

XÁC ĐỊNH CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR LIÊN KẾT VỚI GEN *sh2* VÀ *su1* TRÊN CÁC DÒNG NGÔ NGỌT TỰ PHỐI

Nguyễn Trung Đức^{1*}, Nguyễn Quốc Trung², Phạm Quang Tuấn¹,
Nguyễn Thị Nguyệt Anh¹, Phạm Thu Hằng³, Phạm Xuân Hội³, Vũ Văn Liết⁴

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*Viện Di truyền Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*

⁴*Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

*Tác giả liên hệ: ntduc@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 09.08.2022

Ngày chấp nhận đăng: 02.03.2023

TÓM TẮT

Nghiên cứu tiến hành xác định chỉ thị SSR tối ưu liên kết với gen *shrunken2* (*sh2*), *sugary1* (*su1*) kiểm soát độ ngọt và ứng dụng chọn lọc trên 30 dòng ngô ngọt tự phối S3. Bốn chỉ thị SSR liên kết chặt với gen *sh2* (umc1320, umc2276, umc1273, bnlg1257) và bốn chỉ thị SSR liên kết chặt với gen *su1* (umc1142, umc1031, bnlg1937, umc2061) được khảo sát trên ba dòng thuần đối chứng. Kết quả cho thấy chỉ thị umc2276 và umc1031 là phù hợp nhất để xác định gen *sh2* và *su1*, tương ứng. Ứng dụng hai chỉ thị này khảo sát trên 30 dòng ngô ngọt tự phối S3 đã chọn được bảy dòng đồng hợp tử gen lặn *sh2sh2* (D04, D09, D13, D21, D22, D24, D25), hai dòng đồng hợp tử gen lặn *su1su1* (D19, D30) và hai dòng đồng hợp tử ngọt lặn kép *sh2sh2su1su1* (D11, D14). Đánh giá kiểu hình đã xác nhận sự tương đồng với kiểu gen cho thấy độ chính xác cao của các chỉ thị phân tử được chọn. Nhóm dòng đồng hợp tử lặn kép *sh2sh2su1su1* có tổng lượng chất rắn hòa tan cao hơn nhóm dòng *sh2sh2* và vượt trội so với nhóm dòng *su1su1*. Hai chỉ thị SSR và mười một dòng mang gen mục tiêu này là cơ sở để phát triển nhanh dòng thuần ưu tú và xây dựng chương trình ứng dụng chỉ thị phân tử chọn giống ngô thực phẩm tại Việt Nam.

Từ khóa: Chỉ thị SSR, ngô ngọt, *sh2*, *su1*, *sh2sh2su1su1*.

Identification of SSR Markers Linked to *sh2* and *su1* Genes in Sweetcorn Lines

ABSTRACT

The objectives of this study were to identify SSR markers closely associated with *shrunken2* (*sh2*) and *sugary1* (*su1*) genes and application for selecting target genotypes on 30 S3 sweet corn lines. Four SSR markers closely associated with the *sh2* gene (umc1320, umc2276, umc1273, bnlg1257) and four SSR markers closely associated with the *su1* gene (umc1142, umc1031, bnlg1937, umc2061) were investigated in three check lines. The results showed that the markers umc2276 and umc1031 were suitable to identify the *sh2* and *su1* genes, respectively. Using these markers for screening on 30 S3 sweet corn lines identified 7 lines homozygous for recessive gene *sh2sh2* (D04, D09, D13, D21, D22, D24, D25), 2 lines homozygous for recessive gene *su1su1* (D19, D30) and 2 lines double homozygous recessive for *sh2sh2su1su1* (D11, D14). Phenotypic evaluation confirmed the similarity to genotypes and proved high accuracy of the selected molecular markers. Total soluble solids of the *sh2sh2su1su1* lines were higher than *sh2sh2* lines and superior to that of the *su1su1* lines. These SSR markers and 11 selected genotypes played a vital role for the rapid development of high-quality inbred lines for specialty corn hybrid breeding in Vietnam.

Keywords: SSR markers, sweet corn, *su1*, *sh2*, *sh2sh2su1su1*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngô ngọt (*Zea mays* L. var. *rugosa* Bonaf.) là giống ngô có hàm lượng đường cao, kết quả xuất

hiện tự nhiên của đột biến lặn của gen như *su1*, *sh2*, *bt*, *se* điều khiển việc chuyển đường thành tinh bột bên trong nội nhũ của hạt ngô (Tracy & cs., 2019). Ngoài ra, ngô ngọt còn chứa nhiều

chất dinh dưỡng thiết yếu cho cơ thể như các hợp chất axit pantothenic, folate, vitamin B6, niacin, kali, vitamin E, các chất xơ, chất kháng oxy hóa (Zhang & cs., 2017; Baseggio & cs., 2020). Xuất khẩu ngô ngọt đông lạnh toàn cầu trị giá 428,5 triệu USD với số lượng 412.245 tấn, trong khi ngô ngọt bảo quản tương tự trị giá 1.002,6 triệu USD với lượng xuất khẩu đạt 784.282 tấn (Faostat, 2021). Tại Việt Nam, phần lớn các giống ngô ngọt thương mại trên thị trường là giống lai như SW1011, GoldenCob, Hi-brix 58 nhập nội từ Thái Lan được bán với giá thành hạt giống cao, dao động từ 700.000 tới 1.200.000 đồng/kg. Tại Việt Nam, gần đây đã nghiên cứu chọn tạo giống ngô ngọt Đường Lai ĐL89 (Nguyễn Thị Nhài & cs., 2020). Các nghiên cứu cơ bản trên cây ngô ngọt như đánh giá khả năng chịu hạn được tiến hành bởi Phạm Thị Thanh Hương & cs. (2019), phát triển dòng đã được tiến hành bởi Trần Thị Thanh Hà & cs. (2020) và Nguyễn Trung Đức & cs. (2020). Như vậy, các giống ngô ngọt ưu thế lai được chọn tạo và thương mại tại Việt Nam còn thiếu, chưa đáp ứng nhu cầu thị trường. Các nghiên cứu cơ bản đã được tiến hành nhưng công nghệ cốt lõi phát triển và xác định các dòng ngô ngọt mang các gen cụ thể điều khiển quá trình chuyển hóa đường và tinh bột chưa được báo cáo tại Việt Nam.

