

- Jun-Zheng Wu, Qin Liu, Xiao-Shan Geng, Kai-Mian Li, Li-Juan Luo and Jin-Ping Liu**, 2017. Highly efficient mesophyll protoplast isolation and PEG-mediated transient gene expression for rapid and large-scale gene characterization in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *BMC Biotechnology*, pp. 17:29
- Shadin EA, Shepard JF**, 1980. Cassava mesophyll protoplasts: isolation, proliferation and shoot formation. *Plant Sci Lett* 17: 459-465.
- Sofiari E**, 1996. *Regeneration and transformation of cassava (Manihot esculenta Crantz)*, PhD thesis, Wageningen Agricultural University.
- Sofiari E, Raemakers C.J.J.M, Bergervoet M, Jacobsen.R, Visser R.G.F**, 1998. Plant regeneration from proplasts isolated from friable embryogenic callus of cassava. *Plant Cell Reports*, 18: 159-165.
- Taylor NJ, Edwards M, Kiernan RJ, Davey CDM, Blakesley D, Henshaw G.G.**, 1996. Development of friable embryogenic callus and embryogenic suspension culture systems in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Nat Biotechnol*: 726-730.
- Nzoghe D**, 1989. *Recherche de conditions permettant l'obtention de neoformations chez differents genotypes de manioc (Manihot esculenta Crantz): extension à la culture de protoplastes*. PhD thesis, Université De Paris Sud Centre D'Orsay.
- Yoshinori Utsumi, Chikako Utsumi, Maho Tanaka, Vu The Ha, Akihiro Matsui, Satoshi Takahashi, Motoaki Seki**, 2017. Formation of friable embryogenic callus in cassava is enhanced under conditions of reduced nitrate, potassium and phosphate. *PLoS ONE*, 12 (8): e0180736. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180736>.
- Wen Feng, Su Wen-pan, Zeng Hua, Yu Ben-chi, Ma Zeng-feng, Zhang Peng, Guo Wen-wu**, 2020. Plant regeneration via protoplast electrofusion in cassava. *Journal of Integrative Agriculture*, 19 (3): 632-642.

## Initial success on protoplast production from friable embryonic callus of Vietnamese cassava varieties

Pham Thi Huong, Do Thi Nhu Quynh, Nguyen Anh Vu

### Abstract

Friable embryonic callus (FEC) and protoplast production from BK, KM94 and KM140 cassava varieties were studied for establishing a non-transgenic genome editing system using ribonucleoprotein Cas9 system. FEC production in BK, KM94 and KM140 rates reached 22.6%, 21.8% and 22.4%, respectively. Cell-wall degrading enzymes were found to be most effective at 10 g/l cellulase RS Onozuka + 400 mg/l macerozyme + 100 mg/l pectolyase and 18 hours incubation for protoplast production from KM94 and KM140 ( $1.09 \times 10^7$  protoplasts/g FW and  $1.06 \times 10^7$  protoplast/g FW, respectively). Subculture frequency of every 4 weeks resulted in highest protoplast yield and survival rate for KM94 and KM140. Protoplast regeneration rate of KM140 was tested with different recovering inoculation densities of  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $3 \times 10^5$  and  $5 \times 10^5$  (per ml) and  $3 \times 10^5$  protoplasts/ml was most effective.

**Keywords:** Cassava (*Manihot esculenta* Crantz), friable embryonic callus, protoplast

Ngày nhận bài: 15/9/2020  
Ngày phản biện: 23/9/2020

Người phản biện: TS. Lê Thị Tuyết Châm  
Ngày duyệt đăng: 02/10/2020

## NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG NGUỒN GEN BÍ ĐỎ Ở MIỀN BẮC VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ SSR

Trần Thị Huệ Hương<sup>1</sup>, Hoàng Thị Huệ<sup>2</sup>,  
Lê Thị Thu Trang<sup>2</sup>, Đàm Thị Thu Hà<sup>2</sup>, Lê Tuấn Nghĩa<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

Nghiên cứu đã sử dụng chỉ thị SSR để đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen bí đỏ được thu thập ở các tỉnh miền Bắc Việt Nam. Kết quả nghiên cứu sử dụng 48 chỉ thị SSR để phân tích đa dạng di truyền của 132 mẫu giống bí đỏ cho thấy: Số alen thu được tại mỗi locut dao động từ 2 - 6 alen, tổng số alen trên tất cả các locut là 126, trung bình là 2,63 alen/locut. Mức độ tương đồng dao động từ 0,64 đến 0,92 và hệ số PIC dao động từ 0,16 - 0,65 và trung bình là 0,42. Đã xác định được 10 chỉ thị gồm: CMTp127, CMTm232, CMTm120, CMTp182, CMTp193, CMTm252,

