

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN NGUỒN GEN NGÔ THỰC PHẨM DỰA TRÊN ĐẶC ĐIỂM NÔNG HỌC VÀ CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR

Nguyễn Trung Đức^{1,*}, Phạm Quang Tuấn¹,
Nguyễn Thị Nguyệt Anh¹, Nguyễn Quốc Trung², Vũ Văn Liết³

TÓM TẮT

Nghiên cứu này tiến hành nhằm tìm hiểu thông tin đa dạng di truyền của 15 nguồn gen ngô thực phẩm (5 mẫu ngô ngọt, 10 mẫu ngô nếp) dựa trên các đặc điểm nông học và chỉ thị phân tử SSR. Thí nghiệm đồng ruộng được bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh với 3 lần nhắc lại trong vụ xuân 2021 tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Phân tích thành phần chính cho thấy tổng hai thành phần chính đầu tiên đóng góp 60,0% tổng biến đổi kiểu hình biểu thị mức độ quan sát sự thay đổi về kiểu hình cao giữa các nguồn gen ngô nghiên cứu. Phân tích cụm dựa trên thành phần chính cho thấy các vật liệu ngô được phân thành năm nhóm nhỏ, khác biệt chính ở thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, năng suất cả thể và đặc biệt là tổng lượng chất rắn hoàn tan. Chỉ số đa hình di truyền (PIC) dao động từ 0,04 - 0,30 với 6/17 chỉ thị SSR có hệ số thông tin đa hình cao gồm phi308707, phi328175, phi108411, phi299852, phi223376 và phi032. Dựa trên khoảng cách Euclidean, nguồn gen ngô được phân thành 4 nhóm nhỏ ở hệ số tương đồng 40,5. Dựa trên chỉ thị SSR ở hệ số tương đồng 0,23 đã chia nguồn gen ngô thành 10 nhóm nhỏ. Kết hợp cả 3 phương pháp phân tích đa dạng di truyền cho thấy có sự tương đồng cao về sự đa dạng dựa trên kiểu hình và kiểu gen. Thông tin đa dạng di truyền và vật liệu ngô từ nghiên cứu này là cơ sở quan trọng phục vụ chiến lược cải tiến và phát triển các giống ngô thực phẩm chất lượng cao tại Việt Nam.

Từ khóa: Ngô ngọt, ngô nếp, đa dạng di truyền, kiểu hình, chỉ thị SSR.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cải tiến chất lượng, phát triển các giống ngô thực phẩm mới từ phép lai giữa ngô ngọt và ngô nếp đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới nghiên cứu đề xuất [1, 2]. Ngô ngọt (*Zea mays* L. var. *rugosa* Bonaf.) có hàm lượng đường cao trong hạt do gen lặn phổ biến như *shrunken2* (*sh2*), *sugary1* (*su1*), ức chế quá trình chuyển hóa đường sang tinh bột [3], trong khi ngô nếp (*Zea mays* L. var. *ceratina* Kulesh) có kết cấu dính khi nấu chín với hàm lượng amylopectin cao do gen lặn *waxy* (*wx*) biểu hiện trong nội nhũ [4]. Ngô ngọt có nguồn gốc ôn đới với phổ di truyền hẹp [5], ngô

nếp có nguồn gốc nhiệt đới với sự đa dạng cao [6, 4]. Kết hợp gen lặn *sh2* và *wx* tạo dòng thuần mang gen lặn kép *sh2sh2wxwx* là cơ sở để lai tạo giống ngô nếp ngọt và cải tiến chất lượng ngô nếp [2]. Ngô ngọt, ngô nếp là các dạng ngô thực phẩm phổ biến trên toàn thế giới và là cây trồng chính tại Việt Nam, được tập trung nghiên cứu mạnh bởi nhiều nhóm nghiên cứu nhằm làm chủ công nghệ chọn tạo giống và tự chủ sản xuất hạt giống ngô thực phẩm cho Việt Nam [7, 8, 9, 10]. Sự đa dạng, phong phú của nguồn dòng ngô nếp, ngô ngọt có ảnh hưởng lớn tới sự thành công của các nghiên cứu cải tiến chất lượng và phát triển giống ngô thực phẩm mới. Tìm hiểu thông tin đa dạng di truyền là một bước khởi đầu quan trọng trong tất cả các chương trình chọn giống.

Đánh giá kiểu hình vẫn rất hiệu quả trong công tác công tác nghiên cứu chọn tạo giống ngô. Tuy nhiên, kiểu hình chịu ảnh hưởng lớn của điều kiện môi trường cùng với những sai sót chủ quan

¹ Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³ Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Email: ntduc@vnua.edu.vn

trong quá trình thu thập và lưu trữ dữ liệu có thể ảnh hưởng tới việc phân nhóm và chọn lọc nguồn gen. Chỉ thị phân tử SSR với nhiều ưu điểm (đồng trội, ổn định, hiệu quả cao, chi phí thấp) đã được nhiều nghiên cứu sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền và ứng dụng trong chọn tạo giống ngô quốc tế [11, 12, 13] và trong nước [14, 7, 8]. Khoảng cách di truyền dựa trên chỉ thị SSR giữa ngô nếp và ngô ngọt còn được Dermail và cs (2020) [15] dùng để dự đoán ưu thế lai. Mặc dù chỉ thị phân tử có thể đóng một vai trò quan trọng trong việc xác định giống, nhưng các chỉ thị phân tử hiện tại vẫn không thể thay thế hoàn toàn các chỉ thị hình thái, và dữ liệu kiểu hình trong các nghiên cứu di truyền và xác định gen chức năng [16, 17]. Các chỉ thị hình thái hiện nay vẫn được sử dụng rộng rãi để đánh giá tính khác biệt của các giống khảo nghiệm khi thực hiện khảo nghiệm DUS trên toàn thế giới.