Trong hạt ngô, phần nội nhũ bao gồm khoảng 80% tinh bột, 10% protein, 2% đường và 8% chất xơ (Tracy & cs., 2019). Tinh bột thường chiếm 73% tổng trọng lượng hạt, trong đó 25% tinh bột là amylose, trong khi phần còn lại bao gồm amylopectin (Wilson & cs., 2004). Các đột biến kiểu hình bất thường ở hạt ngô đã góp phần đáng kể vào việc tìm ra con đường sinh tổng hợp tinh bột. Trong số này, các gen như brittle2 (*bt2*), shrunken1 (*sh1*) và shrunken2 (*sh2*) hỗ trợ sự hình thành glucose, trong khi các enzyme được mã hóa bởi amylose extender1 (*ae1*), sugary1 (*su1*) và waxy1 (*wx1*) sản xuất các sản phẩm cuối cùng của quá trình chuyển hóa tinh bột, amylose và amylopectin (Whitt & cs., 2002; Tracy & cs., 2019). Trong đó, hai gen lặn *sh2* và *su1* đã được sử dụng rộng rãi để phát triển các giống ngô ngọt trên toàn thế giới (Revilla & cs., 2021). Gen *su1* dài 11,7kb nằm trên vai ngắn của nhiễm sắc thể 4S, mã hóa một

enzyme phân hủy tinh bột SU1 *isoamylase* thủy phân liên kết α -1,6 glycoside và đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển của tinh thể amylopectin (Feng & cs., 2008; Tracy & cs., 2019). Các dòng ngô ngọt mang gen lặn *su1* sở hữu lượng phyto glycogen cao gấp 10 lần so với ngô thường, làm cho hạt đầy đặn và bóng khi thu hoạch (Hossain & cs., 2015). Gen lặn *sh2* nằm trên nhiễm sắc thể số 3L mã hóa tiểu đơn vị lớn của *AGPase* (*adenosine diphosphate glucose pyrophosphorylase*) xúc tác bước giới hạn tốc độ trong con đường sinh tổng hợp tinh bột (Hu & cs., 2021; Ruanjaichon & cs., 2021), đã được sử dụng rộng rãi để phát triển giống ngô ngọt và ngô siêu ngọt, chiếm khoảng 70% thị phần giống ngô ngọt trên thế giới (Revilla & cs., 2021). Ở giai đoạn chín sữa, các giống siêu ngọt mang gen lặn *sh2* tích tụ nhiều đường hơn (29,9% sucrose), cao hơn gấp ba lần so với ngô có đột biến *su1* (10,2% sucrose) và cao hơn gấp tám lần ngô bình thường (Tracy & cs., 2019).

Để ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn giống (MAS) ngô ngọt, Hossain & cs. (2015) đã tiến hành lập bản đồ gen và xác nhận 4 chỉ thị SSR liên kết chặt với gen *sh2* (umc1320, umc2276, umc1273, bnlgl257) và 4 chỉ thị SSR liên kết chặt với gen *su1* (umc1142, umc1031, bnlgl1937, umc2061). Với ưu điểm đồng trội, chi phí thấp, hiệu quả và khả năng tái lập cao, các chỉ thị SSR này đã và đang được sử dụng trong các nghiên cứu đa dạng di truyền và MAS (Mehta & cs., 2017a; Baveja & cs., 2021). Tuy nhiên, mỗi chương trình chọn giống thường sử dụng quần thể ngô ngọt khác nhau. Vì vậy, việc xác định chỉ thị phù hợp nhất và sử dụng để xác định gen kiểm soát độ ngọt của hạt sẽ giúp nhà chọn giống phát triển các giống ngô ngọt lai phù hợp với chi phí thấp nhất trong thời gian ngắn nhất.

Ngô ngọt có nguồn gốc ôn đới, tiến hoá từ ngô đá và có phổ di truyền hẹp (Tracy & cs., 2019). Việt Nam không phải là nơi phát sinh nguồn gen ngô ngọt, các vật liệu ngô ngọt hiện nay phần lớn phát triển từ các giống thương mại. Đây là một thách thức lớn khi nghiên cứu phát triển các giống ngô ngọt mới, thích ứng với điều kiện khí hậu nhiệt đới tại Việt Nam.

Do vậy, nghiên cứu này tiến hành xác định chỉ thị phân tử SSR tối ưu liên kết với gen *sh2*, *su1* và ứng dụng chọn lọc trên các dòng ngô ngọt tự phối phục vụ chương trình chọn giống ngô thực phẩm chất lượng cao, thích ứng với biến đổi khí hậu tại Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu gồm dòng thuần ngô tẻ vàng D105, dòng ngô ngọt Sh922 (*su1su1*) rút dòng từ giống Golden Bantam, dòng ngô ngọt SWsyn1 (*sh2sh2*) rút dòng từ giống ngô ngọt lai Sugar75 và 30 dòng ngô ngọt tự phối S3 (ký hiệu D01-D30). Giống Golden Bantam mang gen *su1* đã được báo cáo bởi Brewbaker & Martin (2015) và giống ngô ngọt Sugar75 mang gen lặn *sh2* đã được báo cáo bởi Mehta & cs. (2017b).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm đồng ruộng đánh giá kiểu hình 30 dòng ngô ngọt tự phối S3 và 3 dòng thuần đối chứng trong vụ Đông 2022 được bố trí tuần tự không nhắc lại, diện tích ô thí nghiệm 30m², trồng mật độ hàng cách hàng 60cm × 25cm cây cách cây, tại Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng. Chọn lọc chỉ thị SSR tối ưu xác định gen *sh2* và *su1* trên ba dòng thuần đối chứng D105 (*SH2SH2SU1SU1*), Sh922 (*SH2SH2su1su1*) và SWsyn1 (*sh2sh2 SU1SU1*). Chỉ thị tối ưu được

chọn tiếp tục được ứng dụng để xác nhận dòng mang gen mục tiêu từ ADN tách chiết từ mẫu lá của 30 cá thể có kiểu hình đại diện cho 30 dòng tự phối ở giai đoạn phun râu. Các cá thể này được tự phối và xác nhận biểu hiện gen mục tiêu dựa trên kiểu hình. Chăm sóc, bón phân và phòng trừ sâu bệnh hại theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 13381-2:2021.

Nghiên cứu tiến hành theo dõi 13 chỉ tiêu nông học gồm: thời gian tung phần (TP, ngày), phun râu (PR, ngày), thời gian sinh trưởng (TGST, ngày), chênh lệch tung phần - phun râu (ASI, ngày) chiều cao cây (CCC, cm), chiều cao đóng bắp (CDB, cm), chiều dài bắp (ChDB, cm), đường kính bắp (DKB, cm), số hàng hạt/bắp (HHB), số hạt/hàng (HH), khối lượng 100 hạt (KL100, g), năng suất cá thể (NSCT, g) và tổng lượng chất rắn hòa tan (TSS, °Brix). TSS được đo bằng vi trắc kế điện tử ATAGO PAL-1 (Nhật Bản) ở giai đoạn thu bắp tươi (20-24 ngày sau thụ phần) theo phương pháp của Kleinhenz & Bumgarner (2012).

2.2.2. Tách chiết ADN

ADN của các mẫu lá ngô được tách chiết theo phương pháp của Dellaporta & cs. (1983). Ở giai đoạn V3, lá tươi của mỗi cá thể đại diện cho dòng ngô được thu thập và chuyển từ khu thí nghiệm đồng ruộng về phòng thí nghiệm để sấy khô và nghiền. Các cá thể này được đánh dấu và duy trì bằng phương pháp tự phối theo Shull (1909).



