

## 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: SĐK 3826 (Bi do), SĐK 3639 (Bi man), SĐK 3825 (Lang qua), SĐK9294 (Qua đeng), SĐK 6552 (Bi do), SĐK6741 (Bi tẻ), SĐK7560 (Cam qua), SĐK 15108 (Qua hanh), SĐK15129 (Mo luông), SĐK 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 Hiến<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

có hệ gen phiên mã được kích hoạt biểu hiện dưới tác động của stress mặn (Chandran, *et al.*, 2019; Li, *et al.*, 2018; Zhou, *et al.*, 2016; Zhu, *et al.*, 2019). Trên thực tế, phản ứng của cây lúa đối với stress mặn là sự phối hợp của nhiều gen và có khả năng tương tác với nhau thông qua các con đường dẫn truyền tín hiệu bởi các cấu phần khác nhau (Tuteja, 2007). Do đó, cho đến thời điểm này vẫn còn nhiều gen có tiềm năng giúp cây lúa chống chịu được stress mặn vẫn chưa được phát hiện.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã dùng RNA-seq để khám phá các biến thể phiên mã giữa hai giống lúa, bao gồm Nếp Mỡ (mẫn cảm với stress mặn (SS)), Trà Lòng 2 (chống chịu mặn (ST)) trong điều kiện kiểm soát và stress. Hệ gen phiên mã của các giống lúa Nếp Mỡ và Trà Lòng 2 xử lý mặn và không xử lý mặn ở giai đoạn mạ đã được giải trình tự và các gen mới/đồng dạng phiên mã khác nhau phản ứng với stress đã được xác định. Khác biệt ở các kiểu biểu hiện gen để đáp ứng với điều kiện stress mặn ở hai giống lúa cũng được phân tích. Việc phân loại chức năng của các gen biểu hiện khác biệt đã được thực hiện để dự đoán các con đường trao đổi chất khác nhau liên quan đến phản ứng stress mặn của lúa ở giai đoạn mạ. Nhìn chung, nghiên cứu này cung cấp một cái nhìn tổng quan toàn diện về sự phức tạp của hệ gen biểu hiện ở các giống lúa mẫn cảm với stress mặn và chịu được stress mặn ở giai đoạn cây con.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Theo nghiên cứu của Tam (2019) cho thấy Trà Lòng 2 là giống lúa có khả năng chống chịu mặn ở cấp độ trung bình. Trong nghiên cứu này giống Trà Lòng 2 (TL) là giống chống chịu mặn và giống Nếp Mỡ (NM) là giống mẫn cảm với mặn, cả hai giống được thu thập tại ĐBSCL và hiện đang lưu giữ tại ngân hàng gen, trường Đại học Cần Thơ.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Xử lý stress mặn

Hạt giống lúa TL và NM sau khi được lấy từ kho lạnh được để ở nhiệt độ phòng cho 24 giờ sau đó được ngâm bằng nước cất, ủ ở trong tối, và các hạt nảy mầm đồng đều được gieo trong khay nhựa. Để dùng cho nghiên cứu hệ gen biểu hiện giai đoạn sớm của cây con (RNA-seq), cây mạ 14 ngày tuổi được xử lý mặn ở nồng độ 100 mM NaCl và 0 mM NaCl (đối chứng) trong dung dịch dinh dưỡng Yoshida thời gian 12 giờ, sau đó toàn bộ phận của cây con (thân,

lá và rễ được rửa sạch) được thu hoạch và làm đông ngay lập tức trong niro lỏng, mẫu vật được tồn trữ ở -80°C.

