

NGHIÊN CỨU CHỈ THỊ SSR LIÊN QUAN ĐẾN TÍNH TRẠNG SINH TRƯỞNG CỦA BẠCH ĐÀN LAI (*E. urophylla* × *E. exserta*, *E. urophylla* × *E. camaldulensi*)

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

TÓM TẮT

Từ khóa: Chỉ thị phân tử,
bạch đàn lai, SSR

Đường kính và chiều cao cây là tính trạng số lượng quan trọng cấu thành năng suất. Năng suất là tính trạng số lượng phức tạp, về cơ bản nó là tổng hợp của nhiều tính trạng khác nhau. Năng suất có hệ số di truyền thấp, có chịu ảnh hưởng lớn của các yếu tố môi trường và chịu ảnh hưởng của nhiều gen. Trong nghiên cứu này, 205 cặp mồi SSR được sử dụng để tìm hiểu mối liên quan giữa năng suất và chỉ thị phân tử SSR thông qua 104 cây (mẫu) thuộc các tổ hợp lai thuận nghịch U29E1 và hậu thế bố mẹ của chúng cũng như 60 dòng (mẫu) bạch đàn lai thuộc các tổ hợp lai *E. urophylla* × *E. camaldulensis* (UC) và *E. urophylla* × *E. exserta* (UE). Trong số 205 chỉ thị, nghiên cứu đã xác định được 8 chỉ thị: EMBRA39, EMBRA78, EMBRA124, EMBRA168, EMBRA196, EMBRA208, EMBRA209, EMBRA229 có thể sử dụng để phân biệt giữa các dòng sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm cho các dòng lai UE và UC.

Study on the association of simple sequence repeat (SSR) markers with growth trait in eucalyptus hybrid (*E. urophylla* × *E. exserta*, *E. urophylla* × *E. camaldulensi*)

Keywords: Eucalyptus hybrid,
molecular marker, SSR

The diameter and height of the tree are important quantitative traits which constitute productivity. Productivity is the amount of complex traits, basically it is a combination of many different traits. Productivity has low heritability, which is influenced by environmental factors and by many genes. In this study, 205 SSR primer pairs were used to analysis the relationship between productivity and SSR marker through 104 trees (samples) of the reciprocal hybrid combinations U29E1 and their posterity parents as well as 60 clones (samples) of hybrid combinations *E. urophylla* × *E. camaldulensis* (UC) and *E. urophylla* × *E. exserta* (UE). In 205 markers, the result showed that eight markers: EMBRA39, EMBRA78, EMBRA124, EMBRA168, EMBRA196, EMBRA208, EMBRA209, EMBRA229 can be used to distinguish the fast and slow growth clones for UE and UC.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cải thiện sinh trưởng (năng suất) cây là một mục tiêu chọn giống quan trọng trong nhiều chương trình lâm nghiệp. Hệ số di truyền về sinh trưởng của cây rừng nói chung từ trung bình đến thấp (Hamilton và Potts năm 2008). Một số nghiên cứu QTL đã nhấn mạnh sự hiện diện của cả hai vùng gene ổn định và không ổn định, đóng vai trò sản xuất sinh khối ở mỗi cấp tuổi cây rừng và nền tảng di truyền nhưng kết quả vẫn còn hạn chế về sự tương tác giữa QTL và môi trường. Các phân tích cấu trúc di truyền với nhịp điệu tăng trưởng và nhấn mạnh vào sự tương tác kiểu gene với môi trường thể hiện qua đo đường kính, chiều cao tại các thời điểm để tìm tương quan với các giá trị môi trường thay đổi, hay có thể hiểu là mức độ liên kết của chỉ thị và các gene/QTL kiểm soát tính trạng số lượng (Lê Huy Hàm, 2015).

Năng suất là một tính trạng số lượng phức tạp thể hiện qua các thông số đường kính và chiều cao, về cơ bản nó là tổng hợp của nhiều tính trạng khác nhau. Năng suất có hệ số di truyền thấp, ảnh hưởng lớn bởi các yếu tố môi trường. Sự khác biệt về năng suất không phải do sự phân li của một hoặc hai gene mà là do sự phân li của rất nhiều gene, với ảnh hưởng của mỗi gene là nhỏ. Tính trạng số lượng không phân li thành các nhóm cụ thể, do đó ta không thể đơn giản chỉ sử dụng các nguyên lý di truyền Mendel để nghiên cứu (Nguyễn Việt Cường, 2014).

Các nghiên cứu về giống cây trồng lâm nghiệp trong nước và quốc tế đã có những thành công nhất định, nghiên cứu ứng dụng chỉ thị phân tử trong chọn giống bạch đàn *E. globulus*, *E. nitens* đã được Bundock *et al.*, 2008; Freeman *et al.*, 2009 cho thấy các chỉ thị SSRs, RAPDs có tương quan đến sinh trưởng về đường kính cây với mức đóng góp

biến dị kiểu hình từ 3,8 đến 17,9%, ngoài ra tác giả cũng chỉ ra một số tính trạng về chất lượng như mật độ gỗ, hàm lượng xenlulô, lignin cũng đóng góp cho mức biến dị từ 5,6 - 12,3%.

