

PHÂN TÍCH ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ LOÀI BẠCH ĐÀN LÀM CƠ SỞ CHO VIỆC LAI TẠO GIỐNG MỚI

Nguyễn Việt Tùng, Nguyễn Việt Cường, Nguyễn Thị Linh Đàm
Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã sử dụng 34 mồi SSR trong phân tích đa dạng di truyền của 19 cây bố mẹ thuộc 3 loài bạch đàn để nhận biết được mối quan hệ huyết thống giữa các cây trong loài và giữa các loài với nhau là cơ sở để chọn được bố mẹ lai thích hợp nhất. Khoảng cách di truyền giữa 19 mẫu (cây) bạch đàn thuộc 3 loài nghiên cứu nằm [0,28; 3,882]. Khoảng cách di truyền giữa các cây trong loài Bạch đàn camal (*E. camaldunensis*) là thấp (0,712), tiếp đến là loài Bạch đàn urô (*E. urophylla*) đạt 0,836 cuối cùng là loài Bạch đàn liễu (*E. exserta*) với khoảng cách di truyền trung bình trong loài là 1,183. Với 19 mẫu bạch đàn nghiên cứu được chia thành hai nhánh: + Nhánh một là nhóm loài Bạch đàn liễu và Bạch đàn camal, khi lai giống giữa 2 nhóm loài này với nhau thường cho sinh trưởng kém so với lai giống thuận nghịch giữa nhóm loài Bạch đàn urô với Bạch đàn camal và Bạch đàn liễu. ++ Nhánh hai chỉ có các mẫu thuộc nhóm loài Bạch đàn urô. Như vậy, loài Bạch đàn camal và Bạch đàn liễu có quan hệ họ hàng gần nhau hơn so với Bạch đàn urô, do đó khi lai giống giữa Bạch đàn urô với Bạch đàn liễu, Bạch đàn camal các tổ hợp lai thường có ưu thế lai nhiều hơn so với tổ hợp lai thuận nghịch giữa Bạch đàn camal với Bạch đàn liễu.

Từ khóa: Đa dạng di truyền, khoảng cách di truyền, *E. camaldunensis*, *E. urophylla*, *E. exserta*

Analysis of genetic diversity in Eucalypts as basis for breeding program

Thirty-four SSR primers was used to analyze genetic diversity of 19 parent trees of three Eucalyptus species to identify phylogenetic relationships among trees of one species and trees in different species. This is the basis for selecting the most suitable hybrid parents. Genetic distances in 19 samples of three species of Eucalyptus in this study is [0.28; 3.882]. Genetic distances between the trees of *E. camaldunensis* is low (0.712), followed by *E. urophylla* at 0.836 and *E. exserta* at 1.183. Nineteen studied Eucalyptus samples was divided into two groups: i) Group one is including *E. exserta* and *E. camaldunensis*, when their hybrid often grow slowly compared with reversible hybridization between *E. urophylla* with *E. exserta* and *E. camaldunensis*; ii) Group two consists only *E. urophylla*. The high genetic diversity between trees in different species and in one species has more significant in breeding and hybridization. In conclusion, *E. camaldunensis* and *E. exserta* has close kinship than *E. urophylla*, therefore hybrid combinations of *E. urophylla* × *E. exserta* are usually more dominant than reciprocal hybrid combinations between *E. camal* with *E. exserta*.

Keywords: Genetic diversity, genetic distance, *E. camaldunensis*, *E. urophylla*, *E. exserta*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bạch đàn là nhóm loài có khả năng thích nghi với nhiều vùng sinh thái nên bạch đàn là một trong số những loài cây dẫn đầu trong trồng rừng sản xuất trên thế giới ở 6 châu lục và trên 100 quốc gia với tổng diện tích đạt 20,07 triệu ha nhưng khoảng 90 - 95% giống bạch đàn trồng sản xuất trên thế giới thuộc 9 loài trong phân chi *Symphyomyrtus* và giống lai giữa chúng (Dasgupta *et al.*, 2015; Myburg *et al.*, 2014). Gỗ bạch đàn được sử dụng cho ngành xây dựng, đóng đồ nội thất, nguyên liệu chế biến ván ép, ván dăm và ngành công nghiệp giấy cũng như sản phẩm sinh khối cho ngành năng lượng.

Sử dụng kỹ thuật SSR và RAPD trong nghiên cứu đa dạng di truyền là phổ biến nhất hiện nay. Mỗi kỹ thuật có ưu nhược điểm riêng, chỉ thị RAPD phù hợp cho nghiên cứu những loài mới chưa biết rõ thông tin về trình tự và chưa có nghiên cứu nào phát triển bộ chỉ thị cho loài này. Do chỉ thị RAPD là mỗi đơn với trình tự là một chuỗi nucleotide ngắn (khoảng 10 nucleotide) bắt cặp ngẫu nhiên ở nhiều vị trí nên khi sử dụng chỉ thị RAPD trong nghiên cứu, kết quả của mỗi lần thí nghiệm có thể khác nhau, vì vậy cần phải có sự lặp lại các thí nghiệm. Trong khi đó, chỉ thị SSR là các cặp mỗi đặc hiệu được thiết kế dựa trên hai đầu của các đoạn lặp lại có trình tự rất đặc hiệu và thống nhất chung cho cùng một đoạn ADN không phân biệt các cá thể trong cùng một loài, nhưng giữa các cá thể trong cùng một loài thì số lần lặp lại là khác nhau. Vì vậy, việc sử dụng chỉ thị SSR cho kết quả chính xác hơn so với chỉ thị RAPD và thường được sử dụng cho nghiên cứu các loài đã có những bộ chỉ thị phát triển riêng cho loài hoặc những loài trong cùng một chi.