<sup>1</sup> Viện Khoa học nông nghiệp Việt Nam; <sup>2</sup> Trung tâm Tài nguyên thực vật

CMTp248, CMTm107, CMTp233, CMTm259 cho nhận dạng đặc trưng đối với 10 mẫu giống gồm: SĐK3826 (bí đỏ), SĐK3639 (bí mặn), SĐK3825 (làng quả), SĐK9294 (Qua đeng), SĐK 6552 (bí đỏ), SĐK6741(bí tẻ), SĐK7560 (cặm quạ), SĐK 15108 (qua hạnh), SĐK15129 (mơ luông), SĐK 19327 (bí tở). Kết quả nghiên cứu này là cơ sở thông tin, dữ liệu, nguồn vật liệu quý phục vụ cho công tác bảo tồn và khai thác phát triển nguồn gen bí đỏ.

**Từ khóa:** Bí đỏ, đa dạng di truyền, chỉ thị SSR

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bí đỏ hay còn gọi là bí ngô, bí rợ, thuộc chi *Cucurbita*, họ bầu bí (Cucurbitaceae), là một trong nhiều loại rau quan trọng trên thị trường, mang lại giá trị kinh tế cao cho người nông dân ở Việt Nam (Lê Tuấn Phong và *ctv.* 2011; Nguyễn Thị Tâm Phúc và *ctv.*, 2017). Bí đỏ là cây trồng có hiệu quả sản xuất cao bởi có thể sử dụng được các bộ phận của chúng như: thân, lá, hoa và quả làm thực phẩm và nguyên liệu cho các ngành công nghiệp bánh kẹo, ép dầu... (Nguyễn Thị Tâm Phúc và *ctv.*, 2017). Quả bí đỏ giàu vitamin A, C, chất đạm, chất béo, đường, hàm lượng chất khô cao... và cho năng lượng cao với 85170 kJ/100 g; phương thức sử dụng bí đỏ làm thực phẩm cũng rất phong phú về nấu nướng và chế biến.

Nghiên cứu về bí đỏ trên thế giới đã được tiến hành từ lâu và chủ yếu tập trung vào đánh giá đặc điểm hình thái và một số hoạt chất dinh dưỡng có lợi cho sức khỏe con người như beta carotene, vitamin, đường... Tại Việt Nam, mặc dù bí đỏ đã được trồng, bảo tồn và sử dụng lâu đời nhưng các nghiên cứu về chúng còn rất hạn chế, phần lớn tập trung vào việc đánh giá hình thái, tuyển chọn theo phương pháp truyền thống. Các nghiên cứu mới chỉ tập trung vào đánh giá sơ bộ, bước đầu về đặc điểm hình thái, nông sinh học. Với tiến bộ của công nghệ sinh học giúp phân tích, xác định được mối quan hệ di truyền của các giống cùng tập đoàn, hiểu biết sâu sắc về vị trí, vai trò của gen qui định tính trạng nông học; trong đó ứng dụng chỉ thị phân tử: RAPD, SSR, RFLP ... (Deck-Walters *et al.*, 2002, Paris *et al.*, 2003, Gong *et al.*, 2008, Junxin Wu *et al.*, 2011, Vinu *et al.*, 2013, Baranek *et al.*, 2015, Kong *et al.*, 2015, Dos Santos *et al.*, 2016, Muralidhara *et al.*, 2016, Kazminska *et al.*, 2017, Wang *et al.*, 2020) là biện pháp hữu hiệu trong phân tích đa dạng di truyền nguồn gen nói chung và nguồn gen bí đỏ nói riêng giúp cho công tác bảo tồn, khai thác, sử dụng nguồn gen hiệu quả hơn. Vì vậy, chúng tôi tiến hành “Nghiên cứu đa dạng di truyền nguồn gen bí đỏ bằng chỉ thị SSR” để góp phần vào công tác bảo tồn, sử dụng hiệu quả nguồn gen bí đỏ ở nước ta.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu giống được sử dụng trong nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền gồm 132 mẫu giống bí đỏ địa phương.

