

CHỌN LỌC VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KẾT HỢP CỦA DÒNG TỰ PHỐI NGŨ NẾP CHẤT LƯỢNG VỎ HẠT MỎNG DỰA TRÊN KIỂU HÌNH VÀ CHỈ THỊ PHÂN TỬ

Trần Thị Thanh Hà¹, Vũ Văn Liết^{2*}, Vũ Thị Bích Hạnh¹, Nguyễn Văn Hà¹,
Dương Thị Loan¹, Hoàng Thị Thùy¹, Nguyễn Văn Việt¹

¹Phòng Cây trồng cạn, Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng

²Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email*: vvliet@vnua.edu.vn

Ngày gửi bài: 12.03.2015

Ngày chấp nhận: 30.08.2017

TÓM TẮT

Độ dày vỏ hạt liên quan đến độ mềm của ngô nếp ăn tươi, vì vậy nghiên cứu đã đánh giá 60 dòng ngô nếp từ S₆-S₈. Sử dụng vi trắc kế xác định được 38/60 dòng có kiểu hình độ dày vỏ hạt phù hợp (35 - 60 μm). Sử dụng 5 cặp mồi đặc hiệu của chỉ thị phân tử SSR là *umc2189-ZCT131*, *bmc1396-mmc0143*, *umc2118-bmc1325*, *umc1757-umc1550*, *umc2038-dupssr28* dò tìm QTL điều khiển độ mỏng vỏ ở 5 vùng vỏ hạt, kết quả đã nhận biết được và tương quan với kiểu hình là 21. Trong đó có 9 dòng có nguồn gốc Việt Nam (D14, 161, 21, 22, 42, 45, 60, 61, 90), 1 dòng có nguồn gốc Lào D18, 11 dòng có nguồn gốc Trung Quốc (D29, 30, 31, 52, 601, 70, 71, 72, 74, 82, 85). Chọn lọc được 7 dòng ưu tú phục vụ lai tạo tổ hợp lai: D29, 161, 71, 601, 61, 86, 74 và lai thử khả năng kết hợp bằng diallel theo mô hình Griffing 4 tạo ra 21 tổ hợp lai. Đánh giá 21 tổ hợp lai (THL), lựa chọn ra 10 tổ hợp lai chứa QTL quy định tính trạng vỏ hạt mỏng ở tất cả các vị trí là THL 1 (D29/D161), THL2 (D29/D71), THL3 (D29/D601), THL4 (D29/D61), THL5 (D29/D86), THL6 (D29/D74), THL8 (D161/D601), THL9 (D161/D61), THL16 (D601/D61), THL20 (D61/D74) và D61, 29, 161. Những dòng và tổ hợp lai này được tiếp tục đưa vào chương trình chọn tạo giống ngô nếp ăn tươi chất lượng cao ở miền Bắc, Việt Nam.

Từ khóa: Chọn lọc, dòng tự phối, ngô nếp, vỏ mỏng, chất lượng.

Selection and Combining Ability Evaluation of The Waxy Inbred Lines with Thinner Pericarp by The Phenotyping and Molecular Marker-Assistance

ABSTRACT

The thinner pericarp kernel are associated with the soft of fresh waxy corn, This study was evaluated 60 of waxy maize inbred lines S₆-S₈. Using the micrometer and identified 38/60 lines have favorable thickness pericarp ranged from 35 to 60 μm according to fresh quality. Using the molecular marker SSR with 5 specific primers are *umc2189-ZCT131*; *bmc1396-mmc0143*; *umc2118-bmc1325*; *umc1757-umc1550*; *umc2038-dupssr28* to detect QTL control thinner pericarp of maize kernel, result were identified to interelate with phenotype 21 lines containing QTL, respectively. There are 9 lines originated the Vietnam traditional maize variety are D14, 161, 21, 22, 42, 45, 60, 61, 90), 1 lines originated from Laos are D18 and 11 lines originated from China are D29, 30, 31, 52, 601, 70, 71, 72, 74, 82, 85. Association of evaluated base on phenotype and molecular marker were selected 7 elite lines have suitable agronomical characters and pericarp thickness to develop waxy maize hybrid for market fresh quality are D29, 161, 71, 601, 61, 86, 74 and were crossed in diallel cross according to Griffing 4 to produce 21 possible F1 hybrids. Twenty-one F1 and their seven parents planted side by side in replicated trials to evaluate agronomical characteristics on phenotype and molecular marker. Result were selected 10 hybrids with favorable characteristics and thinner pericarp are THL1,2,3,4,5,6,8,9,16, 20, and D61, 29, 161 they will further evaluation to develop waxy maize hybrid have high quality in Northern of Vietnam.

Keywords: Selection, inbred line, waxy corn, thinner pericarp, quality.

Chọn lọc và đánh giá khả năng kết hợp của dòng tự phối ngô nếp chất lượng vỏ hạt mỏng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Diện tích trồng ngô nếp của Việt Nam tăng khá nhanh trong những năm gần đây, khoảng 12% diện tích trồng ngô trong cả nước. Ngoài cung cấp cho thị trường ăn tươi, ngô nếp còn được sử dụng làm lương thực chủ yếu của đồng bào dân tộc ít người các tỉnh Hà Giang, Lào Cai, Tuyên Quang, Lai Châu, Điện Biên, Sơn La. Ở vùng đồng bằng và trung du Bắc Bộ, phần lớn diện tích ngô nếp được trồng trong vụ Đông luân canh giữa hai vụ lúa, bán ngô non ăn tươi đem lại hiệu quả kinh tế cao. Tuy nhiên, giống ngô nếp lai chất lượng chọn tạo trong nước còn rất hạn chế, chủ yếu là giống nhập nội hoặc của công ty nước ngoài, giá hạt giống cao và không chủ động là nguyên nhân hạn chế mở rộng sản xuất, nâng cao thu nhập cho người dân. Do đó chọn tạo giống ngô nếp lai chất lượng trong nước là cấp thiết cho sản xuất hiện nay.

Ngô nếp là dạng đột biến của ngô thường, có nội nhũ chứa gần 100% amylopectin là dạng tinh bột có cấu trúc mạch nhánh trong khi ngô thường chỉ có 75% amylopectin, còn lại 25% là amylose. Hạt ngô nếp giàu lyzin, tryptopan và protein, khi nấu chín có đặc tính dẻo, ngọt thanh, mùi vị thơm ngon, tinh bột của ngô nếp dễ hấp thụ hơn của ngô tẻ (Ferguson *et al.*, 1994). Chính vì thế, đã có nhiều nghiên cứu trên thế giới công bố chất lượng ăn uống của ngô nếp (Azanza *et al.*, 1996; Ito & Brewbaker, 1998; Simonne *et al.*, 1999). Đặc biệt, độ dày vỏ hạt đã trở thành mục tiêu quan trọng để cải tiến độ mềm của ngô nếp trong các chương trình tạo giống hiện nay (Kang *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2005; Choe *et al.*, 2012).