Cho đến nay với đối tượng cây bạch đàn, số lượng chỉ thị SSR đã lên đến hàng nghìn chỉ

thị, nhưng bộ chỉ thị phân tử SSR đang được sử dụng trong nghiên cứu phổ biến nhất là EMBRA, trong đó có 300 mỗi SSR với tên gọi EMBRA đã được các nhà khoa học tại Brazil phát triển (được ký hiệu EMBRA---, Brondani *et al.*, 2006). Tại Trường Đại học Pretoria của Nam Phi đã có 5 cặp mỗi kí hiệu FMRSA được phát triển bằng phương pháp ISSR và có khả năng sử dụng chúng ở các loài cây khác nhau. Còn ở Trường Đại học Tasmania của Úc (Steane *et al.*, 2001) đã sử dụng 12 cặp mỗi có kí hiệu EMCRC dùng để nhân bản các chỉ thị SSR ở cây bạch đàn. Ngoài ra còn khoảng 30 cặp mỗi mang các đoạn lặp lại (CA)_n và (CAG)_n cũng được tạo ra bằng việc sử dụng thư viện bộ gen. Mặc dù số lượng các đoạn mỗi dùng cho việc phân tích chỉ thị SSR rất đa dạng, tuy nhiên cho đến nay chỉ có hệ thống mỗi EMBRA là được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu chọn dòng, thiết lập bản đồ di truyền liên kết cho các cặp lai và phân tích các locus tính trạng số lượng (QTL) có lợi (Kirst *et al.*, 2005). Có thể thấy rằng việc kết hợp giữa chỉ thị SSR và thông tin về trình tự nucleotide đã làm cho phương pháp sử dụng SSR trở thành công cụ khá hiệu quả, nhanh chóng và chính xác trong công tác chọn giống cây trồng.

Trong khuôn khổ bài báo này nhóm nghiên cứu ứng dụng phương pháp chỉ thị phân tử SSR để phân tích đa dạng di truyền cho 19 cây bố mẹ tham gia lai giống của 3 loài cây (*E. urophylla*, *E. exserta*, *E. camaldulensis*), là cơ sở để cho các nhà lai tạo giống biết bản chất quan hệ huyết thống giữa các cây trong loài và giữa các loài với nhau để chọn được bố mẹ lai thích hợp nhất (Scala *et al.*, 1999).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- 19 cây bạch đàn tuyển chọn ở bảng 1.

Bảng 1. Danh mục các cây bạch đàn được sử dụng trong nghiên cứu

Nhóm	STT	Tên cây được lựa chọn	Kí hiệu	Đường kính thân (D _{1.3} cm)
1	1	<i>Eucalyptus urophylla</i> 1	U1	40,6
	2	<i>Eucalyptus urophylla</i> 2	U2	41,1
	3	<i>Eucalyptus urophylla</i> 3	U3	39,8
	4	<i>Eucalyptus urophylla</i> 4	U4	17,9
	5	<i>Eucalyptus urophylla</i> 5	U5	17,2
	6	<i>Eucalyptus urophylla</i> 8	U8	17,5
	7	<i>Eucalyptus urophylla</i> 29	U29	
2	8	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> 1	C1	36,7
	9	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> 3	C3	34,2
	10	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> 4	C4	14,8
	11	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> 5	C5	15,7
	12	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> 7	C7	31,1
	13	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> 13	C13	16,6
3	14	<i>Eucalyptus exserta</i> 1	E1	24,1
	15	<i>Eucalyptus exserta</i> 1 Ba Vì	E1BV	
	16	<i>Eucalyptus exserta</i> 2	E2	11,4
	17	<i>Eucalyptus exserta</i> 5	E5	24,9
	18	<i>Eucalyptus exserta</i> 6	E6	13,6
	19	<i>Eucalyptus exserta</i> 7	E7	25,1

- 34 mỗi SSR được sử dụng trong nghiên cứu này được chọn từ các bài báo có liên quan và một số mỗi được chọn ngẫu nhiên từ ngân hàng Gene (NCBI).

