VIỆN KHOA HỌC KỸ THUẬT NÔNG NGHIỆP MIỀN NAM

Nghiên cứu giống ngô lai chịu hạn, ngắn ngày và biện pháp canh tác cho một số tỉnh phía Nam

Trương Vĩnh Hải

Chuyên ngành: Trồng trọt

Mã số chuyên ngành: 62.62.01.01

Hướng dẫn khoa học:

GS. TS. Bùi Chí Bửu

TS. Trần Kim Định

2013

MỞ ĐẦU

1 Tính cấp thiết của đề tài

Ở Việt Nam, ngô (*Zea mays* L.) là cây lương thực quan trọng đứng thứ hai sau cây lúa và là nguyên liệu chính để chế biến thức ăn cho chăn nuôi. Theo số liệu của Trung tâm Tin học và Thống kê – Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn [17], diện tích trồng ngô của cả nước năm 2011 là 1.082.700 ha, năng suất đạt 43 tạ/ha, sản lượng trung bình đạt 4,7 triệu tấn. Với sản lượng này, trong năm 2011 chúng ta vẫn phải nhập khẩu 0,972 triệu tấn để phục vụ cho chế biến thức ăn gia súc. Trong tiến trình hiện đại hóa ngành nông nghiệp, tỉ trọng của ngành chăn nuôi trong nông nghiệp sẽ được nâng cao, vì vậy nhu cầu về ngô thương phẩm cho việc chế biến thức ăn gia súc chắc chắn sẽ tăng theo.

Một trong những nguyên nhân làm năng suất ngô ở nước ta thấp là do tình trạng khô hạn. Ở những vùng trồng ngô trọng điểm của nước ta như các tỉnh vùng cao nguyên Lâm Đồng, Đông Nam bộ, đồng bằng sông Cửu Long và một số tỉnh miền núi phía Bắc, việc canh tác ngô phụ thuộc chủ yếu vào lượng nước mưa hàng năm, do vậy, năng suất thường bấp bênh và thấp nếu tình trạng khô hạn xảy ra trong những năm mùa mưa kết thúc sớm. Ước tính sản lượng ngô bị thiệt hại do hạn ở Việt Nam lên đến 30%, một số vùng trong những năm gần đây diện tích bị hạn lên đến 70-80% và nhiều vùng trong năm 2004 không cho thu hoạch. Nguyên nhân chủ yếu do hiện nay chúng ta có khoảng 0,6-0,7 triệu ha ngô được canh tác nhờ nước trời. Ở những vùng này, cây ngô thường bị hạn đầu vụ trong vụ Hè Thu và thường bị hạn trong giai đoạn trỗ cờ phun râu của vụ Thu Đông (Phan Xuan Hao, 2005) [139]. Ở các tỉnh phía Nam, có hai thời điểm cây ngô dễ bị hạn nhất, đó là: i) vào khoảng thời gian cuối tháng 7 đầu tháng 8 hàng năm, lúc cây ngô vụ Hè Thu ở giai đoạn trỗ cờ, gọi là hạn "bà chằng" ii) cuối vụ Thu Đông, khi cây ngô đang giai đoạn chín sữa làm giảm năng suất nghiêm trọng. Ngoài ra, hạn có thể xảy ra bất cứ lúc nào trong chu kỳ sinh trưởng và phát triển của cây ngô với tần suất và mức độ ngày càng gia tăng.