Anand Raj Kumar Kullán và *et al.* (2012) đã nghiên cứu về sự di truyền của các tính trạng tăng trưởng, tỷ trọng gỗ và biểu hiện của gen ở trong hai gia đình lai trở lại giữa loài Bạch đàn *urophylla* và Bạch đàn *grandis* đã xác định được 2 QTL đường kính thân và 12 QTL cho tỷ trọng gỗ. QTLs cho đường kính và tỷ trọng gỗ cho thấy mức đóng góp biến đổi kiểu hình là 3,1 - 12,2%. Như vậy cả tính trạng chất lượng lẫn số lượng ở các nghiên cứu chỉ đóng góp dưới 18% biến dị cho các tính trạng nghiên cứu.

Bài báo này sẽ trình bày các nghiên cứu về chỉ thị SSR có liên quan đến tính trạng sinh trưởng của giống bạch đàn lai, nội dung bài báo là một phần của đề tài “Nghiên cứu chọn giống bạch đàn lai bằng chỉ thị phân tử”.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Nghiên cứu này sử dụng 60 dòng bạch đàn thuộc tổ hợp lai *E. urophylla* × *E. camaldulensis* (UC) và *E. urophylla* × *E. exserta* (UE) thuộc đề tài “Nghiên cứu chọn giống bạch đàn lai bằng chỉ thị phân tử” được khảo nghiệm tại hiện trường ở Yên Lập - Phú Thọ và Ao Hà - Hòa Bình với năng suất tại tuổi 3 dao động từ 2,5 đến 45,3 m³/ha/năm. Các dòng lai này đều được khảo nghiệm dòng vô tính nên các nhận xét ở đây về sinh trưởng nhanh hay chậm là dựa trên các phân tích thống kê để đánh giá. Ở mỗi địa điểm khảo nghiệm đều có dòng sinh trưởng nhanh hoặc chậm và khi đánh giá chỉ thị phân tử SSR có liên quan đến sinh trưởng đều dựa trên cơ sở các dòng sinh trưởng nhanh hay chậm được so

sánh với nhau cùng địa điểm. Hiện trường địa điểm ở Ao Hà - Hòa Bình có hàm lượng chất dinh dưỡng trong đất cũng như tầng đất dày hơn Yên Lập - Phú Thọ.

- 104 cây lai thuộc tổ hợp lai thuận U29E1: là 24 cây F1U29, tổ hợp lai nghịch E1U29 là 23 cây, dòng vô tính thuộc tổ hợp lai U29E1 là UE27, UE24, UE4, EU67, UE31, cây bố mẹ của U29 và E1 là 2 cây, F1 của U29 thụ phấn tự do là 16 cây và F1 của E1 là 34 cây.

- 53 chỉ thị phân tử SSR có đa hình cao, được chọn trong bộ 300 chỉ thị EMBRA đã công bố, theo bản đồ liên kết các chỉ thị này được phân bố trên 11 nhiễm sắc thể của loài bạch đàn.

- 9 dòng bạch đàn lai thuộc các tổ hợp lai *E. urophylla* × *E. camaldulensis* (UC) và *E. urophylla* × *E. exserta* (UE) thuộc đề tài “Nghiên cứu lai tạo một số loài bạch đàn, keo, trầm, thông” giai đoạn 1 (2001 - 2005) được

sử dụng để kiểm định các chỉ thị có liên quan với tính trạng sinh trưởng, số liệu đo sinh trưởng năm 2006 và 2010 được kế thừa từ đề tài “Nghiên cứu lai tạo một số loài bạch đàn, keo, trầm, thông” giai đoạn 2 (2006 - 2010), mẫu lá thu năm 2012 - 2013 được bảo quản ở tủ lạnh sâu (-80°C).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- ADN tổng số được tách chiết từ lá bằng phương pháp cải tiến của Keb-Klanes *et al.* (2002).

- ADN tổng số và sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1%.

- Sản phẩm PCR có kết quả tốt trên gel agarose sẽ được chạy điện di trên gel polyacrylamide 5% và nhuộm bạc để phát hiện kích thước băng ADN.

