

CHỌN LỌC DÒNG NGŨ CÓ KHẢ NĂNG CHỊU HẠN DỰA TRÊN KIỂU HÌNH VÀ MARKER PHÂN TỬ

Phan Đức Thịnh, Hoàng Thị Thùy, Phạm Quang Tuấn, Vũ Thị Bích Hạnh,
Nguyễn Thị Hân, Vũ Văn Liết*

Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

E-mail: vliet@hua.edu.vn*

Ngày gửi bài: 19.02.2013

Ngày chấp nhận: 22.04.2013

TÓM TẮT

28 dòng tự phối của ngô (*Zea mays* L.) có nguồn gốc khác nhau được đánh giá để chọn dòng bố mẹ có khả năng chịu hạn phục vụ cho tạo giống ngô ưu thế lai. Những dòng này được phát triển từ giống ngô địa phương và từ các dòng nguồn gen ngô Mỹ và Trung Quốc. Thí nghiệm đánh giá khả năng chịu hạn trồng trong chậu plastic, giá thể là cát sạch gây hạn nhân tạo và theo dõi các tính trạng như diện tích lá/cây, thể tích rễ, chiều dài rễ, chiều cao cây, khối lượng rễ tươi và khô, khối lượng thân khô. Sử dụng marker phân tử SSR để dò tìm các gen và QTL (locus tính trạng số lượng) điều khiển một số tính trạng liên quan đến khả năng chịu hạn. Kết quả cho thấy trong điều kiện gây hạn nhân tạo, một số tính trạng của rễ có tương quan chặt với năng suất. Kết quả đã chỉ ra rằng có thể sử dụng các tính trạng này để xác định khả năng chịu hạn ở ngô. Marker SSR với 3 mỗi đặc hiệu là *umc1862* liên kết với gen QTL năng suất dưới điều kiện hạn, *umc2359* liên kết với chỉ số chịu bất thuận và *nc 133* liên kết chỉ số chịu hạn đã nhận biết 28 dòng có gen QTL điều khiển năng suất ngô dưới điều kiện bất thuận nước (YS) và QTL chỉ số chống chịu bất thuận (TOL), 14 dòng mang QTL chống chịu với điều kiện bất thuận (TOL). Dựa trên kết quả đánh giá kiểu hình và marker phân tử đã chọn được 5 dòng là TP17, TP12, TP2, TP5 và TP24 có thể sử dụng cho chọn tạo giống ngô lai chịu hạn.

Từ khóa: Dòng thuần, chịu hạn, tính trạng rễ, marker phân tử.

Selection of Inbred Maize Lines for Drought Tolerance Using Phenotypic Evaluation and Genetic Markers

ABSTRACT

Twenty eight maize (*Zea mays* L.) inbred lines of different origin were evaluated to select the drought tolerant lines as parents for hybrid maize breeding. These inbred lines were developed from the local open-pollinated cultivars and exotic germplasm from China and America. To preliminarily identify drought tolerant inbred lines, the lines were grown in plastic pots containing sterilized fine sand and the following traits were observed: leaf area per plant, root volume, root length, plant height, fresh and dry root weight, and dry stem weight. The genes or QTLs associated with drought tolerance were analyzed using three specific SSR markers. Data analysis showed that root traits are correlated with yield under drought condition. And could be considered as primary indicators to determine the drought-tolerance of maize. *umc1862* marker was found to be associated with grain yield under stress condition (Ys), *nc133* marker associated with the stress tolerance and *umc 2359* associated with mean productivity. 28 inbred lines investigated have QTL controlling yield under stress and tolerance. Of these 14 lines that have QTL associated with stress tolerance index. Combining phenotypic evaluation and genetic markers, 5 lines, i.e. TP17, TP12, TP2, TP5 and TP24 are suggested for combining ability testing for future development of hybrid maize varieties with tolerance.

Keywords: Drought tolerance, maize inbred lines, molecular markers, root traits.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sản lượng cây lương thực toàn cầu đến năm 2050 cần vượt qua 400 triệu tấn mới đáp ứng

được nhu cầu của con người (FAO, 2009). Tuy nhiên, sản xuất lương thực nói chung cũng như sản xuất ngô nói riêng đang phải đối mặt với

thách thức lớn nhất là điều kiện bất thuận sinh học (sâu bệnh hại) và bất thuận phi sinh học (hạn, đất nghèo dinh dưỡng, đất chua và ngập nước). Những thách thức này đặc biệt tác động mạnh đối với nông dân sản xuất nhỏ, nghèo tài nguyên và đầu tư thấp (Weiwei Wen và cs., 2011). Các nhà nghiên cứu tại CIMMYT cho rằng cách tiếp cận duy nhất để cải tiến khả năng chịu hạn ở ngô là đánh giá một số lượng lớn quần thể để nhận biết và sử dụng nguồn gen chịu hạn cho chương trình cải tiến giống (Bänziger và cs., 2000).