Thu thập các nguồn vật liệu ngô ngọt, ngô nếp trong nước kết hợp nhập nội, nghiên cứu này tiến hành đa dạng di truyền nguồn gen ngô thực phẩm (ngô ngọt, ngô nếp) dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử SSR tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin hữu ích trong việc xây dựng chiến lược phát triển dòng, cải tiến quần thể, dự đoán ưu thế lai, mở rộng nền di truyền phục vụ chương trình chọn giống ngô thực phẩm chất lượng cao tại Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu bao gồm 10 nguồn gen ngô nếp và 5 nguồn gen ngô ngọt (Bảng 1, hình 1). Các vật liệu sử dụng trong nghiên cứu này đã được tuyển chọn sơ bộ dựa trên thông tin kiểu hình, kiểu gen và khả năng thích ứng từ quần thể ngô thực phẩm tại Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Bảng 1. Mười lăm nguồn gen ngô thực phẩm nghiên cứu

Ký hiệu	Tên	Kiểu gen	Mã số ngân hàng gen	Nhóm	Dạng hạt / Màu sắc hạt	Nguồn gốc
H1	Nếp tím Avunpa	wxwx	23703	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H2	Nếp tím Hồng Đắc Lắc	wxwx	23704	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H3	Nếp tím Không Năng	wxwx	23706	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H4	Nếp tím Xính Phình 1	wxwx	23707	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H5	Nếp nâu Piềng Tá	wxwx	23709	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H6	Nếp tím Đồng Xuân	wxwx	23710	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H7	Nếp nâu Lũng Hồ 1	wxwx	23712	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H8	Nếp tím Mai Châu	wxwx	24132	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H9	Nếp tím Bản Báng	wxwx	24170	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H10	Nếp tím Ít Ta Bót	wxwx	24232	OPV	nếp, tím	Việt Nam
H11	TSB3	sh2sh2	23931	OPV	đường, vàng	Việt Nam
H12	Super sweet Thailand	sh2sh2	23934	Giống lai	đường, vàng	Thái Lan
H13	SW1011	sh2sh2	-	Giống lai	đường, vàng	Thái Lan
H14	ADI-T2	sh2sh2	-	Giống lai	đường, vàng	Trung Quốc
H15	ADI-01836	sh2sh2	-	Giống lai	đường, vàng	Trung Quốc

Ghi chú: H1-H12 có mã số ngân hàng gen lưu tại Trung tâm Tài nguyên Thực vật. OPV: giống tự chọn



Hình 1. Dạng hạt của các nguồn gen ngô thực phẩm nghiên cứu

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm đồng ruộng được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ với 3 lần nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm 14 m², trồng bầu theo mật độ hàng cách hàng 60 cm, cây cách cây 25 cm. Bón phân, chăm sóc, phòng trừ sâu, bệnh hại theo QCVN 01-56: 2011/BNNT. Theo dõi các chỉ tiêu nông học gồm: thời gian tung phấn (TP, ngày), thời gian phun râu (PR, ngày), thời gian thu bắp tươi (TBT, ngày), thời gian sinh trưởng (TGST, ngày), chiều cao cây (CCC, cm), chiều cao đóng bắp (CDB, cm), chiều dài cò (CDC, cm), số nhánh cò cấp 1 (SNCC1, nhánh/cò), góc lá (GOCLA, °), chiều dài bắp (ChDB, cm), đường kính bắp (DKB, cm), số hàng hạt/bắp (HHB), số hạt/hàng (HH), khối lượng 100 hạt (P100, gram) và năng suất cả thể (NSCT, g/cây). Tổng lượng chất rắn hoàn tan TSS (BRIX, °Brix) đo bằng khúc xạ kế đo độ ngọt điện tử ATAGO PAL-1 (Model 3810, Atago co., Ltd, Nhật Bản). Độ dày vỏ hạt trung bình (VOHAT, µm) được đo bằng vi trắc kế tại mặt trước hạt (mặt có phôi), mặt sau hạt (mặt không có phôi) và đỉnh hạt theo phương pháp cải tiến bởi So [18]. Hàm lượng anthocyanin tổng số (mg/100 g chất khô) được phân tích bằng phương pháp pH vi sai theo Giusti & Wrolstad [19].

Phân tích đa dạng và phân nhóm di truyền sử dụng chỉ thị SSR với 17 cặp mỗi trái đều trên 12

nhằm sắc thể (Bảng 2). Mẫu lá non của các nguồn gen ngô được thu thập ở giai đoạn 3-5 lá thật, tách chiết ADN theo phương pháp của Doyle [20]. Sản phẩm PCR và thang chuẩn sau khi biến tính và sốc nhiệt trong đá lạnh được đưa vào chạy điện di trên gel polyacrylamide 4,5% và sau đó nhuộm bạc để biểu hiện sản phẩm điện di.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu kiểu hình được tổng hợp, tính giá trị trung bình bằng phần mềm Microsoft Excel. Phân tích bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) trên phần mềm Statistix 10. Phân tích thành phần chính bằng gói "factoextra" trên phần mềm R 4.1.2. Giá trị PIC (Polymorphism Information Content) được tính theo công thức: $PIC = 1 - \sum f_i^2$. Trong đó f_i là tần số của allele thứ i ; PIC là đơn vị đo lường đa dạng alen trên một locus hay tần số liên hệ của các alen trong quần thể nghiên cứu. Phân nhóm đa dạng di truyền bằng 3 phương pháp gồm: (i) phân tích cụm dựa trên thành phần chính (HCPC) bằng gói "FactoMineR", "factoextra" trên phần mềm R 4.1.2; (ii) phân cụm dựa trên khoảng cách Euclidean bằng phương pháp UPGMA; và (iii) phân nhóm đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị SSR được xây dựng thông qua hệ số tương đồng Dice bằng phương pháp UPGMA trên phần mềm NTSYS-pc 2.10.

Bảng 2. Danh sách 17 chỉ thị SSR dùng trong nghiên cứu

TT	Tên mỗi	Vị trí trên NST	Trình tự	Kiểu lặp	Nhiệt độ gắn mỗi
1	<i>phi308707</i>	1,10	F-GCAACAAGATCCAGCCGAT R-GTCGCCCTCATATGACCTTC	AGC	42°C
2	<i>phi083</i>	2,04	F-CAAACATCAGCCAGAGACAAGGAC	AGCT	52°C

