

# ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA NGUỒN GEN NGŨ NẾP VÀNG DỰA TRÊN KIỂU HÌNH VÀ CHỈ THỊ PHÂN TỬ SSR

Nguyễn Trung Đức<sup>1\*</sup>, Phạm Quang Tuấn<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Nguyệt Anh<sup>1</sup>, Nguyễn Quốc Trung<sup>2</sup>, Lê Thị Tuyết Châm<sup>3</sup>, Vũ Văn Liết<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

<sup>2</sup>*Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

<sup>3</sup>*Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

\*Tác giả liên hệ: ntduc@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 21.12.2022

Ngày chấp nhận đăng: 05.10.2023

## TÓM TẮT

Nghiên cứu này tiến hành nhằm đánh giá đa dạng di truyền của 15 nguồn gen ngô nếp vàng cùng 3 dòng đối chứng dựa trên 18 đặc điểm nông học và 14 chỉ thị SSR. Thí nghiệm đồng ruộng được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ với ba lần nhắc lại trong vụ Xuân 2022 tại Hà Nội. Kết quả cho thấy năng suất cả thể có tương quan thuận và rất chặt ở giá trị  $P < 0,01$  với đường kính bắp ( $r = 0,72$ ), khối lượng 100 hạt ( $r = 0,62$ ) và số hạt/hàng ( $r = 0,61$ ). Tổng lượng chất rắn hòa tan có tương quan nghịch  $P < 0,01$  với độ dày vỏ hạt ( $r = -0,62$ ). Phân tích thành phần chính cho thấy tất cả 18 tính trạng nông học đều có thể được sử dụng để phân nhóm đa dạng di truyền. Chỉ số PIC biến động từ 0,10 (*phi072* và *phi1277*) đến 0,32 (*phi2276*). Nguồn gen ngô được phân thành 3 nhóm với hệ số tương đồng 45,3 dựa trên kiểu hình và thành 6 nhóm ở hệ số tương đồng 0,21 dựa trên chỉ thị SSR. Bảy dòng gồm YW01, YW03, YW4, YW7, YW12, YW13, YW14 và 2 dòng đối chứng SWSyn1, UV có sự phân nhóm tương đồng về kiểu hình và kiểu gen. Dựa trên chỉ số MGIDI với áp lực chọn lọc 40% đã chọn được 5 nguồn gen triển vọng gồm YW10, YW13, YW12, YW07 và YW01.

Từ khóa: Ngô nếp vàng, kiểu hình, chỉ thị SSR, tương quan, phân tích thành phần chính.

## Assessment of Genetic Diversity of Yellow Waxy Corn Germplasm Based on Phenotype and SSR Markers

## ABSTRACT

This study aimed to assess the genetic diversity of 15 yellow waxy corn genotypes with 3 check lines using 18 agronomic traits and 14 SSR markers. The field experiment was arranged in a randomized complete block design with 3 replicates in 2022 Spring season in Hanoi. The results showed that single plant grain yield was strongly positively correlated with cob diameter ( $r = 0.72$ ), 100 grains weight ( $r = 0.62$ ), and number of kernels per row ( $r = 0.61$ ). Total soluble solids were negatively correlated ( $P < 0.01$ ) with pericarp thickness ( $r = -0.62$ ). Principal component analysis showed that all of the investigated traits could be used for phenotypic diversity analysis. PIC values ranged from 0.10 (*phi072* and *phi1277*) to 0.32 (*phi2276*). Corn genotypes were classified into 3 groups at the similarity coefficient 45.3 based on phenotype, and into 5 groups at the similarity coefficient 0.21 based on SSR markers. Seven lines viz., YW01, YW03, YW4, YW7, YW12, YW13, YW14 and two checks viz., SWSyn1, UV showed consistent in phenotypic and genotypic grouping. Five promising lines were selected viz., YW10, YW13, YW12, YW07, and YW01 based on MGIDI index with 40% selection pressure.

Keywords: Yellow waxy corn, phenotype, SSR marker, correlation, principal component analysis.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngô nếp vàng (*Zea mays* L. var. *ceratina*) là đột biến tự nhiên kết hợp giữa gen lặn *waxy* và sắc tố carotenoid ở hạt đã được nghiên cứu, sử

dụng phổ biến làm thực phẩm ăn tươi, hàng quà tại Hàn Quốc (Lee & cs., 2020), Trung Quốc (Zheng & cs., 2013), Thái Lan (Sukto & cs., 2020) và phổ biến ở một số địa phương tại Việt Nam. Không chỉ có độ dẻo, thơm của ngô nếp,

sắc tố carotenoid màu vàng, cam ở hạt ngô nếp vàng còn giàu các hợp chất thuộc nhóm xanthophyll và carotene. Đặc biệt là  $\beta$ -carotene - tiền vitamin A rất có lợi cho sức khỏe, bảo vệ chống lại một số bệnh ung thư, bệnh tim mạch, cải thiện chức năng của hệ thống miễn dịch và các bệnh về mắt (Muzhingi & cs., 2008). Sự thiếu hụt vitamin A, tập trung ở các nước đang phát triển sử dụng gạo trắng làm lương thực chính, là nguyên nhân chủ yếu gây mù lòa ở trẻ em và cũng là nguyên nhân lớn nhất gây tử vong đối với trẻ em dưới 5 tuổi trên toàn cầu (Haskell, 2012). Bổ sung dinh dưỡng thông qua thực phẩm chế biến từ ngô nếp vàng là chiến lược quan trọng để chống lại sự thiếu hụt dinh dưỡng. Hiện nay, Việt Nam chưa có các giống ngô nếp vàng ưu thế lai được thương mại hóa. Vì vậy, cấp thiết phải thu thập nguồn vật liệu đa dạng để phát triển dòng thuần và lai tạo tổ hợp lai ưu tú.

Trong chọn giống ngô ưu thế lai, thông tin đa dạng di truyền của quần thể ban đầu đóng vai trò quan trọng, quyết định sự thành công của các chương trình chọn tạo giống, giúp lập sơ đồ phả hệ, phân nhóm dị hợp dựa trên khoảng cách di truyền từ đó có chiến lược lai tạo phù hợp. Kiểu hình và chỉ thị phân tử đã được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu sự đa dạng di truyền và cấu trúc quần thể ở cây trồng. Các nghiên cứu dựa trên kiểu hình để phân nhóm đa dạng di truyền được sử dụng rộng rãi trên thế giới (Harakotr & cs., 2014; Sukto & cs., 2020; Tan & cs., 2022) và Việt Nam (Vũ Đăng Toàn & cs., 2021). Tuy nhiên, chỉ thị ADN được ưa chuộng trong các chương trình chọn giống ngô hiện đại vì không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường, do đó thúc đẩy quá trình chọn lọc ở ngay các thế hệ ban đầu. Với ưu điểm đồng trội, chi phí thấp, SSR đã trở thành chỉ thị phân tử ADN phổ biến nhất, có tính tái lập cao giữa các nghiên cứu, dùng để mô tả và xác định các biến dị di truyền trong quần thể tự nhiên của nhiều loài sinh vật. Như vậy, kết hợp thông tin kiểu hình và chỉ thị SSR để nghiên cứu phân nhóm di truyền nguồn gen ngô nếp vàng sẽ cung cấp thông tin chính xác và quan trọng cho việc xây dựng chiến lược phát triển dòng thuần.