#### 2.2.2. Tách chiết RNA, chuẩn bị thư viện cDNA và giải trình tự

RNA tổng số được tách chiết từ các mẫu xử lý bằng cách sử dụng bộ RNeasy<sup>®</sup> Plant Mini Kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Qiagen, Đức). Định lượng và chất lượng RNA được kiểm tra bằng Nanodrop (Thermo) và Bioanalyzer 2100 (Agilent) với RIN > 8,5  $\mu$ g RNA tổng số của mỗi mẫu được gửi đến công ty BGI để giải trình tự RNA-seq bằng hệ thống Illumina 2500 Hiseq. Theo quy trình, RNA đầu tiên được sử dụng nhiệt để tạo các mảnh. Sau đó, các cDNA sợi đầu tiên được tổng hợp bằng cách sử dụng oligo-dT đã được sửa đổi có chứa đoạn mỗi đặc biệt được gắn mã vào đầu 3'. Các cDNA đã chuẩn bị sau đó được khuếch đại bằng các mã vạch oligonucleotide cụ thể cho từng mẫu, sau đó được định lượng và tổng hợp lại trước khi giải trình tự. Trong nghiên cứu này, các mã vạch từ Illumina đã được sử dụng cho mục đích chuẩn bị thư viện được gộp lại để giải trình tự bằng giải trình tự thế hệ mới theo Illumina (Hiseq) khi đọc 1  $\times$  100 bp tại dịch vụ phân tích và giải trình tự gen BGI, Bắc Kinh, Trung Quốc.

#### 2.2.3. Phân tích hệ gen biểu hiện (transcriptome)

Sau khi dữ liệu giải trình tự được xuất từ máy, dữ liệu được tiến hành kiểm soát chất lượng và xử lý trước các lần đọc đầu cuối, ghép nối thô được thực hiện bằng công cụ fastp V0.20.0, một bộ tiền xử lý FASTQ cực nhanh (Chen, *et al.*, 2018). Các lần đọc hệ phiên mã được so sánh lên hệ gen tham chiếu Os-Nipponbare-Reference-IRGSP-1.0 mới nhất (Kawahara, *et al.*, 2013), được xây trên cơ sở dữ liệu cây trồng (Ensembl Plants website) (Bolser, *et al.*, 2016) sử dụng HISAT2 software V2.1.0 (Keel and Snelling, 2018; Kim, *et al.*, 2015), và những hệ gen biểu hiện được dò tìm trên hệ gen tham chiếu có chất lượng thấp (MAPQ < 30) được loại bỏ bằng phần mềm SAMtool kits (Li, *et al.*, 2009). Để nhận dạng biến thể, các bản sao đã được xóa khỏi tệp giống hàng bằng công cụ Picard V2.18.7 (<http://broadinstitute.github.io/picard/>) (Picard Toolkit, 2019). Tiếp tục phân tích hệ gen phiên mã, DESeq2 (Love, *et al.*, 2014) được sử dụng để tìm mức độ biểu hiện khác nhau ở các gen biểu hiện (DEG) khi so sánh giữa mẫu đối chứng (không xử lý mặn) và mẫu xử lý mặn. Trước đó, số lần gen biểu hiện

được tính bằng featureCounts (Liao *et al.*, 2014), được tính là mức biểu hiện ban đầu với 1 gen được định vị trên bộ gen (gtf) có sẵn trên web (<https://rapdb.dna.affrc.go.jp/download/irgsp1.html>) dùng cho phân tích này (Sakai, *et al.*, 2013). Các mức độ biểu hiện gen đã được tiêu chuẩn hóa bằng các cơ sở số lần đọc trên Kilo trên triệu lần đọc (RPKM). Ở bước này, những thay đổi lớn hơn 2 lần của mức độ biểu hiện có sự khác biệt có ý nghĩa ( $P < 0,05$ ) làm điều kiện để sàng lọc ý nghĩa của DEG giữa stress muối và mẫu đối chứng. Bước tiếp theo là các gen biểu hiện được phân nhóm theo chức năng của chúng (GO enrichment analysis), phương pháp Singular Enrichment Analysis (SEA) được thực hiện nhờ phần mềm AgriGO V.2, với các mặc định cài đặt hệ số FDR với hệ số giá trị  $p < 0,05$ , trong phân tích này các gen được nhận dạng dựa vào các ID của gen tham chiếu trên lúa được ghi nhận trên NCBI (Tian, *et al.*, 2017). Nhóm gen chức năng được xác định dựa vào phần mềm AgriGo V.2.