TT	Tên mỗi	Vị trí trên NST	Trình tự	Kiểu lặp	Nhiệt độ gắn mỗi
			R-ATTCATCGACGCGTCACAGTCTACT		
3	<i>phi101049</i>	2,09	F-CCGGGAACCTGTTCATCG R-CCACGTCCATGATCACACC	AGAT	50°C
4	<i>phi029</i>	3,04	F-TTGTCTTTCTTCCTCCACAAGCAGCGAA R-ATTTCCAGTTGCCACCGACGAAGAAGTT	AG/ AGCG	50°C
5	<i>phi053</i>	3,05	F-CTGCCTCTCAGATTGAGAGATTGAC R-AACCCAACTACTCCGGCAG	ATAC	50°C
6	<i>phi102228</i>	3,04 - 3,05	F-ATTCCGACGCAATCAACA R-TTCATCTCCTCCAGGAGCCTT	AAGC	42°C
7	<i>phi072</i>	4,00	F-ACCGTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT R-GACAGCGCGCAAATGGATTGAACT	AAAC	50°C
8	<i>phi079</i>	4,05	F-TGGTGCTCGTTGCCAAATCTACGA R-GCAGTGGTGGTTTTCGAACAGACAA	AGATG	50°C
9	<i>phi093</i>	4,08	F-AGTGCCTCAGCTTCATCGCCTACAAG R-AGGCCATGCATGCTTGCAACAATGGATACA	AGCT	50°C
10	<i>phi109188</i>	5,00	F-AAGCTCAGAAGCCGGAGC R-GGTCATCAAGCTCTCTGATCG	AAAG	50°C
11	<i>phi423796</i>	6,01	F-CACTACTCGATCTGAACCACCA R-CGCTCTGTGAATTTGCTAGCTC	AGATG	46°C
12	<i>phi299852</i>	6,08	F-GATGTGGGTGCTACGAGCC R-AGATCTCGGAGCTCGGCTA	AGC	52°C
13	<i>phi328175</i>	7,04	F-GGGAAGTGCTCCTTGACG R-CGGTAGGTGAACGCGGTA	AGG	42°C
14	<i>phi223376</i>	8,03	F-CCGGCAGTCGATTACTCC R-CGAGACCAAGAGAACCCTCA	CCG	51°C
15	<i>phi032</i>	9,04	F-CTCCAGCAAGTGATGCGTGAC R-GACACCCGGATCAATGATGGAAC	AAAG	50°C
16	<i>phi108411</i>	9,06	F-CGTCCCTTGGATTTCGAC R-CGTACGGGACCTGTCAACAA	AGCT	50°C
17	<i>phi96342</i>	10,02	F-GTAATCCCACGTCCTATCAGCC R-TCCAACCTGAACGAACCTCCTC	ATCC	50°C

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm nông học của các nguồn gen ngô trong vụ xuân năm 2021 tại Hà Nội

Kết quả nghiên cứu cho thấy các nguồn gen ngô có TGST từ 93 đến 110 ngày trong vụ xuân, phần lớn thuộc nhóm chín sớm, trừ các nguồn gen nếp H3, H9, H10, H8, H2 thuộc nhóm chín trung bình (Bảng 3). Nhóm ngô ngọt có TGST ngắn hơn khoảng 8 ngày so với nhóm ngô nếp. Đặc điểm hình thái của các nguồn gen ngô có ảnh hưởng lớn đến năng suất cũng như khả năng chống chịu với điều kiện môi trường, giúp dự đoán tương đối

chính xác đặc điểm hình thái của con lai và đánh giá độ thuần di truyền. Kết quả cho thấy có sự khác biệt lớn về chiều cao cây cuối cùng của các nguồn gen ngô, dao động từ 167,9 cm (nguồn gen H6) đến 235,6 cm (nguồn gen H9) (Bảng 3). Các nguồn gen ngô nghiên cứu có chiều cao đóng bắp dao động từ 61,7 - 99,1 cm. Nhóm nguồn gen ngô nếp và ngô ngọt có chiều cao đóng bắp trung bình tương đương nhau với 79,4 cm và 78,5 cm, tương ứng. Tỷ lệ chiều cao đóng bắp/chiều cao cây dao động từ 34,4% (nguồn gen H4) đến 47,6% (nguồn gen H6). Không có sự sai khác lớn về tỷ lệ chiều cao đóng bắp/chiều cao cây trung bình giữa các

nguồn gen ngô nếp và nguồn gen ngô ngọt. Tỷ lệ chiều cao đóng bắp trên cao cây đạt giá trị khoảng 40 - 50% được cho là phù hợp, giúp cho cây ngô có khả năng nhận phần tối ưu, khả năng chống đổ tốt

nhất và thu hoạch cơ giới thuận lợi. Như vậy có 6 nguồn gen ngô (H1, H5, H6, H9, H12, H15) có tỷ lệ chiều cao đóng bắp/chiều cao cây nằm trong khoảng này.

Bảng 3. Đặc điểm nông học của các nguồn gen ngô thực phẩm trong vụ xuân năm 2021 tại Hà Nội

Nguồn gen	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Chiều cao đóng bắp (cm)	CĐB/CCC (%)	Chiều dài cờ (cm)	Số nhánh cờ cấp 1	Góc lá (°)	Chiều dài bắp (cm)	Đường kính bắp (cm)	Độ che kín bắp (điểm 1-5)
H1	100	223,8	95,1	42,5	26,2	7,0	62,0	15,2	3,8	1
H2	110	192,1	73,3	38,2	26,9	8,3	58,0	9,0	3,2	1
H3	105	219,6	76,9	35,0	27,6	9,7	48,5	13,8	3,7	1
H4	103	185,2	63,7	34,4	28,4	7,0	56,0	10,7	3,7	1
H5	101	194,4	83,3	42,8	26,5	6,3	59,8	14,1	4,1	1
H6	103	167,9	80,0	47,6	25,9	17,8	60,2	11,8	3,4	1
H7	101	189,2	68,3	36,1	27,0	7,5	46,8	11,7	3,7	1
H8	106	207,4	81,6	39,3	33,0	5,7	54,6	16,5	4,0	1
H9	106	235,6	99,1	42,1	34,7	11,7	58,5	8,1	3,3	1
H10	106	189,0	72,7	38,5	30,8	7,5	46,5	13,2	4,1	1
<i>Trung bình ngô nếp</i>	<i>104,1</i>	<i>200,4</i>	<i>79,4</i>	<i>39,7</i>	<i>28,7</i>	<i>8,9</i>	<i>55,1</i>	<i>12,4</i>	<i>3,7</i>	<i>1,0</i>
H11	93	169,0	61,7	36,5	30,1	7,8	73,5	15,5	3,8	1
H12	97	191,7	82,0	42,8	39,5	12,5	53,2	21,6	4,3	1
H13	95	186,2	70,0	37,6	36,6	9,9	58,5	18,5	4,8	1
H14	100	228,6	86,0	37,6	45,2	10,2	62,7	22,0	4,6	1
H15	95	200,5	92,7	46,2	40,8	14,1	57,2	19,5	4,5	1
<i>Trung bình ngô ngọt</i>	<i>96,0</i>	<i>195,2</i>	<i>78,5</i>	<i>40,1</i>	<i>38,4</i>	<i>10,9</i>	<i>61,0</i>	<i>19,4</i>	<i>4,4</i>	<i>1,0</i>
<i>LSD_{0,05}</i>	<i>2,1</i>	<i>8,9</i>	<i>7,5</i>	-	<i>3,4</i>	<i>2,8</i>	<i>4,5</i>	<i>1,1</i>	<i>0,4</i>	-
<i>CV%</i>	<i>6,5</i>	<i>12,4</i>	<i>11,0</i>	-	<i>8,9</i>	<i>15,9</i>	<i>5,2</i>	<i>4,4</i>	<i>3,2</i>	-

