

QUAN HỆ DI TRUYỀN GIỮA CÁC GIỐNG DƯA CHUỘT, CÁC DÒNG TỰ PHỐI ĐƯỢC PHÂN LẬP VÀ ƯU THỂ LAI

Genetic Relationship of Cucumber Genotypes and Their Inbred Lines and Heterosis Determined by RAPD Markers

Ngô Thị Hạnh¹, Vũ Đình Hòa², Nguyễn Thị Phương Thảo², Nông Thị Huệ²,
Nguyễn Thị Thủy², Phạm Thị Thu Hằng²

¹Viện Nghiên cứu Rau Quả

² Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Địa chỉ email tác giả liên hệ: nhtue86sh@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.06.2011; Ngày chấp nhận: 18.10.2011

TÓM TẮT

Dưa chuột, *Cucumis sativus* là loài rau ăn quả có nền di truyền hẹp. Tuy nhiên, xu thế sử dụng trong sản xuất là các giống lai. Nghiên cứu này nhằm xác định khoảng cách di truyền giữa các giống và giữa các dòng dưa chuột tạo ra từ chúng bằng chỉ thị RAPD trong mối quan hệ với năng suất của các tổ hợp lai giữa các dòng tự phối. Trong số 20 mỗi RAPD sử dụng có 19 mỗi (95%) cho đa hình với tổng số 255 băng, trung bình 1,2 băng tính trên mỗi kiểu gen. Phân tích RAPD tại 20 locus, 5 nhóm di truyền chính đã được ghi nhận. Khoảng cách di truyền giữa các giống và dòng tự phối tương ứng là 0,2-0,56 và 0-0,54. Tuy nhiên, năng suất của con lai không có tương quan với khoảng cách di truyền giữa các dòng tự phối.

Từ khóa: Dưa chuột, chỉ thị phân tử RAPD, đa dạng di truyền, ưu thế lai.

ABSTRACT

Cucumber, *Cucumis sativus* is a vegetable believed to have narrow genetic diversity. However, there is a increasing trend of using cucumber hybrids for production in developing countries. This study aimed at assessing genetic distance among cucumber varieties and the derived inbred lines using RAPD markers in relation to the fruit yield of hybrid combinations among the inbred lines. Of 20 RAPD primers, 19 primers (95%) showed polymorphic patterns of PCR products. A total of 255 DNAs bands were obtained with an average of 1.2 DNA band per genotype. Five genetic groups were obtained when RAPD analysis at 20 loci. It also was indicated that a rather low genetic distance among both parental genotypes as well as among the derived inbreds, with values ranging from 0.2-0.56 and 0 - 0.54, respectively. A positive correlation between the genetic distance among inbred lines and the fruit yield of hybrids was not observed.

Keywords: Cucumber, RAPD markers, genetic distance, heterosis.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dưa chuột (*Cucumis sativus* L.) thuộc họ bầu bí (Cucurbitaceae), thuộc chi *Cucumis* là một trong những cây rau ăn quả được trồng phổ biến nhất ở nhiều nước trên thế giới, xếp thứ 4 sau cà chua, hành và cải bắp (Pitrat và cộng sự, 1999). Dưa chuột gồm nhiều loài, hầu hết có nguồn gốc từ Ấn Độ và

Trung Quốc (Staub và cộng sự, 1997). Căn cứ và các đặc điểm sinh thái và sự phân bố địa lý, các loài này được phân ra thành 6 nhóm nhỏ (Xu và cộng sự, 1994). Mặc dù có sự đa dạng về các nhóm loài nhưng trên thực tế dưa chuột trồng là loài có nền di truyền hẹp (Staub và cộng sự, 1997), hạn chế tiến bộ trong việc cải tiến các tính trạng khi lai tạo giống. Đánh giá đa dạng di truyền ở mức

phân tử của nguồn vật liệu có ý nghĩa quan trọng trong công tác lai tạo giống cây trồng, là cơ sở để chọn ra các tổ hợp lai và tiên đoán sự thể hiện ưu thế lai của các con lai, góp phần rút ngắn quá trình chọn tạo giống (Bùi Chí Bửu và Nguyễn Thị Lang, 2007)

