

VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

-----o0o-----

NGUYỄN VĂN TRỮ

**NGHIÊN CỨU CHỌN TẠO DÒNG MÍA HÀM
LƯỢNG ĐƯỜNG CAO BẰNG CHỈ THỊ SSR**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Hà Nội, 2012

VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

-----o0o-----

NGUYỄN VĂN TRỮ

**NGHIÊN CỨU CHỌN TẠO DÒNG MÍA HÀM
LƯỢNG ĐƯỜNG CAO BẰNG CHỈ THỊ SSR**

Chuyên ngành : Công nghệ Tế bào Thực vật

Mã số : 60. 42. 30

LUẬN VĂN THẠC SỸ SINH HỌC
NGƯỜI HƯỚNG DẪN: TS. LÊ THỊ BÍCH THỦY

Hà Nội, 2012

LỜI CẢM ƠN

Để có thể hoàn thành được luận văn tốt nghiệp này, tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới TS. Lê Thị Bích Thủy, Trưởng Phòng Di truyền Tế bào Thực vật - Viện Công nghệ Sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo mọi điều kiện, tận tình hướng dẫn và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian qua.

Tôi muốn gửi lời cảm ơn đến Ban Lãnh đạo Viện Công nghệ Sinh học, Ban lãnh đạo Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Ban giám hiệu Trường Đại học Thái Nguyên, cùng các thầy cô giáo tham gia giảng dạy đã tạo mọi điều kiện giúp đỡ, truyền đạt kiến thức cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Bên cạnh đó, tôi cũng đã nhận được sự ủng hộ nhiệt tình và các ý kiến đóng góp của các anh chị, các bạn đồng nghiệp của phòng Di truyền Tế bào Thực vật. Nhân dịp này, tôi xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ quý báu đó.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn đến gia đình, bạn bè và người thân đã luôn ở bên cạnh chia sẻ, động viên, giúp đỡ và tạo điều kiện tốt nhất cho tôi học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn của mình.

Hà nội, ngày 20 tháng 12 năm 2012

Học viên

Nguyễn Văn Trữ

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận văn này là hoàn toàn trung thực. Mọi sự giúp đỡ cho việc thực hiện luận văn này đã được cảm ơn và các thông tin trích dẫn trong luận văn đã được chỉ rõ nguồn gốc.

Nguyễn Văn Trữ

MỞ ĐẦU

Mía (*Saccharum L.*) thuộc chi mía (*Saccharum*), họ hòa thảo (*Poaceae*), bộ lúa (*Poal.,es*), lớp một lá mầm (*Monocotyledoneae*). Chúng là những cây có thân to, mập, chia đốt cao từ 2 - 6 m. Tất cả các giống mía đang được trồng trên thế giới đều được lai tạo từ 2 loài *S. officinarum* và *S. Spontaneum*. Việc sử dụng hạn chế nguồn vật liệu cho lai tạo trong suốt một thời gian dài làm cho các giống mía hiện đại có quan hệ rất gần gũi về mặt di truyền.

Ngày nay, mía được trồng trên 200 quốc gia và vùng lãnh thổ. Cây mía trở thành một trong những cây công nghiệp quan trọng của ngành công nghiệp sản xuất đường. Ngoài ra, mía còn là loại cây có tác dụng bảo vệ đất rất tốt, đặc biệt là chống xói mòn đất cho các vùng đồi trung du. Hơn nữa, mía là cây rễ chùm và phát triển mạnh trong tầng đất từ 0 - 60 cm (1 ha mía tốt có thể cho 13 - 15 tấn rễ sau thu hoạch), đây là nguồn chất hữu cơ quý làm tăng độ phì của đất. Phần bã mía chứa nhiều cellulose có thể dùng làm nguyên liệu đốt lò, hoặc làm bột giấy, bìa các tông, ép thành ván dùng trong kiến trúc... Sản phẩm cặn bã còn lại sau khi chế biến đường (bùn lọc) có thể sử dụng để sản xuất nhựa, xêrin, làm sơn, xi đánh giày... phế phẩm còn lại dùng làm phân bón rất tốt. Trong tương lai bã mía còn có thể làm nguồn nguyên liệu sản xuất bột giấy, làm sợi thay thế các loại cây rừng bị giảm đi.