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

60 dòng ngô nếp tự phối thế hệ S₆ đến S₈ (30 dòng Việt Nam, 7 dòng nguồn gốc từ Lào, 23 dòng có nguồn gốc từ Trung Quốc), dòng HQ6 làm đối chứng (nguồn gốc là ngô nếp chất lượng Hàn Quốc), giống đối chứng là HN88 (ngô nếp chất lượng) của Công ty giống cây trồng Trung Ương.

2.2. Phương pháp

Thí nghiệm đồng ruộng được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCBD), hai lần lặp lại, diện tích ô 10 m², khoảng cách 60 cm x 25 cm (dòng); ba lần lặp lại, diện tích ô thí nghiệm 14 m², khoảng cách 70 cm x 25 cm (tổ hợp lai).

Đánh giá chất lượng cảm quan theo QCVN01-56:2011/BNNPTNT (Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm giá trị canh tác và sử dụng của giống ngô). Đo độ dày vỏ hạt bằng vi trắc kế (Model 105-01-0) theo phương pháp của Wolf *et al.* (1969). Lấy 30 hạt/một kiểu gen, hạt được ngâm trong nước 3 - 4 giờ tại nhiệt độ phòng 25°C. Mảnh vỏ hạt được tách và đặt trong dung dịch nước glycerol tỷ lệ 1:3; ngâm ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Khi đưa ra khỏi dung dịch, thấm khô, đặt ở nhiệt độ phòng, giữ ở độ ẩm 50% trong 24 giờ.

Sử dụng chỉ thị phân tử SSR với 5 cặp môi đặc hiệu cặp hai phía (flank) *umc2189 - ZCT131*, *bmc1369-mm0143*, *umc2118-bmc1325*, *umc1757-umc1550*, *umc2038-dupssr28* dò tìm QTL có liên quan đến độ mỏng ở các vùng vỏ hạt (phần trên mặt có phôi UG, phần dưới mặt có phôi LG, phần trên mặt sau phôi UA, phần dưới mặt sau phôi LA và đầu hạt CWN) của 60 dòng tự phối và 21 tổ hợp lai (Choe, 2010).

Tách chiết DNA theo phương pháp của Doyle (1987). Chuẩn bị đệm tách chiết CTAB và ủ nóng ở 65°C. Nghiền mẫu lá (50 - 100 mg) trong 700 µl đệm chiết đã ủ nóng trong 10 - 20 giây bằng chày và cối xú, chuyển dung dịch đồng nhất vào ống 1,5 ml. Ủ 65°C trong 30 phút hoặc hơn (thường xuyên đảo trộn 2 - 3 lần trong khi ủ). Để nguội ở nhiệt độ phòng 25°C. Thêm 1 lượng tương đương dung dịch Chloroform : Isoamylalcohol (24 : 1), đảo đều và ly tâm trong 10 phút ở nhiệt độ phòng ở 13000 rpm (lặp lại 2 lần). Chuyển dịch trong phía trên (có chứa DNA) sang 1 ống 1,5 ml mới. Kết tủa DNA bằng 2/3 lượng isopropanol lạnh. Để trong tủ lạnh ít nhất 30 phút hoặc để lạnh qua đêm. DNA được kết tủa bằng cách ly tâm 10 phút ở nhiệt độ phòng ở 13000 rpm. Loại bỏ dịch nổi và rửa tủa bằng 500 µl ethanol 70%, để khô tủa và hòa tan

trong nước khử trùng hoặc TE. Phân tích PCR (Thành phần phản ứng gồm 5 µl master mix, 2 µl mỗi, 2 µl nước khử trùng và 1 µl DNA. Đặt phản ứng PCR với chu trình nhiệt. Thực hiện 35 chu trình nhiệt: Chu trình nhiệt với 94°C trong 5 phút, 94°C trong 30 phút, 55°C trong 30 giây, 72°C trong 2 phút và tiếp theo 72°C trong 5 phút, bảo quản ở 15°C. Sản phẩm PCR được lấy 10 µl cho vào điện di trên gel agarose 2% ở 70 V trong 1 giờ với đệm 1X Tris-bozate - EDTA (TBE). Nhuộm ethidium bromide 0,5 µg/ml trong 15 phút quan sát dưới đèn UV và chụp ảnh điện di.

Kết quả thí nghiệm được phân tích phương sai, hệ số biến động (CV%) và sai khác nhỏ nhất có ý nghĩa ($LSD_{0,05}$), sử dụng chương trình IRRISTAT 5.0 và phần mềm DTSL của Nguyễn Đình Hiền (1995).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá 60 dòng ngô nếp dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử

3.1.1. Kết quả đánh giá 60 dòng ngô nếp dựa trên kiểu hình

Theo Choe (2010), độ dày vỏ hạt ngô nếp thích hợp cho dùng ăn tươi là từ 35 - 60 µm. Theo đó, kết quả đánh giá 60 dòng ngô nếp dựa trên tương quan giữa kiểu hình độ dày vỏ hạt thuộc phạm vi thích hợp (35 - 60 µm) và năng suất dòng đạt trên 15 tạ/ha, thu được 35/60 dòng trong đó 14 dòng có nguồn gốc Việt Nam (D2, 14, 161, 21, 22, 33, 36, 42, 45, 60, 61, 68, 89, 90), 4 dòng có nguồn gốc Lào (18, 26, 27, 88), 18 dòng có nguồn gốc Trung Quốc (D15, 28, 29, 30, 31, 52, 601, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 80, 86). 3 dòng: D28, D29, D31 có độ dày vỏ hạt tương đương đối chứng HQ6.

3.1.2. Nhận biết QTL liên quan đến độ mỏng vỏ của 60 dòng ngô nếp dựa trên chỉ thị phân tử

Tham khảo nghiên cứu của Choe (2010), chúng tôi sử dụng chỉ thị phân tử SSR với 5 cặp

mỗi đặc hiệu cặp hai phía (flank) của QTL có liên quan đến độ mỏng ở các vùng vỏ hạt nằm trên NST số 1, 2, 3 và 4. Thí nghiệm được phân tích trên 60 dòng ngô nếp tự phối và 1 đối chứng là dòng ngô nếp có nguồn gốc Hàn Quốc. Kết quả phân tích PCR với 5 cặp mỗi được thể hiện trong bảng 3.

Tương quan giữa các cặp chỉ thị phân tử xác định được 24/60 dòng mang QTL điều khiển vỏ hạt mỏng ở các vị trí khác nhau. Tương quan giữa đánh giá kiểu hình vỏ hạt mỏng và chỉ thị phân tử, năng suất dòng trên 1,5 tấn/ha, xác định được 21/24 dòng, trong đó 9 dòng có nguồn gốc Việt Nam (D14, 161, 21, 22, 42, 45, 60, 61, 90), 1 dòng có nguồn gốc Lào D18, 11 dòng có nguồn gốc Trung Quốc (D29, 30, 31, 52, 601, 70, 71, 72, 74, 82, 85).