Chiều dài cờ của các nguồn gen ngô dao động từ 25,9 cm (H6) đến 45,2 cm (H14). Số nhánh cờ cấp 1 có sự dao động lớn từ 5,7 - 17,8 nhánh. Các nguồn gen ngô ngọt nhìn chung có cờ to và nhiều nhánh cờ cấp 1 hơn các nguồn gen ngô nếp. Góc lá của các nguồn gen ngô thí nghiệm nằm trong khoảng từ 46,5° - 73,5°. Trung bình các nguồn gen ngô nếp (55,1°) có góc lá hẹp hơn các nguồn gen ngô ngọt (61,0°). Chiều dài bắp, đường kính bắp là các tính trạng liên quan đến năng suất ngô, nó phụ thuộc vào yếu tố di truyền của từng kiểu gen và cũng chịu tác động từ môi trường. Chiều dài bắp của các nguồn gen ngô dao động từ 8,1 cm (H9) đến 22,0 cm (H14). Đường kính bắp của các nguồn

gen ngô nằm trong khoảng từ 3,2 - 4,8 cm. Trong đó, nguồn gen ngô ngọt có đường kính bắp trung bình cao hơn nguồn gen ngô nếp. Các nguồn gen ngô thí nghiệm đều có độ che kín bắp ở điểm 1 rất kín, lá bị kín đầu bắp và vượt khỏi bắp. Như vậy, nguồn gen ngô nếp có đặc điểm nông học khác biệt khá lớn so với nguồn gen ngô ngọt, thể hiện ở 4 tính trạng chính bao gồm TGST, CDC, ChDB và DKB.

3.2. Năng suất và chất lượng của các nguồn gen ngô trong vụ xuân năm 2021 tại Hà Nội

Kết quả cho thấy số hàng hạt/bắp dao động từ 12,0 - 16,0 hàng hạt bắp. Các nguồn gen có số hàng hạt cao nhất gồm H7 và H15 (16,0 hàng

hạt/bấp) (Bảng 4). Trung bình số hàng hạt/bấp của các nguồn gen ngô nếp (13,2 hàng hạt/bấp) thấp hơn các nguồn gen ngô ngọt (14,0 hàng hạt/bấp). Số hạt/hàng có khoảng dao động lớn, từ 10,0 - 41,0 hạt/hàng. Số hạt/hàng trung bình của các nguồn gen ngô ngọt (34,2 hạt/hàng) nhiều hơn khoảng 14 hạt/hàng so với các nguồn gen ngô nếp (20,1 hạt/hàng). Khối lượng 100 hạt của các nguồn gen dao động từ 11,8 - 22,8 g. Trong đó, các nguồn gen ngô nếp (18,6 g) trung bình có khối lượng 100 hạt cao hơn các nguồn gen ngô ngọt (12,7 g). Các nguồn gen ngô trong thí nghiệm có NSCT nằm trong khoảng 15,5 - 50,4 g/cây (Bảng 4). Nguồn gen ngô nếp (36,0 g/cây) có NSCT trung bình không có sự khác biệt lớn với các nguồn gen ngô ngọt (37,0 g/cây). TSS của các nguồn gen ngô thí nghiệm dao động từ 9,3 - 15,3. Trong đó, các nguồn gen ngô nếp (11,1 °Brix) có TSS trung bình thấp hơn các nguồn gen ngô ngọt (14,1 °Brix). Tính trạng độ dày vỏ hạt là chỉ tiêu quan trọng, ảnh hưởng tới phẩm chất ăn tươi trong chương trình chọn tạo giống ngô thực phẩm chất

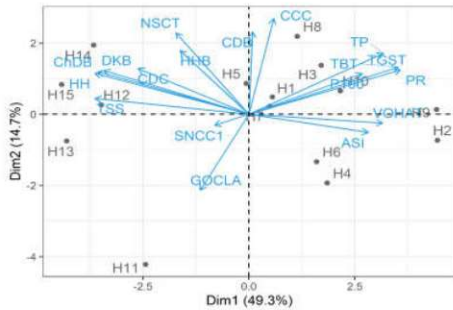
lượng cao, giàu dinh dưỡng [10]. Độ dày vỏ hạt trung bình của các nguồn gen ngô thí nghiệm dao động từ 55,1 - 108,7 μm . Trong đó các nguồn gen ngô nếp 82,0 μm có độ dày vỏ hạt trung bình dày hơn các nguồn gen ngô ngọt (61,2 μm). Choe (2010)[21] nghiên cứu đã đề xuất độ dày vỏ hạt ngô nếp thích hợp cho tiêu dùng ăn tươi từ 35 - 60 μm . Như vậy, các nguồn gen H12, H13 và H15 phù hợp để sử dụng trong các chương trình phát triển ngô thực phẩm ăn tươi. Hàm lượng anthocyanin tập trung ở các nguồn gen ngô nếp dao động từ 27,5 - 199,8 mg/100 g. Trong đó H4 có hàm lượng anthocyanin tổng số cao nhất (199,8 mg/100 g), thấp nhất là nguồn gen H7 (27,5 mg/100 g). Năng suất là tính trạng quan trọng khi đánh giá các nguồn gen mới và đặc biệt quan trọng trong việc cải tiến cây trồng và thuần hóa tạo giống cây trồng mới. Tuy nhiên đối với ngô ngọt, dạng hạt nhăn nheo thì năng suất cá thể thường tỉ lệ nghịch với chất lượng. Do vậy, khi chọn lọc nguồn gen ngô ngọt ở những đời đầu cần đánh đổi giữa năng suất hạt với chất lượng để đảm bảo mục tiêu.

