

## BIỂU HIỆN CỦA MỘT SỐ GEN LIÊN QUAN ĐẾN KHẢ NĂNG CHỊU HẠN Ở MỘT SỐ DÒNG CHÈ TẠI PHÚ THỌ

Nguyễn Hồng Chiên<sup>1\*</sup>, Lưu Ngọc Quyên<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Kim Linh<sup>1</sup>, Mai Thị Phương Nga<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Khoa học kỹ thuật Nông Lâm nghiệp miền núi phía Bắc

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

### TÓM TẮT

Dựa vào các kết quả nghiên cứu trước đây, 05 gen (GolS3, RHL41, bHLH102, DHN1 và DREB26) liên quan đến khả năng chịu hạn đã được lựa chọn để phân tích biểu hiện gen trong điều kiện hạn ở một số dòng chè trồng tại Phú Thọ. Cây chè (*Camellia sinensis*) tuổi 1 được xử lý hạn với dung dịch PEG 6000 20% (w/v) trong các khoảng thời gian 0h (đối chứng), 12h, 24h và 72h. Sau xử lý, mẫu lá trưởng thành (lá thứ 4-5) của ba dòng chè LVC4C1, PHN2C1 và VSHC7C2 được dùng để tách chiết RNA tổng số. Kết quả phân tích mức độ biểu hiện của các gen bằng kỹ thuật qRT-PCR cho thấy, tất cả 05 gen đều biểu hiện tăng ở điều kiện hạn, mức độ biểu hiện của các gen này khác nhau ở cùng một dòng chè và cũng khác nhau giữa các dòng chè. Đối với dòng chè LVC4C1, mức độ biểu hiện tương đối của 05 gen đều tăng ở tất cả các thời điểm xử lý, trong khi chỉ có 2 trong số 5 gen có mức độ biểu hiện tương đối tăng ở tất cả các thời điểm xử lý ở hai dòng chè PHN2C1 và VSHC7C2. Ngoài ra, trong ba dòng chè nghiên cứu, dòng LVC4C1 có 4/5 gen (RHL41, DHN1, bHLH102 và DREB26) có mức độ biểu hiện tương đối tăng mạnh nhất sau 72h xử lý. Những kết quả này có thể liên quan đến khả năng chịu hạn của dòng chè LVC4C1 tốt hơn so với hai dòng chè PHN2C1 và VSHC7C2.

*Từ khóa:* Cây chè, chống chịu hạn, mức độ biểu hiện gen, qRT-PCR, yếu tố phiên mã.

### MỞ ĐẦU

Có nguồn gốc từ châu Á, cây chè (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) phân bố rộng rãi trên khắp thế giới, với hơn 5 triệu ha và được trồng ở hơn 60 quốc gia trên toàn thế giới. Cây chè có vị trí quan trọng trong nền kinh tế của nhiều nước, đem lại nguồn thu nhập và ngoại tệ quan trọng của các nước như Ấn Độ, Sri Lanka, Kenya, Malawi... Sản xuất chè chủ yếu tập trung ở châu Á (trong đó, sản xuất chè ở Trung Quốc và Nhật Bản chiếm khoảng 23%, Ấn Độ, Sri Lanka và Bangladesh, chiếm khoảng 44% tổng sản lượng chè trên thế giới). Năm 2023, các nước xuất khẩu chè chính gồm có Trung Quốc, Kenya, Sri Lanka, Ấn Độ. Việt Nam đứng thứ 10 trong số những nước xuất khẩu chè lớn nhất thế giới (Ridder, 2024).

Ở Việt Nam, chè là một trong những cây trồng quan trọng nhất, phục vụ tiêu dùng trong nước cũng như xuất khẩu. Năm 2023, diện tích trồng chè ở Việt Nam khoảng 123.000 ha với sản lượng chè khô đạt hơn 190 nghìn tấn. Cây chè được trồng chủ yếu ở các tỉnh miền núi phía Bắc và Tây Nguyên, đóng vai trò thiết yếu trong việc cung cấp sinh kế và kinh tế bền vững cho các vùng này. Ngành chè sử dụng khoảng 1,5 triệu lao động và kể từ năm 2010, đóng góp kinh tế hàng năm của xuất khẩu chè là hơn 200 triệu USD/năm (Van Ho *et al.*, 2019).