Hình 1. Cây và dạng hạt khô của các dòng bố mẹ

Bảng 1. Các chỉ thị SSR sử dụng khảo sát sự có mặt của gen *su1* và *sh2*

Gen	Tên chỉ thị	Khoảng cách đến gen (cM)	Trình tự xuôi (5'-3')	Trình tự ngược (5'-3')
<i>sh2</i>	umc1320	1,8	TGCGAATCTATACCATAGGCA	CTCTTTTAGCAGTGTGCCGAATTT
	umc2276	1,2	CTAGGTAGCCAGCTAGGTACGGGT	AGTGGAGCTTCTTCATTCTACCG
	umc1273	3,0	GTTCTGCTGCTGCTTCTTATATGCT	AATTGGCGCAGGCTATAGACATTT
	bnlg1257	5,1	CGGACGATCTTATGCAAACA	ACGGCTTGCGACAGGATATT
<i>su1</i>	umc1142	3,2	CCGAAAACCCATTCTTCTAGCATC	GTGCGGTGTTCTCTCTTTCACTCT
	umc1031	3,1	TTGGGTTCATACCTCCTAGGAACA	ACGTGGACAACCAGTCTATCAACA
	bnlg1937	1,4	AATGCTCGGTCCACAGAATC	AACTGGAGCCAAAAGTGGTG
	umc2061	0,3	GTCTGGAGAACTCCCTACCCATTC	TAGCTTGAGAGACCGGAACAGC

Nguồn: Hossain & cs. (2015).

Mẫu lá sau khi làm khô được tiến hành cắt nhỏ bằng phanh thành từng đoạn 0,5-4cm vào ống 1,5ml đã ghi sẵn tên giống; Nghiền mẫu bằng máy nghiền bi (bead shocker) ở 1.800 vòng/phút, 60s, mỗi lần nghỉ 10s, lặp lại hai lần; Thêm 600µl đệm chiết xuất (10mM Tris, pH 8,0; 1mM EDTA, pH 8,0) (đã ủ ở 65°C) và đảo đều. Sau đó mang mẫu ủ ở 65°C trong 30 phút; Thêm 1/3 lượng 5M potassium acetate so với thể tích dung dịch đệm chiết xuất. Ủ mẫu vào tủ lạnh thời gian 30 phút; Ly tâm ở 12.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C; Cẩn thận hút phần dung dịch phía trên (khoảng 400µl) sang ống eppendorf mới; Thêm lượng tương đương Isopropanol và đảo đều; Ly tâm ở 14.000 vòng/phút trong 30 phút, ở 4°C; Đổ bỏ cẩn thận phần dung dịch phía trên, tránh để dung dịch rót sang giếng khác và không làm rơi kết tủa; Rửa kết tủa bằng 200µl ethanol 70%, không lắc trộn chỉ nhỏ từng giọt nhẹ nhàng; Ly tâm ở 14.000 vòng/phút, trong 10 phút ở 4°C, đổ bỏ phần dung dịch phía trên; Loại bỏ hết ethanol ở nhiệt độ phòng hoặc ở 37°C; Thêm 100µl nước khử ion để hòa tan kết tủa ADN. Kiểm tra ADN tổng số thu được bằng cách điện di 20 phút ở 100V, sử dụng gel agarose 1% đã pha sẵn với ethidium bromide 1 µg/ml. Quan sát kết quả điện di dưới đèn UV và chụp ảnh. Phản ứng PCR được thực hiện với bước biến tính ở 95°C trong 5 phút với thể tích phản ứng 20µm. Điều kiện cho mỗi chu kỳ tiếp theo như sau: biến tính ở 95°C trong 30 giây, gắn môi ở 53-50°C trong 30 giây, kéo dài mạch ở 72°C trong 30 giây, kết

thúc kéo dài mạch ở 72°C trong 7 phút. Giữ mẫu PCR ở nhiệt độ dưới 15°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 4% pha sẵn với Ethidium bromide 1 µg/ml ở hiệu điện thế 250V trong thời gian từ 40-50 phút. Quan sát kết quả điện di dưới đèn UV và chụp ảnh.

2.3. Phân tích số liệu

Số liệu được tổng hợp và tính trung bình trên phần mềm Microsoft Excel. Phân tích thành phần chính và phân cụm dựa trên thành phần chính bằng gói “factoextra” và “FactoMineR” trên phần mềm R 4.1.3.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

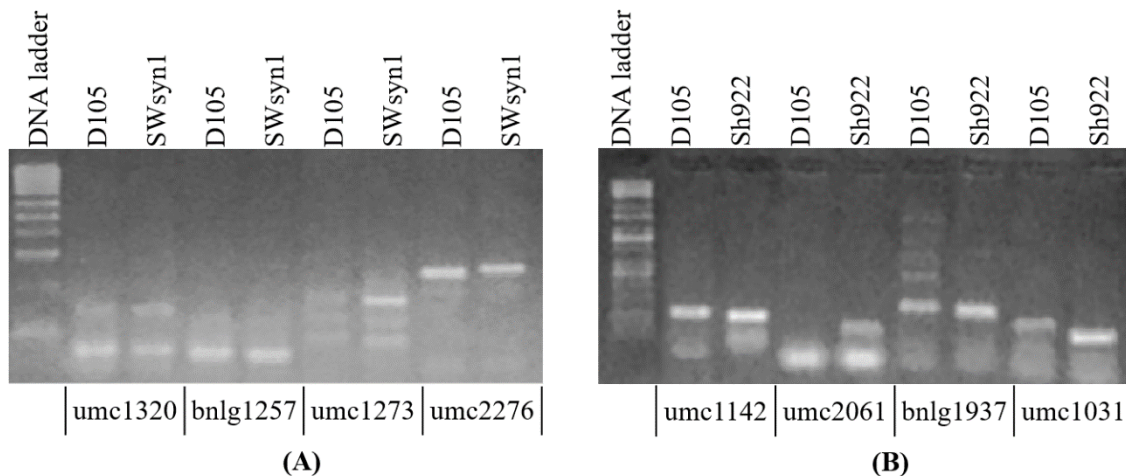
3.1. Kết quả xác định chỉ thị phát hiện gen *su1* và *sh2*

Kết quả khảo sát chỉ thị xác định gen *sh2* cho thấy cả ba chỉ thị gồm umc1320, bnlg1257 và umc2276 cho các băng ADN tương tự nhau trong đó phân biệt được mẫu mang gen trội D105 và mẫu mang gen lặn SWsyn1, trong đó phân biệt rõ nhất là chỉ thị umc2276 (Hình 2A). Dựa trên thông tin về khoảng cách của các chỉ thị đối với locus gen SH2, chỉ thị umc2276 nằm gần gen *sh2* nhất là 1,2 cM (Hossain & cs., 2015). Như vậy chỉ thị umc2276 là tối ưu nhất để sử dụng trong xác định gen *sh2* ở dòng ngô ngọt. Khảo sát chỉ thị xác định gen *su1* cho thấy ba chỉ thị gồm umc1142, bnlg1937 và umc1031 phân biệt được mẫu mang gen trội D105 và mẫu