Trong những năm gần đây, chỉ thị phân tử đã được nhiều nhà nghiên cứu sử dụng trong nghiên cứu đa dạng di truyền cũng như mối quan hệ di truyền giữa các giống dưa chuột, chẳng hạn chỉ thị RAPD (Horejsi và cộng sự, 1999; Chen và cộng sự, 2006), chỉ thị AFLP (Li và cộng sự, 2004); chỉ thị ISSR (Wang và cộng sự, 2007); và chỉ thị SSR (Danin Poleeg và cộng sự, 2001). Ở Việt Nam, trên đối tượng này việc sử dụng các chỉ thị phân tử để đánh giá sự đa dạng di truyền hay khoảng cách di truyền đã được tiến hành, tuy nhiên không nhiều với số lượng mẫu giống hạn chế. Báo cáo gần đây nhất (Nguyễn Thị Lang và cộng sự, 2007) đã phân tích quan hệ di truyền dựa trên kiểu hình và chỉ thị RAPD (6 locus) để phân nhóm của 14 mẫu giống dưa chuột thu thập tại đồng bằng sông Cửu Long. Đây là dữ liệu đầu tiên cho chương trình chọn tạo giống dưa chuột trước khi quyết định sử dụng làm vật liệu bố mẹ ban đầu ở Việt Nam, nhất là khi sử dụng chúng để tạo các giống có ưu thế lai. Mối quan hệ giữa khoảng cách di truyền của bố mẹ và ưu thế lai đối với năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất chỉ có ý nghĩa trong các tổ hợp lai có khoảng cách di truyền của bố mẹ từ 0,19 đến 0,27 (Chen và cộng sự, 2006). Nghiên cứu được tiến hành nhằm cung cấp các thông tin có giá trị cho công tác cải tiến, lai tạo giống dưa chuột theo mục tiêu.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Vật liệu gồm 3 giống dưa chuột F1 có nguồn gốc từ Trung tâm Nghiên cứu rau

châu Á, 2 giống dưa chuột thụ phấn tự do địa phương và các dòng tự phối thế hệ thứ 7 (I₇) được phân lập từ các giống nói trên (Bảng 1).

Bảng 1. Các giống dưa chuột và các dòng tự phối tạo ra từ chúng

Giống/Dòng tự phối	Nguồn gốc
TN011	Đài Loan (F1)
TN034	Đài Loan (F1)
TN035	Đài Loan (F1)
Phú Thịnh	Việt Nam (OP)
Tam Dương	Việt Nam (OP)
NB1-3-2	TN011
ND3-2-5	TN034
NA4-1-2	Tam Dương
NC6-2-1	Phú Thịnh
NB1-6-7	TN011
NC5-2-3	Phú Thịnh

2.2 Phương pháp tách chiết ADN và phản ứng PCR -RAPD

Phương pháp tách chiết ADN tổng số: Lá non của cây con gieo trong chậu sau khi thu thập về được tách ADN tổng số theo quy trình của Kobabayshi (1998). Kiểm tra độ sạch và hàm lượng ADN bằng máy đo quang phổ kết hợp với điện di trên gel agarose 1%. Mẫu sau quá trình tách chiết được bảo quản trong tủ lạnh - 20°C.

Thành phần phản ứng PCR: 20 mỗi RAPD được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền, trình tự các mẫu được trình bày trong bảng 2. Thể tích phản ứng PCR là 20 µl bao gồm 40 ng DNA tổng số, 10x buffer, 200 µM dNTPs, 500 µM MgCl₂ 0,2 mM mỗi, 2 unit Taq polymerase (Dream Taq polymerase). Chu trình nhiệt được thực hiện gồm: 95°C trong 5 phút, 45 chu kỳ tiếp theo gồm 95°C trong 30 giây, 32 - 36 °C trong 30 giây, 72 °C trong 2 phút. Chu kỳ cuối 72 °C trong 7 phút và giữ ổn định ở 4 °C.