Hạn hán là một hạn chế lớn đối với sinh trưởng, năng suất và chất lượng của cây chè. Hạn hán có thể làm giảm sản lượng chè từ 14-33% và gây chết cây từ 6-19%. Hạn hán có thể dẫn đến giảm thể năng nước của các mô và tạo ra các loại oxy phản ứng tích tụ, gây hại nghiêm trọng cho các thành phần tế bào khác nhau. Các phản ứng của thực vật rất phức tạp, đặc biệt là ở cây thân gỗ lâu năm, có hàng trăm gen liên quan đến những phản ứng này. Các nghiên cứu nhằm làm sáng tỏ cơ chế phản ứng của cây chè với điều kiện khô hạn cũng đã được thực hiện. Nhiều yếu tố phiên mã và gen liên quan đến chất chuyển hóa được chứng minh là có liên quan đến phản ứng với stress hạn của thực vật. Ví dụ, các yếu tố phiên mã (Transcription Factors) CBF và DHN đều tham gia vào phản ứng lạnh, hạn hán và các stress phi sinh học khác (Hu *et al.*, 2020). Một số nhiều yếu tố phiên mã khác (WRKY, bHLH, NAC, HSP, LEA) đã được chứng minh là được kích hoạt ở cây chè để ứng phó với lạnh và hạn hán. Phân tích dữ liệu phiên mã ở cây chè cho thấy 12 họ TF (AP2/EREBP, bHLH, bZIP, HD-ZIP, HSF, MYB, NAC, WRKY, zinc-finger protein, SCL, ARR, và SPL) có thể đóng vai trò quan trọng trong việc cây chè phản ứng với hạn hán (Liu *et al.*, 2016). Gần đây, Samarina và đồng tác giả (2020) sử dụng phương pháp phát hiện tương đồng toàn diện (kết hợp dữ liệu từ thư viện gen và phân tích transcriptome) họ đã xác định được 45 gen liên quan đến phản ứng với lạnh và hạn hán ở cây chè, trong đó có 9 gene lần đầu được phát hiện và 36 gen đã được công bố. Sử dụng qRT-PCR, nhóm nghiên cứu đã xác định được các gen GolS1 và GolS3 (galactinol syntases), RHL41 (zinc finger protein), DREB26 (dehydration response element-binding protein), DHN1, CAU1, Hydrolase22, BMY5 và bHLH102... được điều hòa biểu hiện tăng ở điều kiện hạn.

Do tác động của biến đổi khí hậu nên khí hậu ở Việt Nam những năm gần đây ngày càng bất thường, thể hiện qua các biểu hiện dị thường của các yếu tố nhiệt độ, lượng mưa, mực nước biển dâng và các hiện tượng thời tiết

cực đoan. Hạn hán xảy ra thường xuyên hơn đã tác động không nhỏ đến ngành sản xuất chè. Vì vậy, công tác nghiên cứu chọn tạo ra các giống chè có khả năng chịu hạn tốt là rất cần thiết. Tuy nhiên, cho đến nay, các nghiên cứu sâu về các gen liên quan đến khả năng chống chịu stress vô sinh nói chung và chống chịu hạn nói riêng trên cây chè vẫn còn rất ít. Nghiên cứu này phân tích biểu hiện của một số gen liên quan đến khả năng chịu hạn ở 3 dòng chè có khả năng chịu hạn khác nhau trồng tại Phú Thọ.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Nguyên liệu

Cây chè tuổi 1 của ba dòng chè (*Camellia sinensis*): LVC4C1, PHN2C1 và VSHC7C2. Các cây được tạo ra bằng phương pháp giâm hom tại Viện Khoa học Kỹ thuật nông lâm nghiệp miền núi phía Bắc. Dòng LVC4C1 có khả năng chịu hạn tốt, trong khi dòng hai dòng chè PHN2C1 và VSHC7C2 có khả năng chịu hạn ở mức trung bình khá.

### Phương pháp

#### Xử lý hạn

Cây con được loại bỏ sạch giá thể ở phần rễ cây, sau đó chuyển vào dung dịch PEG 6000 20% (w/v), dung dịch chỉ gồm PEG 6000 và nước cất. Sau khoảng thời gian 0h (đối chứng), 12h, 24h và 72h tiến hành thu mẫu lá. Mỗi dòng chè thu khoảng 5-6 lá từ 03 cây. Mẫu lá được nhúng ngay vào N<sub>2</sub> lỏng, nghiền thành bột mịn, bảo quản trong tủ -80°C trước khi tách chiết RNA.

