

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM HÀ NỘI
=====o0o=====

KHUẤT HỮU TRUNG

**NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN TẬP ĐOÀN
DÒNG NGÔ THUẦN TỪ NUÔI CẤY BAO PHẦN VÀ
KHẢ NĂNG
SỬ DỤNG CHÚNG TRONG TẠO GIỐNG NGÔ LAI**

Chuyên ngành: Di truyền học

Mã số: 62.42.70.01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Hà Nội - 2010

Công trình được hoàn thành tại:

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM HÀ NỘI

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Nguyễn Minh Công
2. TS. Bùi Mạnh Cường

Phản biện 1: GS.TS. Ngô Hữu Tình - Viện Nghiên cứu ngô

Phản biện 2: GS.TS. Nguyễn Hữu Đống - Viện Di truyền Nông nghiệp

Phản biện 3: PGS. TS. Chu Hoàng Mậu – Trường Đại học Thái Nguyên

***Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp Nhà nước
hợp tại: Trường Đại học Sư phạm Hà nội***

Vào hồi:.....ngày.....tháng.....năm 2010

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Đại học Sư phạm Hà Nội
- Thư viện Viện Di truyền Nông nghiệp

CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Bùi Mạnh Cường, **Khuất Hữu Trung** (2005), “Nghiên cứu xây dựng tập đoàn dòng thuần từ nuôi cấy bao phấn và khả năng sử dụng chúng trong chọn tạo giống ngô lai năng suất cao”, *Báo cáo khoa học Hội nghị Toàn quốc - Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong Khoa học Sự sống*, Hà Nội 03/11/2005. NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr. 446-449.
2. **Khuất Hữu Trung**, Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Minh Công (2006), “Kết quả nghiên cứu xây dựng tập đoàn dòng ngô thuần bằng kỹ thuật nuôi cấy bao phấn (giai đoạn 2004-2005)”, *Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn*, số 24, tr. 40-44.
3. **Khuất Hữu Trung**, Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Minh Công (2007), “Sử dụng chỉ thị SSR để đánh giá độ thuần và phân tích đa dạng di truyền của các dòng ngô thuần tạo ra từ nuôi cấy bao phấn”, *Tạp chí Khoa học*, Đại học quốc gia Hà Nội, tập 23, số 2S, tr. 314-320.
4. **Khuất Hữu Trung**, Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Minh Công (2008), “Nghiên cứu đa dạng di truyền ở mức hình thái tập đoàn dòng ngô thuần tạo bằng nuôi cấy bao phấn”, *Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn*, số 11, tr. 31-35.
5. **Khuất Hữu Trung**, Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Minh Công (2009), “Nghiên cứu đa dạng di truyền tập đoàn dòng ngô thuần được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn bằng chỉ thị phân tử SSR”, *Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn*, số 4, tr. 15-20.
6. **Khuất Hữu Trung**, Bùi Mạnh Cường, Nguyễn Minh Công (2010), “Kết quả bước đầu đánh giá khả năng sử dụng các dòng ngô thuần được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn trong chọn tạo giống ngô lai năng suất cao”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 1 (14), tr. 31-37.

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Ngô là một trong những cây ngũ cốc gắn liền với đời sống và nền văn minh của nhiều dân tộc trên thế giới. Cây ngô có tiềm năng về năng suất rất lớn, điển hình nhất là sự khai thác thông qua sử dụng ưu thế lai (Hallauer, 1990).

Muốn tạo giống ngô lai tốt, các nhà chọn giống phải nghiên cứu tạo ra các dòng thuần tốt và sau đó là quá trình đánh giá khả năng kết hợp và thử nghiệm các con lai. Như vậy, phải mất 5-7 năm các nhà tạo giống mới tạo ra được một giống ngô lai mới.

Trong những năm gần đây, các nghiên cứu nhằm rút ngắn thời gian tạo dòng thuần bằng nuôi cấy bao phấn và đánh giá đa dạng di truyền để dự đoán ưu thế lai sớm đã giúp cho việc tạo ra các giống ngô lai một cách nhanh chóng. Bằng phương pháp nuôi cấy bao phấn không chỉ rút ngắn được thời gian tạo dòng thuần, tạo ra các dòng ngô thuần có độ đồng hợp tử cao (dòng ngô đơn bội kép - double haploid - DH) mà còn có thể tạo ra các dòng thuần mang nhiều đặc điểm ưu việt của nguồn vật liệu cho bao phấn nuôi cấy (Frisch and Melchinger, 2006; Smith và cs, 2008). Nghiên cứu đa dạng di truyền các dòng ngô DH không những đánh giá được khả năng sử dụng các nguồn vật liệu mới này phục vụ công tác tạo giống ngô lai mà còn rất cần thiết để định hướng cho công tác nghiên cứu tạo ra các dòng ngô thuần ưu tú từ các nguồn vật liệu khác nhau.

Xuất phát từ những lý do trên, chúng tôi thực hiện đề tài: ***“Nghiên cứu đa dạng di truyền tập đoàn dòng ngô thuần từ nuôi cấy bao phấn và khả năng sử dụng chúng trong tạo giống ngô lai”***.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Xây dựng được tập đoàn dòng ngô thuần (dòng ngô đơn bội kép - double haploid - DH) bằng phương pháp nuôi cấy bao phấn các nguồn vật liệu khác nhau;

- Đánh giá đa dạng di truyền tập đoàn dòng ngô DH ở mức hình thái và mức phân tử; xác định được khoảng cách di truyền giữa các dòng ngô DH để phân nhóm cách biệt di truyền; xác định được các nhóm ưu thế lai và có nhận xét bước đầu về mối quan hệ giữa khoảng cách di truyền với khả năng cho ưu thế lai cao;

- Tuyển chọn được các dòng ngô DH có các đặc điểm nông sinh học tốt, có khả năng kết hợp cao về năng suất phục vụ công tác nghiên cứu lai tạo giống; chọn được các tổ hợp lai tốt có sự tham gia của các

dòng ngô DH và giới thiệu một số tổ hợp lai năng suất cao có triển vọng trong sản xuất.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

3.1. Ý nghĩa khoa học

- Cung cấp thêm nhiều tư liệu, thông tin khoa học hữu ích cho công tác nghiên cứu tạo dòng thuần, phân tích đa dạng di truyền và tạo giống ngô lai;

- Hiểu biết về đa dạng di truyền của các dòng ngô DH có ý nghĩa quan trọng trong việc định hướng nghiên cứu tạo ra những dòng ngô thuần mang các đặc điểm nông sinh học mong muốn bằng phương pháp nuôi cấy bao phấn;

- Kết quả của đề tài củng cố thêm các cơ sở khoa học để nghiên cứu rút ngắn thời gian tạo dòng thuần và tạo giống ngô lai trong điều kiện cụ thể ở Việt Nam.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

- Bổ sung vào quỹ gen một tập đoàn vật liệu mới là những dòng ngô đơn bội kép (DH) phục vụ cho công tác nghiên cứu và tạo giống ngô lai;

- Những thông tin về đa dạng di truyền của các dòng ngô DH ở mức hình thái và mức phân tử là cơ sở cho việc tuyển chọn, khai thác và sử dụng trực tiếp các nguồn vật liệu mới này để tạo giống ngô lai;

- Giới thiệu các tổ hợp lai có năng suất cao, có triển vọng phục vụ cho sản xuất.

4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: bao gồm nhiều dòng, giống ngô có nguồn gốc khác nhau được lưu giữ tại Viện Nghiên cứu Ngô (Đan Phượng, Hà Nội);

- Phạm vi nghiên cứu của đề tài: từ khâu tạo vật liệu mới là các dòng ngô đơn bội kép (double haploid - DH); đánh giá đa dạng di truyền ở mức hình thái và mức phân tử, chọn lọc các dòng thuần ưu việt, phân nhóm cách biệt di truyền; lai tạo, tuyển chọn các tổ hợp lai có năng suất cao, đánh giá, so sánh và khảo nghiệm;

- Đề tài được nghiên cứu và thực hiện từ năm 2004, chủ yếu từ năm 2005-2009 tại Viện Nghiên cứu Ngô (Đan Phượng, Hà Nội) và Viện Di truyền Nông nghiệp (Từ Liêm, Hà Nội).

5. Những đóng góp mới của luận án

- Đây là công trình đầu tiên đánh giá một cách có hệ thống và tỉ mỉ đa dạng di truyền của các dòng ngô đơn bội kép được tạo ra bằng phương pháp nuôi cấy bao phấn ở cả mức hình thái và mức phân tử; qua đó giúp các nhà chọn giống có thể khai thác, sử dụng trực tiếp các nguồn vật liệu để tạo giống ngô lai;

- Thông qua đánh giá đa dạng di truyền của các dòng ngô DH được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu và từ các nguồn vật liệu khác nhau, đề tài luận án đã cung cấp nhiều thông tin hữu ích cho công tác nghiên cứu tạo ra các dòng thuần ưu tú, nghiên cứu rút ngắn thời gian tạo dòng thuần và tạo giống ngô lai;

- Bổ sung vào quỹ gen một tập đoàn dòng ngô thuần, trong đó có nhiều dòng mang các đặc điểm nông sinh học tốt; giới thiệu một số tổ hợp lai có năng suất cao, trong đó giống ngô khảo nghiệm LVN886 rất có triển vọng phục vụ cho sản xuất.

6. Cấu trúc của luận án

Luận án có 159 trang, bao gồm: Mở đầu (4 trang); chương 1: Cơ sở khoa học và tổng quan tài liệu (34 trang); chương 2: Nội dung, vật liệu và phương pháp nghiên cứu (12 trang); chương 3: Kết quả và thảo luận (86 trang); Kết luận và đề nghị (2 trang); Tài liệu tham khảo (20 trang bao gồm: 34 tài liệu tiếng Việt, 156 tài liệu tiếng Anh và 5 website); có 6 công trình công bố liên quan đến luận án.

CHƯƠNG 1

CƠ SỞ KHOA HỌC VÀ TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Ngô có tên khoa học là *Zea mays* L., thuộc chi *Maydeae*, họ hoà thảo (*Poaceae* hay *Gramineae*), bộ hoà thảo (*Poales* hay *Graminales*), lớp một lá mầm (*Monocotyledons*), ngành hạt kín (*Angiospermatophyta*), phân giới thực vật bậc cao (*Cosmobionia*) (Ngô Hữu Tình, 1997; Galinat, 1988).

1.1. Nguồn gốc, sự đa dạng di truyền của cây ngô

Những nghiên cứu về nguồn gốc cây trồng của Vavilov đã cho rằng: Mexico và Peru là những trung tâm phát sinh đa dạng di truyền của cây ngô. Mexico là trung tâm thứ nhất (trung tâm phát sinh), vùng Andet (Peru) là trung tâm thứ hai (Vavilov, 1926). Nguồn gốc di truyền cây ngô là một đề tài được các nhà khoa học tranh luận trong suốt 50 năm qua. Trong đó, giả thuyết nguồn gốc của ngô từ *Teosinte* được đa số các nhà khoa học ủng hộ (Troyer, 2004; Ngô Hữu Tình 2009).

Sự đa dạng di truyền của ngô được thể hiện ở tất cả các tính trạng của cây, bông cờ và bắp. Sự biến động về các đặc điểm của cây thể hiện ở chiều cao cây, chiều cao đóng bắp và đặc điểm của lá (dài lá, rộng lá, số lá trên cây, số lá trên bắp), màu thân và dạng lông..vv. Sự biến động ở bông cờ và bắp thể hiện ở độ dài bông cờ, cuống bông cờ, số nhánh và độ dài nhánh, đường kính bắp và số hàng hạt. Đặc biệt là sự đa dạng của nội nhũ hạt. Sự đa dạng của ngô còn thể hiện ở kích thước hạt, màu hạt và chất lượng hạt.