Bảng 2. Các môi RAPD sử dụng trong đánh giá đa dạng di truyền

STT	Tên môi	Trình tự nucleotit của môi RAPD	Tham khảo
1	AK12	AGTGTAGCCC	
2	OPA10	GTGATCGCAG	
3	OPC11	AAAGCTGCGG	Lang và cộng sự, 2007
4	OPD13	GGGGTGACGA	
5	RAPD2	GTTTCGCTCC	
6	RAPD5	AACGCGCAAC	
7	OPA14	TCTGTGCTGG	
8	OPD18	GAGAGCCAAC	
9	OPE15	ACGCACAACC	Smiech và cộng sự, 2008
10	OPE20	AACGGTGACC	
11	P28	GACCGCTTGT	
12	P36	CCGAATTCGC	Maria và cộng sự, 2008
13	P37	CTGACCAGCC	
14	P44	GGACCCCGCC	
15	OPAN01	ACTCCACGTC	
16	OPAE03	CATAGAGCGG	
17	OPAE15	TGCCTGGACC	Aladele và cộng sự, 2008
18	UBC465	GGTCAGGGCT	
19	OPX17	GACACGGACC	
20	OPX18	GACTAGGTGG	

Sản phẩm PCR - RAPD được điện di kiểm tra trên gel agarose 1,5%, sau đó nhuộm Ethilium bromide để phát hiện.

Phân tích số liệu: Dựa trên sự xuất hiện hay không xuất hiện của các sản phẩm AND khi điện di sản phẩm PCR - RAPD của các mẫu giống dưa chuột làm cơ sở cho việc phân tích số liệu. Tỷ lệ phần trăm tính đa hình của các phân đoạn AND được tính bằng số phân đoạn AND đa hình trên tổng số phân đoạn nhân bản được.

Sử dụng hệ số tương đồng của Sokal và Michener (1958) được viết tắt là MSC và phương pháp UPGMA trong phần mềm NTSYS 2.1 để đánh giá mức độ đa dạng di truyền và xây dựng sơ đồ cây phân loại của 11 mẫu giống dưa chuột

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả sản phẩm phản ứng PCR -RAPD