48 cặp mỗi SSR được lựa chọn từ cơ sở dữ liệu về nghiên cứu hệ gen cây bí đỏ đã được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền tập đoàn bí đỏ nghiên cứu.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Tách chiết ADN của các mẫu giống bí đỏ dựa theo phương pháp của Doyle Doyle (1987).

- Phản ứng PCR được tiến hành trên máy Veriti 96 well Thermal cycler. Điện di và phát hiện sản phẩm PCR trên gel polyacrylamide 8% và máy soi UV Transilluminator.

- Phân tích đa dạng di truyền, xác định chỉ số PIC (Polymorphism Information Content) của từng chỉ thị SSR, mức độ tương đồng di truyền, xây dựng sơ đồ hình cây được tính toán sử dụng theo công thức của Mohammadi (2003) và bằng phần mềm NTSYSpc2.1.

### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành năm 2017 và 2018.

- Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Đa dạng sinh học Nông nghiệp, Trung tâm Tài nguyên thực vật, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.

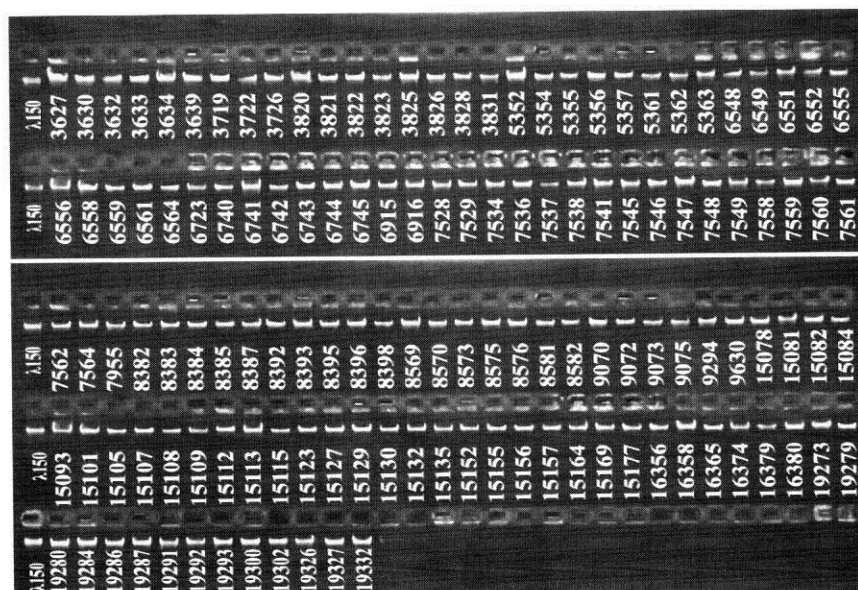
## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả tách chiết ADN của các mẫu giống bí đỏ

Tách chiết ADN là bước đầu tiên khá quan trọng trong mọi nghiên cứu ở mức độ ADN, Nếu có ADN đảm bảo độ tinh sạch, không đứt gãy và cho nồng độ tách chiết cao là điều kiện tốt và đảm bảo thành công cho các bước tiếp theo. Bí đỏ là đối tượng khó hơn đối với việc tách chiết ADN so với các cây trồng phổ biến khác Dựa trên phương pháp của Doyle và Doyle (1987), trong nghiên cứu này chúng tôi đã tách chiết ADN của 132 mẫu giống bí đỏ. Sau khi tách chiết, các mẫu ADN được điện di và kiểm tra độ tinh sạch, nguyên vẹn và nồng độ trên gel

agarose 1% và máy đo quang phổ nanodrop ở bước sóng OD260/OD280. Kết quả điện di cho thấy ADN tổng số thu được đều nguyên vẹn, độ tinh sạch nằm trong khoảng từ 1,8 đến 2,0 và có nồng độ đạt từ

150 - 320 ng/μl (Hình 1). Với kết quả tách chiết như vậy, ADN thu nhận được hoàn toàn đáp ứng yêu cầu cho phản ứng PCR tiếp theo.