Theo Yunbi Xu (2010), bản đồ di truyền phân tử của cây ngô đã được xây dựng bằng các marker SSR, RFLP và để nhận biết các locus tính trạng số lượng (QTL) liên quan đến khả năng chịu hạn). Trong những năm gần đây, các chỉ thị phân tử đã được sử dụng để đánh giá, nhận biết tính trạng phục vụ chọn tạo giống ngô chịu hạn và kỹ thuật này phát triển mạnh mẽ (Nathinee Ruta, 2008; Rahman, 2011; Zahrar và Jahad, 2011; Weiwei Wen, 2011).

Những vùng trồng ngô chính ở miền Bắc nước ta chủ yếu vùng núi, bãi ven sông canh tác nhờ nước trời. Tình trạng thiếu nước sẽ ngày càng nghiêm trọng hơn do biến đổi khí hậu. Vì vậy, chọn tạo giống ngô ưu thế lai có khả năng chịu hạn là một giải pháp để sản xuất ngô ổn định và bền vững.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu gồm 28 dòng tự phối từ đời S_3 đến S_{12} , ký hiệu từ TP1 đến TP28, gồm 17 dòng tự phối phát triển từ giống ngô địa phương (TP1, TP2, TP3, TP4, TP5, TP12, TP13, TP14, TP15, TP17, TP18, TP19, TP20, TP22, TP23, TP24 và TP25); 4 dòng từ nguồn gen ngô của Mỹ (TP6, TP16, TP27 và TP28) và 7 dòng từ nguồn gen ngô của Trung Quốc (TP7, TP8, TP9, TP10, TP11, TP21 và TP26). Đối chứng là LCH9. Nghiên cứu được tiến hành tại Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội vụ xuân và thu đông 2012.

Các đặc điểm nông sinh học, năng suất và yếu tố tạo thành năng suất của các dòng được đánh giá bằng phương pháp thí nghiệm đồng

ruộng, hai lần lặp lại, diện tích mỗi ô thí nghiệm là $14m^2$.

Khả năng chịu hạn của các dòng được đánh giá theo Camacho và cs. (1994). Ngô được trồng trong chậu plastic đường kính 20cm, cao 35 cm, có thể rút nước chủ động). Mỗi dòng trồng trong 3 chậu, mỗi chậu trồng 3 cây. Giá thể trồng là cát sạch... Sau gieo 4 tuần, thu hoạch bằng cách nhổ cả cây và theo dõi các chỉ tiêu liên quan đến khả năng chịu hạn gồm: Diện tích lá /cây; thể tích rễ (RV) được xác định bằng cách cho rễ vào ống đong, đổ nước ngập ghi thể tích ta có giá trị thể tích tổng (V(tổng)) sau đó vớt rễ ra ghi thể tích là thể tích nước V(nước), công thức tính thể tích rễ $RV = V(\text{tổng}) - V(\text{nước})$; chiều dài rễ dài nhất (- (LRL), chiều cao cây (PH) được đo bằng đơn vị cm; khối lượng rễ tươi (RFW); khối lượng rễ khô (RDW); khối lượng thân khô (SDW) được cân bằng cân điện tử và độ chính xác 0,01g; tỷ lệ RDW/SDW . Kiểu gen nào có các chỉ tiêu trên cao hơn thì được đánh giá có khả năng chịu hạn tốt hơn.

Các dòng có mang QTL chịu hạn của 3 tính trạng là: (i) năng suất dưới điều kiện hạn,; (ii) chỉ số chịu hạn và (iii) khả năng chịu hạn được nhận biết thông qua các cặp môi đặc hiệu có nguồn gốc từ Đức do khoa Công nghệ sinh học mua từ năm 2011 và được tham khảo từ nghiên cứu của Mohammadreza Shiri (2011). Tên Tèn và trình tự môi trình bày ở bảng dưới đây.

DNA được tách chiết từ 3 lá non của cây ở giai đoạn 4 đến 5 lá thật bằng phương pháp CTAB (cetyl trimethylammonium bromide theo Saghai-Marooof và cs. (1984). Số lượng và chất lượng DNA đánh giá trên máy quang phổ UV-spectrophotometer. Sử dụng 10 μ l hỗn hợp DNA của các cá thể, 10 μ l tổng số thể tích DNA phản ứng PCR cho vào đệm phản ứng 1X PCR chứa 2,0mM $MgCl_2$; 0,2 mM dNTP mix; 0,4 μ M mỗi bộ primer 0,5 U Taq DNA polymerase (SIGMA) và điều chỉnh 10 μ l bằng nước cất 2 lần (ddH_2O). Khuếch đại trong máy PCR với chu kỳ nhiệt như sau chu kỳ 1: làm biến tính tại 94°C trong 5 phút, tiếp theo 35 chu kỳ tại nhiệt độ 94°C trong 30 giây; nhiệt độ 55°C trong 1 phút và 72°C trong 1 phút và 30 giây, cuối cùng là chu kỳ mở rộng tại 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR đưa