Hạn hán là một trong ba tác nhân phi sinh học trở ngại chính cho việc sản xuất ngô trên toàn cầu. Hạn hán làm giảm năng suất ngô là một thực tế đã và đang xảy ra với tần suất phạm vi, cường độ ngày càng nghiêm trọng và rất khó dự đoán để có thể điều chỉnh mùa vụ né tránh. Do vậy, một trong những giải pháp đầu tiên được quan tâm là lai tạo các giống ngô chịu hạn nhằm giảm bớt thiệt hại (Ludlow and Muchow 1990; Ribaut và cộng sự, 1996) [118], [145]. Trong nghiên cứu chọn tạo giống ngô chịu hạn, ngoài việc trực tiếp chọn năng suất người ta còn dùng các tính trạng thứ cấp liên quan làm chỉ tiêu gián tiếp như khoảng cách giữa trỗ cờ - phun râu, số hạt/bắp, khối lượng hạt, số cây không bắp, chỉ số lá còn xanh, khối lượng rễ ở các tầng đất sâu và một số tính trạng khác làm tiêu chí chọn lọc (Bolanos và Edmeades 1993, 1996)[40], [41], trong đó, khoảng cách giữa trỗ cờ và phun râu (Anthersis Silking Interval-ASI), việc hình thành bắp là những tính trạng thứ cấp được xem xét kỹ lưỡng (Edmeades và cộng sự, 1999; Li và cộng sự, 2002) [77],[111]. Trong điều kiện khô hạn, sự không đồng bộ giữa trỗ cờ và phun râu sẽ xảy ra làm gia tăng khoảng cách giữa trỗ cờ và phun râu nên năng suất giảm (Westgate và Boyer, 1986; Bolanos và Edmeades, 1993; Edmeades và cộng sự, 1999) [181],[40],[77]. Việc chọn giống có khoảng cách trỗ cờ và phun râu ngắn sẽ góp phần vào việc tăng tỷ lệ sự hình thành bắp dẫn đến tăng năng suất (Bolanos và cộng sự,1993; Ribaut và cộng sự, 1997; Edmeades và cộng sự, 1999) [40],[144],[77].

Đa dạng di truyền đóng một vai trò quan trọng trong việc chọn tạo giống ngô (William và Michael, 2002; Duan và cộng sự, 2006)[186], [70]. Việc xác định những dòng bố mẹ để tạo ra những tổ hợp lai ưu tú tốn nhiều chi phí và thời gian trong việc phát triển các dòng thuần. Xác định mức độ đa dạng cho phép chọn lựa sơ đồ lai tạo hợp lý nhất, khả năng thành công nhanh với chi phí giảm bớt đáng kể. Đánh giá đa dạng di truyền nhờ chỉ thị phân tử giúp giảm bớt khối lượng công việc rất lớn so với phương pháp truyền thống vì ít phụ thuộc thời tiết môi trường và nhanh chóng hơn (Chapman và Edmaedes, 1999; Betran và cộng sự, 2003; Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2007) [55], [38],[3].

Giống mới cần phải có tính ổn định, tính thích nghi cao với các điều kiện môi trường khác nhau để gia tăng độ tin cậy về giống. Khi được trồng tại nhiều địa điểm để đánh giá tính ổn định, thích nghi, một số đặc điểm nông học và năng suất của giống có thể sẽ thay đổi. Nguyên nhân chính gây ra sự khác biệt về tính thích nghi, ổn định giữa các giống là do sự tương tác giữa kiểu gen và môi trường . Điều này gây ra khó khăn trong việc chứng minh tính ưu thế của một giống bất kỳ (Basford và Cooper, 1998; Dabholkar, 1999; Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2007) [34], [65], [3].

Ngô là loại cây trồng nhạy cảm nhất với sự thay đổi mật độ cây trồng và gần như là loài cho tiềm năng năng suất hạt cao nhất. Vì vậy, việc thiết lập mật độ trồng tối ưu là cần thiết để đạt được năng suất tối đa. Đã có nhiều nghiên cứu để xác định mật độ trồng tốt nhất cho cây ngô, tuy nhiên, không có một khuyến cáo đơn lẻ nào cho tất cả các yếu tố môi trường không thể kiểm soát cũng như những yếu tố có thể kiểm soát như độ phì của đất, lựa chọn giống ngô lai, ngày gieo trồng, cách bố trí trồng (Olson and Sander, 1988)[135]. Các giống ngô lai hiện nay có khả năng chống chịu với điều kiện bất lợi tốt hơn so với các giống ngô lai cũ, vì vậy có thể trồng với mật độ cao hơn. Hơn nữa, các giống lai hiện nay chống chịu tốt với những bất lợi do mật độ trồng cao là do giảm sự đổ ngã và hiện tượng bất dục (William, 2002)[187].