Trong thập kỷ qua, Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã tiến hành thu thập nguồn gen ngô nếp vàng từ nguồn gen ngô địa phương và các giống ngô nếp vàng nhập nội từ Thái Lan, Hàn Quốc, Trung Quốc. Tìm hiểu thông tin đa dạng di truyền giữa các vật liệu là bước khởi đầu căn bản của tất cả các chương trình chọn giống. Do vậy, nghiên cứu này tiến hành xác định sự đa dạng di truyền nguồn gen ngô nếp vàng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử SSR phục vụ chương trình chọn giống ngô nếp vàng ưu thế lai tại Việt Nam.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu là 15 nguồn gen ngô nếp vàng trong đó gồm 5 giống thụ phấn tự do OPV (ký hiệu YW01-YW05) do Trung tâm TNTV cung cấp, 10 dòng ngô nếp vàng tự phối đời S4 (ký hiệu YW06 -YW15) từ các giống lai nhập nội có nguồn gốc Thái Lan, Hàn Quốc, Trung Quốc; đối chứng là 3 dòng thuần: D141 (nếp, trắng), SWsyn1 (ngọt vàng) và UV (ngọt, tím) chọn tạo bởi Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng (Bảng 1). Ba dòng đối chứng này sẽ được sử dụng làm cây thử để khảo sát ưu thế lai và khả năng kết hợp nguồn gen ngô nếp vàng ở các nghiên cứu tiếp theo.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm đồng ruộng được bố trí khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh với 3 lần nhắc lại trong vụ Xuân 2022, diện tích ô thí nghiệm 14m<sup>2</sup> (10m × 1,4m), gieo hàng cách hàng 60cm, cây cách cây 25cm. Bón phân, chăm sóc thí nghiệm, phòng trừ sâu bệnh hại được thực hiện theo Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 13381-2:2021 (Bộ Khoa học và Công nghệ, 2021). Mười tám tính trạng được nghiên cứu bao 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), chênh lệch tung phấn - phun râu (ASI, ngày), chiều cao cây (CCC, cm), chiều cao đóng bắp (CDB, cm), Góc lá (GOCLA, °), chiều dài cò (CDC, cm), Số nhánh cò cấp 1 (SNCC1, nhánh/cò), chiều dài bắp

(ChDB, cm), đường kính bắp (DKB, cm), số hàng hạt/bắp (HHB), số hạt/hàng (HH), khối lượng 100 hạt (P100, g), năng suất cá thể (NSCT, g/cây), độ dày vỏ hạt trung bình (DVH,  $\mu$ m) và hàm lượng tổng chất rắn hòa tan (TSS, °Brix). Hàm lượng tổng chất rắn hòa tan được đo vào giai đoạn thu bắp tươi (18-24 ngày sau thụ phấn) bằng máy đo độ ngọt điện tử Atago Pal-1. Đo độ dày vỏ hạt theo phương pháp cải tiến bởi So (2018). Hạt được ngâm 24 giờ trong nước sau đó cắt phần đỉnh hạt, mặt trước và mặt sau bằng lưới lam. Lớp vỏ ngoài ở các vùng hạt sau khi tách và làm khô ở nhiệt độ phòng được đo bằng vi trắc kế điện tử Asimeto 105-01-0.

Thí nghiệm phân tích đa dạng và phân nhóm di truyền sử dụng chỉ thị SSR với 14 cặp môi (Bảng 2). Chỉ thị SSR trải đều trên 10 nhiễm sắc thể (NST), theo kích thước của sản phẩm khuếch đại và được tuyển chọn thông qua các nghiên cứu trước đó (Bảng 2). Mẫu lá non của các dòng ngô được thu thập ở giai đoạn 3-5 lá thật, tách chiết ADN theo phương pháp CTAB. Ở giai đoạn đầu, phản ứng PCR được biến tính bằng cách làm nóng ở 95°C trong 5 phút. Điều kiện cho mỗi chu kỳ tiếp theo như

sau: biến tính ở 95°C trong 30 giây, gắn môi ở 53-63°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 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. Phân tích số liệu

Số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel, phân tích bằng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố (one-way ANOVA) trên phần mềm Statistix 10. Sai số nhỏ nhất có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,05$  ( $LSD_{0,05}$ ) và hệ số biến động (CV%) được tính trên phần mềm Statistix 10.

Phân tích tương quan sử dụng gói “metan”, phân tích thành phần chính bằng gói “factoextra”, chọn lọc vật liệu ngô nếp vàng ưu tú theo chỉ số chọn lọc kiểu gen đa tính trạng MGIDI (Multi-Trait Genotype - Ideotype Distance Index) bằng gói “metan” trên phần mềm R 4.1.3.

**Bảng 1. Nguồn gen ngô nếp vàng nghiên cứu**

Nhóm	TT	Ký hiệu dòng	Tên nguồn gen	Đời tự phối	Nguồn gốc	
OPV	1	YW01	Nếp vàng Ktor lin	-	Trung tâm Tài nguyên thực vật	
	2	YW02	Nếp vàng Chư Sê	-		
	3	YW03	Nếp vàng Bồ Lính 2	-		
	4	YW04	Nếp vàng Nậm Ngá	-		
	5	YW05	Nếp vàng Phiêng Pắn 1	-		
Dòng tự phối S4	6	YW06	Thai01	4	Thái Lan	
	7	YW07	Thai02	4		
	8	YW08	Thai03	4		
	9	YW09	HQ01	4	Hàn Quốc	
	10	YW10	HQ02	4		
	11	YW11	HQ03	4		
	12	YW12	HQ04	4		
	Dòng thuần đối chứng	13	YW13	YK01	4	Trung Quốc
		14	YW14	QT01	4	
		15	YW15	QT02	4	
Dòng thuần đối chứng	16	D141			Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng chọn tạo	
	17	SWsyn1				
	18	UV				

**Bảng 2. Danh sách chỉ thị SSR được sử dụng**

Tên mồi	Vị trí trên NST	Trình tự
<i>phi308707</i>	1,10	F-GCAACAAGATCCAGCCGAT R-GTCGCCCTCATATGACCTTC
<i>phi083</i>	2,04	F-CAAACATCAGCCAGAGACAAGGAC R-ATTCATCGACGCGTCACAGTCTACT
<i>phi101049</i>	2,09	F-CCGGGAAGTTGTTTCATCG R-CCACGTCCATGATCACACC
<i>phi029</i>	3,04	F-TTGTCTTTCTTCCCTCCACAAGCAGCGAA R-ATTTCCAGTTGCCACCGACGAAGAAGTT
<i>phi102228</i>	3,04-3,05	F-ATTCCGACGCAATCAACA R-TTCATCTCCTCCAGGAGCCTT
<i>phi072</i>	4,00	F-ACCGTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT R-GACAGCGCGCAAATGGATTGAACT
<i>phi079</i>	4,05	F-TGGTGCTCGTTGCCAAATCTACGA R-GCAGTGGTGGTTTCGAACAGACAA
<i>phi093</i>	4,08	F-AGTGCCTCAGCTTCATCGCCTACAAG R-AGGCCATGCATGCTTGCAACAATGGATACA
<i>phi299852</i>	6,08	F-GATGTGGGTGCTACGAGCC R-AGATCTCGGAGCTCGGCTA
<i>phi328175</i>	7,04	F-GGGAAGTGCTCCTTGACAG R-CGGTAGGTGAACGCGGTA
<i>phi233376</i>	8,03	F-CCGGCAGTCGATTACTCC R-CGAGACCAAGAGAACCCCTCA
<i>phi032</i>	9,04	F-CTCCAGCAAGTGATGCGTGAC R-GACACCCGGATCAATGATGGAAC
<i>phi108411</i>	9,06	F-CGTCCCTTGATTTCGAC R-CGTACGGGACCTGTCAACAA
<i>phi96342</i>	10,02	F-GTAATCCCACGTCCTATCAGCC R-TCCAACCTGAACGAACCTCCTC

Chỉ số đa dạng PIC (Polymorphism Information Content) được tính theo công thức:  $PIC = 1 - \sum f_i^2$ . Trong đó  $f_i$  là tần số của alen 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. Biểu đồ phân nhóm đa dạng di truyền dựa trên kiểu hình được xây dựng dựa trên khoảng cách Euclidean, phân nhóm đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị SSR được xây dựng dựa trên hệ số tương đồng Dice bằng phương pháp phân cụm UPGMA trên phần mềm NTSYS-pc 2.10.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Đặc điểm nông học của nguồn gen ngô thí nghiệm

Kết quả cho thấy thời gian từ gieo đến tung phần của các dòng ngô thí nghiệm trong vụ Xuân 2022 tại Hà Nội dao động từ 60 ngày (YW11, YW15) đến 74 ngày (YW02), trung bình nhóm OPV là 68,6 ngày, nhóm dòng tự phối S4 là 65,9 ngày và nhóm dòng thuần đối chứng là 66,0 ngày (Bảng 3). Thời gian thu bắp tươi dao động từ 80,0 ngày (YW11) đến 96 ngày (YW02).

