng sau:

Bảng 4-1 : Cân bằng độ ẩm của một số hạt cây trồng phổ biến tại 25°C

Loài	RH%10	15	20	30	45	60	75	90
Lúa mỳ	-	6,0		8,4	10,0	12,1	14,4	19,5
Bắp cải	2,9		4,6	5,4	6,4	7,6	9,6	
Dưa chuột	2,6	-	4,3	5,6	7,1	8,4	10,1	-
Cà tím	3,1	-	4,9	6,3	8,0	9,8	11,9	-
lạc	3,0	-	3,9	4,2	5,6	9,8	9,8	13,0
Rau diếp	2,8	-	4,2	5,1	5,9	7,1	9,6	0
Ngô	3,8	-	5,8	8,4	10,2	12,7	14,4	18,8
Lúa	4,6	5,6	6,5	7,9	9,8	11,8	14,0	17,6
Hạt hành	4,6	-	6,8	8,0	9,5	11,2	13,4	-
Đậu tương	4,1	-	5,5	6,5	7,4	9,3	13,1	18,8
Cà chua	3,2	-	5,0	6,3	7,8	9,2	11,1	-

Hạt mất hoặc hút nước đến khi độ ẩm hạt của nó cân bằng với RH của môi trường xung quanh với nhiệt độ tại thời điểm đó. Mối quan hệ giữa độ ẩm hạt và RH được biểu diễn bằng đường bão hòa, và đồ thị độ ẩm hạt trái ngược với RH. Đường cân bằng ẩm phụ thuộc vào thành phần hóa học hạt, các loài khác nhau, các mẫu, thậm chí các hạt trong cùng một mẫu nguồn gen nhưng thời điểm thu hoạch khác nhau. Đường cân bằng ẩm rất có lợi để ước lượng độ ẩm có thể làm khô bằng môi trường.

Phương pháp làm khô hạt trước khi đưa vào bảo tồn:

Dự đoán giảm khối lượng hạt sau khi làm khô, trên cơ sở khối lượng cuối cùng sau khi làm khô để quyết định lượng hạt phải đưa vào sấy hoặc phơi, bảo đảm đủ lượng hạt bảo tồn theo quy định. Công thức ước lượng khối lượng hạt sau khi làm khô

$$\text{Khối lượng hạt sau sấy} = \text{Khối lượng hạt ban đầu} \times \frac{100 - \text{độ ẩm ban đầu}}{100 - \text{độ ẩm sau phơi sấy}}$$

+ Chuẩn bị hạt để làm khô

Cho hạt vào trong các túi xốp (porous), túi có thể cho không khí đi qua được, gắn nhãn cho mỗi túi mẫu, cả bên trong túi và bên ngoài, không để một lượng lớn hạt trong một túi mà chia một mẫu nguồn gen vào một số túi để làm khô nhanh hơn. Các túi được buộc chặt và kín tránh nhầm lẫn mẫu nguồn gen và lẫn hạt của mẫu nguồn gen khác.

+ Làm khô hạt

Một số phương pháp làm khô hạt như giảm độ ẩm môi trường hay bằng gel silic, dung dịch muối bão hòa hay bột can xi, tất cả các phương pháp đều đặt hạt trong môi trường có độ ẩm liên kết (RH) thấp, cho phép đạt cân bằng độ ẩm hạt trong điều kiện nhiệt độ thấp (10 - 25°C), hạt đạt cân bằng độ ẩm ở tỷ lệ khác nhau phụ thuộc vào loài, kích thước hạt và điều

kiện làm khô. Hầu hết tốc độ giảm độ ẩm nhanh giai đoạn đầu sau đó chậm dần khi đạt đến cân bằng ẩm.

Phương pháp làm khô bằng giảm độ ẩm không khí(dehumidified drying)

Theo FAO/IPGRI tiêu chuẩn ngân hàng gen khuyến cáo: giảm độ ẩm không khí phạm vi 10 - 15% RH và nhiệt độ 10 - 25°C. Những ngân hàng gen nhỏ có thể thiết kế các ca bin sấy để cung cấp điều kiện này, ngân hàng gen lớn cần thiết kế phòng sấy. Tuy nhiên, cả hai công cụ trên đều cần có kỹ thuật đảm bảo đồng đều trong toàn bộ không gian sấy, nhiệt độ không cao vượt quá giới hạn trên của khả năng chịu của hạt

Làm khô bằng gel silic :

Mẫu nguồn gen nhỏ, đặt gel silic khô vào bình làm khô, tủ sấy có nắp kín, lượng gel silic bằng lượng hạt, một số sử dụng tỷ lệ cao hơn 3 : 1 (gel : hạt). Hạt cho vào các túi lưới, xếp các túi vào trong bình làm khô đã chứa gel silic. Giữ bình ở nhiệt độ thấp (xấp xỉ 20°C). Thay gel silic hàng ngày khi nó chuyển từ màu xanh sang màu hồng hoặc xanh nhạt. Gel silic đã hút nước làm khô trở lại để sử dụng tiếp bằng đốt gel ở nhiệt độ 100°C đến khi nó trở về màu ban đầu. Hạt và gel silic được lấy ra khi độ ẩm hạt đạt yêu cầu bảo tồn. Hạt đã làm khô được đóng gói, đặt trong các dụng cụ chứa phù hợp và đảm bảo cân bằng ẩm (RH)

Làm khô bằng calcium chloride:

Sử dụng bột calcium chloride khan, không độc tố để làm khô là phương pháp đơn giản tương tự như sử dụng gel silic

Làm khô bằng dung dịch muối bão hòa:

Bình làm khô hạt được đưa dung dịch muối bão hòa vào như muối can xi chloride, duy trì RH = 30% và nhiệt độ 25°C có thể làm khô hạt cho bảo tồn trung hạn, muối can xi bromide = 18% RH và 20°C cho bảo tồn dài hạn.

Ngoài những phương pháp làm khô hạt trên : Phương pháp làm khô trong điều kiện tự nhiên như phơi nắng trong điều kiện không khí khô hay dưới bóng dâm cũng là phương pháp đơn giản và ít tốn kém, tuy nhiên yêu cầu phơi mẫu hạt nguồn gen khá khác biệt với quá trình làm khô khác. Phải đảm bảo đạt độ ẩm bảo tồn, giữ được khả năng nảy mầm, tránh lẫn tạp, tránh tổn thương và biến đổi mẫu nguồn gen.

4.2.5 Kiểm tra chất lượng hạt nguồn gen trước khi bảo tồn

Kiểm tra chất lượng hạt nguồn gen trước khi bảo tồn bao gồm kiểm tra giá trị gieo trồng, nảy mầm, sức sống, sức khỏe lô hạt nguồn gen. Các phương pháp kiểm tra sử dụng như phương pháp đánh giá chất lượng hạt giống cây trồng.

a) Đánh giá nảy mầm của nguồn gen

Phương pháp kiểm tra đánh giá nảy mầm sử dụng 3 phương pháp là trên giấy (trong đĩa petri, khay, hộp), phương pháp giữa các lớp giấy ẩm (giấy thấm, giấy xi măng) và phương pháp gieo trên cát. Mỗi loài cây trồng yêu cầu nền và điều kiện nảy mầm khác nhau, bảng dưới đây giới thiệu nền và điều kiện thử nảy mầm của một số loài cây trồng chủ yếu (tham khảo chi tiết trong giáo trình sản xuất giống và công nghệ hạt giống)

Ngoài ba nền thử nảy mầm trên, phương pháp thử nảy mầm trên agar cũng sử dụng trong đánh giá nảy mầm của nguồn gen.

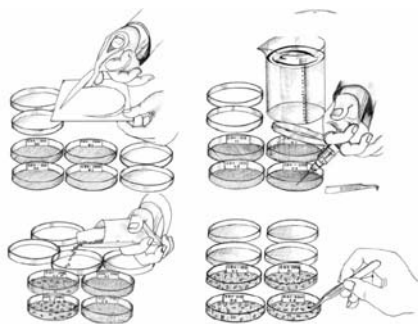
Agar là chất nền thay cho giấy để thử nảy mầm, đặc biệt với loại hạt nhỏ và trung bình rất hiệu quả, các bước thực hiện thử nảy mầm trên agar gồm

- Khử trùng bề mặt dụng cụ thử và lau bằng cồn 70 - 95% hoặc nhúng trong nước tẩy 20% hoặc nước sôi 10 - 15 phút
- Dán nhãn lên đĩa petri 9 cm và đặt nắp (với hạt nhỏ) hoặc dụng cụ nảy mầm chịu nóng khác, ghi mã hiệu, số mẫu, số lần lặp lại và ngày thử nảy mầm.

Bảng 4-3: Hướng dẫn đánh giá tỷ lệ nảy mầm của những loài cây trồng phổ biến ISTA,2005 hoặc AOSA,2005.

Cây trồng	Loài	Nền thử nảy mầm	Nhiệt độ (°C)	Đếm lần đầu và lần cuối (ngày)	Xử lý hạt tươi và hạt có ngủ nghỉ
Cỏ linh lăng	<i>Medicago sativa</i>	TP, BP		4; 7	Khía vỏ hạt cơ giới hạt vỏ cứng
Nho hàng năm	<i>Medicago</i>	BP, TP	20	3; 7	
Lúa mỳ	<i>Hordeum vulgare</i>	BP, S	20	4; 7	Xử lý lạnh 5°C hoặc 10°C trong 5 ngày trước khi thử
Bầu nậm	<i>Lagenaria sieraria</i>	PT; S	20/30; 20	14	
Bắp cải	<i>Brassica Oleracea</i> var. <i>capitata</i>	TP; BT	20/30; 20	3 ; 10	Xử lý lạnh 5°C hoặc 10°C trong 3 ngày; KNO ₃ và ánh sáng
Ca rốt	<i>Daucus carota</i>	TP; BP	20/30; 20	6; 14	GA ₃ 50ppm
Su lơ	<i>Brassica Oleracea</i> var. <i>capitata</i>	TP; BP	20/30; 20	3; 10	Xử lý lạnh 5°C hoặc 10°C trong 3 ngày; KNO ₃ và ánh sang
Bông	<i>Gossypium</i> spp.	BP; S	20/30 ; 25	4; 12	làm xước, khía vỏ hạt cứng
Đậu bò	<i>Vigna unguiculata</i>	BP; S	20/30 ; 25	5; 8	
Dưa chuột	<i>Cucumis satavus</i>	TP; BP	20/30	3; 7	Giữ chất nền trên một mặt phẳng khô
Cà tím	<i>Solanum melongena</i>	TP; BP; S	20/30	7; 14	ánh sáng; KNO ₃
Ớt cay	<i>Capsicum frutescens</i>	TP; BO	20/30	6; 14	ánh sáng; KNO ₃
Ngô	<i>Zea mays</i>	BP; S	20/30; 25; 20	4; 7	
Đậu xanh	<i>Vigna radiata</i>	BP; S	20/30; 25	3; 7	
Lạc	<i>Arachis hypogaea</i>	BP; S	20/30; 25	5; 10	Ethphon, 0,2%
Khoai tây	<i>Solanum tuberosum</i>	TP; BP	20/30; 25	8; 16	GA ₃ , 2000ppm
Bí ngô	<i>Cucurbita maxima</i>	BP; S	20/30;25	4; 7	Giữ chất nền trên mặt phẳng khô
Lúa	<i>Oryza sativa</i>	TP; BP; S	20/30; 25	5; 14	Phơi ở 40oC trong 5 ngày trước khi thử
Vừng	<i>Séamum indicum</i>	TP	20/30	3 ; 6	
Cao lương	<i>Sorghum bicolor</i>	TP; BP	20/30; 25	3; 10	Xử lý lạnh 5°C hoặc 10°C trong 5 ngày
Đậu tương	<i>Glycine max</i>	BP; S	20/30; 25	5; 8	
Bí xanh	<i>Cucurbita pepo</i> ; <i>C. moschata</i>	BP; S	20/30	4; 7	Giữ chất nền trên mặt phẳng khô
Dâu tây	<i>Fragaria ananassa</i>	TP	20/30; 20	28	ánh sáng
Hướng dương	<i>Helianthus annuus</i>	BP; S	20/30	3; 7	
Thuốc lá	<i>Nicotiana tabacum</i>	TP	20/30	4; 14	ánh sang
Cà chua	<i>Lycopersicon esculentum</i>	TP; BP	20/30	5; 14	ánh sang; GA ₃
Dưa hấu	<i>Citrullus lanatus</i>	BP; S	20/30;25	4; 14	Thử ở 30°C; Giữ chất nền trên mặt phẳng khô

TP= trên giấy; BP = giấy cuộn; S = cát ; 20/30 là 20°C trong 8 giờ/ngày và 30°C cho 16giờ/ngày



Hình 4-5: chuẩn bị, gieo hạt thử nảy mầm trên giấy trong đĩa petri



Hình 4-6: thử nảy mầm giữa các lớp giấy hay cuộn giấy



Hình 4-7 : thử nảy mầm trên cát

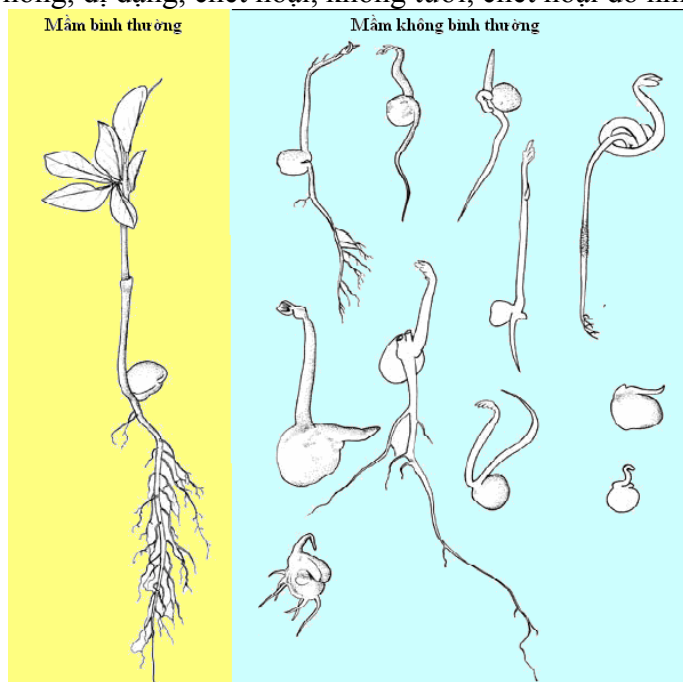
- Chuẩn bị dung dịch agar 1% (WA) bằng làm tan 1g bột hoặc sợi agar cho vào bình đun trong đó đã có 100ml nước cất ấm. Đun đến khi agar tan hoàn toàn, để nguội đến 50°C rót vào đĩa petri đã chuẩn bị có nhãn ghi thông tin. Độ dày agar gấp 2 lần độ dày hạt mẫu nguồn gen
- Gieo hạt lên bề mặt agar theo hàng, đậy nắp kín
- Đưa đĩa đã gieo hạt vào tủ thúc mầm với nhiệt độ phù hợp với mỗi loài nguồn gen
- Tính tỷ lệ nảy mầm như các phương pháp khác



Hình 4-8 : Thử nảy mầm bằng gieo hạt trên agar

Ghi chú : đánh giá cây mầm bình thường và không bình thường chi tiết theo ISTA, 2003, 2005 hoặc AOSA, 2005. Những chỉ tiêu để đánh giá mầm không bình thường như sau:

- Rễ: rễ cơ bản còi cọc, ngắn, mất, vỡ, tách đầu, mảnh, hướng xuống đất, màu nhạt không tươi, rễ ủng lan đến rễ cơ bản hoặc nhỏ hơn rễ thứ cấp ở cây 1 lá mầm.
- Mầm (trụ dưới lá mầm, trụ trên lá mầm, thân mầm): ngắn, dày, tách nứt, mất đoạn hoặc từng phần, xoắn vặn, ủng, suy tàn do bệnh
- Mầm và lá ở giai đoạn cuối nảy mầm: biến dạng, bị tổn thương, mất hoặc tàn do nhiễm bệnh
- Lá mầm: phồng, dị dạng, chết hoại, không tươi, chết hoại do nhiễm bệnh



Hình 4-9: Mầm bình thường và không bình thường của hạt đậu tương

b) Đánh giá sức sống hạt nguồn gen bằng Tetrazolium(TZ)

Đánh giá TZ có thể sử dụng để hỗ trợ nhận biết sức sống hạt nguồn gen và ưu việt hơn so với hạt thử nảy mầm khó thực hiện. Thử TZ cần bóc vỏ và mày của hạt, ngâm trong nước trung tính ở 30°C, những hạt không nảy mầm khi đánh giá nảy mầm ở giai đoạn cuối cùng của thử nảy mầm có thể đem sang đánh giá TZ. Đánh giá TZ thực hiện trong phạm vi độ pH từ 6 - 8.

Phương pháp chuẩn bị 1 lít dung dịch TZ để đánh giá như sau:

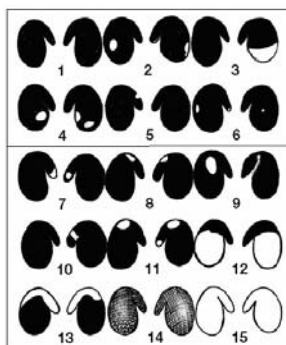
- Hòa tan 3,631g KH_2PO_4 (Potassium dihydrogen phosphate) trong 400 ml nước cất
- Hòa tan 7,126 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Disodiumhydrophosphat) trong 600 ml nước cất
- Trộn đều hai dung dịch trên tạo chất đệm
- Hòa tan 10g 2,3,5, triphenyl tetrazolium chloride trong 1 lít dung dịch đệm đã chuẩn bị trên để tạo dung dịch gốc TZ = 0,5%. Trộn 1 phần dung dịch gốc với một phần nước tạo dung dịch đánh giá, bảo quản dung dịch TZ trong tối và lạnh, nếu sử dụng trong thời gian ngắn
- Cắt đôi hạt theo chiều dài qua phôi bằng dao lam, bỏ đi một nửa nửa còn lại ngâm vào dung dịch TZ với nồng độ trên trong cốc thủy tinh hay đĩa petri
- Đặt cốc vào tủ định ôn trong tối, thời gian tùy loài, trung bình là 24 giờ
- Sau ngâm rửa bằng nước sạch vài lần
- Ngâm hạt trong dung dịch lactophenol (1 lít lactophenol bằng 200 ml phenol, 200ml a xít lac tíc, 400 ml glycerin và 200ml nước) sau 1 - 2 giờ đánh giá

Bảng 4-4: Nồng độ, nhiệt độ và thời gian ngâm khi đánh giá bằng TZ (phụ lục I các cây trồng của hiệp ước quốc tế PGRFA)

Cây trồng	Loài	Điều kiện trước khi thử	Nồng độ, thời gian và nhiệt độ thử TZ
Lúa mạch	<i>Hordeum vulgare</i>	Cho hút nước hoặc ngâm 6 - 18h	0,5%, 3h, 30°C
Đậu	<i>Phaseolus spp</i>	Cho hút nước hoặc ngâm 18-24h	0,5-1%, 6-24h, 30°C
Cải	<i>Brassica spp</i>	Cho hút nước 16-18h sau đốn ngâm 2 - 3 h	0,5-1%, 3-6h, 30°C
Cà tím	<i>Solanum melongena</i>	Cho hút nước hoặc ngâm 18h	0,5-1%, 6-24h, 30°C
Ngô	<i>Zea mays</i>	Cho hút nước hoặc ngâm 18h	0,5-1%, 2-6h, 30°C
Lúa	<i>Oryza sativa</i>	Cho hút nước hoặc ngâm 18h	0,5%, 3h, 30°C
Hướng dương	<i>Helianthus annuus</i>	Cho hút nước hoặc ngâm 18h	0,5-1%, 3-6h, 30°C

Đánh giá mô chuyển màu bằng kính hiển vi thường

- Mô sống chuyển màu đỏ sáng, nếu màu tím hay đỏ tối là mô chết
- Hạt chuyển màu hoàn toàn là hạt có sức sống
- Không chuyển màu là hạt hư hỏng không còn sức sống (vigor)
- Chuyển màu từng phần sẽ tạo ra mầm bình thường hoặc không bình thường tùy thuộc vào kiểu đổi màu



Hình 4-10: Đổi màu của hạt khi đánh giá bằng TZ hạt cây 2 lá mầm, số 1 - 6 là hạt có khả năng nảy mầm, 7 - 15 là những hạt không có khả năng nảy mầm

c) Đánh giá sức khỏe hạt nguồn gen

Đánh giá sức khỏe nguồn gen chủ yếu đánh giá sự nhiễm hoặc không nhiễm bệnh của hạt. Mẫu nguồn gen thu thập trên đồng ruộng với rất nhiều loài sâu, bệnh tự nhiên chúng có thể tồn tại trên vỏ hạt hoặc ký sinh trong nội nhũ và trong phôi hạt. Để bảo đảm cho mẫu nguồn gen sạch sâu, bệnh hại cần phải đánh giá trước khi đưa vào bảo tồn. Đánh giá kiểm tra nấm, vi khuẩn, virus và côn trùng trong lô mẫu hạt nguồn gen.

Phương pháp đánh giá lấy mẫu cho 4 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 100 hạt và tổng số hạt kiểm tra là 400 hạt, nếu quá 5% số hạt nhiễm bệnh mẫu nguồn gen đó không phù hợp để bảo tồn.

Phương pháp kiểm tra chủ yếu bằng:

- Quan sát trực tiếp phát hiện côn trùng, trứng, vết bệnh, sợi nấm trên hạt
- Đánh giá trên triệu chứng cây con, trồng hạt trong nhà kính đã vệ sinh và khử trùng, khi hạt nảy mầm trên cây con xuất hiện triệu chứng xác định bệnh (trong trường hợp số hạt đủ lớn để gieo trồng và còn đủ hạt cho bảo tồn)

- Kỹ thuật rửa hạt: kiểm tra nấm bệnh trên vỏ hạt như nấm, mốc, nấm bột, rỉ sắt... cho 2 g hạt vào ống kiểm tra, cộng thêm 2 ml nước cất, lắc đều 5 - 10 phút. Cho vào máy ly tâm 200 vòng phút trong 10 phút và quan sát phần lắng đọng bằng kính hiển vi cấu trúc của nấm
- Phương pháp nuôi cấy trên bàn thấm hay trên agar là phương pháp đơn giản và không tốn kém để phát hiện nấm khi hình thành bào tử
- Trên bàn thấm giống như phương pháp nảy mầm, đặt 20 - 25 hạt trên lớp giấy mềm tên đĩa petri có độ ẩm bằng nước cất, gặt bỏ nước thừa đưa vào tủ định ôn điều kiện phù hợp cho sinh trưởng của nấm, ánh sáng cận cực tím và chu kỳ xen kẽ sang tối tại $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ trong 7 ngày. Kiểm tra giấy trên đĩa petri bằng kính hiển vi nổi, nhận biết và đánh giá thông qua quan sát sự phát triển của nấm trên hạt.
- Đánh giá như trên một số trường hợp, hạt nảy mầm che lấp nấm bệnh có thể khắc phục bằng cộng thêm muối 2,4-D sodium 0,2%
- Phương pháp trên đĩa agar : là phương pháp phổ biến nhất kiểm tra bệnh nấm hạt giống, loại nấm khác nhau ngay cả nòi khác nhau yêu cầu cho sinh trưởng và phát triển bào tử. Ánh sáng cận cực tím có bước sóng 300 - 380nm gọi là ánh sáng đen. Môi trường đơn giản là phối hợp rau, các bon hydrat đường và agar hỗn hợp được đun trộn agar với rau nếu không có môi trường thương mại. Môi trường thông dụng là nước khoai tây gluco agar và agar bột lúa mạch. Trộn 1 g bột khoai tây dextrose (tên thường gọi là gluco, d-gluco) trong 100 ml nước cất, khử trùng trong nồi hấp 15 - 20 phút sau làm lạnh đến 50°C , rót dung dịch trên lên đĩa petri đã khử trùng, tránh nhiễm bẩn, làm lạnh tiếp đến khi đông cứng bề mặt trong 20 phút. Khử trùng bề mặt hạt trước khi kiểm tra nấm bệnh bằng sodium hypochlorite (NaOCl) 1%, Dung dịch NaOCl pha loãng bằng 20 phần nước tẩy (5% NaOCl) với 80 phần nước. Đặt khoảng 10 hạt (tùy thuộc cỡ hạt) lên mặt agar và ghim lên bề mặt bằng các kẹp ghim. Đưa đĩa đã cấy hạt vào tủ định ôn $20 - 25^{\circ}\text{C}$ trong 5 - 8 ngày. Nhận biết nguồn bệnh trên cơ sở sợi nấm và bào tử phát triển trên bề mặt agar
- Phương pháp PCR: PCR là một kỹ thuật khuếch đại một lượng nhỏ của chuỗi nucleotide đặc thù theo bội số với sự có mặt của chuỗi mẫu với 2 môi oligonucleotide gắn với sợi ngược và sợi bên vùng DNA mục tiêu. Phản ứng là chu kỳ liên quan đến sự biến tính mẫu môi hồi tính DNA và mở rộng môi hồi tính bằng polymere DNA đến khi đủ bản sao để phân tích tiếp theo. PCR cho phép dò tìm số lượng rất nhỏ của bệnh trong mẫu nguồn gen bằng khuếch đại chuỗi bệnh đến mức có thể dò tìm, phương pháp này hữu ích chuẩn đoán bệnh nhanh, chính xác nhưng tốn kém, nó có thể dò tìm bất kỳ tổ chức sống nào có DNA bằng điều khiển dương tính hoặc âm tính để so sánh
- Kiểm tra sức khỏe hạt mẫu nguồn gen bằng ELISA: phương pháp ELISA (Enzyme-link immunosorbern assay), sử dụng protein gọi là kháng thể để chuẩn đoán bệnh cây trồng. Chuẩn đoán trên cơ sở khả năng của kháng thể phản ứng với một kháng nguyên gây ra kết tủa. Kháng thể là một protein tinh khiết cao, tạo ra bằng tiêm kháng nguyên vào động vật máu nóng như chuột, máu động vật sẽ sinh ra kháng thể, có nhiều loại ELISA để chuẩn đoán sự có mặt của protein. Nhưng hai phương pháp phổ biến là kháng nguyên tạo màng vỏ (ACP-ELISA) và chuẩn đoán miễn vết mô (TBIA)

d) Kiểm tra sự trao đổi gen ngẫu nhiên

Trao đổi gen là các gen đưa vào cơ quan hoặc loài khác thông qua kỹ thuật tái tổ hợp DNA. Với thực vật, thực hiện trao đổi trong bộ genome và di truyền đến con cái của chúng thông qua con đường sinh sản bình thường. Một trong những hợp phần quan trọng của quản lý ngân hàng gen là kiểm tra sự có mặt của một gen hay kiểu hình. Đây là yêu cầu đối với

kiểm tra độ thuần, độ sạch của nguồn gen trước khi bảo tồn và cũng là yêu cầu vệ sinh an toàn sinh học, khi xuất hay nhập khẩu nguồn gen. Sự trao đổi gen cũng liên quan đến sở hữu trí tuệ của nguồn gen và vấn đề xã hội đối với các sản phẩm trao đổi gen như vậy. Trong quá trình thu thập nguồn gen luôn có liên quan đến trao đổi gen của các vật liệu, những trao đổi gen ngẫu nhiên gồm những loài các cây giao phấn, những loài cây này có khả năng trao đổi gen cao, những cây tự thụ phấn và cây sinh sản vô tính khả năng trao đổi gen thấp, chỉ cần kiểm tra những giai đoạn đầu. khả năng trao đổi gen mức trung bình những cây trồng còn lại

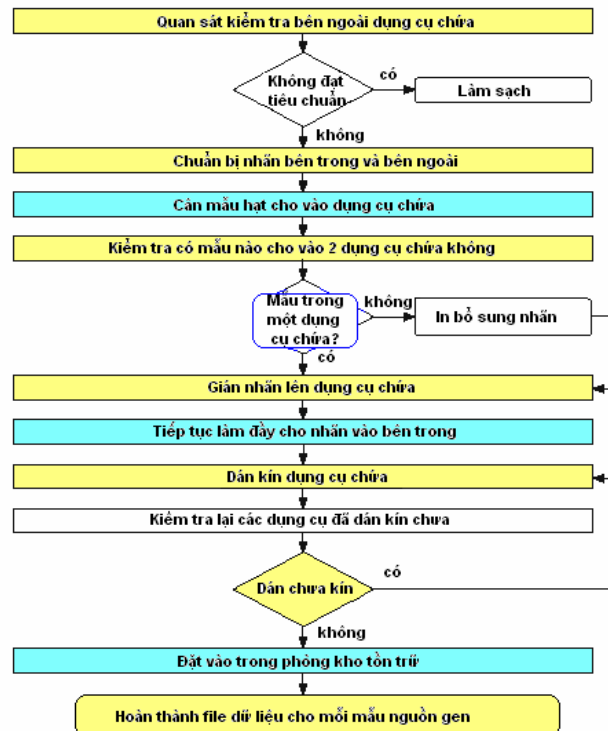
Ngân hàng gen nên có những bước thực hiện kiểm tra trước để hạn chế các gen ngoại lai trong nguồn bảo tồn *Ex situ*, các mẫu nguồn gen không yêu cầu kiểm tra là các loài không chuyên gen, mẫu không chuyên gen thương mại, mẫu có chuyên gen nhưng quản lý tốt. Hai phương pháp kiểm tra cơ bản trao đổi gen của mẫu nguồn gen là ELISA và PCR để kiểm tra sự có mặt của gen ngoại lai, các kit kiểm tra có sẵn trên thị trường.

Sau khi thu nhận, làm sạch, kiểm tra nguồn gen cần nhập tất cả các thông tin vào file cơ sở dữ liệu chi tiết đến mức có thể như: số liệu ban đầu, số liệu làm khô, làm sạch, kiểm tra nảy mầm, sức sống và sức khỏe hạt nguồn gen. Thông tin yêu cầu đầy đủ về phương pháp, kết quả phân tích cuối cùng, ngày thực hiện các hoạt động chuẩn bị nguồn gen.

4.2.6 Đóng bao và tồn trữ nguồn gen

Hạt mẫu nguồn gen sau khi kiểm tra được đóng bao, dán kín để đưa vào kho bảo quản. Đóng bao để ngăn ngừa hút ẩm, để tránh lẫn tạp, ngăn ngừa bệnh và côn trùng. Đóng bao thực hiện ngay sau khi làm khô và kiểm tra. Các loại dụng cụ đóng bao gồm lọ thủy tinh, can nhôm, bao nhôm và chai nhựa, tùy theo điều kiện kho bảo tồn và loài cây trồng để lựa chọn loại bao đóng gói phù hợp.

Các bước thực hiện bao gói mẫu nguồn gen như sơ đồ sau:



Hình 4-11: Các bước thực hiện bao gói mẫu nguồn gen

Trước khi đóng gói cần kiểm tra chất lượng bao gói như mức độ kín, khối lượng, làm dụng cụ trước khi đóng mẫu hạt. Số lượng hạt đóng trong một bao gói dựa trên khối lượng 100 hay 1000 hạt, ví dụ xác định số lượng hạt một bao gói bằng công thức sau:

$$\text{Số hạt một mẫu (1 bao gói)} = \frac{\text{Khối lượng mẫu(g)} \times 100}{\text{Khối lượng 100 hạt}}$$

Ví dụ:

Khối lượng mẫu theo tiêu chuẩn bảo tồn = 322 g

Khối lượng 100 hạt = 15,5 g

Số hạt bảo tồn trong một bao gói = 2077 hạt

Sau khi đóng gói cần ghi đầy đủ thông tin vào nhãn trên bao bì chứa mẫu nguồn gen: mã số mẫu, chi, loài, bao nhiêu bao gói (cho một mẫu nguồn gen), khối lượng, ngày cho vào tồn trữ... Những bao gói không đủ thông tin, mất hay nghi ngờ đều loại bỏ đi không đưa vào kho chứa.

