

MỨC ĐỘ BIỂU HIỆN CỦA HỌ GEN MÃ HÓA *CaTCPs* Ở ĐẬU GÀ (*Cicer arietinum*) TRONG ĐIỀU KIỆN XỬ LÝ HẠN VÀ ABA

Trần Duy Cường¹, Trần Phan Lam Sơn²,
Nguyễn Hữu Kiên¹, Chu Đức Hà³, Trần Đăng Khánh^{1*}

TÓM TẮT

Hạn hán gây ảnh hưởng bất lợi đến quá trình sinh trưởng phát triển và năng suất của nhiều loại cây trồng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân tích mức độ biểu hiện của 23 gen *CaTCP* trong mẫu lá và rễ của cây đậu gà (*Cicer arietinum*) ở điều kiện mất nước và xử lý ABA tại các thời điểm khác nhau. Dựa vào kết quả RT-qPCR cho thấy, số lượng gen *CaTCP* có sự thay đổi mức độ biểu hiện trên mỗi giống đậu gà ILC482 và Hashem là khác nhau tùy thuộc vào loại mẫu mô lá hoặc rễ sau các thời gian xử lý khác nhau. Ngoài ra, kết quả phân tích biểu hiện gen trong mẫu lá và rễ của cả 2 giống đậu gà cho thấy các kiểu biểu hiện phản ứng với tình trạng mất nước khác nhau, có gen tăng cường biểu hiện và có gen giảm mức độ biểu hiện. Một điều quan trọng, nghiên cứu đã xác định được *CaTCP07* là một gen tăng cường biểu hiện tiềm năng trong cả 2 giống ILC482 và Hashem, từ đó có thể cung cấp cho ứng dụng trong các nghiên cứu tiếp theo nhằm tạo ra các giống cây trồng có khả năng chống chịu hạn.

Từ khóa: *CaTCP*, chịu hạn, đậu gà, điều kiện xử lý ABA, phân tích biểu hiện gen, yếu tố phiên mã

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hạn hán được xác định là yếu tố môi trường chính kìm hãm sự sinh trưởng và năng suất của thực vật. Các nghiên cứu trước đây đã đánh giá về cơ chế phân tử có liên quan đến khả năng điều khiển cây trồng đáp ứng với hạn hán (Jogaiah *et al.*, 2013). Trong đó, các yếu tố phiên mã (TF) đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa biểu hiện các gen mục tiêu, các protein TCP (được đặt tên theo bốn loại protein, cụ thể là TB1 (TEOSINTE BRANCHED 1) của ngô, CYC (CYCLOIDEA) của hoa mồm chó, và PCF1 và PCF2, có liên quan đến chức năng điều khiển các đáp ứng của thực vật trong điều kiện bất lợi từ môi trường (Shanker *et al.*, 2014).

Đậu gà (*Cicer arietinum* L.) là một cây thuộc họ đậu có giá trị dinh dưỡng được trồng nhiều ở các nước thuộc vùng Châu Á và Châu Phi, là nguồn cung cấp vi lượng, vitamin, protein và thực phẩm giàu carbohydrate chủ yếu cho con người và làm thức ăn chăn nuôi (Ha *et al.*, 2014). Tuy nhiên, hạn hán đã gây ra những ảnh hưởng bất lợi tới năng suất cây đậu gà trên toàn cầu, dẫn tới sự giảm sản lượng đáng kể. Do vậy, nghiên cứu, phát triển những giống đậu gà có khả năng chống chịu với điều kiện hạn

hán là việc làm cấp bách. Trong nghiên cứu trước chúng tôi đã sử dụng toàn bộ trình tự của hệ gen của cây đậu gà để tìm kiếm các gen *CaTCP* tiềm năng trong hệ gen của đậu gà. Trong tổng số 23 gen *CaTCP* được phát hiện trong trình tự của hai giống đậu gà “kabuli” và “desi” có một số gen *CaTCP* cho thấy liên quan tới hạn, dữ liệu này đã cung cấp thêm bằng chứng về việc điều khiển sự đáp ứng với hạn ở cây đậu gà (Tran *et al.*, 2018).

Mục đích của nghiên cứu này là tiến hành kiểm tra mức độ biểu hiện của nhóm gen *CaTCP* trong 2 giống đậu gà trái ngược về khả năng chống chịu hạn ở điều kiện xử lý mất nước và xử lý ABA sử dụng kỹ thuật RT-qPCR (real-time quantitative PCR). Thông qua việc phân tích, so sánh các đặc trưng biểu hiện các gen *CaTCP* ở cả lá và rễ của 02 giống đậu gà trong quá trình đáp ứng với mất nước và xử lý ABA đã cung cấp cơ sở khoa học về vai trò của các gen *CaTCP* trong quá trình chống chịu hạn trên cây đậu gà để có cách tiếp cận phù hợp trong chọn tạo giống cây trồng tăng cường khả năng chống chịu hạn.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

¹ Bộ môn Kỹ thuật Di truyền, Viện Di truyền Nông nghiệp

² Khoa Khoa học Đất và Thực vật, Viện Nghiên cứu Hệ gen của Cây trồng chống chịu Stress phi sinh học, Đại học Công nghệ Texas, Hoa Kỳ

³ Khoa Công nghệ Nông nghiệp, Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội

*Tác giả liên hệ, e-mail: tdkhanh@vaas.vn

Hạt của hai giống đậu gà: Hashem (nhạy cảm với hạn) và ILC482 (chịu hạn tốt) được nhận từ Trung tâm quốc gia nghiên cứu về nông nghiệp ở các vùng khô hạn, Syria [International Center for Agricultural Research in the Dry Area (ICARDA), Syria]. Khả năng chống chịu hạn của chúng được chứng minh qua việc so sánh về các chỉ số chống chịu bất lợi (stress tolerance index, STI) và năng suất trung bình (geometric mean productivity, GMP) thu được từ nghiên cứu ngoài đồng ruộng dưới điều kiện tưới nước đầy đủ và nước mưa (điều kiện hạn) (Rozrokh *et al.*, 2013).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Trồng, xử lý và thu mẫu

Hạt của hai giống Hashem và ILC482 được trồng trong các chậu đất dinh dưỡng, sau đó được chăm sóc và sinh trưởng trong điều kiện nhà kính (nhiệt độ 30°C, chu kì quang 12 giờ chiếu sáng/12 giờ tối, cường độ chiếu sáng 150 mmol m⁻²s⁻¹ đơn vị chiếu sáng, độ ẩm phòng 60% được mô tả như ở nghiên cứu trước đây (Ha *et al.*, 2014). Cây đậu gà được trồng trong điều kiện bình thường trong 9 ngày, sau đó được sử dụng cho thí nghiệm bao gồm xử lý mất nước, xử lý ABA và trong điều kiện có nước đầy đủ.