Ở Việt Nam, mía được coi là cây trồng chủ đạo trong ngành công nghiệp đường của cả nước. Bên cạnh đó, cây mía cũng góp phần xóa đói giảm nghèo ở nhiều vùng trung du, miền núi nước ta (Nguyễn Đức Quang và cộng sự. 2005). Hiện nay, nước ta có tới trên 60% các giống mía là những giống cũ như: *ROC1*, *ROC10*, *F156*, *F127*... hoặc các dạng cây lai ghép nội chi phức tạp (Nguyễn Thị Bạch Mai và cộng sự. 2005), mặc dù các giống này có đặc điểm dễ canh tác, thích nghi rộng với nhiều vùng sinh thái của Việt Nam, nhưng trữ lượng đường rất thấp, đang đứng trước nguy cơ suy thoái nguồn gen và giống cây trồng. Đối với các giống mía nhập nội tuy có trữ lượng đường cao nhưng không phù hợp với khí hậu Việt Nam, dễ bị nhiễm bệnh. Để làm giảm đến mức tối thiểu những hậu quả xấu của *S. Spontaneum* và duy trì khả năng cho sucrose cao của *S. officinarum*. Một loạt

phép lai ngược đã được thực hiện giữa con lai triển vọng với loài *S. officinarum*. Điều này bước đầu mang lại những thành công trong việc cải thiện hàm lượng đường, kháng bệnh và khả năng mọc chồi cao. Tuy nhiên, về sau do gần nhau về mặt di truyền nên những tiến bộ trong việc lai mía tạo hầu như không được cải thiện (Sreenivasan et al., 1987; Lima et al., 2002; Pan et al., 2004). Thêm vào đó, việc các giống có nguồn gốc di truyền gần nhau khi bị nhiễm tác nhân gây bệnh mới khả năng bùng phát thành dịch trên diện tích rộng và nhanh chóng là rất cao, điều này gây thiệt hại lớn (Đỗ Ngọc Diệp và cộng sự. 2005). Do vậy, yêu cầu cấp thiết lúc này với ngành mía đường là nghiên cứu đa dạng di truyền các giống mía, để làm nguồn vật liệu cho lai tạo. Mặc dù vậy, việc chọn lọc các cá thể có mức độ đa dạng di truyền cao dựa trên nguồn gốc địa lý, các tính trạng nông học, theo dõi phả hệ cho kết quả không chính xác, tiêu tốn nhiều thời gian và sức lực. Đánh giá đa dạng di truyền dựa trên các đặc điểm hình thái thường không chính xác do ảnh hưởng bởi môi trường. Vì vậy, việc chọn lựa kỹ thuật để xác định được mối quan hệ di truyền và chọn lọc được các tính trạng mong muốn, mà không ảnh hưởng bởi bất kỳ yếu tố môi trường là hết sức cần thiết cho việc nghiên cứu đa dạng di truyền.

Trong những năm gần đây, nhiều loại chỉ thị ADN đã được sử dụng trong các nghiên cứu chọn giống cây trồng: RADP, RFLP, SSR. Trong đó, kỹ thuật SSR đã nhanh chóng trở thành kỹ thuật hữu hiệu và được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu. SSR được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu nhờ các đặc tính ưu việt của chúng: sự phân bố rộng trong hệ gen, tính di truyền đồng trội, tính lặp lại, bản chất đa allel và vị trí đặc hiệu ở nhiễm sắc thể. Ở Việt Nam, việc chọn tạo giống mía hàm lượng đường cao mới được tiến hành bằng việc quan sát các tính trạng hình thái: số thân trên khóm, trọng lượng cây, đường kính cây, khả năng kháng bệnh dựa trên quan sát đồng ruộng và một số chỉ tiêu hóa sinh khác: hàm lượng đường, độ Pol, độ Brix và xơ dựa trên nguồn gốc các giống mía: Cu Ba, Thái Lan, Trung Quốc... Do vậy, xuất phát từ nhu cầu thực tiễn và khoa học, chúng tôi đã chọn đề tài nghiên cứu **“Nghiên cứu chọn tạo dòng mía hàm lượng đường cao bằng chỉ thị phân tử SSR”**.

Mục tiêu của đề tài

- Đánh giá đa dạng di truyền của tập đoàn giống mía hàm lượng đường cao được trồng ở Việt Nam.