1.2. Dòng thuần, ưu thế lai và khả năng kết hợp

1.2.1. Dòng thuần và các phương pháp tạo dòng thuần

Trong khoa học chọn giống, dòng thuần là khái niệm tương đối để chỉ các dòng tự phối đã đạt đến độ đồng hợp tử cao và ổn định ở nhiều tính trạng. Đối với ngô, thường sau 6-8 đời tự phối các dòng đạt đến độ đồng đều cao ở các tính trạng như chiều cao cây, chiều cao đóng bắp, năng suất, màu và dạng hạt...vv. được gọi là “dòng thuần”. Có nhiều phương pháp tạo dòng ngô thuần khác nhau: (1) Tạo dòng ngô thuần bằng phương pháp tự phối và cận phối; (2) Các phương pháp tạo dòng ngô đơn bội kép (double haploid - DH) bao gồm: Phương pháp sử dụng các dòng mang gen cảm ứng tạo đơn bội; Phương pháp tạo dòng đơn bội kép bằng nuôi cấy noãn ngô; Phương

pháp tạo dòng đơn bội kép bằng nuôi cấy bao phấn hoặc hạt phấn tách rời. Phương pháp nuôi cấy bao phấn ngô được Anonymous nghiên cứu từ năm 1975, sau đó tiếp tục được hoàn thiện bởi Chu (1981), Kuo và cs (1986). Ở Việt Nam, phương pháp nuôi cấy bao phấn ngô bắt đầu được quan tâm nghiên cứu trong khoảng 15 năm trở lại đây và đã thu được một số kết quả đáng kể (Nguyễn Hữu Đống và cs, 1995; Bùi Mạnh Cường và cs, 1998; Lê Huy Hàm và cs, 2003...vv). Hiện nay, hướng nghiên cứu nâng cao tỉ lệ tạo phôi, tái sinh cây nhằm khai thác các nguồn vật liệu để tạo dòng có giá trị thương mại đang tiếp tục được triển khai (Bùi Mạnh Cường, 2007).

1.2.2. Ưu thế lai và khả năng kết hợp

Thuật ngữ “ưu thế lai” (heterosis) được shull (người Mỹ) đưa ra đầu tiên năm 1914, ưu thế lai là một khái niệm về hiệu quả lai, là hiện tượng con lai ở thế hệ thứ nhất có năng lực sinh trưởng, phát triển, khả năng chống chịu và nhiều đặc điểm khác tăng hoặc giảm so với giá trị trung bình cộng giữa hai bố mẹ hoặc vượt trội so với 1 trong 2 bố mẹ. Để sử dụng ưu thế lai trong sản xuất, nhất thiết tổ hợp lai F_1 không những phải tỏ ra hơn hẳn bố mẹ mà còn phải hơn hẳn so với giống đối chứng, nghĩa là phải tốt hơn các giống thương mại đang sản xuất. Chính vì vậy, ưu thế lai chuẩn là chỉ số được quan tâm hơn cả trong công tác tạo giống ngô lai. Thế hệ con lai có ưu thế lai cao thường thu được khi cả hai dạng bố mẹ có khả năng kết hợp chung cao, hoặc ít nhất một trong hai dạng bố mẹ có khả năng kết hợp chung cao. Khả năng kết hợp phụ thuộc vào sự khác biệt di truyền, do vậy, việc đánh giá đa dạng di truyền, phân thành các nhóm, thiết kế sơ đồ lai dựa vào khoảng cách di truyền giữa các nguồn vật liệu rồi mới lai thử là rất cần thiết. Phương pháp này không những có thể hạn chế bớt các tổ hợp lai, giảm thiểu khối lượng công việc mà còn làm cho công tác dự đoán ưu thế lai trở nên chính xác hơn.

1.3. Đa dạng di truyền và ưu thế lai trong chọn tạo giống ngô

1.3.1. Đa dạng di truyền và dự đoán ưu thế lai dựa vào nguồn gốc, phá hệ

Sự cách biệt về địa lý đã tạo nên sự khác biệt về di truyền giữa các quần thể ngô địa phương, sự đa dạng này rất có ý nghĩa trong công tác thu thập bảo tồn và khai thác sử dụng cho chương trình tạo giống ngô lai. Để tìm ra sự khác biệt di truyền của các nguồn vật liệu, ban đầu người ta tiến hành phân loại chúng theo phương pháp nghiên cứu quan hệ giữa xa cách địa lý với sự đa dạng di truyền của cây ngô.

1.3.2. Đa dạng di truyền và dự đoán ưu thế lai dựa vào các chỉ thị di truyền

1.3.2.1. Nghiên cứu đa dạng di truyền và ưu thế lai dựa vào chỉ thị hình thái

Nghiên cứu đa dạng di truyền dựa vào chỉ thị hình thái là phương pháp đánh giá thông qua các đặc điểm chính về hình thái và dựa trên các tính trạng cơ bản đó để nhận biết và phân biệt giữa các dòng/giống với nhau.

1.3.2.2. Nghiên cứu đa dạng di truyền và ưu thế lai dựa vào chỉ thị sinh hóa

Trên đối tượng cây ngô, đã có một số công trình phân tích sự đa hình của các isozym để đánh giá sự đa dạng di truyền như: Stuber và Goodman, 1983; Frei và cs, 1986; Lu và cs, 2002. Tuy nhiên, do hạn chế về số lượng chỉ thị isozym và có quá ít chỉ thị isozym liên kết với ưu thế lai nên kết quả còn rất hạn chế.

1.3.2.3. Nghiên cứu đa dạng di truyền và ưu thế lai dựa vào các chỉ thị phân tử ADN

- **Chỉ thị RFLP:** Chỉ thị RFLP được sử dụng khá phổ biến để xây dựng các bản đồ di truyền ở ngô (Gardiner và cs, 1993); xác định mối quan hệ di truyền giữa các dòng ngô nội phối và phân chúng thành các nhóm ưu thế lai (Dubreuil và Charcosset, 1998; Gauthier và cs, 2002).

- **Chỉ thị RAPD:** Trên đối tượng cây ngô, chỉ thị RAPD đã được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền và xác định mối tương quan giữa khoảng cách di truyền với sự biểu hiện ưu thế lai của các tổ hợp lai (Lanza và cs, 1997); xác định khoảng cách di truyền, phân nhóm ưu thế lai, dự đoán cặp lai ưu tú giữa các dòng ngô nhiệt đới (Moeller và Schaal, 1999; Wu và Dai 2000).

- **Chỉ thị AFLP:** Ở ngô, chỉ thị AFLP đã được sử dụng để: (1) xác định mối quan hệ giữa khoảng cách di truyền và khả năng kết hợp về năng suất (Melchinger và cs, 1998); (2) nghiên cứu sự tương đồng di truyền của các dòng ngô nội phối (Lubberstedt và cs, 2000); (3) xác định vùng nhiễm sắc thể có liên quan đến khả năng tạo ưu thế lai và (4) xây dựng bản đồ di truyền (Vuylsteke và cs, 2000).

- **Chỉ thị SSR:** Chỉ thị SSR cung cấp mức độ đa hình cao nên rất hữu ích và được sử dụng khá rộng rãi trong đánh giá đa dạng di truyền của các dòng/giống ngô (Amorim và cs, 2006). Ở ngô, có rất nhiều

alen trên mỗi locus, nhiều locus có tới 16 alen. Chính vì vậy, chỉ thị SSR được sử dụng nhiều để nghiên cứu sự đa dạng di truyền của các dòng ngô lai cận huyết và lai xa (Pinto và cs, 2003); đánh giá và xây dựng bản đồ gen (Mohammadi và cs, 2002); hay để xác định sự đa dạng di truyền của các quần thể ngô nội phối (Xia và cs, 2004). Chỉ thị SSR còn được sử dụng để nghiên cứu mối tương quan giữa khoảng cách di truyền với ưu thế lai ở ngô (Drinic và cs, 2002; Rajab và cs, 2006). Với mục đích đánh giá mức độ đồng hợp tử của các dòng ngô DH để so sánh với bố mẹ của nguồn vật liệu cho bao phần nuôi cấy, chỉ thị SSR cũng được một số tác giả sử dụng để nghiên cứu trên các dòng ngô đơn bội kép (double haploid - DH) (Ingrid, 2002; Pedro và cs, 2007).

1.3.3. Tình hình nghiên cứu đa dạng di truyền và ưu thế lai trong chọn giống ngô ở Việt Nam

Ở Việt Nam, trong những năm gần đây, sử dụng chỉ thị phân tử để đánh giá đa dạng di truyền, tính khoảng cách di truyền để dự đoán ưu thế lai sớm phục vụ cho chọn tạo giống ngô đã được một số tác giả đề cập: Bùi Mạnh Cường và cs (2000, 2003); Ngô Hữu Tình và cs (2002); Phan Xuân Hào và cs, (2004, 2005); Ngô Minh Tâm và Bùi Mạnh Cường (2007). Mặc dù vậy, số lượng các công trình ứng dụng phục vụ công tác chọn tạo giống ngô chưa nhiều. Mục đích của các tác giả là đánh giá đa dạng di truyền, xác định mối quan hệ di truyền của các dòng để thiết kế các sơ đồ lai và dự đoán các tổ hợp lai cho ưu thế lai cao nhằm giảm bớt số tổ hợp lai trên đồng ruộng. Những nghiên cứu đa dạng di truyền của các dòng thuần được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu và từ các nguồn vật liệu khác nhau để định hướng cho công tác nghiên cứu tạo ra các dòng thuần đa dạng, phong phú, có các đặc điểm nông sinh học tốt chưa được đề cập. Chưa thấy có công trình nào đánh giá đa dạng di truyền các dòng ngô thuần được tạo ra bằng phương pháp nuôi cấy bao phần (các dòng ngô DH) một cách hệ thống, tỉ mỉ ở cả mức hình thái và mức phân tử để đánh giá khả năng sử dụng chúng phục vụ công tác chọn tạo giống ngô lai.

CHƯƠNG 2

NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Xây dựng tập đoàn dòng ngô DH bằng phương pháp nuôi cấy bao phấn;

- Nghiên cứu sự đa dạng di truyền ở mức hình thái và mức phân tử của các dòng ngô DH được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn các nguồn vật liệu khác nhau;

- Đánh giá khả năng sử dụng các dòng ngô DH được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn trong công tác tạo giống ngô lai năng suất cao.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

- Các nguồn vật liệu được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: các nguồn vật liệu dùng trong nuôi cấy bao phấn tạo dòng thuần; các dòng dùng để truyền tính cảm ứng tạo phôi và tái sinh cây trong nuôi cấy bao phấn; 5 dòng tham khảo, trong đó dòng kí hiệu B79 là dòng AC24 (dòng có khả năng truyền tính cảm ứng tạo phôi và tái sinh cây cao trong nuôi cấy bao phấn); 2 dòng kí hiệu là B80 và B81 là bố, mẹ giống ngô lai F145; 2 dòng kí hiệu B82 và B83 là bố, mẹ (DF1 và DF2) của giống ngô lai LVN10; 2 dòng sử dụng trong thí nghiệm lai đỉnh là dòng C89N và dòng DF2BC1; các giống đối chứng trong các thí nghiệm so sánh, khảo nghiệm giống bao gồm: C919, LVN4, LVN99 và CP999.

- 32 cặp môi SSR được sử dụng để phân tích thuộc các locus *phi* và *umc* được chọn lọc từ 85 cặp môi do hãng Invitrogen cung cấp dựa vào các thông tin về trình tự, kích thước, số alen chuẩn trên mỗi locus, vị trí phân bố của các locus ở trên các NST khác nhau đã được công bố tại website <http://www.maizegdb.org/ssr.php>

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp nuôi cấy bao phấn tạo dòng đơn bội kép

- *Bố trí thí nghiệm*: Tập đoàn vật liệu được gieo trồng 2 vụ/năm, chăm sóc, lai tạo, thu hoạch hạt lai, lưu giữ và bảo quản tại Viện Nghiên cứu ngô. Các nguồn vật liệu cung cấp bao phấn nuôi cấy được gieo thành nhiều đợt, mỗi đợt cách nhau 5-7 ngày đảm bảo cung cấp nguyên liệu liên tục cho công việc nuôi cấy.