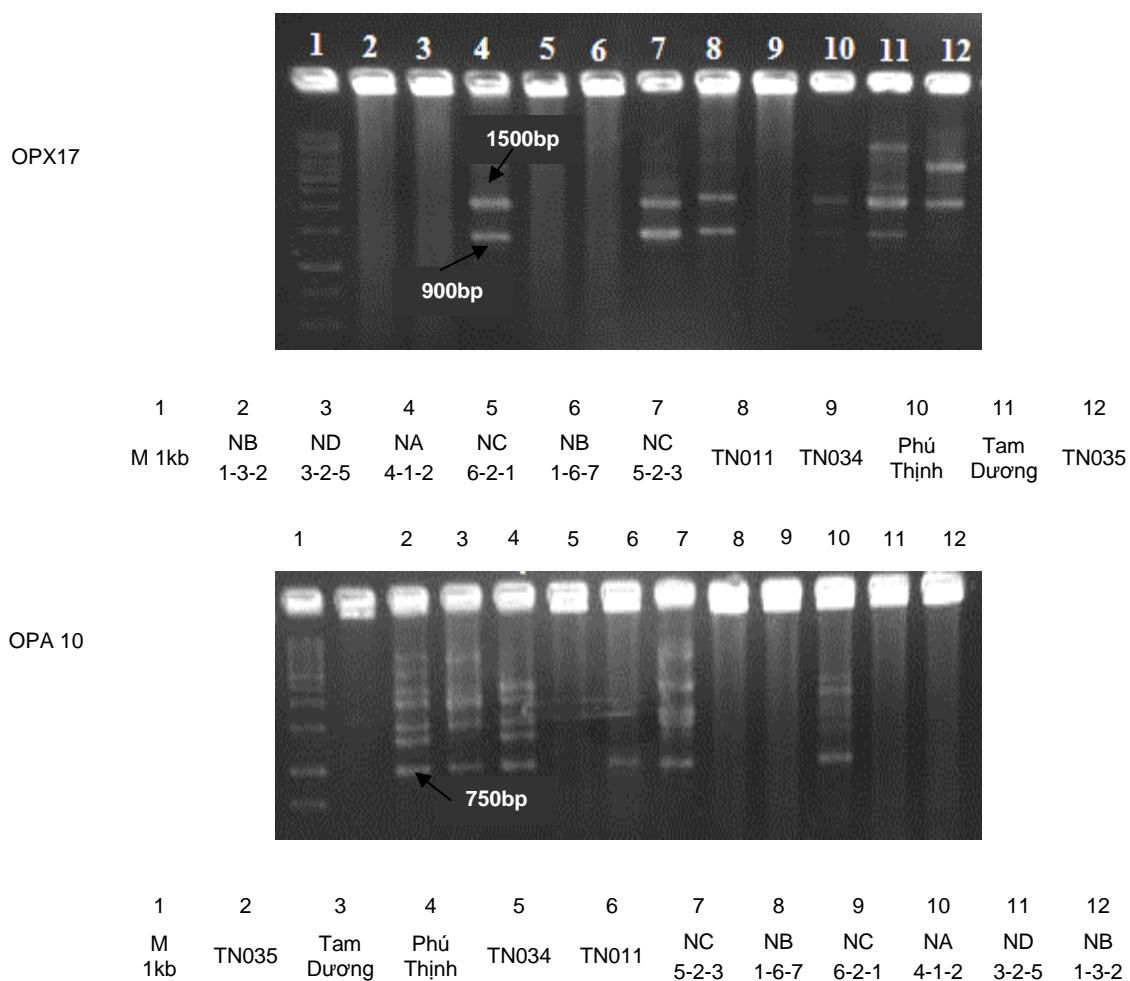
Trong số 20 môi RAPD (Bảng 2) sử dụng đánh giá đa dạng di truyền 5 giống dưa chuột và 6 dòng tự phối đời I7 của chúng cho thấy 19 môi (chiếm 95%) đều cho đa hình, riêng môi RAPD5 không cho vạch băng nào ở tất cả các mẫu giống (chiếm 5%). Các môi đã tạo ra được tổng số 255 băng, trung bình 1,2 băng tính trên mỗi mẫu giống nghiên cứu. Nhóm các chỉ thị OPA10, OPD13, RAPD2, OPD18 cho số băng trung bình cao nhất trên 2,54 băng/mẫu (tương ứng đạt 2,36; 2,64, 2,54; 2,54 tính trên mỗi mẫu). Các chỉ thị P28, P36, OPX18 cho số băng DNA trung bình tính trên mỗi mẫu giống đạt thấp nhất lần lượt là 0,36; 0,27 và 0,27.

Bảng 3. Số và tỉ lệ băng đa hình của 5 giống dưa chuột và 6 dòng tự phối với chỉ thị RAPD

Mỗi	Số lượng băng đa hình											Tổng	Số băng TB/giống
	NB	ND	NA	NC	NB	NC	TN	TN	Phú	Tam	TN		
	1-3-2	3-2-5	4-1-2	6-2-1	1-6-7	5-2-3	011	034	Thịnh	Dương	035		
AK12	0	0	0	0	0	3	0	0	2	1	1	7	0,64
OPA10	0	0	3	0	0	5	2	0	5	4	7	26	2,36
OPC11	0	0	1	0	0	2	2	0	3	3	3	14	1,27
OPD13	7	0	3	0	0	5	0	0	2	5	7	29	2,64
RAPD2	0	0	6	0	0	6	3	0	5	4	4	28	2,54
RAPD5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00
OPA14	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	1	5	0,45
OPD18	0	0	5	0	1	6	4	0	5	6	1	28	2,54
OPE15	0	0	0	0	0	4	0	0	0	4	4	12	1,09
OPE20	0	0	1	0	0	0	1	0	2	4	3	11	1,00
P28	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	4	0,36
P36	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	3	0,27
P37	0	0	0	0	0	3	0	0	1	3	0	7	0,64
P44	0	0	2	0	1	2	0	1	6	4	5	21	1,91
OPAN01	0	0	0	0	0	3	0	0	0	2	0	5	0,45
OPAE03	0	0	0	0	0	4	0	0	0	3	1	8	0,73
OPAE15	0	0	1	0	0	4	1	0	2	0	0	8	0,73
UBC465	1	1	2	1	1	2	1	0	4	4	2	19	1,72
OPX17	0	0	3	0	0	3	3	0	2	4	2	17	1,54
OPX18	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	3	0,27
Tổng	8	1	27	1	3	56	19	1	40	57	42	255	
Tỷ lệ (%)	3,13	0,39	10,58	0,39	1,17	21,96	7,45	0,39	15,69	22,35	16,47		