Bảng 4. Năng suất, chất lượng của các nguồn gen ngô trong vụ xuân năm 2021 tại Hà Nội

Nguồn gen	Số hàng hạt/bấp	Số hạt/hàng	Khối lượng 100 hạt (g)	Năng suất cá thể (g/cây)	TSS (°Brix)	Dày vỏ hạt trung bình (μm)	Hàm lượng anthocyanin tổng số (mg/100 g)
H1	12,0	24,0	20,7	44,7	11,9	87,4	122,6
H2	14,0	13,0	17,2	15,5	10,7	74,7	113,2
H3	14,0	23,4	16,9	41,5	10,4	75,9	130,2
H4	12,0	19,1	13,9	23,9	9,8	77,1	199,8
H5	14,0	22,3	22,8	50,4	12,7	68,4	54,2
H6	12,0	21,0	18,9	35,7	10,6	80,6	150,0
H7	16,0	21,1	18,0	45,6	12,2	74,0	27,5
H8	14,0	25,0	19,2	48,9	11,2	76,3	36,4
H9	12,0	10,0	19,8	17,8	9,3	108,7	144,2
H10	12,0	21,9	18,4	36,3	12,0	97,0	156,8
<i>Trung bình ngô nếp</i>	<i>13,2</i>	<i>20,1</i>	<i>18,6</i>	<i>36,0</i>	<i>11,1</i>	<i>82,0</i>	<i>113,5</i>
H11	12,0	23,0	13,5	27,9	13,2	75,5	0,0
H12	14,0	34,0	12,6	35,7	14,1	57,7	0,0
H13	14,0	37,0	11,8	37,8	14,4	55,1	0,0

H14	14,0	41,0	13,1	42,9	15,0	62,0	0,0
H15	16,0	36,0	12,7	40,9	14,0	55,6	0,0
<i>Trung bình ngô ngọt</i>	<i>14,0</i>	<i>34,2</i>	<i>12,7</i>	<i>37,0</i>	<i>14,1</i>	<i>61,2</i>	<i>0,0</i>
<i>LSD_{0,05}</i>	<i>1,8</i>	<i>3,4</i>	<i>1,2</i>	<i>3,6</i>	<i>1,1</i>	<i>5,2</i>	<i>18,1</i>
<i>CV%</i>	<i>4,5</i>	<i>5,2</i>	<i>3,1</i>	<i>6,9</i>	<i>3,5</i>	<i>6,4</i>	<i>4,8</i>

3.3. Phân tích thành phần chính



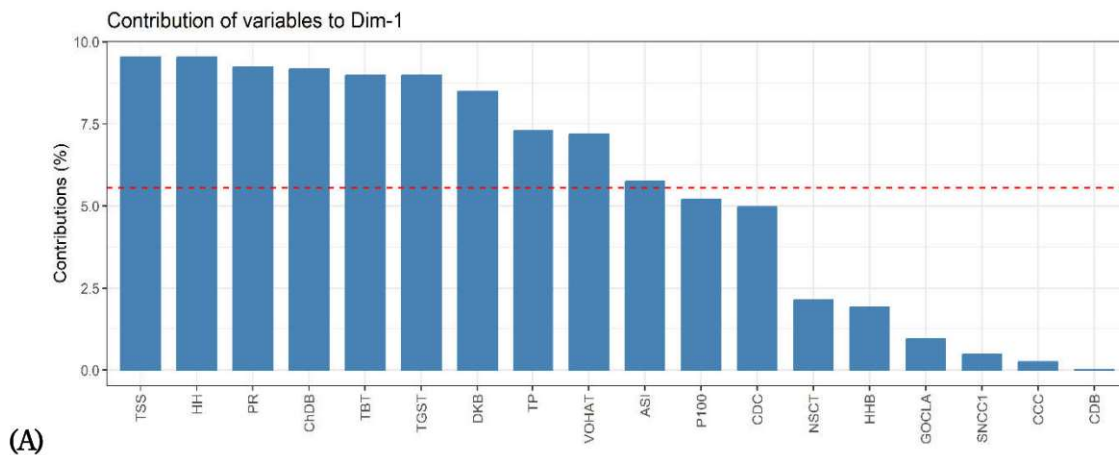
Hình 2. Biểu đồ biplot phân tích thành phần chính các tính trạng nghiên cứu

Ghi chú: Dim - 1: Thành phần chính 1, Dim - 2: thành phần chính 2

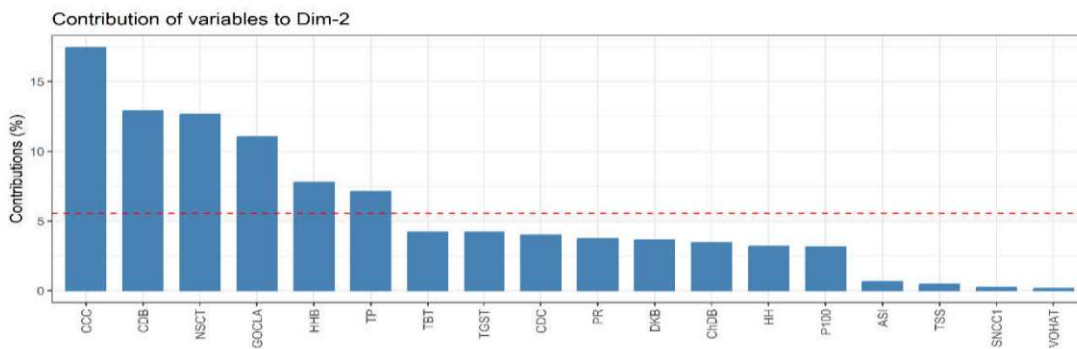
Phân tích thành phần chính là một phương pháp phân tích hiệu quả trong việc giảm chiều dữ liệu [22]. Nguyễn Hữu Du (2014) [23] cũng chỉ ra các phương pháp phân tích thành phần chính và phân tích cụm có hiệu quả trong xử lý số liệu nhiều chiều, giúp có được hình ảnh gần đúng nhất của bộ dữ liệu từ đó rút ra kết quả quan trọng trong công tác nghiên cứu nông nghiệp. Kết quả phân

tích thành phần chính các tính trạng kiểu hình cho thấy tổng hai thành phần chính đầu tiên (PC1 + PC2) đóng góp 60,0% tổng biến đổi kiểu hình biểu thị mức độ quan sát sự thay đổi về kiểu hình cao giữa các nguồn gen ngô nghiên cứu (Hình 2).

Kết quả phân tích thành phần chính cũng chỉ ra 10 tính trạng (TSS, HH, PR, ChDB, TBT, TGST, DKB, TP, VOHAT, ASI) có đóng góp trên 5,5% tổng biến đổi kiểu hình trên PC1 (Hình 3A) và 6 tính trạng (CCC, CDB, NSCT, GOCLA, HHB, TP) có đóng góp trên 5,5% tổng biến đổi kiểu hình trên thành phần chính thứ 2 (Hình 3B). Như vậy, mười lăm tính trạng thuộc 4 nhóm sinh trưởng, hình thái, năng suất và chất lượng có đóng góp nhiều nhất tới tổng biến đổi kiểu hình ngô nếp và ngô ngọt, có thể dùng để phân nhóm các nguồn gen ngô thực phẩm nghiên cứu. Trong đó chỉ tiêu chất lượng liên quan đến độ ngọt biểu thị bằng tổng lượng chất rắn hoàn tan TSS là tính trạng có khác biệt lớn nhất giữa hai nhóm ngô. Tính trạng này do gen lặn quy định và đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới nghiên cứu [24, 5, 13, 17].