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

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 8 đến tháng 12 năm 2019 tại phòng thí nghiệm Di truyền và Chọn giống cây trồng, Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ.

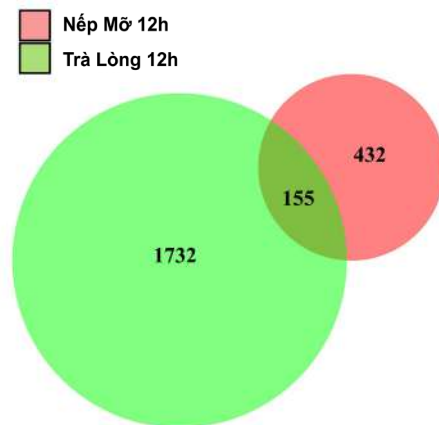
## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Nhận diện mức độ biểu hiện khác nhau của hệ gen của mẫu sau xử lý mặn bằng RNA-seq

Nhằm tìm hiểu cơ chế chống chịu stress mặn của các giống lúa chịu mặn mùa đại diện cho ĐBSCL ở cấp độ phân tử, kỹ thuật RNA-seq giải trình tự hệ gen biểu hiện ở giai đoạn cây mạ được thực hiện. Trong nghiên cứu này hệ thống giải trình tự thế hệ mới (NGS) Illumina Hiseq 2000 được sử dụng đã đọc được tổng số hệ gen biểu hiện từ 52.641.473 - 64.748.254 ở giống Trà Lòng 2, trong khi đó tổng số hệ gen được biểu hiện đọc được từ 65.736.921 - 66.836.598 ở Nếp. Ở phân tích này, bộ gen của giống Nipponbare được sử dụng làm hệ gen tham chiếu, trong đó hệ gen biểu hiện trong nghiên cứu này khi so với hệ gen tham chiếu thì số lần gen biểu hiện từ 58 triệu đến 60 triệu gen, trong khi đó số gen biểu hiện mà không tìm thấy được trong bộ gen tham chiếu từ 6 triệu đến 7 triệu gen.

Mức độ biểu hiện gen có thể được xác định từ dữ liệu trình tự Illumina đọc được dựa trên số lần đếm được ban đầu (Bloom, *et al.*, 2009). Khác biệt

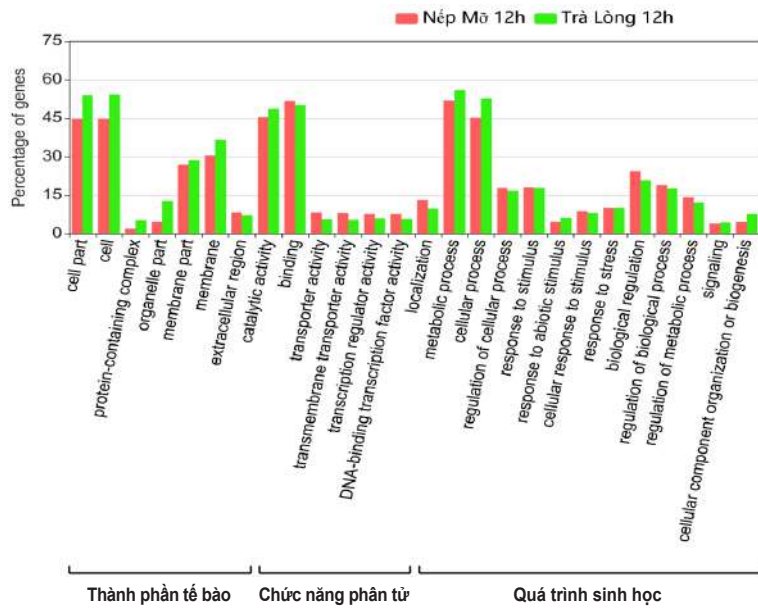
mức độ gen biểu hiện (DEG) được xác định trong các điều kiện kiểm soát và xử lý stress bằng muối để nhằm tìm ra sự khác biệt về hệ phiên mã khi so sánh giữa các giống mang kiểu chống chịu và mặn cảm ở 12 giờ sau khi xử lý muối NaCl ở nồng độ 100 mM. Nhìn chung, biểu đồ Venn cho thấy Trà Lòng 2 có 1.732 unigene biểu hiện khác biệt so với Nếp Mỡ chỉ có 432 unigene (Hình 1).



