

# **ĐÁNH GIÁ TÍNH ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁC VƯỜN GIỐNG VÔ TÍNH KEO TAI TƯỢNG BẰNG CHỈ THỊ VI VỆ TINH**

**Lê Sơn, Dương Thị Hoa, Hà Huy Thịnh**

*Trung tâm Nghiên cứu Giống cây rừng*

*Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam*

## **TÓM TẮT**

Sử dụng các chỉ thị vi vệ tinh (microsatellite) để đánh giá tính đa dạng di truyền của 100 dòng vô tính trong các vườn giống Keo tai tượng tại Ba Vì (Hà Nội) và Cầu Hai (Phú Thọ) cho thấy các xuất xứ trong vườn giống có tính đa dạng di truyền với số alen trung bình là 3,078, số alen có hiệu lực là 2,731, tỷ lệ dị hợp tử quan sát là 0,495, tỷ lệ dị hợp tử mong đợi là 0,437. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy tỷ lệ giao phối cận huyết trong các vườn giống chỉ khoảng 14%. Có thể chia 8 xuất xứ trong vườn thành 4 nhóm: một nhóm gồm 5 xuất xứ, ba nhóm còn lại mỗi nhóm gồm 1 xuất xứ với giá trị khoảng cách di truyền ở mức độ sai khác trung bình. Các vườn giống vô tính Keo tai tượng với 100 dòng có thể đủ tính đa dạng di truyền và tỷ lệ thụ phấn chéo cần thiết để tạo giống.

**Từ khóa:** Keo tai tượng, Đa dạng di truyền, Chỉ thị phân tử, Vườn giống vô tính.

## **MỞ ĐẦU**

Keo tai tượng (*Acacia mangium*) là loài cây trồng rừng chủ yếu trong các chương trình trồng rừng của các nước châu Á - Thái Bình Dương bởi khả năng sinh trưởng nhanh cũng như khả năng thích ứng với điều kiện đất nghèo dinh dưỡng, là nguồn cung cấp gỗ thương mại chủ yếu để giảm áp lực chặt phá rừng tự nhiên. Keo tai tượng có gỗ màu sáng, không chỉ là sự lựa chọn cho sản xuất đồ mộc gia dụng mà còn là nguồn cung cấp nguyên liệu giấy.

Trong các nghiên cứu về chọn giống cây rừng được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu Giống cây rừng, thuộc Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam các vườn giống vô tính Keo tai tượng tại Ba Vì (Hà Nội) và Cầu Hai (Phú Thọ) đã được xây dựng với 100 dòng vô tính nhằm cung cấp nguồn giống được cải thiện cho các chương trình trồng rừng cũng như làm nguyên liệu ban đầu cho các chương trình nghiên cứu cải thiện giống Keo tai tượng ở nước ta.

Chỉ thị di truyền phân tử (Molecular genetic makers) ngày càng được sử dụng rộng rãi trong công tác cải thiện giống cây rừng, là công cụ để đánh giá mức độ đa dạng tính di truyền của bố mẹ tham gia lai giống, xác định tỷ lệ thụ phấn chéo trong các vườn giống cũng như mối quan hệ di truyền giữa các loài, xuất xứ. Đánh giá và so sánh tính đa dạng di truyền trong các vườn giống vô tính là cơ sở để xác định số lượng dòng vô tính và thiết kế các phép lai nhân tạo, quản lý các vườn giống trong các chương trình chọn giống cây rừng.

Nghiên cứu tính đa dạng di truyền của 100 dòng vô tính từ 8 xuất xứ trong vườn giống bằng 8 chỉ thị vi vệ tinh (microsatellite) ngoài việc đánh giá chất lượng di truyền của vườn giống còn

có ý nghĩa trong việc lựa chọn các cặp bố mẹ lai giống và xác định mục tiêu chọn giống và nhân giống vô tính trong các chương trình cải thiện giống các loài keo ở nước ta.

## PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu là 100 dòng vô tính Keo tai tượng của 8 xuất xứ (bảng 1) được chọn lọc từ các khảo nghiệm giống và được sử dụng để xây dựng vườn giống vô tính tại Ba Vì và Cầu Hai. Mẫu lá được thu trên hiện trường thí nghiệm và làm khô bằng hạt hút ẩm trong các túi nilon được dán kín.