- Tính tương quan của các chỉ thị với tính trạng năng suất bằng chương trình tính Correlation trên excell, theo công thức:

$$\text{Hệ số tương quan } R = \frac{\sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{[n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2] [n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}}$$

- Nếu $R > 0$ thì x, y tương quan thuận
- Nếu $R < 0$ thì x, y tương quan nghịch
- Nếu $R = 0$ thì x, y không tương quan
- Nếu $|R| = 1$ thì x, y có quan hệ hàm số bậc nhất
- Nếu $|R| \rightarrow 1$ thì x, y có tương quan chặt (tương quan mạnh)
- Nếu $|R| \rightarrow 0$ thì x, y có tương quan không chặt (tương quan yếu)

- ADN trên bản gel sau khi điện di được xác định vị trí và kích thước từng băng. Số liệu được lập thành bảng theo vị trí và kích thước so với kích thước băng ADN marker 100bp. Để xác định SSR có khả năng phân biệt được giống bạch đàn sinh trưởng nhanh, sinh trưởng chậm dựa vào số liệu phân tích bản gel polyacrylamide kết hợp với việc xác định mẫu nghiên cứu sinh trưởng nhanh, chậm, đưa ra nhận định về mối liên hệ giữa chỉ thị phân tử với tính trạng sinh trưởng làm cơ sở cho chọn giống sớm.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định các cặp môi SSR liên quan đến sinh trưởng nhanh

Cấu thành năng suất của bạch đàn lai được thể hiện ở đường kính và chiều cao của cây, chính vì vậy đề tài sử dụng năng suất là yếu tố để phân tích tương quan với các cặp môi EMBRA, qua đó thể hiện sự liên quan của các cặp môi với tính trạng sinh trưởng. Từ 205 chỉ thị SSR nghiên cứu đề tài đã chọn được 53 chỉ thị SSR cho đa hình với các dòng bạch đàn lai.

Trong số 53 chỉ thị SSR đa hình cao đề tài chọn chỉ thị EMBRA39 để phân tích các kiểu alen của các cây F1 là hậu thế của cây mẹ và cây lai thuộc tổ hợp thuận nghịch U29E1. Đây có thể là những nghiên cứu khởi đầu để tìm sự khác biệt về các kiểu alen giữa các cây sinh trưởng khác nhau trong tổ hợp lai thuận nghịch U29E1 và hậu thế của cây bố mẹ (U29, E1).

Để tìm chỉ thị có tương quan với tính trạng sinh trưởng của bạch đàn lai, đề tài tiến hành thử nghiệm chạy một số chỉ thị EMBRA39 với 104 mẫu bạch đàn lai có tính trạng sinh trưởng đối lập (nhanh-chậm), nhằm tìm ra sự khác biệt về mặt phân tử giữa các dòng sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm.

Trong hàng loạt các chỉ thị chạy thử nghiệm có sự tham khảo các ý kiến chuyên gia cho thấy nhiều khả năng chỉ thị EMBRA39 cho thấy có sự khác biệt về các kiểu alen (kích thước các băng ADN) giữa cây bạch đàn lai

sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm. Kết quả chạy với chỉ thị thấy xuất hiện 4 kiểu gen, cụ thể:

- 2 kiểu đồng hợp tử mang 1 alen là:

+ 150bp

+ 140bp

- 2 kiểu dị hợp tử mang 2 alen là:

+ 150bp và 140bp.

+ 155bp và 140bp.

- Kiểu gen của cây mẹ U29 là đồng hợp tử mang alen: 140bp.

- Kiểu gen của cây mẹ E1 là đồng hợp tử mang alen: 150bp.

- Kiểu gen của cây UE27 và UE24 (có sinh trưởng nhanh) là dị hợp tử: 150 và 140bp.

- Kiểu gen của cây UE4, UE67, UE31 (có sinh trưởng chậm) là đồng hợp tử giống mẹ U29: 140bp.

Bảng 1. Các kiểu alen của 104 cây được phân tích bởi chỉ thị EMBRA39

Alen	Cây										F1 của U29 thụ phấn tự do	F1 của E1 thụ phấn tự do
	U29	E1	UE27	UE24	UE4	EU67	UE31	U29E1*	E1U29*			
140	1				1	1	1	17	10	14	8	
150		1									2	
140 và 150			1	1				6	13	2	11	
155 và 140											12	
Tổng số cây	1	1	1	1	1	1	1	24	23	16	34	

(Ghi chú: U29, E1 cây bố mẹ; UE27, UE24, UE4, EU67, UE31 là các dòng vô tính thuộc tổ hợp lai thuận nghịch U29E1; U29E1* là tổ hợp lai gồm 24 cây F1; E1U29* là tổ hợp lai gồm 23 cây; F1 của U29 thụ phấn tự do là 16 cây và F1 của E1 là 34 cây)

- Theo dõi bảng số liệu tổng hợp kết quả điện di 104 mẫu với chỉ thị EMBRA39 cho thấy đối với các cây tự thụ phấn (F1) của cây mẹ U29 và cây mẹ E1 có sự khác nhau về sự xuất hiện kiểu gen (bảng 1).