- *Phương pháp thu mẫu và xử lý mẫu*: Cờ ngô được thu khi các tiểu bào tử đang ở giai đoạn 1 nhân sớm đến 1 nhân muộn sắp phân

chia thành 2 nhân con. Mẫu cò được xử lý lạnh 14°C trong 10-14 ngày, sau đó các bao phẩn được phân lập cấy vào môi trường.

- *Môi trường và điều kiện nuôi cấy*: Hệ thống môi trường được sử dụng dựa trên nền khoáng đa lượng, vi lượng theo công thức môi trường YP để tạo phôi; môi trường N6 để tái sinh cây; môi trường MS để tạo cây hoàn chỉnh. Các môi trường nuôi cấy được bổ sung các vitamin, chất điều hoà sinh trưởng, các chất phụ gia, đường, thạch...vv. tùy theo mục đích của từng thí nghiệm.

2.3.2. Phương pháp đánh giá các thí nghiệm ngoài đồng ruộng

- *Thí nghiệm đánh giá dòng và các tổ hợp lai (THL)*: Bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh, 3 lần nhắc lại, mỗi công thức gieo 4 hàng, mỗi hàng dài 5m, khoảng cách gieo 70cm x 20cm/hốc (đánh giá dòng); 70cm x 25cm/hốc (đánh giá THL), 1cây/hốc;

- *Phương pháp theo dõi, đánh giá*: Các chỉ tiêu theo dõi được tiến hành theo hướng dẫn đánh giá và thu thập số liệu ở các thí nghiệm so sánh giống ngô của CIMMYT.

2.3.3. Phương pháp nghiên cứu trong phòng thí nghiệm

- *Phương pháp tách chiết ADN tổng số*: ADN tổng số được tách chiết từ các lá non của cây ngô 3 tuần tuổi theo phương pháp CTAB của Saghai-Marroof và cs, (1994) có cải tiến.

- *Phương pháp PCR, chạy điện di và nhuộm mẫu*: Thể tích mỗi phản ứng PCR là 10ul bao gồm: 1ul đệm PCR 10x; 0,8ul MgCl₂ 25 mM; 1ul dNTPs 10 mM 5U; 0,1ul Taq ADN polymerase 5U/ul; 0,25ul mỗi xuôi 5uM; 0,25ul mỗi ngược 5uM; 1ul ADN 10 ng/ul và 5,6ul nước cất hai lần khử ion. Phản ứng PCR được tiến hành trong ống eppendorf 0,2 ml theo chu trình 94°C (4 phút); 30-35 chu kỳ 94°C (30 giây), 53-57°C (1 phút), 72°C (1 phút); và 72°C (4 phút). Sản phẩm PCR sau khi biến tính được điện di trên gel polyacrylamide 4,5% và được phát hiện bằng phương pháp nhuộm bạc.

2.3.4. Các phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý theo phương pháp thống kê sinh học trên nền Excel version 5.0 và các phần mềm phân tích thống kê chuyên dụng bao gồm: MSTATC (Management and Statistical Research Tool); phần mềm NCSS (Number Cruncher Statistical Systems); chương trình NTSYSpc 2.1 (Numerical Taxonomy System

for personal computer); chương trình phân tích phương sai topcross version 3.0. (1996) của Ngô Hữu Tình và Nguyễn Đình Hiền.

CHƯƠNG 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu xây dựng tập đoàn dòng ngô thuần (dòng ngô đơn bội kép) bằng phương pháp nuôi cấy bao phấn

3.1.1. Khả năng tạo phôi và tái sinh cây của các nguồn vật liệu nuôi cấy

Kết quả đánh giá khả năng phản ứng tạo phôi và tái sinh cây của các nguồn vật liệu qua 2 vụ Thu 2004 và Xuân 2005 cho thấy: Ở vụ Thu 2004, có 26/32 (81,3%) nguồn vật liệu có khả năng tạo được phôi và chỉ có 18/26 (69,2%) nguồn vật liệu có khả năng tái sinh cây. Tỷ lệ tạo phôi và tái sinh cây tương ứng ở vụ Xuân 2005 là 22/32 (68,8%) và 17/22 (77,3%). Tỷ lệ tạo phôi trung bình của các nguồn vật liệu nghiên cứu ở vụ Thu 2004 là 6,6% và ở vụ Xuân 2005 là 6,7%. Tỷ lệ tái sinh cây trung bình của các nguồn vật liệu ở vụ Thu 2004 là 6,2% và ở vụ Xuân 2005 là 5,8%.

3.1.2. Tỷ lệ hữu thụ và đặc điểm hình thái của cây S_0 tạo ra từ nuôi cấy bao phấn

Ở vụ Thu 2004, có 18 nguồn vật liệu tái sinh được cây hoàn chỉnh với tổng số là 963 cây; giai đoạn ra ngôi có 771 cây sống sót (80,1%), tuy nhiên chỉ có 5 nguồn vật liệu (C919xAC24; SC7114xAC24; SC1614xAC24; SX2010xAC24 và (T5xHQ2000)xAC24) cho cây hữu thụ và thu được tổng số 61 dòng S_1 (đạt tỷ lệ 7,9%). Ở vụ Xuân 2005 có 17 nguồn vật liệu tái sinh được cây hoàn chỉnh với tổng số là 712 cây; có 602 cây sống sót (84,6%) và cũng chỉ có 5 nguồn vật liệu kể trên có cây hữu thụ thu được tổng số 51 dòng S_1 (đạt tỷ lệ 8,5%). Như vậy, trong số 1675 cây tạo ra trong cả 2 mùa vụ thì có 302 cây bị chết ở giai đoạn sớm. Trong số 1373 cây sống sót chỉ có 112 cây hữu thụ (tỷ lệ trung bình là 8,2%).

3.1.3. Kết quả tạo, chọn dòng ngô DH từ nuôi cấy bao phấn

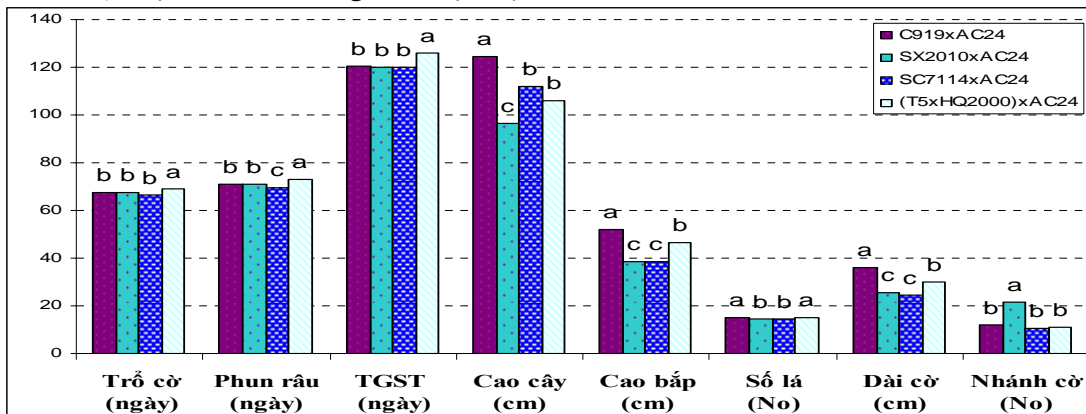
Trong số 112 dòng thu được từ nuôi cấy bao phấn của 5 nguồn vật liệu khác nhau, qua đánh giá ban đầu, đã tuyển chọn được 78 dòng từ 4 nguồn vật liệu (10 dòng kí hiệu B1-B10 được tạo ra từ nguồn vật liệu C919xAC24; 6 dòng kí hiệu B11-B16 được tạo ra từ nguồn SX2010xAC24; 13 dòng kí hiệu B17-B29 được tạo ra từ nguồn vật liệu SC7114xAC24 và 49 dòng kí hiệu B30-B78 được tạo ra từ nguồn vật liệu (T5xHQ2000)xAC24) để đưa vào hệ thống đánh giá dòng phục vụ công tác nghiên cứu tạo giống ngô lai.

3.2. Đa dạng di truyền tập đoàn dòng ngô DH được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn

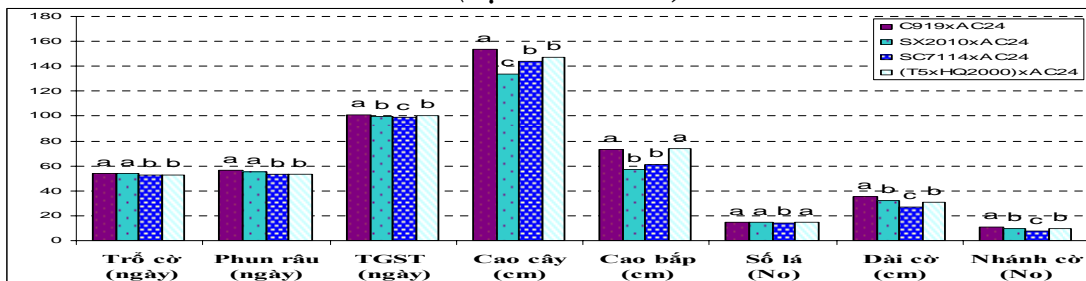
3.2.1. Nghiên cứu đa dạng di truyền tập đoàn dòng ngô DH ở mức hình thái

3.2.1.1. Một số đặc điểm hình thái, nông học chính của các dòng ngô DH nghiên cứu

Kết quả đánh giá các đặc điểm hình thái của 78 dòng ngô DH tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau trong 2 vụ (Xuân và Thu, 2006) cho thấy: các dòng ngô được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn có độ đồng đều khá cao trong từng dòng; nhưng giữa các dòng rất đa dạng về thời gian sinh trưởng và các đặc điểm hình thái. Biểu đồ (hình 3.7a và hình 3.7b) cho thấy sự khác nhau về các tính trạng hình thái giữa các dòng ngô DH được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau.



Hình 3.7a. Biểu đồ so sánh giá trị trung bình về các tính trạng hình thái của các nhóm dòng ngô DH được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau (vụ Xuân 2006)



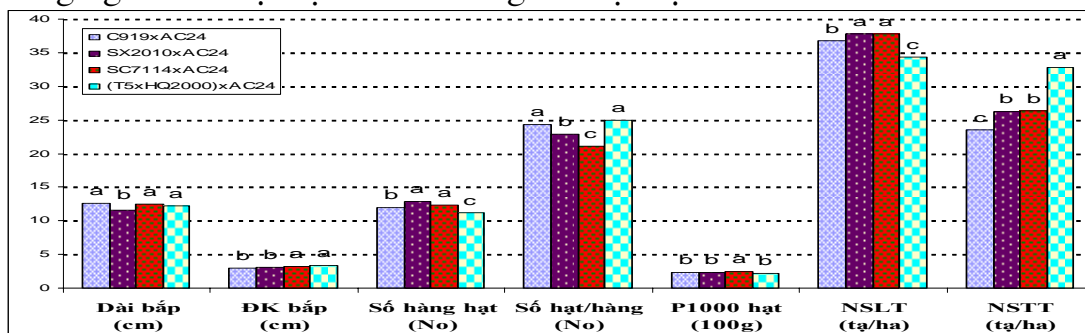
Hình 3.7b. Biểu đồ so sánh giá trị trung bình về các tính trạng hình thái của các nhóm dòng ngô được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau (vụ Thu 2006)

