

Sự biểu hiện các gen điều hòa sinh tổng hợp fructose, glucose và sucrose trong quá trình phát triển trái dưa hoàng kim (*Cucumis melo* L.)

Nguyễn Trần Đông Phương*, Trần Tấn Đạt, Thiều Hồng Huệ, Lao Đức Thuận, Lê Huyền Ái Thúy

Trường Đại học Mở TP Hồ Chí Minh, 35-37 Hồ Hảo Hớn, phường Cầu Ông Lãnh, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/3/2023; ngày chuyển phân biện 5/3/2023; ngày nhận phân biện 30/3/2023; ngày chấp nhận đăng 5/4/2023

Tóm tắt:

Dưa hoàng kim thường được sử dụng làm trái cây tráng miệng do có vị ngọt và hương thơm đặc trưng. Ba nhóm đường rất quan trọng quyết định chất lượng trái gồm fructose, glucose và sucrose. Trong bài báo này, chúng tôi khảo sát hàm lượng của fructose, glucose và sucrose, đồng thời nghiên cứu sự biểu hiện của các gen *AIN2*, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3*, *SPS2*, *SPPI* trong quá trình phát triển trái. Kết quả cho thấy, sự tăng trưởng cây và trái dưa hoàng kim được chia thành ba giai đoạn: tăng trưởng chậm, tăng trưởng nhanh và trưởng thành. Trong giai đoạn trưởng thành của trái (35 ngày), pH của thịt trái dưa là 5,13, độ Brix 4,44, hàm lượng fructose 25,20 mg/10 g TLT (trọng lượng tươi), glucose 62,00 mg/10 g TLT và sucrose 39,27 mg/10 g TLT. Ở vỏ trái, mức độ biểu hiện gen *AIN2* cao nhất ở ngày 35, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3* và *SPS2* ở ngày 21, *SPPI* cao nhất ở ngày 28. Ở thịt trái, mức độ biểu hiện gen *AIN2* cao nhất ở ngày 14, *SUS1*, *SUS2* và *UGE3* ở ngày 35, *SPPI* cao nhất ở ngày 21 và *SPS2* cao nhất ở ngày 28. Trong nghiên cứu này, chúng tôi ghi nhận được sự biểu hiện của các gen tham gia vào con đường điều hòa sự tổng hợp fructose, glucose và sucrose trong quá trình phát triển của dưa hoàng kim.

Từ khóa: *Cucumis melo* L., dưa hoàng kim, fructose, glucose, sucrose.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

Evaluation of the expression of fructose, glucose and sucrose synthesis-related genes in developing golden melon (*Cucumis melo* L.)

Tran Dong Phuong Nguyen*, Tan Dat Tran, Hong Hue Thieu, Duc Thuan Lao, Huyen Ai Thuy Le

Ho Chi Minh City Open University, 35-37 Ho Hao Hon Street, Cau Ong Lanh Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 2 March 2023; revised 30 March 2023; accepted 5 April 2023

Abstract:

Golden melon (*Cucumis melo* L.) has been used as a dessert fruit due to its sweet flavour as well as its typical odour. The quality of golden melon is mostly determined by the three main sugar contents, including fructose, glucose and sucrose. Herein, we investigated the contents of fructose, glucose and sucrose in developing melon fruit, as well as the expression of *AIN2*, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3*, *SPS2*, *SPPI*, related to the accumulation of sugar contents. The results show that the growth of the plant and its fruit is divided into three stages: slow growth, rapid growth, and mature stage. At the mature stage (35 days), the pH, Brix, fructose, glucose and sucrose content of mesocarp were 5.13, 4.44, 25.20 mg/10g FW (fresh weight), 62.00 mg/10 g FW and 39.27 mg/10 g FW, respectively. On the epicarp, the expression of *AIN2* reached the highest peak on day 35, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3*, *SPS1* on day 21, *SPS2* on day 28. In summary, we successfully evaluated the expression of sucrose synthesis-related genes in golden melon.

Keywords: *Cucumis melo* L., fructose, glucose, golden melon, sucrose.

