

độ phân cành lớn và có khả năng ra hoa khá sớm 23 - 26 ngày sau trồng, tỷ lệ đậu quả ở mức tương đối cao đạt trên 50%. Mức độ nhiễm bệnh phấn trắng và bệnh sương mai từ nhẹ đến trung bình.

Kết quả thí nghiệm đã xác định được 3 tổ hợp lai có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt, nhiễm nhẹ với bệnh sương mai và bệnh phấn trắng, cho năng suất cao là: THL2, THL6, THL9 có năng suất lần lượt là 450,76 tạ/ha; 443,52 tạ/ha và 460,18 tạ/ha.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục theo dõi, đánh giá các tổ hợp lai dưa chuột nói trên ở các vụ tiếp theo, đặc biệt là các tổ hợp lai cho năng suất cao, khả năng chống chịu bệnh sương mai và bệnh phấn trắng để thu được kết quả chính xác hơn.

Tiến hành đánh giá các tổ hợp có triển vọng ở nhiều vùng sinh thái khác nhau để có kết luận chính xác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Tạ Thu Cúc**, 2007. *Giáo trình cây rau*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- Nguyễn Thị Lan, Phạm Tiến Dũng**, 2005. *Giáo trình phương pháp thí nghiệm*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- Phạm Mỹ Linh, Lê Thị Tình, Ngô Thị Hạnh**, 2015. Kết quả đánh giá giống dưa chuột trồng trong nhà lưới tại miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, tháng 2 năm 2015.
- Phạm Mỹ Linh**, 2015. Báo cáo tổng kết đề tài “Nghiên cứu chọn tạo giống dưa chuột lai F1 phục vụ nội tiêu và xuất khẩu cho các tỉnh phía Bắc”
- Pant, T.; Bhatt, R.; Bhoj, A.; Kumar, N.**, 2005. Exploring suitable plant density for hydroponically grown cucumber (*Cucumis sativus L.*) in greenhouse conditions. *Journal of Applied Horticulture*.

Evaluation of some potential hybrid combinations of cucumber for fresh use at Gialam district, Hanoi

Tran To Tam, Tran Thi Minh Hang, Pham My Linh

Abstract

The evaluation of 10 potential hybrid combinations of cucumber for fresh use in spring and summer of 2016 in Gia Lam, Hanoi indicated that all hybrid combinations in the experiment were capable of growing and developing well, with mild to moderate rate of disease (powdery mildew and downy mildew) infection. Several combinations, such as THL2, THL3, THL6, THL9, produced higher fruit yield than that of the control variety, achieving good quality suitable for fresh use. Through assessing the plant growth, fruit yield and quality of the cucumber hybrid combinations, the study suggested three promising hybrid combinations such as THL2, THL6, and THL9. Such hybrid combinations were able to grow and develop vigorously with low rate of disease infection (powdery mildew and downy mildew) and produced high yield.

Key words: cucumber, powdery mildew, downy mildew

Ngày nhận bài: 2/10/2016

Người phản biện: TS. Trần Danh Sừu

Ngày phản biện: 8/10/2016

Ngày duyệt đăng: 31/10/2016

XÁC ĐỊNH HỌ GEN MÃ HÓA ENZYME *Methionin-s-sulfoxide reductaza* Ở ĐẬU TƯƠNG (*Glycine max*)

Chu Đức Hà¹, Nguyễn Thị Kim Liên¹,
Phạm Thị Lý Thu¹, Lê Tiến Dũng¹

TÓM TẮT

Trong sinh giới, methionine sulfoxide, bao gồm 2 dạng Met-S-O và Met-R-O có thể được sửa chữa bởi hoạt động của 2 họ enzyme methionine-S-sulfoxide reductase (MSRA) và methionine-R-sulfoxide reductase (MSRB). Trong nghiên cứu này, 7 gen mã hóa họ enzyme MSRA ở đậu tương đã được xác định, trong đó có 3 cặp gen lặp (*GmMSRA1/A6*, *GmMSRA2/A5* và *GmMSRA4/A7*). Phân tích *in silico* gợi ý rằng hiện tượng lặp đoạn nhiễm sắc thể có thể là cơ chế phát sinh chủ yếu của họ gen MSRA ở đậu tương. Tiếp theo, phân tích phá hệ cho thấy họ enzyme MSRA ở đậu tương được chia làm 2 nhóm chính với các đặc tính về cấu trúc và chức năng khác nhau. Cuối cùng,