Hình 1. Biểu đồ Venn thể hiện unigene biểu hiện của giống TL và NM khi xử lý mặn 100 mM ở thời điểm 12 giờ

### 3.3. So sánh phân loại bản thể học gen (GO) của DEG trong 2 kiểu gen

Bản thể học (GO) là hệ gen tham chiếu đã được xếp vào cùng 1 nhóm chức năng, cùng một thuộc tính. Khi phân tích bản thể học gen (GO) chỉ chọn lọc các nhóm GO có ít nhất 3 gen biểu hiện trở lên và các gen đó phải có giá trị  $P < 0,05$  mới được xếp nhóm và so sánh giữa Trà Lòng 2 và Nếp Mỡ ở giai đoạn 12 giờ sau khi xử lý mặn, trong giai đoạn này hầu hết các GO đều được xếp vào trong 3 nhóm chính đó là thành phần tạo nên tế bào (cellular components), chức năng phân tử (molecular function) và quá trình sinh học (biological process). Nhìn chung tổng số gen biểu hiện ở ba nhóm chức năng của TL đều cao hơn NM khi gặp stress mặn, trong đó nhóm gen chức năng cấu phần tế bào, màng tế bào và nhóm gen mang chức năng phân tử nhóm gen có chức năng xúc tác các hoạt động và vai trò gắn kết các phân tử trong phản ứng hóa học được biểu hiện cao khi có tác động của stress mặn. Trong khi đó chức năng quá trình sinh học nhóm gen được biểu hiện chỉ tập trung vào quá trình chất sinh hóa và quá trình tế bào (Hình 2). Kết quả cũng phù hợp với báo cáo của Zagorchev và cộng tác viên (2014) cho rằng các gen liên quan đến cấu trúc của tế bào hoạt động mạnh khi cây trồng bị stress mặn.

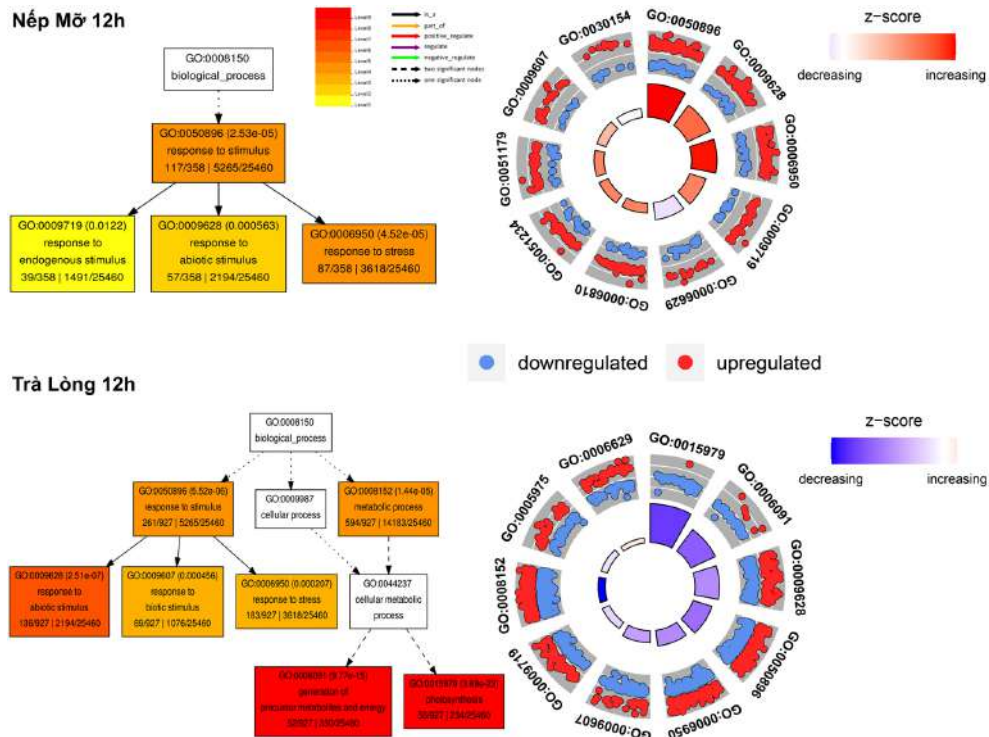


Hình 2. Nhóm gen biểu hiện được phân loại theo nhóm chức năng GO ở mẫu thí nghiệm