Bảng 2. Danh mục và trình tự 34 mỗi SSR được sử dụng trong nghiên cứu

Microsatellite	Repeat motif	Primer sequences 5' to 3'	Annealing Temp.(°C)	Size (bp)	Linkage Group	Genbank accession number
EMBRA2	(AG)15	cgtagacaccaggacattac	56	121	11	BV682224
		acaaatgcaaattcaaatga				
EMBRA9	(AGA)3(AG)28	agtgagagagatattcgcgt	56	94	5	BV682008
		ccaatacaatcatcaatcca				
EMBRA12	(AG)22	aggattgtggggcaagt	56	98	1	BV682011
		gttccccatttcatgtcc				
EMBRA39	(AG)9(CA)11	gcattcgtactcatttcaa	54	146	11	BV682032
		gcatcgagagtgattagtt				
EMBRA47	(AG)24	agaaccctctataaaacccc	56	106	8	BV682038
		gggctagacatgatggag				
EMBRA51	(AG)20	gatgcattccttttttcc	58	115	6	n.a.
		cattctctgcatctggac				
EMBRA53	(AG)17GT(AG)5	attagctttctgtaacccg	60	130	8	BV682042
		gaatggacaagctctgatg				
EMBRA54	(AG)17	tgtatgaggtacatccgg	50	144	5	BV682043

Microsatellite	Repeat motif	Primer sequences 5' to 3'	Annealing Temp.(°C)	Size (bp)	Linkage Group	Genbank accession number
		aaagttatcagcgagagttc				
EMBRA58	(AG)20	caccaactggctactatgaggat ttggcttaggtagaacact	56	143	9	BV682232
EMBRA116	(TC)21	ctcctactactggttctatcact tctgctctttctctctcta	56	104	8	BV682078
EMBRA124	(TC)34	tgtggacatgatagatgaagt aattattcगतagaacgga	58	90	10	BV682245
EMBRA126	(TCCTC)4TCC...(CT)18	gtagtcctcgacgcaaac agtacगतatttcgcgagt	58	99	2	BV682084
EMBRA135	(AG)15AAT...(AG)10	ctgactggccggtacata aaatctagtgcggtctcaaagc	54	116	5	BV682091
EMBRA138	(TC)26CC(TC)3	gttatgtttggtgaaaggag agacaccatgtcccagg	60	115	10	BV682092
EMBRA147	(AG)n	ctcgtcttgcacgctctctt gagagtgtttcatgcggt	58	273	4	n.a.
EMBRA152	(AC)24	tctctctggtcttcta gcatgtacactaacgacg	56	122	5	BV682100
EMBRA153	(CT)24	cacacttctagtcctcc ggagtatagaacgattgtg	56	215	10	BV682101
EMBRA157	(CT)19	tggatggcaacggcgta catgcattggccattggt	60	247	1,6	BV682102
EMBRA165	(TC)n	ggtgtcggttcactctgt ataggattgcgtcatgaagc	60	144	10	n.a.
EMBRA168	(GA)12	ggagtgaagacggtaaat atctcacttttctctcgc	55	82	5	BV682249
EMBRA186	(GA)27	ggaaggctttgagataac accgagaccagttgagag	56	186	4	BV682128
EMBRA188	(GA)9CAGG(GA)20	ctcatगतatagctgctactc gcagctcaggtacattgg	56	193	6	BV682129
EMBRA191	(CT)25	gagcgगतtctaactctc ggatgcagttctagagag	56	180	5	BV682130
EMBRA194	(CT)17A(CA)14	cgtgctttgaggctct gattgaggatगतgggtc	56	143	3	BV682131
EMBRA202	(CT)22	gcctccactcttcaggtc ggtatactgcggtgaaggct	57	254	5	BV682142
EMBRA206	(TC)21	cagcaacgtctacctctcc tgatccagttccgactagtg	57	348	8	BV682255
EMBRA208	(TC)25	ctcgtgtggttatgtgaact gctgtctactatgcacatga	56	147	9	BV682143
EMBRA209	(GA)21	aggaaggcggattगतgagg gaacggacggagggtgagcta	57	182	8	BV682144
EMBRA214	(GA)8AA(GA)11	gaacagctactcgtcgattc	57	316	1	BV682145

Microsatellite	Repeat motif	Primer sequences 5' to 3'	Annealing Temp.(°C)	Size (bp)	Linkage Group	Genbank accession number
		gtaaccaggcttgacgat				
EMBRA225	(CT)12	gatattcctcggctctctctg	58	225	2	BV682146
		tcctctgttgctgcctc				
EMBRA229	(GA)20	agaacgtaactcctaaggt	56	181	5	BV682165
		ctgcaatacatatcttctcc				
EMBRA232	(GA)30	gtacttaatctgtggcaatc	56	173	6	BV682166
		gatccttgcaattatcgac				
EMBRA237	(CT)21	gtcattgttgcatcactgc	50	222	3,7	BV682167
		acgtgactgggtgatctgc				
EMBRA240	(TC)21	cagcaacgtctaccttctcc	56	344	8	BV682176
		ccagttccgactagtggtcc				

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Mẫu nghiên cứu là lá cây bạch đàn sạch bệnh, không quá non và không quá già (lá bánh tẻ). Mỗi cây thu từ 10 đến 20 lá, mẫu lá sau khi thu về được bảo quản ở tủ lạnh -20°C.

- Tách ADN theo phương pháp cải tiến của Keb-Llanes và đồng tác giả, (2002).

- Xác định hàm lượng và độ sạch của ADN bằng điện di trên gel agarose sau đó đo nồng độ ADN bằng quang phổ kế. Nồng độ ADN trong mẫu được tính theo công thức sau:

$$C_{ADN} \text{ (ng/}\mu\text{l)} = OD_{260nm} \times 50 \times \text{Độ pha loãng}$$

- Phản ứng PCR -SSR: Kỹ thuật PCR với các môi SSR được tiến hành với tổng thể tích là 20μl/1mẫu gồm những thành phần được cho trong bảng 3.