* Tính trạng màu sắc một số bộ phận của các dòng ngô DH nghiên cứu

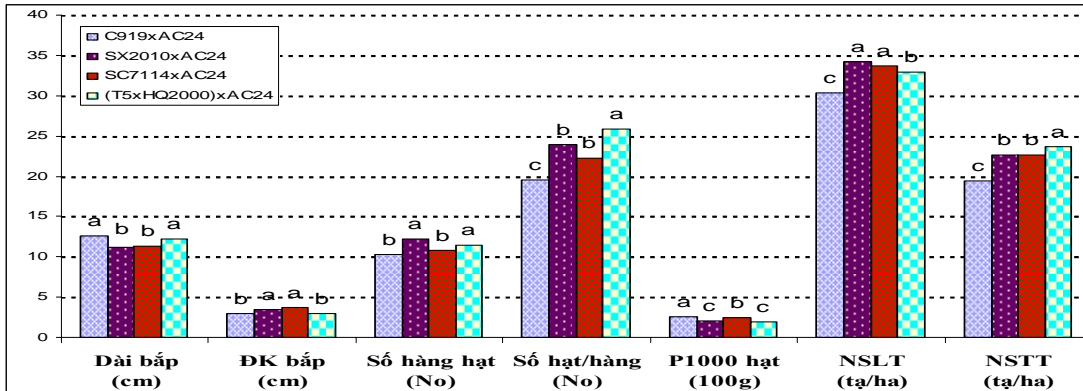
Kết quả đánh giá màu sắc các bộ phận của các dòng ngô DH nghiên cứu đã cho thấy: 10 dòng từ B1-B10 được tạo ra từ nguồn vật liệu C919xAC24 có 3 loại màu cờ (trắng, hồng và đỏ) và 3 loại màu râu (trắng, hồng nhạt và hồng); hạt của dòng B4 có màu vàng cam, hạt của các dòng còn lại đều có màu vàng, lõi trắng. Ở 6 dòng từ B11-B16 được tạo ra từ nguồn vật liệu SX2010xAC24 cờ có 2 màu là trắng và tím nhạt; râu có 2 màu (trắng và hồng); cả 6 dòng đều có hạt màu vàng, lõi trắng; Trong số 13 dòng được tạo ra từ nguồn vật liệu SC7114xAC24, cờ có 3 màu (trắng, đỏ và tím); râu có 5 màu (trắng, hồng nhạt, hồng, đỏ và tím); dòng B17 có hạt màu vàng đỏ, 12 dòng còn lại đều có dạng hạt màu vàng, lõi trắng; Trong số 48 dòng được tạo ra từ nguồn vật liệu (T5xHQ2000)xAC24, có 3 loại màu cờ (trắng, tím nhạt và tím) và 5 loại màu râu (trắng, hồng nhạt, hồng, đỏ và tím); dòng B60 có hạt màu vàng nhạt, các dòng B34, B64 và B70 có hạt màu vàng cam, 44 dòng còn lại hạt có màu vàng; cả 48 dòng đều có lõi trắng.

3.2.1.2. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng ngô DH nghiên cứu

Kết quả đánh giá các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng ngô DH qua 2 vụ (Xuân và Thu 2006) cho thấy: giữa các dòng ngô được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu có sự khác nhau khá lớn về các yếu tố cấu thành năng suất như: chiều dài bắp, đường kính bắp, số hàng hạt, số hạt/hàng và khối lượng 1000 hạt, do đó năng suất dòng cũng rất khác nhau. Biểu đồ (hình 3.8a và hình 3.8b) cho thấy sự khác nhau về các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng ngô DH được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau.



Hình 3.8a. Biểu đồ so sánh giá trị trung bình về các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các nhóm dòng ngô DH được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau (vụ Xuân 2006)



Hình 3.8b. Biểu đồ so sánh giá trị trung bình về các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng ngô DH được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau (vụ Thu 2006)

3.2.1.3. Khả năng chống chịu của các dòng ngô DH nghiên cứu

Kết quả theo dõi khả năng chống chịu với 3 loại sâu bệnh chính và khả năng chống đổ của các dòng ngô DH qua 2 vụ Xuân và Thu 2006 cho thấy: Ở vụ Xuân, tỉ lệ bị sâu đục thân trung bình của các nhóm dòng được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau dao động từ 5,1 % đến 7,3%; ở vụ Thu, tỉ lệ bị sâu đục thân trung bình cao hơn, dao động từ 6,7% đến 10,0%. Bệnh đốm lá gây hại trên các dòng ngô ở vụ Xuân cũng thấp hơn ở vụ Thu (điểm trung bình ở vụ Xuân của các nhóm dòng dao động từ 1,7 đến 1,8 và ở vụ thu dao động từ 2,1 đến 2,6). Bệnh gỉ sắt ở vụ Xuân hầu như không xuất hiện (điểm trung bình của các nhóm dòng dao động từ 1,0 đến 1,5) và chỉ gây hại nhẹ ở vụ Thu (điểm trung bình của các nhóm dòng dao động từ 2,1 đến 2,4). Các dòng DH nghiên cứu có khả năng chống đổ khá, tỉ lệ bị đổ gãy trung bình của các nhóm dòng được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau ở vụ Xuân dao động từ 6,7% đến 11,6%; ở vụ Thu, tỉ lệ bị đổ gãy trung bình của các nhóm dòng thấp hơn, dao động từ 4,4% đến 7,0%.

Tóm lại:

- Các dòng ngô DH khác nhau biểu hiện sự khác nhau về thời gian sinh trưởng, đặc điểm hình thái, khả năng chống chịu và năng suất; mỗi dòng đều có những ưu điểm và nhược điểm riêng và phản ứng ở từng mùa vụ cũng rất khác nhau;

- Mức độ sai khác về các đặc điểm hình thái, các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các dòng được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu và từ các nguồn vật liệu khác nhau là khác nhau;

- Kết quả đánh giá qua 2 vụ (Xuân và Thu, 2006) đã tuyển chọn được 49 dòng có thời gian sinh trưởng phù hợp, có các đặc điểm hình thái ưu việt, khả năng chống chịu tốt, có năng suất trên 20 tạ/ha, bao gồm: B3, B5, B8, B9, B10, B11, B15, B16, B18, B19, B20, B25, B27, B29 phục vụ cho công tác lai tạo giống.

3.2.1.4. Phân tích đa dạng di truyền tập đoàn dòng ngô DH nghiên cứu dựa vào các tính trạng hình thái

*** *Mức độ sai khác ở các tính trạng hình thái của tập đoàn dòng ngô DH nghiên cứu***

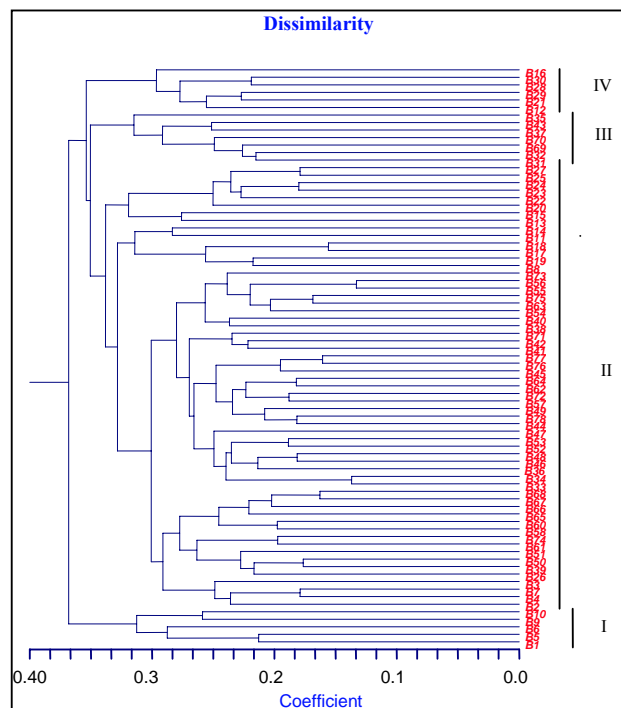
Kết quả phân tích các thành phần cơ bản (Principal Component Analysis - PCA) đã chỉ ra 12 thành phần có giá trị riêng (Eigenvalue) lớn hơn 1 đặc trưng cho mức độ sai khác của 19 tính trạng. Trong đó, thành phần cơ bản đầu tiên (PC1) chỉ ra 17,36% sự sai khác với các tính trạng có hệ số sai khác lớn như: thời gian trổ cờ và phun râu ở vụ Xuân, chiều cao đóng bắp và thời gian sinh trưởng ở cả 2 vụ. Thành phần cơ bản thứ hai (PC2) chỉ ra 12,16% sự sai khác giữa các dòng nghiên cứu, các tính trạng có hệ số sai khác lớn như thời gian phun râu, chiều dài cờ ở vụ Thu và 3 tính trạng liên quan đến năng suất là đường kính bắp ở vụ Xuân, số hạt/hàng ở vụ Thu, và năng suất thực thu ở vụ Xuân. Thành phần cơ bản thứ ba (PC3) và thứ tư (PC4) chỉ ra sự sai khác giữa các dòng nghiên cứu lần lượt là 9,14% và 7,43%, các tính trạng có hệ số sai khác lớn đều là các tính trạng liên quan đến năng suất như chiều dài bắp, số hàng hạt, số hạt/hàng, năng suất lý thuyết và năng suất thực thu. Các thành phần cơ bản (PC) còn lại chỉ ra mức độ sai khác giữa các dòng nhỏ hơn, tỉ lệ phần trăm sai khác cũng nhỏ hơn, dao động từ 2,69% đến 5,81%.

*** *Khoảng cách di truyền giữa các dòng ngô DH nghiên cứu dựa vào các tính trạng hình thái***

Bảng 3.16. Khoảng cách di truyền của các cặp dòng ngô DH dựa vào các tính trạng hình thái

Tên nguồn vật liệu	Số dòng	Số cặp dòng	Mức biên độ khoảng cách di truyền	Trung bình
C919xAC24	10	45	0,18 - 0,45	0,31
SX2010xAC24	6	15	0,26 - 0,40	0,32
SC7114xAC24	13	78	0,16 — 0,43	0,31
(T5xHQ2000)xAC24	48	1128	0,13 — 0,48	0,29
Tập đoàn	77	2926	0,13 — 0,52	0,32

Dựa vào 19 tính trạng hình thái, kết quả đánh giá đa dạng di truyền của 77 dòng ngô DH nghiên cứu (dòng B59 bị loại do lẫn tạp) được trình bày ở bảng 3.16 và hình 3.9 cho thấy: Khoảng cách di truyền (GD) giữa các cặp dòng trong cả tập đoàn dao động từ 0,13 đến 0,52 (trung bình là 0,32). Trong đó, 10 dòng từ B1 đến B10 được tạo ra từ cùng nguồn vật liệu C919xAC24 có GD giữa các cặp dòng dao động từ 0,18 đến 0,45 (trung bình là 0,31); 6 dòng từ B11 đến B16 được tạo ra từ cùng nguồn vật liệu SX2010xAC24 có GD giữa các cặp dòng dao động từ 0,26 đến 0,40 (trung bình là 0,32); 13 dòng từ B17 đến B29 được tạo ra từ cùng nguồn vật liệu SC7114xAC24 có GD giữa các cặp dòng dao động từ 0,16 đến 0,43 (trung bình là 0,31); 48 dòng còn lại từ B30-B78 được tạo ra từ cùng nguồn vật liệu (T5xHQ2000)xAC24 có GD giữa các cặp dòng dao động từ 0,13 đến 0,48 (trung bình là 0,29).



Hình 3.9. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của 77 dòng ngô DH

dựa vào các tính trạng hình thái

Dựa vào sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của các dòng ngô DH (hình 3.9) cho thấy: ở mức sai khác 33%, 77 dòng ngô nghiên cứu được phân thành 4 nhóm khác nhau, trong đó 10 dòng (từ B1 đến B10) được tạo ra từ cùng nguồn vật liệu C919xAC24 nằm trong 2 nhóm I và II; 6 dòng (từ B11 đến B16) được tạo ra từ cùng nguồn vật liệu SX2010xAC24 nằm trong 2 nhóm II và IV; 13 dòng (từ B17 đến B29) được tạo ra từ cùng nguồn vật liệu SC7114xAC24 cũng nằm trong 2 nhóm II và IV. 48 dòng (từ B30 đến B78) được tạo ra từ cùng nguồn vật liệu (T5xHQ2000)xAC24 chủ yếu nằm trong nhóm II và nhóm III, duy nhất có dòng B30 nằm ở nhóm IV.