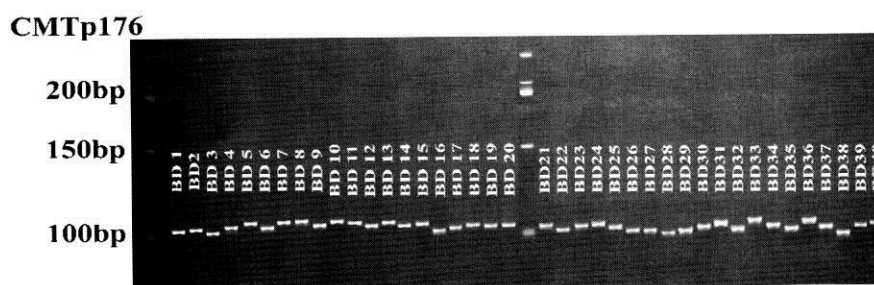


Hình 1. Hình ảnh điện di ADN tổng số của các mẫu giống bí đỏ

### 3.2. Kết quả nhận dạng ADN bí đỏ bằng chỉ thị SSR

Sau khi tách chiết ADN tổng số, chúng tôi đã tiến hành thực hiện phản ứng PCR sử dụng 48 chỉ thị SSR đối 132 mẫu giống bí đỏ. Kết quả phân tích với 48 chỉ thị (locut) SSR cho thấy sản phẩm PCR (Hình 3) thu được là các băng ADN (alen) có kích thước trong khoảng 70-239bp. Tại mỗi locut, kích thước các alen thu được đối với các mẫu giống nghiên cứu từ 70 bp (đối với chỉ thị CMTp107)

cho đến 239 bp (đối với chỉ thị CMTm261). Tổng số alen được phát hiện tại 48 locut là 126 alen; số alen tại mỗi locut từ 2 alen (đối với chỉ thị CMTm49, CMTp133.v.v.) đến 6 alen (đối với chỉ thị CMTp176), trung bình đạt 2,63 alen/locut. Có 14 chỉ thị (CMTp138, CMTm183, CMTmC67, CMTm131.v.v.) cho 3 alen, có 3 chỉ thị (CMTp182, CMTp193, CMTm252) cho 4 alen, có 2 chỉ thị (CMTm232, CMTm120) cho 5 alen (Bảng 1).



Hình 2. Hình ảnh nhận dạng kiểu gen của một số mẫu giống bí đỏ (sử dụng chỉ thị CMTp176)

Trong số 48 chỉ thị sử dụng trong nghiên cứu có 10 chỉ thị là: CMTp127, CMTm232, CMTm120, CMTp182, CMTp193, CMTm252, CMTp248, CMTm107, CMTp233, CMTm259 cho nhận dạng đặc trưng đối với 10 mẫu giống bí đỏ gồm: SDK3826 (bí đỏ), SDK3639 (bí mật), SDK3825 (làng quả),

SDK9294 (Qua đeng), SDK 6552 (bí đỏ), SDK6741 (bí tẻ), SDK7560 (cặm quạ), SDK15108 (qua hạnh), SDK15129 (mơ lòng) và SDK 19327 (bí tở). Các alen đặc trưng sẽ giúp nhận dạng, phát hiện, định danh các mẫu trong tập đoàn giống (Bảng 1).