Cụ thể, cây đậu gà 9 ngày tuổi được loại bỏ hoàn toàn đất bám trên rễ một cách cẩn thận tránh làm đứt rễ. Để xử lý mất nước, cây đậu gà được đặt cố định trên giấy thấm Kim Towel và để khô 5 giờ trong điều kiện phòng. Đối với xử lý ABA, phần rễ được ngâm tiếp xúc trong nước có chứa 100 mM ABA trong 5 giờ. Tại các thời điểm 2 giờ và 5 giờ sau khi xử lý mẫu, các mẫu rễ và mẫu lá của chúng được thu thập một cách riêng biệt (3 lần lặp lại/mỗi xử lý/giống).

2.2.2. Tách chiết RNA, xử lý DNaseI, và tổng hợp cDNA

RNA tổng số được tinh sạch từ các mẫu lá và rễ sử dụng hệ thống RNeasy Plant Mini Kit and QIAcube như hướng dẫn của nhà sản xuất. Kiểm tra nồng độ RNA, xử lý DNaseI, tổng hợp cDNA cho RT-qPCR được tiến hành như phương pháp được mô tả trong bài (Le *et al.*, 2011).

2.2.3. Đánh giá mức độ biểu hiện của các gen bằng kỹ thuật RT-qPCR

Các trình tự mỗi đặc hiệu được thiết kế dựa theo bài báo của Tran *et al.* (2018) (Bảng 1) được sử dụng trong phân tích RT-qPCR để đánh giá mức độ biểu hiện của 23 gen *CaTCP* liên quan đến các điều kiện xử lý khác nhau.

Bảng 1. Trình tự các cặp mỗi *CaTCP* và gen tham chiếu *IF4a* sử dụng trong phân tích RT-qPCR

STT	Tên gen	Mỗi xuôi	Mỗi ngược
1	<i>CaTCP01</i>	TTTTGCATCAGTTGCAGAGG	GCAAACGAGCATCAAAGACA
2	<i>CaTCP02</i>	CCGATGGAAACTTCGTCAGT	ACATGGCTCTCATCCTCACC
3	<i>CaTCP03</i>	CAACGAAAGTGGTGGTGATG	GCTGTCCGGTATCATATT
4	<i>CaTCP04</i>	CATGGAATTCCGGTGCTACT	GACGGTGTAGCTGCATGAAA
5	<i>CaTCP05</i>	GCCTTTGGGGGAAAAGATAG	TTTGAAGTGGTGGAAGCTCA
6	<i>CaTCP06</i>	TAACGGTTCATGGCAACCAA	CGACGATGCCAGAACCTAAT
7	<i>CaTCP07</i>	AGGGTTAGCACCAATTGCAC	GCATTTGAACCACCGCTACT
8	<i>CaTCP08</i>	TCCGATCCCAATTCACAAAT	TTCACGCGTAAGCTGGAATA
9	<i>CaTCP09</i>	ACGCCGTAACCGTCACTAAC	AAGCCATTCGATGGTTTGAC
10	<i>CaTCP10</i>	ACCTCCACCGGAAGTTCTTT	GGACAATGAAGCCAGCAAAT
11	<i>CaTCP11</i>	CGTCAGCACCTTGTTCAACT	TTGCGAGATTTTGTTGATGG
12	<i>CaTCP12</i>	CAATGGGGAGGTAATTCCAA	GACAACATTGGTGGCAAAGA
13	<i>CaTCP13</i>	GGGCCTTGCTGGTTACAATA	AGAAGCACCTCCTCCTCCTC
14	<i>CaTCP14</i>	CAAAGCAGTTGATTGGCTCA	TTGATCCTGCAGCAACATTC
15	<i>CaTCP15</i>	TGTTTTCCACCCTCACCTTT	TGTCGATCTCTTTGCTGGA
16	<i>CaTCP16</i>	CAGCGACAAAACCTCCCATTT	GCTAAGGATGGGTACGGTGA
17	<i>CaTCP17</i>	ATCGGAGGAGGAGAAATCGT	AGAATTGGATAGCGGTGTGG
18	<i>CaTCP18</i>	CATACCATCAAACGCAGTCG	AGCGGAGATTGGTCTTGCTA
19	<i>CaTCP19</i>	TTGAACTCATCGTCGTCGTC	AAGGCGTCTAAAAGGCGAAT
20	<i>CaTCP20</i>	CGGATTGTGAAGTTGTTTCG	GCTCTTGCTTTCTCCCTTGA
21	<i>CaTCP21</i>	AGGATGCCAGCTTTATGTGC	GGCTGCTATGATGGATGGTT
22	<i>CaTCP22</i>	CCCACAAGGCTTTTCACAAT	TCCCAAACTTTGACCTTGC
23	<i>CaTCP23</i>	CAAATAAACTAGGGTTTCTCCA	GAAGAGGCATTTTCAGGGGTA
24	<i>IF-4a</i>	TGGACCAGAACACTAGGGACATT	AAACACGGGAAGACCCAGAA