Kết hợp đánh giá về kiểu hình và chỉ thị phân tử, chọn được 7/21 dòng dựa trên 5 tính trạng ưu tiên là năng suất, độ mỏng vỏ, vị đậm, độ dẻo và hương thơm. Các dòng này được đưa vào lai, đánh giá khả năng chọn tổ hợp lai ưu tú, chỉ số chọn lọc tương ứng là D29 (1,71); D61 (3,74); D71 (4,27); D601 (4,28); D161 (4,62); D86 (4,46); D74 (4,48).

3.2. Đánh giá khả năng kết hợp của một số dòng tự phối ưu tú và xác định QTL vỏ hạt mỏng ở con lai F1

3.2.1. Đánh giá khả năng kết hợp của một số dòng tự phối ưu tú trong vụ Đông 2014

Tạo tổ hợp lai mới bằng dialen theo mô hình Griffing 4 từ 7 dòng tự phối ưu tú trong vụ Hè 2014 thu được 21 tổ hợp lai. Đánh giá tổ hợp lai mới trong vụ Đông 2014, dựa trên một số chỉ tiêu như: độ dày vỏ hạt, năng suất bắp tươi, độ dẻo, hương thơm và vị đậm. Kết quả cho thấy các tổ hợp lai được tạo ra có độ dày vỏ hạt phù hợp cho ngô nếp ăn tươi trong khoảng (35 - 60 µm), nhiều tổ hợp lai có năng suất và chất lượng tương tự đối chứng HN88, đặc biệt có tổ hợp lai 8 và 15 có năng suất vượt đối chứng ở mức có ý nghĩa (Bảng 4).

Chọn lọc và đánh giá khả năng kết hợp của dòng tự phối ngô nếp chất lượng vỏ hạt mỏng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử

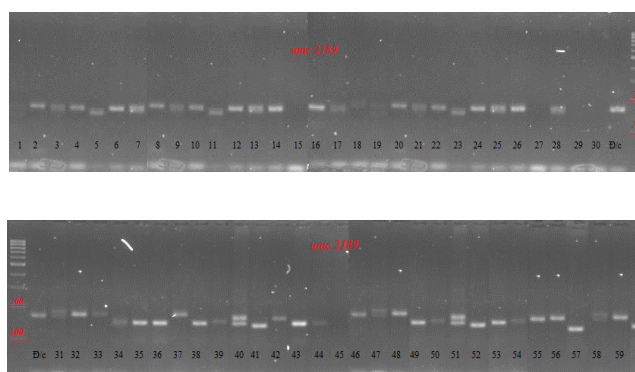
Bảng 1. Năng suất, chất lượng của 60 dòng ngô nếp trong vụ Xuân 2014 tại Gia Lâm, Hà Nội

Dòng	Dày vỏ trung bình (μm)	Năng suất hạt (tạ/ha)	Vị đậm (điểm)	Độ dẻo (điểm)	Hương thơm (điểm)	Dòng	Dày vỏ trung bình (μm)	Năng suất hạt (tạ/ha)	Vị đậm (điểm)	Độ dẻo (điểm)	Hương thơm (điểm)
D2	55,6	15,6	2,7	1,7	1,6	D40	103,9	13,2	2,3	2,7	2,9
D3	76,1	9,3	2,5	2,8	4,1	D41	71,3	15,5	2,2	3,3	2,9
D4	77,1	11,2	1,7	2,2	2,6	D42	59,6	10,4	2,3	3,0	2,3
D5	64,3	16,5	2,7	2,8	3,1	D45	59,8	29,2	1,3	2,7	2,6
D13	63,4	10,1	1,3	4,3	2,8	D52	59,8	18,2	2,8	2,7	2,6
D14	63,4	11,5	2,5	2,8	2,2	D60	58,9	27,0	1,8	1,8	2,0
D15	57,5	20,4	1,2	2,7	2,9	D601	54,1	21,8	2,2	4,3	2,8
D16	57,3	25,2	2,7	2,3	1,6	D61	59,1	24,5	1,9	1,6	1,9
D161	62,5	12,4	1,7	2,8	2,1	D68	53,6	23,3	1,3	4,3	2,8
D18	54,3	27,8	1,2	4,8	3,1	D70	59,1	20,1	2,2	2,7	2,6
D19	59,9	17,1	2,2	1,2	0,4	D71	59,6	20,9	2,0	2,0	2,8
D20	74,1	19,1	2,5	1,2	1,4	D72	52,7	20,6	2,1	2,2	1,9
D21	75,9	11,8	2,5	2,0	2,8	D73	58,2	29,2	2,1	2,3	2,3
D22	59,6	25,2	1,8	1,5	2,4	D74	54,5	22,4	2,0	2,1	2,0
D23	59,5	16,6	2,0	3,8	2,4	D75	54,7	25,0	2,2	2,3	2,0
D24	85,8	12,5	1,2	1,2	1,6	D76	56,9	25,6	2,3	3,7	2,9
D25	64,0	21,4	1,2	2,3	2,1	D77	58,9	19,1	2,2	2,2	1,4
D26	54,4	14,5	2,0	1,7	1,8	D78	56,8	29,3	2,2	1,2	1,6
D27	54,3	28,3	1,2	2,5	2,1	D79	58,7	23,3	1,2	3,0	2,6
D28	58,7	15,6	2,1	2,3	2,3	D80	57,0	14,5	1,8	2,7	2,9
D29	47,2	19,2	1,7	1,7	2,1	D81	59,3	23,7	2,5	2,7	3,6
D30	45,7	19,2	2,3	2,8	2,4	D82	60,0	11,8	2,3	3,2	3,1
D31	54,6	17,0	1,7	1,2	1,6	D83	59,1	19,1	1,2	3,0	2,3
D32	50,9	18,3	1,3	1,2	1,4	D84	74,5	28,9	2,3	1,5	2,4
D33	55,7	10,6	1,3	2,3	1,6	D85	67,2	23,8	2,3	1,7	1,6
D34	60,0	16,9	2,2	2,5	2,3	D86	57,8	15,6	2,5	2,3	2,3
D35	74,3	13,3	2,0	2,2	2,9	D87	57,1	28,2	2,0	2,5	2,6
D36	59,0	10,8	2,7	2,2	2,4	D88	93,4	19,3	2,0	1,7	1,8
D38	59,3	15,5	1,3	3,2	3,4	D89	54,3	28,3	2,0	2,2	2,5
D39	69,2	18,8	1,2	3,8	1,4	D90	56,9	25,6	2,7	2,2	2,4
HQ6 (đ/c)	59,1	18,3	2,1	1,9	2,6	HQ6 (đ/c)	59,1	18,3	2,1	1,9	2,6
CV%	2,7	7,3				CV%	2,7	7,3			
LSD _{0,05}	3,9	2,5				LSD _{0,05}	3,9	2,5			