### 3.4. Phân tích chú giải bộ dữ liệu gen biểu hiện theo chức năng GO

Thêm vào đó, dựa vào nhóm unigene được phân nhóm chức năng, nhóm gen biểu hiện chức năng sinh học được phân tích mối liên kết đơn bằng phương pháp Singular Enrichment Analysis (SEA) được cung cấp bởi AgriGo V2 (Tian, *et al.*, 2017), phân tích này dựa vào bộ cơ sở dữ liệu 25.465 gen chức năng được công bố trên MSU Rice Genome

Annotation (Kawahara, *et al.*, 2013). Nhìn chung, cả TL và NM khi bị xử lý stress mặn đều biểu hiện nhóm gen chức năng liên quan đến quá trình sinh học tuy nhiên mức độ biểu hiện của hai kiểu gen khác nhau và liên quan đến chức năng phản ứng kích thích của stress (GO:0050896) và cuối cùng là đi đến nhóm gen phản ứng với stress (GO: 0006950) (Hình 3).



Hình 3. Phân tích Singular Enrichment Analysis (SEA) của TL và NM khi xử lý mặn ở nồng độ muối NaCl 100 mM và thời điểm 12 giờ sau khi xử lý

Riêng đối với TL khi phản ứng với stress mặn sớm ở giai đoạn 12 giờ sau xử lý đã có sự giảm biểu hiện trong nhóm gen liên quan đến các chu trình sinh hóa trong tế bào, sự biểu hiện giảm ở những tiền chất cho phản ứng sinh hóa và tổng hợp năng lượng (GO: 0006091), và quang hợp (GO: 0015979) (Hình 3). Sự giảm mức độ quang hợp khi cây trồng bị stress mặn cũng được tìm thấy trong nghiên cứu của Stepien and Johnson (2009). Qua kết quả phân tích cho thấy TL thể hiện tính chống chịu stress liên quan đến sự biểu hiện của gen *OsTPP1.16* được xếp vào nhóm GO: 0006950 thuộc nhóm tiến trình sinh học, mang chức năng phản ứng với stress (Hình 3), sự biểu hiện gen này khi cây lúa bị stress cũng được tìm thấy ở báo cáo trước đây (Ge, *et al.*, 2008), gen liên quan đến cơ chế thẩm thấu trong phản ứng chống chịu mặn (osmoprotection) và kết quả này cũng được tìm thấy ở các loại cây trồng khác (Muchate, *et al.*, 2016).

#### IV. KẾT LUẬN

Phản ứng của giống lúa TL khi gặp tác động của stress mặn ở giai đoạn sớm thì hầu hết nhóm gen biểu hiện đều liên quan đến chu trình sinh hóa trong tế bào, sự biểu hiện giảm ở những tiền chất cho phản ứng sinh hóa và tổng hợp năng lượng (GO: 0006091) và quang hợp (GO: 0015979); trong khi giống lúa NM thể hiện phản ứng lại stress mặn chủ yếu ở các gen liên quan đến quá trình sinh học. Đặc biệt, TL thể hiện rõ trong sự giảm biểu hiện ở gen *OsTPP1*, gen liên quan đến cơ chế thẩm thấu trong phản ứng chống chịu mặn.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi dự án Nâng cấp Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6 (vốn vay ODA từ chính phủ Nhật Bản). Chân thành cảm ơn GS. TS. Tetsuya Yamada đã chỉ dẫn phân tích số liệu và GS. TS. Yuji Kishima đã có những góp ý chân thành cho thí nghiệm.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bloom, J.S., Z. Khan, L. Kruglyak, M. Singh and A.A. Caudy, 2009. Measuring differential gene expression by short read sequencing: quantitative comparison to 2-channel gene expression microarrays. *BMC Genomics* 10: 221.