4.2.7 Quản lý kho bảo tồn nguồn gen

Hai hình thức bảo tồn nguồn gen hạt khô sử dụng bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền là dài hạn và trung hạn. Bảo tồn dài hạn thấp hơn dưới 0°C thường là -18 đến -20°C. Mẫu nguồn gen hoạt động đảm bảo ít nhất 65% sống sót sau 10 - 20 năm bảo tồn (FAO/IPGRI, 1994), điều khiển độ ẩm thấp hơn và nhiệt độ cao hơn để giảm chi phí làm lạnh, những gợi ý nhiệt độ và độ ẩm trong kho bảo tồn như trình bày trong bảng 4-5

Bảng 4-5: Nhiệt độ và độ ẩm kho bảo tồn		
Nhiệt độ (°C)	Các đặc điểm kho	
	Nghèo (hành)	Tốt (lúa mạch)
	Độ ẩm (% độ ẩm cơ bản)	
25	3,0	7,0
20	3,5	7,5
15	5,0	8,0
10	6,0	9,0
5	7,0	10,0
0	8,0	11,0

a) Tổ chức các mẫu nguồn gen trong kho.

Một mẫu nguồn gen nên bảo tồn cả hai hình thức cơ bản và hoạt động, không gian xếp tùy thuộc vào nhiều yếu tố, tuy nhiên yếu tố chi phí phải tính đến khi bảo tồn vì chi phí làm lạnh tốn kém, do vậy không gian tối ưu là sắp xếp để chứa được tối đa số mẫu nguồn gen trong một phòng kho bảo tồn.

Kiểm tra số hạt của mẫu, khối lượng và nên có số hạt thống nhất trên tất cả các bao gói theo yêu cầu bảo tồn. Những mẫu nguồn gen khá đồng nhất về di truyền mỗi mẫu thường 3000 - 4000 hạt, những mẫu không đồng nhất 4.000 đến 12.000 hạt. Những mẫu không đủ số lượng theo yêu cầu cần nhân để tăng số hạt đưa vào bảo tồn.

Xác định vị trí của mẫu trong kho hay tủ bảo tồn và sắp xếp các mẫu vào kho hay tủ theo một trật tự khoa học. Nếu một mẫu chứa trong một số bao thì các bao xếp liền nhau trong khi hạt trong tủ

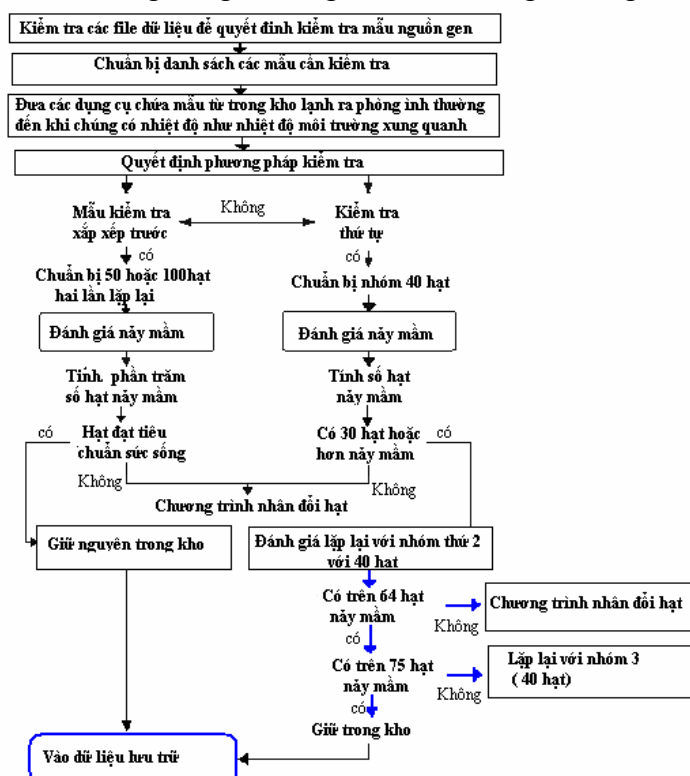
Nếu kho lớn, lựa chọn các giá có thể di chuyển được, mỗi giá chia thành một số tầng, khoảng cách các giá phụ thuộc vào dụng cụ chứa mẫu nguồn gen, nếu bao nhôm kích thước nhỏ có thể dụng khay chứa các bao mẫu đặt lên các ngăn trên giá sau khi sắp xếp cần có mã hóa các giá, ngăn chứa mẫu nguồn gen theo một trật tự nhất định thuận lợi cho quản lý và phải ghi trong máy tính của cơ sở dữ liệu. Ví dụ phòng A, giá số 1, ngăn số 2, khay số 1 (ký hiệu là A010201)

Nếu bảo tồn trong tủ lạnh chuyên dụng hay tủ lạnh đựng các bao gói hoặc hộp nhỏ phải xếp vừa trong các ngăn và giá tủ, danh sách và mã số nguồn gen cũng phải theo một trật tự quy định như tủ số, ngăn số, hàng, số hộp, vào sổ theo dõi nguồn gen và vào cơ sở dữ liệu để lưu trữ.

Bảo đảm an toàn nguồn gen không bị mất hay hư hỏng cần lưu trữ ở một số nơi, ngay cả lưu trữ ở nước ngoài gọi là bản sao an toàn nguồn gen. Cỡ mẫu bản sao thường nhỏ hơn mẫu gốc bảo tồn nhưng phải đảm bảo số lượng ít nhất nhân được 3 thế hệ. Các kỹ thuật với bản sao cũng tương tự như mẫu gốc, độ ẩm hạt là $5 \pm 2\%$, hạt sạch, có sức khỏe tốt và tỷ lệ nảy mầm trên 85%.

b) Kiểm tra và nhân thay đổi hạt nguồn gen

Kiểm tra nguồn gen là quy định bắt buộc thường xuyên kiểm tra chất lượng và số lượng của nguồn gen bảo tồn trong kho hạt mục đích để nhân nguồn gen theo yêu cầu, bởi vì nguồn gen giảm dần sức sống trong quá trình bảo tồn trong kho qua thời gian. Kiểm tra thường xuyên để phát hiện kịp thời những nguồn gen giảm sức sống cần nhân để đổi hạt mới. Khoảng thời gian định kỳ kiểm tra tùy theo loài cây trồng và điều kiện bảo tồn. Theo FAO/IPGRI, 1994 kiểm tra thực hiện định kỳ 10 năm một lần với nguồn gen cơ bản, bảo tồn dài hạn với điều kiện -18°C , tỷ lệ nảy mầm ban đầu bảo tồn $> 95\%$. Các loài hạt có tuổi thọ kém hơn như hạt cây có dầu thời gian định kỳ kiểm tra ngắn hơn thường sau 5 năm bảo tồn. Các bước thực hiện kiểm tra nguồn gen trong kho bảo tồn ngân hàng hạt theo sơ đồ



Hình 4-12 : Các bước và phương pháp kiểm tra ngân hàng gen hạt

Bảng 4-6 : Định kỳ kiểm tra nguồn gen với độ ẩm hạt ban đầu và loại hạt khác nhau

Phần trăm nảy mầm khi bảo tồn (%)	Định kỳ kiểm tra (năm)			
	Nguồn gen hoạt động (4 - 5°C)		Nguồn gen cơ bản (-20°C)	
	Hạt không có đầu	Hạt có đầu	Hạt không có đầu	Hạt có đầu
<80	3	1	5	2
80 - 85	5	3	10	5
85 - 95	8	5	15	8
>95	12	8	20	12

Phương pháp lấy mẫu và cơ mẫu để kiểm tra sức sống, nảy mầm của nguồn gen là mẫu cố định hay tuần tự. Lấy mẫu 2 lần lặp lại, mỗi lần 100 hạt, nếu nguồn gen có số lượng hạn chế có thể lấy 50 -100 hạt cho hai lần lặp lại. Khi lấy mẫu phải trên sơ đồ sắp xếp nguồn gen và thực hiện kiểm tra cùng phải ghi chép danh sách cẩn thận tránh nhầm lẫn. Kiểm tra nảy mầm như đã trình bày phân đánh giá nguồn gen trước khi lưu trữ bảo tồn. Sai khác nảy mầm giữa hai lần lặp lại phải nhỏ hơn 10%, khi trung bình hai lần lặp lại mẫu nguồn gen có tỷ lệ nảy mầm < 85% phải nhân giống để đổi mới hạt nguồn gen

Bảng 4-7: Độ ẩm hạt ban đầu và khi kiểm tra cần thực hiện nhân đổi hạt

Tỷ lệ nảy mầm khi bảo tồn (%)	Phải nhân đổi hạt khi kiểm tra tỷ lệ nảy mầm thấp hơn (%)	Tỷ lệ nảy mầm khi bảo tồn (%)	Phải nhân đổi hạt khi kiểm tra tỷ lệ nảy mầm thấp hơn (%)
100	85	99	84
98	83	97	82
96	82	95	81
94	80	93	79
92	78	91	77
90	77	89	76
88	75	87	74
86	73	85	72

Bên cạnh kiểm tra chất lượng cần kiểm tra khối lượng so với khối lượng ban đầu bảo tồn, cập nhật tất cả các thông tin kiểm tra vào cơ sở dữ liệu

4.2.8 Nhân nguồn gen

Nguồn gen nhân đổi hạt và sự phục hồi nguồn gen bằng gieo và thu hoạch hạt, nhưng yêu cầu giữ nguyên không làm thay đổi di truyền của nguồn gen. Nhân đổi hạt nguồn gen là một hoạt động quan trọng trong quản lý ngân hàng gen hạt, sau một chu kỳ hay tránh những rủi ro làm mất hoặc xói mòn ngân hàng gen. Nhân hạt nguồn gen thực hiện trong những trường hợp :

- + Hạt nguồn gen khi nhận số lượng ít không đủ số lượng bảo tồn
- + Hạt có chất lượng và sức sống thấp hoặc bị nhiễm bệnh
- + Nhân để tăng số hạt cho bảo tồn ngân hàng gen cơ bản và ngân hàng gen hoạt động, ngân hàng gen hoạt động (active collections) được nhân từ ngân hàng gen cơ bản (base collections). Quá trình nhân này cần có những kỹ thuật đặc thù với các loài cây giao phấn. Sử dụng các hạt từ ngân hàng gen hoạt động. Nhân ba chu kỳ để trở về hạt gốc cho nguồn gen cơ bản cũng được chấp nhận theo quy định của (FAO/IPGRI,1994). Ngân hàng gen cơ bản cũng được nhân để tăng số lượng và sử dụng cho đổi hạt

- + Nhân hạt cho những yêu cầu đặc biệt như cung cấp cho các nhà tạo giống những tính trạng đặc thù như năng suất và chống bệnh

Nhân hạt nguồn gen đảm bảo nguyên tắc:

- Nhân trong môi trường phù hợp để chọn lọc tự nhiên xảy ra nhỏ nhất, nếu có thể thì nhân trong điều kiện sinh thái gốc của nguồn gen
- Đảm bảo các yêu cầu đặc thù cho hạt nảy mầm như phá ngủ kích thích nảy mầm
- Cách ly tối ưu giữa các mẫu nguồn gen và với khu sản xuất khác trên đồng ruộng
- Điều khiển thụ phấn theo loài cây trồng
- Kiểm tra môi trường trước khi nhân về đặc điểm đất đai, khí hậu... để áp dụng kỹ thuật trồng trọt phù hợp với yêu cầu của nguồn gen
- Chọn địa điểm nhân có đất đai đồng nhất, thuận lợi tưới tiêu, sạch bệnh và cỏ dại
- Làm đất trước khi gieo ít nhất 6 tuần để diệt mầm sâu bệnh, cỏ dại, cày và bừa kỹ, san phẳng ruộng và mặt luống. Những loài trồng trên luống, lên luống kích thước phù hợp với loài cây trồng đó
- Áp dụng kỹ thuật che phủ nilông trắng trong và độ dày 1 - 2mm trên mặt luống, làm vòm tránh thời tiết bất thuận
- Dọn sạch xung quanh ruộng nhân nguồn gen ít nhất 0,5m, phun thuốc khử trùng đất và khu vực nhân hạt
- Hạt phơi hong khô lại, làm sạch, xử lý chống bệnh và kỹ thuật ngâm ủ phù hợp
- Số lượng hạt gieo được ước tính bằng công thức sau:

$$\text{Số hạt gieo} = \frac{\text{Số cây cần nhân}}{\text{tỷ lệ nảy mầm} \times \text{tỷ lệ mọc trên đồng ruộng}}$$

Ví dụ :

Quần thể cần nhân là 1500 cây

Tỷ lệ nảy mầm = 0,85

Tỷ lệ mọc = 0,80

Số hạt cần gieo là 2205 hạt

Quần thể nhân hạt không được quá nhỏ đối với cây giao phấn để tránh cận phối, kỹ thuật gieo trồng và quản lý đồng ruộng áp dụng tối ưu với loài, mật độ trồng thưa hơn sản xuất tránh cạnh tranh quần thể và thuận lợi cho theo dõi, làm cỏ, bón phân, tưới nước, phòng trừ sâu bệnh phù hợp với mỗi loài cụ thể.

Trong suốt quá trình gieo trồng, đánh giá tất cả các tính trạng hình thái để nhận biết những cá thể đúng nguyên trạng di truyền của mẫu nguồn gen, khử bỏ những cây khác dạng trước khi nở hoa, trổ cờ. Đảm bảo điều khiển thụ phấn phù hợp tránh trao đổi gen trong và giữa các quần thể

Thu hoạch khi có số hạt chín tối đa, thu hoạch từng cá thể, tách hạt ở độ ẩm thích hợp những kỹ thuật tiếp theo như làm khô, làm sạch, kiểm tra thực hiện theo quy trình tiếp nhận nguồn gen, đăng ký và kiểm tra nguồn gen trước khi đưa vào kho bảo tồn. Ghi nhận đầy đủ thông tin về quá trình nhân đôi hạt để cập nhật vào cơ sở dữ liệu.

4.3 BẢO TỒN NGÂN HÀNG GEN ĐỒNG RUỘNG

(Bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng với loài không bảo tồn hạt khô (non-orthodox) và các loài nhân giống vô tính)

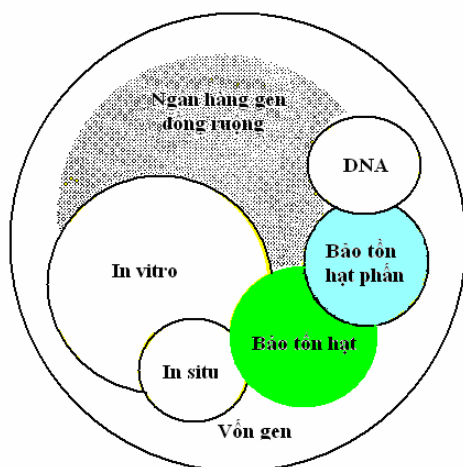
Trái ngược với bảo tồn hạt khô, một số loài ở vùng nhiệt đới và á nhiệt đới như dừa, cacao và nhiều loài cây ăn quả, cây rừng khác tạo ra hạt chín có độ ẩm cao (không khô), và thường mầm cảm với làm khô và nhiệt độ thấp. Chúng không thể duy trì dưới điều kiện bảo tồn hạt như hạt khô với điều kiện nhiệt độ và ẩm độ thấp. Hạt của những loài này gọi là

“bảo thủ”(recalcitrant), phải giữ trong điều kiện ẩm và ẩm để duy trì sức sống (Roberts,1973, Chin và Roberts,1980). Ngay cả phương thức bảo tồn tối ưu, sức sống của chúng cũng chỉ giới hạn trong vài tuần, đôi khi vài tháng. Trên 7.000 loài bảo tồn hạt có tới 3% thuộc loại hạt này và 4% có thể là loại hạt rất mẫn cảm với khô và nhiệt độ thấp. Những nghiên cứu gần đây hơn chỉ ra rằng có một số loài biểu hiện trung gian có thể làm khô với độ ẩm khá thấp, số loài có hạt thuộc dạng trung gian này chiếm khoảng 1% của 7.000 loài đang bảo tồn bằng hạt.

Ngân hàng gen là một chiến lược trong bảo tồn di truyền thực vật, bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng (field genebank) là một phương pháp bảo tồn *Ex situ* quan trọng và cần thiết với loài cây trồng sức sống của hạt trong thời gian ngắn như cò dầu, xoài, mít, chôm chôm... Những loài cây trồng bất dục và phụ thuộc hoàn toàn vào nhân giống sinh dưỡng như khoai sọ, chuối, khoai tây, khoai lang, sắn, dứa, mía. Bảo tồn ngân hàng gen trên đồng ruộng là đem cây trồng từ nơi thích nghi của chúng về trồng trong khu bảo tồn có điều kiện thích nghi hoặc không thích nghi. Frankel năm 1970 đã ghi nhận rằng phương pháp này sẽ có chọn lọc tự nhiên và tăng cơ hội lai tự nhiên giữa các vật liệu nguồn gen, các yếu tố này sẽ ảnh hưởng đến cấu trúc quần thể là khí hậu, đất đai và các yếu tố sinh học khác. Sinh sản bằng hạt ảnh hưởng mạnh hơn nhân giống vô tính. Nếu trong nhà kính, nhà lưới có thể điều khiển được môi trường sẽ giảm bớt những tác động này.

Diện tích bảo tồn ngang bằng lượng mẫu, trồng trong nhà có mái che với những loài có tương tác mạnh giữa kiểu gen và môi trường, dễ nhiễm bệnh hoặc môi giới truyền bệnh. Với những loài cây có củ, thân bò dưới mặt đất cần có khoảng cách thích hợp để không bị lẫn tạp dòng vô tính. Cần có kỹ thuật canh tác phù hợp như cung cấp dinh dưỡng, phòng trừ sâu bệnh và tưới nước đối với loài cụ thể. Duy trì cây dài ngày rẽ hơn cây ngắn ngày vì giảm số lần nhân, do vậy duy trì đúng kiểu gen tốt hơn, cây hoang dại khó duy trì hơn cây đã thuần hóa. Cây nhân giống sinh dưỡng khó khăn nhất là tránh nhiễm virus trong quá trình nhân, kỹ thuật nhân và quản lý đồng ruộng quan trọng tránh lây nhiễm bệnh cần quan tâm với phương pháp bảo tồn đồng ruộng.

Vùng Châu á Thái Bình Dương và Châu Đại Dương (APO) có mức độ đa dạng nguồn gen cây trồng và cây rừng cao nhất, cùng với đa dạng của văn hóa sinh học và sinh thái nông nghiệp. Những Trung tâm thuần hóa cây trồng như Ấn Độ, Trung Quốc, Đông Nam Á và Thái Bình Dương (Frankel và Bennett,1970, Zohary,1970 và Harlan,1975;1992). Thực vật phát sinh ở những vùng này là lúa, chuối, cam quýt, dứa và phát tán ra khắp thế giới



Hình 4-13: Mô hình lý thuyết về sử dụng hỗ trợ lẫn nhau của các kỹ thuật bảo tồn
(Nguồn Lyndsey A. Withers,2001)

Bảo tồn nguồn gen không chỉ thực hiện đơn lẻ một kỹ thuật mà phối hợp, bổ trợ lẫn nhau của các phương pháp bảo tồn khác nhau của phương pháp bảo tồn *In situ* và *Ex situ*, trong đó ngân hàng gen đồng ruộng là một kỹ thuật quan trọng như minh họa tại hình 4-13

Các thành phần của nguồn tài nguyên di truyền thực vật: Nguồn gen cây trồng là chuỗi các kiểu gen và quần thể đại diện của giống, kho dự trữ di truyền và các loài hoang dại được duy trì dưới hình thức cây, hạt và mô, quần thể hoang dại, trên trang trại. Về mặt chức năng, PGR tạo thành các giống địa phương, các giống tiên bộ, giống cải tiến, loài hoang dại và loài họ hàng hoang dại (bao gồm cả thuần hóa hoặc không thuần hóa)

4.3.1 Chọn điểm và thu thập nguồn gen cho bảo tồn đồng ruộng

Ngân hàng gen đồng ruộng là một kỹ thuật trong chiến lược bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật, nó là một phương pháp bảo tồn *Ex situ*, biến dị di truyền được đưa ra khỏi môi trường thuần hóa, tiến hóa và thích nghi của chúng, mẫu nguồn gen của loài, loài phụ hoặc giống chuyển về các trung tâm bảo tồn (Frankel, 1970). Bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng là cần thiết do những lý do đã đề cập ở phần trước, bảo tồn bằng kỹ thuật ngân hàng gen đồng ruộng sẽ có chọn lọc và giao phần tự nhiên. Các yếu tố ảnh hưởng đến cấu trúc quần thể là khí hậu, đất đai, thành phần sinh học, tuổi thọ loài, hệ thống tạo giống, cạnh tranh, mức độ chăm sóc. Loài sinh sản bằng hạt sẽ bị ảnh hưởng mạnh hơn sinh sản vô tính, cây ngắn ngày, thấp cây khoảng cách dày hơn cây cao dài ngày. Trồng trong nhà lưới, nhà kính có điều khiển môi trường, chăm sóc tốt giảm tác động của môi trường thay đổi đến nguồn gen

Những vấn đề trên cần quan tâm trong bảo tồn trên đồng ruộng, bảo tồn trên đồng ruộng bao gồm nhưng kỹ thuật cơ bản là thu thập mẫu, bảo tồn, đánh giá và sử dụng

Mục đích thu thập mẫu cho bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng là thu được đa dạng tối đa từ một kích thước và số mẫu tối thiểu, cả hai phương pháp lấy mẫu ngẫu nhiên và không ngẫu nhiên đều được sử dụng trong thu thập mẫu. Mẫu không ngẫu nhiên chỉ khi đã nhận biết rõ về đặc điểm hình thái, đặc điểm chống chịu bệnh và đặc tính sinh lý khác (Hawkes, 1987), phương pháp lấy mẫu đã được mô tả trong chương thu thập mẫu trong chương 2.

Lấy mẫu đối với các cây trồng lấy hạt:

Cả giống cây trồng và nguồn vật liệu hoang dại lấy mẫu ngẫu nhiên và không ngẫu nhiên được lấy theo khoảng thời gian và không gian nhất định, phụ thuộc vào mức độ đa dạng của môi trường. Một khu vực đồng nhất với sự khác biệt nhỏ nhất về khí hậu, đất đai, thực vật và kỹ thuật canh tác, giống cây trồng, độ cao, khoảng cách không gian lấy mẫu có thể là khá rộng từ 20 - 50 km hoặc rộng hơn. Những khu vực đa dạng hơn tần suất lấy mẫu khoảng 01 km hoặc nhỏ hơn khoảng 100m với độ cao khác nhau. Quần thể mẫu của một điểm lấy mẫu và cây hàng năm kích thước mẫu là ruộng nông dân, cây hoang dại 5 x 5 m đến 50 x 50 m phù hợp với quần thể và mật độ các cá thể. Mỗi cây thu 50 hạt để được 2.500 đến 5.000 hạt cho mỗi mẫu. Mẫu không ngẫu nhiên được áp dụng khi biến dị không có trong mẫu ngẫu nhiên

Lấy mẫu với cây lâu năm:

Cây lâu năm bao gồm nhóm cây thân gỗ và thân bụi, thu thập bộ phận sinh dưỡng tốt hơn, nhưng nếu thu hạt, nên gieo trong vài tuần nếu hạt khó làm khô. Chiến lược thu thập cần xem xét trước khả năng bảo quản và cấu trúc quần thể để có kỹ thuật thu thập phù hợp. Số lượng thu thập khuyến cáo cho cây trồng lấy hạt là rất lớn, nhưng những loài cây trồng quả lớn như dừa chỉ cần thu 10 - 15 quả.

Lấy mẫu với vật liệu hoang dại:

Vật liệu hoang dại thu thập hạt ngẫu nhiên 10 đến 15 cá thể, trong phạm vi 10 ha hoặc diện tích tương tự và hỗn hợp tạo thành một mẫu nguồn gen. Một mẫu thu số lượng lớn đến mức có thể, nếu không có hạt hoặc hạt khó làm khô, thu mẫu là bộ phận sinh dưỡng thì mỗi mẫu sinh dưỡng thu trên 01 cây, thu 10 đến 15 cá thể trong kích thước 10 ha, thu thập có thể lặp lại phụ thuộc vào khí hậu, độ cao hoặc đất đai khác nhau

Thu thập vật liệu trồng trọt:

Nếu cây lấy gỗ trồng từ hạt, thì một thôn/bản coi như một điểm thu thập và mẫu quần thể ngẫu nhiên tạo thành bởi 10 - 15 cá thể trong làng và hỗn hợp hạt tạo thành một mẫu nguồn gen và nếu không có hạt thu thập bộ phận sinh dưỡng. Nếu cây trồng từ nhân giống vô tính do chọn lọc các giống, dòng vô tính, mỗi một giống khác biệt rõ rệt ở một hay nhiều thôn/bản thu thập và hỗn hợp tạo thành một mẫu nguồn gen. Nếu loài đó là kiểu gen duy nhất, các cây của kiểu gen này trong một thôn/bản coi như một quần thể để thu thập.

Mỗi một giống khác biệt thu thập ở một chợ hoặc làng và lặp lại trong khoảng cách 10 - 50 km ở khu vực đó. Lấy mẫu thu thập đảm bảo bao gồm toàn bộ các dạng hình thái tại từng điểm thu thập, nhưng nơi có thể thu thập bổ sung thêm hạt.

Lấy mẫu cây ngắn ngày sinh sản vô tính:

Nhóm cây này là những loài cây thân thảo sinh sản bằng củ, rễ, nhánh, thân hành. Nếu các loài này tiếp tục sinh sản sinh dưỡng, thu 3 - 5 cây là đảm bảo yêu cầu, nếu tất cả các cây trong quần thể là dòng vô tính như vậy. Mặc dù vậy, một số loài trong chúng, đặc biệt các loài hoang dại họ hàng của chúng có khả năng sinh sản cả bằng hữu tính và vô tính khi đó kỹ thuật thu thập tương tự thu cây có hạt.

Lấy mẫu với vật liệu hoang dại:

Một cánh giâm (chòi, mâm), thu trên 1 cá thể và tổng 10 -15 cá thể hỗn hợp tạo thành một mẫu, nếu cơ quan thu thập quá lớn chỉ cần thu 2 - 3 cá thể. Diện tích một điểm lấy mẫu thu 100 x 100m hoặc nhỏ hơn khi quần thể nhỏ hơn. Các điểm lấy mẫu trải rộng trên phạm vi biến động của môi trường, nếu có thể thu hạt bổ sung riêng không tính vào số mẫu sinh dưỡng trên

Tất cả các thông tin thu thập cần được ghi lại như đã trình bày trong chương 2 như : ngày thu thập, điểm thu thập, tần suất thu, nơi thu (chợ, ruộng nơi hoang dại...). Tuy nhiên qua các năm lượng thông tin ngày càng lớn cần tạo thành các cơ sở dữ liệu theo phương pháp của IPGRI.

4.3.2 Nguyên lý bảo tồn đồng ruộng

Mục đích của thu thập nguồn gen và phương thức lấy mẫu để xác định duy trì nó như thế nào? vật liệu nào yêu cầu nghiên cứu tiến hóa, hệ thống hóa, tế bào học, bệnh học. Thiết kế bảo tồn đồng ruộng rất quan trọng để duy trì tính toàn vẹn các thành phần, tính trạng của vật liệu bảo tồn. Nếu yêu cầu của nhà tạo giống là một vốn gen có nền biến dị rộng, có thể duy trì như một khu chứa hỗn hợp và nó sẽ cung cấp một hỗn hợp các biến dị thích nghi với điều kiện địa phương cần thiết cho cải tiến cây trồng một cách bền vững. Hệ thống dự trữ hỗn hợp cần ít lao động và chi phí để trồng và thu hoạch, quá trình tiến hóa vẫn xảy ra trong hệ thống dự trữ này. Mặc dù vậy, Marshall và Brown, 1975 ghi nhận rằng bảo tồn hỗn hợp làm giảm biến dị di truyền nhanh chóng và nguyên lý này không sử dụng để bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật hiện nay bằng phương pháp bảo tồn đồng ruộng.

Những đòi hỏi cỡ mẫu tồn trữ cây nhân giống vô tính sinh dưỡng và cây thân gỗ nên xác định 8.000 đến 20.000 hạt với cây lấy hạt, số lượng phụ thuộc vào biến dị của quần thể thu thập và tổ hợp là 4000 đến 12 000 cho nguồn gen cơ bản, 1.000 – 3.000 bản sao của nguồn gen cơ bản và 3.000 đến 5.000 mẫu của nguồn gen hoạt động. Số lượng này lớn hơn

so với số lượng thu thập đã quy định trong lượng mẫu thu thập nguồn gen, do vậy cần có quá trình nhân sau thu thập để tăng lượng hạt và vật liệu cho bảo tồn.

Diện tích đất trồng đảm bảo cho số lượng mẫu chứa đủ các biến dị di truyền của loài, một số loài, hoặc nơi có ảnh hưởng của côn trùng truyền bệnh virus trồng trong nhà có mái che điều khiển môi trường, có thể sử dụng lưới hoặc ni lông thay thế. Những cây phát triển củ, thân bò dưới mặt đất dài và xa với gốc, trồng trong chậu để tránh lẫn vô tính nguồn gen.

Những cây trồng trên ruộng hoặc vườn ươm yêu cầu phân hữu cơ để cân bằng dinh dưỡng, ngăn ngừa sâu bệnh và tưới nước. Duy trì cây thân gỗ rễ hơn cây nhỏ dài ngày giảm thay đổi di truyền vì số lần nhân của cây dài ngày ít hơn cây ngắn ngày, do vậy giảm bớt thay đổi sau mỗi lần nhân. Những cây dài ngày yêu cầu diện tích lớn dẫn đến quần thể hạn chế và chi phí trên một cây bảo tồn cao. Trồng và thu hoạch thực hiện hàng vụ với cây ngắn ngày dẫn đến chi phí cao và lẫn giống do sai sót của con người trong quá trình quản lý đồng ruộng, thu hoạch, chế biến và bảo tồn.

Singh và Williams, 1984 ghi nhận rằng với những quần thể hoang dại duy trì khó khăn hơn so với cây đã thuần hóa. Cây hoang dại khi ra hoa bao cả hoa để khỏi rơi mất hạt và có thể hạt nảy mầm ngay trên cây. Khó khăn lớn nhất cả bảo tồn cây sinh sản sinh dưỡng là bệnh virus, do vậy ngăn ngừa và kiểm tra virus trên đồng ruộng là kỹ thuật quan trọng nhất. Cán bộ bảo tồn cần phải đào tạo tốt và kỹ lưỡng để sai sót xảy ra ở mức thấp nhất trong quá trình trồng, thu hoạch, kiểm tra, phân loại, sắp xếp ngân hàng gen đồng ruộng. Hawkes và Jackson, 1992 đề nghị ngân hàng cây con cũng áp dụng với những cây hạt khó làm khô. Những loài này thường có hạt lớn, nảy mầm nhanh dưới điều kiện tự nhiên. Cây con có thể sống thời gian dài dưới tán rừng điều kiện ánh sáng thấp đến khi mở tán đầy đủ.

Bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng có hai yếu tố ảnh hưởng mạnh là cạnh tranh quần thể và thời tiết khí hậu nơi bảo tồn. Cây trồng trong một lô hay giữa các lô có những đặc điểm tối ưu cho ánh sáng, dinh dưỡng và nước tưới cũng là một yêu cầu trong bảo tồn đồng ruộng. Thực tế chứng minh cây trồng trong điều kiện ít cạnh tranh thường cho năng suất tốt hơn khi cạnh tranh cao trên một quần thể cơ bản. Ảnh hưởng của cạnh tranh thực vật rõ nét trên các đặc điểm rễ bị ảnh hưởng của môi trường (tính trạng số lượng). Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng cạnh tranh quần thể ít ảnh hưởng đến tính trạng chất lượng. Hai hình thức cạnh tranh là cạnh tranh trong quần thể và cạnh tranh giữa các quần thể. Hình thức cạnh tranh thứ nhất không quan trọng đối với thử nghiệm và bảo tồn, trong khi hình thức thứ 2 ảnh hưởng rất mạnh, do vậy kỹ thuật bảo tồn đảm bảo giảm cạnh tranh đến mức tối thiểu có thể. Trong một lô thí nghiệm các cây xung quanh thường có sức sống tốt hơn ở giữa ruộng do điều kiện ánh sáng, dinh dưỡng tốt hơn, cạnh tranh kiểu này đặc biệt với loài cao cây và thời gian chín khác nhau. Mặc dù vậy, trong ngân hàng gen đồng ruộng với cây cao không cần hàng bảo vệ nhưng vẫn thu thập số liệu trên những cây ở giữa để giảm ảnh hưởng của cạnh tranh giữa các quần thể. Các yếu tố thời tiết khí hậu như lượng mưa và nhiệt độ và nhiều yếu tố khí hậu khác không giống nhau từ năm này qua năm khác và địa phương này so với địa phương khác. Các kiểu gen khác nhau có thể phản ứng khác nhau với các điều kiện này. Do vậy những số liệu 01 năm, 01 địa phương không sử dụng để đánh giá chung cho kiểu gen, đặc biệt những tính trạng số lượng. Nhưng đối với bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng những kỹ thuật này không cần thiết, trừ khi đánh giá kiểu gen cho sử dụng mới cần đánh giá qua nhiều điểm, nhiều năm.

Thiên tai như bão, lũ, hạn, ngập, rét đậm có thể gây nguy hiểm đối với bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng, đôi khi làm mất nguồn gen. Chọn địa điểm bảo tồn và phương án phòng chống thiên tai cho khu bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng là một công việc phải chuẩn bị trước khi thực hiện bảo tồn

4.3.3 Bố trí xấp xếp ngân hàng gen đồng ruộng

Theo T.C.Yap và Mohd Said Saad (2001) sự không đồng nhất của đất đai thể hiện qua độ chênh cao, thành phần hóa học đất và các yếu tố sinh vật khác. Độ chênh cao có thể xác định bằng quan sát, quan sát trực tiếp về độ chênh cao hoặc dụng cụ thước cân bằng. Xác định sự không đồng nhất có thể thông qua cây trồng biểu hiện của cây trồng về chiều cao, sinh trưởng phát triển, đặc biệt cây loài cây tự thụ phấn và chiều cao biến động theo xu hướng hoặc theo các chiều hướng chỉ ra mức độ không đồng nhất của đất về địa hình và thành phần hoá học. Nhìn chung sự không đồng nhất của đất luôn xảy ra với tất cả thí nghiệm đồng ruộng khi diện tích ruộng thí nghiệm càng lớn thì mức độ không đồng nhất càng cao. Trong trường hợp không có thông tin trước về đất đai, trồng bảo tồn các loài cây hàng năm, ngắn ngày sẽ tốt hơn các loài cây dài ngày. Gieo trồng bảo tồn một khu vực nhỏ để giảm mức độ sai khác và dễ điều chỉnh sự không đồng nhất của đất và môi trường. Nhà nghiên cứu có một số phương pháp tiếp cận để giảm sai khác của đất và môi trường bằng kỹ thuật bố trí thí nghiệm, kỹ thuật lặp lại, ngẫu nhiên và kỹ thuật khối như đối với phương pháp thí nghiệm đồng ruộng khác.

Lặp lại: để số liệu đáng tin cậy khi thực hiện nghiên cứu, các kiểu gen nên đánh giá mỗi kiểu gen trong một vài ô và lặp lại. Như vậy để đánh giá chính xác, tính toán các tham số thống kê, phân tích sai khác có ý nghĩa của các kiểu gen. Số lần lặp lại tối thiểu phù hợp để đánh giá ước lượng là 2 – 3 lần khi số lượng mẫu lớn. Tuy nhiên trong thực tế, có một số khó khăn để áp dụng do số lượng mẫu nguồn gen quá lớn. Nhìn chung bậc tự do nên nhỏ hơn 10, nhưng những cây lớn lặp lại nhiều là không khả thi, do vậy cây lâu năm, cây lớn chỉ nên lặp lại tối đa là 3 lần

Ngẫu nhiên: ngoài lặp lại, các kiểu gen cần được bố trí ngẫu nhiên vào các ô thí nghiệm khác nhau, như vậy sai số thí nghiệm độc lập, giá trị quan sát xung quanh giá trị trung bình quần thể, ước lượng giá trị trung bình kiểu gen sẽ đáng tin cậy hơn. Giả định này rất hữu ích cho phân tích phương sai

Ngay cả trong trường hợp ngẫu nhiên ấn định các kiểu gen vào các ô khác nhau đem lại sự ước lượng tin cậy khác nhau, tách khỏi ảnh hưởng hệ thống của môi trường, sự tiếp cận cho phân tích sai khác có ý nghĩa không hiệu quả nếu không giảm sai số thí nghiệm. Kỹ thuật giảm sai số thí nghiệm có thể không ảnh hưởng đến kết quả phân tích thống kê nếu sử dụng kỹ thuật ngẫu nhiên trên đồng ruộng phù hợp. Trong thực tế thường quan sát để điều chỉnh các ô trên ruộng tương đối gần nhau để các ô của một kiểu gen khá đồng nhất về môi trường.

Kỹ thuật khối: kỹ thuật khối áp dụng trong bố trí bảo tồn trên đồng ruộng, sau đó ấn định các kiểu gen ngẫu nhiên trong khối, như vậy đánh giá các kiểu gen trong điều kiện đồng nhất hơn. Số khối cân bằng với số lần lặp lại với mỗi kiểu gen. Khối chạy vuông góc với chiều biến động của môi trường, trong trường hợp như vậy sai số thí nghiệm có thể giảm ở mức tối thiểu, sai số thí nghiệm do môi trường có thể được loại trừ trong phân tích phương sai. Kiểu thiết kế khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD) được sử dụng phổ biến trong thí nghiệm đánh giá kiểu gen ở giai đoạn sau khi số lượng kiểu gen giảm. Ngân hàng gen đồng ruộng, số kiểu gen lớn nên thường sử dụng khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh (lattice design), nếu biến động môi trường ruộng thí nghiệm theo nhiều chiều bố trí ô vuông la tinh sẽ phù hợp hơn các phương pháp khác.

4.3.4 Quản lý đồng ruộng

a) Vật liệu gieo trồng

Vật liệu gieo trồng ngân hàng gen đồng ruộng có thể bằng hạt hay cơ quan sinh dưỡng như chồi, mầm, củ, cây ghép, cây giâm cành hoặc cây con nuôi cấy *In vitro*.

Vật liệu gieo ngân hàng gen là hạt: hầu hết hạt các loài cây ăn quả nhiệt đới dễ nảy mầm, nhưng vẫn có một số loài khó nảy mầm do ngủ nghỉ, mất sức sống trong một thời gian ngắn và có loài mất thời gian khá dài mới nảy mầm. Do vậy cần nắm được khả năng nảy mầm của hạt nguồn gen xây dựng kỹ thuật phá ngủ, gieo trồng ngân hàng gen đồng ruộng phù hợp. Nhiều loài cây ăn quả nhiệt đới hạt và quả chống lại quá trình làm khô như quả dừa chống lại làm khô tự nhiên, chúng mất sức sống khi làm khô và nhiệt độ lạnh. Do vậy khi thu thập vật liệu gieo trồng ngân hàng gen đồng ruộng phải gieo trồng ngay, thu thập vật liệu vào thời gian phù hợp mùa vụ để gieo trồng ngay. Trong trường hợp hạt của những loài mất sức sống, sức nảy mầm nhanh hoặc không thể thu vật liệu gieo trồng bằng hạt, vật liệu gieo trồng là cơ quan sinh dưỡng.

Vật liệu gieo trồng là cơ quan sinh dưỡng: gồm các nhóm cây gieo trồng bằng củ, mầm, chồi thu hoạch vật liệu (củ, mầm, chồi) sạch bệnh, những loài cây dễ nhiễm virus, vật liệu phải được kiểm tra bệnh bằng ELISA hoặc PCR để loại bỏ củ nhiễm bệnh trước khi đưa vào bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng (ví dụ như khoai tây). Củ, mầm của một số loài cây ngủ nghỉ hay yêu cầu xuân hóa mới nảy mầm, vật liệu sau khi thu thập xử lý phá ngủ hay xuân hóa trước khi gieo trồng vào ngân hàng gen đồng ruộng.

Một số loài cây ăn quả nhiệt đới nhân giống vô tính bằng chiết cành, nhân chồi, tách chồi, ghép, chiết và giâm. Sử dụng kỹ thuật nhân giống phù hợp với mỗi loài, đảm bảo cây con đúng nguồn gen, sạch bệnh, sinh trưởng tốt đưa vào trồng trong vườn ngân hàng gen.

b) Chọn địa điểm và đất gieo trồng ngân hàng gen đồng ruộng

Địa điểm bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng thuận lợi giao thông, có hệ thống tưới tiêu, đất tốt, thoát nước và cách ly không gian với các khu vực sản xuất khác. Ngân hàng gen đồng ruộng trong một khu vực riêng, có cơ sở hạ tầng tốt tránh mất nguồn gen, thuận tiện cho canh tác, quản lý, đánh giá và sử dụng.

Một số loài yêu cầu đất đai khô thoáng, đất tốt, giàu mùn, thoát nước giúp cho bộ rễ phát triển. Những loài này chọn đất, chuẩn bị đất và phân bón yêu cầu cao hơn khi bảo tồn ngân hàng gen đồng ruộng. Một số loài có giai đoạn vườn ươm yêu cầu ánh sáng nhẹ, phải nhân giống dưới bóng dâm hoặc nhà có mái che tránh ánh sáng trực xạ và điều kiện thời tiết bất thuận như một số loại rau, dưa, dứa...

Chọn đất vườn ươm cho các loài cây có giai đoạn vườn ươm khác với đất sản xuất, diện tích nhỏ nhưng yêu cầu đất tốt, thuận lợi tưới tiêu và thoát nước. Ngày nay công nghệ phát triển vườn ươm trồng cây con được thực hiện trong nhà có mái che, giá thể gieo ươm cây con chế biến sẵn, làm giàn ươm để tận dụng diện tích nhà có mái che.

c) Mùa vụ gieo trồng

Mùa vụ đối với cây hàng năm, đặc biệt là thời gian ra hoa đậu quả phù hợp với mỗi loài, những loài cây nhân giống vô tính như cây ăn quả, hoa, cây cảnh thời vụ chiết, ghép hoặc giâm xác định vào thời gian thích hợp trong năm. Ví dụ gieo ươm cây con họ cam quýt thường vào vụ hè thu năm trước để ghép nhân giống vào vụ thu năm sau, cây táo thời vụ ghép nhân giống vào tháng 6 tháng 7 như vật gieo cây gôm ghép vào tháng 2...

d) Chuẩn bị đất

Chuẩn bị đất trước khi gieo trồng ít nhất 20 ngày để diệt cỏ dại, mầm bệnh trong đất, cày bừa kỹ giúp bộ rễ sinh trưởng phát triển thuận lợi, những cây kém chịu sũng nước cần lên luống cao và thoát nước. Đất sau khi chuẩn bị được xử lý khử trùng bằng thuốc hóa học, đốt hay biện pháp khử trùng khác.

e) Quản lý vườn ngân hàng gen đồng ruộng

+ Phân bón

Phân bón đối với cây hàng năm khác so với cây lâu năm cả về lượng bón, thời gian bón và phương pháp bón. Lượng phân bón và phương pháp bón đảm bảo cân đối đạm, lân, kali và phân hữu cơ, cây ngắn ngày tập trung bón lót, bón thúc lần 1 và bón trước ra hoa không bón nhiều lần, cây lâu năm tập trung bón 2 – 3 lần trong năm. Phương pháp bón tập trung sẽ giảm khả năng cây bị sâu, bệnh gây hại.

+ *Phòng trừ sâu bệnh và cỏ dại*

Phòng trừ sâu bệnh là một kỹ thuật quan trọng với ngân hàng gen đồng ruộng, nhưng biện pháp cụ thể như bệnh virus:

- Chọn khu bảo tồn sạch bệnh
- Cách ly tránh truyền bệnh
- Luân canh cây trồng với nguồn gen là cây hàng năm
- Xử lý đất trước khi trồng,
- Cây ăn quả áp dụng kỹ thuật nhân giống sạch bệnh như vi ghép là một yêu cầu bắt buộc.

Phòng trừ cỏ dại ruộng bảo tồn nguồn gen đồng ruộng áp dụng kỹ thuật phòng trừ cỏ dại bằng tay hay phun thuốc trừ cỏ. Phòng trừ cỏ dại bằng tay cần được tiến hành thường xuyên, tránh cỏ dại lấn át cây, đặc biệt với những loài cây trồng cạn. Khi phòng trừ cỏ dại bằng thuốc hóa học cần lựa chọn thuốc, thời gian phun, nồng độ và liều lượng phun phù hợp với loài cây đó.

Thụ phấn bổ sung tạo hạt cho những cây giao phấn, bằng thụ phấn các cây trong 01 lô thụ cho các cây để thu lượng hạt đủ cho phân phối và trao đổi nguồn gen.

Sản xuất và thu hoạch hạt và trồng lại vụ tiếp theo đối với cây ngắn ngày có những kỹ thuật khác nhau, thu hoạch hạt nguồn gen thường thu bằng tay, do số lượng dòng lớn nhưng số cá thể của mỗi dòng nhỏ. Quá trình thu hoạch thường tập trung vào thời gian nhất định trong năm do vậy cần có kế hoạch chi tiết cho thu hoạch và cập nhật thông tin vào cơ sở dữ liệu.

4.3.5 Đánh giá đặc điểm ngân hàng gen đồng ruộng

a) *Đánh giá đặc điểm hình thái*

Sau khi thu thập nguồn gen cần đánh giá và mô tả các đặc điểm nguồn gen một cách hệ thống, từ khi bắt đầu nhận được nguồn gen mới đến nhận tăng số hạt bao gồm: mô tả, đánh giá cơ bản, đánh giá chi tiết nhân và tài liệu hóa

- Liệt kê mô tả ban đầu:

Quá trình đánh giá bắt đầu là danh sách mô tả nguồn gen, sự mô tả giúp chuẩn hóa các thuật ngữ các chỉ tiêu và trật tự, đặc điểm theo một logic khoa học. Mô tả theo hệ thống mô tả tiêu chuẩn của IPGRI, nhiều tính trạng mô tả bằng cho điểm 1 đến 9, điểm 1 là mức tốt nhất, một số tính trạng và đặc điểm thang điểm cuối là 3, 5 hay 7. Xác định giai đoạn sinh trưởng của cây để đánh giá, mô tả cho điểm là một kỹ thuật quan trọng, giai đoạn mẫn cảm và đặc điểm đó biểu hiện rõ nét, ổn định và điển hình. Minh họa đánh giá một số tính trạng của lúa theo Hệ thống đánh giá tiêu chuẩn cho lúa của IRRI, 2002 (Standard Evaluation System for Rice - SES)

- Chiều cao cây (Ht)

Ghi chú: Đo trực tiếp từ mặt đất đến hạt đỉnh đầu bông (kể cả râu)

Tại giai đoạn sinh trưởng: 7-9

Thang điểm	
1	Bán lùn (đất thấp: nhỏ hơn 110 cm; đất cao: nhỏ hơn 90 cm)
5	Trung bình (đất thấp: 110-130 cm; đất cao (90-125 cm))
9	Cao cây (đất thấp: trên 130 cm; đất cao: trên 125 cm)

+ Sức sống cây mạ (Vg)

Ghi chú: có một số yếu tố ảnh hưởng và tương tác đến sức sống cây mạ (khả năng đẻ nhánh, cao cây...) sử dụng thang điểm này để đánh giá vật liệu di truyền và giống dưới điều kiện bất thuận và không bất thuận.

Tại giai đoạn:

Sức sống cây mạ: 2

Sức sống sinh dưỡng: 3

Thang điểm

1	Rất khỏe (sinh trưởng rất nhanh; các cây có 5-6 lá ở giai đoạn 2 và trên 2 nhánh trong quần thể)
3	Sức khỏe (sinh trưởng nhanh; các cây 4-5 lá và 1-2 nhánh)
5	Bình thường (cây có 4 lá)
7	Yếu (các cây hơi cằn; 3-4 lá; cây mảnh, chưa đẻ nhánh)
9	Rất yếu (sinh trưởng còi cọc; lá chuyển màu vàng)

- Cơ sở để thu thập thông tin cho liệt kê mô tả:

Số liệu ban đầu (passport data) bao gồm các thông tin mẫu nguồn gen, địa điểm thu thập, thời gian, tên địa phương, tên khoa học và các đặc điểm khác

Đặc điểm nhận biết: bao gồm các đặc điểm có khả năng di truyền cao, dễ nhận biết qua quan sát và đặc điểm đó ổn định qua các môi trường như dạng hạt, dạng bông, màu sắc hoa

Đánh giá cơ bản: đánh giá này chỉ hạn chế trên một số tính trạng quan trọng để nhận biết nguồn gen gồm: các tính trạng số lượng và ảnh hưởng của môi trường như những tính trạng về cây, lá, hoa, quả, sâu bệnh, chống chịu khác. Đánh giá sâu hơn về các đặc điểm và tính trạng tiềm năng về nông sinh học có thể sử dụng trong chương trình cải tiến giống cây trồng

b) Đánh giá đặc điểm nông sinh học

Để đánh giá được đặc điểm nông sinh học cần bố trí nguồn gen trên đồng ruộng với một thiết kế thí nghiệm tiêu chuẩn về kích thước ô thí nghiệm, ngẫu nhiên, lặp lại. Thí nghiệm tiêu chuẩn đánh giá những đặc điểm cơ bản như tỷ lệ sống sót, sức sống và sinh trưởng, thời gian sinh trưởng, thời gian chín, khả năng chống chịu sâu bệnh, bất thuận, năng suất yếu tố tạo thành năng suất, chất lượng dinh dưỡng. Phương pháp và kỹ thuật đánh giá phù hợp đối với mỗi loài và loại tính trạng.

4.3.6 Sử dụng ngân hàng gen đồng ruộng

Cũng như các phương pháp bảo tồn khác, sử dụng ngân hàng gen đồng ruộng phục vụ cho chọn tạo giống cây trồng thương mại, sử dụng làm bố mẹ trong chương trình lai, nghiên cứu di truyền, trao đổi nguồn vật liệu di truyền và vật liệu trồng trọt. Sử dụng cho chương trình khác như cảnh quan, du lịch sinh thái...

4.4 BẢO TỒN ĐÔNG LẠNH

Khái niệm bảo tồn đông lạnh (Cryopreservation) là quá trình tế bào hoặc mô được duy trì bằng nhiệt độ thấp dưới 0°C, điển hình trong điều kiện ni tơ lỏng -196°C. Tại nhiệt độ thấp tế bào sinh vật dừng các hoạt động sinh học, kể cả những phản ứng sinh hóa, hoạt động trao đổi chất, hô hấp. Các phân dung dịch, nước sẽ đóng băng trong suốt, tế bào bảo tồn thường bị gây hại trong quá trình đóng băng hoặc tiếp xúc với nhiệt độ ấm trong phòng.

Một số loài cây trồng quan trọng không thể bảo tồn bằng hạt như các loài cây lấy củ, rễ, thân bụi hoặc thân gỗ. Một số kỹ thuật bảo tồn các loài cây nhân giống sinh dưỡng đã được phát triển như bảo tồn nuôi cây mô *In vitro*, phương pháp này có tiềm năng để bảo tồn nguồn gen các vật liệu nhân giống sinh dưỡng. Nhưng có hai trở ngại chính trong kỹ thuật bảo tồn *In vitro* là không ổn định, do xuất hiện biến dị xô ma và khó bảo tồn dài hạn bằng

vật liệu là mô hay tế bào. Khắc phục những hạn chế này của bảo tồn *In vitro*, phương pháp bảo tồn đông lạnh ở nhiệt độ cực thấp đã được phát triển, nó có thể kéo dài thời gian bảo tồn ở các loài khi khó bảo tồn *In vitro*. Các kỹ thuật cải tiến bảo tồn *In vitro* đã phát triển ở các nước có khác nhau để bảo tồn nguồn gen (Griffs và Litz, 1998, Perez và cs, 1999)

Trong báo cáo hàng năm của IPGRI, những kết quả nổi bật và nghiên cứu bảo tồn đông lạnh sử dụng bảo tồn cây ăn quả nhiệt đới. Cây ăn quả của Châu Á là những cây trồng quan trọng, nhưng việc bảo tồn những loài cây này đang gặp những thách thức như hạt của một số cây ăn quả rất khó bảo tồn bằng ngân hàng gen hạt vì chúng rất mẫn cảm với độ ẩm và nhiệt độ, bảo tồn trên đồng ruộng chi phí cao, dễ bị điều kiện bất thuận và sâu bệnh gây hại nguồn gen. Chính vì thế trên thế giới có nhiều nghiên cứu bảo tồn nguồn gen loài cây này bằng các phương pháp bảo tồn đông lạnh và bảo tồn *In vitro*. Trung tâm nghiên cứu nông nghiệp quốc tế của Australia (ACIAR) đã phát triển kỹ thuật tiến bộ bảo tồn nguồn gen các loài cây ăn quả nhiệt đới như bảo tồn nguồn gen cây đu đủ bằng bảo tồn đông lạnh cho kết quả khá tốt mặc dù cần phải có kiểm tra di truyền sau khi bảo tồn dài hạn. Một tiến bộ nữa là các nhà khoa học đã phát triển một số mầm siêu nhỏ cho thí nghiệm nghiên cứu bảo tồn đông lạnh cho cây nhãn và vải của Việt Nam

Kỹ thuật bảo tồn đông lạnh đã phát triển nhanh trong những năm gần đây và mở ra khả năng bảo tồn lâu dài nguồn gen cây trồng quý hiếm. Bắt đầu từ tiếp cận bảo tồn lạnh, nghiên cứu kỹ thuật cho phép đông lạnh hoàn toàn dung dịch tế bào, nhưng có thể tái sinh dễ dàng. Kỹ thuật bảo tồn đông lạnh ứng dụng cho một phạm vi rộng như mô tế bào, cơ quan, phôi và hạt phấn có nhiều thành công trong những năm gần đây

Một ước tính 100.000 loài thực vật, đại diện cho 1/3 các loài thực vật trên trái đất đang bị đe dọa và đối mặt với tuyệt chủng trong hoang dại (BGCI, 2005), bảo tồn đa dạng sinh học là cần thiết cho các chương trình tạo giống cây trồng cung cấp lương thực, dinh dưỡng và thuốc men cho con người. Từ những năm 1970 giống cây trồng địa phương và họ hàng hoang dại đã được thu thập và bảo tồn trong ngân hàng gen *Ex situ*, ước tính 6 triệu mẫu nguồn gen thực vật được bảo tồn ở các trung tâm quốc gia, vùng và thế giới. Bảo tồn hạt trong điều kiện nhiệt độ thấp là phương pháp phù hợp nhất với cây có hạt nhưng không phù hợp với cây khó hoặc không kết hạt. Ngày nay, công nghệ nuôi cấy mô đã đem lại lợi ích cho bảo tồn bằng hai hướng chính đó là bảo tồn *Ex situ* những nguồn gen quý bằng bảo tồn sinh trưởng chậm và bảo tồn đông lạnh. Bảo tồn đông lạnh hay bảo tồn lạnh là bảo tồn tại nhiệt độ cực thấp -196°C (nhiệt độ của ni tơ lỏng), ứng dụng để bảo tồn dài hạn nguồn gen. Trong điều kiện này toàn bộ quá trình sinh lý, sinh hóa trao đổi chất đều ngừng lại, như thế các vật liệu tồn trữ không giới hạn thời gian. Mặc dù vậy, ngoài sử dụng bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật, bảo tồn đông lạnh cực kỳ hữu ích trong bảo tồn dài hạn mô thực vật với những đặc điểm đặc thù như những dòng tế bào tạo ra alkaloid và thuốc, nuôi cấy và chuyển đổi di truyền, các dòng chuyển gen hợp pháp. Những nghiên cứu gần đây đã chứng minh có thể dùng kỹ thuật đông lạnh này để trừ virus ở chuối và nho thành công

4.4.1 Cơ sở lý thuyết của bảo tồn đông lạnh

Bảo tồn đông lạnh mô sinh học chỉ có thể thành công nếu nó hình thành đông kết dạng nước đá trong tế bào, nhưng không gây hại màng tế bào, như thế không phá hoại màng bán thấm của tế bào. Trong tự nhiên một số loài cây trồng có thể chịu lạnh dưới 0°C do dịch tế bào bị đông kết bằng cách tổng hợp các chất đường, proline và protein đảm bảo sự sống của tế bào ở điểm đóng băng, trong khi vẫn duy trì được độ ẩm tối thiểu cần thiết duy trì sự sống. Những loài này cũng không thể tồn tại trong điều kiện cực lạnh như bảo quản lạnh. Sự hình thành đông kết dịch tế bào không giảm nước quá mức, chỉ có thể thông qua đông lạnh nhanh. Đông lạnh nhanh là quá trình chuyển đổi lý học từ dạng dung dịch sang thể rắn. Hai

yêu cầu cho quá trình chuyển đổi này là tỷ lệ đóng băng nhanh và đông đặc dịch tế bào. Tỷ lệ đóng băng nhanh ($6^{\circ}\text{C}/\text{giây}$), thực hiện bằng những nhanh vật liệu vào dung dịch ni tơ lỏng. Tỷ lệ lạnh nhanh hơn khoảng $60^{\circ}\text{C}/\text{giây}$ hoặc sử dụng “droplet freezing protocol” là lớp nhôm mỏng nhúng trực tiếp vào ni tơ lỏng rồi tăng nhiệt độ lạnh lên $-130^{\circ}\text{C}/\text{giây}$ (Panis, Piette and Swennen, 2005). Dịch tế bào có thể đậm đặc thông qua làm khô hoặc khử nước trước khi làm đông kết dịch tế bào, mức nước giảm ít nhất 20 - 30%.

Làm giảm nước trong tế bào: mẫu được phơi dưới dòng khí đã tiệt trùng, mặc dù vậy phương pháp này là không điều khiển nhiệt độ và độ ẩm, cả hai yếu tố này đều ảnh hưởng mạnh đến thoát hơi nước, phương pháp làm khô sử dụng bình thủy tinh kín chứa gel silica hút ẩm có thể điều khiển được nhiệt độ và ẩm độ. Khi tế bào thực vật có chứa tác nhân kết tinh đá, trong quá trình làm lạnh chậm, đông kết bắt đầu ở khoảng không tế bào, cân đối của nước phân bố trong dịch tế bào đông lạnh chuyển thành dạng nước đá, còn lại trở thành đậm đặc, như vậy sẽ tăng sức trương của tế bào.

Quá trình trao đổi chất thích nghi với môi trường của thực vật, thực hiện đông kết dịch bào là quá trình tăng khả năng sống sót của thực vật dưới tác động của môi trường bất thuận. Trong tự nhiên gây sốc bằng các yếu tố môi trường như giảm nhiệt độ và ánh sáng ngày ngắn. Thay đổi áp suất thẩm thấu và xử lý ABA cũng có hiệu quả tương tự. Trao đổi chất thích nghi do kết quả tăng protein, đường, glycerol, proline và β - glycine, những chất này đóng góp để tăng giá trị thẩm thấu của chất tan trong tế bào. Hầu hết các mô hydrat không chống lại giảm hàm lượng nước để đông kết chắc lại (20 - 30%) do ảnh hưởng của dung dịch và cơ giới.

Mẫu chọt bảo tồn đông lạnh thành công chuyển từ chịu lạnh đến chịu khử nước, sự chống chịu này có thể giảm bằng bảo vệ lạnh với các chất như đường, amino axit, Dimethyl Sulfoxide (DMSO), glycerol. Cơ chế hoạt động của các chất khử nước chưa có những nghiên cứu đầy đủ. Như một sự lựa chọn, khử nước có thể tạo ra bằng trao đổi chất thích nghi tương tự như quan sát sự thích nghi lạnh của thực vật trong tự nhiên, thường là hướng đến tích lũy protein, đường, polyamine và hợp chất đặc thù khác có thể bảo vệ tế bào trong quá trình làm khô. Xử lý đường cũng có thể thay thế protein (Carpentier và cs, 2005) và thành phần cấu tạo màng (Ramon và cs, 2002) và ảnh hưởng đến tính đàn hồi và tính thấm của màng.

Ví dụ bảo quản các mô có các mạch nhỏ: ngâm trong môi trường CPTES với 15% DMSO đến khi cân bằng nước. Đông lạnh tại $1^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ và tồn trữ tại -196°C . Khi làm tan đông lạnh nhiệt độ tăng lên nhỏ hơn $50^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ trong phạm vi từ -140°C đến -120°C (nhiệt độ đóng băng kính của dung dịch là -123°C), băng tan hoàn toàn khi nhiệt độ 37°C . Không có kỹ thuật điều khiển sẽ làm gãy các mạch dẫn của mô và tế bào gây hỏng vật liệu bảo quản sẽ không sử dụng được.

Nhiều loài cây trồng đang được bảo tồn bằng phương pháp đông lạnh khác nhau trên thế giới, ở Đức thu thập vi cơ quan và tế bào, mô phân sinh của 519 giống khoai tây cũ được bảo tồn bằng phương pháp đông lạnh giọt (Mix-Wagner, Schumacher và Cross, 2003), trong đó Trung tâm Nghiên cứu Cây có củ quốc tế (CIP) đã bảo tồn 345 mẫu giống khoai tây bằng đông lạnh kính.