(A)



(B)

Hình 3. Đóng góp của các tính trạng nghiên cứu tới (A) thành phần chính 1 và (B) thành phần chính 2

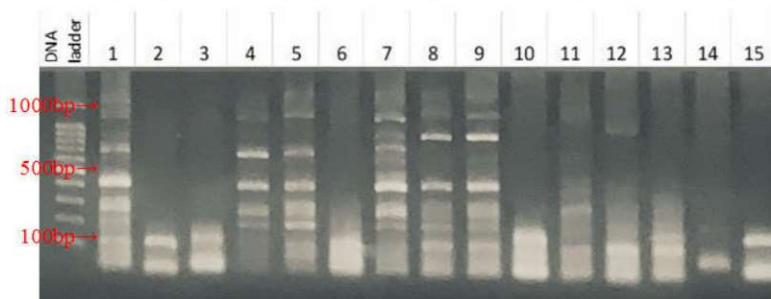
Ghi chú: Contribution of variables: sự đóng góp của các tính trạng, Dim - 1: Thành phần chính 1, Dim - 2: thành phần chính 2.

3.4. Đánh giá đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị phân tử SSR

Kết quả khảo sát đa dạng di truyền của 15 mẫu (10 mẫu ngô nếp từ ký hiệu từ 1 đến 10 và 5 mẫu ngô ngọt ký hiệu 11 đến 15) cho thấy có 6 trong 17 chỉ thị phát hiện thấy sự đa dạng với hệ số thông tin đa hình cao gồm phi308707 (PIC = 0,30), phi328175 (PIC = 0,28), phi108411 (PIC = 0,25), phi299852 (PIC = 0,23), phi223376 (PIC = 0,23) và phi032 (PIC = 0,23) (Bảng 5). Chỉ thị phi093 thể hiện chỉ số PIC thấp nhất là 0,04 (Bảng 5). Trong các nguồn gen ngô, nhiều alen hơn trên mỗi locus có nghĩa là thành phần phức tạp hơn trong các quần thể khác nhau. Nghiên cứu hiện tại cho thấy có 5,2 alen/locus cao hơn so với công bố trước đó bởi Lê Thị Minh Thảo và cs [7]. Chỉ số PIC phản ánh mức độ đa hình của chỉ thị SSR, với 15 chỉ thị được chọn lọc cho thấy, giá trị PIC dao động từ 0,04 đến 0,30, trong đó ba cặp mỗi có PIC cao nhất bao gồm phi308707 (PIC = 0,30), phi328175 (PIC = 0,28), phi108411 (PIC = 0,25) có hệ số thông tin đa hình cao nhất. Chỉ số PIC thể hiện ở marker phi308707 nhất là 0,30 (Hình 4A, B, C).

Bảng 5. Số băng và giá trị PIC của 15 chỉ thị

TT	Chỉ thị SSR	Số băng đa hình	PIC
1	<i>phi308707</i>	8	0,30
2	<i>phi083</i>	6	0,06
3	<i>phi101049</i>	5	0,17
4	<i>phi029</i>	4	0,12
5	<i>phi053</i>	6	0,09
6	<i>phi102228</i>	3	0,07
7	<i>phi072</i>	1	-
8	<i>phi079</i>	3	-
9	<i>phi093</i>	3	0,04
10	<i>phi109188</i>	1	-
11	<i>phi423796</i>	7	0,17
12	<i>phi299852</i>	7	0,23
13	<i>phi328175</i>	9	0,28
14	<i>phi223376</i>	10	0,23
15	<i>phi032</i>	7	0,23
16	<i>phi108411</i>	7	0,25
17	<i>phi96342</i>	1	-
Tổng		88	
Trung bình		5,2	0,17



(A) Kết quả điện di sản phẩm PCR sử dụng mỗi phi308707



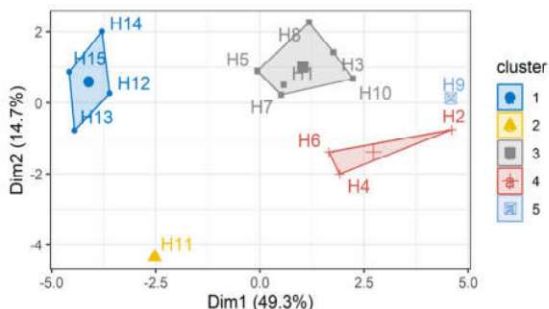
(B) Kết quả điện di sản phẩm PCR sử dụng môi phi032



(C) Kết quả điện di sản phẩm PCR sử dụng môi phi328175

Hình 4. Các cặp môi có hệ số thông tin đa hình cao gồm (A) phi308707, (B) phi032 và (C) phi328175

3.5. Phân tích cụm phân nhóm đa dạng di truyền



Hình 5. Phân tích cụm dựa trên thành phần chính

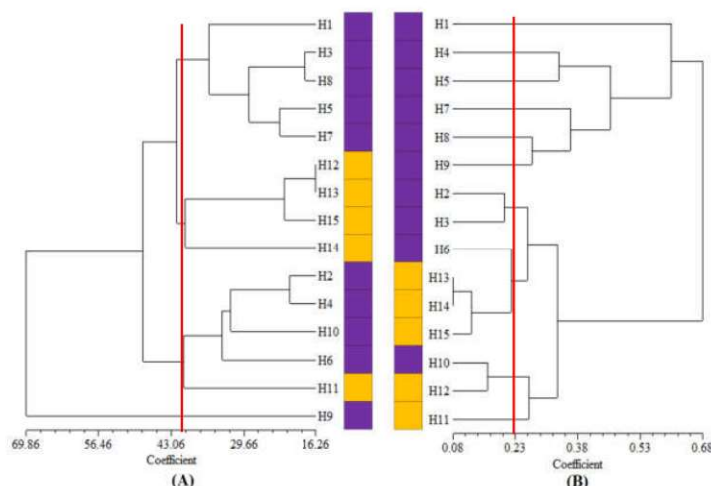
Ghi chú: Dim - 1: Thành phần chính 1, Dim - 2: thành phần chính 2

Hiểu biết sâu sắc về sự đa dạng di truyền nguồn gen ban đầu là cơ sở cho việc lập kế hoạch và thực hiện thành công một chương trình chọn tạo giống ngô [25]. Thông tin về sự đa dạng di truyền ở cấp độ phân tử bổ sung đáng kể cho các đặc điểm nông học trong việc cải thiện hiệu quả chọn giống và tăng lợi ích di truyền. Kết quả phân tích cụm dựa trên thành phần chính từ các tính

trạng nông học cho thấy 15 nguồn gen ngô được phân thành 5 nhóm nhỏ (Hình 4).