Các thông tin về phản ứng RT-qPCR được mô tả chi tiết trong bài (Le *et al.*, 2011). Hệ thống máy Stratagen MX3000P system (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) được sử dụng để chạy các phản ứng RT-qPCR, theo chu trình: 95°C trong 1 phút; 40 chu kỳ ở 95°C 15 giây và ở 60°C 1 phút. Sau chu kỳ PCR cuối, đường cong nóng chảy thu được từ hồ sơ nhiệt ở 95°C trong 1 phút bởi một hằng số tăng giữa 55 và 95°C. Gen *IF4a* được sử dụng như là gen tham chiếu dựa vào bài báo đã được công bố (Tran *et al.*, 2018), và phương pháp $2^{-\Delta\Delta Ct}$ được sử dụng trong phân tích dữ liệu của RT-qPCR (Le *et al.*, 2012). Ý nghĩa thống kê của các mức độ biểu hiện khác nhau trong cùng một giống hoặc giữa hai giống trong cùng điều kiện bình thường và xử lý hạn được xác định bằng phương pháp Student's *t*-test (one tail, unpaired, equal variance). Một gen được xác định liên quan đến hạn nếu giá trị fold-change ≥ 2 ($P < 0,05$) ở ít nhất một thời điểm trong điều kiện xử lý hạn. Đối với việc so sánh các mức độ biểu hiện của các gen *CaTCP* giữa hai giống tăng khả năng chống chịu hạn ILC482 và giống chịu hạn kém Hashem, tỷ lệ biểu hiện khác nhau khi giá trị fold-change ít nhất bằng 2 ($P < 0.05$) được xác định là có ý nghĩa.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ năm 2020 đến năm 2021 tại Trung tâm Phát triển bền vững nguồn Khoa học (RIKEN), Nhật Bản.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá biểu hiện của các gen *CaTCP* trong lá và rễ của giống chịu hạn ILC482 và giống nhạy cảm với hạn hán Hashem trong điều kiện mất nước

Để nghiên cứu rõ hơn về những đóng góp của các gen *CaTCP* đối với khả năng chịu hạn trên cây đậu gà, đồng thời tìm ra các gen tiềm năng phục vụ cho nghiên cứu chức năng chi tiết hơn sau này, các giống đậu gà chịu hạn ILC482 và giống Hashem nhạy cảm với hạn hán được lựa chọn để đánh giá mức độ biểu hiện của chúng trong điều kiện mất nước.

Dựa trên kết quả RT-qPCR có được sau khi kiểm tra sự biểu hiện của 23 gen *CaTCP* ở cả lá và rễ trên hai giống đậu gà Hashem và ILC482 tại các thời điểm xử lý hạn sau 2 giờ và sau 5 giờ nhận thấy rằng, có nhiều gen *CaTCP* cho thấy sự thay đổi mức độ biểu hiện tăng hoặc giảm tại các thời điểm 2 giờ hoặc 5 giờ sau khi bắt đầu xử lý mất nước.

3.1.1. Sự biểu hiện của các gen *CaTCP* ở lá trong điều kiện mất nước

Khi đánh giá sự biểu hiện của các gen *CaTCP* ở trong lá của 2 giống đậu gà ILC482 và Hashem sau khi xử lý mất nước (Bảng 2) cho thấy, một số gen *CaTCP* có sự thay đổi mức độ biểu hiện chỉ ở giống ILC482 hoặc Hashem, tuy nhiên cũng có một số gen cùng lúc thay đổi trên cả 2 giống. Cụ thể, tại thời điểm 2 giờ sau khi xử lý mất nước chỉ có 1 gen *CaTCP07* tăng mức độ biểu hiện ở giống ILC482, nhưng có 3 gen *CaTCP* thay đổi ở giống Hashem gồm có 2 gen tăng mức độ biểu hiện (*CaTCP07* và 14) và 1 gen giảm biểu hiện là *CaTCP15*. Trong đó, gen *CaTCP07* tăng biểu hiện ở cả 2 giống ILC482 và Hashem tại thời điểm 2 giờ sau khi xử lý mất nước ở lá. Tại thời điểm 5 giờ sau khi xử lý mất nước ở lá, có 2 gen (*CaTCP07* và 14) tăng và 7 gen (*CaTCP05*, 09, 10, 13, 15, 17 và 18) giảm mức độ biểu hiện ở giống ILC482; trong khi đó, giống Hashem có 1 gen *CaTCP7* tăng và 11 gen (*CaTCP05*, 06, 09, 10, 13, 15, 16, 17, 18, 19, và 23) giảm mức độ biểu hiện. Khi đánh giá biểu hiện của các gen *CaTCP* ở trong cùng cả 2 giống tại thời điểm 5 giờ, chúng tôi ghi nhận có 7 gen (*CaTCP05*, 09, 10, 13, 15, 17, 18) là giảm biểu hiện ở cả 2 giống ILC482 và Hashem. Qua kết quả đánh giá biểu hiện của các gen *CaTCP* ở trong lá của cả 2 giống đậu gà ILC482 và Hashem sau 2 và 5 giờ xử lý mất nước, chúng tôi ghi nhận có 1 gen *CaTCP07* biểu hiện mạnh ở cả 2 giống tại các thời điểm xử lý mất nước.

3.1.2. Sự biểu hiện của các gen *CaTCP* ở rễ trong điều kiện mất nước

Trong khi đánh giá sự biểu hiện của các gen *CaTCP* ở trong rễ của 2 giống đậu gà ILC482 và Hashem sau khi xử lý mất nước (Bảng 2) cũng cho thấy một số gen *CaTCP* có sự thay đổi mức độ biểu hiện chỉ ở giống ILC482 hoặc Hashem, một số gen thay đổi đồng thời trên cả 2 giống.

Cụ thể, tại thời điểm 2 giờ sau khi xử lý mất nước có 5 gen (*CaTCP07*, 12, 13, 19 và 20) tăng và 2 gen (*CaTCP05* và 17) giảm mức độ biểu hiện ở trong lá của giống ILC482, nhưng ở giống Hashem có 6 gen (*CaTCP07*, 12, 13, 15, 19 và 22) tăng và 1 gen *CaTCP05* giảm biểu hiện. Trong số các gen này, có 4 gen (*CaTCP07*, 12, 13 và 14) cùng tăng và 1 gen *CaTCP05* cùng giảm biểu hiện ở trong rễ của cả 2 giống ILC482 và Hashem sau 2 giờ xử lý mất nước (Bảng 2).