**Bảng 1. Các xuất xứ nghiên cứu**

| TT | Xuất xứ                   | Vĩ độ Nam           | Kinh độ              |
|----|---------------------------|---------------------|----------------------|
| 1  | Kini (PNG)                | 08 <sup>0</sup> 05' | 142 <sup>0</sup> 58' |
| 2  | Gubam NE Morehead (PNG)   | 08 <sup>0</sup> 37' | 141 <sup>0</sup> 54' |
| 3  | Bimadebun (PNG)           | 08 <sup>0</sup> 38' | 142 <sup>0</sup> 03' |
| 4  | Derideri E Morehead (PNG) | 08 <sup>0</sup> 42' | 141 <sup>0</sup> 52' |
| 5  | Wipim district (PNG)      | 08 <sup>0</sup> 47' | 142 <sup>0</sup> 52' |
| 6  | Oriomo (PNG)              | 08 <sup>0</sup> 49' | 143 <sup>0</sup> 06' |
| 7  | Claudie River (Qld)       | 12 <sup>0</sup> 47' | 143 <sup>0</sup> 17' |
| 8  | Vườn giống Cardwell (Qld) | 18 <sup>0</sup> 16' | 146 <sup>0</sup> 02' |

(Ghi chú: PNG: Papua New Guinea, Qld: Queensland - Úc)

### Tách chiết ADN

AND tổng số được tách chiết từ 50 mg mẫu lá khô bằng bộ kit Qiagen DNA 96 Plant Kit. Chất lượng và hàm lượng ADN tổng số được xác định trên gel điện di agarose 1% nhuộm Ethidium Bromide và so sánh với thang ADN chuẩn XIV (100-1500bp) qua hệ thống soi bằng tia cực tím.

### Các chỉ thị vi vệ tinh (microsatellite)

Năm cặp mỗi SSR là những cặp mỗi cho Keo tai tượng do Butcher và cộng sự (2000) và 3 cặp mỗi cho Keo lai do Chin Hong và cộng sự (2005) thiết kế được coi là các chỉ thị có tính đa hình được sử dụng trong nghiên cứu này (bảng 2), trong đó 2 mỗi đã từng được sử dụng để đánh giá tính đa dạng của một số rừng giống Keo tai tượng (Butcher và cộng sự, 2004). Mỗi cặp mỗi được đánh dấu huỳnh quang cho mỗi xuôi để phân tích vị trí đoạn phân mảnh trên máy giải trình tự.

**Bảng 2. Các mỗi SSR được sử dụng**

| Cặp mỗi | Trình tự nucleotide        | Nhiệt độ gắn kết - T <sub>m</sub> (°C) | Vị trí đoạn phân mảnh (số cặp cơ bản- Base pair) |
|---------|----------------------------|--|--|
| Am164f  | ACCCGGACGTATAGAAATAAATACA  | 56                                     | 60 – 250   |
| Am164r  | CGTGGAGGCAAGCAATATC        |  |  |
| Am041f  | TAGGCTAATGGTCATTCCTAG      | 58                                     | 70 -180  |
| Am041r  | AGAGATAGGGGTACACACTAAAAAAC |  |  |

|        |                         |    |          |
|--------|-------------------------|----|----------|
| Am108f | CACGGCTGTTATTTTCCTTCG   | 56 | 120- 210 |
| Am108r | GGAAAGAGGTGTGACAGAGGAC  |    |          |
| Am173f | TTGGATGTCAAGATTTTACGG   | 54 | 70 -110  |
| Am173r | CATTAGGCCACGTTTTGATAG   |    |          |
| Am387f | TGATACAAGGGAAGACAGAGTGG | 58 | 90 -130  |
| Am387r | CCAACCTCAAAACCTGACAACG  |    |          |
| Am465f | TGGGTATCACTTCCACCATT    | 56 | 120-220  |
| Am465r | AGGCTGCTTCTTTGTGCAGG    |    |          |
| AH01f  | TTGAGGTTGAGGGTGATGAA    | 58 | 101-105  |
| AH01r  | GGCAAGCCTCTCTCTCTCT     |    |          |
| AH02f  | TGAACGGCTCTCTCTCTCT     | 50 | 78-80    |
| AH02r  | TTCATCACCTCAACCTCAA     |    |          |
| AH08f  | TTCAGGCCTCTCTCTCTCT     | 50 | 87-93    |
| AH08r  | TCGCCTAAATCCTTCCCAAC    |    |          |