Bolser, D., D.M. Staines, E. Pritchard and P. Kersey, 2016. Ensembl Plants: Integrating Tools for Visualizing, Mining, and Analyzing Plant Genomics Data. In: D. Edwards, editor *Plant Bioinformatics: Methods and Protocols*. Springer New York, New York, NY. p. 115-140.

Chandran, A.K.N., J.-W. Kim, Y.-H. Yoo, H.L. Park, Y.-J. Kim, M.-H. Cho, K.H. Jung, 2019. Transcriptome analysis of rice-seedling roots under soil-salt stress using RNA-Seq method. *Plant Biotechnology Reports* 13: 567-578.

Chen, S., Y. Zhou, Y. Chen and J. Gu, 2018. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34: i884-i890.

Ge, L.F., D.Y. Chao, M. Shi, M.Z. Zhu, J.P. Gao, H.X. Lin, 2008. Overexpression of the trehalose-6-phosphate phosphatase gene *OsTPP1* confers stress tolerance in rice and results in the activation of stress responsive genes. *Planta* 228(1):191-201. doi: 10.1007/s00425-008-0729-x. Epub 2008 Mar 26. PMID: 18365248.

Hussain, S., J.-h. Zhang, C. Zhong, L.-f. Zhu, X.-c. Cao, S.-m. Yu, J.A.Bohr, J.J.Hu, Q.Y.Jin, 2017. Effects of salt stress on rice growth, development characteristics, and the regulating ways: A review. *Journal of Integrative Agriculture* 16: 2357-2374.

Kawahara, Y., M. de la Bastide, J.P. Hamilton, H. Kanamori, W.R. McCombie, S. Ouyang, et al., 2013. Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. *Rice* (New York, N.Y.) 6: 4-4.

Keel, B.N. and W.M. Snelling, 2018. Comparison of Burrows-Wheeler Transform-Based Mapping Algorithms Used in High-Throughput Whole-Genome Sequencing: Application to Illumina Data for Livestock Genomes. *Frontiers in genetics* 9: 35-35.

Kim, D., B. Langmead and S.L. Salzberg, 2015. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature methods* 12: 357-360.

Li, H., B. Handsaker, A. Wysoker, T. Fennell, J. Ruan, N. Homer, G. Marth, G. Abecasis, R. Durbin, 2009. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* (Oxford, England) 25: 2078-2079.

Li, Y.-F., Y. Zheng, L.R. Vemireddy, S.K. Panda, S. Jose, A. Ranjan, P. Panda, G. Govindan, J. Cui, K. Wei, M.W. Yaish, G.C. Naidoo, R. Sunkar, 2018. Comparative transcriptome and translome analysis in contrasting rice genotypes reveals differential mRNA translation in salt-tolerant Pokkali under salt stress. *BMC Genomics* 19: 935-935.

Liao, Y., G.K. Smyth and W. Shi, 2014. FeatureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics* (Oxford, England) 30: 923-930.

