

DOI:10.22144/ctu.jvn.2021.189

ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA HỌ GENE *OsHKT* Ở 41 GIỐNG LÚA ĐỊA PHƯƠNG ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Văn Quốc Giang¹, Trần In Đô², Nguyễn Văn Mạnh², Nguyễn Thành Tâm³, Huỳnh Như Điền¹, Lê Thị Hồng Thanh¹ và Huỳnh Kỳ^{1*}

¹Bộ môn Di truyền và Chọn giống cây trồng, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Học viên cao học khóa 27, ngành Di truyền và Chọn giống

³Viện Nghiên cứu và Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Huỳnh Kỳ (email: hky@ctu.edu.vn)

ABSTRACT

OsHKT is a family of genes that play an important role in the salt tolerance mechanism of rice. In this study, DNA fragments of two gene groups OsHKT1 and OsHKT2 from 41 local rice varieties in the Mekong Delta were sequenced, in order to find out the genetic relationship among them. The results showed that the polymorphism was most expressed in the two genes OsHKT1;5 and OsHKT2;1 with all of 41 rice varieties showing polymorphisms in the OsHKT1;5 gene, and 25 rice varieties were variable in the OsHKT2;1 gene. This result is the basis for further studies on salt tolerance related to the OsHKT gene family of local rice varieties in the Mekong Delta.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 11/05/2021

Ngày nhận bài sửa: 19/06/2021

Ngày duyệt đăng: 25/12/2021

Title:

The variation of OsHKT family genes in 41 Mekong delta rice varieties

Từ khóa:

Lúa địa phương, OsHKT, OsHKT 1,5, OsHKT 2,1, SNP

Keywords:

Local rice, OsHKT, OsHKT 1,5, OsHKT 2,1, SNP

TÓM TẮT

OsHKT là họ gene đóng vai trò quan trọng trong cơ chế chống chịu mặn của cây lúa. Trong nghiên cứu này, các đoạn DNA của hai nhóm gene OsHKT1 và OsHKT2 từ 41 giống lúa địa phương vùng ĐBSCL đã được giải trình tự, nhằm tìm ra mối tương quan di truyền giữa các giống lúa. Kết quả cho thấy, sự đa hình được thể hiện nhiều nhất ở hai gene OsHKT1;5 và OsHKT2;1 với tất cả 41 giống lúa cho sự đa hình ở gene OsHKT1;5 và 25 giống lúa đối với gene OsHKT2;1. Kết quả này là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về khả năng chống chịu mặn liên quan đến họ gene OsHKT của các giống lúa địa phương vùng Đồng bằng sông Cửu Long.

1. GIỚI THIỆU

Lúa gạo là loại cây lương thực đứng vị trí hàng đầu, có giá trị kinh tế cao và là một trong những nét văn hóa ẩm thực đặc trưng trong đời sống và con người Việt Nam. Tuy nhiên, tình trạng biến đổi khí hậu những năm gần đây đã và đang có những diễn biến ngày càng phức tạp, hiện tượng xâm nhập mặn kéo dài làm cho diện tích đất nông nghiệp suy giảm trầm trọng, đặc biệt là diện tích đất trồng lúa các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) bị thu hẹp đáng kể. Đứng trước thực trạng đó việc nghiên cứu tìm ra giống lúa có khả năng chịu được mặn nhằm

đảm bảo an toàn lương thực là vấn đề cấp thiết mà hầu hết các nhà chọn giống đã và đang rất quan tâm. Hầu hết các nghiên cứu di truyền đều tập trung vào Saltol QTL, là một trong các QTL ảnh hưởng đến khả năng chịu mặn của cây lúa, có nguồn gốc từ các giống lúa Ấn Độ như Pokkali có khả năng chịu mặn ở giai đoạn cây con (Thomson et al., 2010). Sự hiểu biết hiện tại về các cơ chế chống chịu mặn đã tạo điều kiện thuận lợi cho việc khai thác các chất vận chuyển màng định vị trong không gian (Munns & Tester, 2008; Zhu, 2001). Các cơ chế đã biết bao gồm sự cô lập các ion trong không bào và loại trừ các ion ra khỏi rễ và lá (Munns & Tester, 2008). Do

đó, các biến thể allele trong trình tự của các gene vận chuyển ion có thể đóng một vai trò quan trọng trong việc cung cấp khả năng chống chịu hiệu quả với stress mặn.