Bảng 2. Mức độ biểu hiện của các gen *CaTCP* ở lá và rễ trong hai giống đậu gà ILC482 và Hashem trong điều kiện xử lý mất nước tại các thời điểm 2 giờ và 5 giờ

Gene	Điều hoà biểu hiện gen khi xử lý mất nước ở lá của từng giống								Điều hoà biểu hiện gen khi xử lý mất nước ở rễ của từng giống							
	Sau 2 giờ				Sau 5 giờ				Sau 2 giờ				Sau 5 giờ			
	ILC482	P-value	Hashem	P-value	ILC482	P-value	Hashem	P-value	ILC482	P-value	Hashem	P-value	ILC482	P-value	Hashem	P-value
<i>CaTCP01</i>	-1,08	0,10811	-1,04	0,28704	1,30	0,28268	-1,83	0,00721	-1,41	0,060124	-1,29	0,11955	-1,73	0,0317	-1,84	0,03337
<i>CaTCP02</i>	-1,23	0,21367	-1,13	0,13767	-1,11	0,26362	-1,05	0,30421	-1,92	0,067638	-1,11	0,29323	1,43	0,3214	1,31	0,04558
<i>CaTCP03</i>	-1,39	0,04663	1,04	0,36490	1,28	0,11289	-1,21	0,24237	1,03	0,387398	-1,24	0,11595	-1,09	0,06625	-2,22	0,00458
<i>CaTCP04</i>	-1,25	0,21806	-1,45	0,01680	0,84	0,07454	0,81	0,01837	-1,11	0,269041	-1,84	0,00521	-2,81	0,01211	-1,85	0,00714
<i>CaTCP05</i>	-1,39	0,12673	-1,84	0,01514	-5,12	0,00245	-4,58	0,00239	-4,04	4,35E-06	-4,58	0,00030	-7,24	0,00145	-6,74	0,00001
<i>CaTCP06</i>	-1,27	0,01467	-1,08	0,24333	-1,38	0,00566	-2,47	0,00080	1,19	0,010259	-1,03	0,37387	1,01	0,46257	1,08	0,20113
<i>CaTCP07</i>	9,76	0,01128	9,85	0,00143	8,21	0,01054	4,71	0,01984	4,83	0,004535	4,82	0,00277	12,18	0,00098	8,21	0,00021
<i>CaTCP08</i>	-1,42	0,06476	1,07	0,31899	-1,96	0,00473	-1,73	0,00068	1,45	0,359222	1,17	0,13442	1,17	0,05949	-1,07	0,12193
<i>CaTCP09</i>	-1,49	0,02540	-1,16	0,00079	-6,36	0,00131	-5,72	0,00169	-1,05	0,161168	1,03	0,26370	-1,46	0,00075	-1,62	0,00016
<i>CaTCP10</i>	-1,28	0,18000	-1,40	0,00020	-3,61	0,00758	-5,18	0,00118	1,07	0,281203	-1,17	0,00308	-1,13	0,1035	-1,91	0,00045
<i>CaTCP11</i>	1,42	0,12231	1,92	0,02469	1,62	0,02951	1,37	0,10921	1,53	0,061687	1,73	0,09118	2,16	0,03023	4,72	0,01110
<i>CaTCP12</i>	-1,46	0,00496	1,15	0,14312	-1,15	0,20250	-1,05	0,15896	2,18	0,058595	2,86	0,00351	2,37	0,00763	5,06	0,00117
<i>CaTCP13</i>	1,10	0,36717	-1,14	0,27139	-2,53	0,00321	-2,18	0,01819	2,50	0,002664	2,73	0,03093	2,93	0,00087	4,07	0,00437
<i>CaTCP14</i>	1,87	0,03415	2,88	0,00318	3,29	0,00070	1,88	0,01924	-1,13	0,293873	1,93	0,02678	13,52	3,5E-03	3,99	0,00123
<i>CaTCP15</i>	-1,64	0,03847	-2,14	0,02791	-9,19	0,000894	-15,53	0,00459	1,47	0,239839	3,88	0,00863	3,81	0,02797	4,38	0,00920
<i>CaTCP16</i>	-1,39	0,04832	-1,19	0,18268	-1,08	0,37105	-3,09	0,00061	-1,57	0,04225	-1,03	0,37643	-1,23	0,1287	-1,38	0,01388
<i>CaTCP17</i>	-1,58	0,01203	-1,01	0,49143	-3,71	0,01889	-9,71	0,00021	-2,66	0,000151	-1,65	0,00293	-1,42	0,02868	-2,54	0,00068
<i>CaTCP18</i>	-1,04	0,44329	-1,57	0,09546	-4,87	0,00024	-9,67	0,00535	-1,58	0,011073	-1,28	0,08521	-2,24	0,00083	-2,09	0,00463
<i>CaTCP19</i>	1,05	0,36569	-1,14	0,27139	-1,88	0,01392	-2,18	0,01819	2,91	0,031861	2,73	0,03093	3,49	0,00396	4,07	0,00437
<i>CaTCP20</i>	1,16	0,22216	1,44	0,05503	0,98	0,44547	-1,01	0,42635	2,76	0,026841	1,42	0,25699	3,06	0,00044	2,19	0,00930
<i>CaTCP21</i>	-1,63	0,19071	-1,39	0,02838	-1,30	0,23107	-1,22	0,15712	-1,11	0,49424	-1,13	0,15147	-1,18	0,27518	-1,30	0,07784
<i>CaTCP22</i>	-1,38	0,09265	1,19	0,14287	1,14	0,33628	-1,05	0,30757	1,00	0,477661	2,85	0,00084	2,87	0,00021	2,80	0,00630
<i>CaTCP23</i>	-2,99	0,19099	-1,52	0,03447	-1,62	0,15028	-2,75	0,04605	1,52	0,3157	1,05	0,47692	2,80	0,02576	3,18	0,00155

Ghi chú: Giá trị màu đỏ/xanh biểu thị sự tăng/giảm mức độ biểu hiện của các gen trong điều kiện xử lý mất nước, thoả mãn điều kiện mức độ biểu hiện $^3|2|$ và $P < 0,05$.

