

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thanh Bình (2011). *Nghiên cứu xác định giống và kỹ thuật trồng xen, luân canh cây đậu tương với cây mía, ngô góp phần tăng thu nhập cho người sản xuất mía và ngô hàng hóa tại Cao Bằng*. Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học và phát triển công nghệ.
2. Lê Văn Khoa (2003). *Xác định bộ giống và một số biện pháp kỹ thuật thích hợp để nâng cao năng suất và chất lượng lạc, phục vụ chương trình xuất khẩu của tỉnh Thanh Hóa*, Luận văn thạc sỹ khoa học nông nghiệp, Viện Khoa học KTNN Việt Nam, Hà Nội.
3. Lê Đình Sơn (2009), *Nghiên cứu kỹ thuật trồng xen lạc trên ruộng mía ở vùng trung du miền núi tỉnh Thanh Hóa*, Luận án Tiến sỹ Nông nghiệp, Viện KHNN Việt Nam, Hà Nội.

Ngày nhận bài: 12/1/2015
Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Viêt
Ngày phản biện: 14/1/2015
Ngày duyệt đăng: 14/5/2015

ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN BẰNG CHỈ THỊ SNP VÀ KHẢ NĂNG CHUYỂN HÓA ĐƯỜNG TỪ RƠM RẠ CỦA MỘT SỐ MẪU GIỐNG LÚA THU THẬP Ở VIỆT NAM

Dương Xuân Tú¹, Nguyễn Thế Dương¹, Claire Halpin², Simon McQueen Mason³, Leonardo Gomez³, Nguyễn Văn Tuất⁴, Lê Hùng Lĩnh⁵

ABSTRACT

Genetic diversity analysis via 384 SNPs and rice straw digestibility evaluation of some Vietnamese rice accessions

This study aims at analyzing the genetic diversity of 64 rice accession from Vietnam by using a platform of 384 single nucleotide polymorphism markers (SNPs). It was found that there were 300 highly polymorphic markers, which were subsequently used in diversity assessment based on the creation of phylogenetic tree. At meanwhile, the main genetic clusters I, II, III and IV included eighteen, eighteen, nine and nineteen accessions, respectively, according to the phylogenetic tree. Fifteen rice accessions were identified as the highest conversion potentials of sugar from rice straw (42.5-48.1 mg of monosaccharide/g of rice straw). This study will facilitate the selection of breeding materials for the further genetic studies and promising lines, which meet the demand of high-yielding varieties with high quality for bioethanol production.

Key words: Bio-ethanol, Genetic diversity, SNP marker.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa gạo là cây lương thực đứng thứ 3 trên thế giới về diện tích và số lượng gieo trồng sau lúa mạch và lúa mì. Tại Việt Nam, lúa là cây trồng quan trọng nhất, với sản

1. Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm
2. Đại học Dundee, Vương Quốc Anh
3. Đại học York, Vương Quốc Anh
4. Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam
5. Viện Di truyền Nông nghiệp

lượng thu hoạch hàng năm khoảng 40 triệu tấn (Theo ước tính của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2012). Cùng với đó là những phụ phẩm đi kèm như rơm rạ và trấu, được ước tính khoảng 60 triệu tấn. Số lượng sản phẩm phụ này phần lớn vẫn chỉ được xử lý trực tiếp ngay trên đồng ruộng bằng cách đốt (ước tính khoảng 40 triệu tấn, theo số liệu điều tra từ ĐH York tiến hành tại Việt Nam, 2011). Điều này không chỉ gây ra sự lãng phí nguồn tài nguyên tiềm năng mà còn làm ảnh hưởng đến bầu khí quyển sinh thái khu vực xung quanh, giải phóng CO₂ vào bầu khí quyển góp phần gia tăng sự ô nhiễm không khí. Để giải quyết vấn đề này, rất nhiều nhà khoa học trên thế giới đã tiến hành các nghiên cứu để có thể sử dụng được nguồn phế phẩm này vào việc sản xuất Ethanol sinh học. Để chuyển phế phẩm thô thành Ethanol, bước đầu cần phải chuyển hóa được chúng thành đường. Rơm rạ càng dễ phân hủy thì hiệu suất đạt được càng cao trong quá trình thủy phân thành đường (Parameswaran *et al.*, 2010). Từ đây một số hướng nghiên cứu đã được mở ra, trong đó nghiên cứu được xem như là quan trọng nhất là nghiên cứu về di truyền bằng công nghệ sinh học nhằm tìm kiếm phát hiện được những gen liên kết quy định tính trạng dễ phân hủy của rơm rạ, từ đó ứng dụng công nghệ gen và sinh học phân tử vào việc cải thiện và lai tạo các giống lúa cho khả năng ứng dụng trong sản xuất nhiên liệu sinh học.