Classification numbers: 1.6, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: phuong.ntd@ou.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Sự tích lũy đường là tiến trình quan trọng để xác định chất lượng trái, được kiểm soát bởi hai quá trình: chuyển vị đường và trao đổi chất trong quá trình phát triển trái. 53 gen có liên quan đến quá trình chín trái và sự tích lũy đường (SNPs) đã được nghiên cứu [1]. Ở họ Bầu bí, có 3 loại đường chính gồm fructose, glucose and sucrose được dự trữ trong không bào của các tế bào nhu mô trái [2, 3]. Tuy nhiên, hàm lượng đường của các loài *Cucumis* phụ thuộc vào kiểu gen và giai đoạn phát triển trái [4]. Các loài dưa hoàng đại tích lũy hàm lượng đường tổng số cao sẽ tích lũy nhiều sucrose. Trong khi đó, các loài có hàm lượng đường thấp sẽ không tích lũy sucrose [4]. Trong vài loài, sự tích lũy sucrose kèm theo giảm hàm lượng glucose và fructose. Điều này cho thấy sự tích lũy sucrose được tổng hợp từ glucose và fructose [5]. Tỷ lệ của 3 loại đường này được xác định chủ yếu bởi 3 họ enzyme invertases (AINs), sucrose synthase (SuSy) và sucrose phosphate synthase (SPSs) [6]. Sự tích lũy sucrose ở trái phụ thuộc vào quá trình chuyển hóa các carbohydrate trong trái và được cung cấp từ ba nguồn chính: (1) sản phẩm của quá trình quang hợp; (2) quá trình dị hóa các raffinose family oligosaccharides (RFOs); (3) tái tổng hợp sucrose. Các gen chủ chốt trong quá trình sinh tổng hợp sucrose gồm *AIN2*, *SPS2* và *SPP1* [7].

Theo nghiên cứu của N. Dai và cs (2011) [2], mức độ biểu hiện của gen *AIN2* giảm mạnh ở trái dưa 10-40 ngày sau khi thụ phấn. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của M.O. Schemberger và cs (2020) [7], mức độ biểu hiện của gen *AIN2* đạt đỉnh ở ngày 20 sau khi thụ phấn. Sucrose synthase (SuSy) là enzyme chìa khóa xúc tác trong con đường sinh tổng hợp và thủy giải sucrose. Hoạt động của enzyme này trên sự tổng hợp trực tiếp sucrose tốt nhất ở pH 7-9 và sucrose hydrolysis ở pH 6,2-7,3. Tuy nhiên, ở trái dưa, SuSy không đóng vai trò quan trọng trong sự tích lũy sucrose [8]. Sucrose phosphate synthase (SPS) là enzyme chính trong tổng hợp sucrose. Enzyme này cố định và hoạt động trong tế bào chất của mô quang hợp, cũng như ở các cơ quan bẽ (sink) như hạt hoặc trái. Có sự liên hệ chặt chẽ giữa hoạt động của SPS và sự tích lũy sucrose ở trái cà chua và trái dưa [8]. SPS gia tăng mạnh ở cuối giai đoạn phát triển trái dưa, cùng với sự giảm hoạt động của invertase, dẫn đến sự tích lũy mạnh sucrose [8]. Gen *SPS1* tăng mức độ biểu hiện rất mạnh, *SPS2* và *SPP1* tăng nhẹ ở ngày 30 sau thụ phấn [2]. Tuy nhiên theo nghiên cứu của M.O. Schemberger và cs (2020) [7], mức độ biểu hiện của gen *SPP1* tăng rất cao ở ngày 20 sau thụ phấn, mức độ biểu hiện của gen *SPS2* đạt đỉnh ở ngày 30 sau khi thụ phấn.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Hạt dưa hoàng kim *Cucumis melo* L. của Công ty TNHH một thành viên hạt giống Rạng Đông được trồng tại vườn chú Chính, phường Phú Mỹ, TP Thủ Dầu Một, tỉnh Bình Dương (nay là phường Bình Dương, TP Hồ Chí Minh).

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm: Phòng thí nghiệm Công nghệ tế bào thực vật và Sinh học phân tử, Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Mở TP Hồ Chí Minh.

Thời gian thực hiện: Từ tháng 2/2021 đến tháng 8/2022.

2.3. Phương pháp

Khảo sát sự tăng trưởng của cây:

Mục đích thí nghiệm: Khảo sát hình thái sự sinh trưởng và phát triển của cây dưa hoàng kim.

Phương pháp tiến hành: Trước khi gieo trồng 15 ngày, các luống đất trồng được xử lý bằng CaCO_3 và bón lót với NPK tỷ lệ 30:10:10. Hạt dưa hoàng kim được ngâm trong nước 40°C trong 2 giờ, sau đó gieo trong bầu đất. Sau 7 ngày, các cây dưa hoàng kim đã có 2 lá thật được chuyển từ bầu đất sang trồng trực tiếp trên luống. Phân NPK tỷ lệ 30:10:10 được bón bổ sung 15 ngày/lần.

Chỉ tiêu theo dõi: Ở các giai đoạn tăng trưởng (14, 28, 42, 56, 70 ngày) sau khi nảy mầm, cây được đo chiều dài, đường kính thân, đường kính lá thứ 10.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức (cây hoàng kim 14 ngày được sử dụng làm đối chứng, 28, 42, 56, 70 ngày) với 5 lần lặp lại và mỗi lần lặp lại 2 cây/nghiệm thức.

Xử lý thống kê: Kết quả thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Statgraphics 3,0, sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05 phân hạng Duncan.