Nhóm OPV trung bình có thời gian thu bắp tươi dài nhất với 90,2 ngày, nhóm dòng tự phối S4 và nhóm dòng thuần đối chứng có thời gian thu bắp tươi tương đương nhau với là 87,4 ngày và 87,3 ngày, tương ứng. Thời gian sinh trưởng của các dòng ngô dao động từ 93,0 ngày (YW11) đến 110,0 ngày (YW02), trung bình đạt 103,2 ngày ở nhóm OPV, 100,2 ngày ở nhóm dòng tự phối S4 và 99,3 ngày ở nhóm dòng thuần đối chứng. Thời gian sinh trưởng dài tập trung ở nhóm OPV, trung bình dài hơn có ý nghĩa thống kê khoảng 3-4 ngày so với hai nhóm còn lại. Thời gian sinh trưởng ngắn là một trong những mục tiêu chính trong các chương trình chọn tạo giống ngô giúp luân canh tăng vụ, trốn tránh các điều kiện thời tiết bất thuận qua đó thích ứng với biến đổi khí hậu. Nguồn gen ngô nếp vàng YW2 (110 ngày) có thời gian sinh trưởng dài có thể được cải tiến song hành tính trạng này và chất lượng bằng cách lai với dòng thuần ngô ngọt có thời gian sinh trưởng ngắn SWsyn1 (97 ngày). Các dòng nghiên cứu phần lớn có khoảng chênh lệch tung phần - phun râu từ 1-3 ngày, trừ các dòng YW14, YW02, YW05 (khoảng 4-5 ngày). Chiều cao cây dao động từ 150,1cm (YW13) đến 254,0cm (YW03). Chiều cao cây trung bình cao nhất ở nhóm OPV (225,8cm) có, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm dòng tự phối S4 (173,8cm) và nhóm dòng thuần đối chứng (159,7cm). Góc lá của các dòng nghiên cứu dao động từ 38,0° (UV) đến 73,5° (YW11), trong đó nhóm dòng thuần đối chứng có góc lá trung bình hẹp nhất (43,3°), nhóm OPV và dòng tự phối S4 không có sự chênh lệch lớn có ý nghĩa thống kê về góc lá, với 55,5° và 57,9°, tương ứng. Xu thế chọn giống ngô hiện đại là chọn lọc kiểu cây lá gọn, hẹp, giúp cây quang hợp tốt hơn, qua đó tăng mật độ và tăng năng suất trên một đơn vị diện tích (Sandhu & Dhillon, 2021). Góc lá là tính trạng đa gen, kiểm soát bởi nhiều locus, chịu tác động bởi các hiệu ứng cộng, trội, tương tác át chế và tương tác với môi trường (Sandhu & Dhillon, 2021). Cần có cả dòng bố và mẹ có góc lá hẹp để cho con lai có kiểu cây lý tưởng nhất. Do đó, nhà chọn giống cần quan tâm tới tính trạng này khi đưa vào phương trình chọn lọc kiểu gen đa tính trạng.

Năng suất cá thể của các dòng ngô thí nghiệm từ 24,4 g/cây (YW02) đến 55,3 g/cây (YW05), trung bình nhóm dòng tự phối S4 là 41,7 g/cây, cao hơn hẳn ở mức có ý nghĩa thống kê so với nhóm OPV (36,9 g/cây) và nhóm dòng thuần đối chứng (34,5 g/cây) (Bảng 3). Chiều dài bắp dao động từ 9,0cm (YW02) đến 16,5cm (UV). Đường kính bắp dao động từ 3,2cm (YW02) đến 4,3cm (YW12). Các yếu tố cấu thành năng suất gồm số hàng hạt/bắp dao động từ 11,2 (YW06) đến 16,0 (YW09), số hạt/hàng dao động từ 16,3 (YW02) đến 30,7 (YW13) và khối lượng 100 hạt trong khoảng 11,8g (SWsyn1) đến 24,0g (YW05). Tổng lượng chất rắn hòa tan của các dòng ngô dao động từ 10,2°Brix (YW03) đến 17,5°Brix (UV), trung bình thấp nhất là ở nhóm OPV (11,2°Brix), tiếp đến là nhóm dòng tự phối S4 (12,0°Brix) và cao nhất ở nhóm dòng thuần đối chứng (15,7°Brix) (Bảng 3). Độ dày vỏ hạt trung bình trung bình dao động từ 39,1µm (YW13) đến 90,4µm (YW03). Trong đó, nhóm OPV có vỏ hạt trung bình dày nhất (74,6µm), dày hơn hẳn so với nhóm dòng tự phối S4 (50,7µm) và nhóm dòng thuần đối chứng (47,1µm) ở mức có ý nghĩa thống kê. So (2018) khi nghiên cứu trên 2414 chủng ngô tại Hàn Quốc đã đề xuất rằng các vật liệu ngô có độ dày vỏ hạt < 50µm là phù hợp để phát triển các giống ngô thực phẩm ăn tươi. Như vậy, các dòng YW04 (49,9µm), YW09 (43,1µm), YW13 (39,1µm), YW14 (45,2µm) và dòng thuần SWsyn1 (45,8µm), UV (40,5µm) có độ dày vỏ hạt nằm trong khoảng này. Độ dày vỏ hạt có hệ số di truyền cao, trong khoảng 0,70-0,82 trên ngô nếp (Choe & Rocheford, 2012), từ 0,66 đến 0,73 trên ngô ngọt, chịu ảnh hưởng bởi cả hiệu ứng cộng, hiệu ứng trội, tương tác át chế và ít bị ảnh hưởng bởi môi trường (Wu & cs., 2020). Do đó, nhà chọn giống có thể chọn lọc tính trạng này ở ngay từ các thế hệ ban đầu để có các dòng bố mẹ mỏng vỏ tạo ra con lai chất lượng cao.

### 3.2. Tương quan giữa các tính trạng nghiên cứu

Kết quả phân tích tương quan Pearson cho thấy NSCT có tương quan thuận và chặt nhất với DKB ( $r = 0,72$ ) ở mức có ý nghĩa thống kê  $P < 0,001$ ; tương quan thuận ở mức  $P < 0,01$  với

