

giống thuốc lá sẽ phát triển thành phôi ngay cả khi chuyển vào bao phần của một giống khác. Chính kết quả này đã dẫn đến khái niệm “thành bao phần” (wall factor), nó giúp cho nhiều nhà nghiên cứu sử dụng “hiệu ứng bảo mẫu” (nursing effect) của bao phần hoàn chỉnh để phát triển sinh sản đơn tính ở các hạt phấn phân lập của nhiều loài. Dịch chiết của bao phần cũng có tác dụng kích thích sản xuất phôi hạt phấn (Pollen embryo)

Các nghiên cứu về mô học đã xác định vai trò của nhân tố thành bao phần trong việc phát triển phôi hạt phấn. Một số kết quả nghiên cứu cho thấy glutamine riêng rẽ hoặc phối hợp với serine và myo-inositol có thể thay thế nhân tố thành bao phần trong các thí nghiệm nuôi cấy hạt phấn phân lập.

2.2.3. Môi trường nuôi cấy (culture medium)

Thành phần môi trường nuôi cấy thay đổi tùy thuộc vào kiểu gene và tuổi của bao phần cũng như các điều kiện mà ở đó cây cho bao phần sinh trưởng. Sinh sản đơn tính tiểu bào tử ở *Nicotiana tabacum* và *Datura innoxia* có thể cảm ứng trên môi trường agar đơn giản chỉ chứa sucrose. Hạt phấn tiếp tục phát triển trên môi trường như thế cho đến giai đoạn hình cầu.. Quá trình sinh trưởng về sau của phôi hạt phấn đòi hỏi phải bổ sung các muối khoáng vào môi trường.

Các loài không thuộc họ Solanacê, thành phần môi trường bao gồm các chất điều khiển sinh trưởng và các hỗn hợp dinh dưỡng phức tạp như dịch chiết nấm men, dịch thủy phân casein, nước dừa. Môi trường của một số tác giả Trung Quốc như Chu (N6) và Yu Pei dùng cho nuôi cấy bao phần ngô. Môi trường N6 cũng được sử dụng cho nuôi cấy bao phần các loại ngũ cốc khác như lúa, lúa mạch đen.

2.2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và ánh sáng

Gây sốc nhiệt sẽ tăng tần số sinh sản đơn tính tiểu bào tử. Các nụ được xử lý lạnh ở 3°C hoặc 5°C trong 72 giờ sẽ kích thích hạt phấn phát triển thành phôi (xấp xỉ 58% ở một số loài thuộc họ Solanaceae (*Datura*, *Nicotiana*). Ngược lại bao phần được duy trì ở 22°C trong cùng thời gian chỉ cho khả năng phát triển phôi khoảng 21% (Nitsch 1974). Nói chung, gây sốc nhiệt từ 2-5°C trong 72 giờ có tác dụng kích thích sự phát triển không bình thường của giao tử đực và tích lũy hạt phấn đơn nhân.

Cụm hoa hình chùy (panicles) được tách rời của lúa khi xử lý ở 13°C trong 10-14 ngày cho tần số hạt phấn tạo mô sẹo (callus) cao nhất. Cảm ứng sinh sản đơn tính sẽ có hiệu quả cao nếu bao phần của các loại ngũ cốc khác (lúa, ngô) được bảo quản ở nhiệt độ thấp trước khi nuôi cấy.

Tần số phát sinh cây đơn bội và sinh trưởng của cây nói chung sẽ

tốt hơn nếu chúng được nuôi trong điều kiện chiếu sáng. Hạt phần phân lập đường như mẫn cảm với ánh sáng hơn so với cả bao phần. Ánh sáng trắng cường độ thấp hoặc ánh sáng huỳnh quang đỏ kích thích phát triển phôi nhanh hơn trong nuôi cấy thuốc lá phân lập so với ánh sáng trắng cường độ cao.