Đối với cây lúa, tình trạng chống chịu mặn là một tiến trình sinh lý rất phức tạp thay đổi theo các giai đoạn sinh trưởng khác nhau của cây (Hossain et al., 2015). Sự mất cân bằng Na^+ và K^+ là một trong những nguyên nhân làm hạn chế năng suất và chính tỉ lệ Na^+/K^+ trong chồi cũng là chỉ tiêu quan trọng trong chọn lọc giống lúa chống chịu mặn (Gregorio & Senadhira, 1993). Nhóm gene *OsHKT* được báo cáo là có liên quan đến khả năng chịu mặn ở lúa, vì gene *OsHKT* mã hóa chất vận chuyển Na^+ hoặc K^+ hoặc chất đồng vận chuyển Na^+-K^+ đóng vai trò quan trọng trong tuần hoàn Na^+ , duy trì nồng độ Na^+ và tỷ lệ Na^+ / K^+ ở mức thấp trong các mô, đặc biệt là ở lá (Mishra et al., 2016). Có hai nhóm *OsHKT* là *OsHKT1* và *OsHKT2;2* (Horie et al., 2001) trong đó chất vận chuyển Na^+ là *OsHKT1* và chất vận chuyển cặp Na^+-K^+ là *OsHKT2;2*, có thể hoạt động hài hòa trên lúa *indica* chịu mặn. Các nghiên cứu sâu hơn đã báo cáo rằng *OsHKT1;4* biểu hiện xung quanh xylem trong bẹ lá trong khi *OsHKT1;5* biểu hiện xung quanh xylem rễ (Cotsaftis et al., 2011). Tương tự, *OsHKT2;2;1* và *OsHKT2;2;4* được biểu hiện ở phần ngoài của rễ và trong lông hút (Schachtman & Schroeder, 1994). *HKT2;1* biểu hiện được điều hòa đáng kể trong vỏ rễ khi nồng độ K^+ thấp và nồng độ Na^+ cao (Almeida et al., 2013; Horie et al., 2001).

Bảng 1. Danh sách 41 giống lúa thí nghiệm

STT	Tên giống	Nguồn gốc	STT	Tên giống	Nguồn gốc
1	Độc Phụng	Cà Mau	22	Lùn Phèn	Cà Mau
2	Lùn Cần Đỏ	Cà Mau	23	Lùn Hèn	Cà Mau
3	Lùn Cần Trắng	Cà Mau	24	Lùn Vàng	Cà Mau
4	Bờ Liếp 2	Cà Mau	25	Lùn Sữa	Bạc Liêu
5	Một Bụi Đỏ Lùn CM	Cà Mau	26	Một Bụi Trắng	Bạc Liêu
6	Một Bụi Lùn	Cà Mau	27	Móng Chim Đen	Bạc Liêu
7	Ba Bông Mẩn	Cà Mau	28	Móng Chim Roi 3	Bạc Liêu
8	Lùn Cao Sắn Đỏ	Cà Mau	29	Ba Bụi Lùn	Bạc Liêu
9	Lùn Cao Sắn Trắng	Cà Mau	30	Tài Nguyên	Bạc Liêu
10	Tài Nguyên CL	Cà Mau	31	Trắng Bò Câu	Cà Mau
11	Nàng Cờ Đỏ 2	Cà Mau	32	Tét Rắn	Cà Mau
12	Trà Long 2	Cà Mau	33	Lùn Mẩn	Cà Mau
13	Ba Bụi 2	Cà Mau	34	Sói Lùn 1	Bạc Liêu
14	Tép Hành	Cà Mau	35	Ngọc Nữ	Bạc Liêu
15	Năm Tài 1	Cà Mau	36	Nàng Thơm	Bạc Liêu
16	Một Bụi 5	Kiên Giang	37	Thơm Mẩn	Bạc Liêu
17	Một Bụi Đỏ CM	Cà Mau	38	Nàng Quót Biển 1	Kiên Giang
18	Nàng Cum 1	Cà Mau	39	Trắng Phiếu	Kiên Giang
19	Lùn Phèn Hạt Nhỏ	Kiên Giang	40	Lùn Đỏ	Kiên Giang
20	Lùn Phệt	Kiên Giang	41	Nàng Quót Biển	Cà Mau
21	Thơm Lùn Mùa	Kiên Giang			

Một gene vận chuyển khác là *OsHKT2;2;4* cho thấy 93% tương đồng với *OsHKT2;2;3* và làm nhiệm vụ trung gian vận chuyển K^+ độc lập với nồng độ Na^+ (Horie et al., 2001).