+ Các cây F1 tự thụ phấn của cây mẹ U29 chỉ có 2 kiểu gen là đồng hợp tử mang alen 140bp (giống cây mẹ U29) và dị hợp tử 150 và 140bp, đây là 2 kiểu gen có xuất hiện ở các cây lai thuận thuộc tổ hợp U29E1 và cây lai

thuộc tổ hợp lai nghịch E1U29. Sự xuất hiện 2 kiểu gen này là do cây mẹ U29 tại hiện trường Cẩm Quỳ - Ba Vì được trồng độc lập, xung quanh không có cây Bạch đàn uro nào khác nên các hạt F1 được hình thành là do được thụ phấn bởi các hoa của chính nó.

+ Trong khi đó với các cây tự thụ phấn F1 của cây mẹ E1 lại xuất hiện nhiều hơn 2 kiểu gen so với cây tự thụ phấn F1 của U29 (bảng 1). Sự xuất hiện nhiều kiểu gen ở cây F1 thuộc cây mẹ E1 là do cây mẹ E1 được trồng trong vườn tập hợp giống các cây trội Bạch liễu (E), do đó ở đây xảy ra quá trình thụ phấn chéo nhiều hơn là tự thụ phấn (cận huyết), đây chính là lý do các cây F1 của cây mẹ E1 có xuất hiện các alen khác với alen của cây mẹ E1.

- Khi lai cây U29 với cây E1 thì ở cả tổ hợp lai thuận (U29 làm mẹ) và tổ hợp lai nghịch (E1 làm mẹ) các con lai đều mang alen của mẹ hoặc mang alen của cả bố và mẹ. Ở chỉ thị này, các con lai có 2 kiểu gen là:

+ Kiểu gen đồng hợp tử: mang alen 140bp (giống cây mẹ U29), kiểu gen này giống kiểu gen của các cây UE4, EU67, UE31 (có sinh trưởng chậm).

+ Và kiểu gen dị hợp tử mang 2 alen 150bp và 140bp (là 2 alen của cả bố và mẹ), kiểu gen dị hợp tử này giống với kiểu gen của cây UE27, UE24 (có sinh trưởng nhanh).

Đây có thể là cơ sở ban đầu cho thấy với chỉ thị EMBRA39, các cây lai sinh trưởng nhanh có khả năng sẽ cho kiểu gen dị hợp tử, mang cả alen của bố và mẹ, còn các con lai sinh trưởng chậm sẽ cho kiểu gen đồng hợp tử giống mẹ. Tuy nhiên điều này mới chỉ là nhận định ban đầu.

Tỷ lệ của 2 kiểu gen này ở tổ hợp lai thuận và nghịch là khác nhau. Với tổ hợp lai thuận, tỷ lệ con lai mang kiểu gen đồng hợp tử (giống mẹ)

chiếm nhiều hơn so với con lai mang kiểu gen dị hợp tử. Ở tổ hợp lai nghịch, tỷ lệ này là tương đối cân bằng giữa 2 kiểu gen. Tuy nhiên ở đây vì số lượng mẫu thí nghiệm còn hạn chế và vì mới ở tuổi sớm của khảo nghiệm nên chưa thể có số liệu sinh trưởng đáng tin cậy, cũng chưa thể kết luận rõ ràng về sự liên quan của chỉ thị với tính trạng sinh trưởng của bạch đàn lai, vì vậy cần thực hiện thí nghiệm với số lượng số mẫu lớn hơn với các mẫu có số liệu rõ ràng về tính trạng sinh trưởng, kết hợp với phần mềm xử lý thống kê về tương quan giữa tính trạng sinh trưởng với các cặp môi để có thể kết luận chính xác hơn.

Trên cơ sở về sự khác biệt giữa các kiểu alen của các dòng sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm ở môi EMBRA39, đề tài tiếp tục điện di sản phẩm PCR của 60 dòng bạch đàn lai với 53 cặp môi SSR đa hình trên gel polyacrylamide 5%, các số liệu được ghi nhận và xử lý thống kê bằng phương pháp phân tích tương quan để phân tích sự tương quan của các chỉ thị EMBRA với tính trạng sinh trưởng của bạch đàn lai. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Theo số liệu thống kê ở bảng 2, sự tương quan của các cặp môi với tính trạng năng suất của bạch đàn lai dao động từ 0,01 đến 0,57. Trong số 53 chỉ thị được phân tích có bốn chỉ thị có mức tương quan $R > 0,5$; hai chỉ thị có mức tương quan $R > 0,4$; một chỉ thị có mức tương quan $R > 0,3$; hai chỉ thị có mức tương quan $R > 0,2$; bốn năm chỉ thị có mức tương quan thấp $R < 0,2$. Trong đó các chỉ thị có mức tương quan có ý nghĩa với tính trạng năng suất bao gồm 8 chỉ thị: EMBRA78 ($R = 0,51$), EMBRA39 ($R = 0,57$), EMBRA168 ($R = 0,51$), EMBRA209 ($R = 0,4$), EMBRA229 ($R = 0,38$), EMBRA196 ($R = 0,5$), EMBRA124 ($R = 0,23$), EMBRA208 ($R = 0,47$).