2.2.5. Trạng thái sinh lý của cây cho

Bao phần tách từ cây sinh trưởng trong điều kiện ngắn ngày (8 giờ/ngày) và ở vùng có cường độ ánh sáng cao cho phản ứng tương đối tốt hơn so với cây dài ngày (16 giờ/ngày) có cùng cường độ chiếu sáng. Sự phát sinh phôi hạt phần có thể được cải thiện xa hơn nếu nhiệt độ dưới điều kiện ngắn ngày duy trì ở 18°C. Sự thay đổi mùa vụ thích hợp và tuổi cây cho bao phần ảnh hưởng lớn đến phản ứng của các hạt phần.

3. Sự sinh sản đơn tính đực (*Adrogenesis*)

Chúng ta đã biết, một vài loài tạo ra thể hệ sau chỉ mang nhiễm sắc thể của cây mẹ nhờ các quá trình như sinh sản vô phôi và sinh sản đơn tính (được gọi là “gynogenesis”). Có nhiều trường hợp sinh sản tự nhiên nhờ sinh sản vô tính trong đó con cháu lưỡng bội mang nhiễm sắc thể chỉ từ cây bố.

Hiện tượng phát sinh cây đơn bội từ các tế bào giao tử đực của thực vật được gọi là sinh sản đơn tính đực. Có 3 phương thức sinh sản đơn tính đực:

3.1. Sinh sản đơn tính trực tiếp từ tiểu bào tử

Tiểu bào tử trong bao phần hay phân lập → phôi → cây đơn bội (Hình 5.4)

Cấu trúc dạng phôi (Embryoid) phát triển trực tiếp từ hạt phần. Quá trình này thường xảy ra trong bao phần, điển hình là *Datura*, *Nicotiana*, *Atropa*.

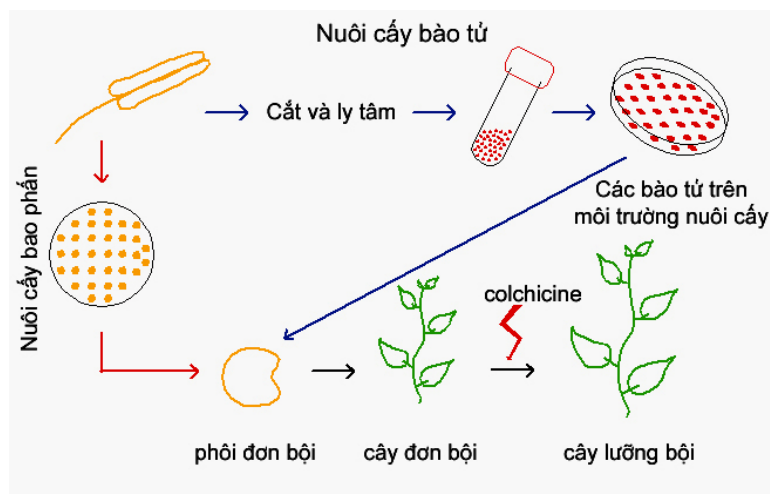
3.2. Sinh sản vô tính qua mô sẹo

Tiểu bào tử trong bao phần → mô sẹo → chồi → cây hoàn chỉnh

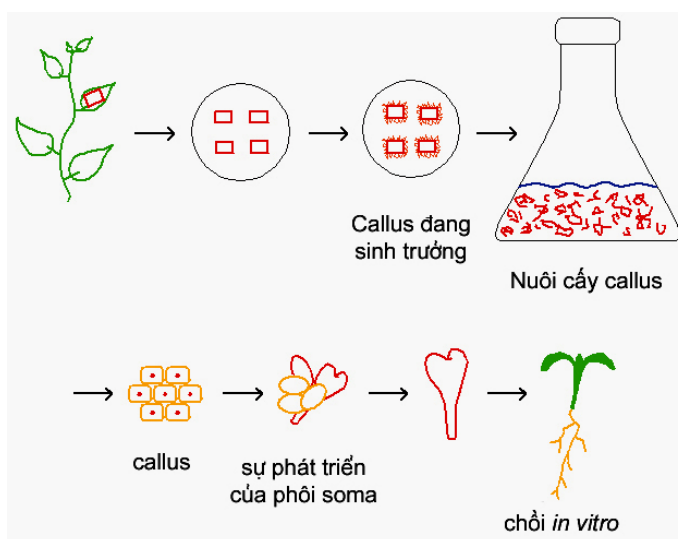
Cây hoàn chỉnh phát triển từ khối mô sẹo, khối mô này thường phát triển ra ngoài bao phần. Ví dụ: *Oryza*, *Brassica*, *Lolium*, *Hordeum*.