Cây phát sinh loài của mỗi họ sẽ giúp xác định được mối quan hệ tiến hóa của các thành viên với nhau. Trong mỗi họ, tồn tại các sự tương đồng liên quan chặt chẽ với nhau và các phân họ riêng biệt của chất vận chuyển K^+ , từ đó cho thấy có thể phân chia ra được các chức năng chuyên biệt (Amrutha et al., 2007). Việc hiểu rõ hơn về mối quan hệ giữa các gene *HKT* có thể cung cấp thêm nhiều thông tin quan trọng cần thiết cho sự phát triển cũng như cho thấy được sự đa hình giữa các nhóm gene *OsHKT* của các giống cây trồng chịu mặn (Bafeel, 2013). Cho đến nay, các nghiên cứu phát sinh loài trên họ gene *HKT* còn rất hạn chế ngoại trừ công trình trước đó của (Bafeel, 2013; Gomez-Porras et al., 2012; Heidari et al., 2011; Platten et al., 2006). Đó cũng chính là lí do nghiên cứu này được thực hiện, có tất cả 6 cặp môi được dùng kiểm tra và phân nhóm 41 giống lúa của Việt Nam trên vùng gene *HKT* bằng cách sử dụng các trình tự nucleotide có sẵn trong cơ sở dữ liệu hiện tại.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm 41 giống lúa địa phương (Bảng 1), và trình tự 6 cặp môi sử dụng trong nghiên cứu này (Bảng 2).

Bảng 2. Trình tự 6 cặp mồi SSR dùng trong nghiên cứu

Tên gene	Tên primer	Trình tự (5'- 3')	NST	Tm (°C)	Kích thước (bp)
<i>OsHKT1;1</i>	HKT1_1-F	CCAATCGTGATTCGGGGTCA	4	60.11	770
	HKT1_1-R	GGAACAGCATGTTTCCTACTCCT		60.31	
<i>OsHKT1;3</i>	HKT1_3-F	AGCTCGGTAGCTTTGGATGG	2	59.82	875
	HKT1_3-R	TTTCAGTGGCTTGCCTGACG		61.17	
<i>OsHKT1;5</i>	HKT1_5-F	GTACCTGCAGCAAGCATGAGA	1	60.68	880
	HKT1_5-R	CACGACGATAATCCGCAAGG		59.15	
<i>OsHKT2;1</i>	HKT2_1-F	TCTGAGGGTCAGATGTGGAT	6	57.44	875
	HKT2_1-R	GTCACGTCTCCTCTTTGCGA		60.04	
<i>OsHKT2;3</i>	HKT2_3-F	TGCTGCCTAACTTGCAGACA	1	59.89	640
	HKT2_3-R	GTGTGCAGAAGCAATGGGTG		60.04	
<i>OsHKT2;4</i>	HKT2_4-F	GTGTGCAGAAGCAATGGGTG	6	60.04	775
	HKT2_4-R	GCAGCACACTGTCCCTATGT		60.04	

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá kiểu gene chịu mặn của các giống lúa

DNA của 41 giống lúa được ly trích theo phương pháp CTAB (Doyle & Doyle, 1990). Sau quá trình ly trích, mẫu DNA được hòa tan trong 50 µl TE (pH 8.0) và lưu trữ ở nhiệt độ -20°C.

Phản ứng PCR

Mỗi phản ứng PCR bao gồm 50 µl, sử dụng bộ PCR KIT (NEXpro™ Diagnostics) gồm các thành phần 10X e-Taq Buffer, 10 mM dNTP, e-Taq DNA Polymerase, thêm vào nước tinh sạch, mồi và DNA. Tất cả được trộn đều trước khi cho vào máy PCR (Bioer Thermal Cycler XP) và phản ứng PCR được thực hiện trong 35 chu kỳ gia nhiệt. Điện di sản phẩm PCR tinh chế bằng bộ kit Wizard SV Gel và PCR Clean-up System (Promega), sau đó được gửi đi giải trình tự bằng phương pháp Sanger (Sanger et al., 1977) tại công ty Phù Sa Biochem.