Bảng 3. Thành phần phản ứng PCR- SSR

Thành phần phản ứng	Thể tích sử dụng (μl)
H ₂ O	12,5
10X PCR buffer	2
dNTP 5mM	1
Primer-F 10mM	1
Primer-R 10mM	1
Taq Polymerase 5U/μl	0,5
ADN 25μg/μl	2
Tổng thể tích phản ứng	20

- Điện di sản phẩm PCR - SSR trên gel polyacrylamide biến tính 4,5%

- Thu thập và phân tích số liệu:

+ Xác định các phân đoạn: Bản gel sau khi điện di sẽ được xác định vị trí và kích thước từng băng ADN trên bản gel. Số liệu được lập thành bảng theo vị trí và kích thước các băng ADN so với kích thước các băng ADN marker 100bp trên bản gel để thuận tiện cho việc theo dõi, ghi nhận số liệu và phân tích. Số liệu thu nhận được nhập vào phần mềm excel để phân tích số liệu.

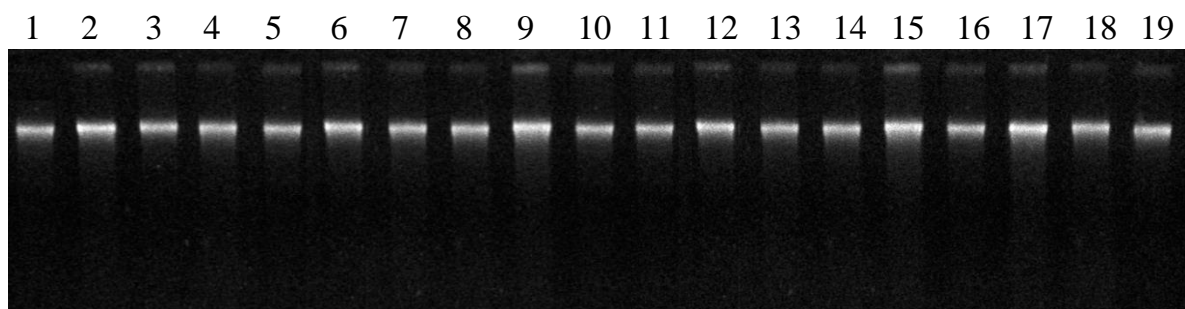
+ Phân tích cấu trúc di truyền: Chạy phần mềm GenAIEx 6.501; Treeview 1.6.6; GDA 1.0; FigTree v1.4 để đánh giá quan hệ di truyền giữa các cây bạch đàn trong loài và khác loài. Thông qua đó đưa ra những nhận xét, nhận định về quan hệ di truyền của các cây bạch đàn nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tách chiết ADN tổng số

ADN tổng số sau khi tách chiết được kiểm tra độ tinh sạch trên gel agarose 1%. Mẫu ADN sạch và không bị đứt gãy là yếu tố đầu tiên cho phản ứng PCR -SSR thành công cũng như cho cả quá trình nghiên cứu.

Kết quả kiểm tra chất lượng ADN trên gel agarose và đo nồng độ ADN cho thấy tất cả các mẫu ADN đều có chất lượng tốt. Cụ thể, điện di trên gel agarose 1% cho thấy ADN tập trung một băng chính, không bị đứt gãy (hình 1).



Hình 1. Kết quả điện di tinh sạch ADN tổng số 19 mẫu bạch đàn

Để xác định chính xác nồng độ và độ tinh sạch của dung dịch ADN tách chiết tiến hành đo nồng độ ADN trên máy đo quang phổ UV-1601 (UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu).

Từ kết quả đo OD ở bước sóng 260nm và 280nm tính được tỷ số OD_{260nm}/OD_{280nm} , xác định được nồng độ ADN của các mẫu tách chiết. Kết quả được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đo độ hấp thụ bước sóng 260nm, 280nm và nồng độ ADN tổng số của 19 mẫu Bạch đàn