3.3. Sinh sản đơn tính hỗn hợp

Giai đoạn phát triển mô sẹo xảy ra rất ngắn và khó nhận biết. Ví dụ: *Datura*.



Hình 5.4 Nuôi cấy bao phần và tiêu bào tử



Hình 5.5 Sự phát sinh phôi soma

Sinh sản đơn tính đực có thể được xác định như là sự đưa hạt phấn trở lại kiểu bào tử của sự phát triển (Maheshwari và cs, 1983). Khi bao phần được nuôi cấy *in vitro*, một phần của tiểu bào tử được cảm ứng phân chia tạo thành khối các tế bào gắn kết phát triển thành callus hoặc phôi. Ở trường hợp cây ngũ cốc, sự phân cực của lần phân chia nguyên nhiễm đầu tiên đóng vai trò quan trọng trong quá trình này. Nhìn chung, con đường tạo bào tử được gây ra bởi quá trình nguyên phân đối xứng, làm xáo trộn

tính phân cực gốc được yêu cầu để trực tiếp phát triển thể giao tử bình thường của hạt phấn. Kỹ thuật nuôi cấy bao phấn cho sản phẩm đơn bội đã được mô tả ở 237 loài khác nhau thuộc 83 giống và 37 họ và nó được áp dụng thành công cho việc tạo ra các giống mới của các cây ngũ cốc và các cây họ cà như lúa, lúa mạch, lúa mì, Triticale, cà chua và thuốc lá (Dunwell, 1985).

III. Khái niệm, bản chất di truyền và ý nghĩa của tính không tương hợp (incompatibility)

Tính không tương hợp trong quá trình sinh sản là một khái niệm chỉ hiện tượng hạt phấn không có khả năng nảy mầm hoặc ống phấn không thể xâm nhập vào nhụy và thực hiện được quá trình thụ tinh.

Tính không tương hợp có thể xảy ra trong phạm vi giữa các cơ quan sinh sản đực và cái của một cây, gọi là tính không tự hợp (self incompatibility), nghĩa là cây đó không tự xảy ra quá trình tự thụ phấn được. Tính không tương hợp cũng có thể xảy ra khi giao phấn giữa các nhóm cây có quan hệ họ hàng nhất định với nhau, gọi là tính không tương hợp chéo (incompatibility crosspollination), nghĩa là các cây giữa các nhóm này không giao phối được với nhau.

Hệ thống tính không tương hợp có thể hoạt động ở trạng thái bào tử thể (sporophytic incompatibility) hoặc ở trạng thái giao tử thể (gametophytic incompatibility). Nó kiểm soát sự tương tác giữa vòi nhụy và hạt phấn nhờ sự hoạt động của các allele thuộc locus S. Tuy nhiên ở một số thực vật người ta cũng đã phát hiện ra hiện tượng không phải chỉ do một mà là hai hoặc nhiều locus can thiệp vào tính không tương hợp ở trạng thái giao tử thể.

1. Tính không tương hợp ở trạng thái giao tử thể

East và Mangelsdorf (1925) là những người đầu tiên nêu ra hiện tượng tính không tương hợp ở trạng thái giao tử thể ở loài thuốc lá *Nicotiana glauca*. Về sau hiện tượng này được xác định là có ở hơn 60 họ thực vật hạt kín điển hình là họ đậu, cà, hoả thảo, mao lương ...