Chọn lọc dòng ngô có khả năng chịu hạn dựa trên kiểu hình và marker phân tử

Bảng 1. Tên và trình tự mỗi

Tên mỗi	Trình tự mỗi	Dò tìm gen hoặc QTL
<i>umc1862 forward:</i>	ATGGGCACATGAAAAAGAGACATT	Năng suất dưới điều kiện hạn
<i>umc1862 reverse:</i>	CCCATGAGAAGAGTGAAGACAACA	Năng suất dưới điều kiện hạn
<i>nc133 forward:</i>	AATCAAACACACACCTTGCG	Chỉ số chịu hạn
<i>nc133 reverse:</i>	GCAAGGGAATAAGGTGACGA	Chỉ số chịu hạn
<i>umc2359 reverse:</i>	GCCTGACATGAATGTTACATGAGC	Khả năng sinh sản trung bình dưới điều kiện hạn, chỉ số chịu bất thuận
<i>umc2359 forward:</i>	CTGGATCAGATGAAAAAGAAGGGA	Khả năng sinh sản trung bình dưới điều kiện hạn, chỉ số chịu bất thuận

lên gel agarose 2,0% trong đệm 1X TBE (89 mM Tris, 89 mM Boric acid và 2,5 mM EDTA pH 8,0), chứa 0,15 µg/µl thidium Bromide. Quan sát và chụp ảnh dưới đèn cực tím.

Phân tích phương sai, phân tích tương quan, bằng chương trình phần mềm IRRISTAT 5.0 và chỉ số chọn lọc bằng chương trình thống kê sinh học của Nguyễn Đình Hiền (1995)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Đặc điểm nông sinh học của các dòng nghiên cứu trong thí nghiệm đồng ruộng

Đặc điểm nông sinh học của 28 dòng ngô nghiên cứu trong vụ thu đông năm 2012 trên đất phù sa sông Hồng không được bồi hàng năm và canh tác nhờ nước trời biểu hiện về thời gian từ gieo đến chín sinh lí của các dòng biến động từ 96 đến 115 ngày thuộc nhóm trung ngày (Bảng 1). Trong đó, 7 dòng có thời gian sinh trưởng dài hơn hoặc ngang bằng đối chứng, đó là các dòng TP2, TP7, TP14, TP15, TP17, TP25 và TP26; các dòng còn lại thời gian sinh trưởng đều ngắn hơn đối chứng LCH9 (108 ngày).

Chênh lệch trở cờ - phun râu là một tính trạng liên quan đến khả năng chịu hạn, dòng giống có chênh lệch trở cờ - phun râu ngắn có khả năng chịu hạn tốt hơn (Pervez, 2002; Gemenet, 2010). Tất cả 28 dòng tự phối nghiên cứu đều có thời gian chênh lệch trở cờ - phun râu từ 0 đến 3 ngày phù hợp với đặc điểm dòng có khả năng chịu hạn.

Chiều cao cây của 28 dòng khá biến động, nhóm các dòng có chiều cao cây cao hơn đối chứng gồm TP4, TP7, TP8, TP9, TP10, TP12, TP13 và TP24. Các dòng thấp cây gồm TP19, TP20, TP21, TP22 và TP 28, chiều cao dưới 170cm phù hợp cho phát triển giống ngô lai thâm canh. Trong đó dòng TP19, TP20 và TP22 được phát triển từ giống ngô địa phương Chăm đưng và Khẩu li sẻ của người Mông, Hà Giang. Dòng TP21 và TP28 phát triển từ nguồn gen nhập nội của Trung Quốc và Mỹ.

Năng suất và yếu tố tạo thành năng suất của các dòng ngô tự phối trong điều kiện canh tác nhờ nước trời vụ thu đông 2012 đều thấp hơn hoặc ngang bằng đối chứng, sai khác giữa các dòng không ở mức có ý nghĩa (Bảng 2). Số bắp/cây của các dòng trong điều kiện đồng ruộng biến động từ 0,85 - 1,1 bắp, dòng có tỷ lệ bắp cao là TP2, PT16 và PT 17 (1,1 bắp/cây). Số hạt trung bình của các dòng ngô thí nghiệm nằm trong khoảng 12 đến 16 hàng, số hạt trên hàng 28 - 30 hạt, khối lượng 1000 hạt biến động trong khoảng 200 đến 250g, và cả 3 yếu tố tạo thành năng suất này không sai khác giữa các dòng ở mức có ý nghĩa. Năng suất cá thể chỉ có 3 dòng ngang bằng đối chứng là TP15, TP16 và TP17, còn lại các dòng đều có năng suất cá thể thấp hơn đối chứng. Tuy nhiên, so sánh với đối chứng chỉ để tham khảo, vì mục đích đối chứng trong nghiên cứu là đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng so với giống lai chịu hạn (LCH9).