Cùng với mật độ trồng, phân bón là yếu tố có ảnh hưởng đến năng suất hạt ngô nhiều nhất. Trong nhiều năm qua, việc sử dụng phân khoáng NPK được xem như một phương tiện hữu hiệu để gia tăng năng suất. Tuy nhiên, sự suy giảm các yếu tố dinh dưỡng trong đất như P, K và các nguyên tố vi lượng có liên quan đến việc chú trọng sử dụng nhiều phân đạm trong canh tác. Mặt khác, hiệu lực của phân bón vô cơ thường khá thấp nên chi phí cho sản xuất ngày một gia tăng khi người dân tăng mức phân bón hóa học để duy trì năng suất. Tình trạng sử dụng đơn độc phân vô cơ trong sản xuất ngô không có lợi cho thâm canh tăng năng suất bởi vì thường gắn liền với các vấn đề như năng suất giảm, mất cân bằng dinh dưỡng, đặc biệt là giảm hàm lượng chất hữu cơ trong đất (Sridhar và Adeoye, 2003)[167].

Những cải thiện về năng suất ngô trong thời gian qua là do những thành tựu về di truyền chọn giống và do các kỹ thuật quản lý nông học tiên tiến của những

người trồng ngô. Tuy nhiên, chọn tạo giống chỉ có thể thu hẹp khoảng cách 15-25% giữa năng suất thực tế và năng suất tiềm năng, việc áp dụng đồng bộ các kỹ thuật tiên tiến trong điều kiện thâm canh trên những giống cải tiến có thể thu hẹp thêm 15-25% khoảng cách nữa (Zaidi, 2000; Duvick, 2001)[193],[72].

Diện tích ngô trên toàn thế giới năm 2010 là 161,7 triệu ha với năng suất đạt 5,19 tấn/ha. Ở châu Á, năm 2010 diện tích trồng ngô chiếm 33,2% diện tích ngô của thế giới và tăng 26 triệu ha so với năm 1961. Năm 2010, năng suất ngô trung bình của châu Á đạt 4,57 tấn/ha, bằng 88,1% năng suất ngô trung bình của thế giới (FAOSTAT, 2012)[82].

Ngô thương mại trên thị trường thế giới dự kiến sẽ tăng 13% trong khoảng từ năm 2010 đến năm 2020, trong khi sản lượng xuất khẩu của Mỹ dự kiến không tăng do nhu cầu thức ăn trong chăn nuôi và sản xuất ethanol từ ngô trong nước tăng. Dự kiến đến năm 2020, Trung Quốc sẽ trở thành nước nhập khẩu ngô để đáp ứng cho các nhu cầu về thức ăn chăn nuôi và sản xuất ethanol (Taylor and Koo, 2011) [169]. USDA, 2012 [176] dự báo niên vụ 2012-2013, sản lượng ngô trên thế giới ước đạt 834,09 triệu tấn, sản lượng ngô của Mỹ sẽ là 272,43 triệu tấn, giảm 43,74 triệu tấn so với niên vụ 2010-2011do ảnh hưởng của hạn hán. Ở Trung Quốc, sản lượng dự kiến 208 triệu tấn và khu vực Đông Nam Á khoảng 26,15 triệu tấn. Nhu cầu về ngô trong năm 2012-2013 toàn thế giới là 862,52 triệu tấn (59,68% nhu cầu cho thức ăn chăn nuôi), trong đó của Mỹ là 254,44 triệu tấn; Brazil là 55 triệu tấn; Trung Quốc là 209 triệu tấn và của Đông Nam Á là 32,6 triệu tấn. Nhu cầu ngô của hầu hết các nước trên thế giới đều có xu hướng tăng cao, Trung Quốc có nhu cầu tăng cao nhất (tăng 29 triệu tấn). Nhật Bản và Hàn Quốc là hai nước nhập khẩu ngô hoàn toàn, ước tính mức nhập khẩu ngô của hai nước Nhật và Hàn Quốc năm 2012-2013 lần lượt là 15 và 8 triệu tấn để đáp ứng nhu cầu trong nước (USDA, 2012)[176].

Vì vậy, hiện tại và trong tương lai 10 năm tới, nhu cầu về ngô ở châu Á và thế giới vẫn tăng ở mức cao.