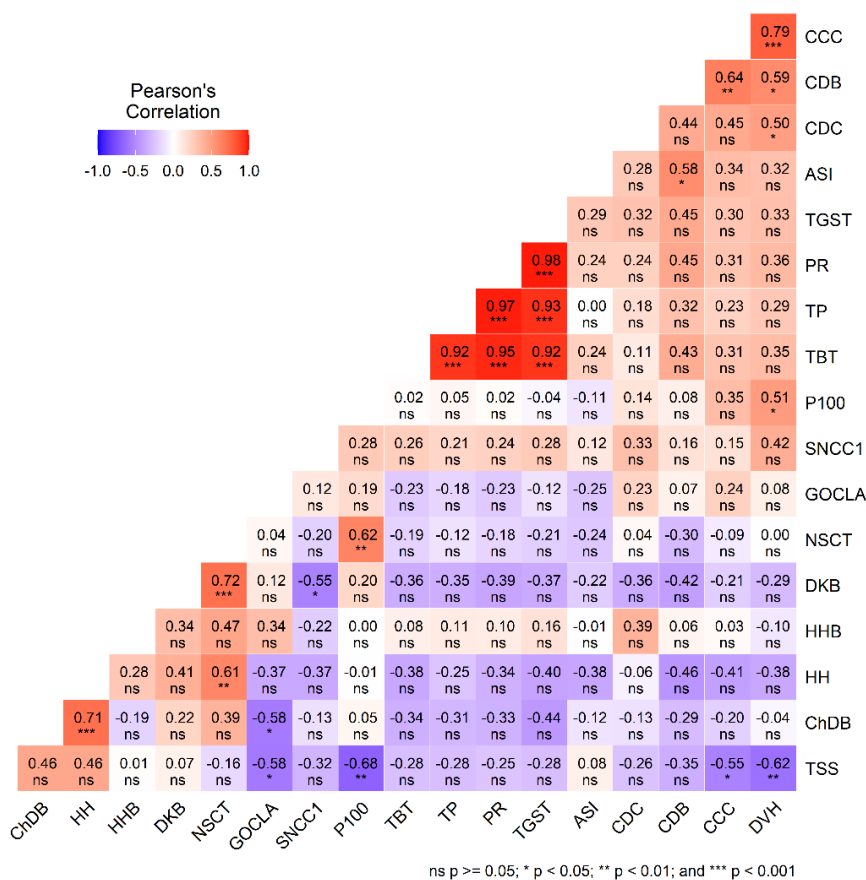
P100 ( $r = 0,62$ ) và HH ( $r = 0,61$ ) (Hình 1). Năng suất hạt của các dòng bố mẹ ảnh hưởng năng suất hạt lai F1 và tiềm năng thương mại hóa của giống, là tính trạng đa gen, di truyền phức tạp. Mỗi tương quan thuận và chặt này đã được phát hiện trên các nghiên cứu trên cây ngô trước đó (Sukto & cs., 2020; Tan & cs., 2022). Sự tương quan thuận và chặt giữa NSCT với 03 tính trạng cấu thành năng suất DKB, P100, HH là cơ sở cải tiến năng suất thông qua cải tiến các tính trạng cấu thành năng suất này. Ví dụ, áp dụng phương pháp chọn lọc lặp lại mới mục tiêu đường kính bắp lớn, khối lượng hạt cao và số hạt/hàng nhiều sẽ cải thiện năng suất dòng bố mẹ.

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy TSS có tương quan nghịch ở mức có ý nghĩa thống kê  $P < 0,01$  với DVH ( $-0,62$ ). Từ mỗi tương quan này cho thấy các dòng ngô có vỏ hạt mỏng thường có chất lượng cao hơn và ngược lại. TGST có tương quan thuận và rất chặt với TP,

PR, TBT với hệ số  $r > 0,92$  ở  $P < 0,001$ . Do đó chỉ cần quan tâm tới một tính trạng trong nhóm tính trạng sinh trưởng để phân loại và chọn lọc nguồn gen. Thông thường, thời gian phun râu sẽ được các nhà chọn giống quan tâm chính do ảnh hưởng trực tiếp tới thời gian lai tạo và chọn lọc sớm các cá thể ban đầu.

### 3.3. Phân tích thành phần chính các tính trạng nông học theo dõi

Phân tích thành phần chính là một phương pháp học máy không giám sát, phân tích đa biến, được ứng dụng để đánh giá tầm quan trọng của các đặc điểm nông học trong các chương trình chọn giống cây trồng (Ullah & cs., 2022). Kết quả phân tích thành phần chính các tính trạng nông học nghiên cứu cho thấy tổng hai phần chính PC1 và PC2 giải thích 50,4% tổng số biến thể trong dữ liệu (Hình 2).



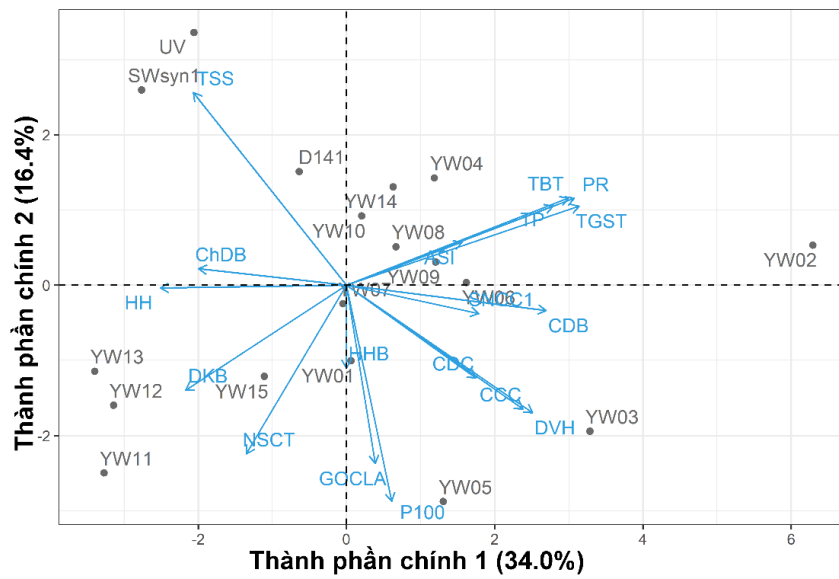
Ghi chú: Giá trị từ -1 đến 1 biểu thị hệ số tương quan Pearson

Hình 1. Biểu đồ nhiệt biểu thị sự tương quan giữa các tính trạng theo dõi

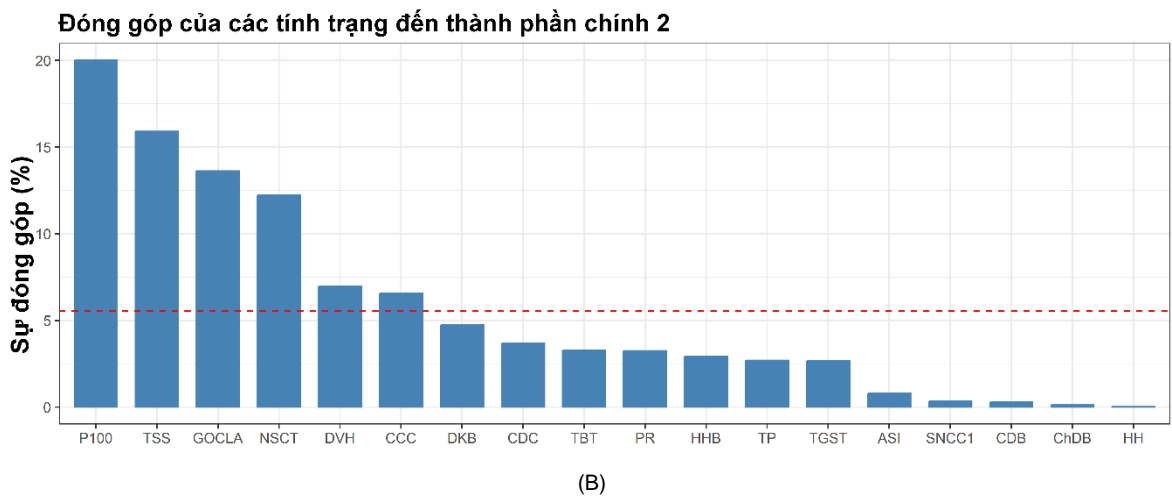
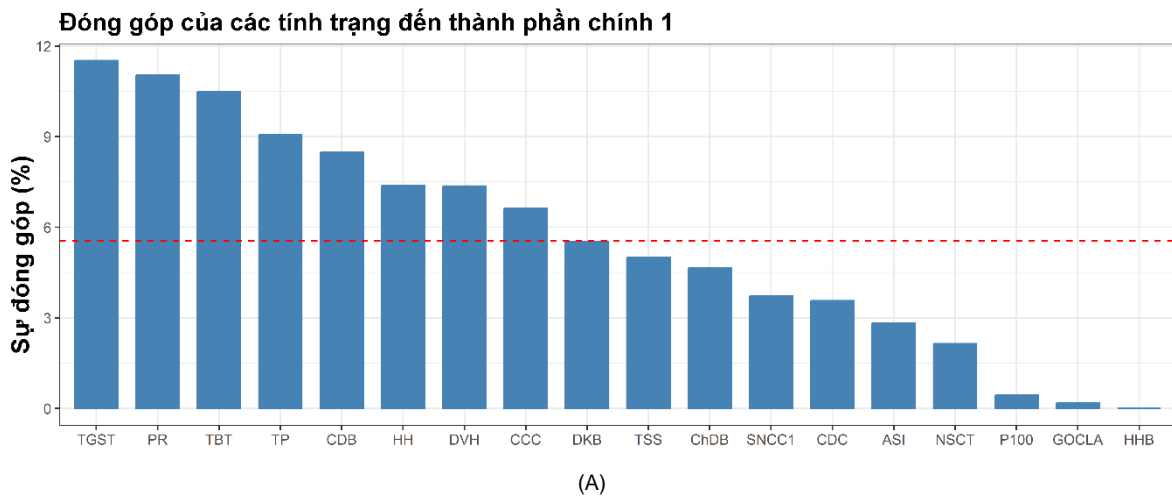
Đánh giá đa dạng di truyền của nguồn gen ngô nếp vàng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử SSR