#### Tách chiết RNA tổng số và tổng hợp cDNA:

RNA tổng số được tách chiết từ lá chè theo phương pháp Muoki đã mô tả (Muoki *et al.*, 2012). Sau khi tách chiết RNA tổng số, các mẫu RNA được đánh giá cảm quan trên gel Agarose 1% bằng phương pháp điện di. Độ tinh sạch và nồng độ của RNA được kiểm tra và đánh giá bằng máy đo nồng độ RNA NanoDrop với tỷ lệ bước sóng A260/280 và A260/230. Các mẫu RNA sau đó được xử lý bằng bộ kit Turbo DNA-free™ để loại bỏ DNA. Ở bước tiếp theo, phản ứng PCR được thực hiện với môi β-tubulin (F- AGGTTCTGGGATGGGTACCT; R- CACATTGTTAGGGATCCACTCCAC) để xác nhận DNA đã bị cắt hoàn toàn bởi enzym DNase. Nếu mẫu RNA còn lẫn DNA, lúc này DNA sẽ là đoạn khuôn và sản phẩm PCR sau điện di sẽ xuất hiện vạch DNA có kích thước khoảng 2000 bp, nếu mẫu RNA sạch DNA thì không xuất hiện vạch DNA này. Sau đó, RNA tinh sạch được sử dụng để phiên mã ngược nhằm tạo ra DNA bổ sung (cDNA) bằng cách sử dụng cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific).

#### qRT-PCR:

Mỗi ống phản ứng chứa 5 μL SYBR Green qPCR Mastermix 2X, 0,2 μL mỗi mỗi loại, 1,0 μL cDNA và bổ sung nước đến thể tích 10 μL. Phản ứng real-time PCR được thực hiện theo chu trình nhiệt như sau: 95°C-10 phút, sau đó 40 chu kì gồm 2 bước: 95°C-15 giây, 60°C-30 giây và 72°C-30 giây, cuối cùng là bước kéo dài ở 72°C trong 10 phút. Mức độ biểu hiện tương đối của các gen được tính theo phương pháp 2<sup>-ΔΔCT</sup> (Livak, Schmittgen, 2001).

Mức ý nghĩa của so sánh mức độ biểu hiện tương đối được xác định giữa hai nhóm giá trị biểu hiện ở thời điểm ban đầu (0h) và các thời điểm xử lý hạn bằng hàm Tukey Test với độ tin cậy 95% với p < 0,05, phần mềm R 4.3.3.

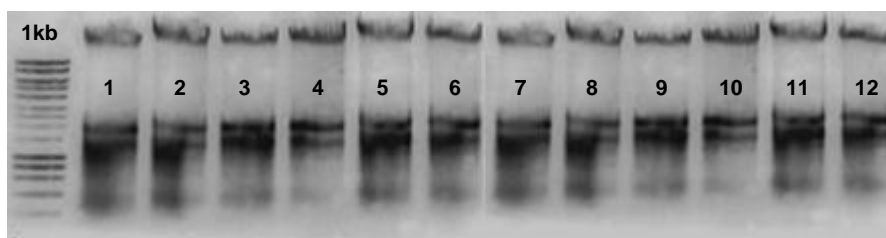
**Bảng 1. Trình tự các môi được sử dụng trong nghiên cứu**

TT	Tên môi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Gen đích	Kích thước
1	GoIS3	F- TGCTGGCATGTTTGTATTTGAG R- TGGTGGGATAGGCTTGTAAC	Galactinol Synthase 3	142
2	RHL41	F- AACTGCTTGATGCTCCTCTC R- AAGGTCTCCTCCTCCATTA	Responsive to high light 41	165
3	DHN1	F- ACACCGATGAGGTGGAGGTA R- AATCCTCGAAGTGGGCTCT	Dehydrin 1	149
4	bHLH102	F- AGGCTCGACACAGACAATTC R- GACGATGACGACGATGATGAA	bHLH transcription factor bHLH102	161
5	DREB26	F- CCAGAGCCAAACAAAGCAATAC R- GGGTGAATAAGAGCCTAACC	Dehydration response element-binding protein 26	151
TT	Tên môi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Gen tham khảo	Kích thước
1	TBP	F- GGCGGATCAAGTGTGGAAGGGAG R- ACGCTTGGGATTGTATTCGGCATT	TATA-box binding protein gene	166