Phương pháp phân tích số liệu

Kích thước sản phẩm PCR được tính toán bằng phần mềm GelAnalyzer 19.1 (Istvan Lazar Jr., 2019). Các cặp mồi được sử dụng trong nghiên cứu được thiết kế bằng phần mềm PRIMER 3 (Sadangi, 2015). Kết quả giải trình tự được lưu trữ ở dạng FASTA và phân tích bằng phần mềm MEGA 6 (Tamura et al., 2013). Phần mềm BEAST 2 (Bouckaert et al., 2019) được sử dụng để vẽ cây sơ đồ di truyền của 41 giống lúa so sánh với giống lúa Nipponbare dựa trên trình tự của các gene OsHKTs.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

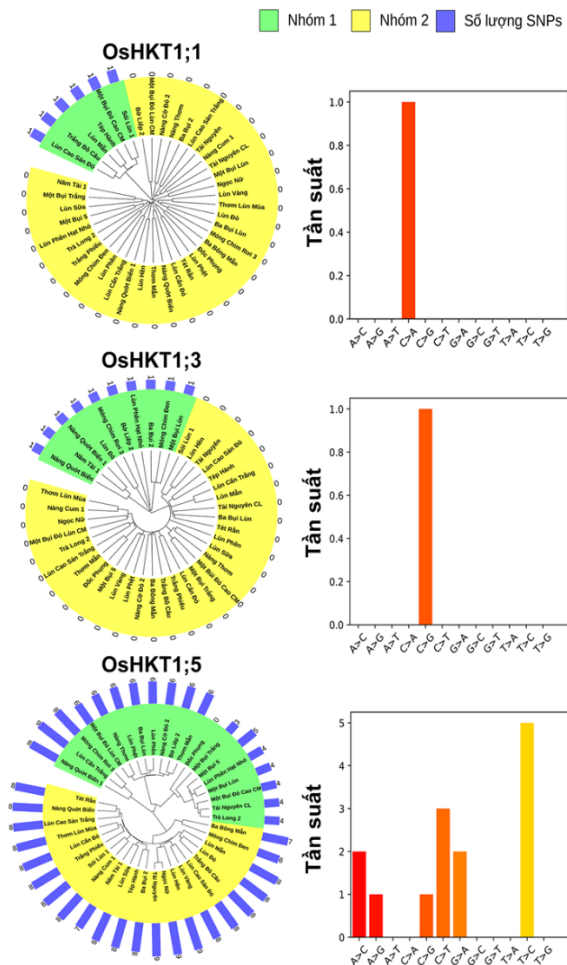
3.1. Sự đa hình gene ở nhóm OsHKT1

Kết quả ở Hình 1 cho thấy sự đa hình trong nhóm *OsHKT1* đều được chia thành 2 nhóm lớn. Đối với

gene *OsHKT1;1*, nhóm 1 gồm có 6 giống lúa (Lùn Cao Sản Đò, Trắng Bò Cầu, Lùn Mẫn, Tép Hành, Một Bụi Đò Cao CM, Sói Lùn 1) có xuất hiện đột biến điểm, chủ yếu là C thành A. Còn lại nhóm 2 không xuất hiện đột biến. Gene *OsHKT1;3*, nhóm 1 có 10 giống lúa có xuất hiện đột biến điểm thay thế C thành G, gồm các giống Nàng Quót Biển, Nàng Quót Biển 1, Năm Tài 1, Lùn Đò, Móng Chim Rơi 3, Bờ Liếp 2, Lùn Phên Hạt Nhỏ, Ba Bụi 2, Móng Chim Đen, Một Bụi Lùn. Tuy nhiên, sự đa hình ở nhóm *OsHKT1* thể hiện rõ ở gene *OsHKT1;5*. Nhóm 1 có 18 giống lúa xuất hiện các SNPs bao gồm Nàng Quót Biển 1, Lùn Cẩn Trắng, Móng Chim Rơi 3, Một Bụi Đò Lùn CM, Nàng Thơm, Lùn Phệt, Ba Bụi Lùn, Lùn Phên, Nàng Cờ Đò 2, Bờ Liếp 2, Thơm Mẫn, Một Bụi Trắng, Một Bụi 5, Lùn Phên Hạt Nhỏ, Một Bụi Lùn, Một Bụi Đò Cao CM, Tài Nguyên CL, Trà Long 2, chi riêng giống Đốc Phụng là không có biến thể xuất hiện. Tần suất xuất hiện các biến thể ở mỗi giống dao động từ 3 đến 9 SNPs ở nhóm 1 đối với gene *OsHKT1;5*. Ở nhóm 2, tất cả 22 giống lúa đều xuất hiện biến thể với tần suất cao dao động từ 6 đến 9 SNPs (Ba Bông Mẫn, Móng Chim Đen, Lùn Mẫn, Lùn Đò...). Qua đây có thể nhận thấy rằng số lượng biến thể ở nhóm 2 nhiều hơn nhóm 1, và ở nhóm *OsHKT1* thì gene *OsHKT1;5* có tần suất xuất hiện biến thể cao nhất so với gene *OsHKT1;1* và *OsHKT1;3*. Ngoài ra, có thể nhận thấy ở cả 3 gene *OsHKT1;1*, *OsHKT1;3*, *OsHKT1;5* đều xuất hiện đột biến thay thế nucleotide C thành G, nhưng tần suất xuất hiện của đột biến này ở gene *OsHKT1;5* ít hơn 2 gene còn lại. Tuy nhiên, *OsHKT1;5* có thêm sự xuất hiện của các loại đột biến thay thế khác như A>C, A>G, C>T, G>A, và nhiều nhất là T>C, vị trí của các biến thể ở các gene trong nhóm *OsHKT1* so với gene tham chiếu được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Vị trí các biến thể của gene thuộc nhóm *OsHKT1* ở 41 mẫu thí nghiệm so với gene tham chiếu