### **Chu trình phản ứng chuỗi trùng hợp (PCR- Polymerase Chain Reaction)**

Phản ứng PCR được thực hiện trên máy Gene Amp PCR system 9700 theo chu trình Touchdown với sự giảm dần nhiệt độ gắn kết của từng mẻ cho mỗi 2 chu trình phản ứng là 1<sup>o</sup>C, nhiệt độ gắn kết cao nhất và thấp nhất được xác định bằng cách lấy nhiệt độ gắn kết tối ưu của mỗi lần lượt cộng và trừ đi 5<sup>o</sup>C. Ví dụ, nhiệt độ gắn kết (T<sub>m</sub>) của một mẻ là 55<sup>o</sup>C thì nhiệt độ gắn kết cao nhất của chu trình là 60<sup>o</sup>C, còn nhiệt độ thấp nhất là 50<sup>o</sup>C (Lê Sơn, 2009).

Chu trình phản ứng PCR được thực hiện như sau: Tháo xoắn AND ở 94<sup>o</sup>C trong 3 phút, sau đó làm biến tính AND ở 94<sup>o</sup>C trong 1 phút, gắn kết các acid nucleic bằng dNTP với nhiệt độ gắn kết giảm dần 10<sup>o</sup>C trong 20 chu trình (cứ 2 chu trình thì giảm đi 1<sup>o</sup>C trong quá trình gắn kết), kết thúc quá trình nhân bội AND ở 72<sup>o</sup>C trong 4 phút, cuối cùng sản phẩm PCR được bảo quản ở 10<sup>o</sup>C (nếu cần).

### **Phân tích sản phẩm PCR**

Các sản phẩm của chu trình PCR được phân tích trên máy Beckman Counter 800 với 8 mao quản có chiều dài 36 cm ở điện thế 8.000 vôn trong 1-2 giờ dựa vào các mẻ đánh dấu huỳnh quang để xác định các bước sóng cực đại. Các dữ liệu di truyền được phân tích bằng chương trình đi kèm.

Các chỉ số đa dạng di truyền cho mỗi loài được phân tích bằng các phần mềm GenAlex V6 (Peakall *et al.* 2006) dựa vào tần số các alen thu được theo định luật Hardy-Weinberg. Các chỉ tiêu di truyền được nghiên cứu là tỷ lệ mỗi đa hình (proportion of polymorphic loci – P%, số alen trung

ình (Na- number of alleles), tỷ lệ dị hợp tử quan sát (observed heterozygosity- Ho); tỷ lệ dị hợp tử mong đợi (expected heterozygosity-He) và hệ số giao phối cận huyết (inbreeding coefficient- F).

Hệ số giao phối cận huyết (F) được tính theo công thức:  $F = 1 - (Ho/He)$ .

Theo đó, F có giá trị dương sẽ thể hiện sự thiếu hụt về tỉ lệ dị hợp tử quan sát (Ho) tức là có hiện tượng tự thụ phấn trong quần thể nghiên cứu, khi F mang giá trị âm thì ngược lại.

Khả năng xuất hiện cây lai là giao phối cận huyết theo tỷ lệ % được ước lượng theo công thức:  $S=2F/(1+F)$  (Allendorf và Luikart, 2007).

Khoảng cách di truyền giữa các xuất xứ (D hay mức độ khác biệt về di truyền -Fst) (Nei *et al.* 1983) được tính bằng phần mềm GenAlex V6 (Peakall *et al.* 2006). Cây quan hệ di truyền được xây dựng trên giá trị của khoảng cách di truyền bằng phần mềm MEGA 5 (Tamura *et al.* 2011) và Geneious Pro 5.5 (Drummond *et al.* 2008).