**Bảng 1.** Thông tin về đa dạng di truyền tại các locut SSR của nguồn gen bí đỏ

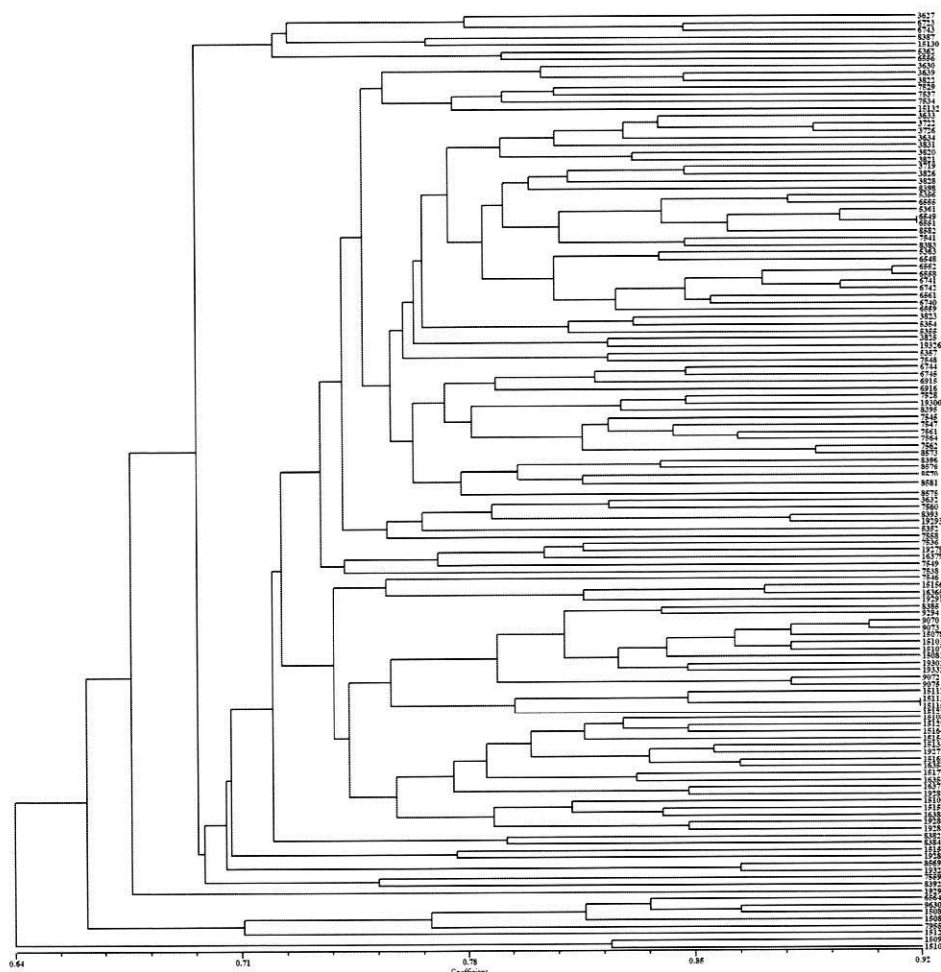
TT	Locut SSR	Số allen	Kích thước allen nhỏ nhất (bp)	Kích thước allen lớn nhất (bp)	Số allen đặc trưng	Mẫu giống có allen đặc trưng	Hệ số PIC
1	CMTm49	2	100	110			0,32
2	CMTp133	2	113	120			0,35
3	CMTm158	2	80	95			0,26
4	CMTp125	2	115	130			0,32
5	CMTp127	3	112	130	1	SĐK3826 (kích thước allen: 120bp)	0,52
6	CMTp107	2	109	120			0,32
7	CMTp69	2	70	85			0,37
8	CMTp138	3	103	110			0,56
9	CMTm232	5	196	220	1	SĐK3639 (kích thước allen: 215bp)	0,57
10	CMTm221	2	108	120			0,26
11	CMTm183	3	115	130			0,45
12	CMTp158	2	134	145			0,16
13	CMTm259	3	169	180	1	SĐK 19327 (kích thước allen: 178 bp)	0,53
14	CMTp176	6	111	130			0,55
15	CMTp33	2	171	185			0,18
16	CMTm65	2	97	110			0,32
17	CMTmC67	3	114	130			0,51
18	CMTm120	5	121	150	1	SĐK3825 (kích thước allen: 137 bp)	0,27
19	CMTm126	2	159	167			0,31
20	CMTmC34	3	107	125			0,38
21	CMTm131	3	111	135			0,48
22	CMTm144	2	150	162			0,27
23	CMTm206	3	171	185			0,61
24	CMTmC14	2	129	135			0,33
25	CMTp182	4	138	168	1	SĐK9294 (kích thước allen: 168 bp)	0,62
26	CMTp131	2	117	125			0,37
27	CMTp174	2	176	190			0,25
28	CMTp210	3	117	132			0,44
29	CMTp201	2	110	119			0,51
30	CMTp193	4	186	201	1	SĐK6552 (kích thước allen: 196 bp)	0,38
31	CMTp247	3	123	140			0,63
32	CMTp46	3	142	160			0,46
33	CMTp233	2	104	115	1	SĐK15129 (kích thước allen: 110bp)	0,45
34	CMTp236	3	82	110			0,54
35	CMTp241	2	110	121			0,39
36	CMTp248	2	154	170	1	SĐK7560 (kích thước allen: 162 bp)	0,54
37	CMTm170	2	113	120			0,60
38	CMTm130	2	110	120			0,59
39	CMTp175	2	155	162			0,62
40	CMTm172	2	115	125			0,37
41	CMTp63	2	152	165			0,28
42	CMTm107	3	127	145	1	SĐK15108 (kích thước allen: 127bp)	0,53
43	CMTp201	2	110	130			0,31
44	CMTm224	2	120	130			0,27
45	CMTm252	4	101	130	1	SĐK6741 (kích thước allen: 122 bp)	0,65
46	CMTm261	2	228	239			0,38
47	CMTm48	2	101	115			0,36
48	CMTm84	3	122	137			0,38
Trung bình của toàn bộ số allen		2,63					0,42
<b>Tổng số</b>		<b>126</b>			<b>10</b>		