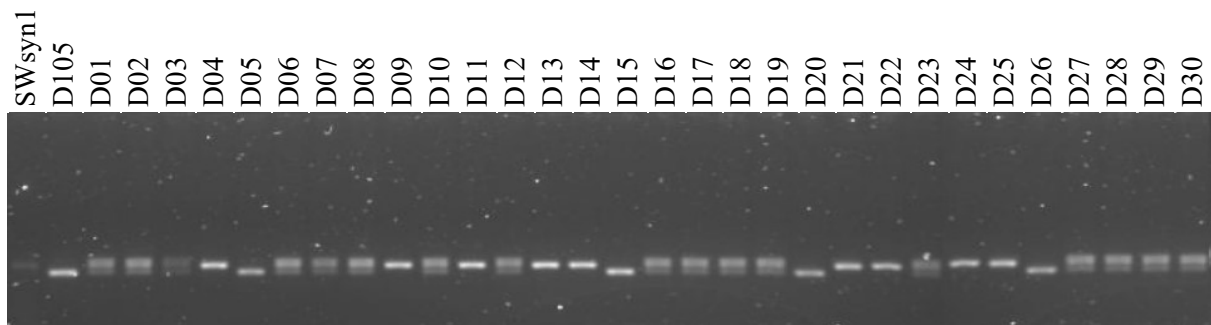
mang gen lặn Sh922 (Hình 2B). Trong bốn chỉ thị umc1142, umc1031, bnlg1937 và umc2061, theo công bố của Hossain & cs. (2015) về bản đồ gen *su1* thì chỉ thị umc1142 nằm xa gen *su1* nhất trong khi umc2061 nằm gần nhất, khoảng 0,3cm (Hossain & cs., 2015). Tuy nhiên để chọn được chỉ thị thích hợp trong việc xác định và chọn lọc dòng/giống mang gen *su1* thì kết quả điện di sau khi chạy PCR chỉ thị này phải phân biệt được mẫu mang gen đồng hợp tử trội *SU1SU1* và mang gen đồng hợp tử lặn *su1su1*. Như vậy, dựa vào kết quả sàng lọc đã chọn được cặp mồi umc1031 là thích hợp nhất để chọn lọc các dòng ngô ngọt mang gen *su1* (Hình 2B).

Trong những thập kỷ qua, ít nhất tám gen đã được áp dụng trong các chương trình nhân giống ngô ngọt, thành công nhất là *sh2*, sau đó là *su1* (Tracy & cs., 2019). Mặc dù, đối với ngô

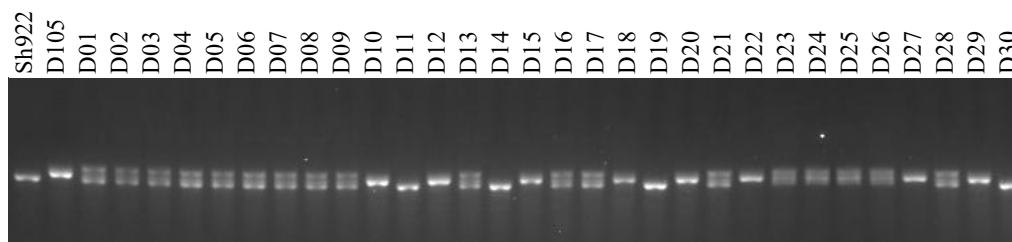
ngọt thuộc nhóm siêu ngọt *sh2* có thể kiểm tra đồng hợp tử lặn *sh2* dựa trên kiểu hình hạt nhăn nheo khi tiến hành lai với dòng *sh2* đã biết kiểu gen. Ứng dụng chỉ thị SSR sẽ giúp xác định dòng đồng hợp tử gen lặn *sh2* ngay ở giai đoạn cây con và các dạng dị hợp tử của chúng, giúp tiết kiệm thời gian, công sức và chi phí lai tạo. Gen lặn *sh2* làm chậm quá trình chuyển hóa đường sang tinh bột ngay cả khi không làm lạnh mang lại lợi thế cho các giống ngô siêu ngọt phù hợp hơn cho thu hoạch và bảo quản kéo dài. Do vậy, sử dụng các chỉ thị phân tử từ nghiên cứu này xác định được các dòng mang gen *su1* và *sh2* sẽ có ý nghĩa rất lớn, vừa để phát triển các giống ngô ngọt chất lượng cao và có thể phát triển giống chín chậm ở các vùng nhiệt đới, đặc biệt trong điều kiện khí hậu mùa hè ở miền Bắc Việt Nam.



Hình 2. (A) Kết quả thử nghiệm 4 cặp mồi xác định gen *sh2* phân biệt mẫu D105 (không có gen) và mẫu SWsyn1 (đồng hợp tử gen lặn *sh2*); (B) 4 cặp mồi xác định gen *sh2* phân biệt mẫu D105 (không có gen) và Sh922 (đồng hợp tử gen lặn *su1*)



Hình 3. Hình ảnh điện di xác định gen *sh2* trong 30 cá thể ngô ngọt bằng chỉ thị umc2276



Hình 4. Hình ảnh điện di xác định gen *su1* trong 30 cá thể ngô ngọt bằng chỉ thị *umc1031*

3.2. Kết quả xác định gen *su1* và *sh2* ở các dòng ngô ngọt tự phối

Ứng dụng chỉ thị *umc2276* và *umc1031* khảo sát trên 30 cá thể đại diện của 30 dòng ngô ngọt tự phối đã chọn lọc được 9 dòng mang gen đồng hợp tử lặn *sh2sh2* bao gồm D04, D09, D11, D13, D14, D21, D22, D24, D25 (Hình 3) và bốn dòng đồng hợp tử gen lặn *su1su1* cũng được phát hiện bao gồm D11, D14, D19 và D30 (Hình 4). Kết hợp kết quả kiểm tra của cả hai chỉ thị phân tử đã phát hiện hai dòng đồng hợp tử ngọt lặn kép *sh2sh2su1su1* gồm D11 và D14. Chỉ thị SSR có tính đồng trội trong tự nhiên vì chúng có thể phân biệt các thể dị hợp tử với các thể đồng hợp tử. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra hai dòng D15 và D20 đồng hợp tử trội *SH2SH2SU1SU1*, các dạng dị hợp tử *SH2sh2* và *SU1su1* cũng đã được phát hiện. Trong đó, 10 dòng dị hợp tử *SH2sh2SU1su1* gồm D01, D02, D03, D06, D07, D08, D16, D17, D23, D28; 05 dòng dị hợp tử *SH2sh2SU1SU1* gồm D10, D12, D18, D27, D29; và 02 dòng D5 và D26 dị hợp tử *SH2SH2SU1su1*. Các giống ngô siêu ngọt và ngô ngọt tiêu chuẩn thương mại đều khai thác gen lặn *sh2* và *su1* tương ứng, các giống này khác biệt hẳn về mặt di truyền. Sự biểu hiện của các gen này có liên quan chặt chẽ tới kiểu hình hạt và hàm lượng đường trong hạt thường được đo bằng chỉ số TSS. Dạng hạt *su1su1* thường có độ ngọt thấp hơn và hạt ít nhăn hơn so với dạng hạt *sh2sh2* (Tracy & cs., 2019). Do vậy, đánh giá kiểu hình sẽ là cơ sở để xác nhận độ chính xác của phương pháp chọn lọc dựa trên chỉ thị phân tử.