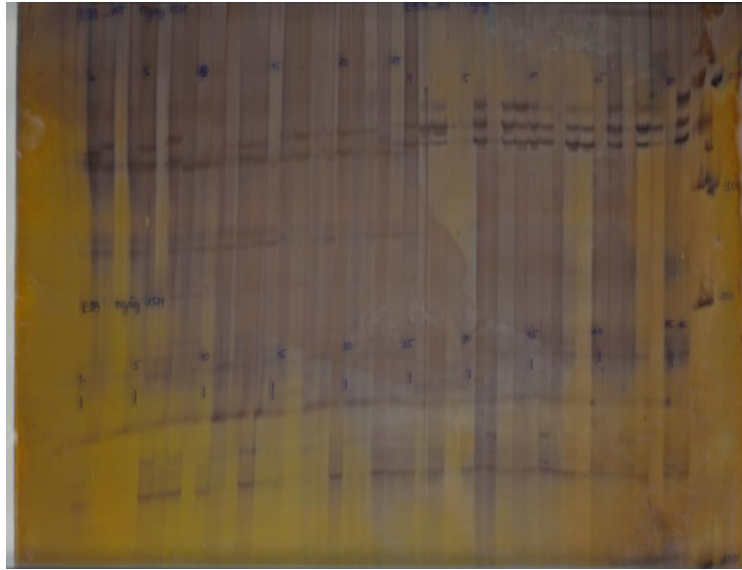
Kí hiệu	OD _{260nm}	OD _{280nm}	OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	Nồng độ ADN ng/μl
U1	0,50	0,28	1,79	125,0
U2	0,80	0,43	1,86	200,0
U3	0,67	0,36	1,86	167,5
U4	0,89	0,51	1,75	222,5
U5	0,78	0,38	2,05	195,0
U8	0,93	0,47	1,98	232,5
U29	0,55	0,31	1,77	137,5
C1	0,73	0,38	1,92	182,5
C3	0,76	0,42	1,81	190,0
C4	0,85	0,45	1,89	212,5
C5	0,59	0,33	1,79	147,5
C7	0,68	0,37	1,84	170,0
C13	0,85	0,48	1,77	212,5
E1	0,75	0,38	1,97	187,5
E1BV	0,57	0,30	1,90	142,5
E2	0,49	0,28	1,75	122,5
E5	0,56	0,31	1,81	140,0
E6	0,79	0,43	1,84	197,5
E7	0,39	0,22	1,77	97,5

Từ kết quả điện di và số liệu đo quang phổ hấp phụ của AND tách chiết khi pha loãng 5 lần trước khi đo OD cho thấy ADN tổng số tách chiết được có độ tinh sạch và nguyên vẹn đủ đáp ứng cho nghiên cứu tiếp theo và với nồng độ được tính ở bảng số liệu 4 trước khi sử dụng cần pha loãng để đảm bảo độ đồng đều

về nồng độ ADN trong phản ứng PCR là 20 - 25ng/ μ l.

3.2. Kết quả phản ứng PCR từ ADN tổng số của các mẫu bạch đàn với các môi SSR

Để nghiên cứu quan hệ di truyền giữa các cây bạch đàn, chúng tôi đã sử dụng 34 môi SSR có tên và trình tự tại bảng 1.



Hình 2. Kết quả điện sản phẩm PCR-SSR của môi EMBRA39 và EMBRA157 với 19 mẫu bạch đàn trên gel polyacrylamide 4,5%; thứ tự các mẫu theo bảng 1



Hình 3. Kết quả điện sản phẩm PCR-SSR của môi EMBRA229 và EMBRA165 với 19 mẫu bạch đàn trên gel polyacrylamide 4,5%; thứ tự các mẫu theo bảng 1

Sau khi hoàn thành phản ứng PCR sản phẩm được điện di trên gel polyacrylamide 4,5% để phân tích đa hình ADN của các mẫu nghiên cứu. Kích thước băng ADN thu được được phân tích dựa trên sự có mặt hay vắng mặt của chúng ở các mẫu nghiên cứu.

3.2. Kết quả phân tích quan hệ di truyền giữa các cây bạch đàn chọn lai giống

Trong các nghiên cứu đa dạng di truyền thường dựa vào ba hệ số cơ bản: Hệ số Nei và Li (1979), hệ số Jaccard (1908), hệ số SM (Sokal và Michener, 1958).

Ở nghiên cứu này, phần mềm phân tích số liệu tính khoảng cách di truyền giữa các mẫu nghiên cứu theo Nei (1979), kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 5 và hình 4.

Từ kết quả ở bảng 5 cho thấy giữa các mẫu nghiên cứu có khoảng cách di truyền nằm

trong khoảng 0,28 - 3,882. Trong đó, giá trị 0,28 là hệ số tương đồng di truyền giữa hai cây C4 - C13; hệ số tương đồng di truyền giữa hai cây C3 và E1BV là 3,882.

Cây di truyền của 19 cây bạch đàn thể hiện mối quan hệ xa giữa các loài bạch đàn. Hình 4 cho thấy có 2 nhánh, nhánh một gồm có Bạch đàn camal và Bạch đàn liễu, nhánh hai chỉ có Bạch đàn urô và ở hình này cũng chỉ ra sự khác biệt ở khoảng cách di truyền giữa các loài thậm chí trong cùng loài. Trong loài Bạch đàn camal hai cây C1 và C4 có hệ số tương đồng di truyền giống nhau, trên thực tế ở hiện trường hai cây này được đánh giá về hình thái là sinh trưởng nhanh ($D_{1.3} = 36,7\text{cm}$) và sinh trưởng chậm ($D_{1.3} = 14,8\text{cm}$). Tuy nhiên khi khảo nghiệm hậu thế của hai cây C1 và C4 cho thấy dưới góc nhìn của toán thống kê thì không có sai khác về sinh trưởng (bảng 6), cây E6 và E7 cũng tương tự như vậy.