Khảo sát sự tăng trưởng trái dưa hoàng kim:

Mục đích thí nghiệm: Khảo sát hình thái sự sinh trưởng và phát triển của trái dưa hoàng kim.

Phương pháp tiến hành: 1 ngày trước khi cây dưa hoàng kim bắt đầu ra hoa thì hoa cái được bao lại bằng túi giấy wax. Tiến hành thụ phấn trực tiếp bằng cách dùng tăm bông chứa phấn hoa thụ lên hoa cái. Tiếp tục bao lại hoa cái bằng túi giấy wax. Sau khi thụ phấn, cánh hoa héo và bầu noãn phát triển thì bỏ túi giấy wax, bao lại bằng túi lưới bao trái.

Chỉ tiêu theo dõi: Ở các giai đoạn tăng trưởng (7, 14, 21, 28, 35 ngày) sau thụ phấn, trái được cân trọng lượng, đo đường kính, đo độ dày thịt trái.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức (trái dưa hoàng kim 7 ngày được sử dụng làm đối chứng, 14, 21, 28, 35 ngày) với 5 lần lặp lại và mỗi lần lặp lại 2 trái/cây/nghiệm thức.

Xử lý thống kê: Kết quả thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Statgraphics 3,0, sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05 phân hạng Duncan.

Khảo sát pH, độ Brix, hàm lượng sucrose, glucose và fructose trong quá trình tăng trưởng trái:

Mục đích thí nghiệm: Tìm hiểu sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh lý trong quá trình tăng trưởng trái.

Phương pháp tiến hành: pH, độ Brix, hàm lượng đường sucrose, glucose và fructose.

Chỉ tiêu theo dõi: pH, độ Brix, hàm lượng sucrose, glucose, fructose.

- pH: 3 g thịt trái ở các giai đoạn tăng trưởng (7, 14, 21, 28, 35 ngày) được nghiền nhuyễn, bổ sung 3 ml nước cất 2 lần. Để yên trong 3 phút, đo độ pH thịt trái bằng máy đo pH HI 8314 Hanna, Ý.

- Độ Brix: 3 g thịt trái ở các giai đoạn tăng trưởng (7, 14, 21, 28, 35 ngày) được nghiền nhuyễn, bổ sung 3 ml nước cất 2 lần. Để yên trong 3 phút, đo độ Brix thịt trái bằng Brix kế 3000002 Sper Scientific, Mỹ.

- Hàm lượng sucrose, glucose, fructose: Mẫu thịt trái dưa hoàng kim theo các giai đoạn tăng trưởng (7, 14, 21, 28 và 35 ngày tuổi) được thu nhận theo tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9017:2011 và xác định hàm lượng sucrose, glucose, fructose theo tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8906:2011 (EN 12630:1999). Kết quả phân tích hàm lượng đường fructose, glucose và sucrose được tính trên 10 g TLT của thịt trái.

Bổ trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức (cây dưa hoàng kim 7 ngày được sử dụng làm đối chứng, 14, 21 và 35 ngày) với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 1 mẫu/trái/nghiệm thức.

Xử lý thống kê: Kết quả thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Statgraphics 3,0, sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 0,05 phân hạng Duncan.

Khảo sát sự hiện diện và mức độ biểu hiện của các gen mã hóa các enzyme chủ chốt trong con đường tạo đường ở vỏ và thịt trong quá trình tăng trưởng trái:

- Thu nhận DNA bộ gen: DNA của mẫu thí nghiệm được thu nhận bằng phương pháp Phenol/Chloroform pH 8 [9] bổ sung proteinase K (1 mg/ml). Mẫu được bảo quản trong 100 µl TE, ở -20°C.

- Phương pháp PCR: Sau khi DNA được thu nhận, nghiên cứu sẽ tiến hành khảo sát sự hiện diện của các gen với các cặp mồi (bảng 1) và thành phần phản ứng bao gồm: 7,5 µl Master mix; 0,5 µl mồi xuôi; 0,5 µl mồi ngược, 1 µl DNA sau khi tách và 5,5 µl nước không chứa nuclease. Đồng thời, để kiểm tra thao tác chứng âm sẽ được thay bằng lượng nước không chứa nuclease.

Bảng 1. Trình tự và kích thước của các primer.

Ký hiệu	Mồi 5' - 3'	Kích thước (bp)	Tài liệu tham khảo
CLO	F - GGTTC AAGTCCCTCTATCCC	460	[10]
	R - ATTTGA AACTGGTACACGAG		
AIN2	F - CTCGATCTTGCAAAAAGCAGC	213	
	R - TTCCCAAACGCCCTAAAG		
SPS2	F - AGTTCGTTTCTTCGTTTGGCT	198	
	R - TTGGCGCTTCTTTGTGATGG		
SPP1	F - TATCGTCACTTCTCCAC	182	[7]
	R - CATGAGACGTGCTGAAGCG		
SUS1	F - AACCGTGTTCATAGCCTCCG	195	
	R - TCAGGACTTCCCAAATGCC		
SUS2	F - TCCAGATGCGAAGGGGACTA	204	
	R - ATCCGCTTTGCTTCCATGA		
UGE3	F - CTGTGGGGAGAGTGTGCT	203	
	R - GCTTCGTCGACCATAAGGA		

Độc kết quả: Sản phẩm sau khi phản ứng kết thúc sẽ tiến hành độc kết quả bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1,5%.