Ngân hàng gen chuỗi ở trường đại học Katholieke Universiteit Leuven của Vương Quốc Bỉ (KUL) cũng đã bảo tồn lạnh rất thành công, ngoài bảo tồn *In vitro* trên 900 mẫu giống chuỗi trong nuôi cấy mô và 545 giống trong kho lạnh sâu để bảo tồn dài hạn. Bảo tồn dài hạn có thể thay đổi DNA của thực vật và đôi khi cũng nhầm lẫn nhãn và tên. Năm 2003 được hỗ trợ của nhóm tư vấn nông nghiệp quốc tế ngân hàng bảo tồn lạnh đã đưa các mẫu bảo tồn nuôi cấy mô ra nhân và đánh giá trong nhà kính, so sánh với mẫu không bảo tồn bằng nuôi cấy mô. Kết quả rất tốt, hầu hết các mẫu bảo tồn không bị thay đổi chỉ có một số

ít mẫu bị thay đổi, đây là một kết quả nghiên cứu có giá trị để các nhà bảo tồn và các nhà nghiên cứu sử dụng phương pháp này

4.4.2 Kỹ thuật bảo tồn đông lạnh

Phương pháp bảo tồn đông lạnh sử dụng các kỹ thuật nêu trên hoặc phối hợp các kỹ thuật, những phương pháp áp dụng phổ biến:

- Làm khô không khí (làm khô bằng đèn, làm khô thường)

Phương pháp này áp dụng trực tiếp với hạt khô, phôi và hạt phấn của nhiều loài cây nông nghiệp và cây làm vườn, một số loài hạt khô có thể chịu làm khô đến 3% không có bất cứ gây hại nào và không giảm sức sống. Làm khô bằng đèn flash (hoặc khô nhanh) có lợi cho phôi không thích hợp cho làm khô bằng không khí

- Phương pháp lạnh chậm truyền thống (hoặc đông lạnh chậm)

Đây là phương pháp đầu tiên phát triển với các mô thực vật hydrate (Withers và King, 1980). Cơ sở của phương pháp là làm lạnh chậm các mẫu bảo tồn (tại mức 0,5 đến 2°C/phút), có mặt của dung dịch bảo vệ đông lạnh Dimethyl Sulfoxide (DMSO) nồng độ trung bình 5 - 15%, trong quá trình hạ nhiệt độ, mức hạ nhiệt -40°C đảm bảo yêu cầu, dung dịch trong tế bào đông kết dạng trong như kính khi nhúng trong ni tơ lỏng. Phương pháp này ngày nay sử dụng bảo tồn các mô không tổ chức như callus và dung dịch tế bào huyền phù

- Tạo hạt nhân tạo / khử nước

Phương pháp này do Fabre và Dereuddre đưa ra năm 1990, các mô thực vật (thường là mô phân sinh hoặc phôi) được gói trong hạt alginate (cũng có chứa muối khoáng và chất hữu cơ) tạo thành các hạt tổng hợp (hạt nhân tạo hay hạt tổng hợp). Nhưng hạt này sau đó được xử lý trong đường sucrose nồng độ cao. Phương pháp giảm độ ẩm xuống 20 - 30% (bằng dòng không khí hoặc chất hút ẩm gel silica), tiếp theo làm đông lạnh nhanh trong dung dịch ni tơ lỏng. Các chất dinh dưỡng bao quanh mô có thể kích thích mô tái sinh sau khi làm tan đông băng có lợi cho sử dụng.

- Đông lạnh kính (Vitrification)

Công trình công bố đầu tiên sử dụng đông lạnh kính bảo quản mô thực vật năm 1989 của Langis, Urugami và cộng sự. Kỹ thuật xử lý dung dịch đông lạnh đậm đặc lên mô thực vật, thời gian biến động từ 15 phút đến 2 giờ, sau đó nhúng trong ni tơ lỏng. Kết quả là cả dung dịch đông lạnh và dung dịch trong tế bào đều đông kết. Dung dịch đông lạnh kính gồm hỗn hợp chất bảo vệ đông lạnh thẩm và không thẩm. Chất thông thường nhất gồm hỗn hợp dung dịch đông lạnh thực vật số 2 (Palnt vitrification Solution-PVS2), 30% glycol, 15% DMSO và 0,4M sucrose (Sakai, Kobayashi và Oiyama, 1990). Sau 15 năm công trình công bố phương pháp bảo tồn đông lạnh kính đã được áp dụng rộng rãi đối với nhiều loài thực vật trên thế giới.

Các phương pháp khác như đông lạnh giọt (Schafer-Menuhr, Schumacher và Mix-Wagner, 1997), phương pháp trước nuôi cấy (Panis và cộng sự, 1996) và Phương pháp trước nuôi cấy/khử nước (Dumet và cộng sự, 1993) đến nay những kỹ thuật này áp dụng với một mức độ hạn chế.

4.4.3 Ứng dụng bảo tồn đông lạnh với các loài thân thảo

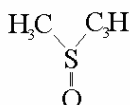
Các loài cây thân thảo khi bảo tồn bằng đông lạnh có những kỹ thuật khá đặc thù như tạo dung dịch huyền phù của tế bào, tạo callus, hoặc thu thập vật liệu bảo tồn là mô phân sinh hay hạt phấn để đưa vào bảo tồn lạnh sâu.

- Bảo tồn dung dịch huyền phù của tế bào và callus nuôi cấy mô

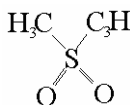
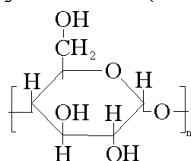
- Đông lạnh hạt phần

- Bảo tồn đông lạnh mô phân sinh

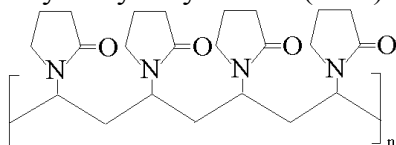
+ Một số chất sử dụng trong bảo tồn đông lạnh



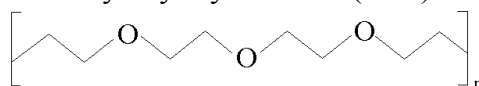
Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

Dimethyl Sulfone (DMSO₂)

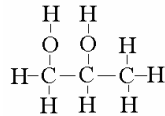
Hydroxy-ethyl-starch (HES)



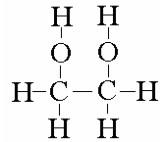
Polyvinyl Pyrrolidone (PVP)



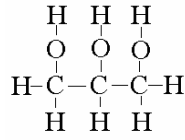
Polyethylene Oxide (PEO)



Propylene Glycol



Ethylene Glycol



Glycerol

- Bảo tồn đông lạnh hạt cây thân thảo

Hạt là vật liệu bảo tồn phổ biến với cây trồng nông nghiệp và cây làm vườn, vì hạt của những loài này có thể chịu đựng trong quá trình làm khô và ngâm trong ni tơ lỏng (Stanwood, 1985). Bảo tồn đông lạnh hạt khô có thể thay thế phương pháp bảo tồn hạt khô truyền thống ở nhiệt độ -20°C. Đặc biệt một số loài hạt khô bảo tồn truyền thống chỉ được vài năm sử dụng kỹ thuật này có thể kéo dài hơn tuổi thọ hạt. Hầu hết các loài hạt làm khô đến độ ẩm 5 -10% là phù hợp cho bảo tồn ở nhiệt độ cực thấp. ví dụ hạt cần tây là loại hạt khô có thể bảo tồn bằng đông lạnh.

4.4.4 Bảo tồn đông lạnh với các loài cây thân gỗ

Đến nay hạt của các loài thân gỗ thường cho bảo tồn dài hạn, hơn nữa một số lớn hạt nhưng loài thân gỗ sinh sản vô tính, rất hạn chế trong bảo tồn hạt do vậy bảo tồn chủ yếu các mẫu bộ phận sinh dưỡng. Số lượng nguồn gen này rất lớn theo Gass, Tubutt và Zanetto, 1996 có khoảng 30.000 mẫu nguồn gen trên 21 quốc gia có loại nguồn gen này. Bảo tồn đông lạnh là một chiến lược quan trọng đối với bảo tồn nguồn gen các loài cây thân gỗ.

- Bảo tồn đông lạnh mô và cơ quan của các loài cây thân gỗ

Những tiến bộ gần đây trong công nghệ nuôi cấy mô thực vật đã tạo ra một số lượng rất lớn mô và cơ quan có thể tồn trữ trong ni tơ lỏng, có ba loại mô thực vật thân gỗ bảo tồn đông lạnh

- + Đỉnh sinh trưởng: đỉnh sinh trưởng 1 - 2mm tách từ đỉnh cây, đỉnh mầm nách, đỉnh sinh trưởng trong nuôi cấy *In vitro*.
- + Hạt hoặc phôi phân lập với các loài tạo hạt: những loài này hạt không chịu làm khô hay bán chịu làm khô không thể bảo tồn bằng ngân hàng gen hạt truyền thống
- + Dòng callus sinh phôi: tránh mất các dòng sinh phôi tiềm năng cho phép tồn trữ các vật liệu chuyển gen trong khi đang thử nghiệm trên đồng ruộng

- Đông lạnh kính bảo tồn các loài cây gỗ cứng

Phương pháp đông lạnh kính đã được cải tiến trong những năm gần đây để áp dụng bảo tồn nhiều loài thân gỗ cứng, gọi là đông lạnh/đóng băng từng bước (Vitrification/one-step freezing). Khi dung dịch PVS2 được giới thiệu sử dụng bảo tồn đông lạnh tế bào cây họ cam quýt (Sakai, Kobayashi và Oiyama, 1990), phương pháp này đã được áp dụng phổ biến. Đến nay PVS2 đã sử dụng bảo tồn đông lạnh đỉnh sinh trưởng thành công nhiều loài cây

thân gỗ cứng như lê (*Pyrus*), táo (*Malus* Mill.)...Nhiều nghiên cứu ghi nhận, khi ngâm các mô vào PVS2 để bảo tồn lạnh, sau bảo tồn làm tan đông lạnh cho thấy tỷ lệ sống sót ảnh hưởng mạnh bởi thời gian xử lý, thời gian phải đủ dài đủ để khử nước tế bào và không gây độc tế bào. Dung dịch áp dụng tại 25°C trong thời gian 20 - 120 phút. Để giảm gây hại do độc tố có thể dùng dung dịch 0°C hoặc mức của nồng độ 50% trong 30 phút, tiếp theo là 100% trong 50 phút và sau đó bảo quản trong ni tơ lỏng. Nhiệt độ làm tan đông lạnh sau khi bảo tồn từ 20 - 45°C, phổ biến áp dụng là 40°C

Ngày nay bảo tồn đông lạnh cho các mắt sinh dưỡng, trên cơ sở kỹ thuật của Sakai, 1960 đã áp dụng bảo tồn 1915 mẫu nguồn gen táo, các mắt thu thập mùa đông làm khô trong nhiệt độ phòng lạnh - 5°C với độ ẩm 30%; hạ nhiệt độ 1°C/giờ đến -30°C trong 24 giờ sau đó chuyển vào môi trường ni tơ lỏng - 160°C

- Bảo tồn đông lạnh với cây thân gỗ mềm

Bảo tồn đông lạnh đóng vai trò quan trọng trong chương trình chọn lọc dòng vô tính, trên cơ sở những biến dị xô ma, hiệu quả của làm lạnh chậm thành công trong nuôi cấy phôi của nhiều loài như cây vân sam xanh (*Pycea pungens* Engelm.) , thông (*Pinus*) , thông rụng lá (*Larix occidentalis* Nutt.)..

- Bảo tồn đông lạnh trực phôi và hạt cây thân gỗ

Bảo tồn dài hạn hạt bằng đông lạnh đã được áp dụng với toàn bộ hạt hoặc phôi ở nhiều mức nhiệt độ khác nhau, các loài thân gỗ nhiệt đới. Đầu tiên làm khô đến độ ẩm 20% sau đó làm lạnh chậm bằng nhúng vào ni tơ lỏng, phương pháp áp dụng phổ biến cho loài hạt khô, nhưng cũng rất thành công đối với loài hạt bán khô hoặc không khô. Hạt của họ cam quýt đa phôi nhiều phương pháp đông lạnh đã được phát triển để bảo tồn hạt của chúng

4.4.5 Tính toàn vẹn di truyền của thực vật khi bảo tồn đông lạnh

Bảo tồn đông lạnh xuất hiện các biến dị xô ma đã được nhiều nghiên cứu phát hiện là kết quả nhân giống dưới điều kiện *In vitro*. Bảo tồn đông lạnh lại liên quan đến *In vitro* trong nhiều bước của quá trình bảo tồn, do vậy cần thận trọng trong kỹ thuật để tránh biến dị xô ma xảy ra trước khi đưa vào dung dịch ni tơ lỏng. Mặt khác, trong bảo quản những tính chất đặc thù chính của bảo tồn đông lạnh tránh rủi ro về di truyền và không có khả năng tái sinh. Một số rủi ro vẫn xảy ra như hình thành rễ tự do bị gây hại ở mức phân tử.. ở nhiệt độ cực thấp - 196°C và các chất bảo tồn đông lạnh nồng độ cao như DMSO đến 10%, tuy nhiên chưa có những chứng minh đầy đủ về biến đổi di truyền khi bảo tồn đông lạnh và sử dụng hóa chất bảo tồn đông lạnh

4.5 BẢO TỒN IN VITRO

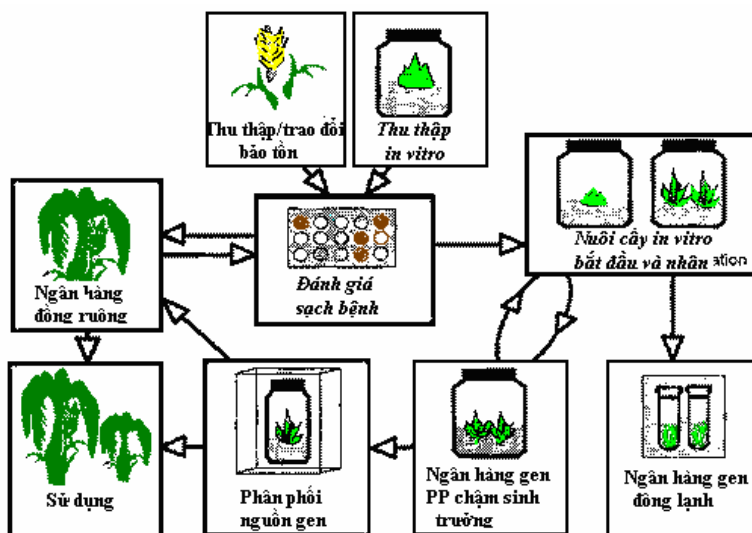
4.5.1 Nguyên lý bảo tồn *In vitro*

Mặc dù bảo tồn ngân hàng gen hạt, ngân hàng gen đồng ruộng trong bảo tồn *Ex-situ* đang áp dụng rộng rãi nhưng chúng cũng có những hạn chế nhất là đối với các loại cây hạt không chịu được quá trình làm khô, những loài sinh sản sinh dưỡng. Ngân hàng gen đồng ruộng thuận tiện cho đánh giá, sử dụng nhưng thường gặp rủi ro do sâu bệnh, thời tiết bất thuận. Do vậy bảo tồn *In vitro* là phương pháp bổ sung và thay thế để khắc phục những hạn chế trên. Kỹ thuật *In vitro* còn có những tiến bộ như có thể kiểm tra sạch bệnh trước khi bảo tồn, có thể bảo tồn số lượng lớn

Một số kỹ thuật *In vitro* đã được phát triển để bảo tồn các loài cây sinh sản sinh dưỡng và loài cây có hạt kém chịu đựng khi làm khô. Nhìn chung, *In vitro* áp dụng dưới hai phương thức

- Phương thức làm chậm sinh trưởng, mẫu nguồn gen được giữ dưới dạng mô thực vật vô trùng hoặc cây con trên môi trường dinh dưỡng. Sinh trưởng chậm có thể bảo tồn ngắn, trung hạn và dài hạn
- Đông lạnh, mẫu nuôi cấy được giữ trong ni tơ lỏng, phương thức này ứng dụng cho bảo tồn dài hạn

Theo Lyndsey A. Withers, 1991 mô tả các thành phần của hệ thống bảo tồn *In vitro* như sau:



Hình 4-14: *In vitro* trong hệ thống bảo tồn nguồn gen *Ex situ*
(Nguồn : Lyndsey A. Withers, 1991)

4.5.2 Phân loại bảo tồn *In vitro*

- **Bảo tồn dài hạn:**

Bảo tồn dài hạn là bảo tồn trong ni tơ lỏng (-196°C), trên cơ sở ở nhiệt độ này ngừng tất cả các quá trình trao đổi chất và phân chia tế bào. Bảo tồn dài hạn bằng đông lạnh được Latta sử dụng bảo tồn tế bào cà rốt năm 1971 đến nay kỹ thuật đã phát triển với 2 kỹ thuật chủ yếu là (1) Kỹ thuật truyền thống sử dụng 2 bước đông lạnh chậm cộng thêm chất đông lạnh; (2) kỹ thuật đông lạnh mới với đặc điểm là đông lạnh nhanh khoảng $1000^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ bằng nhúng trực tiếp vào ni tơ lỏng

Bảo tồn dài hạn là ngân hàng gen *In vitro* cơ bản. Kỹ thuật chi tiết của phương pháp đã được trình bày trong phần 3.4.

Bảng 4-8 : Kỹ thuật bảo tồn đông lạnh trong ni tơ lỏng -196°C

Các bước	Các kỹ thuật truyền thống	Kỹ thuật mới		
		Làm khô	Đông kết đá	Bọc /khử nước
Bọc				+
Xử lý trước đường Sucrose	+/-	+(+ABA)		+
Chất đông kết	+		++++	
Làm khô		+		+

Đông lạnh chậm	+ 0°C đến -40°C (0.3 đến 1°C/phút)			
Đông lạnh nhanh	-40°C đến -196°C (200°C/phút)	+25°C đến - 196°C (720°C/phút)	+25°C đến -196°C (400 đến 1100°C/phút)	+25°C đến -196°C (720°C/phút)
Làm tan đông lạnh	500°C/phút	120°C/phút	120°C/phút	120°C/Phút

Nguồn : Uragami (1993), Malaurie et al. (1998a).

- **Bảo tồn trung hạn**

Các điều kiện nuôi cấy tiêu chuẩn chỉ có thể sử dụng bảo tồn trung hạn của các loài sinh trưởng chậm. Điều kiện môi trường và môi trường nuôi cấy có thể giảm sinh trưởng của thực vật khi nuôi cấy mô hoặc tế bào. Điều kiện môi trường áp dụng chung là giảm nhiệt độ đến từ 0 - 5°C và giảm ánh sáng, ngay cả không có ánh sáng sẽ có tác dụng làm chậm sinh trưởng. Cải tiến môi trường nuôi cấy cũng có tác dụng làm chậm sinh trưởng của vật liệu bảo tồn

Bảo tồn trung hạn có thể coi là một ngân hàng gen, gọi là ngân hàng gen *In vitro* hoạt động. Bảo tồn trung hạn nuôi cấy *In vitro* dưới điều kiện chậm sinh trưởng và một số kỹ thuật tác động như:

- (1) Tác động làm chậm các giai đoạn sinh lý;
- (2) Bổ sung thêm tác nhân chậm sinh trưởng vào môi trường;
- (3) Nhiệt độ thấp;
- (4) Nồng độ đường sucrose và vi lượng thấp;
- (5) Áp suất ô xy thấp;
- (6) Bọc trong chất gồm(alginate) có công thức hóa học như là $(C_6H_8O_6)_n$

- **Bảo tồn ngắn hạn**

Bảo tồn ngắn hạn: nuôi cấy *In vitro* dưới điều kiện sinh trưởng bình thường phù hợp với bảo quản ngắn hạn và phân phối nguồn gen

4.5.3 Những kỹ thuật cơ bản trong bảo tồn *In vitro*

Thu thập In vitro

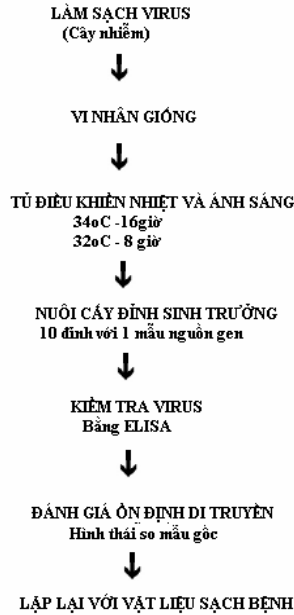
Để bảo tồn *In vitro* từ khâu thu thập thực hiện các kỹ thuật phù hợp đã được trình bày chi tiết trong chương thu thập nguồn gen (phương pháp thu thập *In vitro*). Sau khi thu thập tiến hành chuyển mẫu thu thập sang môi trường nuôi cấy *In vitro* đã có thêm chất chậm sinh trưởng. Nhiều nghiên cứu cho kết quả môi trường MS- sắt 138 có tác dụng chậm sinh trưởng với nhiều loài cây trồng như củ mỡ, cà phê.

Vật liệu bảo tồn In vitro

Bảo tồn *In vitro* gồm bảo tồn callus, chồi, mầm và cây con tạo ra từ các mắt hoặc đỉnh sinh trưởng dưới điều kiện của các tổ môi trường, buồng nuôi cấy và giá thể (môi trường nuôi cấy), trong điều kiện vô trùng và không ảnh hưởng đến sức sống nguồn gen. Phương pháp nuôi cấy *In vitro* thực hiện theo tiêu chuẩn kỹ thuật và môi trường tiêu chuẩn với mỗi loài cây trồng.

Xử lý sạch bệnh

Giai đoạn thu thập và các giai đoạn kỹ thuật khác của phương pháp bảo tồn *In vitro*, lựa chọn vật liệu, khử trùng bệnh virus là kỹ thuật quan trọng đảm bảo bảo tồn thành công. Ví dụ sơ đồ làm sạch bệnh khoai tây trong bảo tồn *In vitro* của CIP minh họa trong hình 4-15.



Hình 4-15: Các bước làm sạch virus trong bảo tồn nguồn gen khoai tây In vitro

Chất làm chậm sinh trưởng

Sinh trưởng chậm là kỹ thuật cho phép vật liệu vô tính thực vật sinh trưởng hay phát triển chậm, những chất này có thể hỗ trợ bảo tồn 1 - 15 năm dưới điều kiện nuôi cấy mô hoặc nuôi cấy định kỳ, tùy theo loài cây trồng. Một số kỹ thuật làm chậm sinh trưởng khác nhau để duy trì bảo tồn, nhưng hầu hết các kỹ thuật là nhiệt độ thấp kết hợp với cường độ ánh sáng yếu hoặc tối để hạn chế sinh trưởng. Nhiệt độ trong phạm vi từ 0 - 5°C với các loài nguồn gen chịu lạnh, các loài cây nhiệt đới nhiệt độ 15 - 20°C.

Cũng có thể làm chậm sinh trưởng bằng cải tiến môi trường nuôi cấy, chủ yếu là giảm hàm lượng đường và các nguyên tố vi lượng và ô xy trong phòng bảo tồn, hoặc phủ lên khối mô dung dịch hoặc dầu vi lượng (Withers và Engelmann, 1997). Yếu tố vi lượng có tác dụng chậm sinh trưởng được nhiều nghiên cứu công bố là sắt 138 với nồng độ 100 - 200 mg/lít có hiệu quả nhất. Ví dụ nghiên cứu bảo tồn nguồn gen củ mỡ bằng môi trường dinh dưỡng vi lượng và đường sucrose thấp hầu hết các mẫu nguồn gen có thể duy trì được 2 năm.

Sử dụng các chất gây bất thuận đưa vào môi trường nuôi cấy làm chậm sinh trưởng như manitol, sorbitol, đường sucrose, những chất này hạn chế sinh trưởng rất hiệu quả. Một số chất điều tiết sinh trưởng cũng có khả năng làm chậm sinh trưởng như ABA, Phosphon-D, succinic a xít. Làm chậm sinh trưởng trong bảo tồn *In vitro* có thể sử dụng từng kỹ thuật riêng rẽ hoặc kết hợp của tất cả các kỹ thuật trên.

Phương pháp làm chậm sinh trưởng ứng dụng rộng với nhiều loài, nhưng sử dụng để bảo tồn nguồn gen mới chỉ ở một số loài như chuối, khoai tây, khoai lang, sắn, củ mỡ và một số loài cây nhiệt đới. Theo FAO, 1996 có khoảng 37.600 mẫu nguồn gen đang được bảo tồn *In vitro* trên toàn cầu.

- Đánh giá và kiểm tra trong quá trình bảo tồn

Đánh giá vệ sinh và mức độ vô trùng của buồng bảo tồn, mức độ ổn định và biến dị di truyền của vật liệu bảo tồn được thực hiện định kỳ, bởi vì nuôi cấy *In vitro* có thể xuất hiện biến dị xô ma. Những đặc điểm khác như mức độ sinh trưởng chậm, hình thành callus, chiều dài thân, sự xuất hiện rễ và tình trạng bệnh nguồn gen bảo tồn cũng được đánh giá. Định kỳ đánh giá theo tháng hoặc năm. Thời gian bảo tồn *In vitro* phụ thuộc vào loài và vật liệu bảo tồn thực hiện thay đổi môi trường 1 - 2 năm thay một lần.

4.6 BẢO TỒN HẠT PHẦN

Bảo tồn hạt phần đã được phát triển để điều khiển thụ phấn ở những kiểu gen nở hoa không đồng bộ, đặc biệt là các loài cây ăn quả (Alexander và Ganeshan, 1993). Bảo quản hạt phần cũng được xem là một công nghệ mới trong bảo tồn nguồn gen (Harrington, 1970, Roberts, 1975, Withers, 1991). Hạt phần có thể thu thập dễ dàng với số lượng lớn trong một phạm vi nhỏ, hơn nữa những vấn đề thay đổi nguồn gen qua hạt phần nhỏ hơn so với mô, hạt... Những năm gần đây kỹ thuật bảo tồn lạnh đã phát triển để bảo tồn hạt phần cho số loài tăng lên (Towill, 1985, Hanna và Twill, 1995), ngân hàng đông lạnh bảo quản hạt phần một số loài cây ăn quả đã được xây dựng ở một số nước

4.7 NGÂN HÀNG DNA

Nguyên lý dự trữ DNA đơn giản, dễ áp dụng trên phạm vi rộng và có thể chi phí thấp. Quá trình trong công nghệ di truyền là phá vỡ tế bào các loài và chi sử dụng trong chuyển gen (Council, 1993) thực vật, chuyển gen nhờ virus, vi khuẩn, nấm và ngay cả chuột. Những cố gắng như vậy hướng đến thiết lập một ngân hàng DNA, bảo quản toàn bộ thông tin của gen nôm của nguồn gen (Mattick và cs, 1992). Mặc dù vậy chiến lược và phương pháp cần hoàn thiện bảo tồn PGR trong tương lai

4.7.1 Những ngân hàng DNA hiện có trên thế giới

Thu thập và bảo tồn ngân hàng DNA với một mục tiêu bảo tồn độc quyền là Frozen Zoo đã bắt đầu trên 25 năm trước đây (Benirschke, 1984) và ngày nay đã có gần 7.000 vật liệu di truyền của các loài động vật hoang dã đang bị đe dọa. Một số Viện nghiên cứu đã tập hợp và tải liệu hóa mẫu DNA của nguồn di truyền thực vật (PGR), duy trì hầu hết các mẫu nguồn gen quan trọng

Vườn thực vật Hoàng gia Vương quốc Anh đang lưu trữ trên 20.000 mẫu DNA đại diện cho tất cả các họ thực vật.

Vườn thực vật Missouri Hoa Kỳ lưu trữ trên 20.000 mẫu mô thực vật cung cấp cho các nhà nghiên cứu để tách chiết DNA sử dụng trong nghiên cứu bảo tồn

Ngân hàng DNA của Australia tại trường Đại học chữ thập đỏ miền Nam bảo tồn thông tin di truyền các cây cỏ Australia

Ngân hàng DNA tại viện khoa học sinh học nông nghiệp Ibaraki quốc gia Nhật Bản

Bảo tồn ngân hàng DNA không chỉ phục vụ bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật mà nó còn phục vụ các nghiên cứu khác như nghiên cứu chức năng gen, tiến hóa, phân loại và dịch tễ học của thực vật

4.7.2 Bảo tồn DNA hiện nay trên thế giới

Phân tích các kết quả nghiên cứu cho thấy, nhìn chung tồn trữ DNA là không phổ biến trong bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật, thực tế chỉ có khoảng 20% tổng số nguồn gen tồn trữ DNA và 79% các Viện hiện nay không bảo tồn DNA do vấn đề ngân sách, thiếu trang thiết bị cũng như cán bộ kỹ thuật cho bảo tồn. Mặc dù vậy, 57% cho rằng nếu có kinh phí dài hạn sẽ đảm bảo tồn trữ DNA ổn định nguồn gen. Bảo tồn DNA hiện nay còn rất hạn chế thông tin, 84% các Viện nghiên cứu bảo tồn DNA cho biết họ cần nhiều thông tin hơn về bảo tồn DNA, 42% các viện này không bảo tồn DNA với lý do quan trọng là thiếu thông tin. Tính chất pháp lý cho bảo tồn và trao đổi DNA cũng là một vấn đề trở ngại sử dụng phương pháp này và nguồn tài chính cung cấp cho bảo tồn. Nhu cầu hợp tác và tiêu chuẩn hoạt động của ngân hàng DNA, cũng như tạo cơ sở dữ liệu cơ bản với thông tin đầy đủ và có khả năng tiếp cận rộng rãi. Các nước đang phát triển cho biết, bảo tồn DNA còn đang

vướng mắc về pháp lý, trách nhiệm và chi phí khi áp dụng phương pháp bảo tồn DNA. Trên 50% các Viện nghiên cứu có bảo tồn DNA là các Viện nghiên cứu Quốc gia, kể cả các Viện ở các nước phát triển và nước đang phát triển đều thiếu trang thiết bị và nguồn cung cấp khác. Tại Hoa Kỳ hầu hết các Viện nghiên cứu đều cam kết bảo tồn DNA trong ngân hàng gen tài nguyên di truyền thực vật (8 viện), sau đó là Vương quốc Anh 4 viện, Colombia, Đức, Nhật Bản mỗi nước 3 viện, Australia, Canada, Cộng hòa Czech, Ấn Độ và Israel mỗi nước 2 viện.

Những Viện cung cấp DNA cung cấp thông tin các mẫu DNA và In vitro có địa chỉ như trình bày sau:

USDA Oregon, USA: <http://www.ars-grin.gov/cor>;

NISA, Japan : <http://www.dna.affrc.go.jp>; có địa chỉ tại: DNA Bank; National Institute of Agrobiological Sciences; 2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan. Chủ yếu ngân hàng DNA của lúa và lợn

Australian DNA bank: <http://www.dnabank.com.au>.

4.7.3 Kỹ thuật chủ yếu trong tách và tồn trữ DNA.

- Tách chiết DNA

Hầu hết các Viện nghiên cứu (98%) tự tách chiết DNA để tồn trữ, sử dụng các phương pháp cơ bản như trong tài liệu hướng dẫn hoặc có cải tiến, 1/3 dùng các Kit thương mại để tách chiết DNA, 4% sử dụng Kit thương mại bản quyền. Các nước đang phát triển chủ yếu sử dụng Kit thương mại, 100% các Viện nghiên cứu ở Châu Phi và Trung Đông phụ thuộc vào tài liệu hướng dẫn tách chiết. Mặt khác ở Bắc Mỹ và Tây Âu trên một nửa số Viện tiếp cận các Kit và 15 – 20% sử dụng Kit bản quyền.

Nhìn chung, bảo tồn DNA dưới cả 3 phương thức là : (1) Trung hạn (6 tháng đến 2 năm ở nhiệt độ -20°C hoặc -70°C), (2) Bảo tồn dài hạn trên 2 năm ở nhiệt độ -70°C và (3) có 1/3 tồn trữ ngắn hạn dưới 6 tháng.