Bảng 2. Tương quan của các cặp môi EMBRA với năng suất bạch đàn lai

STT	Chỉ thị SSR	R	STT	Chỉ thị SSR	R
1	EMBRA39	0,57	28	EMBRA 165	0,13
2	EMBRA 47	0,10	29	EMBRA 168	0,51
3	EMBRA 51	0,14	30	EMBRA 179	0,05
4	EMBRA 53	0,01	31	EMBRA 191	0,05
5	EMBRA 54	0,05	32	EMBRA 194	0,20
6	EMBRA 78	0,51	33	EMBRA 196	0,50
7	EMBRA 82	0,12	34	EMBRA 197	0,12
8	EMBRA 86	0,09	35	EMBRA 204	0,13
9	EMBRA 87	0,15	36	EMBRA 205	0,08
10	EMBRA 102	0,17	37	EMBRA 206	0,08
11	EMBRA 104	0,18	38	EMBRA 208	0,47
12	EMBRA 105	0,01	39	EMBRA 209	0,40
13	EMBRA107	0,12	40	EMBRA 210	0,06
14	EMBRA 116	0,16	41	EMBRA 213	0,02
15	EMBRA 124	0,23	42	EMBRA 214	0,02
16	EMBRA 125	0,09	43	EMBRA 215	0,02
17	EMBRA 126	0,07	44	EMBRA 217	0,10
18	EMBRA 129	0,15	45	EMBRA 223	0,15
19	EMBRA 132	0,14	46	EMBRA 225	0,03
20	EMBRA 135	0,05	47	EMBRA 229	0,38
21	EMBRA 137	0,09	48	EMBRA 232	0,06
22	EMBRA 139	0,16	49	EMBRA 237	0,03
23	EMBRA 146	0,08	50	EMBRA 240	0,17
24	EMBRA 147	0,03	51	EMBRA 258	0,12
25	EMBRA 150	0,17	52	EMBRA 263	0,15
26	EMBRA 151	0,03	53	EMBRA 269	0,05
27	EMBRA 157	0,14			

Kết quả phân tích của 8 chỉ thị này với 60 mẫu bạch đàn lai được ghi nhận là hầu hết các dòng sinh trưởng nhanh ở đều mang các alen: EMBRA208 - 1, EMBRA229 - 1, EMBRA124 - 1, EMBRA78 - 1, EMBRA168 - 1, EMBRA39 - 1,

EMBRA209 - 1, EMBRA196 - 3. Trong khi đó các dòng bạch đàn lai sinh trưởng chậm hầu hết đều mang các alen: EMBRA208 - 2, EMBRA229 - 2, EMBRA124 - 2, EMBRA124 - 3: 140bp, EMBRA78 - 3, EMBRA168 - 2,

EMBRA168 - 3, EMBRA39 - 3, EMBRA209 - 2, EMBRA209 - 3, EMBRA196 - 1, EMBRA196 - 2.

3.2. Kiểm chứng các chỉ thị có liên quan đến tính trạng sinh trưởng

Để có kết luận đáng tin cậy hơn về các chỉ thị có liên quan với tính trạng sinh trưởng đã tìm được ở bước trên, đề tài tiến hành kiểm chứng lại các chỉ thị này với các mẫu bạch đàn lai có sinh trưởng đối lập (nhanh và chậm) đã được trồng khảo nghiệm và đánh giá sinh trưởng, tại hiện trường khảo nghiệm của đề tài “Nghiên cứu lai tạo một số loài bạch đàn, keo, trầm, thông” giai đoạn 1 (2001 - 2005) các dòng tại khảo nghiệm tại Bầu Bàng - Bình Dương tháng 8 năm 2002 với 36 công thức thí nghiệm với 2 dòng kiểm chứng là PN2,U6 và PN14 đã

được công nhận giống tiến bộ kỹ thuật. 33 dòng lai. Từ 33 dòng bạch đàn lai ở khảo nghiệm Bầu Bàng đã chọn ra 9 dòng lai trong đó có 6 dòng sinh trưởng nhanh và 3 dòng sinh trưởng chậm, các dòng này đều có so sánh về sinh trưởng với chính nó ở các địa điểm khác như Tam Thanh Phú Thọ và Tân Lập Bình Phước. Các dòng được đánh giá là sinh trưởng nhanh hay chậm đều dựa trên khảo nghiệm hậu thế dòng vô tính và 6 dòng là sinh trưởng nhanh (bảng 3) đều đã được công nhận giống tiến bộ kỹ thuật, giống quốc gia theo quyết định số 1998/QĐ-BNN-KHCN ngày 11 tháng 7 năm 2006; số 3905/QĐ-BNN-KHCN ngày 11 tháng 12 năm 2007; số 3954/QĐ-BNN-LN ngày 11 tháng 12 năm 2008.