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Tách chiết và kiểm tra chất lượng RNA

Mẫu lá của 3 dòng chè ở các điều kiện: đối chứng (không xử lý hạn), xử lý hạn 12h, 24h và 72h được dùng để tách chiết RNA tổng số. Tách chiết RNA chè theo quy trình của Muoki (2012) cho kết quả tốt, RNA thu được nguyên vẹn. Tiếp theo, RNA tổng số được làm sạch để loại bỏ các protein, ion muối và các tạp chất khác, sau đó xử lý với enzym DNase để loại bỏ các sợi DNA mạch đôi. Kết quả sau đó được kiểm tra lại bằng điện di trên gel agarose (Hình 1).

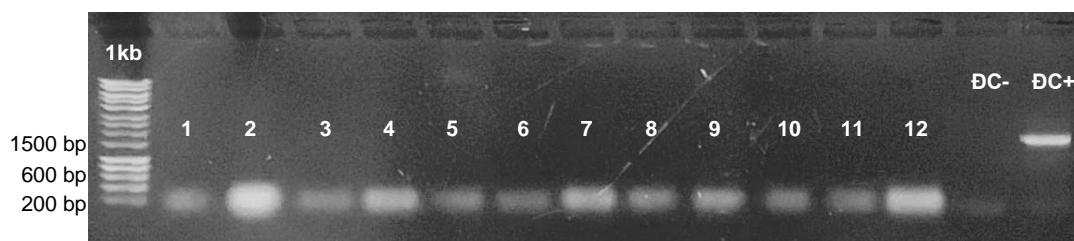


**Hình 1. Kết quả kiểm tra ARN tổng số trên gel agarose**

Ladder 1kb, mẫu ARN của các dòng chè được đánh số theo thứ tự từ 1 đến 12

Để khẳng định các mẫu RNA tổng số đã được loại bỏ hoàn toàn sợi DNA mạch đôi, phản ứng PCR được thực hiện với mỗi  $\beta$ -tubulin. Gen  $\beta$ -tubulin trong hệ gen có kích thước khá lớn, với nhiều intron có kích thước khác nhau, nhưng sau quá trình phiên mã, các intron được loại bỏ, kích thước của gen này còn khoảng 1344bp (Wu *et al.*, 2016). Cặp mỗi nhân gen  $\beta$ -tubulin đã được thiết kế để khuếch đại gen này với kích thước khoảng 2000 bp khi vẫn còn intron (nếu sợi khuôn là DNA) và chỉ dài hơn 600bp khi đã loại bỏ intron (nếu sợi khuôn là cDNA). Kết quả cho thấy, sau khi xử lý với enzym DNase, RNA của các mẫu đã sạch hoàn toàn, không còn lẫn DNA (Hình 2).

Độ tinh sạch của RNA cũng được kiểm tra, kết quả thu được tỷ lệ A260/280 và OD260/OD230 của 12 mẫu lần lượt nằm trong khoảng 1,8-1,9 và 1,9-2,1 cho thấy RNA tổng số thu được là tinh sạch. Nồng độ RNA tổng số ở các mẫu nằm trong khoảng >300-1000 ng/ $\mu$ L, đạt yêu cầu cho các thí nghiệm tiếp theo.