Khi quan sát thời điểm 5 giờ sau khi xử lý mất nước ở rễ, chúng tôi ghi nhận có 13 gen thay đổi biểu hiện ở giống ILC482 trong đó có 10 gen tăng và 3 gen giảm, trong khi đó có 14 gen thay đổi ở giống Hashem cũng có 10 gen tăng nhưng có 4 gen giảm. Hơn nữa, khi phân tích biểu hiện ở cả 2 giống chúng tôi nhận thấy tất cả 10 gen này (*CaTCP07*, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 20, 22, và 23) cùng tăng sự biểu hiện nhưng chỉ 2 gen (*CaTCP05* và 18) cùng giảm ở rễ của cả 2 giống ILC482 và Hashem sau 5 giờ mất nước. Kết quả phân tích biểu hiện ở rễ của cả 2 giống sau 2 và 5 giờ xử lý mất nước, cho thấy gen *CaTCP07* đều tăng mức độ biểu hiện (Bảng 2). Qua kết quả đánh giá biểu

hiện các gen *CaTCP* ở lá và rễ của cả 2 giống đậu gà ILC482 chịu hạn tốt và Hashem nhạy cảm với hạn sau khi xử lý mất nước ở các thời điểm, chúng tôi thấy gen *CaTCP07* là một gen tăng cường biểu hiện tiềm năng cho nghiên cứu chức năng sâu hơn.

3.2. Đánh giá biểu hiện của các gen *CaTCP* trong lá và rễ của giống chịu hạn ILC482 và giống nhạy cảm với hạn hán Hashem trong điều kiện xử lý ABA

3.2.1. Sự biểu hiện của các gen *CaTCP* ở lá trong điều kiện xử lý ABA

Khi phân tích sự biểu hiện của các gen *CaTCP* ở trong lá của 2 giống đậu gà ILC482 và Hashem sau khi xử lý với ABA ở các thời điểm (Bảng 3).

Bảng 3. Mức độ biểu hiện của các gen *CaTCP* ở lá và rễ trong hai giống đậu gà ILC482 và Hashem trong điều kiện xử lý ABA tại các thời điểm 2 giờ và 5 giờ

Gene	Điều hoà biểu hiện gen khi xử lý ABA ở mẫu lá của mỗi giống								Điều hoà biểu hiện gen khi xử lý ABA ở mẫu rễ của mỗi giống							
	Sau 2 giờ				Sau 5 giờ				Sau 2 giờ				Sau 5 giờ			
	ILC482	P-value	Hashem	P-value	ILC482	P-value	Hashem	P-value	ILC482	P-value	Hashem	P-value	ILC482	P-value	Hashem	P-value
<i>CaTCP01</i>	1,10	0,06240	1,21	0,01343	3,08	0,00319	1,50	0,00976	1,20	0,20238	1,37	0,08728	1,27	0,21863	2,93	0,00851
<i>CaTCP02</i>	-1,57	0,12737	-1,53	0,01218	-1,06	0,27676	-1,68	0,01039	-1,38	0,13398	-1,84	0,01203	-1,02	0,24373	-1,04	0,41462
<i>CaTCP03</i>	1,38	0,05502	1,91	0,00962	1,86	0,00823	1,55	0,03328	1,37	0,03272	1,22	0,04684	1,26	0,05503	1,08	0,28849
<i>CaTCP04</i>	1,28	0,00486	1,03	0,40511	1,19	0,05814	-1,07	0,12393	-1,33	0,16789	-1,19	0,17172	-1,19	0,19506	-1,39	0,01313
<i>CaTCP05</i>	-1,62	0,07283	-1,97	0,01202	-1,61	0,02919	-1,73	0,01264	-6,48	0,00000	-3,32	0,00055	-2,82	0,00474	-2,69	0,00023
<i>CaTCP06</i>	1,90	0,46767	1,14	0,15681	1,81	0,00028	1,51	0,00237	-1,67	0,00114	-1,26	0,01275	-1,15	0,14404	-1,67	0,00454
<i>CaTCP07</i>	4,16	0,00081	2,22	0,00744	5,91	0,00009	3,86	0,00012	5,07	0,00007	4,57	0,00000	9,32	0,00083	5,66	0,00009
<i>CaTCP08</i>	1,87	0,03028	-1,25	0,12542	1,46	0,04271	1,38	0,01055	2,21	0,46442	1,25	0,03136	2,03	0,00480	1,14	0,13332
<i>CaTCP09</i>	1,60	0,00071	1,95	0,00029	1,14	0,21334	1,35	0,14225	-1,10	0,29933	1,16	0,00736	-1,54	0,00002	-1,07	0,04815
<i>CaTCP10</i>	1,37	0,01961	1,59	0,01310	1,53	0,06107	1,27	0,20284	1,18	0,21688	1,09	0,05111	-1,45	0,01990	-1,03	0,41616
<i>CaTCP11</i>	1,30	0,18529	1,05	0,49804	1,87	0,01179	1,02	0,48452	1,33	0,12306	0,69	0,15341	1,01	0,43373	1,05	0,34475
<i>CaTCP12</i>	-1,35	0,02566	1,24	0,10001	1,19	0,16324	1,09	0,00062	1,77	0,10738	1,35	0,12445	1,37	0,02141	1,81	0,00171
<i>CaTCP13</i>	1,01	0,46180	-1,02	0,39948	-1,23	0,12723	-1,31	0,16373	3,22	0,10464	2,14	0,05408	2,71	0,00639	3,15	0,00529
<i>CaTCP14</i>	2,45	0,00132	2,80	0,02091	3,21	0,00729	1,39	0,03495	-1,93	0,18908	1,08	0,42729	3,10	0,01160	-1,24	0,16099
<i>CaTCP15</i>	1,10	0,34522	1,52	0,10733	2,10	0,00884	2,04	0,03767	-2,91	0,07156	1,62	0,17686	-1,46	0,21924	-2,17	0,00157
<i>CaTCP16</i>	-2,25	0,00541	-2,09	0,01633	-1,08	0,32822	-1,72	0,01164	-1,14	0,17681	-1,11	0,04696	2,00	0,01489	1,07	0,29241
<i>CaTCP17</i>	-1,34	0,03813	1,16	0,18000	-1,39	0,13376	-2,17	0,02245	-2,06	0,00180	-1,09	0,15523	1,04	0,40778	-1,35	0,00777
<i>CaTCP18</i>	-1,18	0,01425	-1,42	0,14517	-1,30	0,07215	-2,06	0,05513	4,78	0,00009	2,52	0,00004	3,80	0,00068	3,05	0,00274
<i>CaTCP19</i>	1,08	0,29321	-1,02	0,12420	-1,26	0,39948	-1,31	0,16373	1,99	0,00310	2,14	0,05408	3,17	0,01821	3,15	0,00529
<i>CaTCP20</i>	1,04	0,36791	1,10	0,30024	-1,10	0,26210	-1,13	0,38244	2,61	0,00226	1,78	0,10437	3,20	0,03762	2,65	0,06146
<i>CaTCP21</i>	1,21	0,46949	1,24	0,14669	1,39	0,22036	1,25	0,25627	-1,33	0,26597	-1,19	0,06247	-1,19	0,28897	-1,23	0,10146
<i>CaTCP22</i>	1,14	0,25592	1,32	0,06591	1,08	0,42297	1,03	0,43277	1,60	0,03174	1,77	0,00193	1,20	0,22571	1,98	0,05464
<i>CaTCP23</i>	1,53	0,21335	1,25	0,19718	1,64	0,49642	-1,05	0,36052	-1,55	0,15415	-1,26	0,29709	1,03	0,41885	1,00	0,49638