Công nghệ genotyping với tên gọi “cánh cổng vàng” (Golden gate assay-2006 Illumina, San Diego, CA) là một công cụ hữu hiệu đang rất phổ biến trên các phòng nghiên cứu công nghệ sinh học trên thế giới, ứng dụng các bộ chỉ thị phân tử SNP (Single nucleotide polymorphisms, SNP) theo nhiều cấp khác nhau, giúp các

nhà nghiên cứu có thể phát hiện được sự đồng dạng và khoảng cách về di truyền của quần thể vật liệu nghiên cứu trong tập đoàn (Monna *et al.*, 2006). Chỉ thị SNP là loại chỉ thị chỉ sai khác một nucleotide của trình tự ADN, xuất hiện ở tần suất cao khi sàng lọc SNP của đa số các hệ gen, cứ khoảng 225 bp là tìm thấy 1 SNP trên bộ gen gà, khoảng 1.250 bp là sàng lọc được 1 SNP cho bộ gen người (Liu, 2007) và ở lúa thì cứ khoảng 200 - 700bp xuất hiện 1 SNP (Kenneth *et al.*, 2009). Hiện nay, ứng dụng của chỉ thị SNP đang rất phổ biến trong lĩnh vực nghiên cứu về di truyền, lập bản đồ gen và xem xét tương quan của các gen liên kết trên toàn bộ genome tới các tính trạng nghiên cứu (Genetic analysis, QTL mapping và association analysis) (Jin *et al.*, 2010). Những bộ chỉ thị SNP với mật độ phân bố trên toàn bộ genome này được rất nhiều viện nghiên cứu và công ty trên thế giới thiết kế và ứng dụng tiến hành hoàn toàn tự động và đạt thông hiệu rất cao (Olivier, 2005). Trong những năm gần đây, những nghiên cứu về di truyền bằng sử dụng chỉ thị SNP đã được tiến hành trên rất nhiều loài như ở nho (Lijavetzky *et al.*, 2007), ở lúa (Kenneth *et al.*, 2009), ở đậu tương (Hyten *et al.*, 2008), ở lúa mạch (Close *et al.*, 2009), ở ngô (Lu *et al.*, 2009), ở lúa mì (Akhunov *et al.*, 2009).

Trong nghiên cứu này, công nghệ “cánh cổng vàng” với bộ khuôn 384 chỉ thị SNP được sử dụng để đánh giá mức độ đa dạng di truyền và xây dựng cây di truyền của 64 mẫu giống lúa thu thập ở Việt Nam. Đồng thời, các mẫu giống này cũng được phân tích khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ. Kết hợp giữa kiểu gen và kiểu hình để xác định được những mẫu giống hoặc nhóm có khả năng chuyển hóa đường từ

rom rạ cao, thể hiện trên cây di truyền, giúp chọn lựa nguồn giống bố mẹ trong công tác lai tạo cho mục đích sử dụng trong nghiên cứu phát triển nhiên liệu sinh học từ rom rạ. Dữ liệu kiểu gen và kiểu hình có thể ứng dụng trong việc lập bản đồ di truyền các QTL quy định tính trạng phân hủy ở rom rạ phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

64 mẫu giống lúa gồm: 1 giống lúa lai, 1 giống lúa Japonica (Nipponbare) của Nhật Bản và 20 giống lúa thuần được trồng phổ biến tại nhiều địa phương ở Việt Nam và 46 dòng lúa triển vọng được lai tạo các nguồn bố mẹ khác nhau của Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm. Tập đoàn vật liệu được trồng tại nhà kính của Viện Nghiên cứu James Hutton (JHI) để tách chiết mẫu ADN từ lá non cho phân tích di truyền và thu rom rạ cho phân tích đường hóa. Phân tích di truyền thực hiện tại JHI. Phân tích đường hóa thực hiện tại Đại học York.