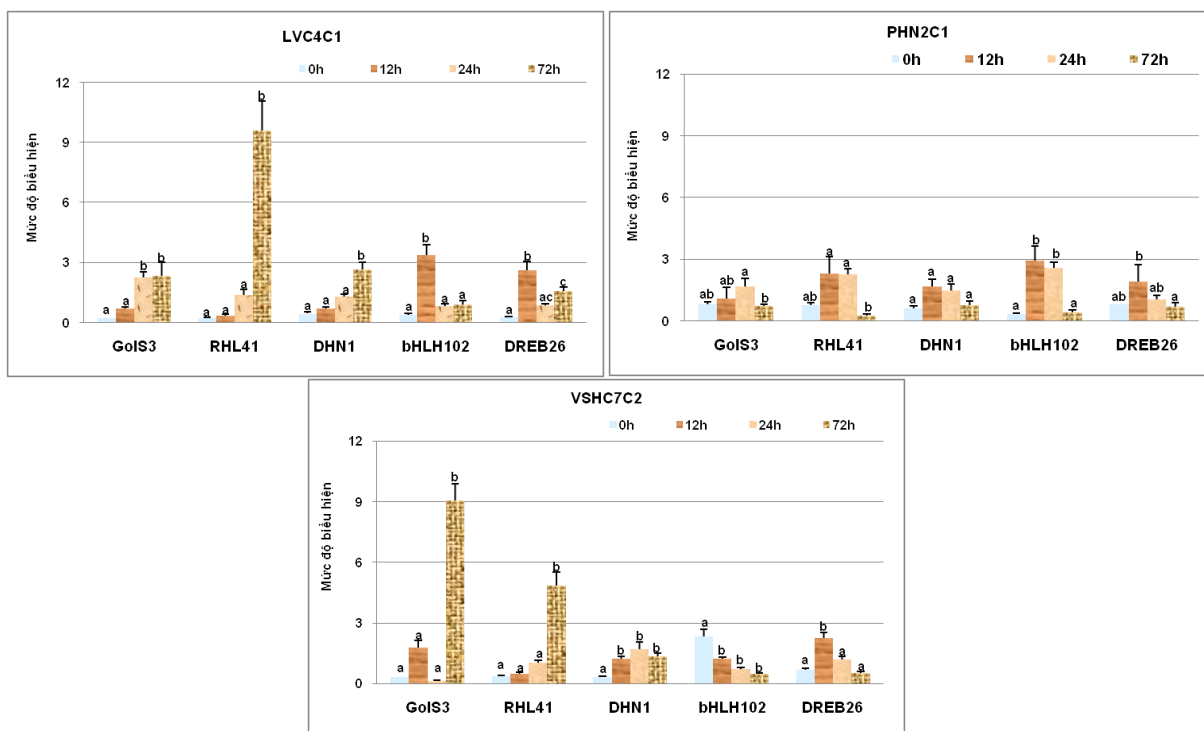
**Hình 2. Kết quả kiểm tra RNA bằng PCR với mỗi  $\beta$ -tubulin**

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1%. Ladder 1kb; mẫu RNA của các dòng chè được đánh số theo thứ tự từ 1 đến 12; DC-: Đối chứng âm (không có đoạn khuôn); DC+: Đối chứng dương (đoạn khuôn là DNA của giống chè tím Nhật Bản)

### Đánh giá mức độ biểu hiện của 5 gen đích

Chúng tôi lựa chọn 05 gen đích liên quan đến khả năng chịu hạn dựa vào các kết quả nghiên cứu trước đây. Sự biểu hiện tăng của các gen *Gols3*, *RHL41*, *bHLH102*, *DHN1* và *DREB26* trong phản ứng với điều kiện hạn đã được báo cáo (Samarina *et al.*, 2020). Trong nghiên cứu này, gen *CsTBP* (TATA-box binding protein gene) được sử dụng làm gen tham chiếu. Gen *CsTBP* đã được chứng minh là một trong các gen tham chiếu có sự biểu hiện ổn định ở các mô, các giai đoạn phát triển của lá và dưới một số điều kiện kích thích ở các giống chè khác nhau (Wu *et al.*, 2016).

Hầu hết các gen trong nghiên cứu này đều có mức biểu hiện tăng ở các dòng chè tại các thời điểm thu mẫu sau xử lý hạn so với mẫu đối chứng (không xử lý hạn). Gen *RHL41* biểu hiện mạnh nhất ở dòng chè *LVC4C1*, trong khi đó, gen *Gols3* biểu hiện mạnh nhất ở dòng *VSHC7C2* sau 72h xử lý hạn (Hình 3).



**Hình 3. Mức độ biểu hiện của 05 gen liên quan đến khả năng chịu hạn ở 03 dòng chè LVC4C1, PHN2C1 và VSHC7C2 ở các thời điểm xử lý hạn: 0h, 12h, 24h và 72h (lần lượt từ trái sang phải)**

Các chữ cái khác nhau biểu hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các thời điểm xử lý của cùng 1 gen với  $P < 0,05$