**Bảng 3. Đặc điểm nông học của các dòng ngô nếp vàng trong vụ Xuân 2022 tại Hà Nội**

Nhóm	Dòng	Thời gian tung phần (ngày)	Thời gian phun râu (ngày)	Thời gian thu bắp tươi (ngày)	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Chênh lệch tung phần - phun râu (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Chiều cao đống bắp (cm)	Góc lá (độ)	Chiều dài cờ (cm)	Số nhánh cờ cấp 1	Chiều dài bắp (cm)	Đường kính bắp (cm)	Số hàng hạt/bắp	Số hạt/hàng	Khối lượng 100 hạt (g)	Năng suất cá thể (g/cây)	Độ dày vỏ hạt trung bình (µm)	Tổng lượng chất rắn hòa tan (°Brix)
OPV	YW01	66,0	68,0	87,0	97,0	2,0	221,4	91,6	48,6	32,3	7,5	15,2	3,8	12,0	24,0	21,9	40,1	70,3	11,5
	YW02	74,0	78,0	96,0	110,0	4,0	225,9	92,7	57,2	45,3	14,1	9,0	3,2	14,0	16,3	18,4	24,4	77,3	10,6
	YW03	71,0	73,0	91,0	105,0	2,0	254,0	86,0	62,7	49,7	10,2	13,8	3,7	14,0	23,4	18,1	39,5	90,4	10,2
	YW04	68,0	71,0	90,0	103,0	3,0	210,6	63,7	56,0	32,9	7,0	10,7	3,7	12,0	19,1	15,1	25,1	49,9	12,1
	YW05	64,0	69,0	87,0	101,0	5,0	217,1	82,0	53,2	44,0	12,5	14,1	4,1	14,0	22,3	24,0	55,3	85,0	11,4
	TB	68,6	71,8	90,2	103,2	3,2	225,8	83,2	55,5	40,8	10,3	12,6	3,7	13,2	21,0	19,5	36,9	74,6	11,2
Dòng tự phối S4	YW06	70,0	71,0	91,0	103,0	1,0	173,1	59,5	60,2	30,4	17,8	11,9	3,7	11,2	18,8	19,9	31,5	64,4	10,5
	YW07	66,0	69,0	90,0	101,0	3,0	189,5	65,3	48,8	32,0	10,2	14,1	4,0	12,7	24,0	18,8	43,5	69,0	11,4
	YW08	72,0	74,0	92,0	106,0	2,0	152,6	71,1	54,6	37,5	5,7	12,0	4,1	14,8	23,6	16,4	43,5	56,0	11,7
	YW09	71,0	74,0	94,0	106,0	3,0	196,2	84,6	62,0	30,7	7,0	10,7	4,2	16,0	23,0	15,7	43,9	43,1	12,6
	YW10	72,0	74,0	92,0	106,0	2,0	165,0	62,2	46,5	35,3	7,5	12,0	4,1	13,0	24,0	19,8	47,0	40,8	12,7
	YW11	60,0	61,0	80,0	93,0	1,0	169,4	51,2	73,5	34,6	7,8	11,8	4,2	14,7	21,3	19,0	45,2	42,6	12,1
	YW12	63,0	65,0	83,0	97,0	2,0	180,9	51,9	56,6	33,3	7,8	15,6	4,3	13,3	27,0	20,0	54,8	45,0	11,9
	YW13	62,0	63,0	81,0	95,0	1,0	150,1	54,7	58,5	41,1	9,9	13,3	3,8	14,8	30,7	18,5	48,2	39,1	13,0
	YW14	63,0	67,0	86,0	100,0	4,0	161,0	88,6	58,5	39,2	11,7	12,3	3,5	12,0	19,6	14,2	24,9	45,2	12,5
	YW15	60,0	63,0	85,0	95,0	3,0	199,8	72,8	59,8	31,0	6,3	11,2	4,1	12,7	20,2	18,0	34,8	62,0	11,3
TB	65,9	68,1	87,4	100,2	2,2	173,8	66,2	57,9	34,5	9,2	12,5	4,0	13,5	23,2	18,0	41,7	50,7	12,0	
Dòng thuần	D141	70,0	72,0	91,0	101,0	2,0	156,0	60,0	45,0	28,4	8,3	15,2	3,7	12,0	25,0	18,9	42,5	55,1	12,9
	SWsyn1	62,0	65,0	81,0	97,0	3,0	165,2	66,0	47,0	32,4	6,5	14,3	3,9	12,0	24,0	11,8	25,5	45,8	16,6
	UV	66,0	69,0	90,0	100,0	3,0	157,9	58,0	38,0	35,5	9,7	16,5	3,8	14,0	27,0	12,5	35,4	40,5	17,5
	TB	66,0	68,7	87,3	99,3	2,7	159,7	61,3	43,3	32,1	8,2	15,3	3,8	12,7	25,3	14,4	34,5	47,1	15,7
LSD <sub>0,05</sub>	-	-	2,2	2,5	-	10,6	7,8	1,7	4,3	4,6	1,5	0,3	1,7	3,8	1,3	4,0	5,8	1,1	
CV%	-	-	4,5	5,3	-	12,8	10,5	3,1	4,4	12,8	4,8	5,9	4,1	6,6	3,9	7,1	6,6	4,3	