Nhận xét: Kết quả phân nhóm dựa vào các tính trạng hình thái cho thấy: các dòng được tạo ra từ nguồn vật liệu là các giống lai đơn (C919, SX2010 và SC7114) được phân ở 2 nhóm khác nhau; các dòng được tạo ra từ nguồn vật liệu là giống lai ba (T5xHQ2000) được phân ở 3 nhóm khác nhau. Điều này chứng tỏ: sự đa dạng của các dòng ngô DH chủ yếu phụ thuộc vào các nguồn vật liệu được truyền tính cảm ứng trong nuôi cấy bao phấn mà ít phụ thuộc vào dòng truyền tính cảm ứng tạo phôi và tái sinh cây.

3.2.2. Nghiên cứu đa dạng di truyền tập đoàn dòng ngô DH ở mức phân tử bằng kỹ thuật SSR

Kết quả phân tích các môi SSR với 78 dòng ngô nghiên cứu và 5 dòng tham khảo đã chỉ ra 32 môi cho đa hình thu được tổng số 95 loại alen, trung bình 2,97 alen/locus, có 13 môi chỉ thu được 2 alen, 11 môi thu được 3 alen, 5 môi thu được 4 alen, 2 môi thu được 5 alen, duy nhất có môi phi101049 thu được 6 alen.

Giá trị PIC của 32 môi nghiên cứu thay đổi từ 0,02 (môi phi008) đến 0,66 (môi phi114); giá trị PIC trung bình của 32 môi là 0,37. Tỷ lệ dị hợp (H) ở các locus SSR nghiên cứu cao nhất là 20% ở dòng B23; dòng B59 có H=15,63%; dòng B9 có H=14,29%; dòng B10 có H=10,34%; dòng B22 có H=10%; dòng B7 có H=9,68% (bằng mức dị hợp tử của dòng đối chứng AC24); 3 dòng có H=9,38%; 31 dòng có mức dị hợp tử từ 3,13% đến 6,45%. Như vậy, phân tích với 32 locus thì 2 dòng (2,6%) có tỷ lệ dị hợp tử trên 15%; 38 dòng (48,7%) có tỷ lệ

hợp tử 3,13%-14,29%; 38 dòng còn lại (48,7%) đồng hợp tử cả 32 locus nghiên cứu. Loại trừ 2 dòng có mức dị hợp tử lớn hơn 15% là B23 và B59 (dòng B59 cũng bị loại ở thí nghiệm đánh giá hình thái), 81 dòng (76 dòng ngô DH và 5 dòng tham khảo) đủ tiêu chuẩn tham gia vào các thí nghiệm phân tích đa dạng di truyền và phân nhóm cách biệt di truyền.

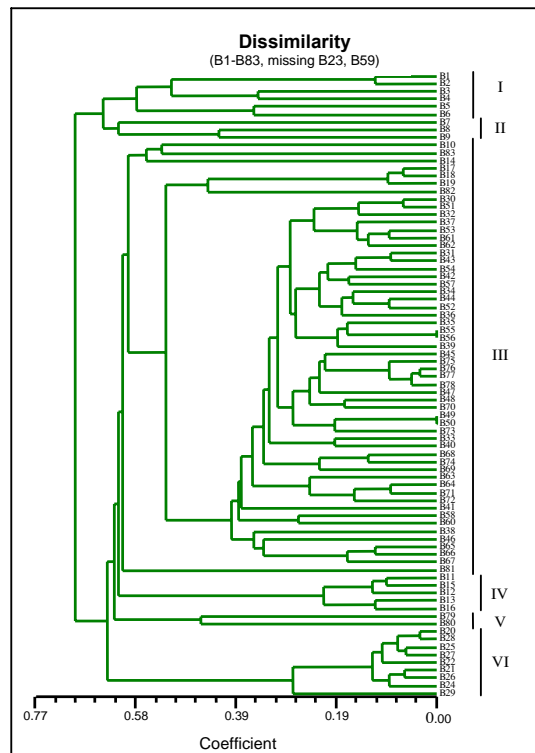
3.2.2.1. Đa dạng di truyền của các dòng ngô DH được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu dựa trên 32 môi SSR

Kết quả đánh giá đa dạng di truyền của các dòng ngô DH được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu dựa trên 32 môi SSR cho thấy: 10 dòng ngô DH cùng được tạo ra từ nguồn vật liệu C919xAC24 có mức độ đa dạng rất cao. Khoảng cách di truyền (GD) giữa các cặp dòng dao động từ 0,06 đến 0,83. GD trung bình của cả 10 dòng là 0,55 và 10 dòng ngô được phân thành 2 nhóm khác nhau; Trong 6 dòng DH cùng được tạo ra từ nguồn vật liệu SX2010xAC24, dòng B14 có kiểu gen rất khác nằm ở nhóm riêng (GD giữa cặp dòng B14 với các dòng khá cao); 5 dòng còn lại có GD giữa các cặp dòng nhỏ ở trong cùng một nhóm. GD trung bình của cả 6 dòng là 0,29; trong số 13 dòng ngô được tạo ra từ nguồn vật liệu SC7114xAC24, dòng B23 có tỉ lệ dị hợp tử là 20% (lớn hơn 15%) bị loại. 12 dòng còn lại có mức độ đa dạng thấp. GD giữa các cặp dòng dao động từ 0,2 đến 0,57; GD trung bình giữa 12 cặp dòng là 0,24 và được chia thành 2 nhóm tách biệt; trong số 49 dòng ngô DH được tạo ra từ nguồn vật liệu (T5xHQ2000)xAC24, dòng B59 có tỉ lệ dị hợp tử là 15,63% (bị loại). 48 dòng còn lại có mức độ đa dạng khá thấp, có những cặp dòng có GD= 0 (cặp dòng có kiểu gen giống hệt nhau ở cả 32 locus nghiên cứu) có thể do hiện tượng đa phôi do 2 cây S_0 được tái sinh từ cùng một phôi. GD giữa các cặp dòng dao động từ 0,0 đến 0,50; GD trung bình giữa các dòng là 0,22; và 48 dòng ngô được phân thành 4 nhóm khác nhau.

3.2.2.2. Đa dạng di truyền của tập đoàn dòng ngô DH nghiên cứu dựa trên 32 môi SSR

Kết quả phân tích đa dạng di truyền của 81 dòng (76 dòng ngô DH được tạo ra từ 4 nguồn vật liệu khác nhau và 5 dòng tham khảo) thể hiện ở sơ đồ hình cây (hình 3.15) và số liệu thống kê cho thấy: khoảng cách di truyền giữa 3240 cặp của 81 dòng ngô dao động từ 0,0 đến 0,83, GD trung bình của cả 81 dòng nghiên cứu là 0,55. Trong số

76 dòng ngô DH được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn (2850 cặp dòng) có GD trung bình là 0,50, trong đó có một số cặp dòng có GD rất cao: cặp dòng B6 và B13 có GD=0,82; GD giữa các cặp B6 và B15; B8 và B37; B2 và (B48, B70, B72, B73, B75) đều là 0,81; GD giữa cặp dòng B1 và B47; B2 và (B47, B49, B50, B60, B71); B5 và B11; B6 và (B11, B16) đều là 0,80. Các cặp dòng B1 và (B70, B72, B73, B75); B9 và B29 đều có GD= 0,79 (so với GD giữa bố và mẹ cặp lai LVN10 (B80 và B81) có GD là 0,74; giữa bố và mẹ trong cặp lai LVN145 (B82 và B83) có GD là 0,63. Có 2 cặp dòng có GD=0,0 (B49 và B50; B55 và B56), các cặp dòng này giống nhau ở cả 32 locus SSR nghiên cứu có thể do được tái sinh từ cùng một phôi (hiện tượng đa phôi hình thành từ một tiểu bào tử khá phổ biến trong nuôi cấy bao phấn và hạt phấn tách rời ở ngô).



Hình 3.14. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của 81 dòng ngô nghiên cứu dựa trên 32 môi SSR

Khoảng cách di truyền giữa các cặp dòng được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu và khoảng cách di truyền giữa các cặp dòng trong cả tập đoàn được trình bày ở bảng 3.24. Xét cả tập đoàn cho thấy: Mức độ đa dạng của các dòng ngô được tạo ra từ nguồn vật liệu C919xAC24 là cao

nhất, GD dao động từ 0,12 đến 0,72 (GD trung bình rất cao là 0,58). Tiếp đó là các dòng ngô được tạo ra từ nguồn vật liệu SX2010xAC24, GD dao động từ 0,10 đến 0,68 (GD trung bình là 0,34). Các dòng ngô được tạo ra từ hai nguồn vật liệu SC7114xAC24 và (T5xHQ2000)xAC24 có mức độ đa dạng thấp, không có cặp dòng nào có GD lớn hơn 0,6 (GD trung bình của các dòng được tạo ra từ 2 nguồn vật liệu lần lượt là 0,30 và 0,32).

Bảng 3.24. Khoảng cách di truyền của các cặp dòng ngô DH dựa vào chỉ thị SSR

Tên nguồn vật liệu	Số dòng	Số cặp dòng	Mức biến động khoảng cách di truyền	Trung bình
C919xAC24	10	45	0,12 - 0,72	0,58
SX2010xAC24	6	15	0,10 - 0,68	0,34
SC7114xAC24	12	66	0,03 — 0,60	0,30
(T5xHQ2000)xAC24	48	1128	0,00 — 0,57	0,32
Cả tập đoàn	76	2850	0,00 — 0,82	0,50

Kết quả ở bảng 3.24 cũng cho thấy mức độ đa dạng của tập đoàn dòng ngô DH rất cao, GD của tập đoàn dao động từ 0,00 đến 0,82 (GD trung bình là 0,50). Ở mức sai khác 63%, thì 81 dòng ngô được phân ở 6 nhóm cách biệt di truyền: Nhóm I: bao gồm 6 dòng B1, B2, B3, B4, B5 và B6; Nhóm II: bao gồm 3 dòng B7, B8 và B9; Nhóm III: bao gồm 56 dòng được chia thành 4 phân nhóm (phân nhóm 3.1: gồm 3 dòng B10, B14 và B83; phân nhóm 3.2: gồm 4 dòng B17, B18, B19 và B82; phân nhóm 3.3: gồm 48 dòng từ B30 đến B78 (ngoại trừ B59 bị loại); phân nhóm 3.4: chỉ có duy nhất dòng B81; Nhóm IV: bao gồm 5 dòng B11, B12, B13, B15 và B16; Nhóm V: gồm có 2 dòng B79 và B80; Nhóm VI: bao gồm 9 dòng từ B20 đến B29 (ngoại trừ B23 bị loại).

Như vậy, 10 dòng ngô DH tạo ra từ nguồn vật liệu C919xAC24 được phân trong ba nhóm cách biệt di truyền: 6 dòng (từ B1 đến B6) ở trong nhóm I; 3 dòng (B7, B8 và B9) ở trong nhóm II; dòng B10 ở trong phân nhóm 3.1 thuộc nhóm III cùng với dòng B14 và dòng B83. 6 dòng tạo ra từ nguồn vật liệu SX2010xAC24 được phân ở 2 nhóm cách biệt di truyền: dòng B14 nằm ở phân nhóm 3.1 của nhóm III; 5 dòng còn lại ở trong nhóm IV. 12 dòng tạo ra từ nguồn vật liệu SC7114xAC24 được phân ở hai nhóm cách biệt di truyền: 3 dòng B17, B18 và B19 ở trong phân nhóm 3.2 của nhóm III; 9 dòng còn lại ở trong nhóm VI. 48 dòng tạo ra từ nguồn vật liệu (T5xHQ2000)xAC24

cùng nằm trong phân nhóm 3.3 của nhóm III. Trong 5 dòng tham khảo, dòng B83 nằm ở phân nhóm 3.1; dòng B82 ở phân nhóm 3.2 và dòng B81 ở phân nhóm 3.4 của nhóm III; dòng B79 (dòng truyền tính cảm ứng AC24) và dòng B80 nằm riêng ở nhóm V.