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp

dựa trên dữ liệu microarray đã công bố, đã phát hiện thấy *GmMSRA1/A6* bị kìm hãm khả năng biểu hiện trong khi biểu hiện của *GmMSRA4* được tăng cường ở rễ của giống đậu tương mô hình Williams 82 trong điều kiện hạn.

Từ khóa: Ôxi hóa methionine, methionine-S-sulfoxide reductase, ROS, hạn hán

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Methionin (Met) là một axit amin quan trọng trong hoạt động sống của thực vật. Tuy nhiên, do có cấu trúc mạch hở với gốc lưu huỳnh, Met rất dễ bị ôxi hóa tạo thành methionine sulfoxide (MetO) hoặc thành dạng methionine sulfone (MetO₂). Quá trình này thường xảy ra khi tế bào tích lũy quá mức các gốc ôxi hóa tự do gây ra bởi tác động của điều kiện ngoại cảnh bất lợi, dẫn đến sự biến đổi cấu trúc làm thay đổi (hoặc gây mất) chức năng của protein. Trong sinh giới, MetO có thể được sửa chữa bởi hoạt động của họ enzyme methionine sulfoxide reductase (MSR) (Rouhier *et al.*, 2006).

Cho đến nay, đã xác định được 2 họ enzyme, bao gồm MSRA (methionine-S-sulfoxide reductase) và MSRB (methionine-R-sulfoxide reductase) lần lượt tham gia vào quá trình khử Met-S-O và Met-R-O trong tế bào (Rouhier *et al.*, 2006). Họ gen mã hóa MSR đã được nghiên cứu khá nhiều trên thực vật, như trên cây mô hình *Arabidopsis thaliana* (Rouhier *et al.*, 2006) và một số đối tượng cây trồng quan trọng, bao gồm lúa (*Oryza sativa*) (Guo *et al.*, 2009), cà chua (*Solanum lycopersicum*) (Dai và Wang, 2012), ngô (*Zea mays*) (Zhu *et al.*, 2015). Trước đó, Le và cộng sự (2013) đã báo cáo về họ enzyme MSRB trên hệ gen của đậu tương (*Glycine max*), một trong những loại cây trồng quan trọng hàng đầu hiện nay (Le *et al.*, 2013). Tuy nhiên, chưa có báo cáo nào trên thế giới công bố về họ enzyme MSRA trên đậu tương.

Trong nghiên cứu này, một số phân tích đã được tiến hành để xác định và phân tích một số đặc tính họ enzyme MSRA trên đậu tương. Tiếp theo, cây phát sinh được xây dựng dựa trên trình tự protein của họ enzyme MSRA. Cuối cùng, dữ liệu microarray được sử dụng để đánh giá mức độ biểu hiện của *GmMSRAs* trong điều kiện bất lợi.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Hệ gen đậu tương *Wm82.a2.v1* (Schmutz *et al.*, 2010) trên cơ sở dữ liệu Phytozome v11.0.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp xác định gen mã hóa enzyme

MSRA trong hệ gen đậu tương được tiến hành dựa theo cách tiếp cận đã công bố trước đây (Le *et al.*, 2013). Phương pháp xác định điểm đẳng điện (pI) và trọng lượng phân tử (MW) được dự đoán bằng công cụ ExPasy (http://web.expasy.org/compute_pi/). Phương pháp dự đoán vị trí cứ trú của protein mã hóa enzyme MSRA được phân tích bằng công cụ TargetP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>) (Emanuelsson *et al.*, 2007).

- Phương pháp xác định gen lặp được thực hiện dựa trên công cụ Plant Genome Duplication Database (PGDD, <http://chibba.agtec.uga.edu/duplication/>) (Lee *et al.*, 2013). Trị số thay thế đồng nghĩa (synonymous substitution rate, Ks) và trị số thay thế sai khác (nonsynonymous substitution rate, Ka) được tính toán bằng công cụ DNAsp 5.0 (Librado và Rozas, 2009).