Tổng số băng thu được trên mỗi mẫu giống có sự biến động khá lớn, cao nhất đạt 57 và 56 băng ở mẫu giống dưa chuột Tam Dương và NC5-2-3, chiếm 22,35% và 21,96% tổng số các băng đa hình, tiếp sau đó là mẫu giống TN034 và NA4-1-2 đạt 42 và 40 băng (chiếm

16,47% và 19,07%). Như vậy có thể thấy tính đa hình DNA của các mẫu giống thể hiện chưa cao. Đặc biệt chỉ xuất hiện 1 băng DNA duy nhất ở các mẫu giống ND3-2-5, NC6-2-1 và TN034 (chiếm 0,39%) gợi ý về sự tương đồng trình tự DNA trong hệ gen của chúng.



Hình 1. Sản phẩm RAPD-PCR với môi OPX17, OPA10, RADP2

Bảng 4a. Hệ số tương đồng di truyền của các giống bố mẹ

	TN011	TN034	Phú Thịnh	Tam Dương	TN035
TN011	1,00				
TN034	0,80	1,00			
Phú Thịnh	0,61	0,61	1,00		
Tam Dương	0,48	0,44	0,64	1,00	
TN035	0,53	0,55	0,63	0,66	1,00

Bảng 4b. Hệ số tương đồng di truyền giữa các dòng tự phối

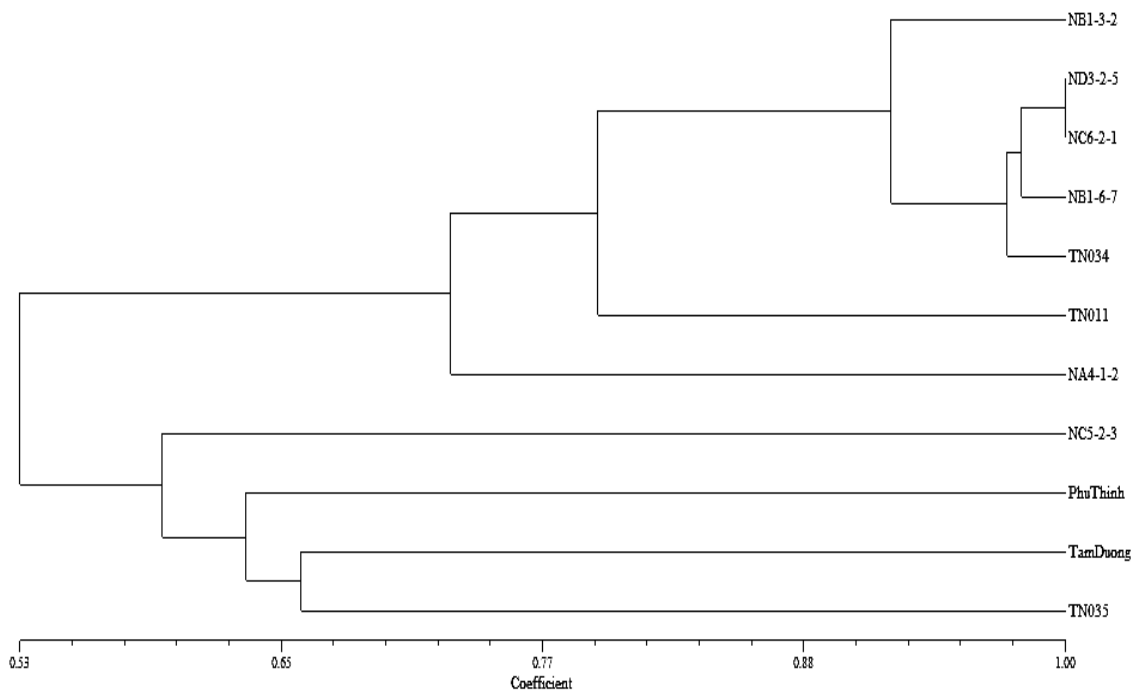
	NB 1-3-2	ND 3-2-5	NA 4-1-2	NC 6-2-1	NB 1-6-7	NC 5-2-3
NB1-3-2	1,00					
ND3-2-5	0,93	1,00				
NA4-1-2	0,72	0,75	1,00			
NC6-2-1	0,93	1,00	0,75	1,00		
NB1-6-7	0,91	0,98	0,75	0,98	1,00	
NC5-2-3	0,47	0,46	0,52	0,46	0,46	1,00