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Số lượng alen của 8 cặp môi nghiên cứu

Phân tích số liệu thu được cho thấy trong các cặp môi được sử dụng cặp môi Am387 có số alen trung bình cao nhất (6,250) trong khi cặp môi AH01 lại có số alen trung bình thấp nhất (chỉ là 1,125). Số alen trung bình trong các vườn giống là 3,078, thấp hơn so với nghiên cứu của Butcher và cộng sự khi sử dụng 6 cặp môi vi vệ tinh để đánh giá tính đa dạng di truyền và thấp hơn so với 6 rừng giống Keo tai tượng ở nước ta với số lượng alen trung bình đạt từ 4,2 đến 11,7 (Butcher và cộng sự, 2004). Nguyên nhân của kết quả này do sự hạn chế về số cá thể (chỉ 100 cá thể), và các cá thể này đã qua quá trình chọn lọc về các tính trạng kiểu hình nên không phản ánh đầy đủ hàm lượng đa dạng di truyền của quần thể gốc và do việc sử dụng các cặp môi khác (2 cặp môi). Tuy nhiên theo White và cộng sự (2007) đối với cây rừng nói chung, một quần thể được coi là có tính đa dạng di truyền nếu số lượng alen trung bình đạt từ 1,75 trở nên (White *et al.* 2007). Do vậy, số lượng alen trung bình của vườn giống này mặc dù thấp hơn so với một số rừng giống, quần thể được nghiên cứu trước đây nhưng nó vẫn đảm bảo được tính đa dạng di truyền cần thiết.

**Bảng 3. Số alen được phát hiện bằng 8 microsattelite trong 100 dòng Keo tai tượng**

| Locus                           | P%  | Na           |       |
|---------------------------------|-----|--------------|-------|
|                                 |     | Trung bình   | Sx    |
| Am384                           | 100 | 2,375        | 0,183 |
| Am387                           | 100 | 6,250        | 0,590 |
| Am400                           | 100 | 2,375        | 0,183 |
| Am460                           | 100 | 4,250        | 0,412 |
| Am429                           | 100 | 4,875        | 0,441 |
| AH01                            | 100 | 2,000        | 0,000 |
| AH02                            | 100 | 1,375        | 0,183 |
| AH08                            | 100 | 1,125        | 0,125 |
| <i>Trung bình cả vườn giống</i> |     | <i>3,078</i> |       |

Trong các cặp môi được sử dụng, có 2 cặp môi là AH02 và AH08 có số lượng alen trung bình rất thấp (1,375 và 1,125 tương ứng) dù tỷ lệ đa hình của các cặp môi này đều là 100%. Điều này có thể được giải thích bằng sự hạn chế về số lượng alen của mỗi lô-cút nghiên cứu. Do vậy, để đánh giá tính đa dạng di truyền cho Keo tai tượng không nên sử dụng các cặp môi này vì chúng sẽ làm ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu.

#### **Đánh giá đa dạng di truyền các xuất xứ trong vườn giống**

Tỷ lệ dị hợp tử là chỉ số đánh giá mức độ đa dạng di truyền của quần thể, phản ánh tiềm năng di truyền và khả năng thích ứng của nguồn gen. Phân tích dữ liệu di truyền 8 xuất xứ trong các vườn giống vô tính cho thấy tỷ lệ dị hợp tử quan sát  $H_o = 0,438 - 0,542$  và tỷ lệ dị hợp tử mong đợi  $H_e = 0,373 - 0,487$  (tỷ lệ dị hợp tử mong đợi trung bình của cả vườn giống là 0,437) (bảng 4) cao hơn so với vườn giống FORTIP ở Ba Vi (0,333) và rừng trồng Keo tai tượng ở Bầu Bàng (0,375) hay tương đương so với quần thể tự nhiên Daintree – Qld (0,433) trong nghiên cứu của Butcher và cộng sự (Butcher *et al.* 2004) xét về mức độ trong loài. Giá trị đa dạng di truyền của vườn giống là tương đương với kết quả đánh giá đa dạng di truyền cho một số loài cây rừng khác bằng chỉ thị SSR như *Tectona grandis* ( $H_e = 0,32-0,78$ ), *Vitellaria paradoxa* ( $H_e=038-0,44$ ), *Prunus avium* ( $H_e = 0,47$ ) (Fofana *et al.* 2009) nhưng lại thấp hơn so với *Eucalyptus urophylla* ( $H_e = 0,739$ ) (Payn và *et al.* 2008), các loài bạch đàn *Eucalyptus globulus*, *E. camaldulensis* và *E. grandis* ( $H_e = 0,625$ ) (Byrne *et al.* 1996).