Trong hệ thống không tự tương hợp do giao tử điều khiển, hiện tượng tự xung khắc không biểu hiện ở sự khác biệt do cấu trúc của hoa mà do chính kiểu gene của cây mang hoa đó điều khiển (sporophyte), hoặc bằng chính kiểu gene của hạt phấn gây ra chứ không phải do kiểu gene của cây đó quyết định

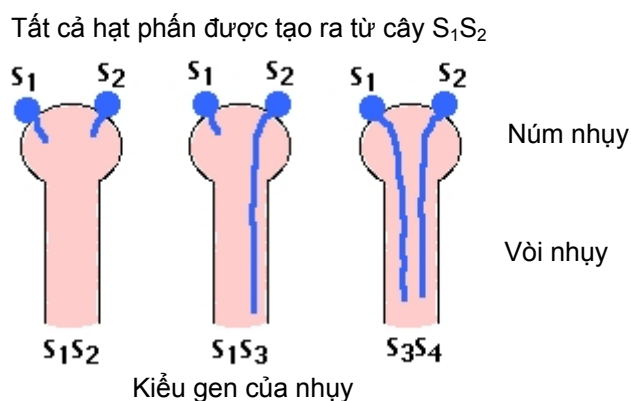
Đặc điểm của hệ thống tính không tương hợp ở trạng thái giao tử thể: Phản ứng tự xung khắc do đơn gene có nhiều allele điều khiển. Locus

S là một locus đa allele. Tùy từng loài mà số lượng allele đó có thể rất khác nhau. Ví dụ ở cây cỏ ba lá, loài *Trifolium hybridum* có 22 allele, còn ở loài *T. pratense* có 212 allele.

Kiểu gen của từng tiểu bào tử quy định kiểu hình của hạt phấn. Ví thể những hạt phấn chứa allele khác nhau sẽ hoạt động không giống nhau và chúng độc lập với nhau về phản ứng đối với vòi nhụy. Ví dụ, cây có kiểu gen S_1S_2 sẽ cho ra hai loại hạt phấn S_1 và S_2 . Allele S_1 và S_2 hoạt động độc lập với nhau, giữa chúng không có mối quan hệ trội lặn hay một sự tương tác nào khác.

Phản ứng của tính không hợp xảy ra giữa hạt phấn (n) và mô vòi nhụy (2n) là cố định cho từng loài.

Hạt phấn mang một allele nào đó sẽ không nảy mầm hoặc không sinh trưởng được trong mô vòi nhụy có chứa chính allele đó. Ví dụ sự giao phối $S_1S_2 \times S_1S_2$ là không xảy ra do hạt phấn S_1 hay S_2 không thể nảy mầm hoặc ống phấn không thể sinh trưởng được trong mô vòi nhụy S_1S_2 . Ví thể, có thể thấy rằng tính không tự hợp nằm trong tính không hợp ở trạng thái thể giao tử.



Hình 5.6 Hệ thống giao tử không tương hợp. Phản ứng không tương hợp của hạt phấn do chính kiểu gene của hạt phấn điều khiển

Ở phần lớn các họ thực vật được nghiên cứu thì tính không hợp ở trạng thái thể giao tử do một locus kiểm soát. Tuy nhiên hiện tượng này cũng có thể do 2 locus (ở một số loài của họ hòa thảo, cà ...) hoặc do nhiều locus không chế (họ mao lương ...). Theo Lundqvist (1956), ở lúa mach 2 locus S và Z kiểm soát tính không hợp nằm trên những nhiễm sắc thể khác nhau và hoạt động độc lập với nhau. Khi sự giống nhau giữa hạt phấn và vòi nhụy xảy ra ở một trong hai locus thì không dẫn đến hiện tượng không hợp. Sự không hợp chỉ xuất hiện khi hạt phấn và vòi nhụy có sự giống nhau về thành phần allele ở cả hai locus. Điều này dẫn đến sự gia

tăng về tần số giao phấn chéo so với trường hợp chỉ do 1 locus kiểm soát.