3.3. Kết quả đánh giá đặc điểm nông học của các dòng tự phối

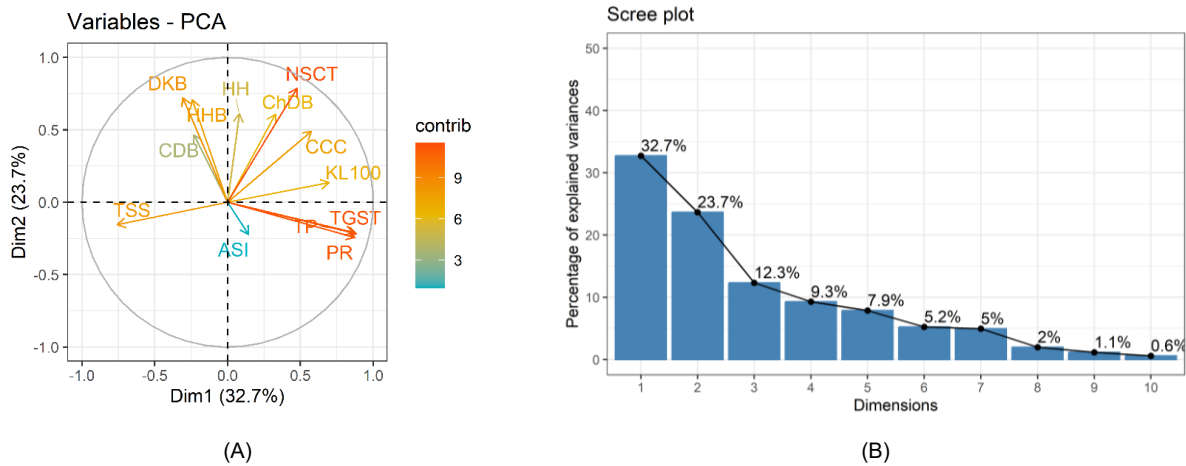
Đánh giá các đặc điểm nông học của 30 dòng trong vụ Đông 2022 tại Hà Nội cho thấy TGST của nhóm dòng *sh2sh2* ngắn hơn khoảng

2 ngày so với nhóm dòng *SH2/...SU1/...* (83,3 ngày), dài hơn nhóm dòng đồng hợp tử lặn *sh2sh2* (81,3 ngày) và nhóm dòng đồng hợp tử lặn *su1su1* (75,5 ngày). Nhóm dòng *sh2sh2* và nhóm dòng *sh2sh2su1su1* có chỉ tiêu TP, PR, ASI và TGST trung bình không có sự khác biệt lớn. CCC và CDB trung bình không có sự khác biệt lớn giữa các nhóm dòng đồng hợp tử lặn *sh2sh2* (164,3cm và 48,9cm), *su1su1* (161,8cm và 65,2cm), *sh2sh2su1su1* (155,9cm và 48,9cm), thấp hơn nhóm dòng *SH2/...SU1/...* (172,0cm và 54,5cm). Tính trạng ChDB, DKB, HHB, HH trung bình của các nhóm dòng không có sự khác biệt đáng kể. Tuy nhiên, trong cùng một nhóm *sh2sh2*, có sự dao động lớn ở các tính trạng này. Tính trạng KL100, NSCT và TSS có sự khác biệt lớn giữa các dòng tự phối. Trong đó, KL100 ở nhóm dòng *sh2sh2* (13,1g) và *sh2sh2su1su1* (14,0g) thấp nhất, thấp hơn hẳn so với nhóm dòng *su1su1* (16,0g) và nhóm dòng *SH2/...SU1/...* (19,9g). NSCT thấp nhất ở nhóm dòng *sh2sh2* (34,7g) và nhóm dòng *su1su1* (38,9g), thấp hơn nhóm *sh2sh2su1su1* (44,2g) và nhóm dòng *SH2/...SU1/...* (53,3g). Tổng lượng chất rắn hòa tan nhóm dòng đồng hợp tử lặn kép *sh2sh2su1su1* (21,1°Brix) cao hơn nhóm dòng *sh2sh2* (17,2°Brix) và vượt trội so với nhóm dòng *su1su1* (14,7°Brix). Trong cùng một nhóm dòng *sh2sh2* cũng có sự chênh lệch khá lớn (khoảng 2,2°Brix) ở chỉ tiêu TSS, dao động từ 15,7°Brix (D22) đến 17,9°Brix (D09). Điều này có thể do sự khác biệt về yếu tố phiên mã liên quan đến quá trình đồng hóa, tổng hợp D-fructose, D-glucose trong hạt và sự điều hòa của các gen làm chậm quá trình phân giải đường ở các dòng ngô ngọt *sh2sh2* này (Chen & cs., 2022). Kết quả đánh giá kiểu hình đã xác nhận sự chính xác của chỉ thị phân tử ở sự khác biệt lớn về chỉ tiêu tổng lượng chất rắn hòa tan giữa các dòng tự phối. Các dòng có chất lượng

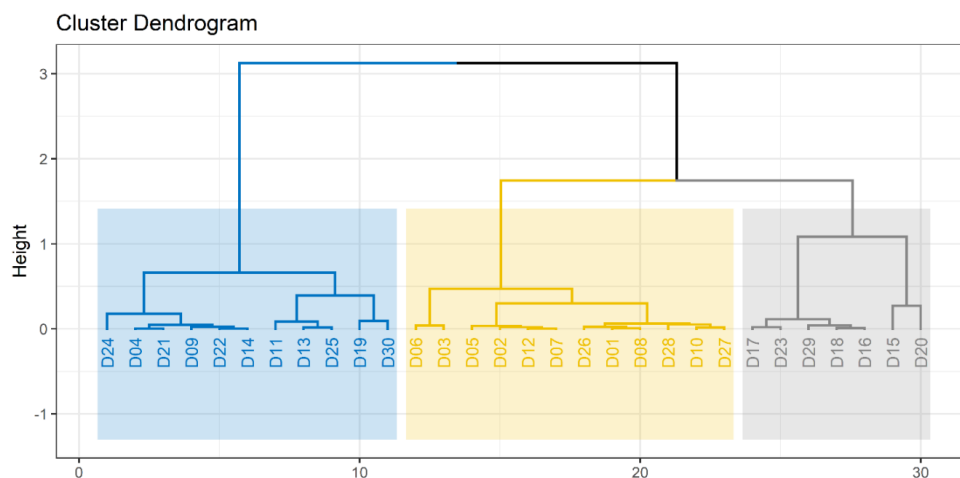
cao, hạt thường nhăn nheo và năng suất cá thể thường thấp hơn hẳn so với các dòng có chất lượng thấp. Do vậy, trong chọn lọc dòng ngô ngọt ở những đời đầu cần đánh đổi giữa chất lượng và năng suất. Nhà chọn giống ngô thực phẩm có thể áp dụng phương pháp chọn lọc độc lập, chỉ dựa trên 1-2 tính trạng quan trọng để sàng lọc số lượng lớn các dòng tự phối ở những giai đoạn này.