Ghi chú: Giá trị màu đỏ/xanh biểu thị sự tăng/giảm mức độ biểu hiện của các gen trong điều kiện xử lý ABA, thoả mãn điều kiện mức độ biểu hiện $^3|2|$ và $P < 0,05$.

Kết quả cho thấy, chỉ có ít gen thay đổi mức độ biểu hiện đáng kể trong điều kiện xử lý ABA. Cụ thể, tại thời điểm 2 giờ sau khi xử lý ABA, có 2 gen (*CaTCP07* và *14*) cùng tăng và 1 gen *CaTCP15* cùng giảm mức độ biểu hiện ở cả lá của 2 giống ILC482 và Hashem. Tại thời điểm 5 giờ, có 4 gen (*CaTCP01*, *07*, *14* và *15*) tăng mức độ biểu hiện ở lá của giống ILC482, nhưng chỉ có 2 gen (*CaTCP07* và *15*) tăng và 1 gen *CaTCP17* giảm mức độ biểu hiện ở lá của Hashem. Tại thời điểm này chúng tôi ghi nhận có 2 gen (*CaTCP07* và *15*) tăng biểu hiện ở cả 2 giống ILC482 và Hashem. Khi quan sát ở cả 2 thời điểm, thì chỉ có 1 gen *CaTCP07* tăng mức độ biểu hiện ở lá của cả 2 giống tại 2 và 5 giờ sau khi xử lý ABA.

3.2.2. Sự biểu hiện của các gen *CaTCP* ở rễ trong điều kiện xử lý ABA

Trong khi quan sát sự biểu hiện của các gen *CaTCP* ở rễ của cả 2 giống ILC482 và Hashem sau khi xử lý ABA ở các thời điểm (Bảng 3) chúng tôi nhận thấy, có nhiều gen *CaTCP* thay đổi biểu hiện ở rễ so với lá của cả 2 giống. Cụ thể, có 5 gen thay đổi mức độ biểu hiện trong rễ của giống ILC482 ở thời điểm 2 giờ sau khi xử lý ABA, gồm có 3 gen (*CaTCP07*, *18* và *20*) tăng và 2 gen (*CaTCP05* và *17*) giảm mức độ biểu hiện; tuy nhiên ở giống Hashem chỉ có 3 gen thay đổi biểu hiện bao gồm 2 gen (*CaTCP07* và *18*) và 1 gen *CaTCP05* giảm biểu hiện ở cùng thời điểm. Khi so sánh giữa 2 giống tại thời điểm 2 giờ, có 2 gen (*CaTCP07* và *18*) cùng tăng và gen *CaTCP05* cùng giảm mức độ biểu hiện. Tại thời điểm 5 giờ sau khi xử lý ABA, có 8 gen thay đổi mức độ biểu hiện ở rễ của giống ILC482 gồm có 7 gen (*CaTCP07*, *08*, *14*, *16*, *18*, *19* và *20*) tăng và 1 gen *CaTCP05* giảm biểu hiện; nhưng ở rễ của giống Hashem chỉ có 5 gen (*CaTCP01*, *07*, *13*, *18* và *19*) tăng và 2 gen (*CaTCP05* và *15*) giảm biểu hiện. Khi phân tích biểu hiện trong cả 2 giống cùng thời điểm 5 giờ sau khi xử lý ABA, có 3 gen (*CaTCP07*, *18* và *19*) là cùng tăng và 1 gen *CaTCP05* cùng giảm biểu hiện. Khi kết hợp cả 2 thời điểm xử lý ABA lúc 2 và 5 giờ thì ghi nhận có 2 gen (*CaTCP07* và *18*) cùng tăng và 1 gen *CaTCP05* cùng giảm biểu hiện ở rễ của 2 giống ILC482 và Hashem. Một điều thú vị là, gen *CaTCP07* tăng biểu hiện ở cả lá và rễ của 2 giống đậu gà ILC482 và Hashem sau 2 và 5 giờ xử lý ABA.

Qua kết quả phân tích mức độ biểu hiện của các gen *CaTCP* bằng RT-qPCR ở cả lá và rễ của 2 giống đậu gà ILC482 và Hashem sau khi xử lý mất nước và xử lý ABA ở thời điểm 2 và 5 giờ. Chúng tôi nhận thấy, có những gen chỉ biểu hiện ở rễ hoặc lá của giống chịu hạn ILC482 trong điều kiện xử lý mất nước, nhưng không thay đổi ở giống nhạy cảm với hạn và

ngược lại; tuy nhiên cũng có những gen thay đổi ở cả lá và rễ của 2 giống ILC482 chịu hạn tốt và giống Hashem nhạy cảm với hạn trong điều kiện xử lý mất nước. Ngoài ra, có những gen thay đổi biểu hiện ở điều kiện xử lý mất nước không phụ thuộc vào ABA, tuy nhiên có gen lại phụ thuộc vào ABA. Trong số 23 gen *CaTCP* này, chúng tôi nhận thấy *CaTCP07* là một gen tăng cường biểu hiện ở cả lá và rễ của 2 giống đậu gà ILC482 và Hashem ở tất cả các thời điểm xử lý mất nước; đồng thời gen này cũng biểu hiện mạnh ở cả lá và rễ của 2 giống sau khi xử lý ABA ở các thời điểm. Điều này chứng tỏ, *CaTCP07* là một gen tiềm năng vô cùng hứa hẹn trong việc cải tạo cây đậu gà nói riêng và cây trồng quan trọng khác nói chung có khả năng chống chịu với bất lợi hạn thông qua con đường phụ thuộc tín hiệu ABA thông qua tăng cường biểu hiện của nó. Yếu tố phiên mã TCP là một trong nhiều họ phổ biến của điều hoà phiên mã ở thực vật. Đã có một số nghiên cứu về nhóm yếu tố phiên mã TCP trên các cây trồng chính và xác định được 22 gen *TCP* trên cây lúa, 36 gene *TCP* trên cây sắn, 30 gene *TCP* trên cây cà chua, 38 gene *TCP* trên cây bông và một số cây trồng khác (Lei *et al.*, 2017).