Nhận xét: Dựa vào kết quả phân tích đa dạng di truyền ở mức phân tử cho thấy: 76 dòng ngô DH được tạo ra từ 4 nguồn vật liệu khác nhau cùng được truyền tính cảm ứng tạo phôi và tái sinh cây bằng dòng AC24, nhưng rất đa dạng và phân bố ở 5 nhóm cách biệt di truyền không cùng nhóm với dòng AC24. Khoảng cách di truyền của cả 76 dòng với dòng AC24 khá lớn chứng tỏ mức độ đa dạng của các dòng ngô DH được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn phụ thuộc vào nền di truyền của các nguồn vật liệu ban đầu, ít phụ thuộc vào dòng truyền tính cảm ứng tạo phôi và tái sinh cây. Mức độ đa dạng của các dòng ngô DH được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn các nguồn vật liệu khác nhau rất khác nhau. Các dòng ngô DH được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu thường phân bố trong một hoặc hai nhóm cách biệt di truyền và có khoảng cách di truyền nhỏ hơn so với các dòng ngô được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau.

3.2.3. So sánh kết quả phân tích đa dạng di truyền ở mức hình thái và ở mức phân tử

3.2.3.1. So sánh tần số phân bố khoảng cách di truyền của các cặp dòng ngô DH dựa vào chỉ thị hình thái và chỉ thị SSR

Bảng 3.25. Tần số phân bố khoảng cách di truyền của các cặp dòng ngô DH dựa vào chỉ thị hình thái

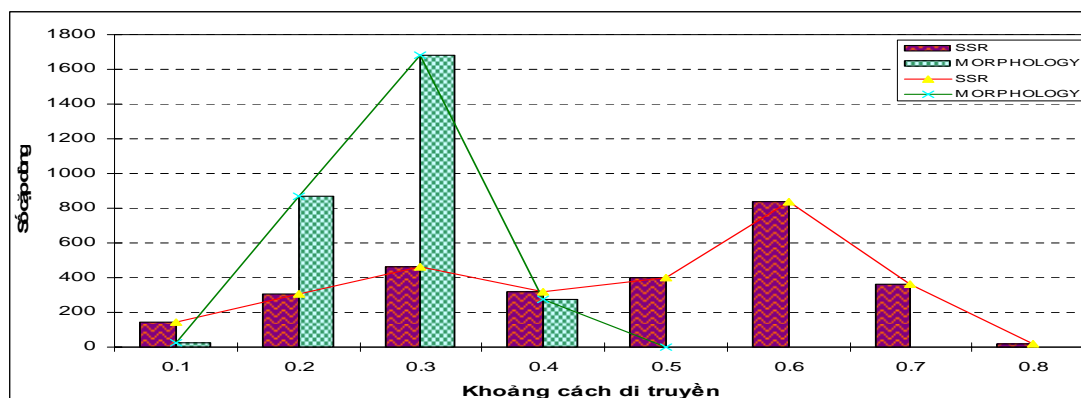
Khoảng cách di truyền \ Nguồn vật liệu	C919 xAC24 (10 dòng)	SX2010 xAC24 (6 dòng)	SC7114 xAC24 (12 dòng)	(T5xHQ2000) xAC24 (48 dòng)	Cả tập đoàn (76 dòng)
0,1 < GD ≤ 0,2	1	0	3	21	25
0,2 < GD ≤ 0,3	16	4	22	584	868
0,3 < GD ≤ 0,4	26	10	34	491	1682
0,4 < GD ≤ 0,5	2	1	7	32	273
0,5 < GD ≤ 0,6	0	0	0	0	2
Tổng số cặp dòng	45	15	66	1128	2850

Kết quả so sánh giữa tần số phân bố khoảng cách di truyền của 76 dòng ngô DH dựa vào chỉ thị hình thái và chỉ thị SSR được trình bày ở bảng 3.25, 3.26 và hình 3.17 cho thấy: ở mức hình thái, khoảng cách di truyền giữa 76 dòng dao động từ 0,13 đến 0,57 (trung bình là

0,32); trong đó, chỉ có 2 cặp có GD lớn hơn 0,50. Ở mức phân tử dựa trên 32 môi SSR, khoảng cách di truyền của các cặp dòng dao động từ 0,00 đến 0,82 (trung bình là 0,50); trong đó có 1617 cặp dòng (56,7%) có GD lớn hơn 0,50.

Bảng 3.26. Tần số phân bố khoảng cách di truyền của các cặp dòng ngô DH

Khoảng cách di truyền \ Nguồn vật liệu	dựa vào chỉ thị SSR				
	C919 xAC24 (10 dòng)	SX2010 xAC24 (6 dòng)	SC7114 xAC24 (12 dòng)	(T5xHQ2000) xAC24 (48 dòng)	Cả tập đoàn (76 dòng)
0,0 < GD ≤ 0,1	0	0	0	2	2
0,1 < GD ≤ 0,2	1	6	31	105	143
0,2 < GD ≤ 0,3	0	3	5	299	307
0,3 < GD ≤ 0,4	3	1	3	451	463
0,4 < GD ≤ 0,5	3	0	1	260	318
0,5 < GD ≤ 0,6	15	0	25	11	400
0,6 < GD ≤ 0,7	19	5	1	0	837
0,7 < GD ≤ 0,8	4	0	0	0	363
0,8 < GD ≤ 0,9	0	0	0	0	17
Tổng số cặp dòng	45	15	66	1128	2850



Hình 3.17. Biểu đồ so sánh tần số phân bố khoảng cách di truyền của các cặp dòng ngô DH dựa vào chỉ thị hình thái và chỉ thị SSR

3.2.3.2. Mối tương quan giữa hai ma trận khoảng cách di truyền

Kết quả so sánh tương quan giữa hai ma trận khoảng cách di truyền (dựa vào chỉ thị hình thái và chỉ thị phân tử SSR) của các dòng ngô DH nghiên cứu bằng phương pháp Mantel (1967) đã chỉ ra mối

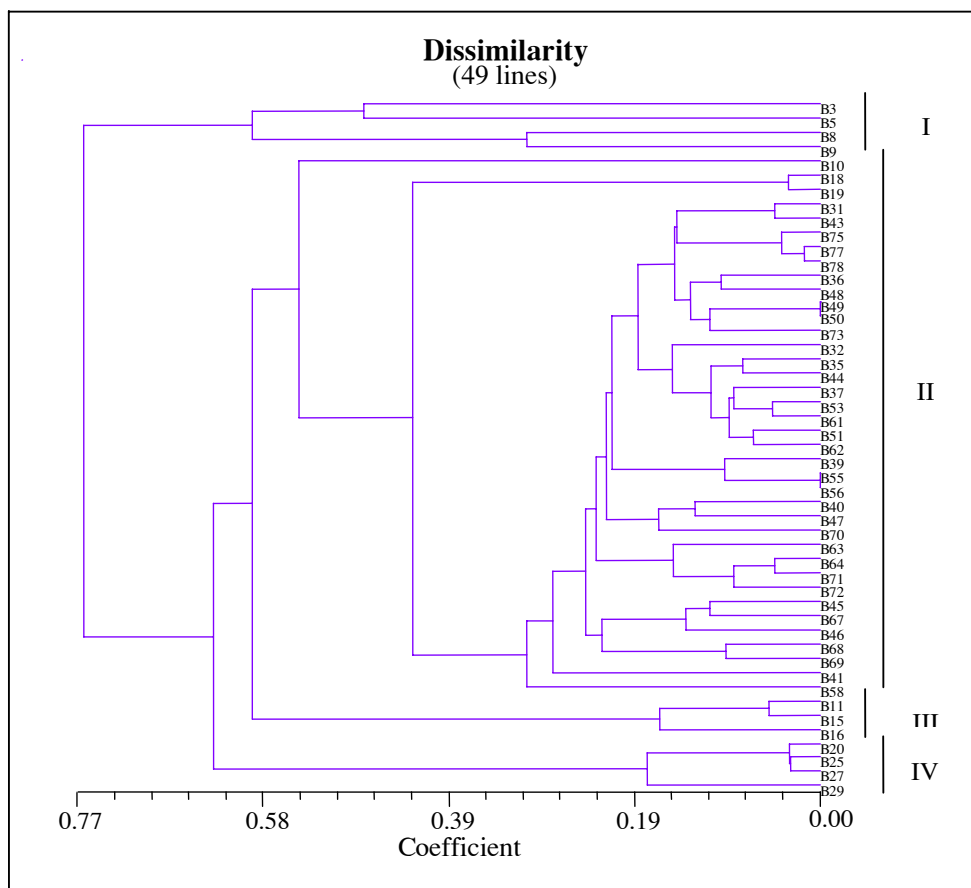
tương quan thuận có ý nghĩa giữa khoảng cách di truyền đánh giá bằng hai loại chỉ thị hình thái và chỉ thị phân tử SSR ($r=0,43$).

Các phương pháp đánh giá đa dạng di truyền khác nhau cung cấp các thông tin ở các khía cạnh khác nhau về đa dạng di truyền. Phương pháp đánh giá đa dạng di truyền dựa vào chỉ thị hình thái phụ thuộc nhiều vào mùa vụ, thời gian lâu hơn đặc biệt khi số lượng nguồn vật liệu quá lớn; phương pháp đánh giá đa dạng di truyền dựa vào chỉ thị phân tử cho kết quả nhanh hơn, có thể ứng dụng với số lượng lớn các nguồn vật liệu. Kết quả đánh giá đa dạng di truyền tập đoàn dòng ngô DH đã chỉ ra mối tương quan thuận và có ý nghĩa giữa khoảng cách di truyền dựa vào các đặc điểm hình thái và dựa vào chỉ thị phân tử SSR. Điều này cho thấy hoàn toàn có thể sử dụng chỉ thị phân tử SSR để nhanh chóng xác định khoảng cách di truyền, phân nhóm cách biệt di truyền, dự đoán sớm các nhóm ưu thế lai và đánh giá khả năng sử dụng của các dòng ngô DH trong tạo giống ngô lai.

3.3. Mối quan hệ giữa khoảng cách di truyền với năng suất hạt, ưu thế lai và khả năng sử dụng các dòng ngô DH trong tạo giống ngô lai năng suất cao

3.3.1. Kết quả phân nhóm cách biệt di truyền các dòng ngô DH ưu tú

Kết quả đánh giá các đặc điểm hình thái qua 2 vụ (Xuân và Thu, 2006) đã tuyển chọn được 49 dòng có các đặc điểm hình thái ưu việt, khả năng chống chịu tốt, có năng suất trên 20 tạ/ha. Ở mức phân tử, dựa vào khoảng cách di truyền giữa các cặp dòng, 49 dòng ngô DH ưu tú được phân thành 4 nhóm cách biệt di truyền (hình 3.18). Trong đó: 5 dòng ngô DH tạo ra từ nguồn vật liệu C919xAC24 có 4 dòng (B3, B5, B8 và B9) ở nhóm I, duy nhất dòng B10 ở phân nhóm 2.1 của nhóm II; 35 dòng ngô DH tạo ra từ nguồn vật liệu (T5xHQ2000)xAC24 được phân ở trong nhóm II; trong số 5 dòng ngô DH tạo ra từ nguồn vật liệu SX7114xAC24 có 3 dòng (B11, B15 và B16) được phân ở nhóm III và 2 dòng còn lại (B18 và B19) ở phân nhóm 2.2 của nhóm II; 4 dòng được tạo ra từ nguồn vật liệu SX2010xAC24 được phân ở nhóm IV.