2. Phương pháp nghiên cứu

- **Thu mẫu ADN:** Lá lúa được thu tại thời điểm 40 ngày tuổi sau đó được ngâm ngay vào Nitơ lỏng trước khi tiến hành tách chiết. Tách chiết ADN bằng Kit DNeasy

plant mini kit-Qiagen. Sản phẩm ADN sau khi được tách chiết, tiếp tục được pha loãng tới nồng độ 20ng/μl trong 30 μl trước khi tiến hành thí nghiệm phân tích genotype.

- **Thu mẫu rom rạ:** Mẫu rom rạ để phân tích đường hóa được thu ở giai đoạn chín, được sấy ở nhiệt độ 50⁰C trong vòng 24 giờ. Nghiền mẫu bằng máy Tissue liser II chạy rung ở tần suất 3000 rpm trong vòng 1 phút 30 giây nhằm nghiền nhỏ mẫu.

- Lựa chọn SNP và công nghệ ứng dụng:

Bộ chỉ thị 384 SNP trải đều trên 12 NST (bảng 1) đã được xây dựng và lựa chọn dựa trên hệ thống BeadXpress primer design (Illumina, SanDiego, CA) từ các thí nghiệm tiên phong trước đó và được cung cấp bởi Tiến sỹ Adam price, Trường Đại học Aberdeen. Trong đó, bao gồm 384 cặp oligos đặc hiệu cho từng alen (**Alen Specific Primers-ASPs**) của SNP, 384 đoạn trình tự oligos đặc hiệu cho từng vị trí locus (Locus Specific Primers-LSPs) của từng SNP và 1152 Universal Primers dùng cho genotyping trên toàn bộ genome. Bộ chỉ thị này đã được áp dụng dựa trên công nghệ Bead-array bản quyền của Illumina, sử dụng các hạt microbead thủy tinh gắn trên bề mặt slide (chip) cho diện tích bề mặt và hiệu suất lai cao nhất (Shen *et al.*, 2005).

Bảng 1. Số lượng SNP trên từng nhiễm sắc thể (NST)

NST	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Tổng
Số lượng SNP	47	43	33	31	29	36	25	28	26	23	32	31	384

- Phương pháp tính toán và xử lý số liệu:

Việc phát hiện nhận dạng các alen của từng chỉ thị SNP được thực hiện thông qua phần mềm Illumina Genecall Software với ngưỡng Genecall = 0,25.

Phần mềm được sử dụng để tính toán thêm một số các chỉ số quan trọng khác như chỉ số về xác định kiểu gen của SNPs và phân khu nhóm mẫu: (i) **Call Rate** là số lượng SNP biểu hiện thành công kiểu gen

trên mỗi mẫu ADN của từng giống; (ii) **Gen Train Score** đánh giá về khả năng genotyping của từng SNP trên toàn bộ mẫu ADN; (iii) **Gen Call Score (GC Score)** là thông số đánh giá về khả năng của genotyping tại mỗi điểm, phụ thuộc vào cường độ huỳnh quang thu được và khoảng cách của mỗi điểm từ trung tâm của cụm trên biểu đồ.

Phân tích đa dạng di truyền bằng chương trình MEGA (Tamura *et al.*, 2007). Thiết lập bảng Phân tích thành phần chính PCA (*sử dụng Past*) xác định các nhóm trong quần thể.

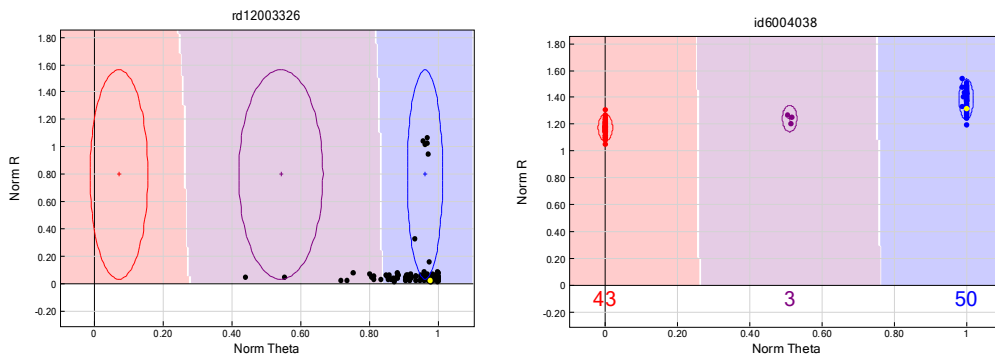
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả phân tích kiểu gen

Sau khi xử lý qua phần mềm *Illumina* nhận thấy tất cả 64 mẫu giống lúa đều có chỉ số **SNP call rate > 0,9**. Tuy nhiên trong số 384 chỉ thị, có 12 chỉ thị cho thấy sự phát hiện genotype không rõ ràng, cường độ

sóng huỳnh quang thu được thấp, không phân biệt được các cluster (hình 1). Nên những chỉ thị này đã không được dùng trong các phân tích tiếp theo.