Sự hình thành và cấu tạo rễ được coi là một đặc điểm quan trọng của rễ trong việc phản ứng với các tác nhân ngoại cảnh bất lợi từ môi trường, bao gồm cả hạn hán nhằm giúp cho cây trồng tăng khả năng thích nghi với điều kiện bất lợi. Chiều dài rễ sơ cấp, sinh khối rễ và số lượng rễ phụ được coi là một trong những thông số quan trọng để đánh giá khả năng chịu hạn của cây trồng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã đánh giá mức độ biểu hiện của 23 gen *CaTCP* trên cả 2 giống đậu gà ILC482 (chịu hạn) và Hashem (nhạy cảm với hạn) trong điều kiện mất nước và xử lý ABA. Kết quả cho thấy số lượng gen *CaTCP* có sự thay đổi biểu hiện tại mô rễ là khá nhiều. Cụ thể, trong điều kiện xử lý mất nước của rễ, có tổng cộng 15 gen cho thấy sự thay đổi trong đó có 10 gen cho thấy mức độ biểu hiện tăng và 5 gen cho thấy mức độ biểu hiện giảm (cả trên giống ILC482 và Hashem). Bên cạnh đó trong điều kiện xử lý ABA, có tổng 12 gen cho thấy sự thay đổi trong đó có 9 gen cho thấy mức độ biểu hiện tăng và 3 gen cho thấy mức độ biểu hiện giảm. Điều này cho thấy mối tương quan giữa khả năng chịu hạn của cây đậu gà với số lượng gen *CaTCP* phản ứng với tình trạng mất nước trong rễ. Do vậy, với kết quả thu được về mức độ biểu hiện các gen *CaTCP* trên mẫu lá cây đậu gà dưới điều kiện mất nước hoặc xử lý ABA, cho thấy sự liên hệ giữa các gen *CaTCP* và các đặc điểm ở lá.

Ngoài ra, một trong những mục tiêu chính của nghiên cứu này là xác định được các gen *CaTCP* tiềm năng để cải thiện và phát triển các giống cây

chịu hạn bằng cách sử dụng các công cụ kỹ thuật di truyền. Dựa trên kết quả chúng tôi thu được sau khi đánh giá mức độ biểu hiện của tổng số 23 gen *CaTCP* trên cả 2 giống đậu gà ILC482 chịu hạn và giống Hashem nhạy cảm với hạn hán, thấy rằng gen *CaTCP07* là gen duy nhất có mức độ biểu hiện tăng mạnh ở cả 2 giống ILC482 và Hashem, trong cả mẫu lá và rễ dưới điều kiện mất nước và xử lý ABA. Đây có thể được coi là gen tiềm năng nhất trong họ TF TCP trên cây đậu gà, vì vậy gen *CaTCP07* có thể tiếp tục được nghiên cứu sâu hơn bằng sử dụng kỹ thuật chuyển gen nhằm tăng cường biểu hiện để tạo ra các giống cây trồng có khả năng chịu hạn.

IV. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu này cho thấy, trong số tất cả 23 gen *CaTCP* thì chỉ có *CaTCP07* là gen tăng mức độ biểu hiện ở cả lá và rễ của 2 giống đậu gà ILC482 chịu hạn và Hashem nhạy cảm với hạn ở tất cả các thời điểm xử lý mất nước và ABA. Như vậy, *CaTCP07* đóng vai trò như một gen tiềm năng đầy hứa hẹn để cải tiến khả năng chống chịu với hạn hán của cây đậu gà và/hoặc cây trồng quan trọng khác trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ha, C. V., Nasr Esfahani, M., Watanabe, Y et al. 2014. Genome-wide identification and expression analysis of the CaNAC family members in Chickpea during development, dehydration and ABA treatments. *PLOS ONE*, 9(12): e114107.

Huang, G. T., Ma, S. L., Bai, L P., Zhang, L., Ma, H., Jia, P., Guo, Z. F., 2012. Signal transduction during cold,

salt, and drought stresses in plants. *Molecular Biology Reports*, 39(2): 969-987.

Jogaiah, S., Govind, S. R., & Tran, L.-S. P. 2013. Systems biology-based approaches toward understanding drought tolerance in food crops. *Critical Reviews in Biotechnology*, 33(1): 23-39.

Le, D. T., Nishiyama, R., Watanabe, Y et al. 2011. Genome-wide expression profiling of soybean two-component system genes in soybean root and shoot tissues under dehydration stress. *DNA Research*, 18(1): 17-29.

Le, D.T., Aldrich, D.L., Valliyodan et al. 2012. Evaluation of candidate reference genes for normalization of quantitative RT-PCR in soybean tissues under various abiotic stress conditions. *Plos One*, 7(9): e46487.

Lei, N., Yu, X., Li, S., Zeng, C., Zou, L., Liao, W., & Peng, M. 2017. Phylogeny and expression pattern analysis of TCP transcription factors in cassava seedlings exposed to cold and/or drought stress. *Scientific Reports*, 7(1): 10016.

Rozrokh, M., Sabaghpour, S.H., & Armin, M. 2013. Determining the best indices of drought tolerance in chickpea genotypes. *Plant Ecophysiology*, 4: 25-36.

Sabaghpour, S.H., Malhotra, R.S., and Banai, T. 2005. Registration of 'Hashem' Kabuli chickpea. *Crop Science*, 45: 2651.

Shanker, A.K., Maheswari, M., Yadav, S. K et al. 2014. Drought stress responses in crops. *Functional & Integrative Genomics*, 14(1): 11-22.