Hình 3.18. Sơ đồ hình cây về mối quan hệ di truyền của 49 dòng ngô DH ưu tú dựa vào chỉ thị SSR

3.3.2. Kết quả lai đỉnh và khả năng kết hợp chung của các dòng ngô DH ưu tú

** Kết quả lai đỉnh*

Ở vụ Xuân 2007, chúng tôi tiến hành lai 49 dòng ngô DH ưu tú với các dòng thử. Kết quả đánh giá con lai F1 của các dòng ngô DH với hai cây thử ở vụ Thu 2007 cho thấy: trong số 49 THL với cây thử DF2BC1 có 28 THL có năng suất trung bình tương đương với đối chứng 1 là giống LVN4 và 21 THL có năng suất trung bình thấp hơn so với đối chứng 1 (sai khác có ý nghĩa, độ tin cậy ở mức $p=0,05$). So với đối chứng 2 là giống LVN99: có duy nhất 1 THL (B29xDF2BC1) vượt đối chứng 2; 48 THL còn lại đều có năng suất trung bình tương đương với đối chứng 2 (sai khác có ý nghĩa, độ tin cậy ở mức $p=0,05$). Kết quả lai thử với cây thử DF2BC1 đã chọn ra được 7 THL có năng suất cao trên 80 tạ/ha bao gồm: B10xDF2BC1, B25xDF2BC1, B29xDF2BC1, B36xDF2BC1, B37xDF2BC1, B53xDF2BC1 và

B61xDF2BC1; Trong số 49 THL với cây thử C89N có 46 THL có năng suất trung bình tương đương với đối chứng 1 là giống LVN4 và 3 THL có năng suất trung bình thấp hơn so với đối chứng 1 (sai khác có ý nghĩa, độ tin cậy ở mức $p=0,05$). So với đối chứng 2 là giống LVN99: có 17 THL vượt đối chứng 2; 32 THL còn lại có năng suất trung bình tương đương với đối chứng 2 (sai khác có ý nghĩa, độ tin cậy ở mức $p=0,05$). Kết quả lai thử với cây thử C89N đã chọn ra được 26 THL có năng suất trên 80 tạ/ha trong đó có 10 tổ hợp lai có năng suất cao (trên 85 tạ/ha) bao gồm: B10xC89N, B19xC89N, B29xC89N, B32xC89N, B47xC89N, B48xC89N, B49xC89N, B53xC89N, B68xC89N và B77xC89N.

** Khả năng kết hợp về tính trạng năng suất hạt của các dòng ngô DH trong thí nghiệm lai đỉnh*

Kết quả phân tích dựa vào số liệu năng suất của các THL trong vụ thu 2007 bằng phần mềm phân tích phương sai topcross (version 3.0 của Ngô Hữu Tình và Nguyễn Đình Hiền) cho thấy sự khác nhau về khả năng kết hợp (KNKH) chung của các dòng ngô được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau: các dòng B10, B29, B32, B34, B39, B47, B48, B49, B53 và B77 có giá trị KNKH chung tương ứng là 8,806; 7,714; 5,678; 4,404; 4,747, 5,382; 4,707; 4,921; 8,029 và 4,547 cao hơn các dòng khác (sai khác có ý nghĩa, độ tin cậy ở mức $p=0,05$). Một số dòng có KNKH chung khá cao nằm ở các nhóm khác nhau cũng được chọn để tham gia vào thí nghiệm lai giữa các dòng ngô DH với nhau bao gồm: dòng B3, B16, B20, B25, B36, B44, B46, B61, B69 và B70.

3.3.3. Kết quả lai giữa các dòng ngô DH trong cùng nhóm và khác nhóm

Dựa vào kết quả phân nhóm cách biệt di truyền và kết quả đánh giá KNKH chung, ở vụ Xuân 2008 các dòng ngô DH có KNKH chung cao được chọn ra để lai với các dòng trong cùng nhóm và các dòng ở các nhóm khác nhau.

** Kết quả đánh giá con lai F_1 (ở vụ Thu 2008) giữa các dòng DH trong cùng một nhóm cho thấy:* Các THL trong nhóm I có mức biến động về năng suất không đáng kể, dao động từ 42,31 tạ/ha đến 44,42 tạ/ha (trung bình 43,11 tạ/ha). Trong nhóm II, THL B10xB53 đạt năng suất cao nhất là 56,58 tạ/ha. Các THL còn lại trong nhóm II có năng suất dao động từ 42,73 tạ/ha đến 51,50 tạ/ha. Năng suất trung

bình của các THL trong nhóm II đạt 48,03 tạ/ha (cao nhất trong 4 nhóm). Ở nhóm III, có 2 THL đạt năng suất xấp xỉ nhau là 39,37 tạ/ha và 40,66 tạ/ha; trung bình là 40,02 tạ/ha (thấp nhất trong 4 nhóm). Các THL trong nhóm IV có năng suất dao động từ 40,66 tạ/ha đến 43,66 tạ/ha; trung bình là 42,15 tạ/ha.

Như vậy, năng suất của các THL giữa các dòng ngô DH trong cùng nhóm tương đối thấp, cả 22 THL cùng nhóm đều có năng suất thấp hơn đối chứng (giống ngô lai LVN99).

* *Kết quả đánh giá ưu thế lai về năng suất của các tổ hợp lai cùng nhóm cho thấy:* Ưu thế lai trung bình (H_m) ở nhóm I dao động không đáng kể (81,03%-91,26%); giá trị H_m ở nhóm II dao động lớn từ 29,76%-90,16%; giá trị H_m ở nhóm III xấp xỉ nhau từ 57,28%-57,20%; giá trị H_m ở nhóm IV dao động từ 47,12%-93,70%. Ưu thế lai thực của các THL ở các nhóm cũng rất khác nhau, dao động từ 23,98%-93,16%. Kết quả đánh giá ưu thế lai chuẩn (H_s) (so sánh năng suất của các THL với năng suất của giống đối chứng LVN99) cho thấy các THL cùng nhóm đều cho các giá trị H_s âm, năng suất của các THL thấp hơn năng suất của giống LVN99 từ 14,76%-40,69%.

* *Kết quả đánh giá con lai F_1 (ở vụ Thu 2008) giữa các dòng DH khác nhóm cho thấy:* Các THL giữa nhóm I x nhóm II có mức độ biến động về năng suất khá lớn dao động từ 59,04 tạ/ha - 77,68 tạ/ha (trung bình 70,66 tạ/ha). THL giữa dòng B3 ở nhóm I và dòng B16 ở nhóm III có năng suất là 62,18 tạ/ha; THL giữa dòng B3 ở nhóm I và dòng B29 ở nhóm IV có năng suất khá cao là 69,12 tạ/ha. Các THL giữa nhóm II x nhóm III có năng suất từ 50,08 tạ/ha - 63,78 tạ/ha (trung bình là 56,66 tạ/ha). Các THL giữa nhóm II x nhóm IV có năng suất dao động từ 54,25 tạ/ha - 67,09 tạ/ha. THL giữa dòng B16 của nhóm III và B29 của nhóm IV có năng suất là 58,49 tạ/ha. Như vậy, trong số 48 THL khác nhóm, 2/48 THL (B48xB3 và B44xB3) có năng suất cao hơn đối chứng; 35/48 THL có năng suất tương đương với đối chứng và 11/48 THL có năng suất thấp hơn đối chứng (ở mức có ý nghĩa, độ tin cậy $p= 0,05$). Kết quả lai thử đã chọn ra được một số tổ hợp lai có năng suất cao (trên 70 tạ/ha) như: B32xB3, B34xB3, B44xB3, B48xB3, B53xB3, B61xB3, B69xB3, B70xB3 và B77xB3.

* *Kết quả đánh giá ưu thế lai về năng suất giữa các dòng ngô DH khác nhóm cho thấy:* Các THL khác nhóm có ưu thế lai trung bình rất khác nhau. Giá trị H_m ở các THL (nhóm I x nhóm II) dao động

từ 122,61%-233,02%; ở các THL (nhóm I x nhóm III) và (nhóm I x nhóm IV) lần lượt là 153,94% và 210,20%; ở các THL (nhóm II x nhóm III) dao động từ 77,29%-137,77%; ở các THL (nhóm II x nhóm IV) dao động từ 115,79%-183,91%; ở các THL (nhóm III x nhóm IV) là 136,98%. Ưu thế lai thực của các THL giữa các nhóm cũng rất khác nhau dao động từ 58,21%-216,18%. Kết quả đánh giá ưu thế lai chuẩn (H_s) (so sánh năng suất của các THL với năng suất của giống đối chứng LVN99) cho thấy có 16/48 THL có H_s đạt giá trị dương trong đó cao nhất là THL B48xB3 (17,03%), tiếp đó là THL B44xB3 (15,52%), các THL B34xB3, B61xB3, B69xB3, B77xB3, B70xB3, B32xB3, B53xB3, B47xB3, B29xB3, B46xB3, B49xB3, B36xB3, B10xB29 và B70xB29 có H_s cao hơn đối chứng tương ứng là 10,15%; 9,85%; 9,66%; 8,34%, 8,17%, 7,41%, 6,43%, 4,45%, 4,24%, 4,13%, 4,12%, 3,62%, 1,07% và 0,62%. 32 THL còn lại cho các giá trị H_s âm.

3.3.4. Mối quan hệ giữa khoảng cách di truyền của các dòng ngô DH với năng suất hạt và ưu thế lai về năng suất

Các cặp dòng bố, mẹ cùng nhóm hầu như được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu nên có GD trung bình nhỏ (dao động từ 0,27-0,55), thường có năng suất hạt và ưu thế lai trung bình khá thấp; GD trung bình của các cặp dòng bố, mẹ khác nhóm dao động từ 0,54-0,76. Năng suất hạt cao nhất khi lai giữa các dòng ở nhóm I và nhóm II (năng suất trung bình của cả nhóm là 70,07 tạ/ha); Năng suất hạt thấp nhất khi lai giữa các dòng ở nhóm III và nhóm IV (năng suất trung bình của cả nhóm là 58,49 tạ/ha). Ưu thế lai trung bình cao nhất giữa cặp lai B3 ở nhóm I và B29 ở nhóm IV là 210,20%; ưu thế lai trung bình của các THL giữa nhóm I và nhóm II là 175,50%; tiếp đó là nhóm I và nhóm III (153,94%), nhóm III và nhóm IV (136,98%), nhóm II và nhóm IV là 134,93%; ưu thế lai trung bình thấp nhất giữa nhóm II và nhóm III là 101,57%. Kết quả phân tích mối tương quan giữa khoảng cách di truyền (GD) với năng suất hạt (F1) và ưu thế lai trung bình (H_m) của các THL trong cùng nhóm và khác nhóm trình bày ở bảng 3.37.

Bảng 3.37. Hệ số tương quan (r) giữa khoảng cách di truyền (GD)

với năng suất hạt (F1) và ưu thế lai trung bình (H_m)

Hệ số (r)	Cùng nhóm			Khác nhóm		
	GD	F1	H_m	GD	F1	H_m
GD	1			1		
F1	0,15	1		0,51	1	
H_m	0,46	0,13	1	0,57	0,90	1

Số liệu ở bảng 3.37 cho thấy: Hệ số tương quan giữa khoảng cách di truyền và năng suất hạt ở các THL trong cùng nhóm khá thấp ($r=0,15$). Ở các THL cùng nhóm, có mối tương quan thuận có ý nghĩa giữa khoảng cách di truyền và ưu thế lai trung bình ($r=0,46$). Hệ số tương quan giữa khoảng cách di truyền và năng suất hạt ở các THL khác nhóm ở mức trung bình ($r=0,51$). Ở các THL khác nhóm, giữa khoảng cách di truyền và ưu thế lai trung bình có mối tương quan thuận có ý nghĩa và khá chặt ($r=0,57$). Điều này chứng tỏ các THL giữa các cặp dòng bố mẹ được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau nằm ở các nhóm khác nhau có mức độ sai khác di truyền lớn thường cho ưu thế lai cao (Hầu như các cặp dòng có khoảng cách di truyền $GD > 0,6$ đều cho ưu thế lai cao).