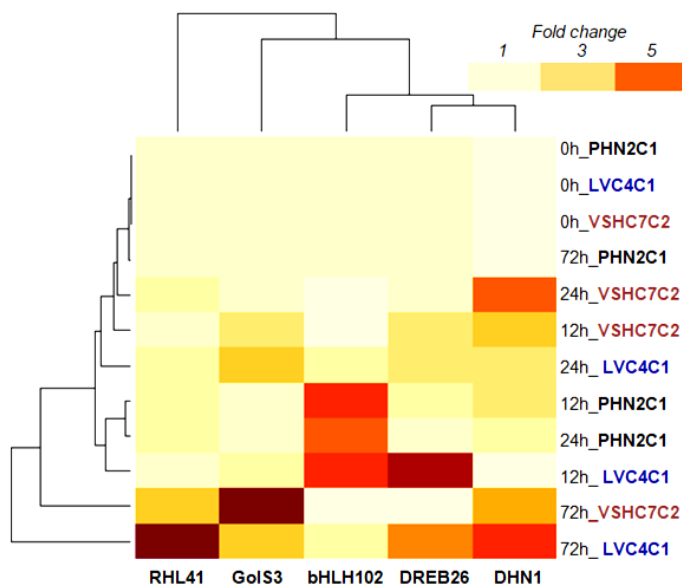
Để so sánh mức độ biểu hiện mạnh hay yếu của các gen ở từng dòng chè và giữa các dòng chè, mức độ biểu hiện tương đối của các gen đích ở thời gian xử lý hạn 0h (đối chứng) được đưa về giá trị là 1. Kết quả cho thấy, ở dòng chè LVC4C1, gen DHN1, GoIS3 và RHL41 biểu hiện mạnh nhất sau 72h xử lý (tăng lần lượt là 5,9; 9,25 và 39,38 lần), trong khi hai gen bHLH102 và DREB26 biểu hiện mạnh nhất sau 12h xử lý hạn (tăng lần lượt là 8,65 và 9,35 lần) (Hình 4). Tương tự, ở dòng chè VSHC7C2, 03 gen DHN1, GoIS3 và RHL41 biểu hiện mạnh nhất sau 72h xử lý (tăng lần lượt là 3,93, 28,19 và 12,84 lần), gen DREB26 biểu hiện mạnh nhất sau 12h xử lý (tăng 3,19 lần), trái lại, gen bHLH102 biểu hiện giảm ở tất cả các thời gian xử lý 12h, 24h và 72h (giảm lần lượt là 0,53, 0,32 và 0,20 lần). Không giống hai dòng chè trên, các gen liên quan đến chịu hạn có kiểu biểu hiện khác ở dòng PHN2C1. Cụ thể, 04 gen RHL41, DHN1, bHLH102 và DREB26 biểu hiện mạnh nhất sau 12h xử lý hạn, giảm dần sau 24h và 72h xử lý, trong khi gen GoIS3 chỉ biểu hiện tăng sau 24h xử lý (tăng 2,03 lần).

Galactinol synthase (GoIS) đóng vai trò quan trọng và không thể thiếu trong các bước khởi đầu và quan trọng trong việc hình thành con đường sinh tổng hợp raffinose, có chức năng như chất bảo vệ thẩm thấu trong tế bào thực vật (Salvi *et al.*, 2020). Kết quả nghiên cứu của Samarina và đồng tác giả (2020) đã xác nhận cơ chế bảo vệ salicylate khỏi sự tấn công của các gốc hydroxyl qua trung gian galactinol và raffinose là rất quan trọng đối với chống chịu hạn và lạnh ở cây chè.

bHLH (Basic helix-loop-helix) là một trong những họ nhân tố phiên mã quan trọng nhất và lớn nhất ở thực vật, đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa sinh trưởng và phát triển, phản ứng với stress. Ở cây *A. thaliana*, gen bHLH102 mã hóa cho một protein tín hiệu và kết quả nghiên cứu của Samarina và đồng tác giả (2020) đã xác nhận chức năng gen này là cần thiết ở cây chè.

DHN đã được chứng minh là gen downstream của gen CBFs và được điều hòa biểu hiện tăng trong điều kiện stress hạn và lạnh. Protein dehydrin (DHN) rất quan trọng đối với ổn định màng và ngăn ngừa sự kết tụ protein (Nguyen Hong Chien, 2016).