Phân tích thành phần chính là một phương pháp phân tích đa biến giúp giảm số lượng lớn tính trạng có tương quan với nhau thành các thành phần chính, dùng phân tích cả dữ liệu kiểu hình và kiểu gen, đã và đang được khai thác trong quá trình sàng lọc quần thể, xác định

các tính trạng quan trọng và minh họa cấu trúc quần thể thông qua biểu đồ biplot (Greenacre & cs., 2022). Phân tích thành phần chính 13 tính trạng nông học theo dõi cho thấy tổng hai thành phần chính đầu tiên đóng góp 56,4% tổng phương sai kiểu hình (Hình 5A, B). Trừ các tính trạng ASI, CDB, HH, các tính trạng còn lại đều có đóng góp lớn trong việc phân biệt kiểu hình giữa các dòng ngô ngọt tự phối với đóng góp lớn nhất tới tổng phương sai kiểu hình là TGST và NSCT. Ngoài ra, tính trạng TSS có vector dài và ngược chiều so với các tính trạng còn lại cho thấy đây là tính trạng có sự biến đổi và khác biệt lớn nhất, có thể dùng để phân biệt kiểu gen giữa các dòng tự phối (Hình 5A).



Hình 5. (A) Phân tích thành phần chính các tính trạng nông học và (B) mười thành phần chính đầu tiên



Hình 6. Phân tích cụm dựa trên thành phần chính phân nhóm đa dạng các dòng ngô ngọt tự phối dựa trên đặc điểm nông học

Xác định chỉ thị phân tử SSR liên kết với gen *sh2* và *su1* trên các dòng ngô ngọt tự phối

Bảng 3. Đặc điểm nông học của các dòng tự phối trong vụ Đông 2022 tại Hà Nội

Kiểu gen		Dòng	TP (ngày)	PR (ngày)	TGST (ngày)	ASI (ngày)	CCC (cm)	CDB (cm)	ChDB (cm)	DKB (cm)	HHB	HH	KL100 (g)	NSCT (g)	TSS (°Brix)
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D01	52,0	55,0	83,0	3,0	171,5	67,1	16,4	3,5	13,5	32,8	19,5	70,7	8,8
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D02	52,0	54,0	82,0	2,0	168,2	61,5	15,1	3,6	12,0	26,0	22,9	58,0	7,4
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D03	50,0	51,0	79,0	1,0	175,7	76,8	14,5	3,7	13,4	28,4	20,7	68,0	5,3
<i>sh2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D04	49,0	52,0	80,0	3,0	165,6	50,9	11,4	3,6	14,0	25,0	13,1	35,0	17,3
<i>SH2SH2</i>	<i>SU1su1</i>	D05	50,0	52,0	80,0	2,0	172,7	68,1	14,7	3,6	12,4	28,3	19,5	55,5	5,6
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D06	48,0	50,0	78,0	2,0	169,1	79,8	15,8	3,8	14,8	22,6	18,2	49,1	7,2
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D07	52,0	54,0	82,0	2,0	169,9	54,1	16,3	3,4	12,0	31,3	17,3	52,6	7,8
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D08	53,0	54,0	82,0	1,0	193,2	41,5	15,2	3,6	13,7	29,8	18,9	62,9	6,2
<i>sh2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D09	53,0	55,0	83,0	2,0	160,7	58,8	12,3	3,4	12,0	28,3	12,7	34,6	17,9
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1SU1</i>	D10	53,0	55,0	83,0	2,0	173,1	33,7	16,6	3,6	14,0	34,2	17,6	68,3	7,0
<i>sh2sh2</i>	<i>su1su1</i>	D11	46,0	49,0	77,0	3,0	160,4	64,6	15,2	3,7	14,0	30,4	13,8	47,3	21,6
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1SU1</i>	D12	51,0	53,0	81,0	2,0	168,6	49,2	15,4	3,4	12,8	30,8	18,9	60,7	6,1
<i>sh2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D13	50,0	51,0	79,0	1,0	154,5	38,4	14,4	3,6	14,0	32,0	13,5	48,8	17,5
<i>sh2sh2</i>	<i>su1su1</i>	D14	52,0	54,0	82,0	2,0	151,3	62,9	13,8	3,5	12,0	30,5	14,1	41,2	20,5
<i>SH2SH2</i>	<i>SU1SU1</i>	D15	57,0	60,0	90,0	3,0	181,7	36,2	12,0	3,3	11,5	22,5	21,1	43,8	5,3
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D16	51,0	53,0	81,0	2,0	163,3	40,8	15,2	3,5	12,9	15,6	20,3	32,1	6,6
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D17	54,0	56,0	84,0	2,0	158,8	50,9	14,6	3,1	12,0	16,9	19,8	31,5	5,0
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1SU1</i>	D18	51,0	53,0	81,0	2,0	156,9	40,4	13,7	3,4	12,0	21,0	18,1	36,1	4,8
<i>SH2sh2</i>	<i>su1su1</i>	D19	43,0	45,0	75,0	2,0	165,5	75,2	13,3	3,6	14,0	22,0	16,3	41,0	14,5
<i>SH2SH2</i>	<i>SU1SU1</i>	D20	61,0	64,0	93,0	3,0	177,3	60,6	16,4	3,5	13,3	31,3	20,5	69,9	4,4
<i>sh2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D21	52,0	54,0	82,0	2,0	165,7	55,5	13,2	3,7	14,0	18,0	13,2	27,5	18,8
<i>sh2sh2</i>	<i>SU1SU1</i>	D22	49,0	52,0	80,0	3,0	163,2	44,4	13,5	3,5	12,0	29,0	12,6	34,6	15,7
<i>SH2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D23	54,0	57,0	86,0	3,0	162,6	55,4	16,1	3,4	12,0	14,9	21,9	30,6	6,3
<i>sh2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D24	54,0	56,0	84,0	2,0	162,5	40,9	9,5	3,5	12,0	19,0	13,8	24,1	16,1
<i>sh2sh2</i>	<i>SU1su1</i>	D25	51,0	53,0	81,0	2,0	178,0	53,3	14,0	3,6	14,0	27,0	12,7	38,2	17,2