Bảng 1. Một số đặc điểm nông sinh học của các dòng nghiên cứu trong vụ thu đông năm 2012 tại Gia Lâm, Hà Nội

STT	Ký hiệu dòng	CC (cm)	CDB (cm)	TGST (ngày)	G-TrC (ngày)	G - PR (ngày)	ASI (ngày)
1	TP1	190,1	71,4	102	62	63	1
2	TP2	190,4	66,9	115	70	72	2
3	TP3	194,0	90,6	105	65	68	3
4	TP4	204,1	82,7	103	67	69	2
5	TP5	195,1	84,1	102	65	66	1
6	TP6	171,7	67,5	98	61	63	2
7	TP7	208,0	90,0	112	67	70	3
8	TP8	201,4	57,0	96	61	60	1
9	TP9	201,2	53,1	103	61	61	0
10	TP10	205,1	57,1	104	60	61	1
11	TP11	191,3	58,7	103	65	67	2
12	TP12	254,9	125,4	104	65	67	2
13	TP13	248,1	120,3	104	63	66	3
14	TP14	198,7	66,4	110	67	70	1
15	TP15	176,3	65,5	112	70	73	1
16	TP16	193,3	81,6	105	67	69	2
17	TP17	197,2	77,4	115	65	67	2
18	TP18	173,9	69,1	107	61	62	1
19	TP19	165,9	66,8	98	65	66	1
20	TP20	162,9	61,0	100	70	71	1
21	TP21	165,6	68,0	100	72	73	1
22	TP22	168,4	61,1	105	72	72	0
23	TP23	191,6	68,0	100	70	72	2
24	TP24	216,7	74,3	107	70	71	1
25	TP25	188,5	76,2	111	64	65	1
26	TP26	181,6	62,9	108	60	61	1
27	TP27	192,5	68,0	97	61	64	3
28	TP28	165,3	67,0	105	67	67	0
29	LCH9 (đ/c)	194,3	109,7	108	67	67	0

Chú thích: CC: chiều cao cây; CDB: chiều cao đống bắp; TGST: thời gian sinh trưởng; G-TrC : thời gian từ gieo đến trổ cờ; G-PR : gieo đến phun râu; ASI: thời gian chênh lệch trổ cờ-phun râu.

3.2. Đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng bằng thí nghiệm gây hạn nhân tạo

Trong điều kiện gây hạn trong chậu plastic, các dòng TP10, TP11, TP12, TP13, TP24, TP 25 và TP 26 đều sinh trưởng tốt tương đương với đối chứng LCH9. Các dòng có số lá cao hơn đối chứng là TP12, TP13. Số dòng thấp hơn đối chứng là TP1, TP4, TP6, TP7, TP17, TP22 (Bảng 3). Các dòng TP5, TP7, TP12, TP13, TP21 và TP25 có giá trị diện tích lá vượt hơn so với đối chứng LCH9, đặc biệt dòng TP5 (235,79 cm²/cây), TP12 (244,47 cm²/cây), TP 13 (238,67

cm²/cây). Các dòng còn lại diện tích lá thấp hơn đối chứng LCH9 (Bảng 3).

Trong điều kiện hạn, quá trình sinh trưởng rễ cây giảm, số lượng rễ và thể tích của bộ rễ giảm đáng kể so với cây trồng trong điều kiện bình thường. Trong thí nghiệm, nhiều dòng có thể tích rễ vượt hơn so với đối chứng LCH9 (2,40ml), các dòng TP 2, TP11, TP12, TP13, TP17, TP 22, TP24 và TP 26 đều có thể tích rễ lớn hơn 3ml/cây (Bảng 4). Pierangelo Landi & cs. (2010) cho rằng những dòng có tính trạng này cao hơn, khả năng chịu hạn tốt hơn. Như vậy, các

Chọn lọc dòng ngô có khả năng chịu hạn dựa trên kiểu hình và marker phân tử

dòng còn lại đều có thể tích rễ thấp hơn đối chứng LCH9, có thể khả năng chịu hạn kém hơn.

Chiều dài rễ liên quan đến khả năng hút nước của cây; bộ rễ càng dài thì khả năng đâm xuyên và khả năng hút nước có hiệu quả hơn. Chiều dài rễ của các dòng cho thấy các dòng đều có chiều dài rễ trên 30cm (trừ dòng TP14 rễ rất ngắn = 23,81cm); trong đó, các dòng TP1, TP3, TP6, TP7, TP15, TP18 và TP 23 rễ ngắn hơn đối chứng, các dòng còn lại rễ đều dài hơn hoặc gần tương đương đối chứng.

Tỷ lệ RDW/SDW có tương quan thuận với khả năng chịu hạn của cây. Kết quả thí nghiệm cho thấy hầu hết các dòng nghiên cứu chỉ tiêu này đều đạt tương đương hoặc vượt đối chứng, nhiều dòng có tỷ lệ này khá cao như TP3 (0,78), TP4 (0,7), TP12 (0,74), TP13 (1,03) và TP17 (0,83).