Một nửa (45%) tồn trữ DNA để cung cấp cho các đơn vị khoa học khác, 69% các Viện đồng ý rằng cung cấp DNA nên bao gồm cả chi phí vật liệu và chi phí vận chuyển, và nguồn cung cấp ngoài số liệu ban đầu cần cung cấp bổ sung thêm cả những thông tin cần thiết khác có thể.

Chất lượng của DNA (khối lượng phân tử và tính xác thực của chuỗi DNA) quyết định chính là giá trị khảo sát bộ genome. Cán bộ quản lý ngân hàng DNA bảo tồn vật liệu cần gắn với bảo tồn các dữ liệu liên quan đến vật liệu bảo tồn như tính trạng gốc, tài liệu và các thông tin khác

Các chính sách, thể chế phải thiết lập để chuẩn hóa các bước: thu thập mẫu DNA, tách chiết, mô tả đặc điểm, phân phối, tồn trữ. Những bước này được chuẩn hóa sẽ cho phép đánh giá được chất lượng DNA và hiệu quả tồn trữ chúng qua thời gian

Chất lượng của tách chiết DNA từ mẫu thực vật phụ thuộc vào điều kiện của mẫu trước khi tồn trữ, môi trường tồn trữ và thời gian tồn trữ. Cần tuân thủ những hướng dẫn thu thập, tồn trữ, vận chuyển mẫu từ thực địa về phòng thí nghiệm nghiên cứu bảo tồn

- Thông tin cần thiết khi bảo tồn DNA

Số lượng và chất lượng của DNA, kỹ thuật tách chiết và marker phân tử đã sử dụng, chuỗi thông tin, tài liệu tham khảo đã xuất bản liên quan đến DNA về loài, mẫu gốc, liên kết với ngân hàng gen

Một danh sách chuỗi DNA hoặc “Mã hóa DNA” có thể sử dụng đăng ký bảo tồn đa dạng như đăng ký mẫu nguồn gen thông thường khác. Nếu sử dụng đăng ký như vậy việc tiếp cận thông tin bảo tồn ngân hàng DNA thuận tiện hơn

Một lợi ích chính của của kỹ thuật genome là nhanh, đáng tin cậy, đặc điểm hóa chính xác và có thể so sánh qua các giai đoạn sống và qua các loài. Ngân hàng DNA sẽ trở thành một thư viện tham khảo chuỗi có thể sử dụng đánh giá đa dạng di truyền và thay đổi mối quan hệ trong quần thể hoặc nhận biết mẫu khi kiểu hình bị hư hỏng. Thách thức của tồn trữ DNA ngày nay là cung cấp sản phẩm đó phải chịu trách nhiệm với dự báo sử dụng trong tương lai, và phải cân đối nhu cầu sử dụng với khả năng của các Viện để cung cấp vật liệu hiệu quả từ những nguồn gen bảo tồn *Ex situ*

Cũng như bảo tồn các vật chất sống khác (hạt, mô, bộ phận sinh dưỡng), mục tiêu bảo tồn và sử dụng, việc mã hóa giúp cho người sử dụng có thể tiếp cận nhanh chóng và thuận lợi mẫu nguồn gen dưới phương thức bảo tồn DNA. Để mô tả và mã hóa người ta sử dụng một phương pháp mã vạch DNA (DNA bar-coding), dựa trên một bộ thông thường của các marker tiêu chuẩn để nhanh chóng nhận biết tất cả các loài (Hebert và cộng sự, 2003)

4.7.4 Ngân hàng DNA như một bảo tồn bổ sung

Ehsan Dulloo, Youshaiki Nagamura và Oliver Ryder, 2006, đã đề xuất chiến lược bảo tồn bổ sung: DNA có thể là một hình thức chi phí có hiệu quả cho bảo tồn nguồn gen phụ thuộc vào mục tiêu bảo tồn và hình thức sử dụng. Nhiều loài cây trồng rất khó bảo tồn bằng các phương thức truyền thống (hạt hoặc bộ phận sinh dưỡng) hoặc các loài hoang dại đang bị đe dọa tuyệt chủng. Tồn trữ DNA có thể cung cấp cho hướng sử dụng để bảo tồn đa dạng những loài này và quần thể của chúng ngắn hạn, đến khi các phương pháp hiệu quả có thể phát triển. Khảo sát tồn trữ và sử dụng DNA của IPGRI năm 2004 cho thấy:

- + Tồn trữ DNA vẫn không là kỹ thuật phổ biến
- + Các Viện bảo tồn DNA chỉ để bảo tồn các loài mục tiêu

Nó là rất lâu dài để ghi nhận rằng: không có một kỹ thuật bảo tồn đơn lẻ có thể bảo tồn được đa dạng các loài mục tiêu hoặc vốn gen mục tiêu. Có hai cách tiếp cận của bảo tồn gọi là *In situ* và *Ex situ*, cả hai đều quan trọng để thực hiện bảo tồn và sử dụng đa dạng di truyền, không có cách nào hơn cách nào.

Khái niệm của một tiếp cận là “bảo tồn bổ sung” (complementary conservation) đã được nêu ra. Các nhà khoa học sử dụng thuật ngữ khác nhau để mô tả phương pháp tiếp cận này, các nhà bảo tồn thiên nhiên gọi là “bảo tồn tổng hợp” (Falk, 1987, 1990), trong khi các nhà bảo tồn tài nguyên di truyền thực vật gọi là “chiến lược bảo tồn bổ sung”, tuy nhiên cả hai cách gọi nguyên lý là khái niệm như nhau. Chiến lược bảo tồn bổ sung có thể định nghĩa “phối hợp của các hoạt động bảo tồn khác nhau”, các hoạt động này đều hướng đến sử dụng bền vững, tối ưu đa dạng di truyền hiện có trong vốn gen mục tiêu, cho hiện tại và tương lai (Dulloo và cs, 2005). Khái niệm này xác định rằng bảo tồn đa dạng di truyền không chỉ lợi ích cho bảo tồn mà cho cả cho sử dụng

4.7.5 Luật pháp quốc tế về ngân hàng DNA

Gần một nửa (43%) của các vụ kiện cung cấp DNA do cung cấp DNA ở tình trạng khác là liên quan đến việc không có sự thỏa về quyền sở hữu và vận chuyển quốc tế mẫu DNA : Công ước về đa dạng sinh học (Convention on biological diversity) [CBD], Thỏa ước quốc tế về nguồn tài nguyên di truyền thực vật (International Treaty on plant genetic resource for food and agriculture [IT], Quyền sở hữu trí tuệ quốc tế (International Property Rights) [IPR]. Chỉ có thể chế thứ 4 (25%) xây dựng các chính sách chính thống. Hầu hết các hình thức thỏa thuận trao đổi vật liệu (Material transfer agreements)[MTA]. Các MTA tương ứng với các quy định quốc tế, quốc gia và yêu cầu ký kết trước khi trao đổi nguồn gen, để hỗ trợ trao đổi nguồn gen PGR bảo vệ từ IPR

Nghiên cứu mô hình ngân hàng DNA để nâng cao quản lý, phân phối và sử dụng bảo tồn *Ex situ* nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Ứng dụng công nghệ sinh học là một tiến bộ nhanh, tăng nhanh số lượng nguồn DNA và những thông tin liên quan. Chiến lược xây dựng các tiêu chuẩn và phương pháp duy trì DNA đã được phát triển đối với mẫu hạt, mô thực vật và thu thập nguồn gen tại hiện trường. Tuy nhiên vẫn còn những vấn đề cần nghiên cứu như bảo tồn DNA như thế nào? số lượng DNA bảo tồn, tiêu chí và tiêu chuẩn tối thiểu về chất lượng DNA khi duy trì nó qua thời gian. Tài liệu hóa các mẫu DNA và trao đổi chúng như thế nào là những vấn đề cần nghiên cứu tiếp theo.

4.8 VƯỜN THỰC VẬT

Có khoảng 1.500 vườn thực vật trên thế giới (WWF-IYCN-BGCS, 1989), mục đích gồm (i) duy trì sinh thái cần thiết cho hệ thống hỗ trợ sự sống; (ii) bảo tồn đa dạng di truyền; (iii) đảm bảo sử dụng bền vững các loài và hệ sinh thái. Mặc dù vậy các vườn thực vật còn đang có một số hạn chế trong phạm vi bảo tồn và nhân giống, mặc dù khả năng của nó là có thể lớn hơn

Câu hỏi ôn tập chương 4

1. Khái niệm bảo tồn ngoại vi, các phương pháp bảo tồn ngoại vi chủ yếu, ưu nhược điểm của phương pháp
2. Các loại ngân hàng gen hạt, sơ đồ hoạt động và ứng dụng
3. Phương pháp thu mẫu và đăng ký mẫu cho bảo tồn ngân hàng gen hạt
4. Độ sạch và phương pháp làm sạch mẫu nguồn gen cho bảo tồn ngân hàng hạt
5. Độ ẩm và phương pháp xác định độ ẩm mẫu hạt bảo tồn ngân hàng hạt
6. Phương pháp kiểm tra chất lượng nguồn gen trước khi bảo tồn
7. Đóng bao và quản lý nguồn gen trong kho bảo tồn
8. Nguyên lý bảo tồn ngân hàng gen đông ruộng
9. Chọn điểm và thu mẫu cho bảo tồn ngân hàng gen đông ruộng
10. Bố trí sắp xếp và quản lý ngân hàng gen đông ruộng
11. Đánh giá đặc điểm ngân hàng gen đông ruộng
12. Bảo tồn đông lạnh, có sở lý thuyết bảo tồn đông lạnh
13. Kỹ thuật bảo tồn đông lạnh
14. Ứng dụng bảo tồn đông lạnh với cây thân thảo, thân gỗ
15. Phương pháp bảo tồn In vitro
16. Bảo tồn ngân hàng DNA

Chương 5

ĐÁNH GIÁ VÀ SỬ DỤNG NGUỒN GEN

Vai trò của nguồn gen trong cải tiến giống cây trồng đã được khẳng định, tuy nhiên thu thập, bảo tồn và sử dụng nguồn gen ở các nước đang phát triển vẫn còn hạn chế. Nguồn gen có thể sử dụng có hiệu quả cần có những thông tin đầy đủ và chính xác, giúp các nhà chọn giống có thể lựa chọn, sử dụng trong các chương trình tạo giống. Đánh giá nguồn gen được thực hiện trong tất cả các giai đoạn thu thập và bảo tồn nguồn gen thực vật. Mỗi mẫu nguồn gen khi thu thập cũng bao gồm nhiều loại như : loài hoang dại, giống bản địa, giống địa phương, các giống giao phấn tự nhiên, giống thương mại (giống thuần, giống thu phấn tự do và giống lai), dòng, các biến dị, dòng đơn bội, đột biến tự nhiên. Để nhận biết, phân biệt cần có những đánh giá một cách hệ thống, chi tiết về đặc điểm hình thái, sinh lý, thực vật học, nông sinh học, năng suất, khả năng chống chịu của nguồn gen.

5.1 NHÂN TĂNG SỐ LƯỢNG HẠT

Bước đầu tiên của quá trình đánh giá là nhân để tăng số lượng hạt, nhân tăng lượng hạt để phòng rủi ro mất nguồn gen, đặc biệt mẫu nguồn gen không có khả năng thích nghi và những mẫu nguồn gen mẫn cảm với sâu bệnh, lẫn cơ giới và thay đổi di truyền so với di truyền gốc do chọn lọc của con người hay chọn lọc tự nhiên.

Trong quá trình nhân tăng số lượng hạt cũng có thể thu thập thêm thông tin nguồn gen hoặc thu thập bổ sung thông tin ban đầu (passport data) mà trong quá trình thu thập còn thiếu như các giai đoạn sinh trưởng phát triển của nguồn gen, các tính trạng số lượng hay chất lượng cần thiết cho nghiên cứu nguồn gen. Nguyên lý và những điểm kỹ thuật quan trọng cần áp dụng trong quá trình nhân tăng số hạt

5.1.1 Kỹ thuật nhân để giữ nguyên tính xác thực di truyền của nguồn gen

Xác định thời vụ nhân hạt: thời vụ nhân hạt nên chọn thời vụ thích hợp nhất đối với nguồn gen. Những yêu cầu ngoại cảnh của nguồn gen rất khác nhau về nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, bức xạ, lượng mưa... Ngay cả trong cùng một loài cây trồng các giống khác nhau, giai đoạn sinh trưởng khác nhau yêu cầu môi trường khác nhau. Những yếu tố môi trường quan trọng cần quan tâm khi xác định thời vụ gieo trồng nhân hạt là nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm, lượng mưa. Môi trường thuận lợi giúp cho nguồn gen sinh trưởng tốt, hạn chế đột biến, biến dị tự nhiên, sâu bệnh hại

Chọn đất nhân hạt: đất chọn dựa trên độ màu mỡ, thuận lợi tưới tiêu, độ pH phù hợp với loài và giống cụ thể. Ví dụ độ pH đất và nhiệt độ tối ưu cho sinh trưởng một số loài cây trồng như sau:

Bảng 5-1: Yêu cầu đất nhân hạt nguồn gen một số loài

TT	Loài cây trồng	Yêu cầu pH đất trồng	Nhiệt độ tối ưu (°C)
1	Lúa (<i>Oryza sativa</i> L.)	6,0 – 7,0	18 - 30
2	Đậu tương (<i>Glycine max</i> (L.) Merr)	5,8 - 6,5	20 - 30
3	Cà chua (<i>Lycopersicum esculentum</i> L.)	5,5- 6,8	21 - 25
4	Cà tím (<i>Solanum melongena</i> L.)	5,5 - 6,5	21- 29
5	Ớt ngọt (<i>Capsicum annum</i> L.)	6,5 – 7,5	18 - 27
6	Ngô (<i>Zea mays</i> L.)	6,0 – 7,0	20 -27
7	Ngô đường (<i>Zea mays</i> var. <i>Saccharata</i>)	5,8 - 6,5	23 - 30
8	Dưa chuột (<i>Cucumis sativus</i>)	5,8 - 6,8	18-24
9	Dưa hấu (<i>Citrullus lunatus</i>)	6,0 - 7,0	21-30

10	Bắp cải (<i>Brassica oleracea</i>)	6 – 6,5	10 - 25
11	Su hào (<i>Brassica canlorapa</i> Pasq hoặc <i>Brassica oleracea</i> var. <i>caulorapa</i>)	> 7,0	19 - 22
12	Su lơ (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.)	6,0 – 7,0	15 - 18
13	Cải củ (<i>Raphanus sativus</i> L.)	6,0 – 6,5	18 – 25
14	Bí xanh (<i>C. pepo</i>)	5,5 - 7,5	25 - 27
15	Mướp đắng (<i>Momordica carantia</i>)	6,0 – 6,7	24 – 27
16	Rau giền (<i>Amaranthus</i> spp.)	5,3 – 6,4	15 – 25
17	Hành (<i>Allium cepa</i>)	6,0 – 7,0	13 - 18
18	Carrot (<i>Daucus carota</i> var <i>sativus</i>)	5,5 – 6,5	18 - 26
19	Khoai tây (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	5,5 - 7,5	18 - 22

Cách ly: Cách ly không gian hoặc cách ly thời gian đều có thể áp dụng trong nhân hạt nguồn gen. Khi diện tích nhân không lớn có thể áp dụng cách ly bằng vật chắn hoặc bao cách ly.

Vệ sinh đồng ruộng, vệ sinh dụng cụ và phương tiện canh tác, thu hoạch, chế biến để tránh lẫn cơ giới là một khâu kỹ thuật quan trọng trong nhân hạt nguồn gen. Đồng ruộng nhân hạt cần làm đất trước để diệt cỏ dại, sâu bệnh và hạt của các cây vụ trước.

Những loài cây giao phần quần thể phải đủ lớn tránh cận phối làm thay đổi nguồn gen, thả côn trùng vào khu vực sản xuất tăng năng suất nhân hạt

5.1.2 Bố trí thí nghiệm nhân hạt

- + Nhân hạt nguồn gen, số vật liệu lớn cho nên áp dụng thí nghiệm không lặp lại, hoặc một số ít lần lặp lại
- + Diện tích ô thí nghiệm tùy thuộc vào khả năng của cơ quan nghiên cứu, lượng hạt gốc ban đầu và nhu cầu lượng hạt để quyết định diện tích nhân hạt
- + Kỹ thuật canh tác tối ưu với loài cây trồng
- + Chi tiết phương pháp thí nghiệm đánh giá nguồn gen trong phần 5.4

5.1.3 Các chỉ tiêu theo dõi

- + Lượng mẫu theo dõi nên theo dõi ≥ 30 cá thể trên một mẫu nguồn gen
- + Chỉ tiêu theo dõi đơn giản ban đầu :
 - Đặc điểm quan trọng nhận biết nguồn gen
 - Đặc điểm hình thái
 - Đặc điểm nông sinh học
 - Năng suất và yếu tố tạo thành năng suất của cá thể
 - Chống chịu sâu, bệnh
 - Một số chỉ tiêu chất lượng

5.2 HỆ THỐNG HÓA THÔNG TIN

Nguồn gen cần phải đánh giá một cách hệ thống để nhận biết về các đặc điểm sinh trưởng, phát triển, sinh lý và hình thái và những tính trạng đặc thù về chống chịu điều kiện bất thuận, chống chịu bệnh. Để quá trình đánh giá có cơ sở và chính xác cần hệ thống lại những thông tin đã có trước khi thực hiện đánh giá. Hệ thống hóa thông tin cần chuẩn bị những chỉ tiêu và bảng mô tả, các chuyên gia có chuyên môn xây dựng bản mô tả hoặc sử dụng bản mô tả mẫu của IPGRI, bản mô tả đảm bảo thuận tiện cho quản lý và trao đổi nguồn gen. Nhìn chung một bản mô tả bao gồm bốn phần chính sau:

- + Số liệu thu thập ban đầu (Passport data): bao gồm toàn bộ thông tin cơ bản trong thời gian thu thập mẫu hoặc thông tin của nguồn cung cấp mẫu. Thông tin này có lợi cho toàn bộ quá trình quản lý, bảo tồn và sử dụng nguồn gen. Ngoài những thông tin và nguồn gen cần có các thông tin về môi trường như khí hậu, đất đai, chế độ canh tác, địa phương, độ cao thu thập. Thông tin địa điểm thu thập nguồn gen, khu vực thuộc làng/bản, xã, huyện, tỉnh, kinh độ, vĩ độ. Loại mẫu nguồn gen thu thập, dòng, quần thể, giống địa phương, hoang dại, giống mới, điều kiện trồng trọt, điều kiện sinh thái...
- + Mô tả đặc điểm (Characterization) bao gồm các đặc điểm có thể di truyền cao có thể nhìn thấy bằng mắt ở tất cả các môi trường. Mô tả này là mô tả chuẩn, có thể so sánh với những thông tin thu thập để có thể nhận biết lâu dài mẫu nguồn gen. Mô tả bao gồm tất cả các đặc điểm ví dụ như số hạt, dạng bông, màu sắc và các đặc điểm hình thái khác.

5.3 CÁC LOẠI THÍ NGHIỆM ĐÁNH GIÁ NGUỒN GEN

5.3.1 Đánh giá cơ bản

Đánh giá cơ bản (Preliminary evaluation) bao gồm những ghi nhận những đặc điểm nông sinh học, sinh lý.. như như đẻ nhánh thời gian ra hoa, thời gian chín ở mức giới hạn để cung cấp nhưng dữ liệu cơ bản cho nhà tạo giống. Các nhóm đặc điểm chính quan trọng như sau:

- (a) Số liệu về địa điểm đánh giá: cơ quan đánh giá, người đánh giá...
- (b) Số liệu về trồng trọt: phương pháp nhân giống bằng hạt, giâm hay ghép, tập tính, mật độ ...
- (c) Đặc điểm lá: dạng lá, số lá, kích thước lá...
- (d) Đặc điểm hoa: sắp xếp hoa, vị trí hoa màu sắc, cấu tạo hoa, nhị, nhụy..
- (e) Đặc điểm quả: thời gian ra hoa đến đậu quả, số quả dạng, năng suất, chiều dài quả, rộng quả, đường kính quả...
- (g) Đặc điểm hạt: kích thước hạt, màu sắc, khối lượng...

5.3.2 Đánh giá và mô tả đặc điểm chi tiết

Đánh giá và mô tả đặc điểm chi tiết (Further characterization and evaluation): bao gồm ghi nhận những đặc điểm nông học tiềm năng, đánh giá nhiều tính trạng ở ý nghĩa, rộng nhất là đánh giá chi tiết bằng tiếp cận đa mô tả, điều kiện kiểm tra đặc thù. Các đặc điểm và phương pháp thu thập số liệu chia làm 2 loại các đặc điểm có thể quan sát được và các đặc điểm không thể quan sát

Đặc điểm có thể quan sát có thể nhận biết ở một cây hoặc con cái của nó, chúng biểu hiện dưới điều kiện gieo trồng bình thường của cây trồng hoặc yêu cầu điều kiện đặc thù để biểu hiện. Chúng cũng có thể điều khiển bởi đơn hoặc đa gen trong di truyền. Đặc điểm này bao gồm hình thái, sinh lý, ra hoa, năng suất, chất lượng và thích nghi...

Đặc điểm không quan sát được: những đặc điểm này thường bị biến động bởi môi trường và đa gen, chúng phản ứng mạnh môi trường như khả năng thích nghi và năng suất. Có 4 loại xác định đặc điểm bao trùm cả các đặc điểm số lượng và chất lượng được W. R Dillon và M. Goldstein, 1984 tóm tắt trong bảng 5-2

Một số thực tế cần xem xét trong quá trình đánh giá nguồn gen: phải áp dụng nguyên lý và phương pháp linh hoạt, yếu tố ảnh hưởng đến đánh giá khi nhân bằng hạt, duy trì quần thể cây giao phấn, trôi dạt di truyền, kích thước quần thể, môi trường tối ưu cho nhân và

đánh giá nguồn gen, phương pháp thí nghiệm đồng ruộng. Những vấn đề này phải đảm bảo tiêu chuẩn mới có thể đánh giá nguồn gen chính xác

Bảng 5-2: Các phương thức xác định số liệu của nguồn gen
(W. R Dillon and M. Goldstein, 1984)

Mức	Cơ sở quan sát	Ví dụ
Bản chất	Đo đếm trực tiếp	Chiều cao, ngày ra hoa, khối lượng củ , số hoa trên cây
Tỷ lệ	Sự tổ hợp của hai phép đo trước tiếp	Hệ số thu hoạch , % protein, dầu hoặc đường
Thứ tự	Ký hiệu mức, đôi khi chủ quan, giá trị liên quan với mức tiêu chuẩn so sánh	Sự mẫn cảm với côn trùng, bệnh, dạng lá, dạng hạt, chất lượng chế biến
Mô tả	Ký hiệu tính trạng của tính trạng chất lượng, phân loại	Màu hoa, hạt , dạng hạt

5.4 PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM ĐÁNH GIÁ NGUỒN GEN

IPGRI, 2001 đã hướng dẫn cho thiết kế và phân tích đánh giá nguồn gen, theo hướng dẫn này số mẫu nguồn gen cho một thí nghiệm đánh giá có thể vài trăm mẫu, mỗi mẫu bố trí trên một hàng hoặc một ô. Nhà nghiên cứu nên lựa chọn bố trí nguồn gen thí nghiệm theo nhóm như cùng thời gian sinh trưởng, cùng nhóm nguồn gen. Đối chứng cho thí nghiệm nghiên cứu nguồn gen là những đối chứng chuẩn có những tính trạng tương ứng với nguồn gen để đối chiếu so sánh. Đối chứng lặp lại theo tần suất khoảng một số mẫu nguồn gen, một gợi ý của IPGRI cứ 6 mẫu nguồn gen có 01 đối chứng. Chọn địa điểm thí nghiệm cũng là một yêu cầu quan trọng trong đánh giá nguồn gen, điểm thí nghiệm trên đồng ruộng bình thường, không có các điều kiện bất thuận hay cạnh tranh đặc thù. Thí nghiệm cũng nên lặp lại một số năm, bởi vì có những kiểu gen tương tác với môi trường, lặp lại qua các năm đánh giá chính xác hơn. Thí nghiệm đánh giá trong nhà có mái che cũng có thể áp dụng để đánh giá một số tính trạng đặc thù như chống bệnh. Bố trí thí nghiệm sử dụng RCB, lattice và alpha design, thu thập và phân tích số liệu tương tự như các thí nghiệm nông nghiệp khác. Các chương trình thống kê thường được sử dụng là MSTAT, SAS, P-LUS...

5.4.1 Công thức thí nghiệm trong đánh giá nguồn gen

Công thức thí nghiệm, nhân tố và mức biến động cần được hiểu rõ trong thí nghiệm đánh giá nguồn gen. Nhân tố thí nghiệm là yếu tố cần đánh giá trong thí nghiệm: ví dụ đánh giá 24 mẫu nguồn gen, như vậy mẫu nguồn gen là nhân tố, thí nghiệm này là 01 nhân tố và 24 mức, từng mẫu nguồn gen của 24 mẫu là công thức thí nghiệm. Nhưng khi thí nghiệm đánh giá 24 mẫu nguồn gen ở 3 thời vụ khác nhau trong năm, trong trường hợp này chúng ta phải xác định 2 nhân tố, một nhân tố là nguồn gen với 24 mức và nhân tố 2 là thời vụ với 3 mức. Công thức thí nghiệm có thể là phối hợp mẫu nguồn gen và thời vụ hoặc để riêng rẽ, số công thức $24 \times 3 = 72$ công thức thí nghiệm. Khi thí nghiệm đánh giá 24 mẫu nguồn gen ở 3 thời vụ và 3 mức đạm, thí nghiệm này sẽ là thí nghiệm 3 nhân tố, nhân tố 1 có 24 mức, nhân tố 2 và 3 đều có 3 mức. Số công thức thí nghiệm $24 \times 3 \times 3 = 216$ công thức thí nghiệm.

Thí nghiệm đánh giá nguồn gen thường chỉ áp dụng thí nghiệm 01 nhân tố đó là mẫu nguồn gen, tuy nhiên đôi khi có những nghiên cứu đặc thù cho cơ sở dữ liệu hay sử dụng nguồn gen người ta cũng thực hiện thí nghiệm 02 hoặc 3 nhân tố.

5.4.2 Số lượng mẫu nguồn gen trong một thí nghiệm đánh giá

Công thức thí nghiệm trong đánh giá là mẫu nguồn gen, ở giai đoạn đầu số lượng mẫu trong một thí nghiệm rất lớn, lên đến hàng trăm, một mẫu nguồn gen lại nhỏ chỉ là một hàng hay một ô. Có thể đưa tất cả mẫu nguồn gen vào thí nghiệm tại một điểm (một khu hay ruộng thí nghiệm), trong trường hợp có lợi cho việc so sánh giữa các nguồn gen hiện có. Đôi khi phải chia thành một vài điểm (ruộng thí nghiệm khác nhau) do các loại yêu cầu điều kiện ngoại cảnh khác nhau, sinh trưởng khác nhau. Khi đó đánh giá nguồn gen theo nhóm (nhóm ngắn ngày, nhóm dài ngày, nhóm cảm quang, nhóm cây trồng cạn, nhóm cây trồng nước.....)

5.4.3 Đối chứng

Bên cạnh các mẫu nguồn gen đánh giá, thường có một hoặc một vài dòng chuẩn làm đối chứng (check or control). Đối chứng và phương pháp bố trí đối chứng trong thí nghiệm đánh giá nguồn gen phụ thuộc vào mục đích đánh giá. Ví dụ đánh giá tính chống bệnh nên có 3 đối chứng (1) đối chứng chống, (2) đối chứng chịu và (3) đối chứng chuẩn nhiễm bệnh. Đối chứng lặp lại với tần suất khác nhau phù hợp với mỗi loại bố trí thí nghiệm. Như phương pháp bố trí thí nghiệm gia tổ (Augment design) thường chỉ có 01 lặp lại của mẫu nguồn gen đánh giá, lặp lại của một hoặc hơn một hàng đối chứng. Một số thí nghiệm lại không cần đối chứng xen kẽ mà đối chứng có thể trồng thành hàng bảo vệ, trường hợp này áp dụng đánh giá ảnh hưởng của môi trường chung đến các mẫu nguồn gen

5.4.4 Chọn điểm thí nghiệm

Chọn điểm thí nghiệm trên nguyên lý đất tốt, thoát nước và cách ly với các khu vực sản xuất khác. Khi mục đích chỉ là đánh giá tiềm năng của các mẫu nguồn gen khác nhau, thí nghiệm sẽ thực hiện ở môi trường lý tưởng. Ví dụ đánh giá khả năng cho năng suất đánh giá trong điều kiện tối ưu. Những đánh giá phản ứng của các mẫu nguồn gen với điều kiện bất thuận lại cần đánh giá ở nhiều điểm, nhiều năm để xác định tương tác kiểu gen và môi trường, như vậy cần chọn một số điểm có điều kiện bất thuận và mức bất thuận khác nhau.

Thí nghiệm thực hiện qua nhiều điểm, nhiều năm rất có lợi cho phân tích, đánh giá nguồn gen cũng như đánh giá cây trồng. Khi đánh giá một số tính trạng quan trọng và cần độ chính xác cao có thể thực hiện bố trí trong điều kiện nhân tạo trong nhà kính, nhà lưới như đánh giá khả năng chống bệnh

5.4.5 Kỹ thuật bố trí thí nghiệm

Ô thí nghiệm đánh giá nguồn gen thường ô nhỏ, có khi chỉ 01 hàng, đánh giá trong chậu một công thức có khi chỉ có vài cây. Thí nghiệm thường không có hàng bảo vệ và không có cạnh tranh trong một ô khi chỉ có một hàng. Ngẫu nhiên đối với trường hợp này cũng hạn chế, bố trí mẫu nguồn gen có kiểu hình gần tương tự với nhau, tránh cạnh tranh giữa các hàng. Diện tích ô nhỏ, đôi khi chỉ một hàng nhưng bố trí lặp lại là cần thiết trong đánh giá nguồn gen

+ *Bố trí thí nghiệm RCBD (Randomized complete block design)*

Thiết kế thí nghiệm và ngẫu nhiên để bố trí các mẫu nguồn gen vào các ô như bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên (RCBD) của thí nghiệm đồng ruộng, khối luôn luôn cắt ngang với

chiều biến động của môi trường, ngẫu nhiên theo từng khối. Bố trí RCBD thường là khối tương ứng với lần lặp lại. Tuy nhiên các phương pháp bố trí khác khối sẽ không tương ứng với lần lặp lại.

Mục đích của khối là làm giảm bớt sai số thí nghiệm do môi trường không đồng nhất, như vậy các mẫu nguồn gen có cơ hội trong cùng một điều kiện môi trường như nhau để đánh giá, so sánh đảm bảo độ tin cậy cao hơn. Đặc biệt khối rất có ý nghĩa với thí nghiệm đánh giá nguồn gen khi diện tích ô thí nghiệm nhỏ. Số khối thường nhỏ hơn số ô trên một khối, ví dụ trong một khối có 6 mẫu nguồn gen thì số khối là 2, 3 hoặc 4 khối.



Hình 5-1 : Bố trí thí nghiệm đánh giá nguồn gen lúa địa phương tại trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội (Nguồn: Vũ Văn Liết và cộng sự 2004)

+ *Bố trí khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh* (Incomplete Block Design)

Trong trường hợp số mẫu nguồn gen lớn, ruộng thí nghiệm không đồng nhất bố trí khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh (Incomplete Block Design). Phương pháp bố trí thí nghiệm này phổ biến hơn bố trí RCBD trong nghiên cứu nguồn gen, vì thí nghiệm nguồn gen luôn luôn có số lượng mẫu lớn, không đồng nhất về sức sống và các đặc điểm khác.