Samarina và đồng tác giả (2020) báo cáo rằng gen GoIS3, bHLH102 và DHN1 được cảm ứng bởi các kích thích căng thẳng và cho thấy mối tương quan tích cực đáng kể với khả năng chống chịu của cây đối với cả stress lạnh và hạn, trái lại, RHL41 và DREB26 chỉ được điều hòa biểu hiện tăng ở điều kiện hạn. Kết quả này phù hợp với các kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi khi tất cả 05 gen đều biểu hiện tăng ở điều kiện hạn. Ở dòng chè LVC4C1, các gen RHL41, DHN1, bHLH102 và DREB26 biểu hiện tăng ở tất cả các thời điểm xử lý hạn và tăng mạnh nhất sau 72h, khi so sánh với hai dòng chè PHN2C1 và VSHC7C2.



**Hình 4. Biểu đồ so sánh mức độ biểu hiện tương đối của 05 gen liên quan đến chịu hạn sau 0h, 12h, 24h và 72h xử lý với PEG6000 ở 03 dòng chè LVC4C1, PHN2C1 và VSHC7C2**

DREB26 là một đại diện của họ gen AP2/ERF, làm trung gian điều hòa sự phiên mã của các gen phản ứng với stress thâm thấu (Parmar *et al.*, 2019). DREB26 thuộc nhóm phụ A5, mã hóa cho các protein ức chế (repressor proteins) để ngăn cản sự biểu hiện của các yếu tố phiên mã DREB khác. Điều này có nghĩa gen DREB26 có thể ngăn chặn các gen bảo vệ và các gen được cảm ứng bởi stress khi ở điều kiện bình thường. Trong nghiên cứu này, gen DREB26 biểu hiện giảm sau 24h và 72h xử lý hạn ở cả hai dòng chè PHN2C1 và VSHC7C2.

RHL41 (liên quan đến zinc-finger protein Zat12), là một đại diện cho một nhóm nhỏ gen có phản ứng với nhiều stress môi trường khác nhau. Một số tác giả báo cáo rằng Zat12 hoạt động như một chất ức chế phiên mã CBF. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mức độ biểu hiện của RHL41 tăng lên mạnh mẽ trong thời gian xử lý hạn, cho thấy gen này có thể có chức năng cụ thể đối với phản ứng với stress hạn ở cây chè.

Mức độ biểu hiện tương đối của tất cả 05 gen đều tăng ở dòng chè LVC4C1 có thể liên quan đến khả năng chịu hạn tốt hơn của dòng chè này so với hai dòng chè PHN2C1 và VSHC7C2. Khi phân tích 11 chỉ tiêu giải phẫu cấu trúc lá để đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng chè, dòng LVC4C1 cũng biểu hiện khả năng chịu hạn tốt hơn (giá trị hàm thành viên trung bình đạt 0,66) khi so sánh với hai dòng chè PHN2C1 (0,5) và VSHC7C2 (0,34).

## KẾT LUẬN

Mức độ biểu hiện của 05 gen liên quan đến khả năng chịu hạn khác nhau ở cùng một dòng chè và cũng khác nhau giữa các dòng chè. Đối với dòng chè LVC4C1, mức độ biểu hiện tương đối của 05 gen đều tăng ở tất cả các thời điểm xử lý, trong khi chỉ có 2 trong số 5 gen có mức độ biểu hiện tương đối tăng ở tất cả các thời điểm xử lý ở hai dòng chè PHN2C1 và VSHC7C2. Ngoài ra, trong ba dòng chè nghiên cứu, dòng LVC4C1 có 4/5 gen (RHL41, DHN1, bHLH102 và DREB26) có mức độ biểu hiện tương đối tăng mạnh nhất sau 72h xử lý. Những kết quả này có thể liên quan đến khả năng chịu hạn của dòng chè LVC4C1 tốt hơn so với hai dòng chè PHN2C1 và VSHC7C2.

**Lời cảm ơn:** Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài "*Nghiên cứu chọn tạo giống chè mới và giải pháp kỹ thuật canh tác phù hợp cho sản xuất hàng hóa tại một số vùng trồng chính*".

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cheruiyot EK, Mumera LM, Ng'etich WK, Hassanali A and Wachira FN (2010). High fertilizer rates increase susceptibility of tea to water stress. *J Plant Nutr*, 33, 115–129.
- Ridder M (2024). Leading tea exporters worldwide 2023. <https://www.statista.com/statistics/264189/main-export-countries-for-tea-worldwide/>
- Hu Z, Ban Q, Hao J, Zhu X, Cheng Y, Mao J, Lin M, Xia E, Li Y (2020). Genome-wide characterization of the C-repeat binding factor (CBF) Gene family involved in the response to abiotic stresses in tea plant (*Camellia sinensis*). *Front Plant Sci*, 11:921.
- Liu SC, Jin JQ, Ma JQ, Yao MZ, Ma CL, Li CF, *et al.* (2016). Transcriptomic analysis of tea plant responding to drought stress and recovery. *PLoS ONE* 11:e0147306.