Số liệu bảng 4a cho thấy mức tương đồng di truyền giữa các giống bố mẹ dao động trong khoảng 0,44 - 0,80. Trong đó, mẫu giống Tam Dương và TN 035 có sự khác biệt di truyền lớn nhất tương ứng 0,44 và 0,53. Các mẫu giống TN011 và TN034 có cùng nguồn gốc từ Đài Loan F1 cho kết quả tương đối gần nhau về mặt di truyền (hệ số tương đồng di truyền là 0,8). Trong khi đó Phú Thịnh và Tam Dương (nguồn gốc VN OP) lại có sự khác biệt di truyền lớn hơn (0,64).

Tương tự mức tương đồng di truyền giữa 6 dòng tự phối thế hệ I7 của các mẫu giống dưa chuột ở trên nằm trong khoảng 0,46 - 0,98. Hầu hết tất cả các dòng tự phối này có mối quan hệ di truyền khá gần nhau ngoại trừ mẫu giống dưa chuột NC5-2-3 có sự khác biệt di truyền lớn nhất so với các mẫu giống khác (hệ số tương đồng di truyền là 0,46). Các mẫu giống NB 1-3-2, ND3-2-5, NC6-2-1,

NB1-6-7 không thể hiện sự sai khác di truyền nhiều (hệ số tương đồng di truyền ở mức cao trên 0,90). Một điều đặc biệt đó là giữa NC 6-2-1 và NC 5-2-3 có cùng nguồn gốc từ mẫu giống Phú Thịnh nhưng lại có sự khác biệt di truyền khá lớn (0,46), trong khi đó TN 3- 2 -5 (nguồn gốc TN 034) và NC 6-2-1 (nguồn gốc Phú Thịnh) lại có sự tương đồng về di truyền (1,00). Sự tương đồng về di truyền này có thể lí giải là do kết quả điện di trên tất cả các môi RAPD chỉ xuất hiện 1 vạch băng duy nhất, bộ môi RAPD có thể chưa đặc hiệu cho giống và những nghiên cứu tiếp theo đặc biệt việc sử dụng thêm nhiều bộ môi khác nhau cần được tiến hành để có kết luận chính xác về điều này.

Sự đa dạng mối quan hệ di truyền của 11 mẫu giống dưa chuột dựa trên 20 chỉ thị RAPD truyền được chỉ ra trên cây phân loại (Hình 2).



Hình 2. Quan hệ di truyền giữa các giống dưa chuột và các dòng tự phối

Kết quả phân tích kiểu gen tại 20 locus ở mức tương đồng di truyền 0,60 đã thu nhận được 5 nhóm di truyền chính, trong đó NC5-2-3 (nguồn gốc từ Phú Thịnh), Phú Thịnh, Tam Dương, TN035 là mỗi nhóm riêng biệt (nhóm A, B, C, D), nhánh 5 (nhóm E) gồm 7 mẫu giống NB1-3-2, ND3-2-5, NC6-2-1, NB1-6-7, TN034, TN011 và NA4-1-2. Trong đó, mẫu giống ND3-2-5 và NC6-2-1 có mối quan hệ rất gần gũi nằm trên cùng 1 nhánh. Điều này cũng tương tự đối với mẫu giống NC6-2-1 và NB1-6-7. Từ mẫu giống TN035 không chọn ra được bất cứ dòng

đưa chuột nào, do vậy TN035 đứng riêng thành một nhóm là hoàn toàn hợp lý.