Trong đó, 2 nhóm ngô ngọt gồm: nhóm 1 (H12, H13, H14, H15) và nhóm 2 (H11); 3 nhóm ngô nếp: nhóm 3 (H1, H3, H5, H7, H8, H10), nhóm 4 (H2, H4, H6) và nhóm 5 (H9) (Hình 5). Trong cùng một nhóm ngô ngọt, nguồn gen H11 là giống thụ phấn tự do, có khác biệt hẳn so với các nguồn gen ngô ngọt còn lại.

Dữ liệu kiểu hình và dữ liệu thu được từ chỉ thị phân tử SSR có bản chất khác nhau, do vậy cần phải dùng phương pháp phù hợp để trích xuất các thông tin di truyền có ý nghĩa. Kết quả phân nhóm đa dạng di truyền từ 15 tính trạng dựa trên khoảng cách Euclidean, ở hệ số tương đồng 40,5 cho thấy 15 nguồn gen ngô được phân thành 4 nhóm nhỏ (Hình 6A). Trong đó, nguồn gen ngô ngọt H11 được phân cùng nhóm với các nguồn gen ngô nếp (H6, H4, H10, H2), khác biệt hẳn so với 4 nguồn gen ngô ngọt còn lại. Điều này có thể do nguồn gen H11 là giống thụ phấn tự do trong khi nguồn gen H12, H13, H14, H15 là các giống lai thương mại.



Hình 6. Biểu đồ cụm phân nhóm đa dạng di truyền các nguồn gen ngô dựa trên (A) kiểu hình và (B) chỉ thị phân tử SSR

Biểu đồ tương đồng của 15 nguồn gen ngô từ chỉ thị phân tử SSR sử dụng hệ số tương đồng di truyền Dice (Hình 6B). Kết quả sơ đồ cây phân nhóm cho thấy nếu xét mức độ tương đồng di truyền của ở hệ số tương đồng 0,23 thì sẽ chia thành 10 nhóm nhỏ. Nguồn gen ngô nếp H6 và H10 có khoảng cách gần với các nguồn gen ngô ngọt H13 và H12, tương ứng. Sự tương đồng cao giữa kiểu hình và kiểu gen có thể do ngô nếp và ngô ngọt đều do các đơn gen *wx*, *sh2*, tương ứng điều khiển quá trình chuyển hóa đường, tinh bột trong hạt [5, 6, 17].

Phân nhóm đa dạng di truyền dựa trên kiểu hình sử dụng khoảng cách Euclidean kết hợp phân nhóm đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị SSR dựa trên hệ số tương đồng Dice đã được Yuan và cs (2015)[26] áp dụng đánh giá đa dạng di truyền trên cây đậu bắp. Iboyi và cs (2020) [25] đã sử dụng chỉ thị SSR và hệ số tương đồng di truyền Dice để phân tích đa dạng di truyền các nguồn gen ngô siêu ngọt thích nghi với nhiệt đới và mối quan hệ của chúng với các nguồn gen ngô thường. Có sự tương đồng giữa kiểu hình và kiểu gen ở cả ba phương pháp phân tích cụm. Khoảng cách di truyền xa nhau giữa ngô nếp và ngô ngọt cho thấy tiềm năng ưu thế lai cao khi lai tạo giống ngô thực phẩm từ bố mẹ phát triển từ hai nhóm này [15].

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được 15 tính trạng nông học thuộc 4 nhóm sinh trưởng, hình thái,

năng suất và chất lượng có đóng góp nhiều nhất tới tổng biến đổi kiểu hình ngô nếp và ngô ngọt, có thể dùng để phân nhóm các nguồn gen ngô thực phẩm nghiên cứu.

Tổng số 6 trên 17 chỉ thị SSR cho thấy sự đa hình cao, với 88 alen đa hình, trung bình 5,1 alen trên mỗi locus. Chỉ số PIC dao động từ 0,04 đến 0,30 với ba cặp mỗi có PIC cao nhất bao gồm phi308707 (PIC = 0,30), phi328175 (PIC = 0,28), phi108411 (PIC = 0,25).

So sánh kết quả từ ba phương pháp đánh giá đa dạng di truyền gồm phân tích cụm dựa trên thành phần chính, phân tích cụm dựa trên khoảng cách Euclidean và phân tích cụm từ chỉ thị phân tử SSR đã cho thấy có sự tương đồng cao giữa kiểu hình và kiểu gen. Nghiên cứu đã cung cấp hệ thống phương pháp đánh giá đa dạng di truyền dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử SSR trên cây ngô và có thể áp dụng trên các đối tượng cây trồng khác.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Trung tâm Tài nguyên thực vật đã cung cấp nguồn gen H1 - H12 phục vụ nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lertrat K. & Thongnarin N. (2008). Novel approach to eating quality improvement in local waxy corn: Improvement of sweet taste in local waxy corn variety with mixed kernels from super

sweet corn. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium. 145-150.

2. Dong L., Qi X., Zhu J., Liu C., Zhang X., Cheng B., Mao L. & Xie C. (2019). Supersweet and waxy: meeting the diverse demands for specialty maize by genome editing. *Plant Biotechnology Journal*. 17(10): 1853-1855.

3. Revilla P., Anibas C. M. & Tracy W. F. (2021). Sweet corn research around the world 2015–2020. *Agronomy*. 11(3).

4. Zheng H., Wang H., Yang H., Wu J., Shi B., Cai R., Xu Y., Wu A. & Luo L. (2013). Genetic diversity and molecular evolution of chinese waxy maize germplasm. *PLOS ONE*. 8(6): e66606.

5. Tracy W. F., Shuler S. L. & Dodson-Swenson H. (2019). The use of endosperm genes for sweet corn improvement. in *Plant Breeding Reviews*, Volume 43, First Edition. 215-241.

6. Bao J. D., Yao J. Q., Zhu J. Q., Hu W. M., Cai D. G., Li Y., Shu Q. Y. & Fan L. J. (2012). Identification of glutinous maize landraces and inbred lines with altered transcription of waxy gene. *Molecular Breeding*. 30(4): 1707-1714.

7. Lê Thị Minh Thảo, Nguyễn Thị Ánh, Trần Thanh Tân, Phạm Quang Tuấn, Vũ Văn Liết (2014). Phân tích đa dạng di truyền dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử SSR và đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng ngô nếp tự phối phục vụ phát triển giống ngô nếp cho các tỉnh miền núi phía Bắc. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 12(3): 285-297.