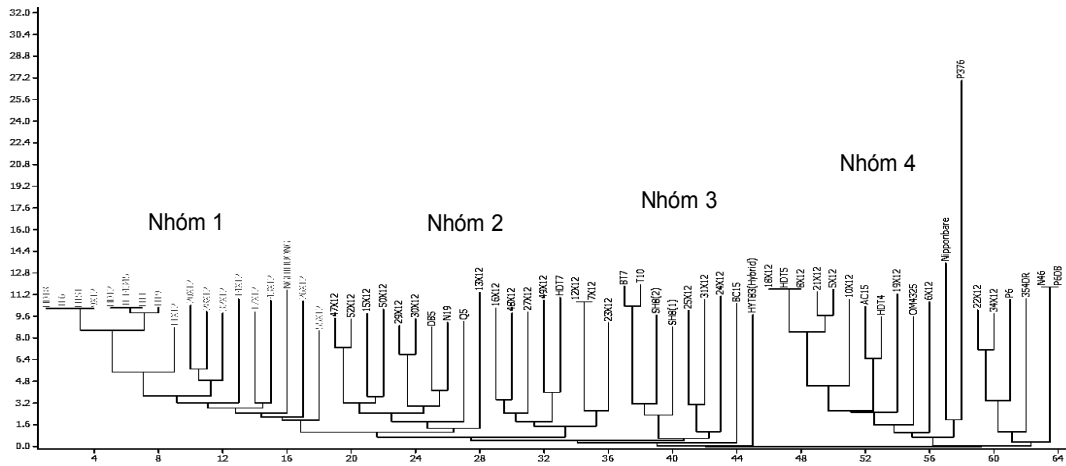
Các ngưỡng giá trị **Gen Call Score > 0,25** và **Gen Train Score > 0,4** được áp dụng để lựa chọn những chỉ thị SNPs cho khả năng sử dụng, độ tin tưởng cao và loại bỏ những chỉ thị không đáng tin cậy trong việc phân tích genotype của tập đoàn này. Trong số 372 chỉ thị còn lại sau bước sàng lọc ở trên chỉ có 3 SNPs không thỏa mãn ngưỡng giá trị áp dụng. Từ đó 369 SNP còn lại tiếp tục được xem xét dựa trên chỉ tiêu **MAF** lớn hơn hoặc bằng 0,03. Tiếp theo, 26 SNP không cho tính đa hình (**MAF = 0**), 43 SNP thể hiện được mức độ đa hình với tần số alen tối thiểu lớn hơn 0,03 và nhỏ hơn 0,05 ($0,05 > \text{MAF} > 0,03$). Loại bỏ những SNP, 300 SNP còn lại đã được lựa chọn như là những chỉ thị cho tính đa hình cao và có ý nghĩa quan trọng cho những phân tích di truyền tiếp theo.



Hình 1. Biểu đồ genotyping cho 64 mẫu giống lúa thể hiện qua 2 SNP
a) SNP rd12003326; b) SNP id6004038 (cluster những chấm màu đỏ - bên trái = AA, màu tím - giữa = AB, màu xanh - bên phải = BB)

Sau khi thu được số liệu đa hình của 300 SNP thể hiện trên 64 mẫu giống lúa nghiên cứu, dữ liệu tiếp tục được xử lý để phân tích đa dạng di truyền bằng chương trình MEGA dựa vào hệ số tương đồng Euclidean. Từ đó đã tạo ra được sơ đồ hình

cây của 64 mẫu giống lúa nghiên cứu (hình 2). Với hệ số khoảng cách từ gốc của cây di truyền tới điểm 1,2 đã phân chia nguồn vật liệu thành 4 nhóm chính: nhóm I có 18 mẫu, nhóm II có 18 mẫu, nhóm III có 9 mẫu và Nhóm IV có 19 mẫu.