- Phương pháp xác định vùng trình tự bảo thủ và xây dựng cây phân loại được thực hiện bằng phần mềm MEGA 7.0 (Kumar *et al.*, 2016). Vùng trình tự bảo thủ sau đó được kiểm chứng bằng công cụ Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) (Finn *et al.*, 2016).

- Phương pháp đánh giá mức độ biểu hiện của gen mã hóa *GmMSRAs* trong điều kiện bất lợi được tiến hành dựa trên dữ liệu microarray đã công bố (Ha *et al.*, 2015).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định họ gen mã hóa enzyme MSRA ở hệ gen cây đậu tương

Để xác định toàn bộ các gen ứng viên mã hóa enzyme MSRA ở đậu tương, gen mã hóa MSRA ở cây mô hình *Arabidopsis thaliana* (Rouhier *et al.*, 2006) được sử dụng làm trình tự tham chiếu để tìm kiếm trên hệ gen cây đậu tương, *Wm82.a2.v1* (Schmutz *et al.*, 2010) cập nhật tại cơ sở dữ liệu Phytozome v11.0. Dựa trên độ tin cậy của phương pháp tìm kiếm (e-value < 1 × 10⁻⁶), 7 gen mã hóa họ enzyme MSRA đã được xác định trên hệ gen của đậu tương, ký hiệu từ *GmMSRA1* đến *GmMSRA7*. Một số thông tin cơ bản của họ gen *GmMSRA* ở đậu tương được khai thác dựa trên nhiều công cụ tìm kiếm khác nhau và được minh họa ở bảng 1.

Bảng 1. Thông tin về 7 gen mã hóa enzyme MSRA ở hệ gen cây đậu tương

Tên gen	Mã gen	Kích thước	Trọng lượng phân tử (kDa)	Điểm đẳng điện	Vị trí cư trú
GmMSRA1	<i>Glyma02g05550</i>	250	26,17	6,14	S*
GmMSRA2	<i>Glyma02g46020</i>	266	29,87	8,78	C*
GmMSRA3	<i>Glyma04g36480</i>	194	21,63	5,01	-
GmMSRA4	<i>Glyma08g42790</i>	203	22,78	6,52	-
GmMSRA5	<i>Glyma14g02705</i>	266	29,69	8,74	C*
GmMSRA6	<i>Glyma16g24130</i>	250	28,11	6,39	S*
GmMSRA7	<i>Glyma18g11110</i>	203	22,76	5,84	M

Ghi chú: S là các bào quan liên quan đến quá trình vận chuyển nội bào. C là lục lạp. M là ty thể. - là chưa xác định.
* là kết quả dự đoán đạt độ tin cậy.

Tiếp theo, công cụ TargetP được sử dụng để xác định vị trí phân bố tại các bào quan của GmMSRAs dựa vào peptide đặc hiệu - là tín hiệu cho việc định hướng vị trí của protein trong tế bào. GmMSRA1 và GmMSRA6 có khả năng phân bố ở các bào quan liên quan đến quá trình vận chuyển trong tế bào, trong khi GmMSRA2 và GmMSRA5 có thể định vị ở lục lạp. Hơn nữa, hai protein, GmMSRA2 và GmMSRA5 có thể được phân bố trên màng của lục lạp, là bào quan sản sinh và tích lũy ROS, vì thế hai enzyme này hoàn toàn có thể tham gia vào quá trình khử MetO về Met ở lục lạp khi tế bào gặp điều kiện ngoại cảnh bất lợi. Mặt khác, GmMSRA1 và GmMSRA6 phân bố trên các bào quan liên quan đến quá trình vận chuyển nên cũng có thể được huy động để sửa chữa MetO tại các vị trí trong tế bào. Tiếp theo, hiện tượng lặp gen được phân tích để tìm hiểu rõ hơn về cơ chế nhân rộng gen mã hóa MSRA ở đậu tương.