Bảng 5. Khoảng cách di truyền giữa 19 mẫu bạch đàn

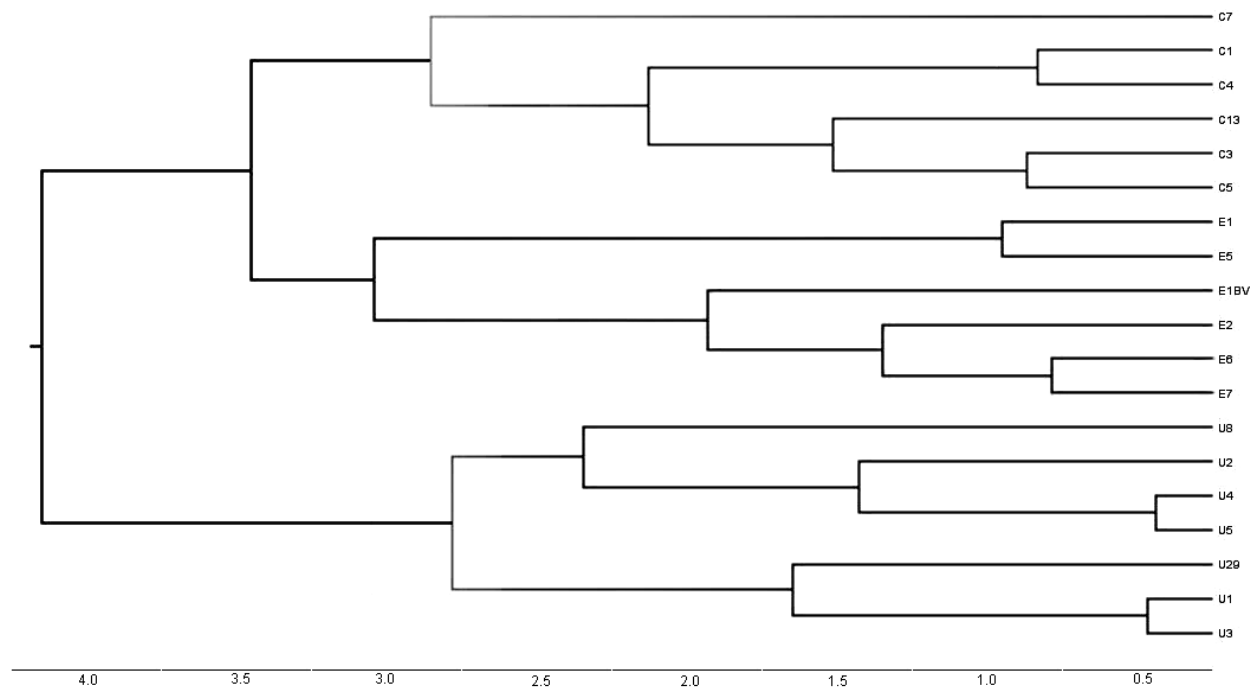
C1	C13	C3	C4	C5	C7	E1	E1BV	E2	E5	E6	E7	U1	U2	U3	U4	U5	U8	U29	
0,000																			C1
0,926	0,000																		C13
0,946	0,636	0,000																	C3
0,903	0,280	1,160	0,000																C4
1,386	0,986	0,946	0,964	0,000															C5
1,690	0,873	1,378	0,911	1,151	0,000														C7
1,315	1,481	1,137	1,458	1,074	1,263	0,000													E1
2,114	2,743	3,882	2,721	2,268	2,621	3,391	0,000												E1BV
1,382	1,017	1,204	1,189	1,295	0,894	1,165	2,205	0,000											E2
2,127	1,098	1,479	1,219	1,172	1,119	1,196	2,316	0,994	0,000										E5
1,151	0,998	1,155	1,119	1,557	1,638	1,263	2,621	1,019	1,381	0,000									E6
1,536	1,270	1,176	1,322	1,759	1,301	1,465	2,418	0,934	1,584	0,896	0,000								E7
2,414	1,673	1,830	1,902	1,855	1,445	1,745	3,073	1,327	2,462	1,802	1,386	0,000							U1
1,767	1,586	1,589	1,564	1,767	1,358	2,128	2,292	1,407	1,564	1,581	0,973	0,529	0,000						U2
1,717	1,168	1,539	1,313	1,717	1,213	2,078	1,955	1,115	1,514	1,213	1,041	0,341	0,469	0,000					U3
1,583	1,285	1,522	1,263	1,701	1,242	1,859	2,072	1,386	1,430	1,530	1,158	0,634	0,403	0,289	0,000				U4
1,743	1,194	1,901	1,172	1,609	1,334	1,922	2,268	1,295	1,539	1,557	1,200	0,856	0,455	0,405	0,284	0,000			U5
2,047	1,136	2,051	1,248	2,229	1,078	1,917	2,824	0,986	1,584	1,484	1,216	1,311	1,465	1,105	1,733	1,274	0,000		U8
1,917	2,120	1,872	2,098	1,694	2,152	1,941	1,970	1,254	2,435	2,334	1,662	1,911	1,824	1,891	1,890	1,799	2,537	0,000	U29

Với quan hệ di truyền giữa các nhóm khác nhau là khác nhau và khoảng cách di truyền thấp nhất là nhóm Bạch đàn camal với Bạch đàn liễu (1,535), số liệu đo đếm sinh trưởng bình quân của 6 tổ hợp lai được khảo nghiệm

tại Hòa Bình cho thấy đường kính chiều cao và thể tích thân cây lần lượt là 3,0cm; 3,2m; 1,2dm³/cây là thấp so với bình quân 4 tổ hợp lai giữa Bạch đàn camal với Bạch đàn uro (giá trị của chúng lần lượt là 5,1cm; 6,5m;

7,4dm³/cây). Trong khi đó giá trị cao nhất là nhóm Bạch đàn liễu với Bạch đàn urô (1,702); hiệu số khoảng cách di truyền của nhóm Bạch đàn camal với Bạch đàn liễu (2,987), Bạch đàn camal với Bạch đàn urô (1,336), và Bạch đàn liễu với Bạch đàn urô có

giá trị (2,1). Theo lý thuyết thì khoảng cách di truyền giữa từng nhóm đối tượng hay từng đối tượng nghiên cứu càng xa nhau thì càng có ý nghĩa trong việc thực hiện các phép lai nhằm đạt được các giống lai có hệ số tăng thu di truyền cao nhất.