Tương quan giữa năng suất cá thể của các dòng ngô với một số tính trạng tạo thành năng suất và một số tính trạng chịu hạn cho thấy năng suất cá thể tương quan chặt với số bắp/cây

Bảng 2. Năng suất và yếu tố tạo thành năng suất của các dòng nghiên cứu trong vụ Thu Đông năm 2012 tại Gia Lâm, Hà Nội

STT	Ký hiệu dòng	Số bắp/cây	Số hàng hạt/bắp	Số hạt/hàng	P ₁₀₀₀ hạt (g)	Năng suất cá thể (g)
1	TP1	1,00	14,15	28,75	218,98	125,88
2	TP2	1,10	13,95	27,65	209,32	132,05
3	TP3	1,00	13,05	22,76	221,13	125,75
4	TP4	0,95	12,55	24,33	211,65	122,72
5	TP5	1,10	13,35	25,71	219,83	127,47
6	TP6	0,95	14,78	23,08	210,64	121,28
7	TP7	1,00	12,50	23,95	227,26	127,80
8	TP8	1,00	13,76	25,83	220,08	125,67
9	TP9	0,95	13,64	24,42	221,38	117,52
10	TP10	0,95	13,10	24,40	222,92	115,47
11	TP11	1,00	12,88	22,98	229,65	126,20
12	TP12	0,92	14,33	24,27	240,84	126,16
13	TP13	0,92	14,45	25,90	241,50	116,32
14	TP14	0,85	12,88	24,32	230,91	119,19
15	TP15	1,00	12,88	25,25	231,70	135,89
16	TP16	1,10	12,74	24,56	228,03	149,53
17	TP17	1,10	12,80	26,44	225,38	140,40
18	TP18	1,05	12,75	22,25	221,75	125,92
19	TP19	1,00	12,97	27,00	228,86	124,52
20	TP20	1,00	12,50	22,25	227,53	122,40
21	TP21	1,00	13,50	24,74	210,43	124,93
22	TP22	0,90	13,58	22,53	203,60	111,48
23	TP23	1,00	13,56	24,93	216,03	123,61
24	TP24	1,00	12,49	23,18	240,85	122,34
25	TP25	1,00	14,39	25,46	224,94	122,91
26	TP26	0,85	12,26	23,09	231,59	111,66
27	TP27	0,95	15,55	27,47	214,01	126,12
28	TP28	1,00	12,81	27,90	232,87	126,91
29	LCH9 (đ/c)	1,10	14,85	26,20	249,51	136,30
	LSD _{0,05}		0,96	2,27	23,85	10,44
	CV%		3,5	4,5	5,2	4,1

Bảng 3. Tình trạng cây của 28 dòng khi trồng trong chậu và gây hạn nhân tạo

STT	Ký hiệu dòng	Số lá	Diện tích lá/cây (cm ²)	Chiều cao cây (cm)	Khối lượng thân khô (g)
1	TP1	2,51	119,83	32,95	0,92
2	TP2	3,53	162,24	40,69	2,25
3	TP3	3,14	126,35	46,22	1,86
4	TP4	2,83	189,69	47,22	1,49
5	TP5	3,34	235,79	56,19	1,68
6	TP6	2,71	168,28	50,25	2,31
7	TP7	3,08	206,41	55,44	1,76
8	TP8	3,42	164,43	59,92	2,56
9	TP9	3,22	151,73	48,28	2,00
10	TP10	4,09	172,49	46,82	1,38
11	TP11	4,17	161,84	45,97	2,25
12	TP12	4,74	244,47	48,75	1,97
13	TP13	4,62	238,67	51,14	1,14
14	TP14	3,82	178,77	52,13	2,29
15	TP15	3,76	133,21	39,13	1,88
16	TP16	3,18	181,99	47,14	2,87
17	TP17	2,92	222,88	51,28	1,79
18	TP18	3,74	163,19	50,60	1,65
19	TP19	3,26	116,56	49,17	2,97
20	TP20	3,93	160,70	45,71	2,17
21	TP21	3,15	202,19	48,61	1,84
22	TP22	3,08	128,98	47,15	2,61
23	TP23	3,80	193,10	50,87	1,98
24	TP24	4,17	195,11	52,82	2,13
25	TP25	4,22	216,16	50,97	3,36
26	TP26	4,12	135,43	44,28	1,97
27	TP27	3,74	167,98	38,05	2,61
28	TP28	3,21	184,37	53,14	2,24
29	LCH9 (Đ/C)	4,10	198,72	53,01	0,91
	LSD _{0,05}	0,19	9,34	1,79	
	CV%	2,8	3,3	2,3	

(0,638), số hạt/hàng (0,709), chiều dài rễ (0,578), khối lượng rễ (0,630), khối lượng rễ khô (0,664). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của các tác giả Camacho và cs. 1994, Pierangelo Landi và cs., 2010). Tương quan giữa các yếu tố tạo thành năng suất với tình trạng rễ cũng biểu hiện qua số búp/cây với

chiều dài rễ (0,768), khối lượng 1000 hạt với chiều dài rễ (0,570). Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng có thể áp dụng phương pháp đánh giá gây hạn nhân tạo trồng trong chậu vại và các chỉ số chịu hạn để nghiên cứu thanh lọc vật liệu di truyền chịu hạn trong quá trình chọn tạo giống ngô cho vùng khó khăn về nước tưới.