Dựa trên kết quả phân tích di truyền thu được, tổ hợp lai giữa dòng dưa chuột NC5-2-3 - dòng có sự khác biệt di truyền lớn nhất với các dòng dưa chuột khác được đề xuất, đặc biệt tổ hợp NB1-3-2/NC5-2-3.

Từ 6 dòng tự phối thế hệ I7 ở trên được đánh giá khả năng kết hợp (KNKH) riêng bằng phương pháp luân giao tạo ra 15 tổ hợp lai. Khoảng cách di truyền và số liệu về năng suất của 15 tổ hợp lai được trình bày ở bảng 6.

Bảng 5. Các nhóm di truyền của 11 mẫu giống dưa chuột thông qua phân tích kiểu gen

STT	Tên giống	Nhóm	STT	Tên giống	Nhóm
1	NC5-2-3	A	7	NC6-2-1	E
2	Phú Thịnh	B	8	NB1-6-7	E
3	Tam Dương	C	9	TN011	E
4	TN035	D	10	TN034	E
5	NB1-3-2	E	11	NA4-1-2	E
6	ND3-2-5	E	12		

Bảng 6. Khoảng cách di truyền của các mẫu giống dưa chuột và năng suất của các tổ hợp lai

Tổ hợp lai	Khoảng cách di truyền giữa các dòng tự phối bố mẹ	Năng suất của tổ hợp lai (tạ/ha)
NB1-3-2 x ND3-2-5	0,07	213,7
NB1-3-2 x NA4-1-2	0,28	206,1
NB1-3-2 x NC6-2-1	0,07	226,0
NB1-3-2 x NB1-6-7	0,09	245,6
NB1-3-2 x NC5-2-3	0,53	343,5
ND3-2-5 x NA4-1-2	0,25	211,4
ND3-2-5 x NC6-2-1	0,00	218,6
ND3-2-5 x NB1-6-7	0,02	363,5
ND3-2-5 x NC5-2-3	0,54	205,8
NA4-1-2 x NC6-2-1	0,25	243,7
NA4-1-2 x NB1-6-7	0,25	216,1
NA4-1-2 x NC5-2-3	0,48	219,7
NC6-2-1 x NB1-6-7	0,02	197,4
NC6-2-1 x NC5-2-3	0,54	192,5
NB1-6-7 x NC5-2-3	0,54	197,6

Hệ số tương quan giữa khoảng cách di truyền của các dòng tự phối và năng suất của con lai
 $r = - 0,12$ ns

Khoảng cách di truyền giữa các dòng tự phối dao động trong khoảng 0 - 0,54, năng suất của các tổ hợp lai biến thiên trong khoảng 192,5 - 363,5 tạ/ha. Năng suất tổ hợp lai cao nhất đạt 363,5 tạ/ha (ND3-2-5 x NB1-6-7 với khoảng cách di truyền là 0,02) và 343,5 tạ/ha (NB1-3-2 x NC5-2-3 với khoảng cách di truyền là 0,53). Tuy nhiên, hệ số tương quan giữa khoảng cách di truyền của các dòng tự phối và năng suất của con lai thấp ($r = -0,12$), chứng tỏ khoảng cách di truyền giữa các dòng tự phối trong nghiên cứu này không tương quan với ưu thế lai. Chen và cộng sự (2006) báo cáo rằng mối quan hệ giữa khoảng cách di truyền của bố mẹ và ưu thế lai đối với năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất chỉ có ý nghĩa ở các tổ hợp lai có khoảng cách di truyền giữa bố mẹ nằm trong khoảng 0,19 đến 0,27. Rất có thể số bố mẹ trong nghiên cứu này tương đối ít nên mối tương quan giữa khoảng cách di truyền và ưu thế lai chưa được phát hiện.