Tran, C.D., Chu, H.D., Nguyen et al. 2018. Genome-wide identification of the TCP transcription factor family in chickpea (*Cicer arietinum* L.) and their transcriptional responses to dehydration and exogenous abscisic acid treatments. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37(4): 1286-1299.

Expression Level of *CaTCP*s Encoding Genes in Chickpea (*Cicer arietinum*) under Drought and ABA Treatment Conditions

Tran Duy Cuong, Tran Phan Lam Son,
Nguyen Huu Kien, Chu Duc Ha, Tran Dang Khanh

Abstract

Drought stress causes adverse influences on the growth, development, and yield of numerous crops. Some studies have indicated that the transcription factor group TCP plays a key role in the drought tolerance of plants. In this study, the expression levels of 23 *CaTCP* genes in leaf and root samples of chickpea plants (*Cicer arietinum*) under water deficit and ABA treatment conditions were evaluated. Based on RT-qPCR results, the number of *CaTCP* genes with varying expression levels was observed in each chickpea variety, ILC482 and Hashem, respectively. Furthermore, expression analysis of genes in both leaf and root samples of both chickpea varieties revealed different expression patterns in response to water deficit, with some genes showing increased expression, while others demonstrated decreased expression levels. Moreover, the results have identified the *CaTCP07* gene as a potentially drought-responsive gene in both ILC482 and Hashem varieties, suggesting its potential application in further research on developing drought-tolerant crop varieties.

Keywords: *CaTCP*, drought tolerance, chickpea, ABA treatment condition, expression analysis of gene, transcription factor

Ngày nhận bài: 02/5/2023
Ngày phản biện: 17/5/2023

Người phản biện: PGS.TS. Lã Tuấn Nghĩa
Ngày duyệt đăng: 28/6/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA LIỀU LƯỢNG KALI BỔ SUNG ĐẾN NĂNG SUẤT, CHẤT LƯỢNG LÊ VH6 TẠI BẮC HÀ, LÀO CAI

Nguyễn Thị Cẩm Mỹ^{1*}, Lưu Ngọc Quyến²,
Đào Thế Anh³, Hoàng Thị Mai⁴

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá hiệu lực của việc bổ sung kali cho giống lê VH6 10 tuổi tại Bắc Hà, tỉnh Lào Cai. Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên 1 nhân tố với 5 công thức và 3 lần nhắc, mỗi ô thí nghiệm trồng 5 cây. Kết quả nghiên cứu cho thấy, bón bổ sung kali với lượng 80 g/cây K_2O có hiệu quả đối với năng suất, chất lượng giống lê VH6: cụ thể, năng suất (51,73 kg/cây) tăng so với đối chứng 39%, tăng hàm lượng chất khô (14,2%), đường tổng số (11,5%), vitamin C (34,41 mg/100 g), độ Brix (11,8%) đồng thời giảm axit hữu cơ (0,12%). Hiệu quả kinh tế mang lại khá cao (428,35 triệu đồng/ha).

Từ khóa: Cây lê, giống lê VH6, liều lượng kali, năng suất

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Giống lê VH6 được công nhận theo Quyết định số 2281/QĐ-BNN-KHCN ngày 05/06/2017 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn từ kết quả đề tài nghiên cứu tuyển chọn và phát triển một số cây ăn quả ôn đới ở phía Bắc của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc (Đỗ Sỹ An và cs., 2017).

Tỉnh Lào Cai cũng như một số địa phương vùng miền núi phía Bắc có lợi thế về độ cao so với mực nước biển, có khí hậu lạnh vào mùa đông, thuận lợi cho việc phát triển cây trồng ôn đới, đặc biệt là cây ăn quả trong đó có cây lê.

Theo kết quả của Fatma *et al.* (2022), phân kali có ảnh hưởng đến khối lượng quả, chiều dài, chiều rộng quả, thể tích quả, khối lượng dịch quả, khối lượng và độ dày vỏ, khối lượng cùi/quả, số hạt/quả và khối lượng hạt. Kết quả nghiên cứu của Shen *et al.* (2018) cho thấy, kali có vai trò quan trọng đối với quá trình trao đổi chất và đồng hóa trong quá trình sinh trưởng của quả lê, qua đó tác động đến khối lượng và năng suất cây trồng.

Cùng với các biện pháp kỹ thuật chăm sóc cây lê như cắt tỉa, quản lý độ ẩm đất, phòng trừ dịch hại..., việc bổ sung phân bón nói chung và phân kali nói riêng có vai trò quan trọng do đó việc xác định liều lượng bón thích hợp cần phải được xác định. Chính vì thế nghiên cứu ảnh hưởng của

lượng bón kali bổ sung đến năng suất, chất lượng lê VH6 tại Bắc Hà, Lào Cai được tiến hành.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống lê VH6 tuổi 10.

Phân bón: Đạm urê (46% N), supe lân (16% P_2O_5), kaliclorua (60% K_2O), phân chuồng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1 nhân tố gồm 5 công thức, 3 lần nhắc lại, được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCBD). Mỗi ô thí nghiệm 5 cây. Công thức 1 (CT1): Nền + 0 g K_2O /cây (Đối chứng); công thức 2 (CT2): Nền + 40 g K_2O /cây; công thức 3 (CT3): Nền + 60 g K_2O /cây; công thức 4 (CT4): Nền + 80 g K_2O /cây; công thức 5 (CT5): Nền + 100 g K_2O /cây.

Tất cả các công thức thí nghiệm cùng áp dụng chung một nền chăm sóc với lượng phân bón là: 40 kg phân chuồng hoai mục + 300 g N + 200 g P_2O_5 + 420 g K_2O /cây. Các kỹ thuật khác tiến hành theo hướng dẫn kỹ thuật trồng Lê VH6 của Trung tâm Giống nông nghiệp Lào Cai (2017).

2.2.2. Chỉ tiêu và phương pháp theo dõi

Trên mỗi cây xác định cành giữa tán, theo 4 hướng, ngắt 5 quả/cây \times 5 cây/lần nhắc \times 3 lần

¹ Khoa Nông - Lâm, Trường Đại học Hùng Vương

² Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền núi phía Bắc

³ Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

⁴ Khoa Nông học, Đại học Nông Lâm Bắc Giang

*Tác giả liên hệ, email: my.nlhv@hvu.edu.vn