3.2. Kết quả phân tích hiện tượng lặp gen trong họ gen *GmMSRA*

Để xác định xem có bao nhiêu sự kiện lặp gen xuất hiện trong họ enzyme MSRA ở đậu tương, trình tự nucleotide của 7 gen thành viên được sử dụng để truy vấn vào công cụ PGDD. Kết quả cho thấy, có 3 cặp gen lặp được phát hiện trong họ gen mã hóa MSRA ở hệ gen đậu tương. Mức độ tương đồng ở cấp độ nucleotide của các cặp gen lặp ở họ gen MSRA ở đậu tương khá cao, đạt từ 73,76% (cặp gen *GmMSRA4/A7*) đến 96,00% (cặp gen *GmMSRA2/A5*), cặp gen *GmMSRA1/A6* có mức độ tương đồng đạt trên 90% (Bảng 2).

Mặt khác, 3 cặp gen lặp phân bố trên các nhiễm sắc thể khác nhau trong hệ gen của đậu tương. Cặp gen lặp *GmMSRA1/A6* phân bố tương ứng trên nhiễm sắc thể số 2 và số 16, *GmMSRA2* trên nhiễm sắc thể số 2 lặp với *GmMSRA5* trên nhiễm sắc thể số 14, trong khi *GmMSRA4/A7* lần lượt nằm trên nhiễm sắc thể số 8 và số 18 (Bảng 2). Trước đó, Le

và cộng sự (2013) cũng đã xác định được 2 cặp gen lặp trong họ gen mã hóa enzyme MSRB, bao gồm *GmMSRB2/B5* và *GmMSRB3/B4* lần lượt phân bố trên nhiễm sắc thể số 13 và 15 (Le *et al.*, 2013). Những kết quả này gợi ý rằng hiện tượng lặp đoạn trên các nhiễm sắc thể khác nhau có thể là cơ chế chủ yếu giải thích cho sự nhân rộng của họ gen mã hóa enzyme MSR ở đậu tương.

Bảng 2. Hiện tượng lặp gen ở họ enzyme MSRA ở đậu tương

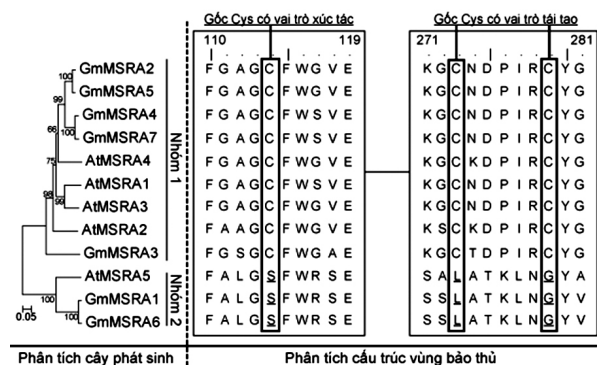
Cặp gen lặp	Mức độ tương đồng	Ks	Ka	Ka/Ks
<i>GmMSRA1/A6</i>	92,91%	0,183	0,032	0,171
<i>GmMSRA2/A5</i>	96,00%	0,104	0,023	0,225
<i>GmMSRA4/A7</i>	73,76%	0,076	0,020	0,256

Hai giá trị Ks và Ka tương ứng là hệ số đột biến vô nghĩa (không gây thay đổi acid amin) và đột biến có nghĩa (đột biến gây thay đổi acid amin). Hai hệ số này được sử dụng để đánh giá áp lực chọn lọc lên các cặp gen tương đồng. Kết quả ở bảng 2 cho thấy, tỷ lệ Ka/Ks của 3 cặp gen lặp đều nhỏ hơn 1 (Li *et al.*, 2009), chứng tỏ quá trình chọn lọc tự nhiên giúp bảo toàn sự bảo thủ của họ gen MSRA ở đậu tương. Điều đó có nghĩa là, trong suốt quá trình tiến hóa của họ gen *GmMSRA*, sự sai khác giữa các nucleotide ở các gen thành viên gây ra bởi đột biến điểm luôn bị kìm hãm bởi áp lực chọn lọc (Yang and Bielawski, 2000). Thông thường, chọn lọc tự nhiên sẽ tạo ra các đột biến điểm trên gen nguyên bản, làm phát sinh gen mới, đây cũng là cơ chế chung cho quá trình hình thành chức năng mới của gen (Francino, 2005). Ở họ gen *GmMSRAs* ở đậu tương, có lẽ bởi vai trò thiết yếu của enzyme MSRA trong việc khử Met-S-O về Met để bảo vệ tế bào đáp ứng lại sự thay đổi của điều kiện ngoại cảnh nên dưới tác động của chọn lọc tự nhiên,