- Livak KJ, Schmittgen TD (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-DDCT method. *Methods*, 25(4): 402-408.
- Muoki RC, Paul A, Kumari A, Singh K, Kumar S (2012). An improved protocol for the isolation of RNA from roots of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Mol Biotechnol*, 52(1):82-8.
- Nguyen Hong Chien (2016). Eucalyptus DREB regulation pathway: control of abiotic stress tolerance, plant development and wood formation. *PhD dissertation. LRSV Research Laboratory in Plant Sciences, Paul Sabatier-Toulouse III*.
- Parmar R, Seth R, Singh P, Singh G, Kumar S, and Sharma RK (2019). Transcriptional profiling of contrasting genotypes revealed key candidates and nucleotide variations for drought dissection in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze. *Sci Rep*, 9, 1-12.
- Salvi P, Kamble NU, Majee M (2020). Ectopic over-expression of ABA-responsive Chickpea galactinol synthase (CaGolS) gene results in improved tolerance to dehydration stress by modulating ROS scavenging. *Environ Exp Bot*, 171, 103957.
- Samarina LS, Bobrovskikh AV, Doroshkov AV, Malyukova LS, Matskiv AO, Rakhmangulov RS, Koninskaya NG, Malyarovskaya VI, Tong W, Xia E, Manakhova KA, Ryndin AV and Orlov YL (2020). Comparative expression analysis of stress-inducible candidate genes in response to cold and drought in tea plant [*Camellia sinensis* (L.) Kuntze]. *Front Genet*, 11:611283.
- Van Ho B, Nanseki T & Chomei Y (2019). Profit efficiency of tea farmers: case study of safe and conventional farms in Northern Vietnam. *Environment, Development and Sustainability*, 21, 1695-1713.
- Wu ZJ, Tian C, Jiang Q *et al.* (2016). Selection of suitable reference genes for qRT-PCR normalization during leaf development and hormonal stimuli in tea plant (*Camellia sinensis*). *Sci Rep*, 6, 19748.

## EXPRESSION OF SOME GENES RELATED TO DROUGHT TOLERANCE IN SOME TEA LINES IN PHU THO

Nguyen Hong Chien<sup>1\*</sup>, Luu Ngoc Quyen<sup>1</sup>, Nguyen Thi Kim Linh<sup>1</sup>, Mai Thi Phuong Nga<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Northern Mountainous Agriculture and Forestry Science Institute

<sup>2</sup>University of Science and Technology of Hanoi, Vietnam Academy of Science and Technology

### SUMMARY

Based on previous results, five genes (GolS3, RHL41, bHLH102, DHN1 and DREB26) related to drought tolerance were selected to analyze gene expression in three tea lines grown in Phu Tho under artificial drought conditions. 1-year tea plants of the tea lines LVC4C1, PHN2C1 and VSHC7C2 were treated with the PEG 6000 20% (w/v) solution for 0h (control), 12h, 24h and 72h. After drought treatments, the 4<sup>th</sup>-5<sup>th</sup> leaves were collected to extract the total RNA. The qRT-PCR results showed that all tested genes were significantly upregulated in response to drought in tea plants. The expression levels of these genes were different in the same tea line and among three tea lines. In the LVC4C1 line, the relative expression levels of 5 genes increased at all treatment times, while only 2 out of 5 genes had relative expression levels increased at all treatment times in PHN2C1 and VSHC7C2 lines. In addition, among the three tea lines, LVC4C1 line had 4/5 genes (RHL41, DHN1, bHLH102 and DREB26) with the strongest relative expression level after 72 hours of the drought treatment. These results may be related to the better drought tolerance of LVC4C1 line than PHN2C1 and VSHC7C2 lines.

**Keywords:** Tea plant, drought tolerance, gene expression level, qRT-PCR, transcription factor.

---

\* Author for correspondence: Tel. 0914788108; Email: donanvnn@yahoo.com