- Love, M.I., W. Huber and S. Anders, 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome biology* 15: 550-550.
- Majeed, A. and Z. Muhammad, 2019. Salinity: A Major Agricultural Problem-Causes, Impacts on Crop Productivity and Management Strategies. In: M. Hasanuzzaman, K. R. Hakeem, K. Nahar and H. F. Alharby, editors, *Plant Abiotic Stress Tolerance: Agronomic, Molecular and Biotechnological Approaches*. Springer International Publishing, Cham. p. 83-99.
- Muchate, N.S., G.C. Nikalje, N.S. Rajurkar, P. Suprasanna and T.D. Nikam, 2016. Plant Salt Stress: Adaptive Responses, Tolerance Mechanism and Bioengineering for Salt Tolerance. *The Botanical Review* 82: 371-406.
- Munns, R. and M. Tester, 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681.
- Picard Toolkit, 2019. GitHub Repository. Broad Institute. Available online at: <http://broadinstitute.github.io/picard/>
- Sakai, H., S.S. Lee, T. Tanaka, H. Numa, J. Kim, Y. Kawahara, H. Wakimoto, C.C. Yang, M. Iwamoto, T. Abe, Y. Yamada, A. Muto, H. Inokuchi, T. Ikemura, T. Matsumoto, T. Sasaki and T. Itoh, 2013. Rice Annotation Project Database (RAP-DB): an integrative and interactive database for rice genomics. *Plant Cell Physiol.*, 2013. Feb; 54(2):e6. doi: 10.1093/pcp/pcs183. Epub 2013 Jan 7. PMID: 23299411; PMCID: PMC3583025.
- Stepien, P. and G.N. Johnson, 2009. Contrasting responses of photosynthesis to salt stress in the glycophyte arabidopsis and the halophyte thellungiella: role of the plastid terminal oxidase as an alternative electron sink. *Plant Physiology* 149: 1154-1165.
- Tam, N.T., 2019. *The genome constitution of rice resources in the Mekong Delta and their association with salinity stress*. Hokkaido University.
- Tian, T., Y. Liu, H. Yan, Q. You, X. Yi, Z. Du, W. Xu, Z. Su, 2017. agriGO v2.0: a GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. *Nucleic Acids Research* 45: W122-W129.
- Tuteja, N., 2007. Abscisic acid and abiotic stress signaling. *Plant Signaling & Behavior* 2: 135-138.
- VNDMA, 2020. Báo cáo thống kê thiệt hại do thiên tai năm 2020. <http://phongchongthientai.mard.gov.vn/Pages/bang-thong-ke-thiet-hai-do-thien-tai-tu-dau-nam-2020-tinh-den-ngay-27-7-2020-.aspx>
- Zagorchev, L., P. Kamenova and M. Odjakova, 2014. The role of plant cell wall proteins in response to salt stress. *The Scientific World Journal* 2014: 764089. doi:10.1155/2014/764089.
- Zhou, Y., P. Yang, F. Cui, F. Zhang, X. Luo and J. Xie, 2016. Transcriptome analysis of salt stress responsiveness in the seedlings of dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *PLOS ONE* 11: e0146242. doi:10.1371/journal.pone.0146242.
- Zhu, M., H. Xie, X. Wei, K. Dossa, Y. Yu, S. Hui, G. Tang, X. Zeng, Y. Yu, P. Hu, J. Wang, 2019. WGCNA analysis of salt-responsive core transcriptome identifies novel hub genes in rice. *Genes* 10: 719.

## Transcriptome analysis of Tra Long 2 rice variety under salt stress at seedling stage

Huynh Ky, Van Quoc Giang, Nguyen Van Manh, Tran In Do, Nguyen Thanh Tam, Chung Truong Quoc Khang, Nguyen Chau Thanh Tung, Nguyen Loc Hien

### Abstract

In this study, Tra Long 2 variety was selected as salt tolerance genotype and Nep Mo represents as salt susceptible genotype. The experiment was carried out at 14 days old seedlings that were used to be treated with NaCl at 100 mM for 12 hours; after salt stress treatment, whole plants were collected; RNA was extracted and sequenced by using the Illumina Hiseq 2000 system. The results of transcriptome analysis indicated that 1732 uniquegenes were detected in Tra Long 2, while only 432 uniquegenes were found in Nep Mo. In comparison with the transcriptomes, the salt-tolerant variety showed down-regulated of photosynthesis (GO: 0015979), and generation of metabolites and energy (GO: 0006091). In which, the expression of OsTPP1 gene showed early response of Tra Long 2 variety under salt treatment. These results provide initial information of genes involved in the salinity stress response and can be used for further research.

**Keywords:** Rice, Tra Long 2 rice variety, transcriptome, salt tolerance

Ngày nhận bài: 04/01/2021  
Ngày phản biện: 12/01/2021

Người phản biện: TS. Trần Đình Giới  
Ngày duyệt đăng: 29/01/2021