các đột biến điểm xảy ra ở *GmMSRAs* hoàn toàn bị kìm hãm, các gen được bảo thủ một cách trọn vẹn.

3.3. Kết quả đánh giá vùng trình tự bảo thủ và xây dựng cây phát sinh cho họ gen *GmMSRA*

Kết quả xây dựng cây phân loại giữa *GmMSRAs* và protein mã hóa MSRA ở *Arabidopsis* (Rouhier *et al.*, 2006) cho thấy, họ enzyme MSRA ở đậu tương có thể được chia làm 2 nhóm chính (Hình 1). Có 5 thành viên thuộc nhóm 1 là *GmMSRA2/A3/A4/A5/A7*, trong khi nhóm 2 chứa *GmMSRA1* và *GmMSRA6*. Hầu hết các thành viên trong cùng 1 nhánh thường chia sẻ một vài đặc điểm tương tự nhau. Ví dụ như ở nhóm 1, *GmMSRA2* và *GmMSRA5* đều có chung chiều dài 266 axit amin, trọng lượng phân tử tương đương nhau (29,69 - 29,87 kDa) và điểm đẳng điện tương tự nhau (7,84 - 7,87) (Bảng 1, Hình 1).



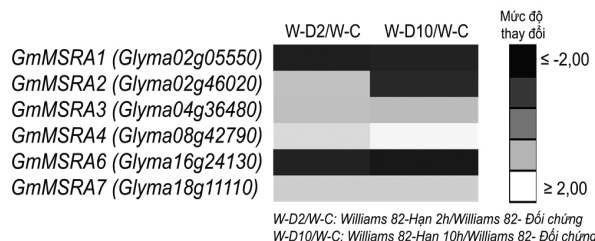
Hình 1. Sơ đồ minh họa cây phân loại và cấu trúc vùng bảo thủ cho họ gen mã hóa enzyme MSRA ở đậu tương và *Arabidopsis thaliana*

Tiếp theo, cấu trúc vùng bảo thủ của họ enzyme MSRA được tiến hành phân tích. Kiểm tra trình tự protein bằng công cụ Pfam, 7 thành viên của họ enzyme MSRA ở đậu tương đều chứa vùng bảo thủ PMSR (peptide methionine sulfoxide reductase, PF01625). Cấu trúc vùng bảo thủ của họ enzyme *GmMSRA* cũng cho thấy sự tách biệt rõ ràng giữa 2 nhóm (Hình 1). Tất cả các *GmMSRAs* trong nhóm 1 đều chứa gốc Cys có vai trò xúc tác và 2 gốc Cys có vai trò tái tạo, tương tự như trên *AtMSRA1/A2/A3/A4* trên *Arabidopsis thaliana* (Rouhier *et al.*, 2006). Trong khi đó, vùng bảo thủ của nhóm 2, bao gồm *GmMSRA1/A6* và *AtMSRA5* không có sự xuất hiện của gốc Cys xúc tác và 2 gốc Cys tái tạo đã đặt ra câu hỏi liệu rằng MSRA1 và MSRA6 ở đậu tương có hoạt tính khử MetO hay không. Vấn đề này sẽ tiếp tục được làm rõ trong các nghiên cứu về chức năng gen trong thời gian tới.