Gene	NST	Vị trí	Allele tham chiếu	Allele thay đổi
OsHKT1;1	4	116	C	A
OsHKT1;3	2	280	C	G
OsHKT1;5	1	153	T	C
		306	A	C
		338	A	C
		397	T	C
		454	A	G
		496	G	A
		508	G	A
		566	T	C
		592	C	T
		593	C	T
		621	C	T
688	T	C		
708	T	C		
720	C	G		

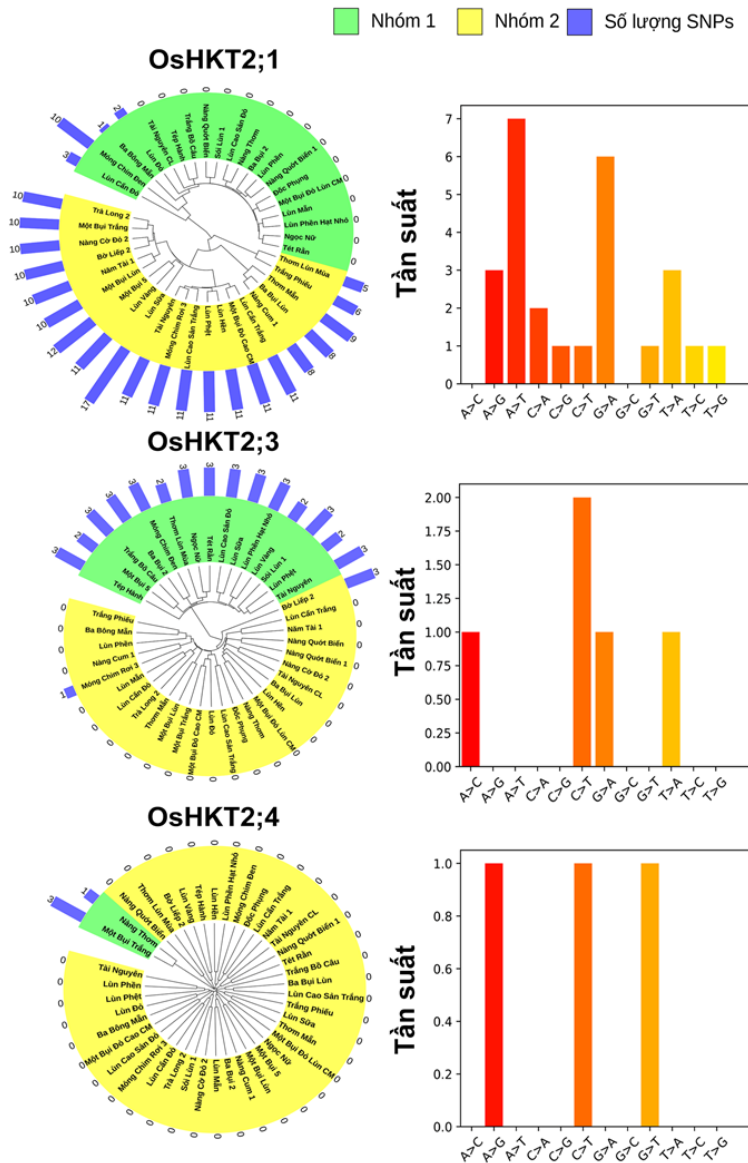


Hình 1. Biểu đồ các dạng biến thể của *OsHKT1* ở 41 giống lúa ĐBSCL. A. *OsHKT1;1*, B. *OsHKT1;3*, và *OsHKT1;5*.