Năng suất ngô ở nước ta không ngừng tăng lên, tuy nhiên, vẫn còn khá thấp so với tiềm năng của giống và so với các nước trên thế giới. Cũng như các nước sản xuất ngô trên thế giới, hạn hán và một số hạn chế trong kỹ thuật canh tác là những

trở ngại chính ảnh hưởng đến năng suất và sản lượng ngô ở nước ta. Nghiên cứu về ngô chịu hạn ở nước ta mới chỉ tập trung ở phía Bắc, trong khi ở phía Nam hiện nay chưa có một công trình nghiên cứu về ngô chịu hạn nào. Trong điều kiện biến đổi của khí hậu toàn cầu gây nên những thay đổi thất thường của thời tiết, việc nghiên cứu giống ngô chịu hạn, ngắn ngày và những biện pháp kỹ thuật canh tác như mật độ trồng, liều lượng phân bón hợp lý là cần thiết để góp phần nâng cao năng suất và sản lượng ngô.

2 Mục tiêu của đề tài

- Đánh giá đa dạng di truyền nguồn vật liệu khởi đầu (các dòng ngô thuần) phục vụ công tác tạo giống chịu hạn
- Xác định được 1-2 tổ hợp lai có khả năng sinh trưởng tốt, ngắn ngày và có năng suất cao. Trong điều kiện hạn, năng suất tăng hơn giống đối chứng từ 5 đến 10%.
- Đề xuất một số biện pháp kỹ thuật canh tác ngô lai theo hướng thâm canh

3 Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

3.1 Ý nghĩa khoa học

- Đây là công trình nghiên cứu có hệ thống về đánh giá mức độ đa đạng di truyền nguồn vật liệu khởi đầu có liên quan đến tính chịu hạn. Kết quả về phân nhóm các dòng dựa vào tính đa dạng sẽ làm cơ sở cho các nghiên cứu về chọn tạo giống ngô lai chịu hạn sau này.
- Đề tài đã khẳng định có tính chất bổ sung rằng, tính trạng thứ cấp như khoảng cách giữa trỗ cờ và phun râu liên quan chặt chẽ đến năng suất trong điều kiện khô hạn.
- Đề tài đóng góp vào cơ sở lý luận về việc nâng cao năng suất ngô bằng việc gia tăng mật độ trồng với khoảng cách hàng hợp lý và liều lượng phân bón thích hợp

3.2 Ý nghĩa thực tiễn

- Trên cở sở phân tích tính đa dạng của nguồn vật liệu khởi đầu, kết quả nghiên cứu đã đánh giá, phân loại các dòng thuần làm cơ sở cho công tác lai tạo

giống ngô ưu thế lai trước mắt cũng như trong tương lai.

- Ứng dụng sơ đồ phân nhóm UPGMA dựa vào chỉ thị phân tử SSR, công trình này đã tạo ra được 80 tổ hợp lai đã thể hiện được tính trạng nông học và năng suất vượt giống đối chứng đang sản xuất đại trà ở miền Nam là C919.

- Tạo được một số tổ hợp ngô lai F_1 có thời gian sinh trưởng ngắn, khoảng 92-93 ngày, năng suất cao, thích hợp cho việc canh tác trong cả 3 vụ ở một số tỉnh phía Nam.

- Xác định được hai tổ hợp ngô lai F_1 VK1 x NK67-2 và VE8 x BC3F3-26 có khả năng sinh trưởng tốt, năng suất cao. Trong điều kiện hạn của thời tiết, năng suất cao hơn giống đối chứng trung bình trên 14%.

- Xác định được khoảng cách giữa các hàng 50-60 cm, giữa các cây 25-30 cm và liều lượng phân bón 150-180 kg N- 90-100 kg P_2O_5- 60-70 kg K_20/ha trong thâm canh tăng năng suất ngô ở một số tỉnh phía Nam.

4 Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

4.1 Đối tượng nghiên cứu

- Các tổ hợp ngô lai được tạo ra từ kết quả đánh giá các dòng có đặc điểm nông học tốt, năng suất cao và có khả năng chịu hạn.

- Một số kỹ thuật canh tác ngô: mật độ trồng, phân bón

4.2 Phạm vi nghiên cứu

- Việc xác định giống ngô lai ngắn ngày, chịu hạn được thực hiện trên cơ sở các dòng thuần được chọn tạo, thu thập và bảo tồn nguồn gen từ những năm 1990 của Phòng nghiên cứu cây thức ăn gia súc (Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam) và CIMMYT và trên cơ sở đánh giá các tổ hợp lai được chọn tạo dựa vào kết quả đánh giá đa dạng di truyền và trong phép lai hồi giao.