8. Trần Thị Thanh Hà, Vũ Văn Liết, Vũ Thị Bích Hạnh, Nguyễn Văn Hà, Dương Thị Loan, Hoàng Thị Thùy, Nguyễn Văn Việt (2017). 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. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 15(8): 989-1001.

9. Nguyễn Thị Nhài, Đặng Ngọc Hạ, Nguyễn Văn Diện, Đỗ Văn Dũng, Kiều Quang Luận (2020). Kết quả nghiên cứu chọn tạo và khảo nghiệm giống ngô đường lai DL89. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 04(113): 10-15.

10. Nguyễn Trung Đức, Phạm Quang Tuấn, Nguyễn Thị Nguyệt Anh, Vũ Văn Liết (2020). Nghiên cứu tuyển chọn một số dòng ngô ngọt phục vụ chọn tạo giống ngô trái cây dựa trên kiểu

hình và chỉ thị phân tử. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 18(12): 1102-1113.

11. Xia X. C., Reif J. C., Hoisington D. A., Melchinger A. E., Frisch M. & Warburton M. L. (2004). Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers. *Crop Science*. 44(6): 2230-2237.

12. Sa K. J., Park J. Y., Park K.-C. & Lee J. K. (2012). Analysis of genetic mapping in a waxy/dent maize RIL population using SSR and SNP markers. *Genes & Genomics*. 34(2): 157-164.

13. Mehta B., Hossain F., Muthusamy V., Baveja A., Zunjare R., Jha S. K. & Gupta H. S. (2017). Microsatellite-based genetic diversity analyses of sugary1-, shrunken2- and double mutant- sweet corn inbreds for their utilization in breeding programme. *Physiol Mol Biol Plants*. 23(2): 411-420.

14. Vu Van Liet, Nguyen Thi Thuy Linh, Nguyen Thi Thuy, Vu Thi Bich Hanh, Pham Quang Tuan & Nguyen Thi Phuong Thao (2011). Genetic diversity of maize (*Zea mays* L.) accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Journal of Southern Agriculture*. 42(9): 1029-1034.

15. Dermail A., Suriharn B., Chankaew S., Sanitchon J. & Lertrat K. (2020). Hybrid prediction based on SSR-genetic distance, heterosis and combining ability on agronomic traits and yields in sweet and waxy corn. *Scientia Horticulturae*. 259: 108817.

16. Belalia N., Lupini A., Djemel A., Morsli A., Mauceri A., Lotti C., Khelifi-Slaoui M., Khelifi L. & Sunseri F. (2019). Analysis of genetic diversity and population structure in Saharan maize (*Zea mays* L.) populations using phenotypic traits and SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 66(1): 243-257.

17. Ruanjaichon V., Khammona K., Thunnom B., Suriharn K., Kerdsri C., Aesomnuk W., Yongsuwan A., Chaomueang N., Thammapichai P., Arikrit S., Wanchana S. & Toojinda T. (2021). Identification of gene associated with sweetness in corn (*Zea mays* L.) by genome-wide association study (GWAS) and development of a functional SNP marker for predicting sweet corn. *Plants (Basel)*. 10(6).

18. So Y. S. (2018). Pericarp thickness of Korean maize landraces. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 17(1): 87-90.
19. Giusti M. & Wrolstad R. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*. 1: 1-13.
20. Doyle J. (1991). DNA Protocols for Plants. in: *Molecular Techniques in Taxonomy*. Hewitt G. M., Johnston A. W. B. & Young J. P. W. (eds.). Springer Berlin Heidelberg Berlin, Heidelberg: 283-293.
21. 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, Urbana, IL. <http://hdl.handle.net/2142/15562>: 1-135.
22. Lever J., Krzywinski M. & Altman N. (2017). Principal component analysis. *Nature methods*. 14(7): 641-642.
23. Nguyễn Hữu Du (2014). Phương pháp phân tích thành phần chính và phân tích cụm trong xử lý số liệu thống kê nhiều chiều. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 12(5): 762-768.
24. Park K. J., Sa K. J., Koh H.-J. & Lee J. K. (2013). QTL analysis for eating quality-related traits in an F_{2,3} population derived from waxy corn × sweet corn cross. *Breeding science*. 63(3): 325-332.
25. Iboyi J. E., Abe A. & Adetimirin V. O. (2020). Microsatellite marker-based genetic diversity of tropical-adapted shrunken-2 maize inbred lines and its relationship with normal endosperm inbred lines of known heterotic classification. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 18(6): 454-461.
26. Yuan C.-Y., Wang P., Chen P.-P., Xiao W.-J., Zhang C., Hu S., Zhou P., Chang H.-P., He Z. & Hu R. (2015). Genetic diversity revealed by morphological traits and ISSR markers in 48 Okras (*Abelmoschus esculentus* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 21(3): 359-364.

GENETIC DIVERSITY OF SPECIALTY CORN GERMPLASMS REVEAL BY AGRONOMIC TRAITS AND SSR MARKERS

Nguyễn Trung Duc^{1,*}, Phạm Quang Tuan¹,
Nguyễn Thị Nguyệt Anh¹, Nguyễn Quốc Trung², Vũ Văn Liet³
Summary

This study aimed to investigate the genetic diversity of 15 specialty corn germplasm (5 sweet corn and 10 waxy corn materials) based on agronomic traits and SSR markers. Field experiment arranged in RCBD with 3 replicates in Spring 2021 at Vietnam National University of Agriculture. Principal component analysis showed that the sum of the first two main components contributed 60.0% of the total phenotypic variation indicating a high phenotypic variation among the studied specialty corn germplasm. Hierarchical clustering on principal components method classified corn materials into five subgroups with major differences in growth time, plant height, individual grain yield, and especially total soluble solids. Polymorphic information content (PIC) ranged from 0.04 to 0.30 with 6/17 SSR markers had high polymorphic information coefficient *viz.*, phi308707, phi328175, phi108411, phi299852, phi223376 and phi032. Based on the Euclidean distance at the similarity coefficient 40.5, the corn germplasm was classified into 4 subgroups. Based on SSR markers with similarity coefficient 0.23, the corn germplasm was divided into 10 subgroups. Combining three diversity analysis methods showed high similarity between phenotypic and genotypic diversity. The genetic diversity information and germplasm of this study is fundamental for improvement and development of high-quality specialty corn varieties in Vietnam.

Keywords: *Sweet corn, waxy corn, genetic diversity, phenotype, SSR marker.*

Người phản biện: PGS.TS Lê Tuấn Nghĩa

Ngày nhận bài: 16/12/2022

Ngày thông qua phản biện: 12/1/2023

Ngày duyệt đăng: 17/1/2023