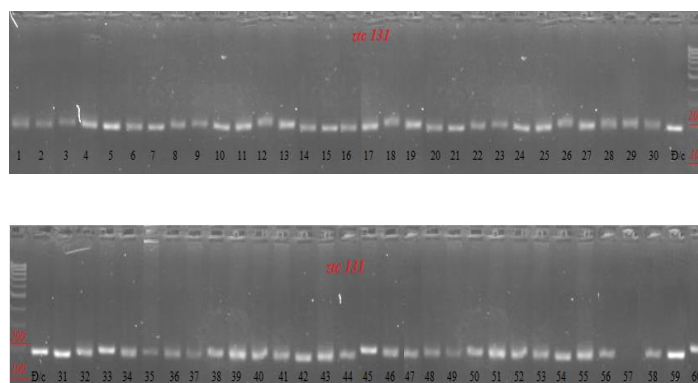
Bảng 3. Kết quả phân tích PCR với các chỉ thị phân tử nhận biết QTL liên quan đến độ mỏng ở các vùng của vỏ hạt trên 60 dòng tự phối ngô nếp

Mồi	Vùng quy định	Số band	Biểu hiện đa hình và kích thước trong phạm vi	Dòng không band
<i>umc 2189</i>	Vỏ mỏng trên ba vùng (phần trên mặt sau phôi UA, phần dưới mặt sau phôi LA và đầu hạt)	51	100-200 bp	D2,23,26,27,35,38,39,75, 77
<i>ztc131</i>		59		D87
<i>umc 2118</i>	Vỏ mỏng trên 5 vùng (phần trên mặt có phôi UG, phần dưới mặt có phôi LG, phần trên mặt sau phôi UA, phần dưới mặt sau phôi LA và đầu hạt)	59	100-200 bp	D76
<i>bmc 1325</i>		58		D33, 34
<i>bmc 1369</i>		60	100-200 bp	0
<i>mmc 0143</i>		47	0-200 bp	D3,4,15,16,19,20, 27, 28, 73, 75, 81, 83, 86
<i>dupsr 28</i>	Vỏ mỏng trên vùng UG	59	100-200 bp	D88
<i>umc 2038</i>		60	0-200 bp	0
<i>umc 1550</i>	Vỏ mỏng trên 2 vùng UG và LG	50	100-200 bp	D2, 25, 26, 27, 28, 32, 36, 78, 79, 84
<i>umc 1757</i>		51		D34, 40, 41, 68, 73, 80, 84, 87, 89

Ghi chú: Số thứ tự các giếng tương ứng với dòng trong bảng danh sách vật liệu; Giếng xuất hiện band tương ứng với dòng chứa QTL liên quan đến độ mỏng ở các vùng của vỏ hạt, giếng không xuất hiện band tương ứng dòng không QTL liên quan đến độ mỏng ở các vùng của vỏ hạt.

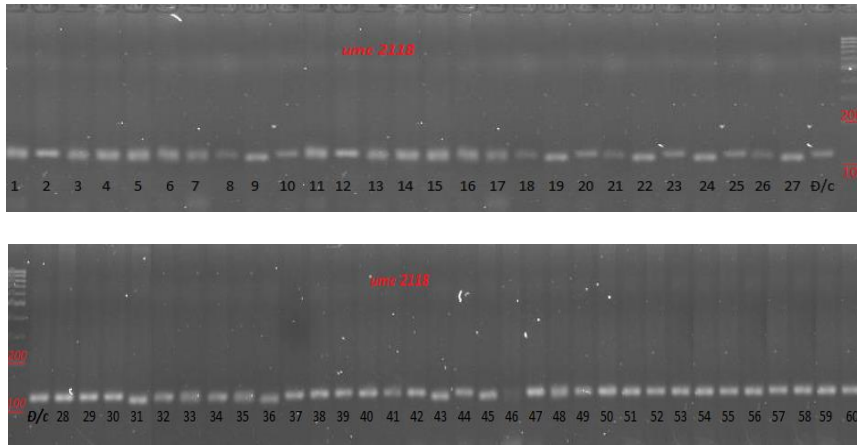


Hình 1. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *umc 2189* với 60 kiểu gen ngô nếp

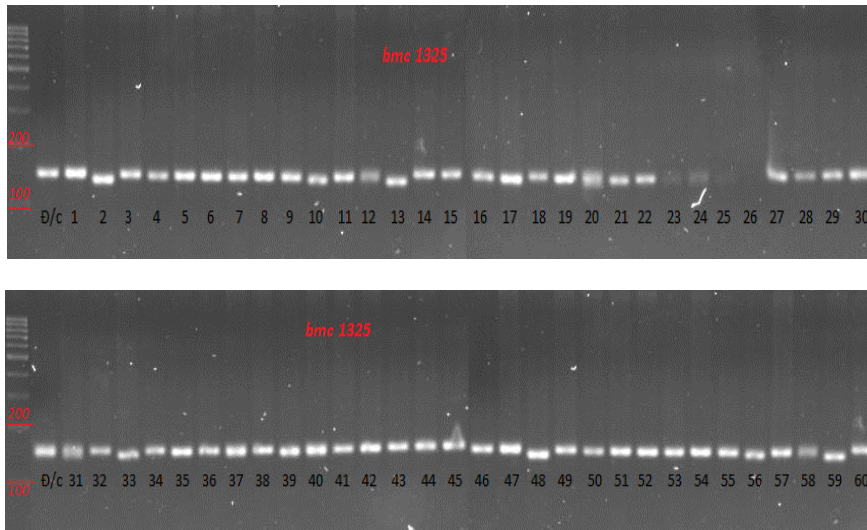


Hình 2. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *ztc 131* với 60 kiểu gen ngô nếp

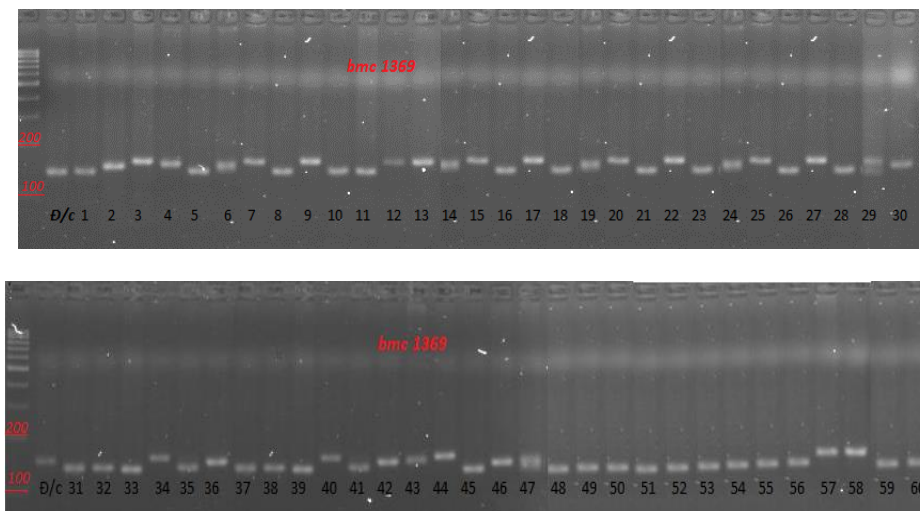
Chọn lọc và đánh giá khả năng kết hợp của dòng tự phối ngô nếp chất lượng vỏ hạt mỏng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử



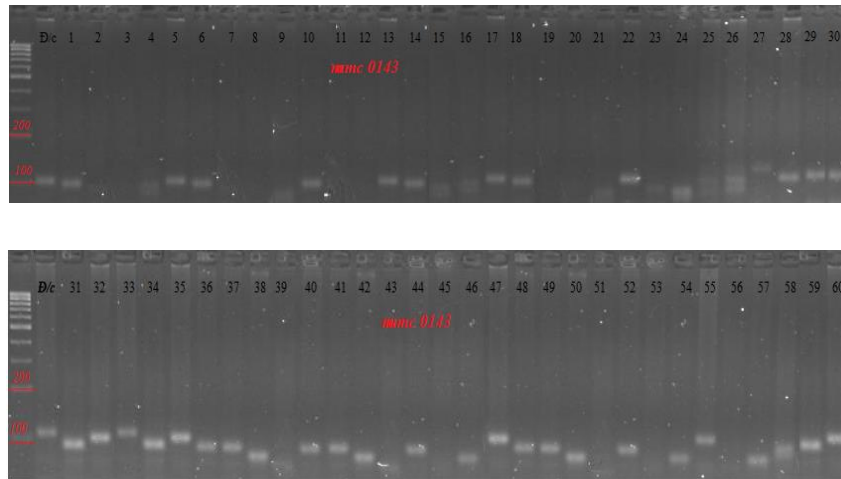
Hình 3. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *umc2118* với 60 kiểu gen ngô nếp



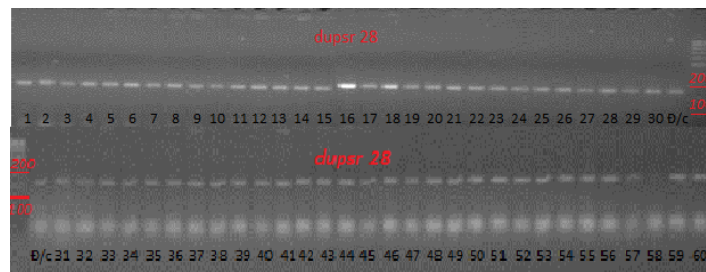
Hình 4. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *bmc1325* với 60 kiểu gen ngô nếp



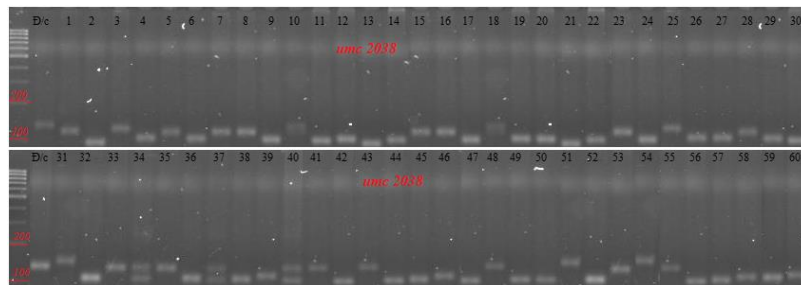
Hình 5. Sản phẩm PCR nhân bằng marker *bmc1369* với 60 kiểu gen ngô nếp



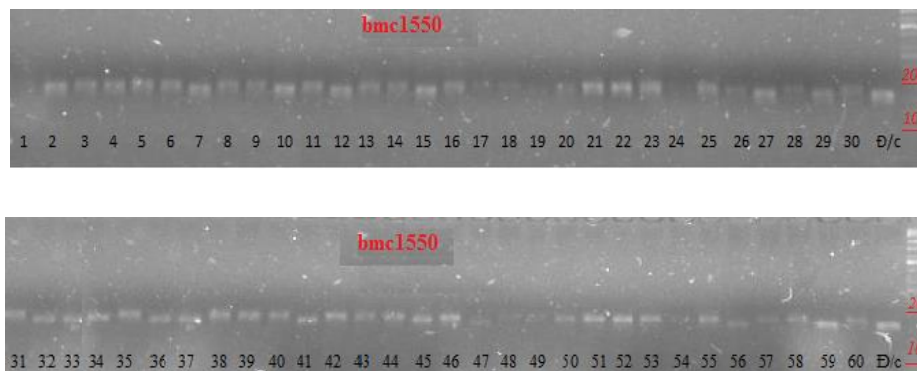
Hình 6. Sản phẩm PCR nhân bằng marker *mmc1043* với 60 kiểu gen ngô nếp



Hình 7. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *dupsr28* với 60 kiểu gen ngô nếp

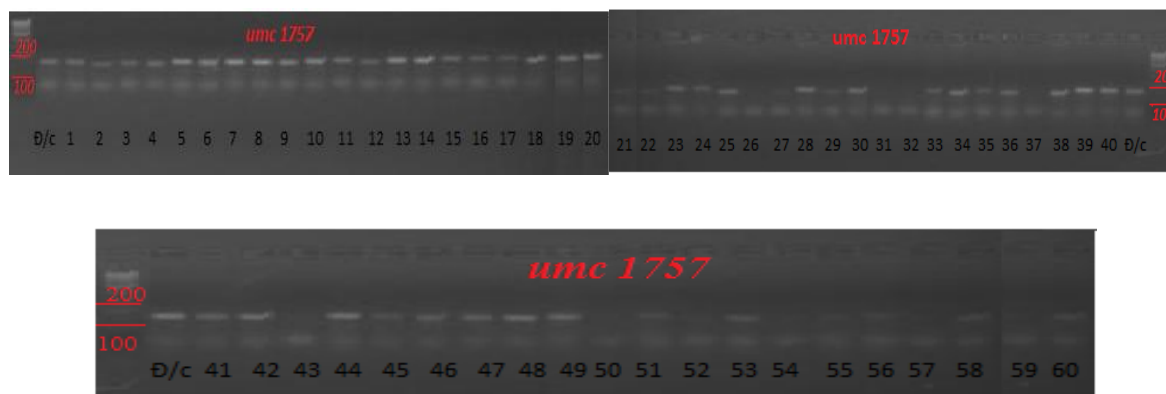


Hình 8. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *umc2038* với 60 kiểu gen ngô nếp



Hình 9. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *bmc1550* với 60 kiểu gen ngô nếp

Chọn lọc và đánh giá khả năng kết hợp của dòng tự phối ngô nếp chất lượng vỏ hạt mỏng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử



Hình 10. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *umc1757* với 60 kiểu gen ngô nếp

Bảng 4. Năng suất, chất lượng của 21 tổ hợp lai trong vụ Thu Đông 2014 tại Gia Lâm, Hà Nội