### 3.3. Đánh giá đa dạng di truyền các mẫu giống bí đỏ

Kết quả phân tích đa dạng di truyền 132 mẫu giống bí đỏ sử dụng 48 cặp mỗi SSR bằng phần mềm NTSYS 2.1 cho thấy hệ số tương đồng di truyền giữa các mẫu giống bí đỏ nghiên cứu dao động từ 0,64 đến 0,92. Tại mức tương đồng di truyền 0,64 (Hình 3), 2 mẫu giống bí đỏ SDK15093 và SDK15105 nằm phân tách thành một nhóm so với các mẫu giống còn lại. Bên cạnh đó, 130 mẫu giống còn lại phân thành 2 nhóm tại mức tương đồng di truyền 0,66 cụ thể như sau:

Nhóm I: Gồm 6 mẫu giống là SDK6564 (Tẩu héo), SDK9630 (Bí đỏ dạng 2), SDK 15084 (Nhung nhím), SDK15082 (Mắc ực), SDK7955 (Bí đỏ quả tròn), SDK15123 (Tau đà), có hệ số tương đồng di truyền từ 0,71 đến 0,86.

Nhóm II: Gồm 124 mẫu giống, trong đó mẫu giống SDK 19292 (Nặng quá) nằm phân tách với các mẫu giống còn lại tại mức tương đồng 0,68. Tại phân nhánh IIA, với mức tương đồng 0,7, các mẫu giống phân tách thành 2 phân nhánh nhỏ gồm: phân nhánh IIA-1 với 7 mẫu giống và phân nhánh IIA-2 với 116 mẫu giống. Chỉ có cặp mẫu giống SDK6549 (bí đỏ) và dạng 2 SDK6551 (Nhung nhím) thu thập tại Điện Biên và cặp mẫu giống SDK 15113 (Nông tau đàng) và SDK15115 (Mắc ứ) thu thập tại Sơn La có quan hệ gần nhau nhất với mức tương đồng di truyền khoảng 92%. Đây là cơ sở để phân loại, xác định các nhóm ưu thế lai, nhận dạng các mẫu giống phục vụ công tác bảo tồn, khai thác và chọn tạo giống bí đỏ ở Việt Nam.



**Hình 3.** Mối quan hệ di truyền của các mẫu giống bí đỏ được phân tích bằng chỉ thị SSR

Ghi chú: Số trên các mẫu giống được lấy số của mã số Ngân hàng gen.

Hệ số PIC thu được tại 48 locut SSR nghiên cứu dao động từ 0,16 (đối với chỉ thị CMTp158) đến 0,65 (đối với chỉ thị CMTm252), trung bình là 0,42. Kết quả này đạt cao hơn nghiên cứu về đa dạng di truyền bí đỏ của Q. Kong và cộng tác viên (2014) với

hệ số PIC trung bình đạt 0,36. Như vậy, phân nhóm dựa vào khoảng cách di truyền ở trên cho thấy, các mẫu giống bí đỏ có mức độ đa dạng di truyền của các giống rất khác nhau.

## IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1. Kết luận

Nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền của 132 mẫu giống bí đỏ sử dụng 48 chỉ thị SSR cho thấy:

Tổng số alen thu được tại mỗi locút dao động từ 2-6, tổng số alen trên tất cả các locút là 126, trung bình đạt 2,63 alen/locút. Các mẫu giống bí đỏ nghiên cứu có mức độ tương đồng di truyền dao động từ 0,64 đến 0,92 và hệ số PIC dao động từ 0,16 - 0,65 và trung bình là 0,42.

Có 10 chỉ thị gồm: CMTp127, CMTm232, CMTm120, CMTp182, CMTp193, CMTm252, CMTp248, CMTm107, CMTp233, CMTm259 cho nhận dạng đặc trưng đối với 10 mẫu giống gồm: SĐK3826 (Bí đỏ), SĐK3639 (Bí mật), SĐK3825 (Làng quạ), SĐK9294 (Qua đeng), SĐK 6552 (Bí đỏ), SĐK6741 (Bí tẻ), SĐK7560 (Cặm quạ), SĐK 15108 (Qua hạnh), SĐK15129 (Mơ luông), SĐK 19327 (Bí tở).