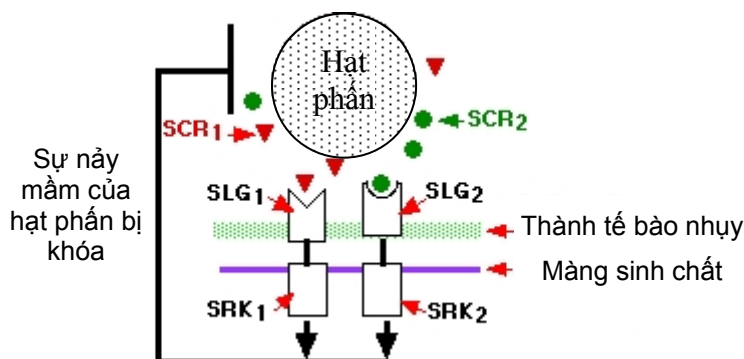
2. Tính không tương hợp ở trạng thái bào tử thể

Hệ thống tính không tương hợp ở trạng thái bào tử thể được Hughes và Babcock (1950) phát hiện ở các loài *Crepies foetida* và *Parthenium argentatum*. Hiện tượng này khá phổ biến ở các họ hoa chữ thập và hoa kép, như họ cải, cúc ... Ở một số loài, tính không tương hợp ở trạng thái bào tử thể còn gắn liền với sự đa hình của hoa nhằm tăng cường sự ngoại phối.

Đặc điểm của hệ thống tính không tương hợp ở trạng thái bào tử thể:

- Giống như hệ thống tính không tương hợp giao tử thể, tính không tương hợp bào tử thể cũng do một locus đa allele kiểm soát, nhưng quy mô biến dị rộng hơn và việc xác định kiểu gene phức tạp hơn, do có hiện tượng tính trội

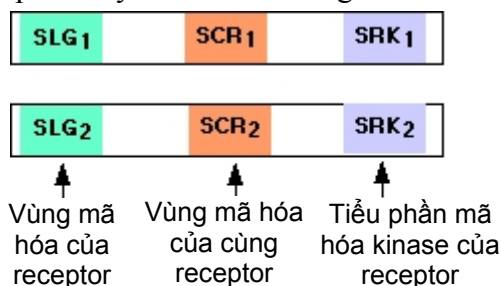
- Tính không tương hợp bào tử thể chịu sự kiểm soát của nhân lưỡng bội ở trạng thái bào tử thể, hoạt động (kiểu hình) của hạt phấn hay ống phấn do kiểu gene lưỡng bội của cơ thể $2n$ quy định.



Hình 5.7 Thể bào tử tạo phấn hoa S_1S_2 tổng hợp cả SCR_1 và SCR_2 hợp nhất vào cả hai loại hạt phấn S_1 và S_2 , trong đó: SLG (S-locus glycoprotein) mã hóa một phần thể nhận (receptor) có trong thành tế bào núm nhụy; SRK (S-receptor kinase) mã hóa cho phần khác của thể nhận. Kinase gắn các nhóm phosphate của protein khác. Kinase là protein xuyên màng, gắn vào màng sinh chất của tế bào núm nhụy; SCR (S-locus Cystein-rich protein) mã hóa tuyến tiết cho cùng một thể nhận.

Về nguyên tắc, hạt phấn không nảy mầm ở đầu nhụy (lưỡng bội) của hoa chứa cả 2 allele ở thể bào tử tạo ra hạt phấn. Chẳng hạn, hạt phấn S_2 được tạo ra bố mẹ S_1S_2 , không thể nảy mầm trên đầu nhụy của cây S_1S_3 . Nguyên nhân, thể bào tử S_1S_2 tạo hạt phấn, tổng hợp cả SCR_1 và SCR_2 đã gắn vào cả hạt phấn S_1 và S_2 . Nếu phân tử SCR gắn vào thể nhận