SH2SH2	SU1su1	D26	51,0	54,0	85,0	3,0	174,4	52,8	15,5	3,6	12,7	31,0	22,1	71,3	5,8
SH2sh2	SU1SU1	D27	56,0	58,0	88,0	2,0	187,8	63,1	13,4	3,8	14,2	23,5	19,3	52,1	6,2
SH2sh2	SU1su1	D28	52,0	55,0	83,0	3,0	175,6	46,3	14,3	3,6	13,0	29,0	18,6	57,0	7,0
SH2sh2	SU1SU1	D29	51,0	53,0	81,0	2,0	167,0	57,9	10,9	3,4	10,8	21,0	23,4	42,5	4,9
SH2sh2	su1su1	D30	44,0	47,0	76,0	3,0	158,1	55,2	12,8	3,5	12,0	24,0	15,7	36,8	14,8
Trung bình															
SH2/...SU1/...			52,6	54,8	83,3	2,2	172,0	54,5	14,8	3,5	12,8	25,8	19,9	53,3	6,2
sh2sh2			51,1	53,3	81,3	2,1	164,3	48,9	12,6	3,6	13,1	25,5	13,1	34,7	17,2
su1su1			43,5	46,0	75,5	2,5	161,8	65,2	13,1	3,6	13,0	23,0	16,0	38,9	14,7
sh2sh2su1su1			49,0	51,5	79,5	2,5	155,9	63,8	14,5	3,6	13,0	30,5	14,0	44,2	21,1



(A) *su1su1*



(B) *sh2sh2*



(C) *sh2sh2su1su1*

**Hình 7. (A) Kiểu hình bắp dòng đồng hợp tử lặn *su1su1*,
(B) dòng đồng hợp tử lặn *sh2sh2* và (C) đồng hợp tử lặn kép *sh2sh2su1su1***

Kết quả phân tích cụm dựa trên thành phần chính đã phân nhóm 30 dòng tự phối thành ba nhóm chính, giữa các nhóm có sự khác biệt chủ yếu ở tính trạng TSS (Hình 6). Trong nhóm I, chia thành ba nhóm nhỏ bao gồm hai dòng đồng hợp tử lặn *su1su1* gồm D19 và D30 được phân cùng nhóm. Hai dòng đồng hợp tử lặn kép *sh2sh2su1su1* D11 và D14 nằm trong cùng một nhóm lớn nhưng lại thuộc hai nhóm nhỏ khác nhau. Ba dòng D11, D13, D25 thuộc một nhóm nhỏ và 6 dòng D14, D04, D09, D21, D22, D24 thuộc nhóm nhỏ còn lại.

Vì các dòng ngô ngọt đồng hợp tử *sh2sh2* và *su1su1* có kiểu hình hạt riêng biệt khi hạt khô hoàn toàn (Hình 7), nên dễ dàng chọn lọc dựa trên kiểu hình, đặc biệt hiệu quả khi các dòng ngô ngọt được chọn lọc bằng phương pháp chọn lọc phả hệ. Tuy nhiên, khi tiến hành cải tiến quần thể ngô ngọt bằng cách lai các dòng ngô ngọt *sh2sh2* và *su1su1* này vào dòng/giống ngô tẻ hoặc ngô nếp ưu tú, việc chọn lọc các thể dị hợp tử (*SH2sh2* và *SU1su1*) trở nên khó khăn trong các thế hệ BC1F1 và BC2F2, vì chúng sẽ biểu hiện kiểu hình bình thường như được quan sát ở kiểu gen *SH2SH2* và *SU1SU1*. Mặt khác, gen lặn *sh2* giúp tăng độ ngọt của hạt có liên kết vật lý rất chặt với gen sinh tổng hợp sắc tố tím anthocyanin1 (*a1*) trên nhiễm sắc thể số 3, với khoảng cách chỉ khoảng 0,1 cM (Yao & cs., 2002). Gen trội *A1* tạo ra sắc tố anthocyanin, trong khi thể đồng hợp tử lặn (*a1a1*) không có sắc tố này. Chhabra & cs. (2019) nhận thấy rằng thiếu sắc tố tím ở gốc, thân là một chỉ thị hình thái hiệu quả để chọn lọc kiểu gen *sh2sh2*. Trong nghiên cứu này, đặc điểm kiểu hình không có sắc tố anthocyanin ở các dòng ngô ngọt vàng *sh2sh2* cũng tương tự được phát hiện. Tuy nhiên, khi *sh2* được lai vào một dòng/giống ngô tẻ hoặc ngô nếp ưu tú, thì cả dòng mang gen *SH2sh2* và *SH2SH2* đều sở hữu sắc tố, do đó anthocyanin không thể được sử dụng như một chỉ thị hình thái. Vì vậy, việc lựa chọn kiểu gen dựa trên các chỉ thị phân tử liên kết với gen *sh2* và *su1* có ý nghĩa lớn vì các thể dị hợp tử (*SH2sh2* và *SU1su1*) có thể được phân biệt với các thể đồng hợp tử (*SH2SH2* và *SU1SU1*).

Kiểu hình hạt của các dòng *sh2sh2* (Hình 7B) và dòng *sh2sh2su1su1* trông giống nhau

(Hình 7C), vì vậy khó có thể chọn lọc dựa trên kiểu hình. Do đó, việc phát triển các giống ngô ngọt ưu thế lai dựa trên các dòng đồng hợp tử lặn kép *sh2sh2su1su1* sẽ trở nên dễ dàng hơn khi ứng dụng chọn lọc có hỗ trợ của chỉ thị phân tử. Để tăng thêm độ ngọt của hạt, phát triển các dòng đột biến lặn kép *sh2sh2su1su1* là một chiến lược đã và đang được áp dụng trong các chương trình chọn giống ngô ngọt tại Ấn Độ (Mehta & cs., 2017a; Mehta & cs., 2017b). Các giống ngô ngọt có kiểu gen *SH2sh2su1su1* (*SH2SH2su1su1* × *sh2sh2su1su1*) và *sh2sh2SU1su1* (*sh2sh2SU1SU1* × *sh2sh2su1su1*) kết hợp hài hòa độ ngọt, mềm thơm của hai gen *sh2* và *su1* khi được lai tạo từ các dòng bố mẹ phát triển ở nghiên cứu này sẽ bổ sung lựa chọn mới cho thị trường ngô thực phẩm ăn tươi tại Việt Nam.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định chỉ thị umc2276 và umc1031 là tối ưu để phát hiện hai gen *sh2* và *su1*, tương ứng. Khảo sát trên 30 dòng ngô ngọt tự phối S3 đã chọn lọc được 7 dòng đồng hợp tử lặn *sh2sh2*, hai dòng đồng hợp tử lặn *su1su1* và hai dòng đồng hợp tử lặn kép *sh2sh2su1su1*.