3.4. Kết quả đánh giá mức độ biểu hiện của *GmMSRA* trong điều kiện bất lợi

Dựa trên nghiên cứu đã công bố về mức độ

biểu hiện của các gen ở mẫu rễ của giống mô hình Williams 82 (W) trong điều kiện điều kiện hạn (Ha *et al.*, 2015) đã xác định được mức độ biểu hiện của 6 gen thành viên trong họ *GmMSRA*. Trong số đó, 2 gen *GmMSRA1/A6* và *GmMSRA4* lần lượt bị giảm và được tăng cường mức độ biểu hiện ở rễ trong điều kiện hạn, trong khi các gen còn lại hầu như ít có sự thay đổi (Hình 2).



Hình 2. Minh họa mức độ biểu hiện của 6 gen *GmMSRAs* ở mô rễ trong điều kiện hạn

Cấu trúc vùng bảo thủ của *GmMSRA1* và *GmMSRA6* không chứa 3 gốc Cys xúc tác và tái tạo (Hình 1) nên có thể không có hoạt tính khử MetO về Met, kết quả là 2 gen này bị giảm biểu hiện khi xử lý trong điều kiện hạn (Hình 2). Gen *GmMSRA4* được tăng cường biểu hiện khá mạnh ở rễ khi xử lý hạn, chứng tỏ *GmMSRA4* có thể được huy động để tham gia vào quá trình đáp ứng với hạn ở rễ. Để làm sáng tỏ hơn, nghiên cứu sẽ được tiếp tục tiến hành để xác định mức độ biểu hiện của các gen mã hóa MSRA ở đậu tương bằng phương pháp quantitative-realtime PCR.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Đã xác định được 7 thành viên trong họ gen *GmMSRA* ở đậu tương, trong số đó có 3 cặp gen lặp, lần lượt là *GmMSRA1/A6*, *GmMSRA2/A5* và *GmMSRA4/A7*. Dưới áp lực của chọn lọc tự nhiên, các đột biến điểm gây phát sinh gen mới có thể đã bị kìm hãm trong quá trình tiến hóa, hiện tượng lặp đoạn nhiễm sắc thể được cho là cơ chế phát sinh chủ yếu của họ gen mã hóa MSRA ở đậu tương.

- Đã phân loại được họ enzyme MSRA ở đậu tương thành 2 nhóm chính. Hầu hết các thành viên cùng nhánh trong cùng 1 nhóm có sự tương đồng nhau về các đặc tính, vị trí phân bố, vì vậy chúng có thể chia sẻ chung những chức năng trong tế bào.

- Đánh giá mức độ biểu hiện của một số gen *GmMSRAs* trong điều kiện bất lợi cho thấy, *GmMSRA1* và *GmMSRA6* bị kìm hãm mức độ biểu hiện trong khi biểu hiện của gen *GmMSRA4* được tăng cường ở rễ của giống mô hình Williams 82 trong điều kiện hạn. Các gen còn lại hầu như ít có sự thay đổi trong điều kiện hạn.