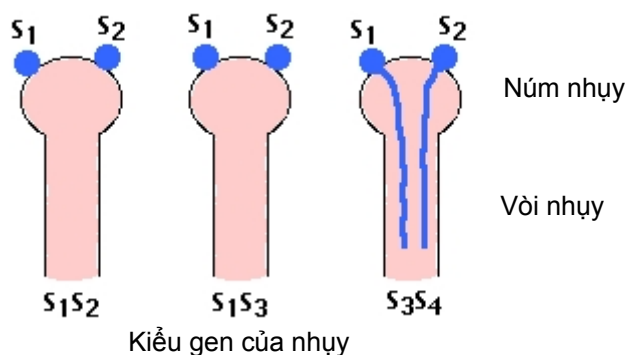
(receptor) trên nhụy, enzyme kinase sẽ khởi động hàng loạt sự kiện dẫn đến ngăn cản sự nảy mầm của hạt phấn trên núm nhụy (Hình 5.7). Nếu con đường này không được khởi động (như hạt phấn của cây S_1S_2 trên núm nhụy S_3S_4) hạt phấn nảy mầm thành công.



Hình 5.8 Cấu trúc các locus S ở thể bào tử của cây S_1S_2

- Giữa các allele có trong hạt phấn và vòi nhụy có mối tương tác, mà thường là quan hệ trội - lặn. Chẳng hạn, khi ở cả hạt phấn và vòi nhụy có tính trội hoàn toàn của một allele này đối với các allele khác và theo một kiểu giống nhau thì xảy ra hiện tượng không tương hợp chéo giữa một số nhóm có kiểu gene khác nhau. Vì thế tính không tương hợp chéo là một dạng của tính không tương hợp bào tử thể. Giả sử, $S_1 > S_2, S_3, S_4 \dots$ thì kiểu gene S_1S_2 sẽ có phản ứng không tương hợp với các kiểu gene S_1S_3, S_1S_4 . Tính không tương hợp sẽ trở nên phức tạp hơn nếu quan hệ trội - lặn giữa các allele trong locus S thể hiện không giống nhau ở hạt phấn và vòi nhụy. Ví dụ nếu $S_1 > S_2$ ở cả hạt phấn và vòi nhụy, còn $S_1 > S_3$ ở hạt phấn, $S_3 > S_1$ ở vòi nhụy thì S_1S_2 (mẹ) $\times S_1S_3$ là không tương hợp trong khi đó phép lai nghịch S_1S_3 (mẹ) $\times S_1S_2$ lại tương hợp.

Tất cả hạt phấn được tạo ra từ cây S_1S_2



Hình 5.9 Hệ thống không tương hợp bào tử thể. Phản ứng bất hợp của hạt phấn do kiểu gene của cây (sporophyte) đã sinh ra nó, trong khi đó vòi nhụy sự bất hợp được điều khiển do chính kiểu gene của nó.

3. Tính không tương hợp đa hình

Ở một số loài *Primula vulgaris*, *Lythrum salicaria* tính không tương hợp được tăng cường do hiện tượng đa hình trong cấu trúc hoa, vòi nhụy hoặc chỉ nhị có thể có các dạng dài, ngắn hay trung bình. Hoặc do hiện tượng đối lập về độ lớn giữa hạt phấn với tế bào ở núm nhụy. Dạng cây vòi nhụy dài thường có tế bào núm nhụy to nhưng hạt phấn lại bé, ngược lại dạng cây vòi nhụy ngắn có tế bào núm nhụy bé nhưng hạt phấn lại to.

Hiện tượng vòi nhụy ngắn và dài do 2 allele S và s kiểm soát. Sự giao phối chỉ xảy ra ở phép lai nhụy dài (ss) × nhụy ngắn (Ss) hoặc nhụy ngắn (Ss) × nhụy dài (ss). Ở F₁ cho tỷ lệ 1 nhụy ngắn : 1 nhụy dài. Nếu cho các cây cùng kiểu nhụy ngắn hoặc nhụy dài giao phối với nhau (Ss × Ss hay ss × ss) thì do tính không hợp được kiểm soát ở bào tử thể nên hạt phấn S hay s trong trường hợp này kém phát triển hoặc không phát triển.