### 4.2. Đề nghị

Sử dụng 10 locut phát hiện các alen đặc trưng làm chỉ thị xác định các giống bí đỏ phục vụ công tác bảo tồn và chọn tạo giống bí đỏ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Tuấn Phong, Lê Khả Tường và Đinh Văn Đạo, 2011. Sản xuất bí đỏ, tiềm năng và thách thức. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 2: 46-50.
- Nguyễn Thị Tâm Phúc, Vũ Linh Chi, Đoàn Minh Diệp, Nguyễn Thị Kim Thúy & Lê Tuấn Nghĩa, 2017. Đánh giá ban đầu một số mẫu giống bí đỏ tại Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 8: 31-36.
- Baranek, M., Stift, G., Vollmann, J., Lelley, T., 2015. Genetic diversity within and between the species *Cucurbita pepo*, *C. moschata* and *C. maxima* as revealed by RAPD markers. *Cucurbit Genetics Cooperative Report*, 23: 73 - 77.
- Deck-Walters, D. S., Staub, J. E., Chung, S. M., Nalata, E., and Quemada, H. D., 2002. Diversity in free-living population of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) as assessed by random amplified polymorphic DNA. *Syst. Bot.*, 27: 19- 28.
- Dos Santos, M.H., Rodrigues, R., Simões Azeredo Gonçalves, L., Pombo Sudré, C., Gonzaga Pereira, M., 2016. Agrobiodiversity in *Cucurbita* spp. landraces collected in Rio de Janeiro assessed by molecular markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 12: 96-103.
- Doyle JJ, Doyle JK, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19: 11-15.
- Gong L., G. Stift, R. Kofler, M. Pachner, T. Lelley, 2008. Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L. *Theor Appl Genet* (2008) 117: 37-48.
- Junxin Wu, Zhijian Chang, Qingshan Wu, Haixian Zhan, Shulian Xie, 2011. Molecular diversity of Chinese *Cucurbita moschata* germplasm collections detected by AFLP markers. *Science in Horticulture*, 128: 7-13.
- Kazminska, K., K. Sobieszek, M. Targonska-Karasek, A. Korzeniewska, K. Niemirowicz-Szczytt and G. Bartoszewski, 2017. Genetic diversity assessment of a winter squash and pumpkin (*Cucurbita maxima* Duchesne) germplasm collection based on genomic *Cucurbita*-conserved SSR markers. *Sci. Hort.*, (219): 37-44.
- Kong, Q., J. Chen, Y. Liu, Y. Ma, P. Liu, S. Wu, Y. Huang and Z. Bie, 2015. "Genetic diversity of *Cucurbita* rootstock germplasm as assessed using simple sequence repeat markers & quot. *Sci. Hort* 175: 150-155.
- Mohammadi S.A. and Prasanna B.M., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plant- Salient statistical tool and considerations. *Crop Sci*, 43(4): 1235-1248.
- Muralidhara M. S. and N. C. Narasegowda, 2016. Genetic diversity analysis of pumpkin genotype using morphological and RAPD markers. *Asian Journal of BioScience*, Vol. 9 (2): 188 - 194.
- Paris H. S., Yonash, N., Portnoy, V., Mozes-Daube, N., Tuzuri, G., and Katzir, N., 2003. Assessment of genetic relationships in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) using DNA markers. *Theor. Appl. Genet.*, 106: 971-978.
- Vinu V., Naveen Singh, Sujata Vasudev, Devendra Kumar Yadava, Sushil Kumar, Sugandh Naresh, Sripad Ramachandra Bhat & Kumble Vinod Prabhu, 2013. Assessment of genetic diversity in *Brassica juncea* (Brassicaceae) genotypes using phenotypic differences and SSR markers. *Rev. Biol. Trop.* Vol 61 (4): 1919-1934.
- Wang Yunli, Wang Yangyang, Xu wenlong, Wang Chaojie, Cui Congshi and Qu Shuping, 2020. Genetic diversity of pumpkin based on morphological and SSR markers. *Pak. J. Bot.*, 52(2): 477-487.