Ký hiệu	Dòng bố mẹ	Độ dày vỏ hạt trung bình (μm)	Năng suất bắp tươi (ta/ha)	Độ dẻo (điểm)	Hương thơm (điểm)	Vị đậm (điểm)
THL1	D29/D161	51,9	109,1	2,3	2,2	2,5
THL2	D29/D71	55,7	114,2	2,0	2,6	2,1
THL3	D29/D601	58,2	108,9	3,0	2,0	2,0
THL4	D29/D61	56,9	81,6	1,0	2,0	1,0
THL5	D29/D86	59,1	113,3	2,0	2,2	1,8
THL6	D29/D74	54,6	106,3	1,3	2,0	2,0
THL7	D161/D71	57,9	96,4	3,0	3,0	2,3
THL8	D161/D601	58,6	115,8	3,0	3,2	2,0
THL9	D161/D61	51,3	81,6	2,1	3,2	2,1
THL10	D161/D86	55,1	109,1	2,0	2,5	2,0
THL11	D161/D74	57,1	98,9	3,0	3,2	2,1
THL12	D71/D601	59,9	109,1	2,0	3,2	2,2
THL13	D71/D61	54,1	111,5	1,0	2,2	1,3
THL14	D71/D86	51,7	104,8	2,0	2,5	2,0
THL15	D71/D74	45,1	116,5	2,0	3,0	2,1
THL16	D601/D61	59,5	111,8	2,0	2,2	2,0
THL17	D601/D86	56,6	110,1	2,5	2,4	2,3
THL18	D601/D74	58,5	112,5	1,7	2,1	1,8
THL19	D61/D86	55,3	113,8	2,3	2,3	2,1
THL20	D61/D74	60,0	110,1	2,4	2,0	2,4
THL21	D86/D74	59,3	95,1	1,2	1,9	2,2
HN88 (đ/c)		56,3	108,2	1,5	1,9	2,1
CV%			5,4			
LSD _{0,05}			7,0			

Bảng 5. Bảng phân tích phương sai về tính trạng năng suất bắp tươi

Nguồn biến động	Tổng bình phương	Bậc tự do	Bình phương trung bình	Ftn
Toàn bộ	2073,47	41	50,572	
Giống	2070,32	20	103,576	328,374
Tổ hợp chung	566,18	6	94,363	598,676
Tổ hợp riêng	1504,14	14	107,439	681,637
Ngẫu nhiên	3,152	20	0,158	

Xác định mối quan hệ về khả năng kết hợp của các dòng tự phối ngô nếp (*Zea mays L.*) là một đặc trưng quan trọng ứng dụng trong chương trình chọn tạo giống ngô nếp (Shieh. *et al.*, 2004). Xác định khả năng kết hợp giúp cho khai thác và sử dụng các dòng trong chương trình tạo giống ưu thế lai (Mahto & Ganguli, 2003). Nhóm nghiên cứu chúng tôi tiến hành phân tích khả năng kết hợp của 7 dòng ngô nếp bằng dialen theo mô hình Griffing 4, kết quả được trình bày trong bảng 5.

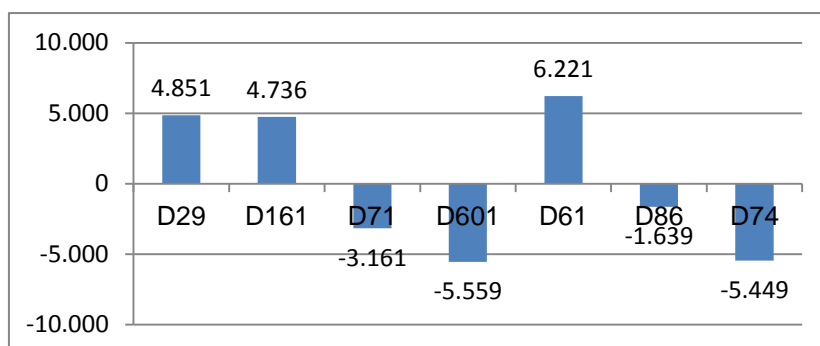
Kết quả phân tích cho thấy, phương sai giữa các tổ hợp lai có bình phương trung bình và Ftn lớn. Khả năng kết hợp chung có phương sai bình phương trung bình 94,363 và Ftn là 598,676, khả năng kết hợp riêng có bình phương trung bình là 107,439 và Ftn là 681,637. Sự sai khác này là có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%.

Khả năng kết hợp chung được xem như là chỉ thị để nhận biết hoạt động của gen cộng tính, khả năng kết hợp riêng nhận biết hoạt động của gen không cộng trong chương trình chọn giống ưu thế lai (Mahto *et al.*, 2003). Bảng 6 và đồ thị 1 cho thấy, có 3 dòng D29, D161, D61 có giá trị tổ hợp chung dương có ý nghĩa ở độ tin cậy 99%. Dòng D61 có khả năng kết hợp chung cao nhất (6,221) với độ biến động (38,679), tiếp đó là các dòng D29 (+4,851) với độ biến động (+3,401), dòng D161 (+4,736) với độ biến động (29,660) ở độ tin cậy 99% (LSD 0,01 = 0,714). Kết quả phân tích này phù hợp với nghiên cứu của Mahto *et al.*, 2003.

Phân tích giá trị khả năng kết hợp chung và khả năng kết hợp riêng nhằm mục đích nhận biết tiềm năng của các dòng trong sơ đồ lai. Trên cơ sở phân tích khả năng kết hợp riêng có

Bảng 6 Biến động của tổ hợp chung

D29	D161	D71	D601	D61	D86	D74
3,401	29,660	9,968	30,871	38,679	0,381	0,143



Đồ thị 1. Khả năng kết hợp chung của 7 dòng ngô nếp trong thí nghiệm tại Gia Lâm- Hà Nội

Chọn lọc và đánh giá khả năng kết hợp của dòng tự phối ngô nếp chất lượng vỏ hạt mỏng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử

Bảng 7. Giá trị khả năng kết hợp riêng của 7 dòng ngô nếp

	D29	D161	D71	D601	D61	D86	D74
D29	-	9,48	5,17	-2,59	6,13	-18,96	0,77
D161		-	-7,82	8,21	8,70	-7,82	-3,02
D71			-	-5,93	7,39	-5,92	7,12
D601				-	5,08	4,33	-0,44
D61					-	5,94	9,24
D86						-	-13,67
D74							-

thể phân nhóm, chọn lọc vật liệu di truyền làm bố mẹ của chương trình chọn giống ngô ưu thế lai (Sprague & Tatum, 1942.). Kết quả phân tích khả năng kết hợp riêng của 7 dòng tự phối ngô nếp tại Gia Lâm - Hà Nội được trình bày trong bảng 7.

Trong 7 dòng bố mẹ, khả năng kết hợp riêng thể hiện cao nhất là giữa dòng D29 với D161 (+9,48), sau đó lần lượt là giữa D61 với D74 (+9,24), D161 với D61 (+8,71), D161 với D601 (+8,21), D29 với D61 (+6,13), D29 với D71 (+5,17), D61 với D86 (+5,94), D601 với D61 (+5,08), thấp nhất là D71 với D61 (2,39). Sự sai

giả nhận thấy, dòng có khả năng kết hợp chung và riêng với nhiều dòng khác là D29, D161 và D61 trong đó D29 và D161 được đánh giá là phù hợp để làm mẹ, dòng D61 thích hợp cho làm bố phục vụ chương trình chọn giống ngô nếp ưu thế lai vỏ hạt mỏng.