Khối					
I	II	III	IV	V	VI
A	F	B	A	A	B
B	E	D	C	D	E
C	D	F	E	F	C

Lặp lại 1 Lặp lại 2 Lặp lại 3

Hình 5-2: Bố trí khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh với 6 mẫu nguồn gen A, B, C, D,E,F

Phương pháp bố trí thí nghiệm trên nếu thêm đối chứng, đối chứng được bố trí xen kẽ trong các khối, như hình sau:

Khối					
I	II	III	IV	V	VI
A	F	B	CHECK	A	B
B	E	CHECK	A	CHECK	E
C	CHECK	D	C	D	CHECK
CHECK	D	F	E	F	C

Lặp lại 1 Lặp lại 2 Lặp lại 3

Hình 5-3 : Bố trí khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh với 6 mẫu nguồn gen A, B, C, D,E,F và một đối chứng

Hai trường hợp trên đều trong điều kiện số ô đúng bằng số mẫu nguồn gen, tuy nhiên trong thí nghiệm nguồn gen thường là không đảm bảo như vậy, đôi khi số trong các khối không ngang bằng nhau vì mẫu nguồn gen bị chết, mất... Ví dụ mẫu nguồn gen B bị mất.

Khối					
I	II	III	IV	V	VI
A	F		CHECK	A	
	E	CHECK	A	CHECK	E
C	CHECK	D	C	D	CHECK
CHECK	D	F	E	F	C

Lặp lại 1 Lặp lại 2 Lặp lại 3

Hình 5-4: Bố trí khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh với 6 mẫu nguồn gen A, B, C, D,E,F và một đối chứng nhưng mẫu B bị mất toàn bộ

Như vậy khối I, III và VI chỉ có 3 ô, các khối còn lại có 4 ô thí nghiệm, phân tích thống kê (balance analysis) sẽ không thực hiện được trong trường hợp này mà phải dùng (unbalance analysis).

Trường hợp ô thí nghiệm không cân đối giữa các khối có thể xảy ra ở nhiều dạng khác nhau, ví dụ như trường hợp sau khối V và VI bị mất hai ô chỉ còn 2 ô có số liệu, minh họa trong hình 5-5

Khối					
I	II	III	IV	V	VI
A	F	B	CHECK	A	B
B	E	CHECK	A	CHECK	E
C	CHECK	D	C		
CHECK	D	F	E		

Lặp lại 1 Lặp lại 2 Lặp lại 3

Hình 5-5: Bố trí khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh với 6 mẫu nguồn gen A, B, C, D,E,F và một đối chứng nhưng khối V và khối VI mất 2 ô thí nghiệm

Những ví dụ trên là ví dụ điển hình cho thí nghiệm đánh giá nguồn gen, nhưng rất linh hoạt thiết kế thí nghiệm phù hợp với những trường hợp đặc thù vì:

- Đối chứng có thể lặp lại khác nhau so với bộ mẫu thí nghiệm đánh giá
- Bộ mẫu có thể khác nhau số lần lặp lại
- Khối có thể khác kích thước

Những thí nghiệm như vậy cũng không khó khăn khi phân tích số liệu với những chương trình thống kê mới

+ *Phương pháp bố trí mạng lưới (Lattice) và alpha để đánh giá số lượng lớn nguồn gen trong những khối nhỏ*

Một phương pháp khác của khối ngẫu nhiên không hoàn chỉnh là lattice design, cũng là một phương pháp bố trí hữu ích với các nhà nghiên cứu nguồn gen và quản lý ngân hàng gen thực vật. Phương pháp lattice là một trường hợp đặc thù của ngẫu nhiên không hoàn chỉnh, nếu chỉ xem xét mạng lưới ô vuông (square lattice), khi số mẫu nguồn gen phù hợp cho là 9, 16, 25, 144 hoặc 900. Trong phương pháp này số khối là cố định bằng căn bậc 2 số mẫu nguồn gen, ví dụ 900 mẫu thí nghiệm số khối sẽ là 30 ô mỗi khối. Minh họa số mẫu đưa vào thí nghiệm là 9 (A, B., C, D, E , F , G, H, I) và lặp lại 2 lần (hầu hết của các thí nghiệm nguồn gen) như hình sau:

Lặp lại 1			Lặp lại 2		
Khối I	II	III	IV	V	VI
A	B	C	A	D	G
D	E	F	B	E	H
G	H	I	C	F	I

Hình 5-6 : Lattice 3 x 3

Thí nghiệm bố trí mỗi lần lặp lại chia thành 3 khối, mỗi khối chứa 3 mẫu nguồn gen, như vậy không nhất thiết các mẫu có mặt trong một khối, nhưng các mẫu phải có mặt trong một lần lặp lại 01 lần. Trong trường hợp bố trí có đối chứng Z, đối chứng bố trí trước khi làm ngẫu nhiên như sơ đồ sau:

Khối	Lặp lại 1			Lặp lại 2		
	I	II	III	IV	V	VI
	A	B	C	A	D	G
	D	E	F	B	E	H
	G	H	I	C	F	I
	Z	Z	Z	Z	Z	Z

Hình 5-7 : Lattice 3 x 3 có đối chứng Z

Khi có một số lượng rất lớn mẫu nguồn gen rõ ràng cần bố trí lattice sẽ hiệu quả hơn. Tuy nhiên phương pháp này vẫn còn khá cứng nhắc và không linh hoạt, như số mẫu cần phải đủ theo mức mạng lưới, khi số mẫu không ngang bằng rất khó bố trí. Để khắc phục nhược điểm này, phương pháp thiết kế Alpha (Alpha Design). Phương pháp này phù hợp và linh hoạt với số mẫu lớn, số lần lặp lại ít hơn số khối và kích thước khối có thể khác nhau

Khối	Lặp lại 1				
	I	II	III	IV	V
	A	B	C	D	E
	F	G	H	I	J
	K	L	M	N	O
	P	Q	R	Z	Z
	Z	Z	Z		

Khối	Lặp lại 2				
	VI	VII	VIII	IX	X
	A	D	E	B	C
	G	J	F	H	I
	O	M	N	K	L
	R	P	Q	Z	Z
	Z	Z	Z		

Hình 5-8: Bố trí alpha design với 18 mẫu nguồn gen và 01 đối chứng Z

Ví dụ trên với 18 mẫu nguồn gen, 2 lần nhắc lại là 36 ô thí nghiệm. Chúng ta giả sử ruộng thí nghiệm không đồng nhất, cần 6 khối chứa 4 mẫu = 24 mẫu. Như vậy còn 12 mẫu cần 4 khối x 3 mẫu = 12 nữa. Tổng số khối là 6 + 4 = 10 và mỗi lần lặp lại phải chứa 5 khối. Nếu mỗi khối bố trí 01 đối chứng sẽ đảm bảo so sánh trong các môi trường khác nhau theo biến động của ruộng thí nghiệm

+ *Bố trí thí nghiệm tăng tiến sơ đồ có chỉnh lý (Augmented Designs)*

Phương pháp này phù hợp để nghiên cứu hàng trăm, thậm chí hàng nghìn mẫu nguồn gen trong cùng một thí nghiệm. Một số lượng hạn chế vật liệu gieo, có thể chỉ đủ cho một lần không lặp lại. Một số trung bình bên ngoài điều chỉnh sai số thí nghiệm cho bất kỳ biến động môi trường nào của điểm thí nghiệm. Phương pháp điều chỉnh này là bố trí các ô đối chứng lặp lại. Lặp lại đối chứng để xác định hệ số biến động đại diện cho các mẫu nguồn gen không thể bố trí lặp lại, chúng có thể điều chỉnh so với đối chứng liền kề. Một ví dụ về bố trí thí nghiệm với 45 ô thí nghiệm, 15 đối chứng, như thế 1/3 diện tích thí nghiệm là giống đối chứng, trong thí nghiệm đánh giá 30 mẫu nguồn gen. Các đối chứng giúp cho điều chỉnh biến động giá trị trung bình qua môi trường. Nếu mỗi ô có kích thước 5 x 1 tổng diện tích thí nghiệm sẽ là 225 m². Diện tích đối chứng chiếm khoảng 15 – 20% diện tích thí nghiệm và có thể lớn hơn khi số mẫu đánh giá là 1.000 mẫu nguồn gen.

Ví dụ 45 ô chia thành 9 khối, trong mỗi khối có 5 ô, ở giữa các khối sử dụng 1 của 3 đối chứng và 9 đối chứng xấp xếp như vậy gọi là kiểu ô vuông la tinh. Khi phân tích số liệu, số liệu của đối chứng cung cấp hệ số điều chỉnh và xác định chính xác các mẫu nguồn gen kiểm tra

		Cột		
		1	2	3
Hàng				
1		Z1		
		Z1	Z2	Z3
				Z3
2			Z3	
			Z3	Z1
		Z2		
		Z2		Z1
3		Z3		
		Z3	Z1	Z2

Hình 5-9 : Một sơ đồ xấp xếp ô vuông 3 x 3 có 13 ô đối chứng

Đối chứng là cơ sở phản ánh so sánh mẫu nguồn gen, chúng cũng cho phép suy luận chắc chắn mẫu nguồn gen ở những môi trường khác nhau khi có nhiều đối chứng được nhận biết phân tích

Những phương pháp thí nghiệm cơ bản thảo luận mong muốn các thí nghiệm không lặp lại của một số hay toàn bộ mẫu nguồn gen. Phương pháp bố trí thí nghiệm cho phép loại bỏ những hạn chế xấp xếp ô thí nghiệm của các phương pháp thí nghiệm truyền thống. Sử dụng hai đối chứng Z1 và Z để điều chỉnh các mẫu nguồn gen thí nghiệm không lặp lại và số lượng lớn. Ví dụ một thí nghiệm rất lớn của chương trình tạo giống cây trồng trường Đại học Cambridge, Vương quốc Anh năm 1986 đã thực hiện một thí nghiệm 1.560 dòng lúa mỳ mùa đông, với diện tích ruộng thí nghiệm đến 2 ha, kích thước ô thí nghiệm là 1,5 x 4,5 m. Thí nghiệm này có 16% diện tích là đối chứng

5.4.6 Thu thập thông tin thí nghiệm nguồn gen

+ Các mức theo dõi đánh giá:

Theo dõi đánh giá thí nghiệm nguồn gen có 3 mức là theo dõi từng cá thể, theo dõi đánh giá từng ô thí nghiệm và theo dõi đánh giá toàn bộ thí nghiệm

Theo dõi đánh giá từng cây: theo dõi những đặc điểm quan trọng nhất của rất nhiều thí nghiệm đánh giá tài nguyên di truyền, chúng là những vật liệu không đồng nhất về di truyền, biến động ngay cả giữa các cây trong cùng một mẫu nguồn gen. Những tính trạng theo dõi từng cá thể như chiều cao cây, số quả, số nhánh, số lá, độ lớn hạt, quả, số quả trên cây, số hạt trên bông... Số cá thể theo dõi trong một nguồn gen ≥ 30 , phân tích số liệu của các cá thể cho thông tin đầy đủ và độ tin cậy số liệu của nguồn gen.

Theo dõi các ô: mỗi nguồn gen trồng trong một ô nhỏ đôi khi trồng trong một chậu, một số chỉ tiêu được theo dõi đánh giá trên cả ô như năng suất, thời gian sinh trưởng, mức độ chống chịu, mức độ biến động quần thể...

Theo dõi đánh giá toàn bộ thí nghiệm: cung cấp những thông tin chi tiết về môi trường thí nghiệm như đất đai, thời vụ gieo trồng, lượng mưa, bức xạ...

Nếu thí nghiệm có lặp lại, thu thập và phân tích giá trị trung bình chung của mẫu nguồn gen. Quyết định thu thập thông tin nào? ở mỗi mức tùy thuộc vào điều kiện và yêu cầu của loài cây trồng, nhìn chung thu thập càng đầy đủ thông tin càng tốt

+ *Lập sổ theo dõi đánh giá nguồn gen*

Xác định những chỉ tiêu theo dõi của mỗi mức, dựa trên các chỉ tiêu xác định tần suất theo dõi, lượng mẫu theo dõi cho mỗi chỉ tiêu để thiết lập sổ theo dõi. Mẫu nguồn gen khác nhau các chỉ tiêu theo dõi khác nhau.

Ngoài sổ theo dõi số liệu cần có thêm sổ nhật ký thí nghiệm, ghi chép tất cả những diễn biến thí nghiệm, công việc thực hiện hàng ngày

+ *Các chỉ tiêu theo dõi*

a) *Mức cá thể*

Theo dõi mức cá thể là những thông tin quan trọng nhất của thí nghiệm đánh giá nguồn gen. Khi số lượng mẫu lớn các chỉ tiêu theo dõi có thể giảm đi, nhưng khi số lượng ít và đánh giá chi tiết chỉ tiêu theo dõi chi tiết hơn. Để không thiếu sót những tính trạng quan trọng phân các chỉ tiêu theo dõi thành các nhóm tính trạng:

Nhóm 1: Các đặc điểm hình thái, sinh học

Nhóm 2 : Đặc điểm nông học

Nhóm 3: Năng suất và yếu tố tạo thành năng suất

Nhóm 4: Đặc điểm chống chịu sâu bệnh đồng ruộng

Nhóm 5: Chống chịu bất thuận

Nhóm 6: Một số tính trạng chất lượng

Mỗi nhóm lại bao gồm nhiều tính trạng cần theo dõi

Nhóm 1: Đặc điểm hình thái

- + Dạng cây
- + Chiều cao cây
- + Số nhánh/khóm
- + Số cành/cây
- + Số quả/cây, số hạt/bông
- + Số lá
- + Dạng lá
- + Kích thước lá
- + Góc lá
- + Màu sắc thân lá
- + Dạng hoa
- + Cấu tạo hoa
- + Màu sắc hoa
- + Dạng quả
- + Cấu tạo quả
- + Màu sắc quả
- + Kích thước quả
- + Phương thức thụ phấn
- +

Nhóm 2: Đặc điểm nông học

- + Mùa vụ
- + Các giai đoạn sinh trưởng phát triển
- + Ngày chín

- + Ngày ra hoa, ngày trổ
- + Mật độ khoảng cách
- + Nhu cầu dinh dưỡng
- + Nhu cầu nước

Nhóm 3: Năng suất và yếu tố tạo thành năng suất

- + Số cây/đơn vị diện tích
- + Số quả, bông, chùm quả/cây
- + Số quả trên chùm, số hạt/bông
- + Khối lượng quả, hạt
- + Năng suất cá thể
- + Năng suất ô

Nhóm 4: Đặc điểm chống chịu sâu bệnh đồng ruộng

- + Sâu hại
- + Bệnh hại
- + Nhóm 5: Chống chịu bất thuận
- + Hạn
- + Úng
- + Mặn
- + Phèn
- + Lạnh

Nhóm 5: Một số tính trạng chất lượng

- + Màu sắc
- + Mùi vị
- + Nấu nướng
- + Dinh dưỡng

Mỗi chỉ tiêu lại có phương pháp theo dõi cụ thể để đảm bảo độ tin cậy của thông tin, phương pháp theo dõi theo chuẩn quốc gia hoặc quốc tế. Ví dụ cho điểm khi theo dõi các tính trạng của lúa cho điểm theo hệ thống đánh giá lúa tiêu chuẩn của IRRI (Standard Evaluation System for Rice), ngô theo thang điểm của CIMMYT...Cán bộ thí nghiệm nên xây dựng bảng theo dõi chi tiết để thực hiện. Ví dụ bảng như sau với theo dõi đánh giá một số tính trạng nguồn gen ngô địa phương.

Bảng 5-3: Phương pháp theo dõi đánh giá

TT	Chỉ tiêu	Thời điểm/tần suất	Phương pháp theo dõi	Lượng mẫu
1	Các giai đoạn sinh trưởng, phát triển	Gieo, 3 -4 lá, 7-9lá, trổ cờ, phun râu, chín	Ghi chép khi có 10% cá thể trong quần thể	30 cá thể của 01 mẫu thí nghiệm
2	Chiều cao cây cuối cùng	Khí trổ cờ hoàn toàn	Đo trực tiếp	30 cá thể để tính trung bình
3	Số bấp trên cây	Trước thu hoạch	Đếm trực tiếp	30 cá thể
4	Diện tích lá	Giai đoạn 3-4 lá, 7-9 lá, trổ cờ, trước thu hoạch	Đo bằng máy đo diện tích lá, hoặc phương pháp cân nhanh	10 cây trên 01 mẫu nguồn gen, tính trung bình
5	Khả năng chịu hạn	Theo dõi khi hạn xảy ra và sau hạn	Cho điểm mức độ tàn lá/ CIMMYT, 2002	30 cá thể/ô
6	Bệnh sọc vi khuẩn	Theo dõi thời kỳ 3 – 4 lá	Tính % cây bị bệnh (CIMMYT,2000)	30 cá thể/ô

Một số chỉ tiêu theo dõi khó khăn trong cân đo, đong đếm có thể theo dõi bằng số tương đối như %, hoặc cho điểm theo thang điểm. Ví dụ cho điểm đối với tình trạng độ tàn lá ngô trong điều kiện hạn như sau:

Xác định: Cho điểm theo thang điểm từ 0 đến 10, chia cho phần trăm tổng diện tích lá đánh giá mỗi điểm là 10%.

- | | |
|---------------------------|-----------------------------|
| 1 = 10% diện tích lá chết | 6 = 60% diện tích lá chết |
| 2 = 20% diện tích lá chết | 7 = 70% diện tích lá chết |
| 3 = 30% diện tích lá chết | 8 = 80% diện tích lá chết |
| 4 = 40% diện tích lá chết | 9 = 90% diện tích lá chết |
| 5 = 50% diện tích lá chết | 10 = 100% diện tích lá chết |

Chú ý: Điểm tàn lá theo dõi 2 – 3 thời kỳ trong khoảng cách 7 – 10 ngày của thời gian kết hạt.

b) Mức ô thí nghiệm

- + Mức độ đồng nhất của quần thể thông qua quan sát hoặc từ số liệu từng cá thể để phân tích phương sai
- + Số hạt nảy mầm
- + Số cây khác dạng trong tổng số cây/ô,
- + Số biến dị xuất hiện trong toàn bộ ô
- + Năng suất thực thu trên ô
- + Thời gian chín, thu hoạch
- + Mức toàn bộ thí nghiệm

Một số chỉ tiêu về môi trường, chỉ tiêu quan trọng như đất thí nghiệm dựa trên 2 phương pháp (1) Từ một quả cầu đường kính 3 cm từ đất mịn; và (2) Nước nhỏ giọt lên đất đến khi bắt đầu dính tay. Như sau:

Loại	Mô tả
Cát	Đất còn xộp không thể hình thành quả cầu.
Thịt pha cát	Đất có thể thành hình tròn trong một ống hình trụ ngắn.
Thịt	Đất cuộn tròn trong ống 15 cm và vỡ khi uốn cong.
Thịt pha sét	Như đất thịt nhưng có thể uốn cong hình chữ U.
Sét nhẹ	Như đất thịt nhưng có thể uốn cong hình tròn nhưng nhìn rạn nứt
Sét nặng	Như đất thịt nhưng có thể uốn cong hình tròn không rạn nứt As

Nguồn: Pervez H. Zaidi, 2002

c) Các chỉ tiêu khác của toàn bộ thí nghiệm

- + So sánh các mẫu nguồn gen
- + Năng suất các lần lặp lại
- + Tương tác kiểu gen và môi trường

5.4.7 Quản lý số liệu thu thập

Sau khi thu thập đầy đủ thông tin số liệu phải được lưu trữ trong cơ sở dữ liệu và số theo dõi đồng ruộng. Số liệu thô dùng để phân tích số liệu và lưu trữ làm tài liệu tham khảo khi cần kiểm tra lại các thông tin.

Số liệu lưu trữ cần hệ thống hóa theo một trật tự nhất định để dễ tra cứu và sử dụng, tốt nhất lưu trữ số liệu trong excel, sau đó in ra thêm 01 bản để lưu trữ bằng Hardcopy.

Microsoft Excel - bảng theo dõi hạt trên bông.xls

File Edit View Insert Format Tools Data Window Help

Type a question for help

..VnTime 10 B I U

E40

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U		
1	Bảng theo dõi tổng số hạt trên bông																						
2	Rep 1																						
3			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Trung bình										
4	P1	M1	2.30	2.68	2.49	2.86	2.76	2.49	2.79	2.63	2.82	2.53	2.63.5										
5		M2	2.51	2.42	2.63	2.76	2.56	2.53	2.61	2.82	2.64	2.74	2.62.2										
6		M3	2.33	2.41	2.52	2.78	2.26	2.48	2.60	2.73	2.68	2.88	2.56.7										
7		M4	2.72	2.58	2.39	2.70	2.44	2.67	2.83	2.47	2.34	2.29	2.54.3										
8	P2	M1	2.42	2.79	2.46	2.63	2.39	2.42	2.68	2.36	2.21	2.80	2.51.6										
9		M2	2.45	2.55	2.70	2.60	2.43	2.56	2.84	2.31	2.11	2.33	2.48.8										
10		M3	2.10	2.28	2.67	2.53	2.83	2.23	2.75	2.31	2.43	2.43	2.45.6										
11		M4	2.53	2.36	2.23	2.37	2.72	2.38	2.21	2.64	2.19	2.31	2.39.4										
12	rep2																						
13			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Trung bình										
14	P1	M1	2.35	2.82	2.74	2.46	2.40	2.85	2.76	2.68	2.76	2.56	2.63.8										
15		M2	2.57	2.88	2.43	2.64	2.71	2.44	2.53	2.58	2.79	2.83	2.64.0										
16		M3	2.46	2.79	2.68	2.60	2.42	2.43	2.73	2.61	2.59	2.83	2.61.4										
17		M4	2.51	2.39	2.76	2.55	2.66	2.40	2.80	2.79	2.39	2.62	2.58.7										
18	P2	M1	2.66	2.44	2.54	2.72	2.79	2.63	2.37	2.56	2.83	2.42	2.59.6										
19		M2	2.53	2.35	2.55	2.75	2.44	2.69	2.65	2.44	2.72	2.33	2.54.5										
20		M3	2.47	2.60	2.80	2.49	2.54	2.18	2.27	2.49	2.56	2.75	2.51.5										
21		M4	2.28	2.58	2.32	2.79	2.49	2.43	2.72	2.61	2.33	2.32	2.48.7										
22	rep3																						
23			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Trung bình										
24	P1	M1	2.39	2.83	2.40	2.87	2.78	2.84	2.42	2.69	2.73	2.35	2.65.0										
25		M2	2.83	2.47	2.72	2.50	2.84	2.74	2.65	2.59	2.80	2.57	2.67.1										
26		M3	2.62	2.76	2.49	2.83	2.45	2.58	2.79	2.76	2.47	2.56	2.63.1										
27		M4	2.73	2.70	2.47	2.66	2.39	2.55	2.57	2.45	2.32	2.67	2.55.1										
28	P2	M1	2.32	2.78	2.61	2.47	2.77	2.56	2.37	2.83	2.59	2.69	2.59.9										
29		M2	2.63	2.39	2.47	2.46	2.75	2.59	2.73	2.56	2.67	2.59	2.58.4										
30		M3	2.49	2.75	2.33	2.56	2.70	2.42	2.77	2.55	2.67	2.39	2.56.3										
31		M4	2.25	2.49	2.39	2.56	2.70	2.53	2.67	2.70	2.37	2.25	2.49.1										
32	P3	M1	2.63	2.74	2.39	2.91	2.46	2.57	2.84	2.77	2.87	2.34	2.65.2										
33		M2	2.73	2.65	2.49	2.39	2.45	2.78	2.81	2.52	2.87	2.70	2.63.9										
34		M3	2.61	2.75	2.48	2.53	2.69	2.52	2.64	2.71	2.47	2.81	2.62.1										
35		M4	2.43	2.31	2.39	2.69	2.76	2.61	2.67	2.65	2.48	2.55	2.55.4										
36																							
37																							
38																							
39																							

Ready

Ví dụ lưu trữ số liệu thô chỉ tiêu số hạt trên bông của thí nghiệm hai mức phân bón (P) ở 4 mật độ độ cây(M) trên excel như trên. Các sheet khác nhau lưu số liệu thô của các tính trạng khác nhau.

Sau khi đã lưu trữ số liệu thô, các số liệu thô được đưa vào tính các tham số thống kê cơ bản như trung bình, lớn nhất, nhỏ nhất, phương sai. Những tham số thống kê này nhận được khi phân tích ở bất kỳ phần mềm chương trình thống kê nào.

5.4.8 Phân tích thống kê số liệu

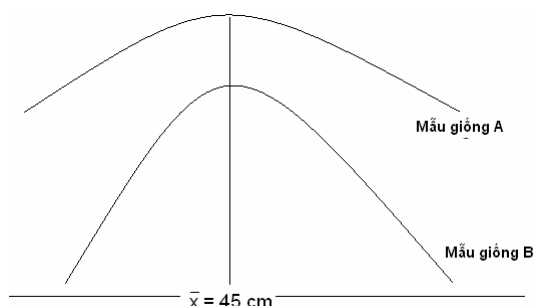
Phân tích thống kê đối với thí nghiệm đánh giá nguồn gen tương tự như các thí nghiệm nghiên cứu nông nghiệp khác. Những tham số thống kê quan trọng cần phân tích bao gồm: giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, ANOVA, hệ số biến động, sai khác nhỏ nhất có ý nghĩa, tương tác kiểu gen và môi trường, chỉ số chọn lọc...

+ Giá trị trung bình và phương sai giá trị trung bình

Mỗi cá thể được theo dõi các tính trạng, nhưng khi nói đến mẫu nguồn gen thường nói đến giá trị trung bình của mẫu nguồn gen đó. Giá trị trung bình và phương sai giá trị trung bình được tính công thức:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Giá trị trung bình phản ánh mức của quần thể nhưng chưa phản ánh được mức biến động của quần thể mẫu. Hai quần thể mẫu nguồn gen có thể có giá trị trung bình bằng nhau nhưng lại hoàn toàn khác nhau. Ví dụ chiều cao cây của 2 mẫu giống đậu tương đều có trung bình = 45 cm, nhưng phân bố các giá trị quan sát như sau:



Như vậy các giá trị quan sát chiều cao cây của mẫu giống A có biến động mạnh, giá trị Max và Min có thể xa nhau. Còn quần thể mẫu giống B đồng đều về chiều cao hơn, các giá trị chiều cao đo được dao động nhỏ xung quanh giá trị trung bình. Như vậy ngoài giá trị trung bình cần phân tích phương sai giá trị trung bình theo công thức sau:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Cả hai tham số giá trị trung bình và phương sai giá trị trung bình đều có thể thực hiện trên chương trình excel, đơn giản và tiện dụng hơn khi phải vào số liệu thô để tính với số lượng lớn. Khi tính toán trên excel hoàn chỉnh có thể copy sang văn bản báo cáo và lưu trữ. Ví dụ đánh giá 20 mẫu giống lúa địa phương về tình trạng chiều dài bông, năm 2005 tại Đại học Nông nghiệp Hà Nội

	Mẫu nguồn gen	Cây số...										TB	Độ lệch chuẩn (s)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Lần lặp lại 1													
1	GN13	29,0	27,0	22,5	30,5	28,0	26,5	31,0	27,8	34,8	29,2	28,63	3,22
2	GN16	22,0	27,0	23,0	22,0	22,9	23,5	23,2	26,0	22,9	23,0	23,55	1,64
3	GN17	28,5	21,0	18,0	20,0	23,0	27,5	19,5	18,3	28,0	27,8	23,16	4,35
4	GN18	25,0	18,4	26,4	19,8	23,5	31,5	28,5	30,5	26,5	29,2	25,93	4,36
5	GN19	21,2	30,4	29,0	23,5	20,0	29,5	37,5	26,0	30,5	26,2	27,38	5,16
6	GN20	28,0	29,5	20,0	27,0	21,5	16,0	23,0	20,5	21,0	20,0	22,65	4,24
7	GN21	22,9	28,0	29,8	19,9	26,0	23,0	19,0	21,0	24,5	31,5	24,56	4,22
8	GN23	31,0	28,5	29,5	28,5	31,0	26,5	26,7	33,5	21,5	28,0	28,47	3,25
9	GN24	24,0	19,5	26,0	17,5	21,0	18,5	16,0	20,0	21,0	26,0	20,95	3,43
10	GN26	23,0	20,0	16,5	21,0	18,5	21,0	23,0	23,0	22,0	22,0	21,00	2,15
11	GN29-1	31,0	26,0	27,5	34,0	22,0	34,3	31,3	16,0	20,0	27,0	26,91	6,08
12	GN29-2	26,0	25,6	29,0	26,0	18,5	30,5	27,5	26,5	19,5	29,0	25,81	3,93
13	GN31	22,0	22,8	24,5	18,5	19,0	16,0	19,9	20,0	21,2	16,0	19,99	2,76
14	GN33	22,0	24,5	21,0	15,0	17,5	28,8	27,0	24,0	20,0	21,5	22,13	4,16
15	GN34	17,8	22,5	22,8	21,5	18,6	22,0	23,0	25,0	18,0	18,0	20,92	2,60
16	GN36	25,0	26,5	32,0	35,0	26,0	29,0	27,2	26,5	25,5	23,0	27,57	3,55
17	GN38	37,5	31,0	39,0	38,5	38,5	41,8	41,5	36,0	35,0	35,0	37,38	3,26
18	GN40-1	27,5	25,2	22,6	29,5	22,5	28,0	26,6	25,5	27,0	23,0	25,74	2,42
19	GN40-2	20,5	23,5	20,0	21,0	23,5	16,0	19,2	24,0	21,0	19,5	20,82	2,42

20	GN41	26,8	21,8	22,4	26,0	24,2	23,2	19,2	20,0	17,5	20,5	22,16	2,97
Lần lặp lại 2													
1	GN13	29,0	27,0	22,5	30,5	28,0	26,5	31,0	27,8	34,8	29,2	28,63	3,22
2	GN16	22,0	27,0	23,0	22,0	22,9	23,5	23,2	26,0	22,9	23,0	23,55	1,64
3	GN17	28,5	21,0	18,0	20,0	23,0	27,5	19,5	18,3	28,0	27,8	23,16	4,35
4	GN18	25,0	18,4	26,4	19,8	23,5	31,5	28,5	30,5	26,5	29,2	25,93	4,36
5	GN19	21,2	30,4	29,0	23,5	20,0	29,5	37,5	26,0	30,5	26,2	27,38	5,16
6	GN20	28,0	29,5	20,0	27,0	21,5	16,0	23,0	20,5	21,0	20,0	22,65	4,24
7	GN21	22,9	28,0	29,8	19,9	26,0	23,0	19,0	21,0	24,5	31,5	24,56	4,22
8	GN23	31,0	28,5	29,5	28,5	31,0	26,5	26,7	33,5	21,5	28,0	28,47	3,25
9	GN24	24,0	19,5	26,0	17,5	21,0	18,5	16,0	20,0	21,0	26,0	20,95	3,43
10	GN26	23,0	20,0	16,5	21,0	18,5	21,0	23,0	23,0	22,0	22,0	21,00	2,15
11	GN29-1	31,0	26,0	27,5	34,0	22,0	34,3	31,3	16,0	20,0	27,0	26,91	6,08
12	GN29-2	26,0	25,6	29,0	26,0	18,5	30,5	27,5	26,5	19,5	29,0	25,81	3,93
13	GN31	22,0	22,8	24,5	18,5	19,0	16,0	19,9	20,0	21,2	16,0	19,99	2,76
14	GN33	22,0	24,5	21,0	15,0	17,5	28,8	27,0	24,0	20,0	21,5	22,13	4,16
15	GN34	17,8	22,5	22,8	21,5	18,6	22,0	23,0	25,0	18,0	18,0	20,92	2,60
16	GN36	25,0	26,5	32,0	35,0	26,0	29,0	27,2	26,5	25,5	23,0	27,57	3,55
17	GN38	37,5	31,0	39,0	38,5	38,5	41,8	41,5	36,0	35,0	35,0	37,38	3,26
18	GN40-1	27,5	25,2	22,6	29,5	22,5	28,0	26,6	25,5	27,0	23,0	25,74	2,42
19	GN40-2	20,5	23,5	20,0	21,0	23,5	16,0	19,2	24,0	21,0	19,5	20,82	2,42
20	GN41	26,8	21,8	22,4	26,0	24,2	23,2	19,2	20,0	17,5	20,5	22,16	2,97

+ *Phân tích ANOVA, phân tích mức đám, phân tích hồi quy, tương quan*

Phân tích ANOV, phân tích mức đám, phân tích hồi quy, tương quan đối với thí nghiệm nghiên cứu nguồn gen cũng tương tự như thí nghiệm nông nghiệp khác, nếu thí nghiệm nguồn gen thực hiện có số lần lặp lại là 2 trở lên

+ *Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường*

Phân tích tương tác kiểu gen và môi trường đôi khi cần thiết cho thí nghiệm đánh giá nguồn gen, khi cần xem xét mức độ ổn định của nguồn gen với thay đổi môi trường. Môi trường là những yếu tố tác động đến cây trồng, tạo ra kiểu hình và giá trị sai khác với giá trị thực của kiểu gen. Tương tác kiểu gen G (genotype) và môi trường E (Environment) ký hiệu là GEI (Genotype x environment interactions). Là hiện tượng hai hay nhiều kiểu gen phản ứng khác nhau với sự thay đổi của môi trường (Paolo, 2002). QTL (Quantitative trait locus) x environment (E) tương tác giữa các tính trạng số lượng và môi trường.