- Thu nhận RNA tổng số: RNA tổng của các mẫu thí nghiệm được thu nhận bằng phương pháp TRIzol (Invitrogen) và tủa bằng Isopropanol [11]. Mẫu RNA sau khi tách chiết được bảo quản trong DEPC-treated water, ở -20°C.

- Chuyển mRNA thành cDNA: RNA sẽ tiến hành chuyển mRNA thành cDNA bằng kỹ thuật Reverse Transcription PCR sử dụng bộ kit SensiFAST cDNA Synthesis Kit (Cat. No. BIO-65054) (Các thành phần phản ứng bao gồm: 4 µl 5X TransAmp Buffer, 1 µl Reverse Transcriptase, 5 µl RNA và 10 µl nước free nuclease). Phản ứng được thực hiện với chu trình nhiệt 25°C - 10 phút, 42°C - 15 phút, 85°C - 5 phút và 4°C - ∞.

- Phản ứng Realtime-PCR: cDNA trước khi sử dụng để khảo sát sự biểu hiện của các gen được tiến hành chuẩn về nồng độ 200 ng/ml. Sau đó, phản ứng Realtime-PCR được thực hiện với các thành phần bao gồm: 5,5 µl Syber Green; 0,25 µl mồi xuôi; 0,25 µl mồi ngược, v µl cDNA sau khi tách và v µl nước không chứa nuclease sao cho tổng thể tích phản ứng là 10 µl. Đồng thời, chứng âm cũng được thực hiện thay lượng cDNA bằng lượng nước không chứa nuclease với chu trình phản ứng như sau: 95°C - 2 phút; 95°C - 5 giây, 60°C - 10 giây, 72°C - 30 giây trong 40 chu kỳ. Cũng trong thời gian đó, tiến hành phân tích melting-curve ghi nhận ánh sáng huỳnh quang được phát ra ở 60 đến 90°C, 0,1°C/s.

Sau khi phản ứng kết thúc, sản phẩm Realtime-PCR một lần nữa được tiến hành điện di trên gel agarose 1,5% để so sánh kết quả. Sau đó, mẫu sẽ được gửi giải trình tự tại Công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa.

- Phân tích kết quả: Phân tích mối tương quan giữa sự biểu hiện của các gen điều hòa sinh tổng hợp sucrose ở vỏ và thịt trái dưa hoàng kim trên phương pháp định lượng tương đối 2^{-ΔΔCt} của K.J. Livak và cs (2001) [12] với chứng nội CLO.

3. Kết quả

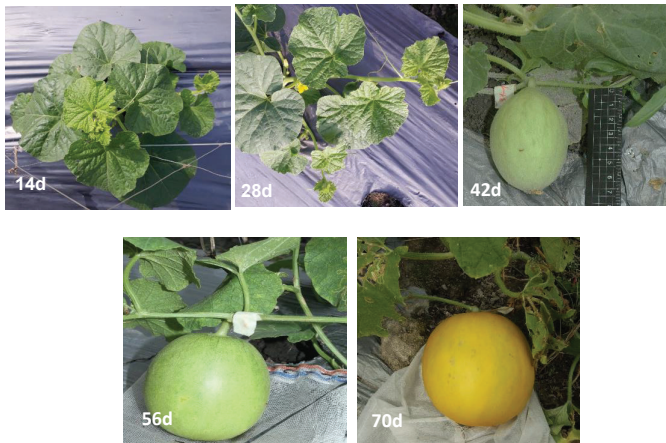
3.1. Sự tăng trưởng của cây dưa hoàng kim

Sau 42 ngày trồng, chiều dài thân (92,60 cm), đường kính thân (1,02 cm), đường kính lá thứ 10 (16,46 cm) của cây dưa hoàng kim tăng rất nhanh (bảng 2, hình 1). Hoa đực bắt đầu xuất hiện ở ngày 20 và hoa cái xuất hiện ở ngày 26 (hình 2).

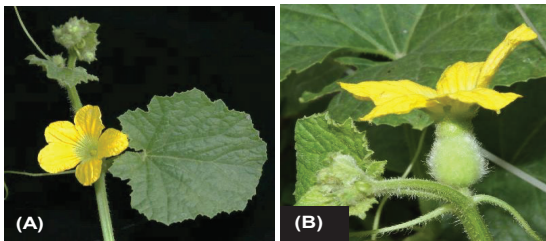
Bảng 2. Sự tăng trưởng của cây dưa hoàng kim.