4. Tính tương hợp giả

Ở các cây có tính tương hợp, đôi khi cũng xảy ra hiện tượng tương hợp giả. Nguyên nhân có thể do:

- Sự tự thụ phấn nhân tạo xảy ra nhiều lần
- Tác động của một số nhân tố môi trường như nhiệt độ, ẩm độ, ánh sáng. Nhiệt độ thấp ở giai đoạn nở hoa có thể làm yếu phản ứng của tính không tương hợp. Nhiệt độ cao có thể phá hủy sản phẩm của gene S
- Tính tương hợp giả có thể tăng lên ở giai đoạn đầu và cuối của thời kỳ nở hoa. Nguyên nhân do trong các vòi nhụy non có thể thiếu những sản phẩm của các allele S hoặc nồng độ của chúng chưa đủ để ức chế sự sinh trưởng của ống phấn. Vào cuối thời kỳ nở hoa, do sự trao đổi chất xảy ra yếu nên phản ứng của tính không tương hợp cũng giảm sút.
- Tính tương hợp giả cũng có thể xuất hiện do sự bất hoạt hoặc đột biến của những allele S nhất định hoặc do tác động của những allele khác. Ngoài ra, một số hóa chất như acid boric hoặc hormone sinh trưởng có thể gây ra tính tương hợp giả.

5. Ý nghĩa của tính không tương hợp trong chọn giống

- Hiện tượng đa bội với tính không tương hợp

Phản ứng của tính không tương hợp ở trạng thái giao tử thể và bào tử thể có khác nhau

+ Ở hệ thống tính không tương hợp giao tử thể, khi ở trạng thái lưỡng bội, tính không tương hợp phụ thuộc vào tác dụng độc lập của allele S có mặt trong hạt phấn đơn bội. Khi ở trạng thái đa bội, hạt phấn lưỡng bội chứa

không phải là 1 mà là 2 allele S. Tác dụng cạnh tranh của 2 allele này trong cùng một hạt phần làm rối loạn phản ứng của tính không tương hợp. Vì thế, ở các dạng đa bội, tính không tương hợp thường bị phá hủy.

+ Ở hệ thống tính không tương hợp bào tử thể: hiện tượng đa bội không phá hủy phản ứng của tính không tương hợp. Nguyên nhân do giữa các allele khác nhau mỗi quan hệ trội -lặn đã được xác định.

- Lai xa với tính không tương hợp

Trong lai xa giữa các loài với nhau, kết quả của phép lai phụ thuộc vào việc sử dụng bố mẹ có liên quan đến tính không tương hợp như thế nào. Ở các họ *Solanaceae*, *Compositae*, *Cruciferae*, *Linaceae* ... thường lai xa khác loài chỉ thành công khi dạng mẹ có tính tự hợp còn dạng bố có tính không tự hợp. Nguyên nhân có lẽ do các allele không tự hợp có khả năng ức chế các allele tự hợp.

- Môi quan hệ giữa tính không tương hợp với các kiểu hạt phần

Ở thực vật hạt kín, quá trình phát sinh các tiểu bào tử xảy ra theo 2 kiểu:

+ Kiểu hạt phần hai nhân: Khi hạt phần chín, ở trạng thái sẵn sàng thụ tinh (sau khi tứ tử được hình thành vài ngày), nhân đơn bội trong hạt phần trải qua một lần nguyên phân cho ra 2 nhân là nhân sinh sản và nhân sinh dưỡng. Sau đó, đến lúc hạt phần nảy mầm trên vòi nhụy, trong ống phần xảy ra một lần nguyên phân nữa của nhân sinh sản cho ra 2 tinh tử. Kiểu này thường thấy ở phần lớn thực vật hạt kín.

+ Kiểu hạt phần ba nhân: Với kiểu hạt phần này, khi ở trạng thái sẵn sàng thụ tinh, trong nó đã chứa 3 nhân (1 nhân sinh dưỡng và 2 tinh tử) do kết quả của 2 lần nguyên phân liên tiếp. Kiểu hạt phần này thường gặp ở họ hòa thảo và họ cú.