Thích nghi (Adaptation) là một quá trình mà kiểu gen thực vật thích nghi với một môi trường nhất định.

Thích ứng là khả năng thể hiện thích nghi của cây trồng cho sinh trưởng tốt, năng suất cao ổn định trong một môi trường hay một số môi trường cụ thể nào đó. Mô hình phân tích ổn định Bernardo (2002) và Eberhard và Russell (1966)

$$P_{ij} = \mu + g_i + b_j + d_{ij} + e_{ij}$$

Trong đó :

P_{ij} là giá trị kiểu hình của kiểu gen hoặc giống I ở môi trường j

μ giá trị trung bình toàn bộ thí nghiệm

g_i tác động của kiểu gen i qua các môi trường

b_j là đường hồi quy của p_{ij} trên t_j

t_j là chỉ số môi trường (ảnh hưởng của môi trường j lên các kiểu gen)

d_{ij} độ lệch của p_{ij} từ giá trị hồi quy cho một t_j

e_{ij} là sai số trong một môi trường

+ *Tính khoảng cách di truyền của các mẫu nguồn gen*

Xác định khoảng cách di truyền giữa các mẫu nguồn gen dựa trên kiểu hình

Khoảng cách di truyền là sự khác nhau giữa hai thực thể có thể mô tả bằng biến động các allele (Nei, 1973). Định nghĩa này được Nei (1987) hoàn chỉnh “ Khu vực gen khác nhau giữa các quần thể hoặc các loài được xác định bởi một số số lượng”

Định nghĩa hoàn chỉnh hơn “ Bất kỳ sự khác nhau di truyền nào được xác định ở mức chuỗi hoặc mức chuỗi allele giữa các cá thể, quần thể hoặc loài đều được gọi là khoảng cách di truyền” (Beaumont và cs, 1998).

Xác định khoảng cách bằng đường tuyến tính hay khoảng cách ơ clit (Euclidean or straight-line). Những mô hình toán học này được sử dụng phổ biến nhất để ước lượng khoảng cách di truyền- genetic distance (GD) giữa các thực thể (kiểu gen hoặc quần thể) thông qua số liệu hình thái. Khoảng cách ơclit giữa hai cá thể i và j , có giá trị quan sát trên các đặc điểm hình thái (p) biểu thị bằng các giá trị x_1, x_2, \dots, x_p và y_1, y_2, \dots, y_p cho i và j , có thể tính bằng công thức sau:

$$d_{(i,j)} = [(x_1 - y_1)^2 + (x_2 - y_2)^2 + \dots + (x_p - y_p)^2]^{1/2}$$

Ngoài xác định khoảng cách di truyền dựa trên khoảng cách ơclit còn có những mô hình toán học khác cần tham khảo thêm như Rogers' Distance; Modified Rogers' Distance; Cavalli-Sforza và Edwards' Chord Distance; Reynolds' Dissimilarity.

Xác định KCDT dựa trên chỉ thị phân tử

Số liệu chỉ thị phân tử là các sản phẩm khuếch đại ngang bằng với số allele của thực thể: Khuếch đại bằng SSRs (simple sequence repeats); RFLPs (restriction fragment length polymorphisms (RFLPs)). Tính tần suất allele để xác định khoảng cách di truyền giữa các cá thể i và j được ước lượng bằng công thức sau:

$$d(i, j) = \text{const} \tan t \left(\sum_{a=1}^n |X_{ai} - X_{aj}|^r \right)^{1/r}$$

Trong đó: X_{ai} là tần xuất allele a của cá thể thứ i và j , n là số allele trên một locus, r là hằng số trên cơ sở hệ số sử dụng ở dạng đơn giản (khi $r = 1$)

5.5 ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐÁNH GIÁ NGUỒN GEN

NorAiniAb Shukor, 2001 cho rằng sử dụng marker di truyền như phân tích đa hình khuếch đại ngẫu nhiên ADN -RAPD (Random amplified polymorphic DNA) rất có ý nghĩa trong đánh giá bảo tồn nguồn gen. Bên cạnh sử dụng để xác định đặc điểm của nguồn tài nguyên di truyền. Marker phân tử có tiềm năng ứng dụng để cải tiến cây trồng, nhưng ứng dụng Marker phân tử có thể chia thành 3 nhóm chính là (1) đánh giá di truyền, (2) lượng hóa biến dị di truyền và (3) trợ giúp chọn lọc. Lượng hóa biến dị di truyền của nhiều loài cây trồng ví dụ như sau

Bảng 5-4 Ứng dụng marker phân tử cho một số loại nguồn gen

Ứng dụng	Phương pháp	Loài	Ghi chú	Tham khảo
Các mẫu mục tiêu	RAPD	<i>Theobroma cacao</i> (Cocoa)	Nên sử dụng phân tích đám và cây di truyền	Lerceteau et al.1997
Đánh giá nguồn	RAPD	<i>Triticum</i>	15% của mẫu nguồn	Cao et al ,1998

gen thu thập

aestivum

gen nhân sử dụng
marker DNA

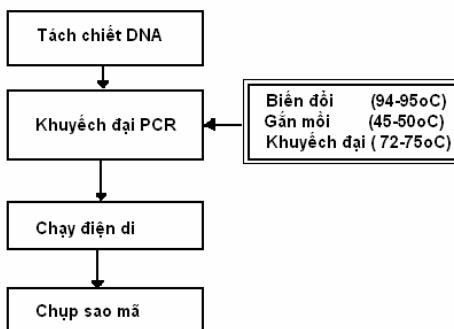
Brassica

oleracea (bắp
cải)

Có thể nhóm từ 14 đến Phippen
4 mẫu để giảm bớt chi al,1997
phí

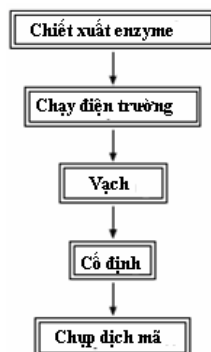
et

Các bước thực hiện phân tích RAPD như sau:



Hình 5-10 Các bước thực hiện phân tích RAPD

Phân tích Isozyme là các sản phẩm protein hay gen trực tiếp, Isozyme khác hình thức một enzyme với cùng một chất nền cụ thể nhưng khác nhau về lưu chuyển điện tử (electrophoretic mobilities). Phương pháp dựa trên di truyền phân tử khác cũng tăng đột biến làm thay đổi chuỗi ADN. Thay đổi di truyền do đột biến gen có thể trong enzyme hoặc amino axit thay thế trên bề mặt của enzyme, sự khác nhau này là nguyên nhân tỷ lệ khác nhau của Isozyme trong một điện trường. Bằng phương pháp Isozyme di truyền khác nhau giữa các cá thể hay quần thể được khám phá đơn giản và nhanh hơn. Các bước thực hiện như sau :



Hình 5-11 Các bước thực hiện phân tích Isozyme

Nguồn tài nguyên di truyền thực vật cần thiết cho tiếp tục bảo tồn và sử dụng cải tiến cây trồng nông nghiệp, do vậy nó được đánh giá các đặc điểm, đặc biệt là các đặc điểm hình thái, nông sinh học. Thời gian qua, đánh giá các tính trạng như vậy chủ yếu dựa trên kiểu hình và phương pháp tiếp cận này thường bị hạn chế với những tính trạng có khả năng di truyền cao, rất ít biểu hiện biến động và những tính trạng phản ứng mạnh với môi trường rất khó xác định.

Yong-Bi Fu và cộng sự 2003, đã sử dụng marker phân tử RAPD đánh giá 54 giống lanh kết quả cho thấy 54 mẫu giống lanh thu thập không phân thành nhóm rõ rệt . Tỷ lệ trung bình của các Loci RAPD cố định được tính toán và phân tích đám, tạo cây di truyền cho thấy có sự khác biệt của một số lô cút so với các nhóm khác.

Kết quả này cho thấy sử dụng marker phân tử để nghiên cứu phân loại nguồn gen có thể thu được độ chính xác rất cao. Sau khi thu thập nguồn gen cần phân loại cho bảo tồn và sử dụng, với bảo tồn bằng hạt trong ngân hàng gen Frankel, 1973; Hawkes, 1983 phân làm hai loại là nguồn gen cơ bản (Base collections) và nguồn gen hoạt động (Active collections), nguồn gen sử dụng (Working collections) không là một loại của hệ thống bảo tồn di truyền

5.6 TỔNG HỢP KẾT QUẢ VÀ TÀI LIỆU HÓA

Nguồn gen được tài liệu hóa và bổ sung đầy đủ thông tin sau khi thí nghiệm đánh giá nguồn gen, bước tài liệu hóa và đưa vào cơ sở dữ liệu có ý nghĩa quan nhằm cung cấp đầy đủ thông tin cho:

- Quản lý các nguồn gen bảo tồn
- Nghiên cứu bảo tồn
- Tình trạng nguồn gen
- Cung cấp cho người sử dụng
- Sử dụng trong trao đổi nguồn gen

5.7 SỬ DỤNG NGUỒN GEN THỰC VẬT

Nguồn gen thực vật là tài sản của nhân loại và liên quan đến sự sống của con người, nó được sử dụng vào nhiều mục tiêu khác nhau. Một số tài nguyên di truyền đang được sử dụng trong hiện tại đáp ứng cho nhu cầu của con người, một số hiện nay chưa được sử dụng nhưng có tiềm năng sử dụng trong tương lai. Những lĩnh vực cần sử dụng tài nguyên di truyền thực vật chính:

5.7.1 Nghiên cứu cơ bản:

Sử dụng nguồn gen cho nghiên cứu cơ bản chủ yếu ở các lĩnh vực nghiên cứu di truyền, thực vật học, nghiên cứu ưu thế lai, tính chống chịu, hóa sinh, sinh học phân tử, công nghệ di truyền, công nghệ tế bào và môi trường. Ví dụ nghiên cứu di truyền ở cây *Arabidopsis thaliana*. W.A. Rensink and C. Robin Buell, 2004 đã chỉ ra rằng nghiên cứu di truyền của cây *Arabidopsis thaliana* cho con người những hiểu biết về các loài cây trồng.

5.7.2 Sử dụng trong các chương trình tạo giống với các mục tiêu khác nhau

Nguồn gen được sử dụng trong các chương trình lai, chuyển gen, cải tiến giống, tạo giống thích nghi, tạo giống chống chịu.. Nguồn gen được sử dụng trong chương trình tạo giống có phạm vi rộng, ở tất cả các quốc gia, ví dụ ở Trung Quốc 13 Viện nghiên cứu nhận 21,1% mẫu nguồn gen trong cho chương trình cải tiến giống cây trồng, 1281 giống thuần đã được tạo ra nhờ sử dụng 1487 mẫu nguồn gen (số này chiếm 0,8% tổng lượng mẫu nguồn gen hiện có của Trung Quốc). Kết quả nghiên cứu sử dụng nguồn gen cho thấy rằng các cây trồng có giá trị kinh tế mẫu nguồn gen đang sử dụng nhiều hơn và hiệu quả cao hơn. Mặc dù ngày nay ở Trung Quốc khoảng 85% cây trồng chính đã sử dụng các giống cải tiến nhưng tất cả cây trồng cải tiến và giống lai đều có liên quan đến sử dụng nguồn gen.

5.7.3 Sử dụng thu thập mẫu nguồn gen hạt nhân

Cải tiến, đánh giá và sử dụng nguồn gen thực vật là một công việc nguyên lý của các hoạt động trong thu thập nghiên cứu bảo tồn nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Frankel và

Brown (1984) đã phát triển nguyên lý thu thập nguồn gen hạt nhân và Brown năm 1989 phát triển thành lý thuyết, một cơ sở quan trọng trong sử dụng nguồn tài nguyên di truyền thực vật. Những lý thuyết và kỹ thuật cơ bản của thu thập nguồn gen hạt nhân đã được trình bày trong chương 2 (thu thập nguồn gen thực vật). Mục tiêu thu thập nguồn gen hạt nhân phục vụ bảo tồn và sử dụng nguồn gen cho nhiều mục đích, nhưng có ba mục đích chính của thu thập nguồn gen hạt nhân:

- + Giúp cho quản lý nguồn tài nguyên di truyền thực vật
- + Lưu giữ các cây trồng mục tiêu như lúa, ngô, khoai, sắn, một số cây rau, cây ăn quả, cây thuốc dài hạn
- + Giúp các nhà nghiên cứu tiếp cận toàn bộ nguồn gen chỉ thông qua một số lượng tối thiểu của nguồn gen.

5.7.4 Phân nhóm nguồn gen cho chương trình cải tiến giống

Trước chương trình sử dụng nguồn gen cho cải tiến giống cây trồng sử dụng nguồn gen thực vật. Nghiên cứu đánh giá nguồn gen để xác định nguồn gen sử dụng cho các mục đích khác nhau, sau đánh giá phân thành các nhóm nguồn gen còn gọi là nguồn gen hoạt động. Nghiên cứu phân nhóm nguồn gen theo nhiều hình thức, như phân nhóm theo chương trình tạo giống, phân nhóm theo nguồn gốc xuất xứ, phân nhóm theo hệ thống phân loại thực vật. Việc phân nhóm phụ thuộc vào các chương trình của quốc tế, quốc gia hoặc cơ quan nghiên cứu.

1) Phân nhóm theo chương trình tạo giống

Nhóm nguồn gen có thể trực tiếp sử dụng

Nhóm nguồn gen cho chương trình tạo giống năng suất

Nhóm nguồn gen cho chương trình tạo giống chống chịu điều kiện bất thuận

Nhóm nguồn gen cho chương trình phát triển giống chống chịu sâu bệnh

Nhóm nguồn gen cho chương trình tạo giống chất lượng

2) Phân nhóm theo nguồn gốc xuất xứ nguồn gen

Nguồn gen cây hoang dại

Nguồn gen giống cây trồng địa phương

Nguồn gen trong chương trình trao đổi nguồn gen Quốc tế

3) Phân nhóm theo hệ thống phân loại thực vật

Nguồn gen họ hòa thảo

Nguồn gen cây họ bầu bí

Nguồn gen cây họ thập tự

Nguồn gen cây họ cam quýt...

Mỗi nhóm nguồn gen trên lại có thể phân thành các nhóm nhỏ phục vụ cho một chương trình tạo giống cụ thể. Sau khi phân nhóm hình thành các danh mục nguồn gen cung cấp cho các nhà chọn giống lựa chọn sử dụng trong chương trình phát triển giống cây trồng.

5.7.5 Phân phối sử dụng nguồn gen

Phân phối nguồn gen là cung cấp mẫu nguồn gen đại diện của mẫu hạt trong ngân hàng gen, mẫu mô, bộ phan nhân giống sinh dưỡng hay DNA theo yêu cầu của người sử dụng, nhìn chung phân phối nguồn gen chỉ phân phối từ nguồn gen hoạt động.

Một trong những mục đích của bảo tồn ngân hàng gen là phục vụ và cung cấp vật liệu cho cải tiến giống cây trồng thông qua các chương trình chọn giống và các hoạt động nghiên cứu liên quan hoặc để tránh làm mất đa dạng trên nông trại và môi trường sống tự nhiên đáp ứng nhu cầu của nông dân và cộng đồng. Đây là sự đóng góp trực tiếp của nguồn tài nguyên di truyền thực vật để cải thiện sinh kế của nông dân nghèo và bảo vệ môi trường

Trước đây sử dụng nguồn gen dựa chủ yếu vào tự nhiên, ngày nay việc sử dụng nguồn gen gắn liền với bảo tồn nguồn gen. Các ngân hàng gen phải liên kết với người sử dụng, nhà tạo giống, nhà nghiên cứu, nông dân và các nhóm khác. Phân phối nguồn gen đảm bảo đến được những địa chỉ tốt nhất. Các điều kiện môi trường trong quá trình vận chuyển có thể ảnh hưởng đến chất lượng nguồn gen từ ngân hàng đến nơi sử dụng. Bởi vì phân phối nguồn gen có thể trong một nước, trong vùng hay toàn cầu có khoảng cách và thời gian vận chuyển khác nhau. Khi phân phối nguồn gen cần có những kỹ thuật đóng gói, bảo quản phù hợp cho nơi nhận khác nhau để đảm bảo chất lượng nguồn gen.

a) Phân phối nguồn gen trong nước

Bước 1: Xác định mẫu nguồn gen phân phối

Bước này cần có các công tác chuẩn bị phân phối nguồn gen, công tác chuẩn bị đảm bảo phân phối đầy đủ, chính xác nâng cao hiệu quả sử dụng nguồn gen trong chương trình tạo giống quốc gia hay địa phương. Những điểm lưu ý khi chuẩn bị phân phối nguồn gen gồm:

- + Kiểm tra cơ sở dữ liệu để quyết định số lượng phân phối
- + Chỉ phân phối số lượng tối thiểu bằng 1/4 đến 1/6 lượng mẫu nhân của một chu kỳ, còn lại duy trì cho những nhu cầu khác
- + Nếu lượng không còn đủ phân phối cần thông báo lại nơi phân phối và tiến hành nhân hạt sau đó mới phân phối
- + Kiểm tra thông tin thu thập và những thông tin khác cung cấp cho người sử dụng

Bước 2: Chuẩn bị mẫu cho phân phối

- + Đăng ký ghi nhận thông tin người nhận mẫu
- + Chuẩn bị danh sách mẫu nguồn gen phân phối
- + Kiểm tra yêu cầu cho vận chuyển nguồn gen đến nơi nhận
- + Đóng gói và dán nhãn cho mẫu nguồn gen
- + Cập nhật thông tin vào cơ sở dữ liệu

Nếu mẫu nguồn gen trong lạnh cần luyện thích nghi trước khi vận chuyển bằng cách đưa ra khỏi kho lạnh từ ngày hôm trước hoặc sử dụng vận chuyển lạnh. Mở dụng cụ chứa và nhanh chóng sắp xếp nguồn gen dựa trên nhãn ngoài túi đựng hạt. Sử dụng phương pháp lấy mẫu ngẫu nhiên để đảm bảo mẫu cung cấp đại diện cho mẫu nguồn gen, số lượng hạt cung cấp được khuyến nghị từ 50 – 100 hạt cho một mẫu cung cấp, phụ thuộc vào hệ thống tạo giống và loài cây trồng (cây giao phấn cần nhiều hơn và cây tự thụ phấn cần ít hơn). Sau khi lấy mẫu đưa mẫu vào bao bì dán kín ngay để chuyển đến nơi nhận để tránh hút ẩm hư hỏng nguồn gen. Để đảm bảo an toàn không nhầm lẫn ngoài nhãn bên ngoài túi cần có một nhãn số hiệu nguồn gen đặt trong túi

Bước 3: Chuẩn bị danh sách thông tin cho nguồn gen phân phối để gửi theo mẫu nguồn gen

Danh sách và thông tin bao gồm thông tin chi tiết khi thu thập như số mẫu, nhận biết, địa phương cũng như các đặc điểm và thông tin khác do nơi nhận đề nghị

Bước 4: Gửi mẫu nguồn gen đến nơi nhận

Đóng gói chung thông tin và một số mẫu trong một hộp theo tiêu chuẩn, gửi theo các phương tiện vận chuyển khác nhau, ngoài hộp cần có đầy đủ thông tin, người nhận, địa chỉ và những thông tin an toàn hàng hóa. Gửi và vận chuyển nguồn gen theo phương tiện nhanh nhất có thể để tránh hư hỏng và mất sức sống nguồn gen. Công việc tiếp theo là ghi nhận các thông tin gửi nguồn gen vào cơ sở dữ liệu

b) Phân phối nguồn gen đi nước khác

Trao đổi nguồn gen Quốc tế cần tuân thủ theo các quy định của luật trao đổi và xuất khẩu nguồn gen. Xử lý làm sạch trước khi thực hiện các bước đóng gói nguồn gen chuyển đi theo đề nghị của quốc gia nhập nguồn gen. Kiểm dịch nguồn gen thực hiện cả nơi xuất khẩu và nơi nhập nguồn gen theo tiêu chuẩn luật pháp Quốc tế. Kiểm dịch cần có chứng chỉ kiểm dịch đảm bảo thủ tục pháp lý của kết quả kiểm dịch. Tuy nhiên kiểm dịch nơi nhập khẩu quan trọng để ngăn ngừa những dịch hại quy định cấm nhập vào trong nước. Các bước chuẩn bị mẫu nguồn gen cho xuất khẩu tương tự như phân phối trong nước

Thông tin phản hồi từ nơi sử dụng nguồn gen: nhận phản hồi từ nơi sử dụng nguồn gen là cần thiết, thông thường thông tin phản hồi khoảng 6 tháng 1 lần. Những thông tin này giúp cho nhận biết những thiếu khuyết của dịch vụ cung cấp nguồn gen, bên cạnh đó cũng nhận thêm được những thông tin mới về đặc điểm, tính trạng mới của nguồn gen như khả năng chống chịu dịch hại ở nơi nhập nguồn gen. Sau khi nhận được phản hồi thông tin mới được cập nhật vào cơ sở dữ liệu của nguồn gen và những tác động cũng như lợi ích của nguồn gen

5.7.6 Sử dụng nguồn gen hoang dại và họ hàng hoang dại

a) Đặc điểm nguồn gen hoang dại

Nguồn gen hoang dại và họ hàng hoang dại của cây trồng có những đặc điểm và tính trạng quý như khả năng chống chịu điều kiện bất thuận, sâu bệnh và một số có chất lượng tốt và sản phẩm chứa các hợp chất hữu cơ đặc thù được sử dụng cho những mục đích làm thuốc hay chế biến. Nhận biết các tính trạng và allele có lợi sử dụng trực tiếp hoặc làm vật liệu cho chọn tạo giống cây trồng là cần thiết. Tóm lại những đặc điểm quan trọng của nguồn gen hoang dại là:

- + Khả năng thích nghi rất cao mà cây trồng không có được
- + Sinh trưởng, phát triển mạnh
- + Chống chịu tốt với dịch hại, cỏ dại, sâu bệnh
- + Số lượng biến dị lớn
- + Một số loài tích lũy các hợp chất hữu cơ hiếm sử dụng cho làm thuốc
- + Nguồn gen hoang dại thường có năng suất thấp
- + Sản phẩm của đa số nguồn gen hoang dại không có khả năng sử dụng trực tiếp
- + Hạt có ngủ nghỉ và bảo thủ di truyền cao

b) Sử dụng nguồn gen hoang dại

Nguồn gen hoang dại tự nhiên và họ hàng hoang dại của cây trồng có nhiều loài đa bội đa bội như chuối, mía và cam quýt... không chỉ được sử dụng để phân loại mà còn được sử dụng tái tổ hợp tạo các giống cây trồng đa bội ở các mức đa bội khác nhau ví dụ các giống chuối AAA và AAB

Nguồn gen hoang dại có tầm quan trọng đặc biệt đã thu hút các nước và các Trung tâm nghiên cứu thu thập, bảo tồn và sử dụng ngày một rộng rãi. Theo báo cáo của IRRI năm 2000 Viện nghiên cứu lúa Quốc tế nhận được 700 mẫu giống nguồn gen lúa (*O. sativa*) trong đó 84 mẫu lúa hoang dại, đưa tổng mẫu nguồn gen lúa bảo tồn tại IRRI lên 24.700 mẫu trong đó có 2400 mẫu giống lúa hoang dại thu thập từ 22 nước Châu Á. Hàng năm IRRI cung cấp các mẫu nguồn gen, trong đó có nguồn gen lúa đại đến các quốc gia cho các chương trình tạo giống thu được những thành công rất lớn. Năm 1999 Việt Nam nhận 17 mẫu nguồn gen cho lai và đã có 20 dòng mới được đưa vào khảo nghiệm Quốc gia.

Trung Quốc đã có những dự án thu thập, bảo tồn và sử dụng nguồn gen lúa đại nhằm đánh giá nhận biết tiềm năng nguồn gen lúa đại về năng suất, chất lượng, chống chịu... dựa trên di truyền phân tử phục vụ cho các chương trình tạo giống lúa của Trung Quốc.

Khoai tây hoang dại được thu thập và bảo tồn 11.845 mẫu nguồn gen khoai tây hoang dại từ 6 nước phục vụ bảo tồn, nghiên cứu và sử dụng chọn tạo giống khoai tây cho hệ thống sinh thái sản xuất khoai tây khác nhau ở Châu Âu, đặc biệt là chống chịu lạnh và sương muối. Theo nghiên cứu của Vega, S.E. và cộng sự những giống khoai tây cải tiến khả năng chống chịu sương muối kém nhưng một số loài họ hoàng hoang dại của nó có khả năng chống chịu với sương muối và chịu lạnh có thể sử dụng trong các chương trình tạo giống

Sử dụng nguồn gen hoang dại có những hướng chủ yếu là : (1) sử dụng trực tiếp cho sản xuất hoặc khi có nhu cầu mới của con người (2) sử dụng để lai chuyển gen cho những tính trạng đặc biệt; (3) Sử dụng làm vật liệu nghiên cứu di truyền hoặc nghiên cứu đa dạng sinh học

Sử dụng trực tiếp : Rất nhiều cây hoang dại được sử dụng trực tiếp, nhiều nhất là các cây thuốc, các cây gia vị như cây Ác ti xô (*Cynara scolymus* L.), cây bạc hà mọc hoang dại (*Mentha arvensis* L.), cây củ mài (*Dioscorea persimilis* Prain et Burkill), cây dành dành (*Gardenia jasminoides* Ellis) vừa là cây làm thuốc vừa là cây cho phẩm màu trong chế biến thực phẩm, cây diếp cá (*Houttuynia cordata* Thumb.) vừa là cây rau nhưng có tác dụng làm thuốc, cây húng chanh (*Coleus amboinicus* Lour.), hương nhu (*Ocimum sanctum* L.). Tuy nhiên do khai thác quá mức mà những nguồn gen hoang dại này bị cạn kiệt, vì thế bảo tồn cho sử dụng bền vững nguồn gen hoang dại đang được quan tâm trên toàn cầu.

Sử dụng cho lai chuyển gen, đặc biệt là các gen chống chịu và chất lượng đặc thù. Khi lai chuyển gen với cây trồng thường gặp khó khăn do lai xa do sai khác về di truyền và sinh lý giữa hai bố mẹ. Ngày nay do công nghệ sinh học phát triển có thể khắc phục bằng cứu phôi. Phôi không có sức sống trên cây được tách và đưa vào nuôi cấy trong môi trường phù hợp. Ví dụ lai cà chua trồng (*Lycopersicon esculentum*) với cà chua dại (*L. peruvianum*), (Thomas Pratt, 1981). Lai cây cỏ linh lăng (cỏ họ đậu làm thức ăn gia súc) *Medicago sativa* với *M. rupestris* của (McCoy, 1985).

Ưu thế lai cũng đã nhận được khi lai lạc, loài *Arachis hypogaea* và các loài tự bất hợp là *A. paraguariensis* và *A. appressipila* cả hai đều chống được bệnh đốm lá thông qua sử dụng cứu phôi thành công (Rao và cộng sự, 2003). Lai cây cải dầu (*Brassica napus*) và cây hạt cải trắng (*Sinapsis alba*); thu được nhiều tính trạng mong muốn như chống chịu những sâu hại chủ yếu của các cây họ cải (*Brassicaceae*), chống chịu nhiệt độ cao và khô hạn bên cạnh chống chịu tách quả (Brown và cộng sự, 1997, Momotaz và cs, 1998).

Nuôi cấy phôi đã chứng minh là một công cụ hữu ích khắc phục tự bất hợp giao tử trong các loài phụ khác nhau. Gần đây chuyển gen chống bệnh thối nhũn khoai tây dại (*Solanum pinnatisectum*) vào khoai tây trồng (*Solanum tuberosum*) thành công khi thực hiện lai và cứu phôi (Ramon và hanneman, 2002)

Sử dụng các tính trạng đặc biệt của nguồn gen hoang dại trong các chương trình tạo giống cây trồng như tính trạng bất dục đực CMS, TGMS và PGMS ở các loài hoang dại được chuyển vào cây trồng phục vụ phát triển giống ưu thế lai như bất dục hoang dại ở lúa. WA được sử dụng trong tạo giống lúa lai 3 dòng, ba dạng bất dục CMS ở ngô được tìm thấy trong tự nhiên là T, C và S, dạng bất dục T được sử dụng tạo ra khoảng 70% giống ngô lai ở Mỹ đến những năm 1970

Khush và Brar, 2002 cho biết các loài lúa hoang dại là một nguồn dự trữ quan trọng những gen có lợi cho chống chịu sâu, bệnh, điều kiện bất thuận sinh học và phi sinh học. Các loài dại cũng là nguồn dự trữ gen bất dục đực tế bào chất (CMS). Mặc dù vậy, cũng có những khó khăn khi chuyển các gen này từ lúa dại vào lúa trồng (Brar và Khush, 1997), một trong những khó khăn là khó lai do sai khác về số nhiễm sắc thể và gen. Công cụ công nghệ sinh học như cứu phôi và lai tế bào trần đã vượt qua được những khó khăn này. Kỹ

thuật phân tử ngày nay có thể xác định chính xác gen và chuyển gen vào lúa trồng, những thành công như minh họa trong bảng 5-5

Bảng 5-5: Kết quả chuyển gen từ loài lúa dại *Oryza* vào lúa trồng

Tính trạng	Loài Donor <i>Oryza</i>		
	Loài dại	Genome	Mẫu nguồn gen số
A. Đã chuyển vào <i>Oryza sativa</i>			
Bệnh còi cọc	<i>O. nivara</i>	AA	101508
Bệnh bạc lá	<i>O. longistaminata</i>	AA	-
	<i>O. officinalis</i>	CC	100896
	<i>O. minuta</i>	BBCC	101141
	<i>O. latifolia</i>	CCDD	100914
	<i>O. australiensis</i>	EE	100882
	<i>O. brachyantha</i>	FF	101232
Bệnh đạo ôn	<i>O. minuta</i>	BBCC	101141
Chống chịu rầy nâu	<i>O. officinalis</i>	CC	100896
	<i>O. minuta</i>	BBCC	101141
	<i>O. latifolia</i>	CCDD	100914
	<i>O. australiensis</i>	EE	100882
Chống chịu rầy lưng trắng	<i>O. officinalis</i>	CC	100896
Bất dục đực CMS	<i>O. sativa</i> f. <i>spontanea</i>	AA	-
	<i>O. perennis</i>	AA	104823
	<i>O. glumaepatula</i>	AA	100969
Chống bệnh tungro	<i>O. rufipogon</i>	AA	105908
	<i>O. rufipogon</i>	AA	105909
B. Đánh giá xác định gen chống chịu			
Sâu đục thân	<i>O. longistaminata</i>	AA	-
Bệnh khô vằn	<i>O. minuta</i>	BBCC	101141
Khả năng kéo dài lông	<i>O. rufipogon</i>	AA	CB751
Chống chịu chua phèn	<i>O. glaberrima</i>	AA	many
Cạnh tranh với cỏ dại	<i>O. glaberrima</i>	AA	many

Source: Brar và Khush, 2002 (cải tiến).