Nghiệm thức (ngày)	Chiều dài thân (cm)	Đường kính thân (cm)	Đường kính lá thứ 10 (cm)
14	2,44 ^a	0,49 ^c	0,00 ^e
28	62,80 ^b	0,90 ^b	13,00 ^b
42	92,60 ^a	1,02 ^a	16,46 ^a
56	99,20 ^a	1,04 ^a	17,62 ^a
70	99,80 ^a	1,05 ^a	17,62 ^a
CV %	8,94	5,83	7,59

Trong cùng một cột, khác mẫu tự có khác biệt ở mức ý nghĩa 95% qua phép thử Duncan.



Hình 1. Sự tăng trưởng của cây dưa hoàng kim.



Hình 2. Hoa đực của cây dưa hoàng kim (A) sau 20 ngày và hoa cái (B) sau 26 ngày trồng.

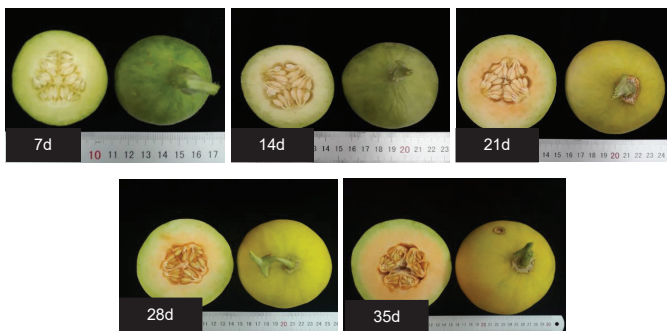
3.2. Sự tăng trưởng trái dưa hoàng kim

Ở ngày 35 sau khi thụ phấn, trọng lượng trái 914,00 g, đường kính trái 38,12 cm và độ dày thịt trái 3,15 cm đạt tối đa (bảng 3, hình 3).

Bảng 3. Sự tăng trưởng của trái dưa hoàng kim.

Nghiệm thức (ngày)	Trọng lượng trái (g/trái)	Đường kính trái (cm)	Độ dày thịt trái (cm)
7 (ĐC)	64,00 ^c	14,50 ^d	1,05 ^e
14	174,00 ^c	20,86 ^c	1,39 ^e
21	582,00 ^b	30,42 ^b	2,31 ^b
28	638,80 ^{ab}	32,16 ^{ab}	2,63 ^b
35	914,00 ^a	38,12 ^a	3,15 ^a
CV %	49,53	17,43	16,43

Trong cùng một cột, khác mẫu tự có khác biệt ở mức ý nghĩa 95% qua phép thử Duncan.



Hình 3. Sự tăng trưởng của trái dưa hoàng kim.

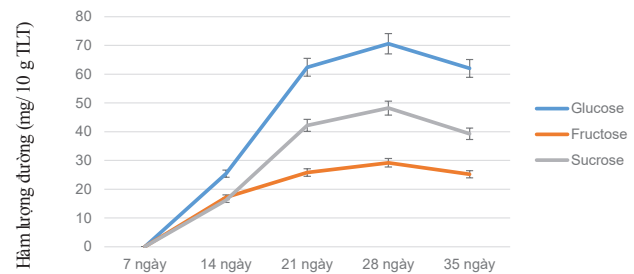
3.3. Sự thay đổi pH, độ Brix, hàm lượng sucrose, glucose và fructose trong quá trình tăng trưởng trái dưa hoàng kim

pH 5,68 cao nhất ở ngày 28, độ Brix 4,54 cao nhất ngày 21, hàm lượng sucrose 42,20 mg/10 g TLT, glucose 70,60 mg/10 g TLT và fructose 29,20 mg/10 g TLT cao nhất ở ngày 28 sau khi thụ phấn (bảng 4, biểu đồ 1). Sau đó, các chỉ tiêu sinh lý này giảm nhẹ ở ngày 35, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Bảng 4. Sự thay đổi pH, độ Brix trong sự tăng trưởng trái dưa hoàng kim.

Nghiệm thức (ngày)	pH	Brix (%)
7 (ĐC)	5,26 ^{ab}	3,06 ^b
14	4,95 ^b	3,10 ^b
21	5,43 ^{ab}	4,54 ^a
28	5,68 ^a	4,20 ^a
35	5,13 ^{ab}	4,44 ^a
CV %	7,37	12,77

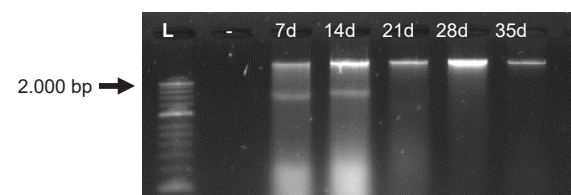
Trong cùng một cột, khác mẫu tự có khác biệt ở mức ý nghĩa 95% qua phép thử Duncan.