Hình 4. Biểu đồ quan hệ di truyền giữa 19 mẫu (cây) bạch đàn

Từ biểu đồ quan hệ di truyền (hình 4) kết hợp với số liệu tính khoảng cách di truyền (bảng 5) giữa các đối tượng nghiên cứu, trung bình khoảng cách di truyền giữa các đối tượng trong nhóm Bạch đàn camal (*E. camaldunensis*) bình quân là thấp (0,712) hơn cả với nhóm loài khác, khoảng cách di truyền trong nhóm này thấp nhất là 0,28 và cao nhất đạt 1,69. Tiếp theo là nhóm Bạch đàn liễu (*E. exserta*) với khoảng cách di truyền trong nhóm này thấp nhất là 0,896 và cao nhất đạt 3,319 trung bình đạt 1,183. Cuối cùng là khoảng cách di truyền của nhóm Bạch đàn urô (*E. urophylla*), giá trị thấp nhất là 0,284 và cao nhất là 2,537 giá trị trung bình là 0,836. Qua các số liệu phân tích cho thấy khoảng cách di truyền giữa các mẫu

nghiên cứu trong cùng loài là rất khác nhau trong khi loài Bạch đàn camal chỉ có 1,41 thì Bạch đàn liễu, Bạch đàn urô lần lượt là 2,495 và 2,254.

Từ bảng hệ số di truyền cho thấy E1BV có giá trị trung bình về khoảng cách di truyền là (2,545) và khoảng cách giữa E1BV với từng đối tượng [1,955; 3,882], đứng thứ hai là U29 với giá trị trung bình đạt (1,961) trong khi khoảng cách với từng đối tượng [1,254; 2,537]. E2, U3 thuộc nhóm có giá trị trung bình khoảng cách di truyền thấp nhất lần lượt (1,226) và (1,227). Với số liệu phân tích này có thể đưa ra nhận định “các tổ hợp lai được tạo ra từ E1BV, U29 sẽ có ý nghĩa cao cho chọn giống bạch đàn lai”.

Bảng 6. Sinh trưởng của các tổ hợp bạch đàn lai tại Hòa Bình (6/2014 - 9/2016)

TT	Tổ hợp lai	Sinh trưởng mẹ - bố	D1.3 (cm)		Hvn (m)		Thể tích thân cây (dm ³ /cây)		Độ vượt về đường kính (%)		Tỷ lệ sống (%)
			Xtb	V%	Xtb	V%	Xtb	V%	So với mẹ	So với bố	
1	U4C1	C-N	6,5	20,3	8,2	19,5	13,6	24,6	59	117	71,9
2	C7U4	N-C	5,3	20,8	7,5	26	8,3	31,7	141	29	62,5
3	U4E1	C-N	4,7	23,2	6	26,3	5,2	34	15	573	71,9
4	U3	N	4,7	30,6	5,2	31,2	4,5	38,3			84,4
5	C4U4	C-C	4,5	28,2	5,3	29,7	4,2	36,7	114	28	75
6	U3E2	N-C	4,4	37,8	5	27,9	3,8	43,1	-16	100	56,3
7	E6U4	C-C	4,4	37	4,6	28	3,5	42,9	100	7	84,4
8	C4U3	C-N	4,2	35,8	5	27,6	3,5	40,7	100	-11	71,9
9	E5U3	N-N	4,1	39,5	5	36,2	3,3	46	37	-13	28,1
10	U4	C	4,1	44,9	5	34,5	3,3	50			46,9
11	U4E6	C-C	4,2	34,6	4,5	32,2	3,1	42,1	2	91	53,1
12	E6U3	C-N	3,8	35,9	4,5	29,5	2,6	42,4	73	-19	46,9
13	E1C1	N-N	3,8	32,8	4,4	33,2	2,5	41,3	90	27	40,6
14	U4E2	C-C	3,8	41,3	4,2	39,7	2,4	47,2	-7	73	65,6
15	E2U4	C-C	3,4	40	5	29,1	2,3	43,9	55	-17	15,6
16	U3E5	N-N	3,5	46,3	4,2	31,1	2	52,1	-26	17	37,5
17	E1U4	N-C	3,5	21,1	3,3	20,1	1,6	31,6	75	-15	18,8
18	E5	N	3	35,8	4	21,2	1,4	39			25
19	C7E1	N-N	3,1	26,6	3,5	10,8	1,3	30	41	55	28,1
20	C1	N	3	31,8	3,5	23,2	1,2	36,1			31,3
21	E6C1	C-N	3,2	43,2	3	23,9	1,2	45,3	45	7	75
22	C5E5	C-N	3	23,1	3	17,7	1,1	30,4		0	18,8
23	C7E6	N-C	2,9	29,4	3	24,7	1	35,2	32	32	15,6
24	E7	C	2,3	38,1	3	28,1	0,6	41,4			21,9
25	E2	C	2,2	34,3	3	20,6	0,6	35,8			12,5
26	E6	C	2,2	35	3	15,8	0,6	39,1			28,1
27	C7	N	2,2	25,4	3	15,8	0,6	30,5			12,5
28	C4	C	2,1	42,4	3	28,7	0,5	45,3			21,9
29	E1	N	2	33	3	26,5	0,5	34,8			28,1
30	C7E5	N-N	1,9	25,1	2,5	23,1	0,4	37,3	-14	-37	9,4
Fpr			<0,001		<0,001		<0,001				
LSD			0,89		0,97		1,29				