Xuất xứ Claudie River (Qld) là có độ đa dạng di truyền cao nhất với số alen trung bình là 3,875 và tỷ lệ dị hợp tử mong đợi ( $H_e = 0,487$ ) trong khi xuất xứ Kini (PNG) có giá trị về tỷ lệ dị hợp tử quan sát cao nhất ( $H_o = 0,542$ ). Như vậy, tính đa dạng di truyền được phân bố đều giữa các xuất xứ/vùng lãnh thổ chứ không tập trung phần lớn vào một phần phân bố cụ thể nhất định nào. Kết quả này có sự sai khác với nhận định của Butcher và cộng sự (1998) khi đánh giá đa dạng di truyền cho các quần thể tự nhiên của Keo tai tượng bằng chỉ thị RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism - đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn). Từ kết quả nghiên cứu, các tác giả đã nhận định tính đa dạng di truyền cao nhất được xác định ở các xuất xứ PNG (Papua New Giune) và có chiều hướng giảm dần ở các xuất xứ của Australia theo sự tăng dần lên của giá trị vĩ độ nam (Butcher *et al.* 1998). Sự khác biệt này còn do sử dụng các chỉ thị phân tử khác nhau và nguồn vật liệu được nghiên cứu không phản ánh hết tiềm năng di truyền của các xuất xứ/quần thể tự nhiên của loài.

**Bảng 4. Đa dạng di truyền các xuất xứ trong các vườn giống**

| Stt | Xuất xứ                   | Na    | Na Freq. $\geq 5\%$ | $H_o$ | $H_e$ | F      |
|-----|---------------------------|-------|---------------------|-------|-------|--------|
| 1   | Kini (PNG)                | 3,250 | 3,250               | 0,542 | 0,453 | -0,248 |
| 2   | Gubam NE Morehead (PNG)   | 2,500 | 2,500               | 0,479 | 0,373 | -0,305 |
| 3   | Bimadebun (PNG)           | 3,250 | 3,250               | 0,438 | 0,481 | 0,053  |
| 4   | Derideri E Morehead (PNG) | 3,000 | 3,000               | 0,517 | 0,435 | -0,218 |
| 5   | Wipim district (PNG)      | 3,125 | 3,125               | 0,500 | 0,416 | -0,211 |
| 6   | Oriomo (PNG)              | 2,125 | 2,125               | 0,438 | 0,406 | -0,044 |
| 7   | Claudie River (Qld)       | 3,875 | 2,875               | 0,525 | 0,487 | -0,045 |

|   |                             |       |       |       |       |        |
|---|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 8 | Cardwell Seed Orchard (Qld) | 3,500 | 3,500 | 0,522 | 0,441 | -0,220 |
|   | Trung bình vườn giống       | 3,078 | 2,906 | 0,495 | 0,437 | -0,148 |
|   | Sx                          | 0,241 | 0,399 | 0,046 | 0,034 | 0,060  |

So sánh với kết quả phân tích đa dạng di truyền của 2 xuất xứ Claudie River (Qld) và Bimadibun (PNG) của Butcher và cộng sự (2004) cho thấy, các giá trị về đa dạng di truyền như số lượng alen trung bình, tỷ lệ dị hợp tử quan sát và tỷ lệ dị hợp tử mong đợi trong nghiên cứu này là thấp hơn. Nguyên nhân chính của của kết quả này là nghiên cứu này sử dụng các dòng vô tính đã qua chọn lọc nên sẽ giảm đi tính đa dạng di truyền, nguyên nhân khác là do thí nghiệm này đã sử dụng 2 cặp môi không có tính đa hình cao cho Keo tai tượng (AH02 và AH08) nên cũng ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu.

Số lượng alen có tần số thấp trong quần thể có thể bị mất đi qua quá trình giao phối tự do, do đó tính đa di truyền của quần thể có thể sẽ giảm đi qua các thế hệ. Theo Allendorf và Luikart (2007) một alen có tần số 0,05 sẽ có khoảng 90% khả năng được giữ lại trong quần thể nhỏ chỉ gồm 25 cá thể qua quá trình giao phối. Vì vậy, chỉ tiêu số lượng alen có tần số từ 0,05 trở lên được tính toán trong nghiên cứu này. Kết quả phân tích cho thấy tỷ lệ các alen có tần số  $\geq 0,05$  (Na Freq.  $\geq 5\%$ ) của vườn giống là 94,16% chứng tỏ sự mất đi các alen có tần số thấp tại vườn giống này bị hạn chế đồng thời cả bởi số lượng cá thể và xuất xứ đủ lớn cũng như tần số các alen tính được. Do đó, vườn giống vô tính Keo tai tượng với 100 dòng vô tính có đủ sự đa dạng di truyền để tạo một nguồn hạt giống tốt và đảm bảo tính đa dạng di truyền cần thiết ở các thế hệ tiếp theo cho trồng rừng do các alen trong quần thể vẫn được duy trì qua quá trình thụ phấn tự do.