Hình 2. Sơ đồ hình cây có gốc (root) của 64 mẫu giống lúa xác định bằng chỉ thị phân tử 384 SNPs (gồm 4 nhóm: Nhóm I, nhóm II, nhóm 3 và nhóm 4)

Từ vị trí của các mẫu giống trong các nhóm trên cây di truyền đã tìm ra một số mẫu giống lúa có hệ số đồng dạng cao và khoảng cách tới gốc của cây di truyền gần như tương đương. Trong nhóm phụ thuộc nhóm chính I: TL6, HT1 và 9X12 (Perai/P6//HT1) có hệ số đồng dạng xung quanh 0,993 tới 0,999. Các mẫu giống HDT2 (Perai/BT7), TET4345, HT1 và HT9 (HT1/D17) có hệ số đồng dạng dao động từ 0,992 tới 0,997. Nhóm chính II: 7X12 (BT/IR64) và 12X12 (BT/IR64) có hệ số đồng dạng 0,994. Nhóm chính III: hai giống lúa chất lượng BT7 và T10 có hệ số đồng dạng 0,992. Nhóm chính IV: 8X12 (AC5/Q5//AC4), 18X12 (AC5/Q5//AC4) và HDT5 (AC5/Q5//AC7) có hệ số đồng dạng từ 0,998 tới 1; N46 và P6ĐB có hệ số đồng dạng 0,996 Đáng chú ý trong nhóm này, giống P376 nằm tách biệt hoàn toàn so với các giống khác và có hệ số đồng dạng so với các giống khác dao động xung quanh 0,45. Các mẫu giống có hệ số tương đồng cao nói trên hầu hết là mẫu giống có cùng

nguồn gốc chọn tạo (có chung bố mẹ, hoặc chung 1 trong 2 bố hoặc mẹ) dẫn đến nền tảng di truyền tương đối giống nhau.

2. Kết quả phân tích khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của các mẫu giống lúa

Tại Trung tâm Nghiên cứu sản phẩm nông nghiệp mới (CNAP), Đại học York, rơm rạ đã được nghiền và xử lý theo quy trình thí nghiệm đường hóa (Saccharification) trên hệ thống robot có độ chính xác và đạt thông hiệu cao (High throughput - HT) (phương pháp HT assay của Gomez *et al.*, 2008). Từ bảng giá trị trung bình của 3 lần nhắc đã xác định được khả năng đường hóa đường từ rơm rạ của 64 mẫu giống lúa từ Việt Nam. Khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của các mẫu giống là rất khác nhau, phân cấp từ giống có khả năng đường hóa thấp nhất là 28X12 (đạt 32,3 mg/g) cho tới giống có khả năng đường hóa cao nhất là OM4325 (đạt 48,1 mg/g). Kết quả trong bảng 2 thể hiện gồm 15 mẫu

giống có khả năng thấp nhất và 15 mẫu có khả năng cao nhất trong chuyển hóa đường từ rơm rạ. Kết quả này rất có ý nghĩa trong việc nghiên cứu di truyền về kiểu gen kiểm soát khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ ở cây lúa.

Bảng 2. Khả năng đường hóa từ rơm rạ của các mẫu giống lúa

15 mẫu giống có khả năng thấp nhất			15 mẫu giống có khả năng cao nhất		
TT	Tên giống	mg/g	TT	Tên giống	mg/g
1	28X12	32,3	1	48X12	42,5
2	49X12	32,4	2	12X12	42,5
3	50X12	33,2	3	5X12	42,6
4	HDT7	33,2	4	10X12	43,0
5	26X12	33,7	5	P6	43,3
6	17X12	34,1	6	Q 5	43,4
7	Nippon bare	34,1	7	BC 15	43,5
8	15X12	34,6	8	Nghi hương	43,8
9	47X12	34,8	9	8X12	44,0
10	11X12	35,1	10	354DR	44,8
11	HDT4	35,1	11	34X12	45,6
12	55X12	35,5	12	21X12	46,1
13	P376	35,5	13	P6 ĐB	46,4
14	HTS1	35,7	14	16X12	47,2
15	HDT8	35,7	15	OM4325	48,1

Ghi chú: mg/g (mg đường đơn/g rơm rạ)