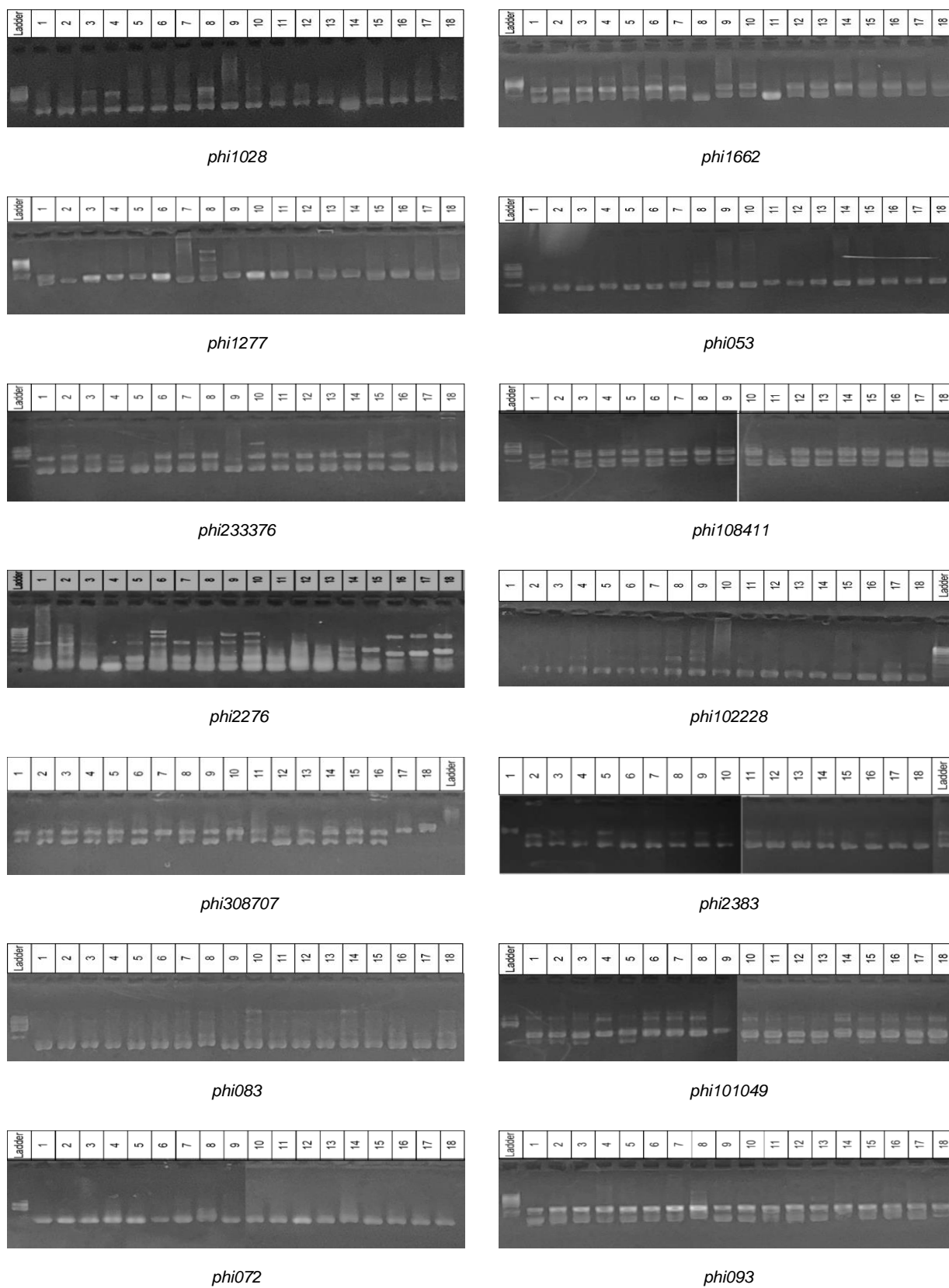
Hình 2. Phân tích thành phần chính các tính trạng theo dõi



Hình 3. Đóng góp của các tính trạng đối với (A) thành phần chính PC1 và (B) thành phần chính PC2



Đánh giá đa dạng di truyền của nguồn gen ngô nếp vàng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử SSR



Ghi chú: Ladder: Băng chuẩn; thứ tự từ 1 đến 18 tương ứng với thứ tự nguồn gen tại bảng 1.

Hình 4. Ảnh điện di của 14 chỉ thị SSR trên 18 dòng ngô nghiên cứu

Vectơ tính trạng TSS ngược chiều với các tính trạng còn lại biểu thị sự tương phản lớn giữa tính trạng chất lượng và các tính trạng còn lại, cho thấy đây là tính trạng có khác biệt chính giữa các vật liệu ngô nếp vàng và các dòng thuần đối chứng (SWsyn1, UV và D141).

Dòng YW11, YW12, YW13 và YW15 ở vị trí cùng chiều và gần nhất vectơ NSCT và ngược chiều vectơ tính trạng TGST cho thấy không chỉ có năng suất cá thể cao, các dòng này có thời gian sinh trưởng ngắn, do vậy phù hợp để phát triển dòng bố mẹ lai tạo giống ngắn ngày. Tất cả các tính trạng nghiên cứu đều cho có vectơ tương đối dài cho thấy sự biến đổi kiểu hình lớn, do vậy có thể được sử dụng để phân nhóm đa dạng di truyền ở các nguồn gen ngô thí nghiệm. PC1 chiếm 34,0% tổng số biến thể, phần lớn bị ảnh hưởng > 5% bởi 4 tính trạng sinh trưởng (TGST, PR, TBT, TP), 2 tính trạng hình thái (CCC, CDB), 2 tính trạng cấu thành năng suất (DKB, HH) và 1 tính trạng chất lượng (DVH) (Hình 3A). PC2 giải thích 16,4% sự thay đổi trong dữ liệu, phần lớn bị chi phối > 5% bởi các tính trạng P100, TSS, GOCLA, DVH, CCC (Hình 3B).

### 3.4. Phân tích đa dạng di truyền dựa trên chỉ thị SSR

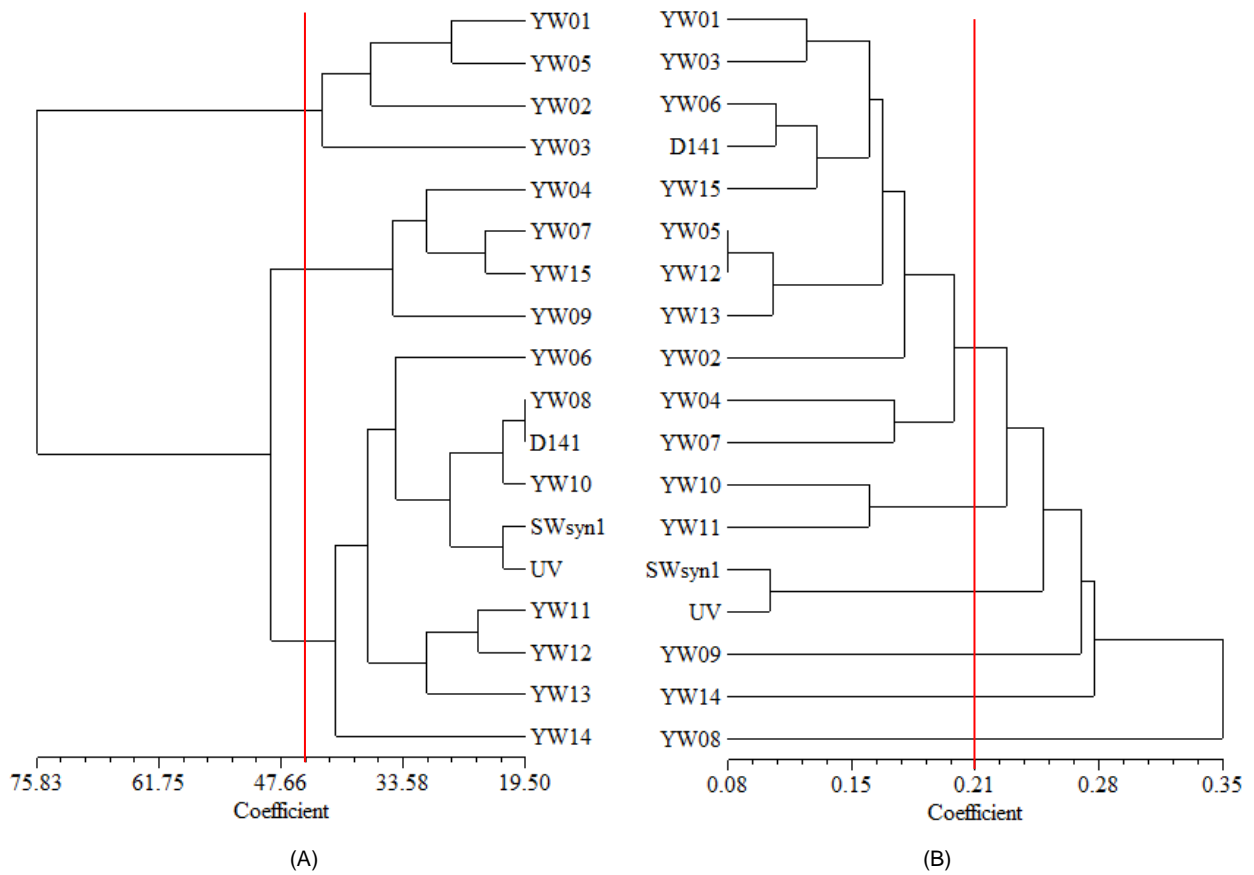
Nghiên cứu đã thực hiện khảo sát 14 chỉ thị SSR để phân tích đa dạng di truyền trên mẫu lá của 18 nguồn gen đã tách chiết được cho thấy mỗi cho băng vạch ít khi chạy với 18 mẫu giống ngô nếp vàng là: *phi1028* và mỗi *phi072*; mỗi cho nhiều băng vạch nhất là mỗi *phi2276*; trung bình là 28 băng/mỗi (Hình 4). Một số dòng tự phối xuất hiện nhiều hơn một vạch trong quá trình khuếch đại, điều này có thể là kết quả của bản chất đồng trội của các chỉ thị SSR.