Brewbaker (1957) nhận thấy có sự phụ thuộc giữa 2 kiểu hạt phần nói trên với tính không tương hợp. Thực vật có kiểu hạt phần hai nhân thường gắn liền với tính không tương hợp giao tử thể. Các loài có kiểu hạt phần ba nhân thường có biểu hiện tính không tương hợp bào tử thể. Với những loài đa hình, hạt phần của chúng có thể là kiểu hai nhân hay ba nhân, nhưng đều thuộc hệ thống tính không tương hợp bào tử thể.

Ngoài ra, có sự tương ứng giữa kiểu hạt phần và nơi xảy ra phản ứng của tính không tương hợp. Ở các loài có kiểu hạt phần ba nhân, nơi xảy ra phản ứng là núm nhụy, do vậy nó tác động đến sự nảy mầm của hạt phần. Trong khi đó những thực vật có kiểu hạt phần hai nhân, phản ứng xảy ra khi ống phần đang xâm nhập vào vòi nhụy, vì thế nó ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của ống phần.

Như vậy có một mối liên quan giữa tính không tương hợp, nơi xảy ra phản ứng và kiểu hạt phấn, hay chính là thời điểm xảy ra nguyên phân lần thứ hai trong hạt phấn.

- Tạo dòng đồng hợp tử bằng phương pháp tự phối

Hệ thống di truyền tính không tương hợp có ứng dụng thực tiễn lớn trong quá trình chọn giống theo ưu thế lai, mà không cần khử đực ở dạng mẹ. Để thu được các dạng con lai có ưu thế cao nhờ sử dụng tính không tương hợp, cần phải thu được các dòng đồng hợp tử về các allele S bằng phương pháp tự thụ phấn nhân tạo qua 3-4 thế hệ. Tính đồng hợp tử theo các allele khác nhau của các dòng đảm bảo quá trình thụ tinh của các cây mẹ bằng hạt phấn của các dòng khác để thu 100% hạt lai.

- Khắc phục tính không lai được giữa các loài

+ Ức chế sinh lý: có thể sử dụng một số tác nhân gây ức chế như nhiệt độ cao, tia phóng xạ hay các hóa chất ức chế sự tổng hợp RNA hay protein ... tác động vào nơi xảy ra phản ứng của tính tương hợp hay không tương hợp (núm nhụy hay vòi nhụy)

+ Loại bỏ tính không tương hợp trong quá trình giao phối nhờ đột biến

Tính không tự tương hợp ở trạng thái bào tử thể không thích hợp cho các nghiên cứu đột biến, trong khi đó tính không tương hợp ở trạng thái giao tử thể rất thích hợp. Trong thực tế, một hạt phấn đột biến hữu thụ nào đó cho phép xâm nhập được vào túi noãn và truyền những đặc điểm đột biến cho thế hệ sau. Sau khi xử lý nụ hoa đang giảm phân bằng tác nhân gây đột biến sẽ hình thành nên hàng triệu hạt phấn như vậy. các hạt phấn này có thể được hình thành nhờ hiện tượng locus S bị mất hoạt tính hoàn toàn hoặc một phần, hoặc do locus này bị biến mất do hiện tượng mất đoạn nhiễm sắc thể. Nhiều trường hợp các đột biến không làm thay đổi kiểu hình hạt phấn nhưng đã bị biến đổi nên vòi nhụy không nhận diện được chúng.

Các dạng đột biến tự hợp đã được tạo ra nhờ phóng xạ ở nhiều chi thực vật như: *Oenothera*, *Prunus*, *Nicotiana*, *Petunia* và *Trifolium*.

+ Khắc phục tính không tương hợp khi lai giữa các loài

Một số chi thực vật, sử dụng phóng xạ để xử lý giao tử đực hoặc cái khắc phục được hiện tượng không tương hợp khi lai giữa các loài. Điển hình là nhờ đó lai thành công giữa hai loài thuốc lá *N. glauca* và *N. forgetiana*.

Có thể sử dụng các phương pháp khác để khắc phục tính bất thụ khi lai khác loài như trộn hạt phấn đã bị làm hỏng bằng methanol với hạt phấn không tương hợp, hoặc trộn hạt phấn không tương hợp với một