Bảng 4. Tình trạng rễ của 28 dòng ngô tự phối trong thí nghiệm chậu plastic năm 2012

STT	Ký hiệu dòng	Thể tích rễ (ml)	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng rễ tươi(g)	Khối lượng rễ khô (g)	Tỷ lệ RDW/SDW
1	TP1	1,15	31,47	1,05	0,60	0,65
2	TP2	3,06	39,03	3,64	1,14	0,51
3	TP3	2,02	33,62	1,74	1,44	0,78
4	TP4	2,24	50,08	1,68	1,04	0,70
5	TP5	2,24	38,37	2,01	0,90	0,54
6	TP6	1,96	35,45	1,49	0,98	0,43
7	TP7	1,92	34,52	1,30	0,73	0,42
8	TP8	2,18	43,51	2,50	1,01	0,40
9	TP9	2,85	48,60	3,40	1,08	0,54
10	TP10	2,84	44,39	2,06	0,77	0,56
11	TP11	3,80	42,08	1,99	0,78	0,35
12	TP12	3,52	48,79	3,25	1,45	0,74
13	TP13	5,10	56,93	4,18	1,17	1,03
14	TP14	0,79	23,81	3,13	1,15	0,51
15	TP15	2,00	30,25	1,90	0,81	0,43
16	TP16	2,02	37,39	1,90	1,06	0,37
17	TP17	4,12	46,70	3,93	1,48	0,83
18	TP18	2,75	32,51	2,63	1,05	0,63
19	TP19	2,54	46,12	2,73	1,18	0,40
20	TP20	1,48	43,33	1,58	0,78	0,36
21	TP21	2,18	48,52	2,03	0,82	0,45
22	TP22	3,43	38,69	1,87	0,76	0,29
23	TP23	2,12	35,66	1,56	0,70	0,35
24	TP24	3,50	42,58	3,64	1,26	0,59
25	TP25	2,91	42,91	2,48	1,36	0,41
26	TP26	4,75	47,50	2,98	0,88	0,45
27	TP27	1,66	44,71	1,74	1,16	0,44
28	TP28	2,77	37,29	2,54	1,02	0,46
29	LCH9 (Đ/C)	2,40	43,00	2,89	0,66	0,73
	LSD _{0,05}	0,57	3,23			0,06
	CV%	14,4	5,2			6,1

3.3. Nhận biết QTL chịu hạn trong 28 dòng ngô nghiên cứu bằng marker phân tử SSR

Phân tích xác định QTL chịu hạn của 28 dòng vật liệu là các dòng tự phối từ thế hệ S₃ đến S₁₂ và đối chứng là giống lai LCH 9 (đối chứng). Sử dụng ba cặp môi đặc hiệu là *umc 1862* dò tìm QTL điều khiển năng suất ngô dưới điều kiện bất thuận nước (YS, yield of a lines in water stressed

condition), và cặp môi *nc 133* dò tìm QTL điều khiển di truyền khả năng chống chịu bất thuận nước (TOL, tolerance); cặp môi *umc2359* dò tìm QTL điều khiển chỉ số chống chịu bất thuận nước trên cơ sở tham khảo kết quả nghiên cứu của của Mohammadreza Shiri (2011).

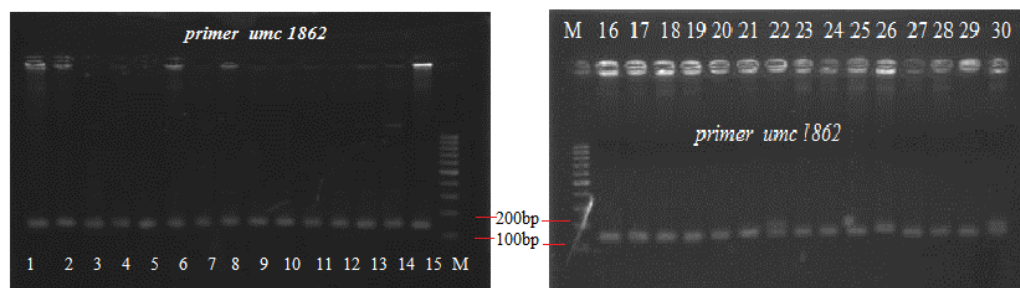
Marker *umc1862* dò tìm QTL điều khiển năng suất dưới điều kiện bất thuận nước cho

thấy cả 28 dòng và đối chứng đều xuất hiện band với kích thước nằm trong phạm vi 100 đến 200bp, hầu hết kích thước khoảng 150 bp nằm trên nhiễm sắc thể số 1 và bin 11. Mức đa hình cao và giải thích 30% phương sai kiểu hình, do vậy cho phép kết luận các dòng nghiên cứu đều mang QTL điều khiển năng suất dưới điều kiện hạn. Kết quả phù hợp với kết quả của Mohammadreza Shiri đã công bố năm 2011, marker *umc1862* liên kết với năng suất hạt dưới điều kiện bất thuận, Ribaut và cs. (1997) cũng nhận biết 2 locus nằm trên NST số 1 và số 9 giải thích 21% phương sai kiểu hình năng suất dưới điều kiện hạn.