3.2. Sự đa hình gene ở nhóm *OsHKT2*;2

Đối với nhóm *OsHKT2* (Hình 2), sự đa hình ở gene *OsHKT2*;1 cũng được chia thành 2 nhóm chính. Nhóm 1 tuy có 20 giống lúa nhưng chỉ có 4 giống lúa xuất hiện SNPs (Lùn Cắn Đò, Móng Chim Đen, Ba Bông Mẫn, Lùn Đỏ), trong đó Móng Chim Đen có số lượng biến thể nhiều nhất với 10 SNPs. Nhóm 2 với 21 giống lúa đều xuất hiện biến thể với tần suất cao từ 5 đến 17 SNPs, gồm Trà Long 2, Một Bụi Trắng, Nàng Cờ Đỏ 2, Bờ Liếp 2, Năm Tài 1, Một Bụi Lùn, Một Bụi Lùn, Lùn Vàng, Trà Long 1, Nàng Cờ Đỏ 1, Nàng Cờ Đỏ 2, Nàng Cờ Đỏ 3, Nàng Cờ Đỏ 4, Nàng Cờ Đỏ 5, Nàng Cờ Đỏ 6, Nàng Cờ Đỏ 7, Nàng Cờ Đỏ 8, Nàng Cờ Đỏ 9, Nàng Cờ Đỏ 10, Nàng Cờ Đỏ 11, Nàng Cờ Đỏ 12, Nàng Cờ Đỏ 13, Nàng Cờ Đỏ 14, Nàng Cờ Đỏ 15, Nàng Cờ Đỏ 16, Nàng Cờ Đỏ 17, Nàng Cờ Đỏ 18, Nàng Cờ Đỏ 19, Nàng Cờ Đỏ 20, Nàng Cờ Đỏ 21.

Một Bụi Lùn, Một Bụi 5, Lùn Vàng, Lùn Sữa, Tài Nguyên, Móng Chim Roi 3, Lùn Cao Sản Trắng, Lùn Phệt, Lùn Hèn, Một Bụi Đỏ Cao CM, Lùn Cắn Trắng, Nàng Cum 1, Ba Bụi Lùn, Thơm Mẫn, Trắng Phiếu, Thơm Lùn Mùa. Trong 21 giống lúa ở nhóm 2 thì giống Lùn Sữa có số lượng biến thể cao nhất với 17 SNPs được tìm thấy. Phần lớn các biến thể xuất hiện ở gene *OsHKT2*;1 chủ yếu là dạng A thành T (nhiều nhất) và G thành A, ngoài ra còn có các dạng A>G, C>A, C>G, C>T, G>T, T>A, T>C, T>G.



Hình 2. Biểu đồ các dạng biến thể của *OsHKT2* ở 41 giống lúa ĐBSCL. A. *OsHKT2*;1, B. *OsHKT2*;3, và *OsHKT2*;4.

Gene *OsHKT2;3* có 15 giống lúa (Tép Hành, Một Bụi 5, Trắng Bò Câu, Ba Bụi 2, Móng Chim Đen, Thơm Lùn Mùa, Ngọc Nữ, Tét Rần, Lùn Cao Sắn Đỏ, Lùn Sữa, Lùn Phên Hạt Nhỏ, Lùn Vàng, Sói Lùn 1, Lùn Phệt, Tài Nguyên) với số lượng biến thể xuất hiện từ 2 đến 3 SNPs. Nhóm 2 mặc dù có 26 giống lúa nhưng chỉ có duy nhất một giống lúa xuất hiện biến thể là Móng Chim Rơi 3. Các dạng biến thể xuất hiện ở gene *OsHKT2;3* gồm A>C, C>T, G>A, T>A trong đó C>T có tần suất xuất hiện cao nhất so với các dạng biến thể khác. Vị trí các SNPs ở nhóm gene *OsHKT2* được thể hiện qua Bảng 4.