Kết quả này cũng cho thấy hầu hết các giá trị F (hệ số giao phối cận huyết) tính được của 8 xuất xứ nghiên cứu mang giá trị âm (ngoại trừ xuất xứ Bimadibun), chứng tỏ tỷ lệ dị hợp tử quan sát (Ho) đạt giá trị cao hơn so với tỷ lệ dị hợp tử mong đợi (He). Theo Allendorf và Luikart (2007) khi giá trị F tính được của một quần thể có giá trị âm chính tỏ không có bằng chứng về quá trình giao phối cận huyết trong quần thể này. Do đó, có thể nhận định rằng tỷ lệ thụ phấn chéo của vườn giống là tương đối cao.

Từ kết quả của hệ số giao phối cận huyết (F) tính được, có thể ước tính chỉ khoảng 14% cây lai thu được từ vườn giống này có thể là kết quả của quá trình giao phối cận huyết. Theo kết quả nghiên cứu về mối tương quan giữa khả năng sinh trưởng và tỷ lệ thụ phấn chéo của Butcher và cộng sự (2004) cho một số rừng giống Keo tai tượng cho thấy có mối tương quan dương giữa 2 chỉ tiêu này. Do vậy, nguồn hạt giống thu được tại vườn giống vô tính có chất lượng cho trồng rừng sản xuất.

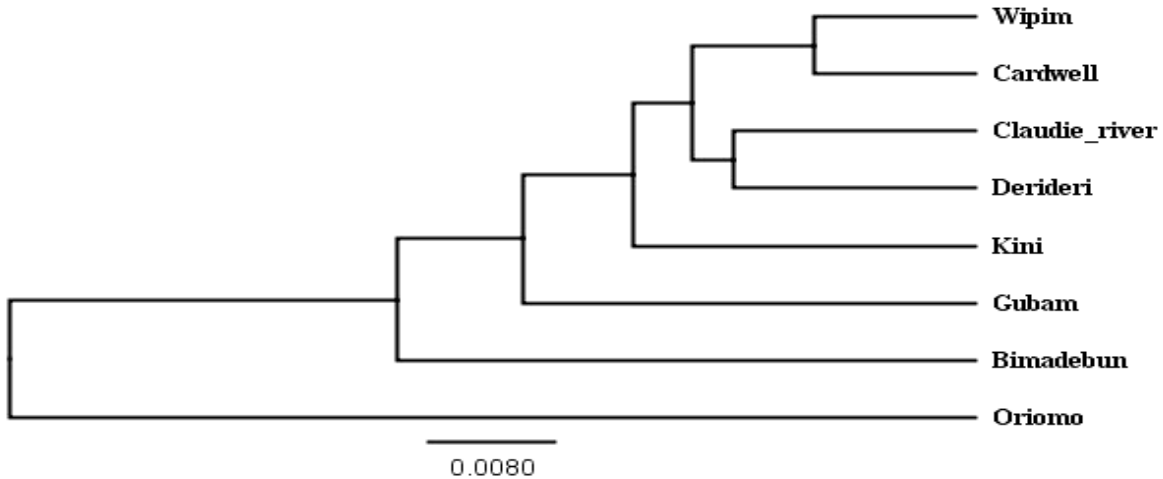
Khoảng cách di truyền giữa các xuất xứ theo Nei (1987) được tính trên cơ sở so sánh về tần số alen các cặp môi nghiên cứu giữa 2 xuất xứ được trình bày tại bảng 5.