- Địa điểm nghiên cứu: Tất cả các thí nghiệm được thực hiện tại tỉnh Đắc Lắc, Đắc Nông, Đồng Nai và Bà Rịa Vũng Tàu là những tỉnh thuộc khu vực Tây Nguyên và miền Đông Nam bộ, những nơi có diện tích sản xuất ngô chủ lực ở phía Nam.

- Trong các biện pháp canh tác ngô, đề tài tập trung nghiên cứu về mật độ gieo trồng và công thức phân khoáng NPK vì đây là những yếu tố ảnh hưởng đến năng suất ngô nhiều nhất.

CHƯƠNG 1
TỔNG QUAN TÀI LIỆU VÀ CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA ĐỀ TÀI

1.1 Hạn hán và sự phân loại hạn hán

1.1.1 Khái niệm về hạn hán

Hạn hán là một giai đoạn không có mưa hoặc mưa không đủ nhu cầu diễn ra trong thời gian dài gây ra sự thâm hụt độ ẩm của đất và sự mất cân bằng thủy văn. Hiện tượng hạn hán có thể xảy ra ở hầu hết tất cả các vùng khí hậu, với các đặc tính của hạn biến đổi đáng kể từ vùng này sang vùng khác. Vì vậy, hạn hán thường được gắn liền với các khoảng thời điểm (mùa hạn chính, sự khởi đầu muộn của mùa mưa, sự xuất hiện mưa trong mối liên hệ với các giai đoạn sinh trưởng chính của cây trồng) và đặc tính của mưa (cường độ mưa, các đợt mưa).Các thời điểm hạn xuất hiện khác nhau sẽ dẫn đến các tác động khác nhau về phạm vi ảnh hưởng cũng như các đặc tính khí hậu (Wilhite, 2000)[185].

Ba khái niệm cụ thể về hạn dựa trên lượng mưa đối với cây ngô được nhiều nhà khoa học CIMMYT nêu như sau:

- Thiếu nước nếu lượng mưa cả vụ ở vùng nhiệt đới thấp < 500 mm và ở vùng cao (highland) là từ 300 - 350 mm (Heisey và Edmeades, 1999)[95].

- Theo quan điểm cây ngô mẫn cảm với hạn: khoảng 4 tuần trong thời gian ngô trỗ cờ kết hạt, nếu vùng nào có lượng mưa <100 mm được coi là vùng không phù hợp, nếu lượng mưa > 200 mm được coi là phù hợp và lượng mưa trong khoảng 100 - 200 mm được coi là vùng thiếu nước đối với sản xuất ngô (Chapman và Barreto, 1996)[54].

- Khái niệm khác: Dựa trên tỷ lệ giữa lượng mưa (P) và khả năng thoát hơi nước của đất (PE). Ví dụ một vùng ngô nếu tất cả các tháng (n) trong suốt vụ có P/PE>0,5 được coi là thuận lợi, nếu n - 1 tháng có P/PE>0,5 được coi là vùng thiếu mưa đối với sản xuất ngô (Khái niệm này không đề cập đến việc gieo trồng sớm để tránh hạn) (Heisey và Edmeades, 1999)[95].

1.1.2. Phân loại hạn hán

1.1.2.1 Phân loại dựa trên sự hiện diện của nguồn cung cấp nước

i) Hạn khí tượng

Hạn khí tượng thường biểu hiện lượng mưa thiếu hụt trong suốt một khoảng thời gian nào đó. IMO (International Meteorological Organization) phân loại các mức độ hạn như sau:

+ Hạn nhẹ: Khi lượng mưa ít hơn 11-25% lượng mưa bình thường.

+ Hạn vừa: Khi lượng mưa ít hơn 26-50% lượng mưa bình thường.

+ Hạn nặng: Khi lượng mưa ít hơn 50% lượng mưa bình thường

ii) Hạn thủy văn

Hạn thủy văn là tình trạng thâm hụt lượng mưa khi các nguồn thủy văn như suối, sông, hồ, giếng bị khô và nước ngầm trong đất cạn kiệt. Điều này ảnh hưởng đến ngành công nghiệp và sản xuất điện.

iii) Hạn nông nghiệp

Đây là tình trạng lượng mưa không đủ, khi độ ẩm trong đất giảm xuống dưới mức đáp ứng nhu cầu nước của cây trồng trong quá trình tăng trưởng làm cho cây trồng bị héo do stress đưa đến giảm năng suất.