Kết quả đánh giá kiểu hình đã xác nhận sự chính xác của chỉ thị phân tử ở sự khác biệt lớn về chỉ tiêu tổng lượng chất rắn hòa tan giữa các dòng tự phối. Trong đó, tổng lượng chất rắn hòa tan nhóm dòng đồng hợp tử lặn kép *sh2sh2su1su1* (21,1°Brix) cao hơn nhóm dòng *sh2sh2* (17,2°Brix) và vượt trội so với nhóm dòng *su1su1* (14,7°Brix).

Nghiên cứu đã cung cấp chỉ thị phân tử SSR hiệu quả nhất để chọn lọc các dòng ngô ngọt *su1su1*, *sh2sh2*, *sh2sh2 su1su1* và 11 dòng tự phối mang gen mục tiêu phục vụ cải tiến chất lượng ngô thực phẩm tại Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Dự án DA15-4.0/2019 đã cung cấp vật liệu khởi đầu để phát triển hai dòng ngô ngọt tự phối D21 (SH01) và D30 (SU02).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Baseggio M., Murray M., Magallanes-Lundback M., Kaczmar N., Chamness J., Buckler E.S., Smith M.E., Dellapenna D., Tracy W.F. & Gore M.A. (2020). Natural variation for carotenoids in fresh kernels is controlled by uncommon variants in sweet corn. *Plant Genome*. 13(1): e20008.
- Baveja A., Muthusamy V., Panda K.K., Zunjare R.U., Das A.K., Chhabra R., Mishra S.J., Mehta B.K., Saha S. & Hossain F. (2021). Development of multnutrient-rich biofortified sweet corn hybrids through genomics-assisted selection of *shrunk2*, *opaque2*, *lcyE* and *crtRB1* genes. *Journal of Applied Genetics*. 62(3): 419-429.
- Brewbaker J.L. & Martin I. (2015). Breeding tropical vegetable corns. *Plant Breeding Reviews*. 39: 125-198.
- Chen B., Feng S., Hou J., Zhu Y., Bao F., Han H., Tan H., Wang G. & Zhao F. (2022). Genome-wide transcriptome analysis revealing the genes related to sugar metabolism in kernels of sweet corn. *Metabolites*. 12.
- Chhabra R., Hossain F., Muthusamy V., Baveja A., Mehta B. & Zunjare R.U. (2019). Mapping and validation of Anthocyanin1 pigmentation gene for its effectiveness in early selection of *shrunk2* gene governing kernel sweetness in maize. *Journal of Cereal Science*. 87: 258-265.
- Dellaporta S.L., Wood J. & Hicks J.B. (1983). A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1(4): 19-21.
- Faostat (2021). Trade data: crops and livestock products. Retrieved from <https://www.fao.org/faostat/en/#data/TP> on Sep 10, 2021.
- Feng Z.L., Liu J., Fu F.L. & Li W.C. (2008). Molecular mechanism of sweet and waxy in maize. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*. 2(2): 93-100.
- Greenacre M., Groenen P.J.F., Hastie T., D'enza A.I., Markos A. & Tuzhilina E. (2022). Principal component analysis. *Nature Reviews Methods Primers*. 2(1): 100.
- Hossain F., Nepolean T., Vishwakarma A. K., Pandey N., Prasanna B.M. & Gupta H.S. (2015). Mapping and validation of microsatellite markers linked to *sugary1* and *shrunk2* genes in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 24(2): 135-142.
- Hu Y., Colantonio V., Müller B. S., Leach K. A., Nanni A., Finegan C., Wang B., Baseggio M., Newton C.J. & Juhl E.M. (2021). Genome assembly and population genomic analysis provide insights into the evolution of modern sweet corn. *Nature Communications*. 12(1): 1-13.
- Kleinhenz M.D. & Bumgarner R.N. (2012). Using °Brix as an indicator of vegetable quality instructions for measuring °brix in cucumber, leafy greens, sweet corn, tomato, and watermelon. Fact sheet HYG-1653-12, Agriculture and Natural Resources, The Ohio State University.
- Mehta B., Hossain F., Muthusamy V., Baveja A., Zunjare R., Jha S.K. & Gupta H.S. (2017a). Microsatellite-based genetic diversity analyses of *sugary1*-, *shrunk2*- and double mutant- sweet corn inbreds for their utilization in breeding programme. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 23(2): 411-420.
- Mehta B., Hossain F., Muthusamy V., Zunjare R., Sekhar J. & Gupta S. (2017b). Analysis of responses of novel double mutant (*sh2sh2/su1su1*) sweet corn hybrids for kernel sweetness under different sowing-and harvest-time. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 87: 1543-1548.
- Nguyễn Thị Nhài, Đặng Ngọc Hạ, Nguyễn Văn Diên, Đỗ Văn Dũng & Kiều Quang Luận (2020). Kết quả nghiên cứu chọn tạo và khảo nghiệm giống ngô đường lai ĐL89. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 4(113): 10-15.
- 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.
- Phạm Thị Thanh Hương, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Lê Thị Thanh Huyền & Lê Thị Hường (2019). Đánh giá khả năng chịu hạn của một số giống ngô ngọt bằng phương pháp gây hạn nhân tạo trong điều kiện nhà lưới. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. 20: 24-28.
- Revilla P., Anibas C.M. & Tracy W.F. (2021). Sweet corn research around the world 2015-2020. *Agronomy*. 11(3).
- Ruanjaichon V., Khammona K., Thunnom B., Suriharn K., Kerdri 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).
- Shull G.H. (1909). A pure-line method in corn breeding. *Journal of Heredity*. 5(1): 51-58.
- Tracy W.F., Shuler S.L. & Dodson-Swenson H. (2019). The use of endosperm genes for sweet corn

- improvement. in Plant Breeding Reviews. 43(1): 215-241.
- Trần Thị Thanh Hà, Vũ Văn Liết, Vũ Thị Bích Hạnh, Nguyễn Văn Hà, Dương Thị Loan & Hoàng Thị Thủy (2020). Chọn lọc và đánh giá khả năng kết hợp của một số dòng ngô ngọt. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 18(12): 1067-1076.
- Whitt S.R., Wilson L.M., Tenaillon M.I., Gaut B.S. & Buckler E.S. (2002). Genetic diversity and selection in the maize starch pathway. Proceedings of the National Academy of Sciences. 99(20): 12959.
- Wilson L.M., Whitt S.R., Ibañez A.M., Rocheford T.R., Goodman M.M. & Buckler E.S.I.V. (2004). Dissection of maize kernel composition and starch production by candidate gene association. The Plant Cell. 16(10): 2719-2733.
- Yao H., Zhou Q., Li J., Smith H., Yandea M., Nikolau B.J. & Schnable P.S. (2002). Molecular characterization of meiotic recombination across the 140-kb multigenic *al-sh2* interval of maize. Proceedings of the National Academy of Sciences. 99(9): 6157-6162.
- Zhang R., Huang L., Deng Y., Chi J., Zhang Y., Wei Z. & Zhang M. (2017). Phenolic content and antioxidant activity of eight representative sweet corn varieties grown in South China. International Journal of Food Properties. 20(12): 3043-3055