**Bảng 5. Khoảng cách di truyền (D) giữa các xuất xứ trong vườn giống**

| Xuất xứ       | Bimadibun | Gubam | Kini  | Wipim | Cardwell SSO | Claudie River | Derideri |
|---------------|-----------|-------|-------|-------|--------------|---------------|----------|
| Oriomo PNG    | 0,120     | 0,120 | 0,120 | 0,120 | 0,120        | 0,120         | 0,120    |
| Bimadibun PNG |           | 0,072 | 0,072 | 0,072 | 0,072        | 0,072         | 0,072    |

|                   |       |       |       |       |       |       |       |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Gubam PNG         | 0,072 |       | 0,056 | 0,056 | 0,056 | 0,056 | 0,056 |
| Kini PNG          | 0,072 | 0,056 |       | 0,042 | 0,042 | 0,042 | 0,042 |
| Wipim PNG         | 0,072 | 0,056 | 0,042 |       | 0,020 | 0,035 | 0,035 |
| Cardwell SSOQLd   | 0,072 | 0,056 | 0,042 | 0,020 |       | 0,035 | 0,035 |
| Claudie River Qld | 0,072 | 0,056 | 0,042 | 0,035 | 0,035 |       | 0,030 |
| Derideri PNG      | 0,072 | 0,056 | 0,042 | 0,035 | 0,035 | 0,030 |       |

Từ kết quả phân tích khoảng cách di truyền (D) giữa các xuất xứ nghiên cứu, quan hệ di truyền giữa các xuất xứ được thể hiện tại hình 1 sau đây.



Hình 1. Quan hệ di truyền giữa các xuất xứ Keo tại tượng có trong vườn giống

Cây quan hệ di truyền trong các xuất xứ nghiên cứu có 2 nhóm có quan hệ di truyền tương đối gần nhau là Wipim và Cardwell SO ( $D = 0,02$ ), Claudie River và Derideri ( $D = 0,03$ ). Nói cách khác, sự khác biệt về mặt di truyền của các xuất xứ này là rất nhỏ. Các xuất xứ còn lại có giá trị khoảng cách di truyền trong khoảng 0,042 đến 0,072 (Guban, Kini và Bimadebun) riêng xuất xứ Oriomo có kháng cách di truyền xa nhất so với các xuất xứ còn lại ( $D = 0,12$ ). Theo Yuong và cộng sự (2000) thì các giá trị này nằm trong khoảng khác biệt từ thấp ( $D < 0,05$ ) đến trung bình ( $D = 0,51 - 0,15$ ) về di truyền giữa các xuất xứ. Như vậy, 8 xuất xứ này có thể chia thành 4 nhóm trên cơ sở giá trị khoảng cách di truyền tính được, nhóm thứ nhất gồm 5 xuất xứ: Wipim, vườn giống Cardwell, Claudie River, Derideri, Kini (có giá trị D từ 0,02 đến 0,42), 3 nhóm còn lại mỗi nhóm chỉ gồm 1 xuất xứ lần lượt là Gubam ( $D = 0,056$ ), Bimadebun ( $D = 0,072$ ) và Oriomo ( $D = 0,12$ ). Tuy nhiên, do số lượng mẫu nghiên cứu chưa đại diện đầy đủ cho từng xuất xứ nên muốn đánh giá được quan hệ di truyền một cách cụ thể hơn thì cần tăng số lượng mẫu nghiên cứu cho từng xuất xứ.

## KẾT LUẬN

Các xuất xứ trong vườn giống có tính đa dạng di truyền với số lượng alen trung bình là 3,078, tỷ lệ dị hợp tử mong đợi (He) là 0,437.

Các giá trị của hệ số giao phối cận huyết (F) tính được có giá trị âm cho thấy có rất ít bằng chứng về mối quan hệ giao phối cận huyết trong các vườn giống nghiên cứu.

Tỷ lệ cây lai có khả năng là sản phẩm của giao phối cận huyết của vườn giống theo tính toán là 14%.

Các xuất xứ có mặt trong vườn giống được chia thành 4 nhóm dựa trên khoảng cách di truyền: nhóm 1 gồm 5 xuất xứ Wipin, vườn giống Cardwell, Claudie River, Derideri, Kini, 3 nhóm còn lại mỗi nhóm chỉ gồm 1 xuất xứ lần lượt là Gubam, Bimadebun và Oriomo với giá trị khoảng cách di truyền ở mức độ sai khác trung bình.