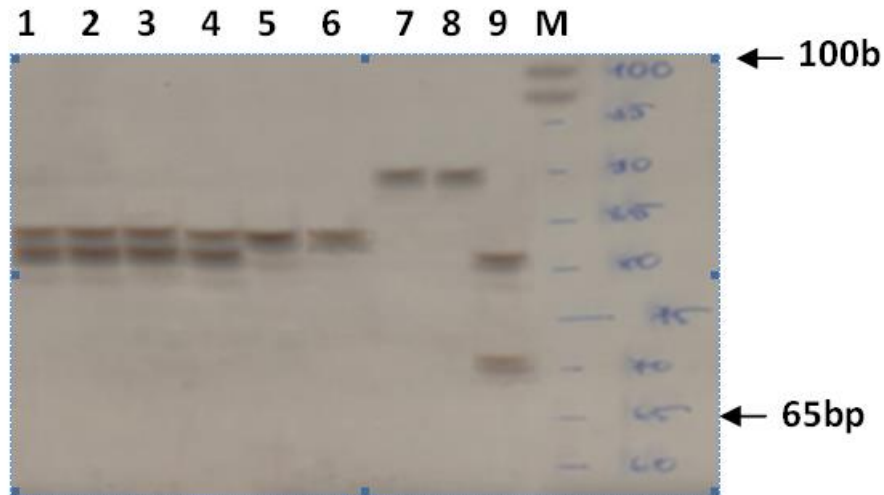
Bảng 3. Các dòng bạch đàn lai sinh trưởng nhanh và chậm ở Bầu Bàng Bình Dương (2002 - 2012)

TT	Dòng	Năng suất (m ³ /ha/năm)		Đánh giá sinh trưởng
		Năm 2006	Năm 2010	
1	UE3	27,1	50,5	Nhanh
2	UE33	21,0	49,0	Nhanh
3	UE27	25,0	42,7	Nhanh
4	UE24	20,4	37,7	Nhanh
5	UC1	25,6	35,7	Nhanh
6	CU90	24,4	20,5	Nhanh
7	UE31	15,8	15,5	Chậm
8	UE5	14,5	11,5	Chậm
9	UE25	15,4	8,8	Chậm

Sự liên kết của chỉ thị SSR với sinh trưởng nhanh của bạch đàn lai được thể hiện trong hình 1, 2, 3 và số liệu thể hiện tại bảng 4.

- Chỉ thị EMBRA168: các dòng UE có sinh trưởng nhanh đều mang kiểu gen dị hợp tử với 2 alen có kích thước 85bp và 80bp. Các dòng UC sinh trưởng nhanh đều mang kiểu gen

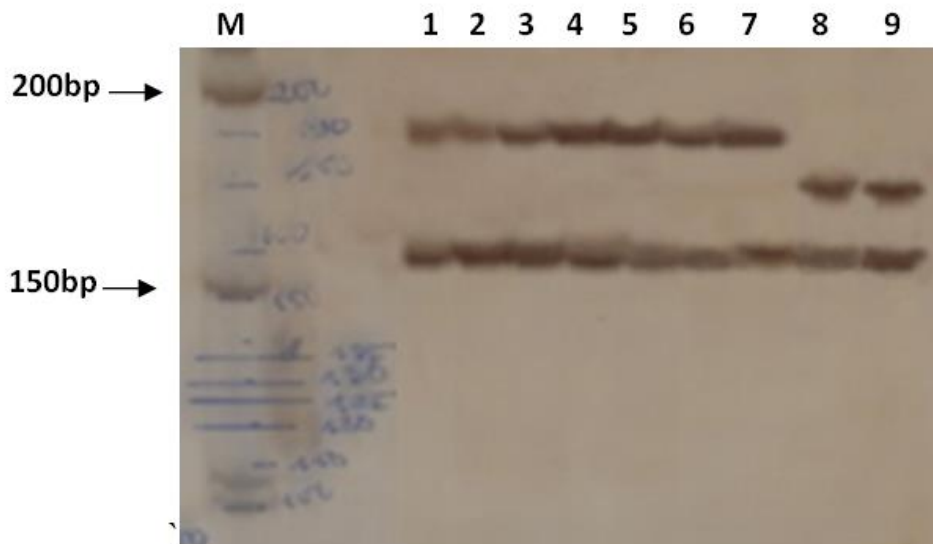
đồng hợp tử với 1 alen 85bp. Trong khi đó, các dòng UE sinh trưởng chậm mang kiểu gen đồng hợp tử với alen có kích thước 90bp hoặc dị hợp tử với 2 alen có kích thước 80bp và 70bp. Mặc dù các dòng sinh trưởng chậm này không mang kiểu alen giống nhau nhưng các kiểu alen này khác với alen ở các dòng sinh trưởng nhanh.