Theo Khush lai giữa lúa trồng và lúa dại có bộ gen AA có thể thực hiện bằng phương pháp lai bình thường, lai giữa lúa trồng và các loài họ hàng hoang dại thường rất khó do không có khả năng lai tạo phôi bình thường, trường hợp này phải thực hiện cứu phôi để lai giữa các dòng ưu tú hoặc giống với mẫu nguồn gen hoang dại có bộ genome BBCC, CC, CCDD, EE, FF, GG, HHJJ và HHKK thành công. Một số gen kháng bệnh đã chuyển vào lúa trồng thành công như gen kháng virus vàng lùn từ loài *O. nivara* vào các giống IR 28, IR 29, IR 30, IR 32, IR 34 và IR 36.

Lúa dại có bộ genome AA là nguồn bất dục đực CMS quan trọng, đã được sử dụng tạo các giống lúa lai thương mại. Lin và Yuan (1980) đã công bố sử dụng dòng bất dục đực CMS hoang dại (*O. sativa* L. f. *spontanea*) chứa gen bất dục WA (wild abortive), khoảng 95% dòng bất dục thương mại CMS ở Trung Quốc sử dụng nguồn bất dục này. Gần đây còn phát

hiện nguồn bắt dục CMS mới của loài đại *O. perennis* và đã chuyển gen này thành công vào lúa *indica* (Dalmacio và cs, 1995) tạo ra dòng bắt dục mới IR66707A

Bảng 5-6 : Ví dụ đã chuyển một số gen quan trọng vào lúa trồng

Gen chuyển	Phương pháp chuyển	Tính trạng có lợi	Tài liệu tham khảo
<i>bar</i>	Vi tiêm, bắn gen (microprojectile/bombardment)	Chống chịu thuốc trừ cỏ	Cao <i>et al.</i> , 1992
<i>bar</i>	PEG	Chống chịu thuốc trừ cỏ	Datta <i>et al.</i> , 1992
Coat protein	Chích điện (Electroporation)	Chống chịu virus sọc	Hayakawa <i>et al.</i> , 1992
Coat protein	Bắn hạt	Chống chịu virus tungro	Sivamani <i>et al.</i> , 1999
Chitinase	PEG-mediated	Chống chịu khô hạn	Lin <i>et al.</i> , 1995; Datta <i>et al.</i> , 2001
<i>cryIA(b)</i>	Chích điện (Electroporation)	Chống chịu sâu đục thân	Fujimoto <i>et al.</i> , 1993
<i>cryIA(b)</i>	Bắn hạt	Chống chịu sâu đục thân	Wunn <i>et al.</i> , 1996; Ghareyazie <i>et al.</i> , 1997
<i>cryIA(c)</i>	Bắn hạt	Chống chịu sâu đục thân	Nayak <i>et al.</i> , 1997
<i>cryIA(b)</i> , <i>cryIA(c)</i>	Vi khuẩn <i>Agrobacterium</i>	Chống chịu sâu đục thân	Cheng <i>et al.</i> , 1998
<i>cryIA(b)</i> , <i>cryIA(c)</i>	Bắn hạt	Chống chịu sâu đục thân	Tu <i>et al.</i> , 2000
<i>cryIA(c)</i> , <i>cry2A</i> , <i>gna</i>	Bắn hạt	Chống chịu sâu đục thân, cuốn lá và rầy nâu	Maqbool <i>et al.</i> , 1998, 2001
<i>CpTi</i>	PEG-mediated	Chống chịu sâu đục thân	Xu <i>et al.</i> , 1996
<i>gna</i>	Bắn hạt	Hoạt động trừ sâu đục thân	Rao <i>et al.</i> , 1998
Corn cystatin (CC)	Chích điện (Electroporation)	Hoạt động trừ sâu <i>Sitophilus zeamais</i>	Irie <i>et al.</i> , 1996
<i>Xa21</i>	Bắn hạt	Chống bệnh bạc lá	Tu <i>et al.</i> , 1998; Zhang <i>et al.</i> , 1998
<i>codA</i>	Chích điện (Electroporation)	Tăng khả năng chịu mặn	Sakamoto and Murata, 1998
Soybean ferritin	Vi khuẩn <i>Agrobacterium</i>	Tăng hàm lượng sắt trong hạt	Goto <i>et al.</i> , 1999; Lucca <i>et al.</i> , 2001
<i>psy</i>	Bắn hạt	Tích lũy Phytoene trong nội nhũ	Burkhardt <i>et al.</i> , 1997
<i>psy</i> , <i>crtI</i> , <i>lcy</i>	Vi khuẩn <i>Agrobacterium</i>	Tích lũy tiền vitamin A	Ye <i>et al.</i> , 2000

Source: Khush and Brar, 2002 (modified).

Nguồn gen hoang dại được sử dụng trong nghiên cứu di truyền, đa dạng sinh học: ngày nay nhiều nghiên cứu sử dụng marker phân tử để nhận biết các tính trạng di truyền ở các loài hoang dại phục vụ cho chuyển gen vào cây trồng, nhận biết mức độ đa dạng di truyền. Mía

trồng có một cấu trúc genome phức tạp do chúng được lai giữa hai loài *S. officinarum* và loài dại *S. spontaneum*. Sự lai đó đã tạo ra hàng trăm NST trong đó gần 20 NTS của loài dại góp phần tăng sức sống, khả năng chống chịu bất thuận và chống chịu bệnh. Nhưng chúng tạo khó khăn cho các nhà tạo giống nghiên cứu di truyền, nhờ di truyền phân tử đã nhận biết được sự đóng góp của các loài dại vào các tính trạng mục tiêu

5.7.7 Sử dụng nguồn gen cây trồng địa phương

a) Đặc điểm của nguồn gen địa phương

Nguồn gen cây trồng địa phương có thể phân làm 2 loại là nguồn gen cây trồng bản địa (landrace) và nguồn gen các giống địa phương do con người chọn lọc hay nhập nội từ nơi khác đến (local cultivar). Cả hai loại nguồn gen này đều có đặc điểm thích nghi cao với điều kiện địa phương, có chất lượng phù hợp với thị hiếu tiêu dùng địa phương. Hầu hết các giống địa phương đều có năng suất thấp, cao cây và chịu điều kiện nghèo dinh dưỡng và điều kiện thâm canh thấp.

Tuy nhiên giống địa phương là những quần thể rất phức tạp do canh tác, trao đổi hạt giống trong cộng đồng và giữa các cộng đồng, do kinh nghiệm chọn lọc, để giống và do giao phối. Chính vì thế giống địa phương rất đa dạng di truyền là vật liệu quý cho bất kỳ chương trình cải tiến giống cây trồng nào

b) Sử dụng nguồn gen địa phương

+ Sử dụng trực tiếp:

Giống địa phương còn giữ vai trò rất quan trọng đối với sản xuất nông nghiệp của các quốc gia và các vùng, đặc biệt những vùng có điều kiện khó khăn. Sử dụng trực tiếp giống cây trồng địa phương có chọn lọc phục tráng, cải tiến hoặc không chọn lọc. Sử dụng trực tiếp nguồn gen cây trồng địa phương điển hình ở Trung Quốc với 178 cây trồng và trồng trọt trên 12.722.000 ha, ước tính chiếm 0,9% tổng diện tích gieo trồng của các cây trồng mục tiêu. Ví dụ giống lúa mỳ Xiaohongmai có khả năng chịu hạn trồng ở vùng giáp Mông cổ hàng trăm năm, giống lúa địa phương Zhubao và Yabao đã được trồng ở Hải Nam 30 năm nay. Khảo sát ở Trung Quốc cho thấy gần 66 giống lúa địa phương chủ yếu của Trung Quốc sử dụng và đang trồng trọt khoảng 77,5% diện tích lúa địa phương ở Trung Quốc

Ở Việt Nam còn sử dụng khá nhiều giống cây trồng địa phương cho các mục tiêu khác nhau. Nhóm giống cây trồng địa phương được sử dụng trực tiếp nhiều nhất là cây thuốc, cây rau gia vị, cây ăn quả. Nhóm cây lương thực ở các vùng có điều kiện khó khăn, giống cải tiến hay giống lai không thích nghi các giống địa phương vẫn còn chiếm ưu thế như ở các tỉnh miền núi của Việt Nam.

Cây làm thuốc và thực phẩm: cây gấc (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Speng., cây gừng (*Zingiber officinale* Rose), Hoàng tinh (*Maranta arundinacea* L.)..

Cây rau và gia vị : Thì là (*Anethum graveolens* L.), húng quế (*Ocimum basilicum*) , tía tô (*Perilla* L.), kinh giới (*Origanum majorana* L.)

Các cây trồng đặc sản lúa tám thơm, nếp cái hoa vàng, nhãn lồng Hưng Yên, bưởi Đoan Hùng, bưởi phúc Trạch...

+ Sử dụng làm vật liệu cho các chương trình tạo giống khác

Chọn lọc trực tiếp các giống địa phương để tạo ra các giống có năng suất cao hơn và chống chịu được thực hiện ở trên tất cả các cây trồng như lúa, ngô...các nhà nghiên cứu CIMMYT cho rằng nếu tái tổ hợp 2 – 3 thể hệ các quần thể ngô địa phương để tạo ra các kiểu hình thích nghi chung và đưa ra một tiếp cận thỏa hiệp sẽ tạo ra quần thể tổng hợp từ quần thể địa phương và các giống cải tiến thích nghi. Các giống ngô địa phương cũng được

sử dụng chọn lọc tự phối tạo dòng thuần cho chương trình phát triển ngô ưu thế lai hiện nay. Ở Việt Nam cũng có những thành công trong chọn lọc trực tiếp các giống địa phương như giống lúa nếp lai chịu mặn chọn lọc từ giống lúa chiêm của Hải Phòng, giống lúa nếp TK90 chọn lọc từ giống lúa nếp địa phương Hòa Bình, giống đậu tương AK02 được chọn cá thể từ giống đậu tương vàng Mường Khương

Giống địa phương được sử dụng rất rộng rãi vào chương trình lai tạo giống trên thế giới mà điển hình là cuộc cách mạng xanh những năm 1960. Viện nghiên cứu lúa Quốc tế lai tạo thành công giống lúa cải tiến thấp cây IR8 đầu tiên từ 2 giống lúa địa phương là giống bán lùn Trung Quốc Dee-geo-woo-gen (DGWG) với giống cao cây Peta của Indonesia. Việt Nam cũng đã thành công trong sử dụng các nguồn gen lúa địa phương trong lai tạo giống cải tiến. ví dụ: giống lúa CR01 được lai giữa (BG90-2 và chiêm ba lá) x tẻ nếp, giống lúa M6 tạo ra bằng lai bầu Hải Phòng với giống 1548, giống lúa OM2718 tạo ra từ lai Thần Nông đỏ và IR48

Các mẫu nguồn gen lúa mỳ bản địa (*Triticum aestivum* L. subsp. *aestivum*) của USDA-ARS thu thập mẫu nguồn gen hạt quốc gia (NSGC), đánh giá khả năng chống bệnh của các giống lúa mỳ bản địa qua 25 năm. Phân tích khả năng chống bệnh của 10.759 mẫu nguồn gen với bệnh nấm cựa gà do nấm *Tilletia tritici* (Bjerk.) Wint. và *T. laevis* Kühn, và 8.167 với bệnh cựa gà lùn (DB) do nấm *T. controversa* Kühn. Các giống lúa mỳ bản địa có nguồn gốc địa sinh thái, mối quan hệ với màu sắc râu và hạt của mẫu nguồn gen, vùng và biến động kiểu hình có tần xuất chống bệnh cao đối với bệnh cựa gà mở rộng từ Serbia và Montenegro qua Macedonia, Turkey, và Iran, các nguồn gen ở tỉnh Kosovo của Serbia và Montenegro có tần suất chống bệnh cao nhất (36%) và tỉnh Bakhtaran của Iran (40.8%). Khả năng chống bệnh cựa gà lùn tập trung ở các nguồn gen thu thập từ Iran, Serbia và Montenegro có tần suất cao nhất (58%). Các nhà chọn giống của ICARDA và các Viện nghiên cứu trên thế giới yêu cầu vật liệu di truyền từ ngân hàng gen lúa mỳ, vật liệu có các tính trạng chống chịu với bất thuận sinh học và phi sinh học. Hàng nghìn mẫu nguồn gen đã được đánh giá khả năng chịu hạn và chống chịu bệnh. Những gen có lợi được đưa vào các chương trình tạo giống, các gen từ loài họ hàng hoang dại chuyển vào trong genome của các giống cải tiến. Ví dụ bắt đầu năm 1994/1995 gen từ tổ tiên lúa mỳ lưỡng bội hoang dại (*Triticum urartu*, *T. baeoticum*, *Aegilops speltoides* and *Ae. tauschii*) và tam bội (*T. dicoccoides*) đã tạo ra biến dị năng suất cao. Các dạng lục bội tạo ra do lai lai giữa giống lúa mỳ bản địa 'Haurani' với 2 mẫu nguồn gen hoang dại (*Ae. Tauschii*). lai lúa mỳ cứng với lúa mỳ dại (*Triticum* spp.), con cái lai trở lại với giống có tính trạng hình thái mong muốn đã nhận được con cái nhiều giá, thấp cây, chín sớm đẻ nhánh khỏe và chịu hạn. Giống lúa mỳ cứng chống được bệnh gỉ sắt khi lai lúa mỳ cứng với loài dại *Triticum* spp. và *Ae. Speltoides*, tạo giống chống bệnh rỉ sắt lá khi lai lúa mỳ cứng bản địa với loài dại *T. baeoticum* và *Ae. speltoides*.

Ngoài ra giống địa phương còn được sử dụng trong chương trình chọn giống đột biến, nuôi cấy mô tạo biến dị xô ma, chuyển gen điển hình là chuyển gen kháng bệnh

5.7.8 Sử dụng nguồn gen mới tạo thành và nguồn gen cây trồng thế giới

a) Đặc điểm của nguồn gen mới tạo thành và cây trồng thế giới:

Nguồn gen cây trồng mới tạo thành và cây trồng thế giới rất đa dạng bao gồm cả nguồn gen hoang dại và giống địa phương ở các quốc gia khác, nguồn gen là các giống mới tạo thành, các dòng thuần, dòng bất dục, dòng tự bất hợp, dòng ưu thế cái. Nguồn gen cây trồng thế giới có số lượng vô cùng lớn và đa dạng có thể đáp ứng cho nhiều mục tiêu tạo giống của các quốc gia

b) Sử dụng Nguồn gen cây trồng mới tạo thành và cây trồng thế giới

Nguồn gen cây trồng cây trồng mới tạo thành và cây trồng thế giới được đang có và bảo tồn tại các Quốc gia, các Viện và Trung tâm nghiên cứu quốc tế, Nguồn gen này được đánh giá và sử dụng trong mạng lưới bảo tồn và đánh giá nguồn gen quốc tế, do vậy số lượng được sử dụng hàng năm rất lớn. Ví dụ sử dụng nguồn gen lúa từ Viện nghiên cứu lúa Quốc tế IRRI cho thấy năm 1999 đã có 287 dòng được thử nghiệm trong mạng lưới đánh giá nguồn gen, đã được chọn làm bố mẹ trong các chương trình lai tạo giống ở 27 nước, 13 giống thử nghiệm và 519 dòng được đưa vào đánh giá năng suất ở các nước như bảng sau:

Bảng 5-7: Sử dụng nguồn gen lúa của các nước năm 1999

Nước	Sử dụng để lai	Số lượng Số giống đã được đưa vào thử nghiệm năng suất
Bangladesh	4	18
Cambodia	-	42
Trung Quốc	61	30
Ai Cập	37	37
Ấn Độ	42	72
Triều Tiên	25	3
Myanmar	66	123
Nepal	10	35
Pakistan	-	61
Philippines	10	9
Thái Lan	15	57
Việt Nam	17	20
Thổ Nhĩ Kỳ	-	12
Tổng số	287	519

Nguồn gen và vật liệu từ các Trung tâm nghiên cứu quốc tế như IRRI, CIMMYT, CIP... đã được sử dụng trong chương trình chọn giống cây trồng của Việt Nam. Nguồn vật liệu được chọn lọc sử dụng trực tiếp hoặc làm vật liệu cho chương trình tạo giống khác. Ví dụ giống lúa từ những năm 1960 sử dụng nguồn gen từ IRRI đã tạo ra nhiều giống lúa mới có năng suất cao và chống chịu như giống lúa VN10 chọn từ tổ hợp lai A4 x Rumani 45 được công nhận quốc gia từ năm 1984, giống DT10 và DT11 được chọn tạo từ vật liệu là giống lúa C4-63 được công nhận giống từ năm 1990. Giống lúa chọn lọc trực tiếp từ vật liệu di truyền của IRRI là IR 17494, Xi23, C70, C71...

Các giống cây trồng khác : giống ngô Việt Nam có sử dụng nguồn gen nước ngoài VM1 từ Mê hi cô, LVN24, LVN25..., giống khoai lang VX-37, giống khoai tây KT-2, giống sắn KM60, KM94; Giống lạc MD7, MD9...; giống đậu tương AK03, AK05, HL92, giống đậu xanh 044, DX92-1, giống cà chua HP5, hồng lan... Như vậy nguồn gen thực vật Quốc tế có đóng góp quan trọng trong chương trình tạo giống cây trồng mới ở Việt Nam.

Câu hỏi ôn tập chương 5

1. Kỹ thuật nhân tăng số hạt và đổi hạt nguồn gen
2. Thí nghiệm đánh giá nguồn gen
3. Phương pháp bố trí thí nghiệm đánh giá nguồn gen
4. Phương pháp thí nghiệm nguồn gen khi không bố trí lặp lại
5. Thu thập số liệu khi đánh giá nguồn gen
6. Những phân tích thống kê quan trọng khi đánh giá nguồn gen
7. Ứng dụng công nghệ sinh học trong đánh giá nguồn gen
8. Sử dụng nguồn gen thực vật
9. Sử dụng nguồn gen hoang dại
10. Sử dụng nguồn gen giống địa phương
11. Sử dụng nguồn gen thế giới

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abdul Ghani Yunus Mohd Shukor Nordin Mohd Said Saad T.C. Yap T.C. Yapan, 2001, Establishment and management of field genebank, IPGRI Regional Office for Asia, The Pacific and Oceania, UPM Campus, Sedang, 43400 Selangor Darul Ehsan, Malaysia, ISBN 92-90043-464-3, pp 64 - 81
2. A.B. Damania, J. Valkoun, G. Willcox, C.O. Qualset, 1997, The Origins of Agriculture and Crop Domestication, Proceedings of the Harlan Symposium, pp 1-322. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Genetic Resources Conservation Program, Division of Agriculture and Natural Resources, University of California (UC/GRCP), Published jointly by ICARDA, IPGRI, FAO and UC/GRCP
3. Ari Kornfeld, 1996-2000, Natural Perspective Appendix -- Plant Classification
4. Ayad, W.G., T. Hodgkin, A. Jaradat and V.R. Rao, editors. 1997. Molecular genetic techniques for plant genetic resources. Report of an IPGRI workshop, 9-11 October 1995, Rome, Italy. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. ISBN 92-9043-315-9, IPGRI, Via delle Sette Chiese 142, 00145 Rome, Italy
5. Brad Fraleigh, 2006 Global overview of crop genetic resources, The Role of Biotechnology in exploring and protecting agricultural genetic resources, FAO
6. Bradley, V.L., Johnson, R.C., 2001, Managing the U.S. safflower collection. In Proceedings of the Vth International Safflower Conference, Williston, North Dakota, Sidney, Montana, USA. 2001. p. 143-147
7. Bart Panis và Maurizio Lambardi, 2006, Status of Cryopreservation technologies in plant (Forest tree and crops) The Role of Biotechnology in exploring and protecting agricultural genetic resources, FAO
8. Carl Linnaeus, 1996-2006, plantexplosers, National Science Teachers Association
9. C.Epinat-Le Signora, S. Dousse, J. Lorgeoub, J.-B. Denise, R. Bonhomme, P. Carolee and A. Charcosset, 2001, Interpretation of Genotype x Environment Interactions for Early Maize Hybrids over 12 Years, Crop Science 41:663-669 (2001)
10. CIAT (International Center for Tropical Agriculture, 2005 – 2006, CIAT Annual Report, Conservation and Use of Tropical Genetic Resources
11. CIP, 2006, DivA-GIS Annapurna
12. Consultative Group on International Agricultural Research (CGIAR), 1996, Plant Genetic resources, Report in 25 Years of Food and Agriculture Improvement in Developing Countries
13. Del Rio, A., Bamberg, J.B. 2004. Geographical parameters and proximity to related species predict genetic variation in the inbred potato species *solanum verrucosum* schlechtd. Crop Science. 44:1170-1177.
14. D.I. Jarvis, L. Myer, H. Klemm, L. Guarino, M. Smale, A.H.D. Brown, M. Sadiki, B. Sthalt and T. Hodgkin, 2000, A training guide for In Situ conservation on Farm, IPGRI, Rome Italy
15. Đặng Huy Huỳnh và cộng sự, 2005, Báo cáo hiện trạng môi trường Việt Nam 2005, chuyên đề đa dạng sinh học
16. Florent Engelmann, 1998, in vitro conservation of horticulture genetic resource, International Plant Genetic Resource, IPGRI, Via delle Sette Chiese 142, 0145 Rome, Italy

17. F. Engelmann và J.M.M.Engels,2002, Technologies and Strategies for ex situ conservation, IPGRI, Rome, Italy
18. Gao Weidong, Jiahe Fang Diansheng Zheng Yu Li Xin-xiong Lu Ramanatha V. Rao T. Hodgkin Zhang Zongwen, 2006, Utilization of germplasm conserved in Chinese national genebanks - a survey, PGR newsletter, No 123, p1-8
19. IPGRI, 2006, Diversity for well-being, Fact sheet, Background information, <http://ipgri-pa.grinfo.net/Factsheets.php?itemid 1214>
20. IPGRI, 2001, Design and analysis of evaluation trails of genetic resources collections, IPGRI Via dei Tre Denari 472/a 00057 Maccarese , Rome Italy, ISN 92-9043-505-4
21. IPGRI và INIBAP, 2005, Annual report 2005, pp28-32
22. Jack R. Harlan. 1992 Crops & Man ASA, CSA, Madison, WI.
23. Jules Janick, 2005 ,History of Horticulture, Department of Horticulture and Landscape Architecture Purdue University, USA
24. Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A. Kellogg, and P. F. Stevens. 2002. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach. Second Edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA
25. J. Michael Bonmana*, Harold E. Bockelmana, Blair J. Goatesa, Don E. Oberta, Patrick E. McGuireb, Calvin O. Qualsetb and Robert J. Hijmansc, 2006, Geographic Distribution of Common and Dwarf Bunt Resistance in Landraces of *Triticum aestivum* subsp. *Aestivum*, 2006 Crop Science Society of America,, 677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711 USA
26. John Porter và Henning Høgh-Jensen,2002, Biodiversity ecological pasture production, Ecological Agriculture, KVL University
27. Kevin Conrad , 2006, Woody Landscape Plant Germplasm Repository , Collecion, Maintenance and evaluation, U.S. National Arboretum ,11601 Old Pond , Glenn Dale, Maryland 20769
28. Kevin Parris, 2002, Sustainable agriculture depends on biodiversity, OECD
29. Kevin Parris, 2001, Agriculture and Biodiversity, developing indicators for policy analysis, Proceeding from an OECD expert meeting, Zurich, Switzerland
30. Ken Muldrew, 1999, Cryobiology - A Short Course, Dept. of Physiology & Biophysics, and Dept. of Surgery, University of Calgary, Alberta, Canada
31. Khusha and Brar, 2002, Biotechnology for rice breeding: progress and impact, Sustainable rice production for food security ,Proceedings of the 20th Session of the International Rice Commission,Bangkok, Thailand, 23-26 July 2002
32. L. Guarino, N. Maxted E.A.Chiwona, 2005, a methodological model for ecogeographic surveys of crops, IPGRI, technical Bulletin No9
33. Mohd Said Saad and V. Ramanatha Rao, 2001, Establishment and management of field genebank, IPGRI Regional Office for Asia, The Pacific and Oceania, UPM Campus, Sedang, 43400 Selangor Darul Ehsan, Malaysia, ISBN 92-90043-464-3
34. Mohd Khalid Mohd Zin, 2001, Establishment and management of field genebank, IPGRI Regional Office for Asia, The Pacific and Oceania, UPM Campus, Sedang, 43400 Selangor Darul Ehsan, Malaysia, ISBN 92-90043-464-3, pp97
35. Missouri Botanical Garden's VAST (VAscular Tropicos),1995-2006 The Origin of Garden Plant and the FSU Contribution, All Rights Reserved, P.O. Box 299, St. Louis, MO 63166-0299,(314) 577-5100
36. M.C.de Vicente and M.S. Andersson, 2006, DNA bank- providing novel options for genebanks, IPGRI

37. M.T. Jackson, B.R.Lu, G.C.Loresto S. Appa Rao, 2000, Rice genetic resources: onservation, safe delivery and use, IRRI program report
38. N. Kameswara Rao, 2004, Plant Genetic Resources : Advancing conservation and use through biotechnology, African Journal of biotechnology Vol. 3(2) pp136-145
39. NorAiniAb Shukor, 2001, Establishment and management of field genebank, IPGRI Regional Office for Asia, The Pacific and Oceania, UPM Campus, Sedang, 43400 Selangor Darul Ehsan, Malaysia, ISBN 92-90043-464-3, pp 110
40. N. Kameswara Rao, Jean Hanson, M. Ehsan Dulloo, Kakoli Ghosh, David Nowell and Michael Larinde, 2006, Manual of seed handling in Genbanks, Bioversity International IPGRI, Rome, Italy
41. Nguyễn Thị Ngọc Huệ, Hà Đình Tuấn, Bhuwon Sthapit, 2002, Bảo tồn đa dạng sinh học Nông nghiệp trên đồng ruộng tại Việt Nam, nxb Nông nghiệp
42. N.Kameswara Rao,2004, Plant genetic resource: Advancing conservation and use through biotechnology, African Journal of biotechnology Vol.3
43. Paul Barden, 1996-2004, Old garden rose and beyond magazine, US
44. Paul Gepts,2006, Plant Genetic Resources Conservation and Utilization, Crop Sci 46:2278-2292
45. R.K. Arora, 1991, Plant Genetic Resources Conservation and Management Concepts and Approaches, Published by the International Board for Plant Genetic Resources, egional Office for South and Southeast Asia, c/o NBPGR, Pusa Campus, New Delhi 110 012, India
46. R.S. Paroda, R.K. Arora, 1991, Plant Genetic Resources Conservation and Management Concepts and Approaches, Published by the International Board for Plant Genetic Resources, egional Office for South and Southeast Asia, c/o NBPGR, Pusa Campus, New Delhi 110 012, India
47. R.H. Ellis, T.D. Hong and E.H. Roberts, 1985, Handbooks for Genebanks: No. 3 , IBPGR
48. Serge Gudin,2000, Rose : Gemetic and Breeding, John Willy &Son,Inc, pp2 161-169
49. Salma Idris and Mohd Said Saad,2001, Establishment and management of field genebank, IPGRI Regional Office for Asia, The Pacific and Oceania, UPM Campus, Sedang, 43400 Selangor Darul Ehsan, Malaysia, ISBN 92-90043-464-3, pp82
50. S. Eberhart, Chair, R. Johnson, S. Kresovich, W. Lamboy, R. Schnell, C. Sperling, 1994, National Plant Germplasm System General Guideline and procedures. IPGRI
51. S. A. Mohammadi and B. M. Prasanna,2003, Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants—Salient Statistical Tools and Considerations, *Crop Science* 43:1235-1248 (2003)
52. T.A. Thomas and P.N. Mathur,1991 , Plant Genetic Resources Conservation and Management Concepts and Approaches, Published by the International Board for Plant Genetic Resources, egional Office for South and Southeast Asia, c/o NBPGR, Pusa Campus, New Delhi 110 012, India
53. Th.J.L.van Hintum, A.H.D. Brown, and C. Spillane T.Hodgkin, 2000, Core collections of plant genetic resources, IPGRI Technical Bulletins,IPGRI Via delle Sette Chiese, 00145 Rome, Italy
54. Trung tâm tài nguyên thực vật, 2007, các giống lúa địa phương đang phổ biến tại một số vùng sinh thái, nxb Nông nghiệp

55. USDA,2006, Đa dạng di truyền luân thay đổi, Nation forest genetic laboratory, USDA, Genetic resource conservation programme, University of California
56. Vũ Đình Hòa, Nguyễn Văn Hoan, Vũ Văn Liệt, 2005, Giáo trình chọn giống cây trồng, nxb Nông nghiệp tr 15-30
57. Valerie C. Pence, Jorge A. Sandoval, Victor M.Villaobos A. and Florent Engelmann, 2002, In vitro collecting techniques for germplasm conservation, IPGRI, Rome , Italy
58. V. Holubec,1997, The Origins of Agriculture and Crop Domestication, Proceedings of the Harlan Symposium, pp 255
59. Vega, S.E., Del Rio, A.H., Bamberg, J.B., Palta, J.P. 2004. Evidence for the up-regulation of stearyl-acp delta 9 desaturase gene expression during cold acclimation. American Journal of Potato Research. 81:125-135.
60. Wanda W. Collins; Calvin O. Qualset, 1999, Biodiversity in Agroecosystems, CRC press LLC,Lewis Publishers, USA
61. Yong-Bi Fu,* Gordon G. Rowland, Scott D. Duguid, and Ken W. Richards, 2003, Plant genetic resource, RAPD Analysis of 54 North American Flax Cultivars, Crop Sci 43:1510-1515
62. M.T. Jackson, B.R.Lu, G.C.Loresto S. Appa Rao, 2000, Rice genetic resources: onservation, safe delivery and use, IRRI program report