Về hình thái của các đối tượng nghiên cứu, đề tài đã thực hiện chọn lọc các đối tượng có sự khác biệt về sinh trưởng kết hợp hình dáng thân để tạo ra sự khác biệt trong các tổ hợp lai. Trong đó, cây sinh trưởng nhanh gồm: C1, C3, C7, E1, E1BV, E5, E7, U1, U2, U3, U29; cây sinh trưởng chậm: C13, C4, C5, E2, E6, U4, U5, U8.

Từ bảng 5 “khoảng cách di truyền giữa 19 mẫu bạch đàn” và hình 4 “Biểu đồ quan hệ di

truyền giữa 19 mẫu (cây) bạch đàn” được xây dựng trên cơ sở các hệ số tương đồng di truyền giữa 19 cây nghiên cứu cho thấy mối quan hệ di truyền giữa các cây, cây trong cùng nhóm loài và các nhóm là tương đối khác biệt và biểu đồ quan hệ di truyền của 19 cây phù hợp với bảng phân loại mối quan hệ giữa các loài bạch đàn của Willcox, M.D., (1997). Trong đó loài Bạch đàn camal và Bạch đàn liễu có quan hệ họ hàng gần nhau hơn so với Bạch đàn urô,

do vậy khi lai giống giữa Bạch đàn urô với Bạch đàn liễu, Bạch đàn camal các tổ hợp lai thường có ưu thế lai nhiều hơn so với tổ hợp lai thuận nghịch giữa Bạch đàn camal với Bạch đàn liễu.

IV. KẾT LUẬN

- Khoảng cách di truyền giữa 19 mẫu (cây) thuộc 3 loài bạch đàn nghiên cứu năm [0,28; 3,882], quan hệ giữa cây khác nhóm loài có ý nghĩa lớn trong chọn giống và lai giống.

- Với 19 mẫu bạch đàn nghiên cứu được chia thành hai nhánh:

+ Nhánh một là nhóm loài Bạch đàn liễu và Bạch đàn camal, khi lai giống giữa 2 nhóm loài này với nhau thường cho sinh trưởng kém so với lai giống thuận nghịch giữa nhóm loài Bạch đàn urô với Bạch đàn camal hay Bạch đàn urô với Bạch đàn liễu.

+ Nhánh hai chỉ có các mẫu thuộc nhóm loài Bạch đàn urô, kết quả nghiên cứu này phù hợp phân loại quan hệ nhóm loài bạch đàn của Willcox (1997).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brondani, R.P.V., Williams E.R., Brondani, C. ADN Grattapaglia, D., 2006. A microsatellite-based consensus linkage map for species of *Eucalyptus* ADN a novel set of 230 microsatellite markers for the genus.
2. Dasgupta, M.G., Dharanishanthi, V., *et al.*, 2015. "Development of Genetic Markers in Eucalyptus Species by Target Enrichment and Exome Sequencing", *PLoS ONE*, 10(1): e0116528. doi:10.1371/journal.pone.0116528
3. Myburg, A.A., Grattapaglia, D., Tuskan, G.A., Hellsten, U., Hayes, R.D., *et al.*, 2014. "The genome of *Eucalyptus grandis*", *Nature*, 510(7505), 356 - 362.
4. Kirst, M., Cordeiro, G.D., Rezende, S.P. ADN Grattapaglia, D., 2005. Power of microsatellite markers for fingerprinting ADN parentage analysis in *Eucalyptus grandis* breeding populations. *J. Hered.* 96:1 - 6.
5. Steane, D.A., Vaillancourt, R.E., Russell, J., Powell, W., Marshall, D. ADN Potts, B.M., 2001. Development ADN characterisation of microsatellite loci in *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae). *Silvae Genet* 50:89 - 91.
6. Scala S.L., Schubert R., Muller-Starck G. and Liepe., 1999. Nuclear microsatellites as tool in the genetic certification of forest reproductive material. A case study in sessile oak (*Quercus petraea* Matt., Lieb). In compendium "Development, optimisation and validation of molecular tool for assessment of biodiversity in forest tree".
7. Willcox, M.D., 1997. A Catalogue of the Eucalypts. Groome Poyry Ltd, Auckland New Zealand, 114 pages.

Người thẩm định: PGS.TS Hà Văn Huân