4.2. Đề nghị

Đề nghị tiếp tục triển khai nghiên cứu mức độ biểu hiện và xác định chức năng xúc tác của họ enzyme MSRA ở đậu tương nhằm đáp ứng với điều kiện bất lợi.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài của Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Việt Nam (NAFOSTED) mã số 106-NN.02-2013.46.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Dai, C., and Wang, M.H., 2012. Characterization and functional analysis of methionine sulfoxide reductase A gene family in tomato. *Molecular Biology Reports*, 39(5), 6297-6308.
- Emanuelsson, O., Brunak, S., von Heijne, G., and Nielsen, H., 2007. Locating proteins in the cell using TargetP, SignalP and related tools. *Nature Protocols*, 2(4), 953-971.
- Finn, R.D., Cigguk, P., Eberhardt, R.Y., Eddy, S.R., Mistry, J., Mitchell, A.L., Potter, S.C., Bateman, A., 2016. The Pfam protein families database: towards a more sustainable future. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), 279-285.
- Francino, M.P., 2005. An adaptive radiation model for the origin of new gene functions. *Nature Genetics*, 37(6), 573-577.
- Guo, X., Wu, Y., Wang, Y., Chen, Y., Chu, C., 2009. OsMSRA4.1 and OsMSRB1.1, two rice plastidial methionine sulfoxide reductases, are involved in abiotic stress responses. *Planta*, 230(1), 227-238.
- Ha, C.V., Watanabe, Y., Tran, U.T., Le, D.T., Tanaka, M., Nguyen, K.H., Seki, M., Nguyen, D.V., Tran, L.S., 2015. Comparative analysis of root transcriptomes from two contrasting drought-responsive Williams 82 and DT2008 soybean cultivars under normal and dehydration conditions. *Frontiers in Plant Science*, doi: 10.3389/fpls.2015.00551.
- Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Le, D.T., Tarragao, L., Watanabe, Y., Kaya, A., Lee B.C., Tran, U.T., Nishiyama, R., Fomenko, D.E., Gladyshev, V.N., Tran, L.S., 2013. Diversity of plant methionine sulfoxide reductases B and evolution of a form specific for free methionine sulfoxide. *PLoS One*, 8(6), e65637.
- Lee, T.H., Tang, H., Wang, X., and Paterson, A.H., 2013. PGDD: a database of gene and genome duplication in plants. *Nucleic Acids Research*, 41(Database issue), D1152-1158.
- Li, J., Zhang, Z., Vang, S., Yu, J., Wong, G., Wang, J., 2009. Correlation between Ka/Ks and Ks is related to substitution model and evolutionary lineage. *Journal of Molecular Evolution*, 68(4), 414-423.
- Librado, P., and Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Rouhier, N., Vieira Dos Santos, C., Tarrago, L., and Rey, P., 2006. Plant methionine sulfoxide reductase A and B multigenic families. *Photosynthesis Research*, 89(2-3), 247-262.
- Schmutz, J., Cannon, S., Schlueter, J., Ma, J., Mitros, T., Nelson, W., 2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, 463.
- Yang, Z., and Bielawski, J.P., 2000. Statistical methods for detecting molecular adaptation. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(12), 496-503.
- Zhu, J., Ding, P., Li, Q., Gao, Y., Chen, F., Xia, G., 2015. Molecular characterization and expression profile of methionine sulfoxide reductase gene family in maize (*Zea mays*) under abiotic stresses. *Gene*, 562(2), 159-168.

Identification of the members of the methionine-S-sulfoxide reductase family in soybean (*Glycine max*)

Chu Duc Ha, Nguyen Thi Kim Lien, Pham Thi Ly Thu, Le Tien Dung

Abstract

The oxidized forms of methionine, including Met-S-O and Met-R-O can be repaired by methionine-S-sulfoxide reductase (MSRA) and methionine-L-sulfoxide reductase (MSRB), respectively. Here, we reported the identification of 7 members of the MSRA gene family in soybean (*Glycine max*). Among them, 3 duplicated pairs (*GmMSRA1/A6*, *GmMSRA2/A5* and *GmMSRA4/A7*) were found. Our *in silico* analyses suggested that the expansion of MSRA gene family in soybean might be associated with multiple segmental duplication events. Next, GmMSRA family was phylogenetically classified into 2 distinguished groups, which differed essentially in characteristics and in the cysteine residues involved in catalysis and regeneration. Finally, the publicly microarray database revealed that the expressions of *GmMSRA1/A6* and *GmMSRA4* were repressed and induced in the root samples of Williams 82 soybean cultivar under drought stress, respectively.

Key words: Methionine oxidation, methionine-S-sulfoxide reductase, ROS, drought

Ngày nhận bài: 25/10/2016

Người phản biện: TS. Trần Danh Sĩ

Ngày phản biện: 30/10/2016

Ngày duyệt đăng: 2/11/2016

NGHIÊN CỨU ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ MỐI QUAN HỆ DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ CHỦNG NẤM SÒ MỎI (*Pleurotus sp.*)

Ngô Xuân Nghiênn¹, Nguyễn Bích Thùy¹, Trần Thu Hà²,
Khuất Hữu Trung², Phạm Thu Hương³, Trịnh Tam Kiệt³

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã đánh giá các đặc điểm hình thái và mối quan hệ di truyền của mười chủng nấm sò mới. Đã xác định được chủng P7 và Pcp là các chủng nấm sò triển vọng, có nhiều tính trạng ưu việt có thể sử dụng làm chủng thương phẩm. Sử dụng chỉ thị phân tử RAPD đã xác định được mối quan hệ di truyền giữa 10 chủng nấm sò nghiên cứu. Có thể chia các chủng nấm sò lại và nấm sò nhập nội thành 3 nhóm: Nhóm 1 gồm ba chủng P7, P8 và P12; nhóm 2 là chủng P1; Nhóm 3 gồm các chủng P9, P10, P11, P13, P_F và Pcp.