Bảng 4. Vị trí các SNPs ở nhóm gene *OsHKT2* ở 41 giống lúa so với gene tham chiếu

Gene	NST	Vị trí	Allele tham chiếu	Allele thay đổi
OsHK T2;1	6	11	T	G
		31	T	A
		32	A	T
		58	A	T
		59	T	A
		60	A	T
		79	G	A
		118	C	A
		171	G	A
		223	G	A
		224	A	G
		403	G	A
		404	A	T
		472	G	A
		473	A	T
		633	C	G,A
		634	T	C
		672	G	A
692	G	T		
711	C	T		
725	A	T,G		
726	T	A		
818	A	T,G		
OsHK T2;3	1	185	C	T
		259	G	A
		261	A	C
		428	C	T
		511	T	A
600	X	G		
OsHK T2;4	6	226	C	T
		239	A	G
		507	G	T

Ngoài ra, ở nhóm *OsHKT2*, gene *OsHKT2;4* chỉ có duy nhất 2 giống lúa xuất hiện biến thể là Một Bụi Trắng và Nàng Thơm, dao động từ 1 đến 3

SNPs. So với các gene ở nhóm *OsHKT1*, *OsHKT2;4* ở nhóm *OsHKT2* có số lượng SNPs ít nhất.

Theo nghiên cứu của Cui et al. (2017), các gene như *OsHKT1;1*, *OsHKT1;3*, *OsHKT2;3*, và *OsHKT2;4* sẽ được biểu hiện chủ yếu ở lá. Trong khi đó, *OsHKT1;5*, *OsHKT2;1* và *OsHKT2;2* sẽ biểu hiện ở cả lá và rễ. Ngoài ra, cấp độ phiên mã của nhóm *OsHKT* thường được điều hòa bởi ABA ở lá hoặc rễ; tuy nhiên hoạt động này sẽ xảy ra ở cả lá và rễ đối với hai gene *OsHKT1;3* và *OsHKT1;5* (Cui et al., 2017; Munns & Tester, 2008; Roy et al., 2014). Nghiên cứu của (Mishra et al., 2016) đã cho thấy rằng 50 SNPs xuất hiện ở các nhóm *OsHKT1* và *OsHKT2;2* đều liên quan đến khả năng chống chịu mặn ở lúa, cụ thể là ảnh hưởng đến hoạt động của Na⁺ và K⁺, trong đó 5 SNPs xuất hiện ở vùng promoter của gene *OsHKT2;1* cho thấy sự liên kết chặt đến tính trạng chống chịu mặn. Kết quả Hình 1 và Hình 2 cho thấy rằng sự xuất hiện của các biến thể ở 41 giống lúa dùng trong nghiên cứu rất có khả năng cao liên quan đến cơ chế chống chịu mặn, đặc biệt là *OsHKT1;5*, *OsHKT2;1* và *OsHKT2;3*.

4. KẾT LUẬN

Kết quả thí nghiệm bước đầu đã chỉ ra được sự đa hình của các gene *OsHKT1;1*, *OsHKT1;3*, *OsHKT1;5*, *OsHKT2;2;1*, *OsHKT2;2;3*, *OsHKT2;2;4* ở 41 giống lúa dùng trong thí nghiệm. Trong đó, sự đa hình thể hiện nhiều nhất ở gene *OsHKT1;5*, kế tiếp là gene *OsHKT2;1*. Đây sẽ là hai gene chủ lực trong nghiên cứu về khả năng chống chịu mặn cho các thí nghiệm về sau.

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).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Almeida, P., Katschnig, D., & de Boer, A. H. (2013). HKT transporters--state of the art. *Int J Mol Sci*, 14(10), 20359-20385. doi:10.3390/ijms141020359

Amrutha, R. N., Sekhar, P. N., Varshney, R. K., & Kishor, P. B. K. (2007). Genome-wide analysis and identification of genes related to potassium transporter families in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*, 172(4), 708-721. doi:https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.11.019

Bafeel, S. (2013). Phylogeny of the Plant Salinity Tolerance Related HKT Genes. *Intl. J. Biol.*, 5, 64-68. doi:10.5539/ijb.v5n2p64

Bouckaert, R., Vaughan, T. G., Barido-Sottani, J., Duchêne, S., Fourment, M., Gavryushkina, A.,