Hình 1. Kết quả điện di 9 dòng bạch đàn lai (theo thứ tự tại bảng 3) với EMBRA168 trên gel polyacrylamide 5%

- Chỉ thị EMBRA229: Các dòng UE và UC sinh trưởng nhanh đều mang kiểu gen dị hợp tử với 2 alen có kích thước 190 và 180bp. Các dòng có sinh trưởng chậm không hoàn toàn có kiểu alen khác với các dòng sinh trưởng

nhanh, cụ thể dòng UE31 sinh trưởng chậm nhưng mang kiểu gen giống với dòng có sinh trưởng nhanh. Dòng UE5 và UE25 sinh trưởng chậm mang kiểu gen dị hợp tử với 2 alen 180bp và 160bp.



Hình 2. Kết quả điện di 9 dòng bạch đàn lai (theo thứ tự tại bảng 3) với EMBRA229 trên gel polyacrylamide 5%

- Chỉ thị EMBRA78: các dòng sinh trưởng nhanh đều mang kiểu gen đồng hợp tử với alen có kích thước 140bp. Dòng UE31 và UE5 có kiểu gen đồng hợp tử với alen 170bp. Tuy

nhiên ở chỉ thị này, dòng UE25 sinh trưởng chậm lại có kiểu gen giống với các dòng có sinh trưởng nhanh.

Bảng 4. Sự liên kết giữa các chi thị SSR với tính trạng (NS-năng suất)

Chi thị	Linkage group	Size (bp)	Sinh trưởng nhanh						Sinh trưởng chậm		
			UE24	UE27	UE3	UE33	UC1	CU90	UE31	UE5	UE25
EMBRA168	5	82							90	90	
			85	85	85	85	85	85			
			80	80	80	80					80
											70
EMBRA229	5	181	190	190	190	190	190	190	190		
										180	180
			160	160	160	160	160	160	160	160	160
EMBRA78	4	107							170	170	
			140	140	140	140	140	140			140
EMBRA196	6	272	130	130	130	130	130	130			130
			125	125	125	125	125	125	125	125	
									120	120	120
EMBRA208	5	116									120
									110	110	
			100	100	100	100	100	100	100	100	
			90	90	90	90	90	90			
EMBRA124	10	90	145	145	145	145					145
					140	140	140	140	140	140	140
EMBRA39	11	146	150	150	150	150	150	150			
										142	142
			140	140	140	140	140	140	140	140	140
EMBRA209	5	153									135
											130
			125	125	125	125	125	125	125	125	
			120	120	120	120	120	120			

- Chi thị EMBRA196: các dòng có sinh trưởng nhanh đều mang kiểu gen dị hợp tử với 2 alen 130bp và 125bp. Các dòng có sinh trưởng chậm tuy không cùng một kiểu gen nhưng các kiểu gen này đều khác với kiểu gen của các dòng có sinh trưởng nhanh, trong đó dòng UE31 và UE5 có kiểu gen dị hợp tử với 2 alen 125 và 120bp, dòng UE25 có kiểu gen dị hợp tử với 2 alen 130bp và 120bp.

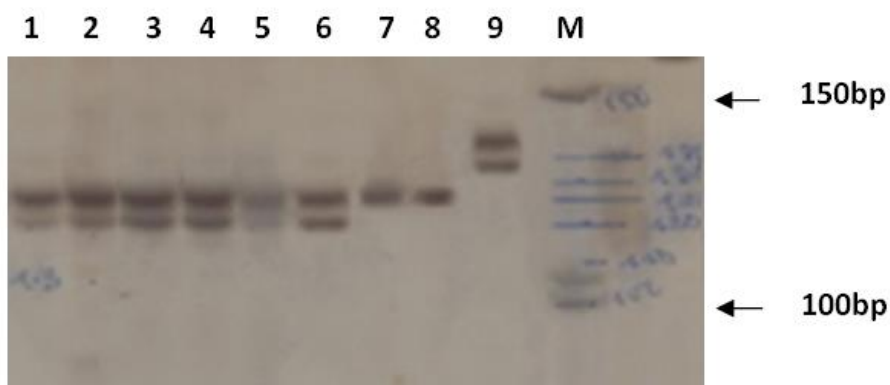
- Chi thị EMBRA208: các dòng có sinh trưởng nhanh đều mang kiểu gen dị hợp tử với 2 alen 100bp và 90bp. Các dòng có sinh trưởng chậm tuy không cùng một kiểu gen nhưng các kiểu gen này đều khác với kiểu gen của các dòng có sinh trưởng nhanh, trong đó dòng UE31 và UE5 có kiểu gen dị hợp tử với 2 alen 110 và 100bp, dòng UE25 có kiểu gen đồng hợp tử với alen 120bp.

- Chỉ thị EMBRA124: ở chỉ thị này, sự khác biệt giữa kiểu gen của các dòng sinh trưởng nhanh và chậm chưa thật sự rõ ràng. Vì vậy cần thử nghiệm với một số lượng lớn hơn các dòng đã được khảo nghiệm và đánh giá sinh trưởng để có kết luận chính xác hơn.