Từ khóa: Nấm sò lai, nấm sò nhập nội, RAPD, đặc điểm hình thái, mối quan hệ di truyền

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Do có chứa nhiều giá trị dinh dưỡng và giá trị dược liệu, nấm được sử dụng làm thực phẩm từ thời cổ đại (Manzi *et al.*, 2001). Với hiệu quả kinh tế và những ưu thế nhất định, ngành công nghiệp sản xuất nấm ăn ngày càng phát triển. Hiện nay, trên 80 loài trong tổng số hơn 2.000 loài nấm ăn được làm thực phẩm cho con người (Trịnh Tam Kiệt, 2013). Trong đó, nấm sò (*Pleurotus sp.*) là một trong những đối tượng được tiêu thụ nhiều nhất trên thế giới do dễ nuôi trồng, giá thành rẻ, có nhiều giá trị dinh dưỡng (Nguyễn Hữu Đông và cs., 2005). Tuy nhiên, các chủng nấm sò được nuôi trồng ở nước ta chưa có nhiều tính trạng ưu việt. Chính vì vậy cần có những chương trình chọn tạo giống để cho ra các chủng năng suất cao, thời gian sinh trưởng ngắn, không có hay có ít bào tử, chất lượng tốt, giá trị dinh dưỡng cao, kháng bệnh (Chakravarty, 2011).

Có khá nhiều phương pháp chọn tạo giống nấm gồm đột biến (sử dụng tia X, tia γ , hoặc các chất hóa học), lai, chuyển gen, dung hợp tế bào trần... đã

được biết đến (Chakravarty, 2011). Trong đó, lai và chuyển gen là hai phương pháp hiệu quả và hứa hẹn mang lại một triển vọng mới trong chọn tạo giống nấm (Fan *et al.*, 2006). Trong những năm gần đây ở Việt Nam, nấm sò lai đã được một số nhà khoa học nghiên cứu và đã đạt được những kết quả bước đầu.

Để đánh giá và khai thác hiệu quả các chủng nấm sò lai và các chủng nấm sò nhập nội cần phải có những thông tin về đặc trưng hình thái hệ sợi, quả thể, năng suất sinh học cũng như mối quan hệ di truyền giữa các chủng. Nghiên cứu này đã đánh giá đặc điểm hình thái và nghiên cứu mối quan hệ di truyền giữa các chủng nấm sò.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu đã sử dụng 10 chủng nấm sò do Trung tâm Công nghệ Sinh học Thực vật (nay là Trung tâm Nghiên cứu và phát triển Nấm) cung cấp, với các đặc điểm chính được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Danh sách các chủng nấm sử dụng trong nghiên cứu

TT	Tên chủng	Đặc điểm chính
1	P1	Chủng sò lai (A6 x B9)
2	P7	Chủng sò lai (A11 x B10)
3	P8	Sò tím nhạt, ít bào tử (nhập nội từ Đức)
4	P9	Nhập từ Trung tâm Nấm Châu Á Thái Bình Dương, Trung Quốc
5	P10	Nhập từ Trung tâm nấm, Tổng cục PTNT, Hàn Quốc
6	P11	FAO cung cấp
7	P12	Nhập từ Viện Khoa học Nông nghiệp Thượng Hải, Trung Quốc
8	P13	Nhập từ Nhật Bản
9	P _F	nấm sò trắng đang được nuôi trồng phổ biến ở Việt Nam
10	P _{CP}	Sò nâu (nhập nội từ Lào)

¹ Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam; ² Viện Di truyền Nông nghiệp

³ Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học - Đại học Quốc gia Hà Nội