3. Liên quan di truyền với khả năng đường hóa từ rơm rạ của trên các mẫu giống lúa

Một trong những mục đích chính của nghiên cứu này là xác định mối liên quan giữa di truyền và khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của các mẫu giống, từ đó tiến hành các nghiên cứu tiếp theo để xác định (hoặc dự đoán) vùng gen/QTL kiểm soát và tiếp đó là phát triển chỉ thị phân tử cho ứng dụng trong chọn tạo giống lúa có khả năng cao chuyển từ rơm rạ. Kết quả nghiên cứu đã đưa ra, 64 mẫu giống lúa đã được phân thành 4 nhóm di truyền bằng 300 SNP đa hình. Trong 15 mẫu giống có khả năng chuyển hóa đường cao (bảng 2) nằm trong các nhóm: Nhóm 1 có 1 mẫu

(Nghi hương); nhóm 2 có 4 mẫu (48X12, 12X12, Q5, 16X12), nhóm 3 có 1 mẫu (BC15) và nhóm 4 có 9 mẫu (5X12, 10X12, P6, 8X12, 354DR, 34X12, 21X12, P6DB, OM4325). Như vậy, phần lớn các mẫu giống có khả năng chuyển hóa đường cao tập trung trong nhóm 4.

Từ kết quả này, giả định là khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ ở cây lúa là có sự khác nhau và do sự kiểm soát bởi yếu tố di truyền (gen). Các mẫu giống có rơm rạ với khả năng chuyển hóa đường thấp sẽ được sử dụng như nguồn vật liệu nghiên cứu về mặt di truyền để tìm ra các vùng gen/QTLs mã hóa protein liên quan đến quá trình sinh tổng hợp các chất có vai trò quan trọng tổng hợp lên sinh khối (Bio-mass) và

quy định ảnh hưởng trực tiếp đến tính trạng phân hủy của rơm rạ. Ngoài ra, sẽ lựa chọn ra trong số những giống có khả năng đường hóa cao, có những đặc tính nông sinh học tốt để thử nghiệm tại các vùng sinh thái khác nhau ở Việt Nam, tìm ra giống cho sản xuất với tiềm năng cao trong sử dụng rơm rạ làm nguyên liệu chế biến nhiên liệu sinh học.

IV. KẾT LUẬN

Từ bộ chỉ thị 384 SNP ban đầu, đã sàng lọc được 300 SNP cho độ đa hình cao trên các mẫu giống lúa nghiên cứu. Bộ chỉ thị này rất có ý nghĩa trong phân tích di truyền và cấu trúc quần thể vật liệu lúa nghiên cứu. Với hệ số khoảng cách từ gốc của cây di truyền tới điểm 1,2 đã phân chia 64 mẫu giống lúa vật liệu thành 4 nhóm chính: Nhóm 1 có 18 mẫu, nhóm 2 có 18 mẫu, nhóm 3 có 9 mẫu và nhóm 4 có 19 mẫu. Phân tích cây di truyền thiết lập bởi bộ chỉ thị 300 SNP cũng cho thấy nhiều mẫu giống có mức độ tương đồng về mặt di truyền rất cao. Khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ của 64 mẫu giống lúa được đưa ra cũng rất khác nhau, dao động từ 32,3 - 48,1 mg đường đơn/g rơm rạ, trong đó phân ra 15 mẫu giống có khả năng thấp và 15 mẫu có khả năng cao trong chuyển hóa đường từ rơm rạ. Đáng chú ý, phần lớn (9/15) các mẫu giống lúa có khả năng chuyển hóa đường cao lại tập trung trong 1 phân nhóm di truyền (nhóm 4). Từ kết quả này đưa ra giả định về khả năng chuyển hóa đường từ rơm rạ ở lúa có sự khác nhau là do yếu tố di truyền kiểm soát. Đây cũng là cơ sở cho tiến hành các nghiên cứu tiếp theo về mặt di truyền để tìm ra vùng gen/QTL kiểm soát khả năng