## Analysis of genetic diversity of pumpkin accessions collected in the North of Vietnam

Tran Thi Hue Huong, Hoang Thi Hue,  
Le Thi Thu Trang, Dam Thi Thu Ha, La Tuan Nghia

### Abstract

This study used SSR markers to evaluate genetic diversity of pumpkin resources that were collected in Northern provinces of Vietnam. The results of the study using 48 SSR markers to analyze genetic diversity of 132 pumpkin accessions indicated that: The number of alleles (DNA band) determined at each locus ranging from 2-6 alleles, a total of 126 alleles detected in 132 pumpkin accessions in which averaging 2.63 alleles/locus. Genetic similarity ranged from 0.64 to 0.92, PIC coefficient ranged from 0.16 - 0.65 and average was 0.42. 10 SSR markers have been identified including: CMTp127, CMTm232, CMTm120, CMTp182, CMTp193, CMTm252, CMTp248, CMTm107, CMTp233, CMTm259 which could be used to identify 10 pumpkin accessions having registered number of genebank including: SDK 3826 (Bi do), SDK 3639 (Bi man), SDK 3825 (Lang qua), SDK9294 (Qua đeng), SDK 6552 (Bi do), SDK6741 (Bi tè), SDK7560 (Cam qua), SDK 15108 (Qua hanh), SDK15129 (Mo luông), SDK 19327 (Bi to) based on unique alleles.

**Keywords:** Pumpkin, genetic diversity, SSR marker

Ngày nhận bài: 07/01/2021

Ngày phản biện: 20/01/2021

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày duyệt đăng: 29/01/2021

## HỆ PHIÊN MÃ GIỐNG LÚA TRÀ LÒNG 2 DƯỚI TÁC ĐỘNG CỦA MẶN GIAI ĐOẠN CÂY CON

Huỳnh Kỳ<sup>1</sup>, Văn Quốc Giang<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Mạnh<sup>1</sup>,  
Trần In Đô<sup>1</sup>, Nguyễn Thành Tâm<sup>2</sup>, Chung Trương Quốc Khang<sup>1</sup>,  
Nguyễn Châu Thanh Tùng<sup>1</sup>, Nguyễn Lộc Hiền<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này giống Trà Lòng 2 đại diện cho kiểu gen chống chịu và Nếp Mỡ đại diện cho kiểu gen mẫn cảm stress mặn. Thí nghiệm được thực hiện ở giai đoạn 14 ngày sau nảy mầm, cây mạ được xử lý muối NaCl ở nồng độ 100 mM trong 12 giờ, mẫu sau khi xử lý stress mặn được thu thập, ly trích RNA và giải trình tự hệ gen biểu hiện bằng hệ thống Illumina Hiseq 2500. Kết quả phân tích hệ gen biểu hiện chuyên biệt cho giống Trà Lòng 2 (1732 gen) có số lượng gen biểu hiện nhiều hơn giống Nếp Mỡ (432 gen). Khi so sánh giữa 2 hệ gen biểu hiện, giống chống chịu mặn thể hiện ở cơ chế giảm khả năng quang hợp (GO: 0015979) và giảm sự tiến tổng hợp các chất sinh hóa hay năng lượng (GO: 0006091). Trong đó sự biểu hiện của gen OsTPP1 cho thấy phản ứng sớm của giống lúa Trà Lòng 2 khi có sự hiện diện của mặn. Kết quả này bước đầu đã chọn ra được các gen liên quan đến phản ứng stress mặn và có thể dùng tiếp cho nghiên cứu chuyên sâu hơn.

**Từ khóa:** Cây lúa, giống lúa Trà Lòng 2, hệ phiên mã, chịu mặn

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, sản xuất nông nghiệp vùng Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) đang bị tác động nghiêm trọng do xâm nhập mặn. Do đó việc tìm ra hệ gen biểu hiện giúp cho cây lúa chống chịu mặn đại diện cho vùng Đồng bằng sông Cửu Long là rất cấp thiết. Thực vậy, với tác động của biến đổi khí hậu đã gây nên hiện tượng xâm nhập mặn sâu vào đất liền, đặc biệt là vùng Đồng bằng sông Cửu Long và chính vì sự

xâm nhập mặn đó nên đã gây nên hiện tượng stress phi sinh học (VNDMA, 2020). Có rất nhiều báo cáo cho rằng stress mặn đã tác động rất lớn đến sản xuất nông nghiệp như giảm năng suất cây trồng, trong đó cây lúa là chịu ảnh hưởng mạnh nhất (Majeed and Muhammad, 2019; Zhu, *et al.*, 2019) vì stress mặn đã tác động đến sự sinh trưởng và phát triển của cây con (Hussain, *et al.*, 2017; Munns and Tester, 2008). Như vậy, để chống chịu lại stress, cây lúa cần

<sup>1</sup> Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Viện Nghiên cứu Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long, Trường Đại học Cần Thơ