Vườn giống vô tính Keo tai tượng với 100 dòng cây trội đảm bảo đủ tính đa dạng di truyền cần thiết để có thể cung cấp giống sản xuất và nghiên cứu.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. Lê Sơn, 2009. “Sự khác biệt về di truyền giữa các loài bạch đàn *E. pellita*, *E. resinifera* và *E. scias*” Luận văn thạc sĩ. Trường Đại học Southern Cross- Úc.
2. Allendorf F W and Luikart G, 2007. Conservation and the Genetics of Populations. Blackwell publishing.
3. Butcher PA, Moran GF, Perkins HD, 1998. RFLP diversity in the nuclear genome of *Acacia mangium*. Heredity 81 (1998), 205-213.
4. Butcher P A, Decroocq S, Gray Y, Moran GF, 2000. Development, inheritance and cross-species amplification of microsatellite markers from *Acacia mangium*. Theoretical and Applied Genetics, Vol 101: 1282-1290.
5. Butcher P, Harwood CE, Quang TH, 2004. Studies of mating system in seed stands suggest possible cause of variable outcrossing rates in natural populationsof *Acacia mangium*. Forest Genetics, Vol. 11, p. 303-309.
6. Byrne M, Marquez- Garcia MI, Uren T, Smith DS and Moran GF, 1996. Conservation and Genetic diversity of Microsatellite loci in the genus *Eucalyptus*. Aust J Bot. vol 44: 331-341.
7. Chin Hong Ng, Koh SC, Lee L, Ng K KS, Mark A, Norwati M, Wickneswari R, 2005. Isolation of 15 polymorphic microsatellite loci in Acacia hybrid (*Acacia mangium x Acacia auriculiformis*). Molecular Ecology Notes, Vol 5 (3): 572-575.
8. Drummond AJ, Ashton B, Cheung M, Heled J, Kearse M, Moir R, Stones-Havas S, Theirer T, Wilson A, 2008. Geneious Pro v4.0.4 available at <http://www.geneious.com/>. (Verified 27-11-2008).
9. Fofana I J, Ofori D, Poitel M, Verhaegen D, 2009. Diversity and genetic structure of teak (*Tectona grandis* L.f) in its natural range using DNA microsatellite markers. New Forest (2009) 37: 175-195.
10. Payn KG, Dvorak WS, Janse JHB, Myburg AA, 2008. Microsatellite diversity and genetic structure of the commercially important tropical tree species *Eucalyptus urophylla*, endemic to seven islands in eastern Indonesia. Tree genetics and Genomic (2008) 4: 519-530.



11. Peakall R, Smouse PE, 2006. GenA1EX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Note*, Vol. 6, 288-295.
12. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* (submitted).
13. White TL, Adams WT and Neale DB, 2007. *Forest genetics*. CABI publishing.
14. Young A, Boshier D và Boyle T, 2000. *Forest Conservation Genetics principles and practice*. CSIRO publishing.

### **Lời cảm ơn**

Nghiên cứu được thực hiện dưới sự giúp đỡ về kinh phí của Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc tế Úc (ACIAR), chúng tôi xin chân thành cảm ơn về sự giúp đỡ quý báu đó và xin cảm ơn về sự giúp đỡ của các cán bộ thuộc Trung tâm Nghiên cứu Giống cây rừng trong quá trình thực hiện thí nghiệm này.

## **EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY IN *ACACIA MANGIUM* CLONAL SEED ORCHARDS BY USING MICROSATELLITE MARKERS**

**Le Son, Duong Thi Hoa and Ha Huy Thinh**

*Forest Science Institute of Vietnam*

### **SUMMARY**

Simple-sequence-repeat (SSR) markers were used to assess the genetic diversity of 100 clones of *A. mangium* growing in clonal seed orchards (CSO) at Ba Vi and Cau Hai.

The mean expected and observed heterozygosities were 0.437 and 0.495 respectively. The average number of alleles observed with each marker was 3.078 against while the expected number of 2.731. As heterozygosity was greater than expected, there was limited evidence of inbreeding in these orchards.

The actual rate of inbreeding was about 14% and using that genetic information it was possible to assign the eight provenances present in the CSOs, into 4 groups: one containing five provenances (Wipin, Cardwell SO, Claudie River, Derideri, Kini) and three containing only one provenance each. We believe these orchards, which contain 100 clones of *A. mangium*, have sufficient genetic diversity and potential for outcrossing to be suitable for seed production.

**Keywords:** *Acacia mangium*, Genetic diversity, Microsatellite markers, Clonal seed orchard .

**Người thẩm định:** GS.TS. Lê Đình Khả