3.3.5. Khả năng sử dụng các dòng ngô DH từ nuôi cấy bao phấn trong chọn tạo giống ngô lai năng suất cao

Trong phạm vi của đề tài, kết quả lai tạo giữa các dòng ngô DH đã tạo ra được 9 tổ hợp lai có năng suất khá cao (trên 70 tạ/ha) bao gồm: B32xB3, B34xB3, B44xB3, B48xB3, B53xB3, B61xB3, B69xB3, B70xB3 và B77xB3. Trong thí nghiệm lai đỉnh giữa các dòng ngô DH với 2 dòng thử (2 dòng có KNKH cao về năng suất) đã tạo ra được 33 THL có năng suất trên 80 tạ/ha, trong đó có 10 THL có năng suất vượt trội (trên 85 tạ/ha) bao gồm: B10xC89N, B19xC89N, B29xC89N, B32xC89N, B47xC89N, B48xC89N, B49xC89N, B53xC89N, B68xC89N và B77xC89N. Trong các THL có năng suất cao, tổ hợp lai B48xC89N có năng suất đạt 88,5 tạ/ha và có nhiều đặc điểm nông sinh học tốt (tổ hợp lai C89NxB48 có thời gian sinh trưởng thuộc nhóm trung bình, chiều cao cây trung bình là 244,9cm, chiều cao đóng bắp trung bình là 102,1cm, bộ lá xanh đậm, gọn, bắp khá dài, dạng hạt đá có màu vàng, lá bi kín và khả năng chống chịu sâu bệnh

tốt được tuyển chọn để tham gia vào thí nghiệm so sánh giống tại Bộ môn Canh tác, Viện Nghiên cứu Ngô.

3.3.5.1. Kết quả khảo sát tổ hợp lai F172

Bảng 3.38. Kết quả khảo sát tổ hợp F172 tại Viện Nghiên cứu ngô Đan Phượng, Hà Nội (vụ Xuân 2008)

Tên giống	TGST (ngày)			Cao (cm)		Độ (điểm)		Bệnh (điểm)		Sâu đục thân (điểm)	Trạng thái (điểm)		Hỗ lá bi (điểm)	Năng suất (tạ/ha)
	Gieo -TP	Gieo -PR	Chín SL	Cây	Bấp	Rễ	Thân	Khô vằn	Đốm lá		Cây	Bấp		
F172 (CN07-01)	77	78	125	197	98	2	1	1	3	1,5	3	1	1	84,12
LVN4 (đ/c1)	75	76	125	204	94	4	1	1	3,5	2	3	2	1	79,63
LVN99 (đ/c2)	76	78	125	208	112	3	1	2	3	1,5	3	2	1	95,90
C919 (đ/c3)	79	79	127	224	118	3	1	2	3	2	3	2,5	1	91,92
CV%=6,73; LSD=7,94														

Nguồn: Bộ môn Canh tác, Viện Nghiên cứu Ngô

Kết quả thí nghiệm so sánh với các giống đối chứng ở vụ Xuân 2008 tại Viện nghiên cứu Ngô (bảng 3.38) cho thấy: THL F172 có nhiều đặc điểm nông sinh học vượt trội so với giống ngô Quốc gia LVN4 và tương đương với hai giống (LVN99 và C919). Năng suất khảo nghiệm của tổ hợp F172 ở vụ Xuân 2008 (kí hiệu khảo nghiệm CN07-01) đạt 84,12 tạ/ha, tương đương với đối chứng 1 (LVN4 - giống Quốc gia) và đối chứng 3 (C919 - giống của Monsanto) và thấp hơn đối chứng 2 là giống ngô lai LVN99 (sai khác có ý nghĩa, độ tin cậy $p=0,05$).

3.3.5.2. Kết quả khảo nghiệm cơ bản VCU giống ngô lai LVN886 (tổ hợp F172)

THL F172 có năng suất cao, nhiều đặc điểm nông sinh học tốt được tuyển chọn gửi đi khảo nghiệm ở Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng và phân bón Quốc gia (với tên giống khảo nghiệm là LVN886). Kết quả khảo nghiệm cơ bản VCU (Testing for Cultivation and Use - Giá trị canh tác và giá trị sử dụng) vụ đầu được trình bày ở bảng 3.39 và bảng 3.40 cho thấy giống LVN886 có nhiều đặc điểm nông sinh học tốt, đặc biệt là độ đồng đều rất cao, khả năng chống chịu sâu bệnh tốt, khả năng chống chịu khô vằn và chịu úng hơn hẳn 2 đối chứng là giống LVN4 và C919. Giống ngô lai LVN886

có các yếu tố cấu thành năng suất như dài bắp, đường kính bắp, số hạt/hàng, tỉ lệ hạt/bắp tương đương với 2 giống đối chứng; trong đó số hàng hạt từ 14-16, tương đương giống C919, cao hơn LVN4; khối lượng nghìn hạt 282,7g, cao hơn C919 (261g) và thấp hơn LVN4 (302g).

Bảng 3.39. Kết quả khảo nghiệm cơ bản giống ngô lai LVN886 (tổ hợp F172) ở phía Bắc (vụ Đông 2008)

Tên giống	LVN886	LVN4 (đ/c1)	C919 (đ/c2)
<i>Một số đặc điểm nông sinh học</i>			
Gieo đến phun râu 50%	66	63	64
TGST	122	119	119
Cao cây (cm)	174,1	172,4	178,9
Cao đòng bắp (cm)	70,8	73,2	76,0
Độ đồng đều (điểm)	1,6	1,8	2,3
Độ che kín bắp (điểm)	1,3	1,3	1,6
Dạng hạt	Bán răng ngựa	Bán răng ngựa	Bán đá
Màu sắc hạt	Vàng da cam	Vàng	Vàng da cam
<i>Mức độ nhiễm sâu bệnh và khả năng chịu úng</i>			
Sâu đục thân (1-5)	1,3	1,3	1,5
Đục bắp (1-5)	1,2	1,0	1,0
Rệp cờ (1-5)	1,6	1,4	1,2
Khảm lá (0-5)	1,2	1,0	1,2
Khô vằn (%)	5,6	6,7	7,9
Chịu úng (1-5)	1,3	1,5	1,8
<i>Các yếu tố cấu thành năng suất</i>			
Dài bắp (cm)	15,7	16,6	15,6
Đường kính bắp (cm)	4,6	4,5	4,3
Số hàng hạt	14-16	12-14	14-16
Số hạt/hàng	30	32	33
Tỉ lệ hạt/bắp (%)	65,5	66,2	67,2
P1000hat (gam)	282,7	302,8	261,0

Nguồn: Trung tâm Khảo nghiệm giống, sản phẩm cây trồng và phân bón Quốc gia

Bảng 3.40. Năng suất hạt khô (tạ/ha) của giống ngô lai LVN886 tại các địa phương (vụ Đông 2008)

Địa phương Tên giống	Hà Nội	Vinh Phúc	Thanh Hóa	Nghệ An	Hải Dương	Phú Thọ	Cao Bằng	Trung bình
LVN886	51,67	47,00	41,27	48,43	47,33	45,23	54,06	47,86
LVN4 (đ/c1)	56,40	45,87	44,79	42,14	50,81	56,42	45,20	48,80
C919 (đ/c2)	69,67	51,73	42,80	47,14	45,36	49,28	65,96	53,13
CV%	5,4	5,1	6,0	6,5	5,4	6,7	6,9	
LSD(0,05)	4,97	3,83	4,42	4,92	4,33	5,91	6,38	

Nguồn: Trung tâm Khảo nghiệm giống, sản phẩm cây trồng và phân bón Quốc gia

Kết quả khảo nghiệm ở các địa phương khác nhau (bảng 3.40) cho thấy: Giống LVN886 có năng suất tương đương với LVN4 tại 4 địa phương (Hà Nội, Vĩnh Phúc, Thanh Hóa và Hải Dương); thấp hơn LVN4 tại Phú Thọ và cao hơn tại Cao Bằng và Nghệ An. So với giống C919, giống LVN886 có năng suất tương đương tại 4 địa phương (Thanh Hóa, Nghệ An, Hải Dương và Phú Thọ) và thấp hơn ở 3 điểm khảo nghiệm tại Hà Nội, Vĩnh Phúc và Cao Bằng (sai khác có ý nghĩa, độ tin cậy ở mức $p=0,05$). Kết quả khảo nghiệm cho thấy: giống ngô lai LVN886 có thời gian sinh trưởng thuộc nhóm trung bình, các đặc điểm nông sinh học tương đương với giống LVN4 và các giống ngoại nhập (C919 và CP999). Giống ngô LVN886 rất có tiềm năng về năng suất và thích ứng với một số vùng sinh thái của Việt Nam, cần tiếp tục khảo nghiệm để có những định hướng sử dụng phục vụ cho sản xuất.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

1.1. Nuôi cấy bao phấn nhanh chóng tạo ra được các dòng ngô thuần có mức độ đồng hợp tử cao (độ thuần di truyền cao); mức độ đa dạng di truyền của các dòng ngô DH phụ thuộc vào các nguồn vật liệu được truyền tính cảm ứng, ít phụ thuộc vào dòng truyền tính cảm ứng tạo phôi và tái sinh cây; các dòng ngô DH được tạo ra từ cùng một nguồn vật liệu có độ đa dạng di truyền thấp hơn so với các dòng được tạo ra từ các nguồn vật liệu khác nhau;

1.2. Tập đoàn 78 dòng ngô thuần được tạo ra từ nuôi cấy bao phấn 4 nguồn vật liệu khác nhau có độ đa dạng di truyền cao; trong đó, đã tuyển chọn được 49 dòng có nhiều đặc điểm nông sinh học tốt, năng suất trung bình đạt trên 20 tạ/ha rất có triển vọng để tạo giống ngô lai năng suất cao;

1.3. Tổ hợp lai giữa các dòng ngô DH thuộc các nhóm cách biệt di truyền khác nhau cho ưu thế lai cao hơn các tổ hợp lai giữa các dòng ngô DH trong cùng nhóm; khoảng cách di truyền giữa các dòng ngô DH lớn hơn 0,6 thường cho ưu thế lai cao;

1.4. Nhiều dòng ngô DH trong tập đoàn nghiên cứu có khả năng kết hợp cao về năng suất; đã tạo ra được 9 tổ hợp giữa các dòng ngô DH có năng suất thí nghiệm đạt trên 70 tạ/ha và 33 tổ hợp lai có sự tham gia của các dòng ngô DH trong tập đoàn có năng suất thí nghiệm đạt trên 80 tạ/ha. Điển hình nhất là giống ngô khảo nghiệm LVN886 có năng suất cao, có nhiều đặc điểm nông sinh học tốt, thích ứng với một số vùng sinh thái có thể ứng dụng trong sản xuất;

1.5. Kết hợp phương pháp nuôi cấy bao phấn để rút ngắn thời gian tạo dòng thuần và phương pháp đánh giá đa dạng di truyền để tuyển chọn những dòng có các đặc điểm nông sinh học tốt, phân nhóm cách biệt di truyền và dự đoán sớm các nhóm cho ưu thế lai cao đã nhanh chóng tạo ra tổ hợp lai tốt, rút ngắn được thời gian tạo giống lai.

2. Đề nghị

2.1. Phương pháp nuôi cấy bao phấn ngô có thể nhanh chóng tạo ra các dòng ngô thuần có độ đa dạng cao từ các nguồn vật liệu khác nhau, vì vậy cần được triển khai mạnh mẽ và ứng dụng trong tạo giống ngô lai;

2.2. Tiếp tục lai thử và khảo sát các tổ hợp lai có sự tham gia của dòng ngô thuần từ nuôi cấy bao phấn để chọn ra các tổ hợp lai tốt; tiếp tục khảo nghiệm giống LVN886 ở các vùng sinh thái khác nhau để đưa ra định hướng sử dụng trong sản xuất.