Chỉ số PIC thể hiện tính thông tin của các locus SSR và khả năng phát hiện sự khác biệt giữa các dòng tự phối dựa trên mối quan hệ di truyền của chúng. Chỉ số PIC thể hiện chỉ số đa hình của 14 chỉ thị SSR biến động từ 0,10 đến 0,32 (Bảng 4). Mỗi *phi1277* và *phi072* có chỉ số PIC thấp nhất là 0,10; mỗi *phi2276* có chỉ số PIC cao nhất là 0,32. Giá trị PIC càng lớn tức là mức độ đa hình của locus do mỗi khuếch đại càng cao, tức là càng nhiều alen được sinh ra. Chỉ số PIC trung bình của 14 mỗi là 0,195. Locus với số lượng lớn alen xuất hiện với tần suất bằng nhau sẽ có giá trị PIC cao nhất (Bảng 4).

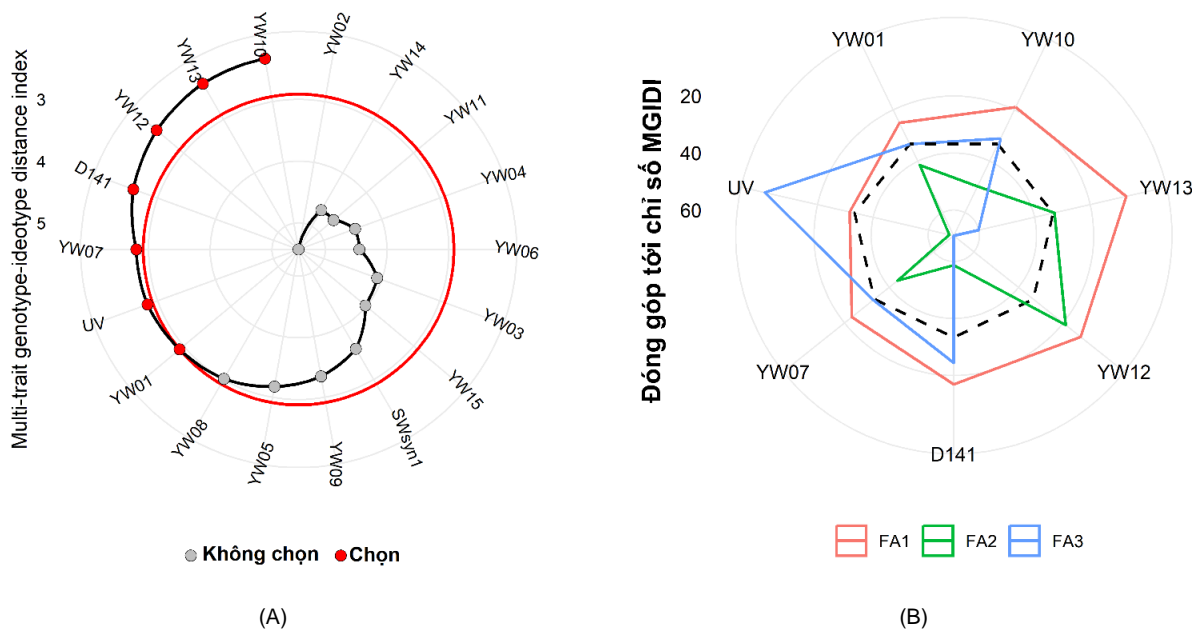
**Bảng 4. Số alen thể hiện và hệ số PIC của 14 cặp mỗi SSR**

Mỗi	Số locus	Locus đa hình	Tỉ lệ (%)	PIC
<i>phi1028</i>	2	1	50	0,20
<i>phi1662</i>	3	2	67	0,22
<i>phi1277</i>	4	3	75	0,10
<i>phi053</i>	3	2	67	0,07
<i>phi233376</i>	4	3	75	0,21
<i>phi108411</i>	4	4	100	0,21
<i>phi2276</i>	7	6	86	0,32
<i>phi102228</i>	5	4	80	0,22
<i>phi308707</i>	3	3	100	0,19
<i>phi2383</i>	3	2	67	0,20
<i>phi083</i>	4	3	75	0,23
<i>phi101049</i>	4	3	75	0,28
<i>phi072</i>	2	1	50	0,10
<i>phi093</i>	5	4	80	0,18
Tổng	53	41		
Trung bình	3,79	2,93	77	0,195

Đánh giá đa dạng di truyền của nguồn gen ngô nếp vàng dựa trên kiểu hình và chỉ thị phân tử SSR



**Hình 5. Sơ đồ phân cụm**  
của các dòng ngô thí nghiệm (A) dựa trên kiểu hình và (B) dựa trên chỉ thị SSR



**Hình 6. (A) Biểu đồ radar chọn lọc dòng bằng chỉ số MGIDI,**  
**(B) Điểm mạnh và điểm yếu của các dòng được chọn theo các nhóm tính trạng**

### 3.5. Phân nhóm đa dạng di truyền dựa trên kiểu hình và chỉ thị SSR

Kết quả phân nhóm đa dạng di truyền từ 18 tính trạng nông học dựa trên khoảng cách Euclidean, ở hệ số tương đồng 45,3 cho thấy nguồn gen ngô được phân thành 3 nhóm lớn (Hình 5A). Nhóm I gồm 4 vật liệu: YW01, YW02, YW03, YW05 đều là các giống OPV. Nhóm II gồm 4 vật liệu: YW04, YW07, YW09 và YW15. Nhóm III là các vật liệu còn lại có cùng nhóm với các dòng thuần đối chứng. Việc phân nhóm nguồn gen ngô nếp vàng dựa trên kiểu hình giúp hiểu rõ đặc điểm của các vật liệu này, là cơ sở cho việc chọn lọc dòng bố mẹ, tạo lập nhóm ưu thế lai theo tính trạng mục tiêu và mở rộng nền di truyền nguồn gen. Ví dụ, để chọn dòng có tính trạng toàn diện về năng suất, chất lượng có thể tập trung vào nhóm III. Nhóm I và II có thời gian sinh trưởng khá dài, cao cây, năng suất và chất lượng trung bình. Các vật liệu thuộc nhóm I và II cần được chọn lọc và cải tiến thêm để có thể sử dụng trong chương trình chọn giống.

Dựa trên chỉ thị SSR, ở mức độ tương đồng di truyền 0,21 có thể chia 18 nguồn gen ngô thành 6 nhóm chính trong đó nhóm I gồm YW08; nhóm II gồm YW14; nhóm III gồm YW09; nhóm IV là hai dòng đối chứng SWSyn1, UV; nhóm V là hai dòng YW10, YW11; và nhóm VI là các dòng còn lại xếp cùng nhóm với đối chứng D141 (Hình 5B). Nguồn gen nghiên cứu có hệ số tương đồng tương đối thấp trong khoảng 19,50 đến 75,83 dựa trên kiểu hình và trong khoảng 0,08 đến 0,35 dựa trên chỉ thị SSR cho thấy chúng có khoảng cách di truyền khá xa nhau với tiềm năng ưu thế lai lớn. Kết hợp kết quả phân tích đa dạng di truyền dựa trên cả kiểu hình và kiểu gen cho thấy, các dòng YW01, YW03, YW4, YW7, YW12, YW13, YW14 và 2 dòng ngô ngọt đối chứng SWSyn1, UV có sự phân nhóm tương đồng về kiểu hình và kiểu gen. Dựa trên phả hệ ban đầu của các dòng cho thấy kết quả phân nhóm dựa trên kiểu hình và kiểu gen trong nghiên cứu này không theo nguồn gốc địa lý. Đây có thể là kết quả của quá trình chọn lọc chủ quan từ nhà chọn giống, về cơ bản phù hợp với nghiên cứu gần đây (Tan & cs., 2022).