1.1.2.2. Dựa trên cơ sở thời gian xảy ra hạn

i) Khu vực hạn thường trực

Đây là khu vực thường bị khô vĩnh viễn, vùng sa mạc khô cằn. Cây trồng lệ thuộc vào nước trời sẽ không thể sống nếu không được tưới. Trong các khu vực này thảm thực vật thường là cây xương rồng. Cây bụi có gai, xerophytes, vv... thường xuất hiện.

ii) Hạn theo mùa

Xảy ra ở những vùng được xác định rõ ràng là khí hậu ẩm ướt và khô. Hạn theo mùa có thể xảy ra do chu kỳ mùa diễn ra trong thời gian dài. Loại hình này xảy ra tại các khu vực gió mùa.

iii) Hạn ngẫu nhiên

Đây là kết quả do sự bất thường và biến động lượng mưa, đặc biệt là ở các vùng ẩm và bán ẩm ướt. Hạn ngẫu nhiên xảy ra có thể trùng với những thời kỳ tăng

trưởng mạnh của cây trồng, khi đó nguồn nước là rất quan trọng và nhu cầu nước của cây trồng là lớn nhất.

1.1.2.3. Trên cơ sở môi trường xảy ra

Maximov (1929)[122] đã phân chia thành hai loại:

i) Hạn trong đất

Xảy ra khi độ ẩm đất cạn kiệt và giảm xuống đến mức không thể cân bằng được sự bốc thoát hơi nước tiềm năng của cây trồng.

ii) Hạn không khí

Hạn không khí là kết quả từ độ ẩm thấp, gió nóng và khô và gây ra sự hong khô đối với cây trồng. Điều này có thể xảy ra ngay cả khi lượng mưa và độ ẩm cung cấp đủ.

1.2. Ảnh hưởng của hạn đến sinh trưởng, phát triển và năng suất ngô

1.2.1 Ảnh hưởng của hạn hán đến nguồn (Source) và sức chứa (Sink)

Hạn hán tác động mạnh đến sự cân bằng của sản phẩm đồng hóa (nguồn) và sức chứa, gây nên sự lão hóa lá sớm ngay sau khi cây ngô trỗ cờ, phun râu. Điều này làm giảm nguồn cung cấp sản phẩm đồng hóa cho mọi hoạt động của cây, đặc biệt là trong giai đoạn hình thành bắp và hạt dẫn đến giảm sức chứa (Banziger và cộng sự, 2000) [33]. Trong điều kiện khô hạn, sự cố định cacbon trong quang hợp bị giảm do việc đóng khí khổng làm hạn chế lượng ánh sáng đi vào tham gia quá trình quang hợp dẫn đến sản phẩm chất đồng hóa cũng ít đi làm ảnh hưởng đến toàn bộ hoạt động của cây (Bolanos và cộng sự, 1993; Bruce và cộng sự, 2002) [40], [46]. Nguồn sản phẩm đồng hóa có vai trò quan trọng trong việc phát triển noãn và hạt. Bất kỳ sự gián đoạn nào trong tiến trình vận chuyển chất đồng hóa do mất nước có thể giảm hoạt tính của enzym trao đổi cac bon (Zinselmeier và cộng sự, 1999) [196].

1.2.2 Ảnh hưởng của khô hạn đến khoảng thời gian giữa trỗ cờ và phun râu

Khi cây ngô bị thiếu nước, thiếu sáng, thiếu dinh dưỡng ở giai đoạn trỗ cờ, phun râu, bắp tăng trưởng chậm có liên quan đến tăng trưởng của hoa đực (cờ) và khoảng thời gian giữa trỗ cờ và phun râu (Anthersis Silking Interval-ASI) sẽ gia tăng. Đây là phản ứng thông thường của cây đối với việc giảm sản phẩm đồng hóa trong giai đoạn sinh trưởng này (Westgate và Boyer, 1986; Bolanos và Edmeades,