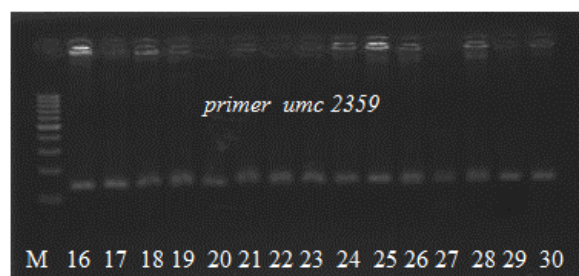
Chỉ số chống chịu bất thuận (STI) liên quan đến cơ chế sống sót của cây khi gặp bất thuận. Marker *nc133* liên kết với gen, QTL điều khiển TOL, marker này cũng liên kết với chỉ số miễn cảm bất thuận (stress susceptibility index - SSI). Marker *nc133* được dùng để dò tìm QTL này trên NST số 2 của 28 dòng nghiên cứu cũng đã nhận biết 28 dòng vật liệu mang QTL chống chịu hạn (TOL). Kích thước các QTL trong khoảng 100 đến 180 bp, kích thước các band sai

khác nhau khá rõ rệt. QTL này nằm trên NST số 2 và bin 05 có mức đa hình rất cao chứng tỏ rằng marker liên kết chặt với chống chịu bất thuận và có khả năng phản ánh đúng kiểu hình của các dòng ngô nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác như Quarrie & cs. (1999); Shiri (2011); Jiufeng Guo1 cs. (2008). Giếng số 21 xuất hiện 2 band, như vậy dòng tự phối TP13 mang cả 2 QTL chống chịu bất thuận và chỉ số miễn cảm bất thuận (SSI). Marker *umc 2359* cũng đã dò tìm được QTL liên quan đến năng suất dưới điều kiện bất thuận với 14 dòng và đối chứng LCH9 (Hình 2).

Marker *umc 2359* còn dò tìm QTL điều khiển năng suất trung bình (mean productivity - MP) dưới điều kiện hạn. Kết quả đã xác định dòng mang QTL chịu hạn bổ sung cho kết luận về kiểu hình đảm bảo độ tin cậy. Như vậy, có thể sử dụng phương pháp chọn lọc nhờ marker phân tử (MAS) trong chọn tạo giống ngô chịu hạn với các nguồn vật liệu khác nhau để khuyến cáo những dòng ưu tú có đặc điểm nông sinh học phù hợp và mang QTL chống chịu hạn.



Hình 1. Sản phẩm PCR của 28 dòng tự phối và đối chứng với marker UMC 1862 trên gel Agarose 2%



Hình 2. Sản phẩm PCR của 14 dòng tự phối và đối chứng với marker umc 2359 trên gel Agarose 2%

Bảng 5. Những đặc điểm cơ bản của các dòng chọn làm vật liệu cho chọn giống ngô chịu hạn

Dòng	TGST (ngày)	CCC (cm)	Số bắp/cây	SHH	SH/H	KLH (gam)	ASI (ngày)	NSCT (g/cây)
TP17	115	197	1,10	12,80	26,44	225,38	2	140,4
TP12	104	215	0,95	14,33	24,27	240,84	2	126,2
TP2	110	190	1,00	13,95	27,65	209,32	2	132,1
TP5	102	195	1,1	13,35	25,71	219,83	1	127,4
TP24	107	217	1,00	12,49	23,18	240,85	1	122,3

Ghi chú: TGST: thời gian sinh trưởng; CCC: chiều cao cây; SHH: số hàng hạt/bắp; SH/H: số hạt/hàng; KLH: khối lượng 1000 hạt; ASI : chênh lệch trở cờ phun râu; NSCT: năng suất cá thể

Một số tính trạng cơ bản như thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, chiều dài rễ, khối lượng rễ, chênh lệch trở cờ-phun râu và năng suất cá thể được đưa vào chọn dòng vật liệu. Kết quả sử dụng chương trình chỉ số chọn lọc với cường độ chọn lọc 20% đã chọn được 5 dòng ưu tú nhất (Bảng 5). Những dòng chọn đều mang QTL chịu hạn qua kết quả dò tìm bằng marker phân tử.