- Chọn được các cặp lai ưu tú với tính trạng hàm lượng đường cao.

- Chọn lọc được một số dòng lai ưu tú có hàm lượng đường cao bằng các chỉ thị SSR liên kết với tính trạng hàm lượng đường cao để đem trồng khảo nghiệm.

Nội dung của đề tài *Đề tài sẽ bao gồm một số nội dung chính với các vấn đề cần giải quyết sau:*

- Đánh giá đa dạng di truyền của tập đoàn 42 giống mía nghiên cứu.

- Sử dụng chỉ thị SSR liên kết với tính trạng hàm lượng đường cao để chọn lọc các dòng lai có hàm lượng đường cao.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: từ 3/2011 đến 10/2012

- Địa điểm: phòng Di truyền Tế bào Thực vật – Viện Công nghệ Sinh học-Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

PHẦN I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Phân loại, đặc điểm hình thái và sinh trưởng của mía

Mía (*Saccharum L.*) thuộc chi mía (*Saccharum*), họ hòa thảo (*Poaceae*), bộ lúa (*Poal.,es*), lớp một lá mầm (*Monocotyledoneae*). Chúng là những cây có thân to, mập, chia đốt cao từ 2 - 6 m. Các loại thực vật trong chi này đa số là các loại cỏ sống lâu năm bao gồm khoảng 6 - 37 loài tùy theo hệ thống phân loại, sống chủ yếu ở khu vực nhiệt đới và ôn đới trên thế giới. Mía được trồng để thu hoạch với mục đích sản xuất đường. Trên cây mía, thông thường phần ngọn sẽ nhạt hơn phần gốc (trong chiết nước mía). Đó là đặc điểm chung của thực vật: chất dinh dưỡng (hàm lượng đường) được tập trung nhiều ở phần gốc (vừa để nuôi dưỡng cây vừa để dự trữ). Đồng thời, do sự bốc hơi nước của lá mía, nên phần ngọn cây lúc nào cũng phải được cung cấp nước đầy đủ cho lá. Tỷ lệ nước ở phần ngọn nhiều hơn phần gốc làm cho ngọn cây mía nhạt hơn.

Mía là loại cây nhiệt đới nên đòi hỏi điều kiện độ ẩm rất cao. Nhiệt độ bình quân thích hợp cho sự sinh trưởng của cây mía là 15-26 °C. Giống mía nhiệt đới sinh trưởng chậm khi nhiệt độ dưới 21 °C và ngừng sinh trưởng khi nhiệt độ 13 °C và dưới 5 °C thì cây sẽ chết. Những giống mía á nhiệt đới tuy chịu rét tốt hơn nhưng nhiệt độ thích hợp cũng giống như mía nhiệt đới. Thời kỳ nảy mầm mía cần nhiệt độ trên 15 °C tốt nhất là từ 26-33 °C. Mía nảy mầm kém ở nhiệt độ dưới 15 °C và trên 40 °C. Từ 28-35 °C là nhiệt độ thích hợp cho mía vươn cao. Sự dao động biên độ nhiệt giữa ngày và đêm liên quan tới tỉ lệ đường trong mía. Giới hạn nhiệt độ thích hợp cho thời kỳ mía chín từ 15-20 °C. Vì vậy tỉ lệ đường trong mía thường đạt ở mức cao nhất cho các vùng có khí hậu lục địa và vùng cao.

Mía là cây nhạy cảm với ánh sáng và đòi hỏi cao về ánh sáng. Thiếu ánh sáng, mía phát triển không tốt, hàm lượng đường thấp. Mía cần thời gian tối thiểu là 1200 giờ tốt nhất là trên 2000 giờ. Quang hợp của cây mía tỉ lệ thuận với cường độ và độ dài chiếu sáng. Thiếu ánh sáng cây hút phân kém, do đó phân đạm, lân và kali chỉ hiệu quả khi ánh sáng đầy đủ. Vì vậy ở vùng nhiệt đới và á nhiệt đới mía vươn

cao mạnh nhất khi bắt đầu vào mùa hè có độ dài ngày tăng lên. Chính vì vậy, nó là nhân tố quan trọng quyết định năng suất và sản lượng mía.