Khoảng cách di truyền xa nhau về cả kiểu hình, kiểu gen giữa nguồn gen ngô nếp vàng và nhóm dòng đối chứng là cơ sở lựa chọn lai cải tiến quần thể ngô nếp vàng về các tính trạng thời gian sinh trưởng và chất lượng. Từ nghiên cứu này, khi các phép lai giữa hai nhóm này được tiến hành sẽ khảo sát được ưu thế lai và khả năng kết hợp. Các kiểu gen ngô nếp vàng mới (*sh2sh2wxwx*) kết hợp độ dẻo mềm của ngô nếp và vị ngọt của ngô ngọt cũng có thể được chọn lọc và phát triển.

### 3.6. Chọn lọc dòng ngô ưu tú

Tám tính trạng nông học chia thành hai nhóm, trong đó 3 tính trạng thuộc nhóm mục tiêu mong muốn thấp gồm TGST, GOCLA, DVH và 5 tính trạng với mục tiêu mong muốn cao gồm NSCT, DKB, HH, P100, TSS được sử dụng vào mô hình chọn lọc dựa trên chỉ số MGIDI. Với áp lực chọn lọc 40% đã chọn được năm dòng ngô nếp vàng triển vọng có chỉ số MGIDI thấp nhất bao gồm: YW10, YW13, YW12, YW07 và YW01 (Hình 6A). Các dòng ưu tú này được chọn lọc dựa trên đặc điểm nông học. Vì vậy, để ứng dụng trong chương trình chọn tạo giống ngô nếp vàng cần có sự kiểm chứng ưu thế lai và khả năng kết hợp về tính trạng sinh trưởng, năng suất, chất lượng của nhóm dòng này trong các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả phân tích đa biến từ chỉ số MGIDI đã chia 8 tính trạng thành 3 nhóm gồm FA1 (DVH, TSS, P100), FA2 (TGST, NSCT, DKB, HH) và FA3 (GOCLA) (Hình 6B). Đây cũng là ưu điểm của phương pháp chọn lọc MGIDI kết hợp biểu diễn đồ họa, ưu việt so với các phương pháp chọn lọc tuyến tính trước đó. Ưu điểm và hạn chế của các dòng được chọn theo các nhóm tính trạng là cơ sở để các nhà chọn giống có mục tiêu chọn tạo và phát triển dòng phù hợp.

## 4. KẾT LUẬN

Thời gian sinh trưởng của các dòng ngô dao động từ 93,0 ngày (YW11) đến 110,0 ngày (YW02), năng suất cá thể dao động từ 24,4 g/cây (YW02) đến 55,3 g/cây (YW05). Độ dày vỏ hạt dao động từ 39,1 $\mu$ m (YW13) đến 90,4 $\mu$ m (YW03)

trong đó 6 dòng mỏng vỏ gồm YW04, YW09, YW13, YW14, SWsyn1, UV.

Phân tích đa dạng di truyền cho thấy nguồn gen ngô được chia thành 3 nhóm dựa trên kiểu hình (hệ số tương đồng 45,3) và 6 nhóm dựa trên chỉ thị SSR (hệ số tương đồng 0,21) không theo nguồn gốc địa lý có thể là kết quả của quá trình chọn lọc chủ quan từ nhà chọn giống. Bảy dòng YW01, YW03, YW4, YW7, YW12, YW13, YW14 và 2 dòng ngô ngọt đối chứng SWsyn1, UV có sự phân nhóm tương đồng về kiểu hình và kiểu gen.

Chọn lọc bằng chỉ số MGIDI với áp lực chọn lọc 40% đã chọn được năm dòng ngô nếp vàng triển vọng bao gồm YW10, YW13, YW12, YW07 và YW01. Kết quả nghiên cứu đã cung cấp thông tin đa dạng di truyền quan trọng và vật liệu ban đầu phục vụ chương trình chọn giống ngô nếp vàng ưu thế lai tại Việt Nam.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này thuộc đề tài cấp Học viện: “Phân tích đa dạng di truyền của các vật liệu ngô nếp vàng bằng kiểu hình và chỉ thị phân tử SSR” mã số T2022-43-58.

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Trung tâm Tài nguyên thực vật đã cung cấp 05 vật liệu ngô nếp vàng YW01-YW05 phục vụ nghiên cứu.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Khoa học và Công nghệ (2021). Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 13381-2:2021: Giống cây trồng nông nghiệp - khảo nghiệm giá trị canh tác và giá trị sử dụng phần 2: Giống ngô.

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.

Harakotr B., Suriharn B., Scott M.P. & Lertrat K. (2014). Genotypic variability in anthocyanins, total phenolics, and antioxidant activity among diverse waxy corn germplasm. *Euphytica*. 203(2): 237-248.

Haskell M. J. (2012). The challenge to reach nutritional adequacy for vitamin A:  $\beta$ -carotene bioavailability and conversion - evidence in humans. *The*

*American Journal of Clinical Nutrition*. 96(5): 1193S-1203S.

Lee J.-S., Bae H.-H., Kim J.-T., Son B.-Y., Baek S.-B., Kim S.-L., Go Y. S., Yi G. & Shin S.-H. (2020). 'Hwanggeummatchal' a single cross hybrid waxy corn with high carotenoid content and good eating quality. *Korean Journal of Breeding Science*. 52(4): 467-472.

Muzhingi Yeum, Russell Johnson & Qin Tang (2008). Determination of carotenoids in yellow maize, the effects of saponification and food preparations. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 78(3): 112-120.

Sandhu S. & Dhillon B. S. (2021). Breeding plant type for adaptation to high plant density in tropical maize - A step towards productivity enhancement. *Plant Breeding*. 140(4): 509-518.

So Y.S. (2018). Pericarp thickness of Korean maize landraces. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 17(1): 87-90.

Sukto S., Lomthaisong K., Sanitchon J., Chankaew S., Scott M.P., Lübberstedt T., Lertrat K., Suriharn B. & Serrano M. (2020). Variability in prolificacy, total carotenoids, lutein, and zeaxanthin of yellow small-ear waxy corn germplasm. *International Journal of Agronomy*. pp. 1-12.

Tan H., Wang G., Zhao F., Bao F., Han H. & Lou X. (2022). Correlation and cluster analysis of agronomic characters of 115 waxy corn varieties. *Maize Genomics and Genetics*. 12.

Ullah A., Shakeel A., Ahmed H. G. M.-D., Naeem M., Ali M., Shah A. N., Wang L., Jaremko M., Abdelsalam N. R., Ghareeb R. Y. & Hasan M. E. (2022). Genetic basis and principal component analysis in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) grown under water deficit condition. *Frontiers in Plant Science*. 13. doi.org/10.3389/fpls.2022.981369.

Vũ Đăng Toàn, Vũ Đăng Tường & Vũ Thị Thu Hiền (2021). Đa dạng hình thái của tập đoàn ngô tẻ địa phương thu thập tại tỉnh Lai Châu và Điện Biên. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 19(8): 997-1005.

Wu X., Wang B., Xie F., Zhang L., Gong J., Zhu W., Li X., Feng F. & Huang J. (2020). QTL mapping and transcriptome analysis identify candidate genes regulating pericarp thickness in sweet corn. *BMC Plant Biology*. 20(1): 117.

Zhao W., Wang S., Chen Y., Zhang M. & Yuan J. (2018). Genetic diversity analysis of waxy corn inbred lines based on 60 core SSR markers. *Acta Agriculturae Jiangxi*. 30(12): 1-8.

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.