- Chỉ thị EMBRA39: chỉ thị này có sự phân biệt khá rõ ràng về các dòng có sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm, Trong đó, các dòng có sinh trưởng nhanh đều có kiểu gen dị hợp tử với 2 alen 150bp và 140bp, trong khi

đó các dòng sinh trưởng chậm có 2 kiểu gen là dị hợp tử mang 2 alen 142bp và 140bp, và kiểu gen đồng hợp tử mang 1 alen 140bp.

- Chỉ thị EMBRA209: chỉ thị này cũng có sự phân biệt khá rõ ràng về các dòng có sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm, Trong đó, các dòng có sinh trưởng nhanh đều có kiểu gen dị hợp tử với 2 alen 125bp và 120bp, trong khi đó các dòng sinh trưởng chậm có 2 kiểu gen là dị hợp tử mang 2 alen 135bp và 130bp, và kiểu gen đồng hợp tử mang 1 alen 125bp.



Hình 3. Kết quả điện di 9 dòng bạch đàn lai (theo thứ tự tại bảng 3) với EMBRA209 trên gel polyacrylamide 5%

Tóm lại, qua các phân tích trên cho thấy mặc dù chưa thể khẳng định một cách tuyệt đối nhưng 8 chỉ thị trên khi kiểm định với các dòng bạch đàn lai có sinh trưởng nhanh đều cho kết quả về kiểu alen phần lớn giống với kết quả khi chạy với 10 dòng bạch đàn lai sinh trưởng nhanh đã tìm được 8 chỉ thị này đều thể hiện được sự khác biệt giữa các dòng bạch đàn lai sinh trưởng nhanh với các dòng bạch đàn lai sinh trưởng chậm. Tuy nhiên vẫn có thể xảy ra trường hợp là dòng có sinh trưởng chậm mang kiểu gen giống với dòng có sinh trưởng nhanh, điều này là do tính trạng sinh trưởng của mỗi dòng bạch đàn lai đều chịu ảnh hưởng tác động bởi cả kiểu gen và môi trường (lập địa,...).

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Phân tích này bước đầu đã cho thấy có sự phù hợp giữa đánh giá về phân tử và đánh giá về sinh trưởng thông qua khảo nghiệm hậu thế dòng vô tính của các dòng bạch đàn lai từ các tổ hợp lai UE và UC khác nhau. Trong số 53 chỉ thị SSR có đa hình cao đã xác định được 8 chỉ thị: EMBRA39, EMBRA78, EMBRA124, EMBRA168, EMBRA196, EMBRA208, EMBRA209, EMBRA229 có thể sử dụng để phân biệt giữa các dòng sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm cho các dòng lai UE và UC. Tuy nhiên, với số lượng chỉ thị SSR và số dòng bạch đàn lai sử dụng trong nghiên cứu còn hạn chế nên cần tiến hành thí nghiệm trên số lượng chỉ thị và số dòng lớn hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Việt Cường, 2014. “Tìm hiểu và phân tích tính trạng số lượng ở thực vật”, Vietnam Journal of science (online), tháng 10/2014.
2. Nguyễn Việt Cường, 2005. Báo cáo tổng kết đề tài “Nghiên cứu lai tạo giống một số loài bạch đàn, keo, trầm, thông” giai đoạn 1 (2001 - 2005).
3. Lê Huy Hàm, 2015. “Áp dụng công nghệ chỉ thị phân tử trong chọn tạo, cải thiện giống cây trồng trong nông nghiệp, thực trạng và định hướng”, Hội nghị phát triển nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong nông nghiệp, Hà Nội, tháng 6/2015.
4. Anand Raj Kumar Kullana, Maria M van Dyk, Charles A Hefer, Nicoletta Jones, Arnulf Kanzler and Alexander A Myburg, 2012. Genetic dissection of growth, wood basic density and gene expression in interspecific backcrosses of *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. *BMC Genetics* 2012, 13:60 doi:10.1186/1471 - 2156 - 13 - 60 <http://www.biomedcentral.com/1471 - 2156/13/60>
5. Bundock, P.C, Brad M. Potts và René E. Vaillancourt, 2008. Detection ADN stability of quantitative trait loci (QTL) in *Eucalyptus globules* TREE GENETICS & GENOMES Volume 4, Number 1, 85 - 95, DOI: 10.1007/s11295 - 007 - 0090 - 4.
6. Hamilton MG, Potts BM, 2008. Review of *Eucalyptus nitens* genetic parameters. *NZ J For Sci* 38:102 - 119.
7. Freeman, J.S., Simon, P, Whittock và BrADNM. Potts và Vaillancout, R.E, 2009. QTL influencing growth ADN wood properties in *Eucalyptus globules* http://eprints.utas.edu.au/9145/1/Freeman_et_al_TGG2009.pdf

Người thẩm định: PGS.TS Hà Văn Huân