Mía là cây cần nhiều nước nhưng lại sợ úng nước. Mía có thể phát triển tốt ở những vùng có lượng mưa từ 1500 mm/năm. Giai đoạn sinh trưởng mía yêu cầu lượng mưa từ 100-170 mm/tháng. Khi chín cần khô ráo, mía thu hoạch sau một thời gian khô ráo khoảng 2 tháng sẽ cho tỉ lệ đường cao. Bởi vậy các nước nằm trong vùng khô hạn nhưng vẫn trồng mía tốt còn những nơi mưa nhiều và phân bố đều trong năm thì việc trồng mía không hiệu quả. Gió bão làm cây đổ dẫn đến làm giảm năng suất, giảm phẩm chất của cây. Chính vì vậy gió cũng là dấu hiệu quan trọng trong công tác dự báo lên kế hoạch và chế biến làm sao tốn ít chi phí mà giá trị sản xuất cũng như phẩm chất của mía nguyên liệu vẫn cao.

1.2. Diện tích và năng suất trồng mía ở Việt Nam và trên thế giới

Hiện nay có khoảng 200 quốc gia và vùng lãnh thổ trên thế giới trồng và sản xuất mía đường, sản lượng trung bình đạt khoảng 13.246 triệu tấn (gấp 6 lần so với củ cải đường). Năng suất trung bình của mía trên thế giới năm 2009 khoảng 70,3 tấn trên một hecta. Trong đó, khu vực có năng suất mía tốt nhất là các nông trại mía ở Peru với năng suất trung bình khoảng 125,5 tấn trên một hecta. Brazil là quốc gia trồng mía lớn nhất thế giới, với sản lượng hàng năm khoảng 672.000.000 tấn một năm, năng suất trung bình khoảng 87 tấn trên hecta (Food And Agricultural Organization of United Nations. 2009).

Bảng 1: Sản lượng mía của 10 nước đứng đầu thế giới năm 2009

Tên quốc gia	Sản lượng (tấn)
Brazil	672,157,000
india	285,029,000
Thái lan	66,816,400
Pakistan	50,045,400
Mexico	49,492,700

Colombia	38,500,000
Philippines	32,500,000
Australia	30,284,000
Argentina	29,000,000
Tổng sản lượng mía thế giới	1,743,068,525

Ở Việt Nam, mía là cây trồng chủ đạo trong ngành công nghiệp đường của cả nước. Theo số liệu thống kê diện tích mía cả nước năm 2012 là 283,222 ha, tăng hơn vụ trước 11,822 ha, diện tích mía của 25 tỉnh có nhà máy đường cung cấp cho các nhà máy chế biến niên vụ 2011/2012 là 270,961 ha. Năng suất mía bình quân cả nước đạt 61,7 tấn/ha tăng so với vụ trước gần 2 tấn/ha, sản lượng mía cả nước được 17,5 triệu tấn. Sản lượng mía ép công nghiệp đạt 14,5 triệu tấn, sản xuất được 1.306.240 tấn đường. So với vụ trước, lượng mía ép công nghiệp tăng gần 2 triệu tấn, sản lượng đường tăng 155,780 tấn. Mía được phân bố chủ yếu ở các vùng sinh thái sau đây: Đồng bằng Sông Hồng, Đông Bắc, Tây Bắc, Bắc Trung Bộ, Duyên Hải Nam Trung Bộ, Tây Nguyên, Đông Nam Bộ và Đồng bằng sông Cửu Long. Diện tích trồng mía tập trung ở vùng Bắc Trung bộ, Đông Nam bộ và đồng bằng sông Cửu Long. Các tỉnh miền núi phía Bắc và đồng bằng sông Hồng có diện tích trồng mía ít, phân tán năng suất thấp. Về chất lượng mía, Theo báo cáo của các đơn vị chế biến đường: chữ đường cao nhất ở Công ty CP mía đường Sông Con là 11,8 CCS và thấp nhất ở Công ty CP NIVL là 8,0 CCS còn lại hầu hết dao động trong khoảng từ 8,5 đến 10 CCS. Trên cơ sở kết quả lượng mía đưa vào chế biến và lượng đường thu được thì trữ lượng đường bình quân khi chế biến đạt khoảng 9,6 CCS giảm hơn năm 2011(Báo cáo hiện trạng và giải pháp phát triển ổn định ngành Mía đường 2012).