4. KẾT LUẬN

Các dòng ngô tự phối nghiên cứu có thời gian sinh trưởng từ 97 ngày (TP27) đến 115 ngày (TP2 và TP22), thuộc nhóm chín trung bình. Các dòng có đặc điểm nông sinh học như chiều cao cây, chiều cao đóng bắp, năng suất và yếu tố tạo thành năng suất phù hợp cho phát triển giống ngô ưu thế lai.

Các chỉ tiêu hình thái cây và bộ rễ có tương quan với năng suất của dòng tự phối trong điều kiện gây hạn nhân tạo bằng chậu vại. Dựa trên các đặc điểm phát triển của rễ và thân lá đã nhận biết được 7 dòng có khả năng chịu hạn là TP11, TP12, TP13, TP17, TP24, TP25, TP26..

Sử dụng marker phân tử dò tìm QTL liên quan đến chịu hạn đã nhận biết 28 dòng có QTL điều khiển năng suất ngô dưới điều kiện bất thuận nước (YS) và QTL chỉ số chống chịu bất thuận (TSI), 14 dòng mang QTL chống chịu với điều kiện bất thuận.

Dựa trên đánh giá kiểu hình và marker phân tử đã chọn được 5 dòng TP17, TP12, TP2, TP5 và TP24 ưu tú đều là những dòng phát triển từ giống ngô địa phương Việt Nam có thể

sử dụng để lai thử khả năng kết hợp chọn tạo giống ngô lai chịu hạn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Banziger, M., G.O. Edmeades, D.L. Beck, M.R. Bellon (2000). Breeding for drought and nitrogen stress tolerance in maize: From theory to practice. 2000. CIMMYT.
- Betrán, F. J. , D. Beck, M. Banziger, G.O. Edmeades (2003). Genetic Analysis of Inbred and Hybrid Grain Yield under Stress and Nonstress Environments in Tropical Maize, *Crop Science*, 43(3): 807-817.
- FAO (2009). Global agriculture towards 2050, High level expert Forum.
- Gemenet D.C., F.N. Wachira, R.S. Pathak, S.W. Munyiri (2010). Identification of molecular markers linked to drought tolerance using bulked segregant analysis in Kenyan maize (*Zea mays* L.) landraces, *Journal of Animal & Plant Sciences*, 9(1): 1122- 1134.
- Rahman H., S. Pekic, V. Lazic-Jancic, S.A. Quarrie, S.M.A. Shah, A. Pervez and M.M Shah, (2011). Molecular mapping of quantitative trait loci for drought tolerance in maize plants, *Genetics and Molecular Research* 10(2): 889-901.
- Ribaut, J.M., C. Jiang, D. Gonzalez-de-Leon, G. O. Edmeades, D. A. Hoisington (1997). Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker assisted selection strategies, *Theor Appl Genet* 94 : 887-896.
- Marianne Banziger, Peter S. Setimela, David Hodson, and Bindiganavile Vivek (2000). Breeding for improved drought tolerance in maize adapted to southern Africa, *Proceedings of the 4th International Crop Science Congress*, 26 Sep - 1 Oct 2004.

- Mohammadreza Shiri (2011). Identification of informative simple sequence repeat (SSR) markers for drought tolerance in maize, African Journal of Biotechnology Vol. 10 (73): 16414-16420.
- Nathinee Ruta (2008). Quantitative trait loci controlling root and shoot traits of maize under drought stress, Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Doctore od Science.
- Pierangelo Landi, Silvia Giuliani, Silvio Salvi, Matteo Ferri, Roberto Tuberosa and Maria Corinna Sanguinet (2010). Characterization of root - yield - 1.06, a major constitutive QTL for root and agronomic traits in maize across water regimes, Journal of Experimental Botany, 61(13): 3553-3562.
- Pervez H. Zaidi (2002). Drought Tolerance in Maize : Theoretical considerations & Practical plications, Maize Program, CIMMYT, Mexico, D.F., MEXICO.
- Camacho R.G., D.F. Caraballo (1994). Evaluation of morphological characteristics in Venezuelan maize (*Zea mays* L.) genotypes under drought stress, Sci. agric. Piracicaba, Braz.) 51(3) Piracicaba Sept./Dec.
- Quarrie S. A., W. J. Davies (1999). Abiomatic Stress Adaptation, Induced Genes and New Technologies Volume 29, Issues 1-2 of Plant growth regulation.
- Weiwei Wen, Jose Luis Araus, Trushar Shah, Jill Cairns, George Mahuku, Marianne Bänziger, Jose Luis Torres, Ciro Sánchez, and Jianbing Yan, (2011). Molecular Characterization of a Diverse Maize Inbred Line Collection and its Potential Utilization for Stress Tolerance Improvement, Crop Sci. Vol. 51.
- Yunbi Xu (2010). Molecular plant breeding, CAB International 2010. All rights reserved.
- Zahra Khodarahmpour, Jahad Hamidi (2011). Evaluation of drought tolerance in different growth stages of maize (*Zea mays* L.) inbred lines using tolerance indices, African Journal of Biotechnology 10(62): 13482-13490.