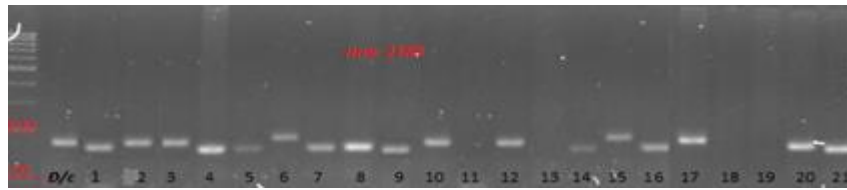
3.2.2. Nhận biết QTL liên quan đến độ mỏng vỏ ở con lai F1 dựa trên chỉ thị phân tử

Sử dụng 5 cặp môi đặc hiệu dò tìm QTL liên quan đến độ mỏng ở các vùng của vỏ hạt trên 21 tổ hợp lai, đối chứng là HN88 (Bảng 8).

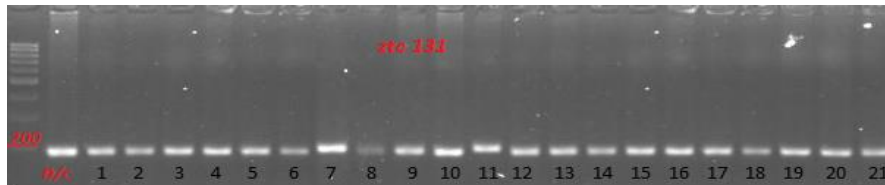
Bảng 8. Kết quả phân tích PCR với các marker nhận biết QTL liên quan đến độ mỏng ở các vùng của vỏ hạt trên 21 tổ hợp lai

Môi	Vùng quy định	Số band	Biểu hiện đa hình và kích thước trong phạm vi	Dòng không band
<i>umc 2189</i>	Vỏ mỏng trên ba vùng (phần trên mặt sau phôi UA, phần dưới mặt sau phôi LA và đầu hạt)	17	100 - 200 bp	THL11,13, 18,19
<i>ztc131</i>		21		0
<i>umc 2118</i>	Vỏ mỏng trên 5 vùng (phần trên mặt có phôi UG, phần dưới mặt có phôi LG, phần trên mặt sau phôi UA, phần dưới mặt sau phôi LAVà đầu hạt)	20	100 - 200 bp	THL 21
<i>bmc 1325</i>		19		THL14, 15
<i>bmc 1369</i>		17	100 - 200 bp	THL 7,11, 13, 17
<i>mmc 0143</i>		20	0 - 200 bp	THL 10
<i>dupsr 28</i>	Vỏ mỏng trên vùng UG	21	100 - 200 bp	0
<i>umc 2038</i>		21	0 - 200 bp	0
<i>umc 1550</i>	Vỏ mỏng trên 2 vùng UG và LG	18	100 - 200 bp	THL11,12,17
<i>umc 1757</i>		17		THL 10,11, 12,14

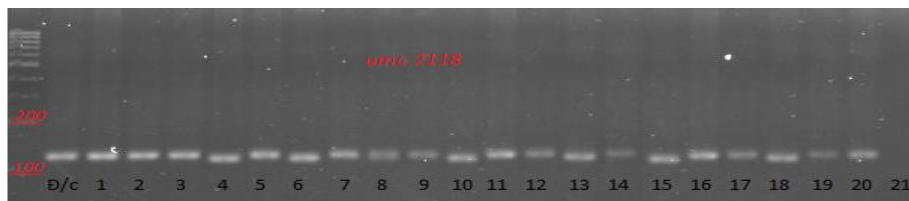
Ghi chú: Số thứ tự các giếng tương ứng với số thứ tự của tổ hợp lai; Giếng xuất hiện band tương ứng với tổ hợp chứa QTL liên quan đến độ mỏng ở các vùng của vỏ hạt, giếng không xuất hiện band tương ứng tổ hợp không QTL liên quan đến độ mỏng ở các vùng của vỏ hạt.



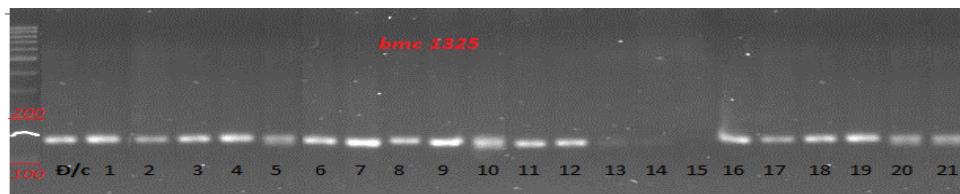
Hình 11. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *umc2189* với 21 tổ hợp lai



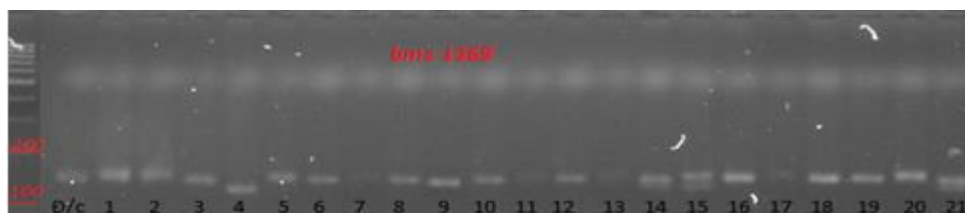
Hình 12. Sản phẩm PCR nhân bằng chỉ thị *ztc131* với 21 tổ hợp lai



Hình 13. Sản phẩm PCR nhân chỉ thị *umc2118* với 21 tổ hợp lai



Hình 14. Sản phẩm PCR nhân chỉ thị *bmc1325* với 21 tổ hợp lai

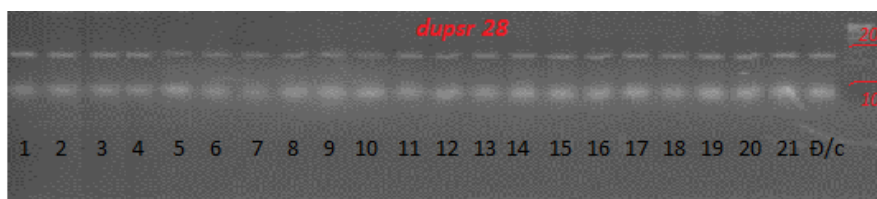


Hình 15. Sản phẩm PCR nhân chỉ thị *bmc1369* với 21 tổ hợp lai

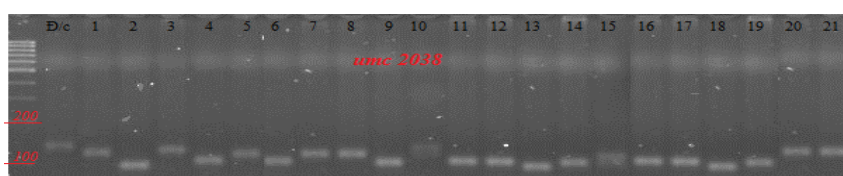


Hình 16. Sản phẩm PCR nhân chỉ thị *mmc0143* với 21 kiểu gen

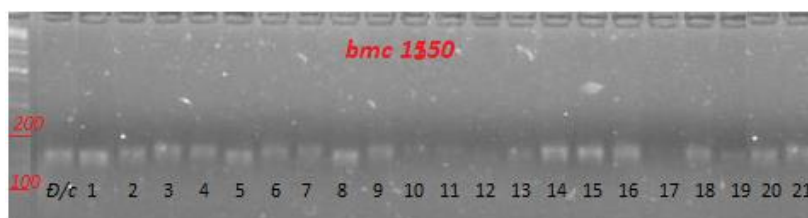
Chọn lọc và đánh giá khả năng kết hợp của dòng tự phối ngô nếp chất lượng vỏ hạt mỏng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử



Hình 17. Sản phẩm PCR nhân chỉ thị *dupsr28* với 21 tổ hợp lai



Hình 18. Sản phẩm PCR nhân chỉ thị *umc2038* với 21 tổ hợp lai



Hình 19. Sản phẩm PCR nhân chỉ thị *bmc1550* với 21 kiểu gen



Hình 20. Sản phẩm PCR nhân chỉ thị *umc1757* với 21 tổ hợp lai

Tương quan giữa 5 cặp chỉ thị phân tử, lựa chọn ra 10 tổ hợp lai chứa QTL liên quan đến độ mỏng vỏ ở tất cả các vùng của hạt là THL 1 (D29/D161), THL2 (D29/D71), THL3 (D29/D601), THL4 (D29/D61), THL5 (D29/D86), THL6 (D29/D74), THL8 (D161/D601), THL9 (D161/D61), THL16 (D601/D61), THL20 (D61/D74).

Đánh giá các dòng thuần bố mẹ về tính trạng vỏ hạt mỏng trước khi thử khả năng kết hợp trong quá trình chọn tạo giống ngô nếp ưu thế lai chất lượng là một kỹ thuật cần thiết và đúng hướng. Phù hợp với kết luận của các nhà nghiên cứu trước (Ito *et al.*, 1981, Mahomed *et*

al., 1993), các dòng, giống có di truyền tính trạng vỏ hạt mỏng và qua các thế hệ tự thụ phấn tạo dòng thuần vẫn giữ được tính trạng này.

4. KẾT LUẬN

Kết quả đánh giá dòng dựa trên kiểu hình độ dày vỏ hạt (35 - 60 μ m) và năng suất dòng đạt trên 15 tạ/ha đã thu được 38/60 dòng trong đó 16 dòng có nguồn gốc Việt Nam, 4 dòng có nguồn gốc Lào, 18 dòng có nguồn gốc Trung Quốc.

Sử dụng 5 cặp marker dò tìm QTL liên quan đến độ mỏng trên 5 vùng vỏ hạt cho kết quả tốt với độ tin cậy cao, xác định được 24/60

dòng mang QTL điều khiển vỏ hạt mỏng ở các vị trí khác nhau. Tương quan giữa đánh giá kiểu hình vỏ hạt mỏng và chỉ thị phân tử, năng suất dòng trên 1,5 tấn/ha, xác định được 21/24 dòng, trong đó 9 dòng có nguồn gốc Việt Nam, 1 dòng có nguồn gốc Lào, 11 dòng có nguồn gốc Trung Quốc. Chọn lọc được 7 dòng ưu tú phục vụ lai tạo tổ hợp lai: D29, 161, 71, 601, 61, 86, 74.

Đánh giá các tổ hợp lai dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử cho kết quả đáng tin cậy, chứng tỏ rằng con lai có thể giữ được tính di truyền về độ mỏng của vỏ hạt từ bố mẹ, ghi nhận 10/21 tổ hợp lai chứa QTL liên quan đến độ mỏng vỏ trên các vùng của vỏ hạt. Đánh giá khả năng kết hợp của 7 dòng ngô nếp, D61 được lựa chọn làm bố, D29, D161 được lựa chọn làm mẹ phục vụ công tác chọn tạo giống ngô nếp vỏ hạt mỏng mới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Azanza, F., Tadmor, Y., Klein, B. P., Rocheford, T. R., & Juvik, J. A. (1996). Quantitative trait loci influencing chemical and sensory characteristics of eating quality in sweet corn. *Genome*, 39(1): 40-50.
- Choe, E., & Rocheford, T. R. (2012). Genetic and QTL analysis of pericarp thickness and ear architecture traits of Korean waxy corn germplasm. *Euphytica*, 183(2): 243-260.
- Choe, E. (2010). Marker assisted selection and breeding for desirable thinner pericarp thickness and ear traits in fresh market waxy corn germplasm (Doctoral dissertation, University of Illinois at Urbana-Champaign).
- Doyle, J. J. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem bull*, 19: 11-15.
- Ferguson, Virgil, *et al.* "From maize hybridization; amylose; high gel strength." U.S. Patent No. 5,300,145. 5 Apr. 1994.
- Gomez, K. A., & Gomez, A. A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research*. John Wiley & Sons.
- Ito, G. M., & Brewbaker, J. L. (1981). Genetic advance through mass selection for tenderness in sweetcorn [Pericarp thickness]. *Journal-American Society for Horticultural Science (USA)*.
- Kang, H. J., Hwang, I. K., Kim, K. S., & Choi, H. C. (2006). Comparison of the physicochemical properties and ultrastructure of japonica and indica rice grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4833-483
- Mahomed, A. A. Ashman, R. B. Kirleis, A. W. (1993). Pericarp thickness and kernel physical characteristics related to microwave popping quality of popcorn. *Journal of Food Science*, 58: 342-346.
- Mahto, R. N., & Ganguli, D. K. (2003). Combining ability analysis in inter varietal crosses of maize (*Zea mays* L.). *Madras agricultural journal*, 90(1/3): 29-33.
- Sa, K. J., J. Y. Park, K. J. Park and J. K. Lee (2010) Analysis of genetic diversity and relationships among waxy maize inbred lines in Korea using SSR markers. *Genes & Genomics*, 32: 375-384.
- Simonne, E., Boozer, R., & Simonne, A. (1999). Yield, ear characteristics, and consumer acceptance of selected white sweet corn varieties in the southeastern United States. *HortTechnology*, 9(2): 289-293.
- Singh, N., Kaur, L., Ezekiel, R., & Singh Guraya, H. (2005). Microstructural, cooking and textural characteristics of potato (*Solanum tuberosum* L) tubers in relation to physicochemical and functional properties of their flours. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(8): 1275-1284.
- Sprague, G. F., & Tatum, L. A. (1942). General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *Agronomy Journal*, 34(10): 923-932.
- Wolf, M. J., Cull, I. M., Helm, J. L., & Zuber, M. S. (1969). Measuring thickness of excised mature corn pericarp. *Agronomy Journal*, 61(5): 777-779.