Biểu đồ 1. Sự thay đổi hàm lượng đường trong quá trình tăng trưởng trái dưa hoàng kim.

3.4. Khảo sát sự hiện diện và mức độ biểu hiện của các gen mã hóa các enzyme chủ chốt trong con đường tạo đường ở vỏ và thịt của quá trình tăng trưởng trái

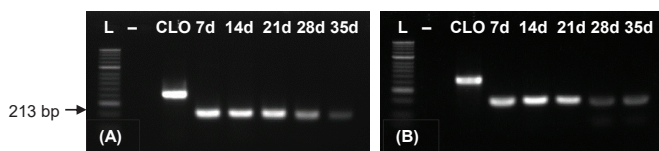
DNA bộ gen, với mục đích hướng tới việc khảo sát sự hiện diện các gen mục tiêu ở thịt trái dưa hoàng kim ở các giai đoạn ngày khác nhau, việc tách chiết DNA thành công bộ gen của dưa hoàng kim là điều kiện tiên quyết. Kết quả tách chiết được thể hiện ở hình 4: khi tách DNA bộ gen của thịt trái dưa hoàng kim từ 7, 14, 21, 28 và 35 ngày tuổi cho thấy các băng sáng rõ và có kích thước lớn hơn 2.000 bp (hình 4). Kết quả điện di cho thấy, DNA bộ gen của các mẫu được tách chiết thành công, do đó, sản phẩm tách chiết được lưu giữ và sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo.



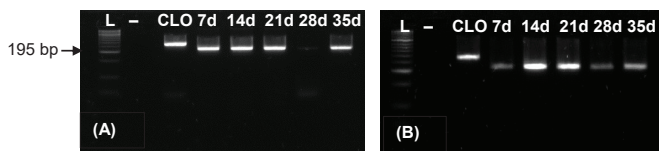
Hình 4. DNA bộ gen của thịt trái dưa hoàng kim theo thời gian 7, 14, 21, 28 và 35 ngày. L: thang, -: chứng âm.

3.5. Sự hiện diện của các gen *CLO*, *AIN2*, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3*, *SPS2* và *SPP1* trong thịt trái dưa hoàng kim theo thời gian

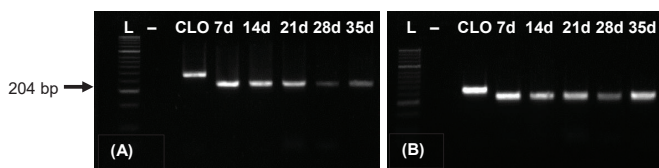
Tách chiết mRNA chuyển thành cDNA và chạy phản ứng PCR, realtime-RT PCR, sau đó điện di và giải trình tự, kết quả cho thấy có sự hiện diện của các gen *CLO* 460 bp, *AIN2* 213 bp, *SUS1* 195 bp, *SUS2* 204 bp, *UGE3* 203 bp và *SPS2* 198 bp tương ứng với các nghiên cứu trước đó (hình 5-9). Tuy nhiên, gen *SPP1* có kích thước dưới 50 bp, nhỏ hơn so với kích thước tham khảo là 182 bp (hình 10).



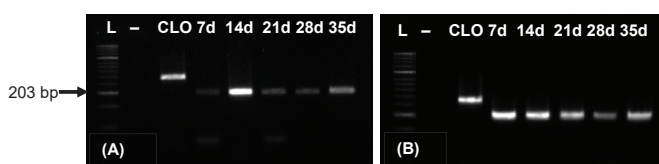
Hình 5. Sự hiện diện gen *AIN2* 213 bp PCR (A), realtime-RT PCR (B).



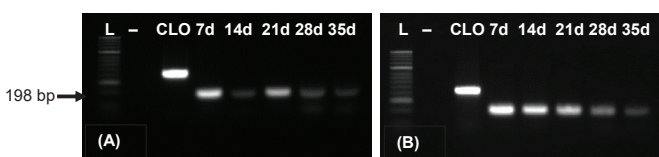
Hình 6. Sự hiện diện gen *SUS1* 195 bp PCR (A), realtime-RT PCR (B).



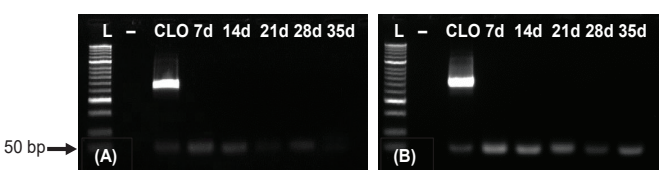
Hình 7. Sự hiện diện gen *SUS2* 204 bp PCR (A), realtime-RT PCR (B).



Hình 8. Sự hiện diện gen *UGE3* 203 bp PCR (A), realtime-RT PCR (B).