4. KẾT LUẬN

Thông qua phân tích RAPD tại 20 locus ở 5 giống dưa chuột và 6 dòng tự phối đời I7 của chúng, 5 nhóm di truyền chính đã được ghi nhận. Phân tích mối tương quan giữa khoảng cách di truyền giữa các dòng tự phối và năng suất tổ hợp lai đã chỉ ra không có sự tương quan. Đây là cơ sở dữ liệu cho các nhà chọn giống tham khảo trước khi quyết định sự dụng làm vật liệu chọn giống. Để khẳng định mối tương quan giữa khoảng cách di truyền và ưu thế lai trong những nghiên cứu tiếp theo cần bao gồm số lượng mẫu giống nhiều hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aladele E. S., O. J. Ariyo and Robert de Lapena (2008). Genetic relationships among West African okra (*Abelmoschus caillei*) and Asian genotypes (*Abelmoschus esculentus*) using RAPD. African Journal of Biotechnology Vol. 7 (10), pp. 1426-1431, 16 May, 2008
- Chen, X.W.; Chen, D.F.; Xia, L.X.; Liu, D.L.; Yang, R.H.; Ha, Y.J.; Du, S.L (2006). Utilization of RAPD markers to predict fruit yield of hybrid in cucumber. Acta Horticulturae Sinica v.33 (4):859-862.
- Danin-Poleg Y., Reis N., Tzuri G. and Katzir N (2001). Development and characterization of microsatellite markers in *Cucumis*. Theor. Appl. Genet. 102, 61-72.
- Duca maria, port angela, levitchi Alexei (2008). Characteristics of RAPD markers in breeding of *Cucumis sativus* L. Roum. Biotechnol. Lett., Vol. 13, No.4, 2008, pp. 3843-3850
- Horejsi T. and Staub J.E., (1999). Genetic variation in cucumber (*Cucumis melon* L.) as assessed by random amplified polymorphic DNA. Genet. Resour. Crop Evol. 46, 337 - 350.
- Kobabayashi, N., Teiichi Horikoshi, Hiroichi Katsuyama, Takashi Handa and Kenji Takayanagi (1998). A simple and efficient DNA extraction method for plants, especially woody plants. Tissue Culture and Biotechnology, vol 4, No., 76-80.
- Li X.X., Zhu D.W., Du Y.C., Sheng D., Kong Q.S and Song J.P. (2004). Study on genetic diversity and phylogenetic relationship of melon (*Cucumis melon* L.) germplasm by AFLP technique. Acta Hort. Sin. 31, 309 - 314.
- Nguyen Thi Lang, Tran Thi Thanh Xa, Ho Phu Yen, Tran Khac Thi (2007). Genetic divergence analysis on *Cucumis* spp. by RAPD marker. Omonrice 15.
- Pitrat M., Chauvet M. and Foury C., (1999). Diversity, history and production of cultivated cucurbits. Acta Hort. 492, 21 -28.
- Smiech M., Sztangret-Wisniewska J., Gałeczka T., Korzeniewska A., Marzec M., Kołakowska G.,

- Piskurewicz U., Niemirowicz-Szczytt K. (2008). Attempt to select cucumber (*Cucumis sativus* L.) double haploid lines to downy mildew tolerance by molecular markers. Pitrat M. (ed): Cucurbitaceae 2008, Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae, Avignon (France), May 21-24th, 2008, pp. 441-444.
- Sokal R.R. and Michener C.D. (1958). "A Statistical Method for Evaluating Systematic Relationships". The University of Kansas Scientific Bulletin 38: 1409-1438.
- Staub J.E., Chung S.M and Fazio G. (2005). Conformity nad genetic relatedness estimation in crop species having a narrow genetic base: the case of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Breed. 124, 44 -53.
- Staub J.E., Serquen F.C. and McCriegh J.D. (1997). Genetic diversity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) : III. AN evaluation of Chinese germplasm. Genet. Resour. Crop Evol. 46, 297 - 310.
- Wang J., Xu Q., Miao M.M., Liang G.H., Zhang M.Z. and Chen X.H. (2007). Analysis of genetic relationship of cucumber (*Cucumis sativus* L.) germplasm by ISSR markers. Mol. Plant Breed. 5, 677 - 682.
- Xu Y. (1994). Cucumber (*Cucumis sativus* L.). In Vegetable germplasm resources (ed. C. J. Zhou), pp. 163-171. Beijing Agricultural University Press, Beijing, P. R. China (in Chinese).