- Heled, J., Jones, G., Kühnert, D., De Maio, N., Matschiner, M., Mendes, F. K., Müller, N. F., Ogilvie, H. A., du Plessis, L., Poppinga, A., Rambaut, A., Rasmussen, D., Siveroni, I., Suchard, M. A., Wu, C. H., Xie, D., Zhang, C., Stadler, T., & Drummond, A. J. (2019). BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLOS Computational Biology*, 15(4), e1006650. doi:10.1371/journal.pcbi.1006650
- Cotsaftis, O., Plett, D., Johnson, A. A., Walia, H., Wilson, C., Ismail, A. M., Close, T. J., Tester, M., & Baumann, U. (2011). Root-specific transcript profiling of contrasting rice genotypes in response to salinity stress. *Mol Plant*, 4(1), 25-41. doi:10.1093/mp/ssp056
- Cui, L., He, Y., Li, Y., & Xie, X. (2017). Expression patterns of OsHKT genes in rice. *Chinese Journal of Rice Science*, 31, 559-567. doi:10.16819/j.1001-7216.2017.7070
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12(1):13-15.
- Gomez-Porras, J., Riaño Pachón, D. M., Benito, B., Haro, R., Sklodowski, K., Rodríguez-Navarro, A., & Dreyer, I. (2012). Phylogenetic Analysis of K⁺ Transporters in Bryophytes, Lycophytes, and Flowering Plants Indicates a Specialization of Vascular Plants. *Frontiers in Plant Science*, 3, 167. doi:10.3389/fpls.2012.00167
- Gregorio, G. B., & Senadhira, D. (1993). Genetic analysis of salinity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 86(2), 333-338. doi:10.1007/BF00222098
- Heidari, P., Falaknaz, M., Mehrabi, A., Kahrizi, D., & Yari, K. (2011). Phylogenetic Study of HKT-Gene in Gramineae via Insilico cDNA-AFLP Analysis. *American Journal of Scientific Research*, 19, 6-12.
- Horie, T., Yoshida, K., Nakayama, H., Yamada, K., Oiki, S., & Shinmyo, A. (2001). Two types of HKT transporters with different properties of Na⁺ and K⁺ transport in *Oryza sativa*. *Plant J*, 27(2), 129-138. doi:10.1046/j.1365-313x.2001.01077.x
- Hossain, H., Rahman, M. A., Alam, M. S., & Singh, R. K. (2015). Mapping of Quantitative Trait Loci Associated with Reproductive-Stage Salt Tolerance in Rice. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 201(1), 17-31. doi:https://doi.org/10.1111/jac.12086
- Istvan Lazar Jr., P., & Istvan Lazar Sr., PhD. (2019). GelAnalyzer (Version 19.1). Retrieved from <http://www.gelanalyzer.com/index.html>
- Mishra, S., Singh, B., Panda, K., Singh, B. P., Singh, N., Misra, P., Rai, V., & Singh, N. K. (2016). Association of SNP Haplotypes of HKT Family Genes with Salt Tolerance in Indian Wild Rice Germplasm. *Rice (New York, N.Y.)*, 9(1), 15. doi:10.1186/s12284-016-0083-8
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 651-681. doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
- Platten, J. D., Cotsaftis, O., Berthomieu, P., Bohnert, H., Davenport, R. J., Fairbairn, D. J., Horie, T., Leigh, R. A., Lin, H. X., Luan, S., Mäser, P., Pantoja, O., Rodríguez-Navarro, A., Schachtman, D. P., Schroeder, J. I., Sentenac, H., Uozumi, N., Véry, A. A., Zhu, J. K., Dennis, E. S., & Tester, M. (2006). Nomenclature for HKT transporters, key determinants of plant salinity tolerance. *Trends Plant Sci*, 11(8), 372-374. doi:10.1016/j.tplants.2006.06.001
- Roy, S. J., Negrão, S., & Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 115-124. doi:https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004
- Sadangi, C. (2015). Primer design using Primer3 software.
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 74(12), 5463-5467. doi:10.1073/pnas.74.12.5463
- Schachtman, D. P., & Schroeder, J. I. (1994). Structure and transport mechanism of a high-affinity potassium uptake transporter from higher plants. *Nature*, 370(6491), 655-658. doi:10.1038/370655a0
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipinski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729. doi:10.1093/molbev/mst197
- Thomson, M. J., de Ocampo, M., Egdane, J., Rahman, M. A., Sajise, A. G., Adorada, D. L., Tumimbang-Raiz, E., Blumwald, E., Seraj, Z. I., Singh, R. K., Gregorio, G. B., & Ismail, A. M. (2010). Characterizing the Saltol Quantitative Trait Locus for Salinity Tolerance in Rice. *Rice*, 3(2), 148-160. doi:10.1007/s12284-010-9053-8
- Zhu, J. K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*, 6(2), 66-71. doi:10.1016/s1360-1385(00)01838-0