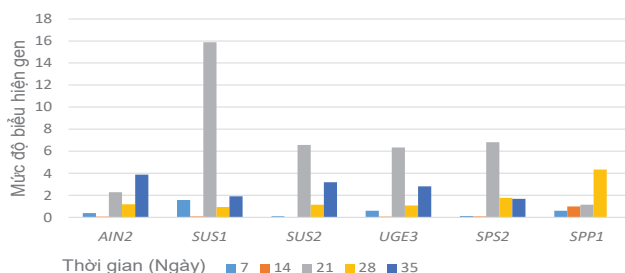
Hình 9. Sự hiện diện gen *SPS2* 198 bp PCR (A), realtime-RT PCR (B).



Hình 10. Sự hiện diện gen *SPP1* 50 bp PCR (A), realtime-RT PCR (B).

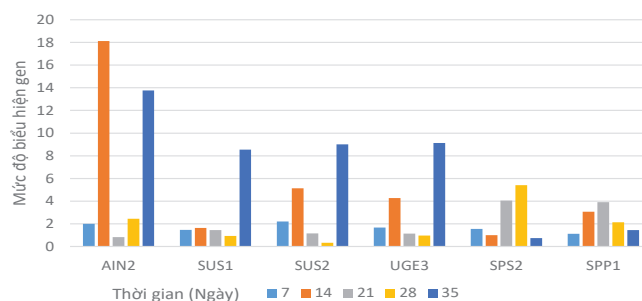
3.6. Mức độ biểu hiện của các gen *AIN2*, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3*, *SPS2* và *SPP1* trong vỏ và thịt trái dưa hoàng kim theo thời gian

Mức độ biểu hiện của các gen *AIN2* 2,28, *SUS1* 15,89, *SUS2* 6,57, *UGE3* 6,33, *SPS2* 6,82 trong vỏ trái dưa hoàng kim rất cao ở ngày 21 sau thụ phấn. Tuy nhiên, *SPP1* 4,34 trong vỏ trái dưa hoàng kim rất cao ở ngày 28 sau thụ phấn, nhưng giảm mạnh ở ngày 35 (biểu đồ 2).



Biểu đồ 2. Mức độ biểu hiện của các gen *AIN2*, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3*, *SPS2* và *SPP1* trong vỏ trái dưa hoàng kim theo thời gian 7, 14, 21, 28 và 35 ngày.

Mức độ biểu hiện các gen *AIN2* 18,12, *SUS1* 1,64, *SUS2* 5,13, *UGE3* 4,28 trong thịt trái dưa hoàng kim rất cao ở ngày 14 sau thụ phấn, nhưng giảm mạnh ở ngày 21 và tăng trở lại ở ngày 28 đến ngày 35. Còn gen *SPP1* 3,92 đạt đỉnh ở ngày 21 và *SPS2* 5,42 đạt đỉnh ở ngày 28 (biểu đồ 3).



Biểu đồ 3. Mức độ biểu hiện của các gen *AIN2*, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3*, *SPS2* và *SPP1* trong thịt trái dưa hoàng kim theo thời gian 7, 14, 21, 28 và 35 ngày.

4. Bàn luận

Sự tăng trưởng của cây dưa hoàng kim có thể chia thành ba giai đoạn: tăng trưởng chậm (0-14 ngày), tăng trưởng nhanh (14-42 ngày) và trưởng thành (42-70 ngày). Sự tăng trưởng trái dưa hoàng kim gồm ba giai đoạn, giai đoạn tăng trưởng chậm, giai đoạn tăng trưởng nhanh và giai đoạn trưởng thành, giai đoạn tích lũy các chất dinh dưỡng. Trong giai đoạn tăng trưởng chậm (0-14 ngày sau thụ phấn), trọng lượng trái, đường kính trái và độ dày thịt trái bắt đầu gia tăng. Tuy nhiên, pH, độ Brix, hàm lượng sucrose, glucose, fructose và mức độ biểu hiện *AIN2*, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3*, *SPS2* và *SPP1* tương đối thấp. Trong giai đoạn tăng trưởng

nhanh (14-28 ngày sau thụ phấn), các chỉ tiêu sinh lý này tăng rất nhanh, giúp trái tăng trưởng về trọng lượng, đường kính và độ dày thịt trái. Các gen chủ chốt *SUS1*, *SUS2*, *UGE3*, *SPS2* trong con đường tạo đường ở vỏ trái (21 ngày sau thụ phấn) gia tăng cao, giúp trái tăng trưởng nhanh trọng lượng và hàm lượng các đường fructose, glucose và sucrose. Còn các gen *AIN2*, *SUS1*, *SUS2*, *UGE3* trong thịt trái gia tăng (35 ngày sau thụ phấn) đồng thời với sự gia tăng hàm lượng các đường fructose, glucose và sucrose. Như vậy, có lẽ đường được tạo ra từ vỏ trái có thể cung cấp cho hoạt động phân chia và tăng trưởng của tế bào thịt trái. Đường được tạo ra từ thịt trái sẽ được dự trữ trong các tế bào nhu mô thịt trái trong giai đoạn tích lũy chất dinh dưỡng.