chuyển hóa đường từ rơm rạ, phát triển chỉ thị phân tử liên kết với các QTL này để sử dụng trong chọn tạo giống lúa có tiềm năng cao sử dụng rơm rạ làm nguyên liệu chế biến nhiên liệu sinh học ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Akhunov E., Nicolet C. and Dvorak J. (2009). *Single nucleotide polymorphism genotyping in polyploid wheat with the Illumina Golden Gate assay*. Theor Appl Genet, vol. 119: 507-517.
2. Close T.J., Bhat P.R., Lonardi S., Wu Y. and Waugh R. (2009). *Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley*. BMC Genomics, Vol. 10: 582 - 87.
3. Hyten D.L., Song Q., Choi I.Y., Yoon M.S. and Specht J.E. (2008). *High-throughput genotyping with the GoldenGate assay in the complex genome of soybean*. Theor Appl Genet. Vol. 116: 945-52.
4. Gomez L.D., Steele-King C.G. and McQueen-Mason S.J. (2008). *Sustainable liquid biofuels from biomass: the writing's on the walls*. New Phytol volume. 178, 3: 473-485.
5. Jin L., Lu Y., Xiao P., Sun M., Corke H. and Bao J. (2010). *Genetic diversity and population structure of a diverse set of rice germplasm for association mapping*. Theor Appl Genet, volume 121: 475-487.
6. Kenneth L.Mc. (2009). *Genome wide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice*. PNAS, 2009.
7. Lijavetzky D, Cabezas JA, Ibanez A, Rodriguez V, Martinez-Zapater JM. (2007). *High throughput SNP discovery and genotyping in grapevine (Vitis vinifera L.) by combining a re-sequencing approach and SNPlex technology*. BMC Genomics. Vol. 8: 424 - 29.

8. Liu Z. (2007). *Single nucleotide polymorphism (SNP)*. Aquaculture Genome Technologies. Blackwell, USA: 59-72.
 9. Lu Y., Yan J, Guimaraes C.T., Taba S., Hao Z., Gao S., Chen S., Li J. and Xu Y. (2009). *Molecular characterization of global maize breeding germplasm based on genome-wide single nucleotide polymorphisms*. Theor Appl Genet. Volume 120: 93-115.
 10. Monna L., Ohta R., Masuda H., Koike A. and Minobe Y. (2006). *Genome-wide searching of single-nucleotide polymorphisms among eight distantly and closely related rice cultivars (Oryza sativa L.) and a wild accession (Oryza rufipogon Griff)*. ADN Research, Volume 13 (2): 43-51.
 11. Olivier M. (2005). *The Invader assay for SNP genotyping*. Mutation Research. Volume 573, issue 1-2: 103-110.
 12. Parameswaran B., Raveendran S., Reeta R. S. and Lalitha D. (2010). *Bioethanol production from rice straw: An over view*. Bioresource Technology, Vol. 101, issue 13: 4767 - 74.
 13. Shen R, Fan J.B, Campbell D, Chang W, Chen J, Doucet D, Yeakley J. and Bibikova M. (2005). *A high-throughput SNP genotyping on universal bead arrays*. Mutation Research, Vol. 573: 70-82.
 14. Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. (2007). *MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software version 4.0*. Mol Biol Evol. Volume 24, 1596-1599.
- Ngày nhận bài: 14/5/2015
Người phản biện: GS.TS. Bùi Chí Bửu
Ngày phản biện: 22/6/2015
Ngày duyệt đăng: 25/6/2015

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH MỘT SỐ BIỆN PHÁP KỸ THUẬT TRỒNG XEN CANH ĐẬU TƯƠNG VỚI MÍA TẠI THANH HÓA

Nguyễn Huy Hoàng¹, Hoàng Tuyển Phương¹,
Lê Quốc Thanh¹, Trịnh Thị Phương², Lê Lệnh Triệu²

SUMMARY

Research to identify some technical measures for intercropping soybean with sugarcane in Thanh Hoa province

From research results, suitable sowing density and nitrogen fertilizer rate for soybean ĐVN14 in Tho Xuan, Thanh Hoa are determined as the follows: 25 plants/m² and rate of nitrogen fertilizer: 15 kgN/ha. This give the highest real yield of 11.6 quintals/ha, which is 3.7 quintals/ha higher than the controlcao with plant density of 15 andt the application of 10 kgN/ha. For soybean variety ĐT26 at Thach Thanh, the fertilizer application of 15kg N/ha the sowing density of 20 plants/m² gave the best value on growth and development, the lowest pests and disease infection and the highest practical yield (11.69 quintals/ha), significantly higher (P ≥ 95%) as compared with the yields of the remaining trials.

Key words: Soyabean variety ĐVN14 and ĐT26, Nitrogen, density, intercropping, sugarcane, Thanh Hoa province.

1. Trung tâm Chuyển giao Công nghệ và khuyến nông
2. Học viên cao học Trường Đại học Hồng Đức, Thanh Hóa