5. Kết luận

Sự tăng trưởng cây và trái dưa hoàng kim được chia thành ba giai đoạn: tăng trưởng chậm, tăng trưởng nhanh và trưởng thành. Ở trái chín ngày 35, pH của thịt trái dưa hơi acid 5,13, độ Brix 4,44, hàm lượng sucrose 39,27 mg/10 g TLT, glucose 62,00 mg/10 g TLT, fructose 25,20 mg/10 g TLT. Ở vỏ trái, mức độ biểu hiện gen *AIN2* 3,87 cao nhất ở ngày 35, *SUS1* 15,89, *SUS2* 6,57, *UGE3* 6,33 và *SPS2* 6,82 ở ngày 21, *SPPI* 4,43 cao nhất ở ngày 28. Ở thịt trái, mức độ biểu hiện gen *AIN2* 18,12 cao nhất ở ngày 14, *SUS1* 8,55, *SUS2* 9,02 và *UGE3* 9,13 ở ngày 35, *SPPI* 3,92 cao nhất ở ngày 21 và *SPS2* 5,42 cao nhất ở ngày 28.

LỜI CẢM ƠN

Kết quả nghiên cứu này là một phần thuộc đề tài nghiên cứu được cấp kinh phí bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo và Trường Đại học Mở TP Hồ Chí Minh (mã số: B2022-MBS-07). Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] C. Leida, C. Moser, C. Esteras, et al. (2015), "Variability of candidate genes, genetic structure and association with sugar accumulation and climacteric behavior in a broad germplasm collection of melon (*Cucumis melo* L.)", *BMC Genetics*, **16**, pp.1-17, DOI: 10.1186/s12863-015-0183-2.

[2] N. Dai, S. Cohen, V. Portnoy, et al. (2011), "Metabolism of soluble sugars in developing melon fruit: A global transcriptional view of the metabolic transition to sucrose accumulation", *Plant Molecular Biology*, **76**, pp.1-18, DOI: 10.1007/s11103-011-9757-1.

[3] A.Y. Shin, Y.M. Kim, N. Koo, et al. (2017), "Transcriptome analysis of the oriental melon (*Cucumis melo* L. var. *makuwa*) during fruit development", *PeerJ*, **5**, DOI: 10.7717/peerj.2834.

[4] A. Stepansky, I. Kovalski, A.A. Schaffer, et al. (1999), "Variation in sugar levels and invertase activity in mature fruit representing a broad spectrum of *Cucumis melo* genotypes", *Genetic Resources and Crop Evolution*, **46**, pp.53-62, DOI: 10.1023/A:1008636732481.

[5] B. Chrost, D. Decoteau, A. Ranwala, et al. (1997), "Changes in soluble sugar and activity of α -galactosidases and acid invertase during muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit development", *Journal of Plant Physiology*, **151**(1), pp.41-50, DOI: 10.1016/S0176-1617(97)80034-X.

[6] M. Yativ, I. Harary, S. Wolf (2010), "Sucrose accumulation in watermelon fruits: Genetic variation and biochemical analysis", *Journal of Plant Physiology*, **167**(8), pp.589-596, DOI: 10.1016/j.jplph.2009.11.009.

[7] M.O. Schemberger, M.A. Stroka, L. Reis, et al. (2020), "Transcriptome profiling of non-climacteric 'yellow' melon during ripening: Insights on sugar metabolism", *BMC Genomics*, **21**(1), pp.1-20, DOI: 10.1186/s12864-020-6667-0.

[8] N.L. Hubbard, S.C. Huber, D.M. Pharr (1989), "Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits", *Plant physiology*, **91**(4), pp.1527-1534, DOI: 10.1104/pp.91.4.1527.

[9] P. Chomczynski, N. Sacchi (1987), "Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction", *Analytical Biochemistry*, **162**(1), pp.156-159, DOI: 10.1016/0003-2697(87)90021-2.

[10] N. Haider, J. Allainguillaume, M.J. Wilkinson (2009), "Spontaneous capture of oilseed rape (*Brassica napus*) chloroplasts by wild *B. rapa*: Implications for the use of chloroplast transformation for biocontainment", *Current Genetics*, **55**, pp.139-150, DOI: 10.1007/s00294-009-0230-5.

[11] D. Simms, P. Cizdziel, P. Chomczyński (1993), "TRIzol: A new reagent for optimal single-step isolation of RNA", *Focus*, **15**(4), pp.532-535.

[12] K.J. Livak, T.D. Schmittgen (2001), "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method", *Methods*, **25**(4), pp.402-408, DOI: 10.1006/meth.2001.1262.