

ỨNG DỤNG CHỈ THỊ SSR TRONG ĐÁNH GIÁ SINH TRƯỞNG CÁC DÒNG BẠCH ĐÀN LAI

TS NGUYỄN VIỆT CƯỜNG, NGUYỄN VIỆT TÙNG

Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp

NGUYỄN THỊ KIM LIÊN

Viện Nghiên cứu hệ gen

Chọn giống nhờ sự trợ giúp của chỉ thị phân tử đang ngày càng được quan tâm vì có thể rút ngắn thời gian chọn lọc, thậm chí có thể chọn lọc sớm ở giai đoạn cây non. Các chỉ thị phân tử liên kết với tính trạng mong muốn sẽ được dùng để đánh giá nhằm chọn ra những dòng ưu việt. Tuy nhiên, việc sử dụng các chỉ thị trong đánh giá gặp một số trở ngại khi áp dụng cho các loài khác nhau. Trong nghiên cứu này, 13 cặp mồi SSR được sử dụng để nghiên cứu khả năng ứng dụng trong đánh giá sự sinh trưởng của các dòng bạch đàn lai của một số tổ hợp lai. Bước đầu nhận 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 trồng tại các lập địa khác nhau. Trong số 13 cặp mồi SSR sử dụng đã xác định được các cặp mồi EMBRA28, 80, 93, 111, 187, 361 có thể sử dụng để phân biệt giữa các dòng sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm. Tuy nhiên, với số lượng mồi SSR sử dụng trong nghiên cứu và số dòng bạch đàn lai có hạn nên cần tiến hành thí nghiệm trên số lượng mồi và số dòng lớn hơn.

Từ khóa: chỉ thị phân tử, dòng bạch đàn lai, sinh trưởng, SSR.

APPLICATION OF SSR MARKER IN EVALUATING THE GROWTH OF HYBRID EUCALYPTUS LINES

Summary

Molecular marker assisted selection has been increasingly paid more attention because it can shorten the selection time, even selecting in the seedling stage. The molecular markers which link with the interested traits will be used to evaluate in order to select the superior lines. 13 SSR primer sets have been used to evaluate the growth of Eucalyptus hybrid lines from some of the hybrid combinations. The initial results have shown that the evaluation based on the molecular markers has been in conformity with the growth of progeny trials of the hybrid lines grown on different sites. Among of the 13 SSR primer sets, six primer sets (including of EMBRA28, 80, 93, 111, 187, and 361 primers) have been identified to be able to use to distinguish between the fast growth and the slow growth lines. However, the present study has used only a little of primers and hybrid lines, so we need to make an experiment with a larger number of primers and lines.

Keywords: molecular marker, Eucalyptus hybrid lines, growth, SSR.

Đặt vấn đề

Bạch đàn (Eucalyptus) là một trong những nhóm loài cây trồng phổ biến nhất trên thế giới, chiếm khoảng 18 triệu hecta (8% diện tích rừng trồng) và đóng vai trò hết sức quan trọng trong việc cung cấp nguyên liệu giấy, ván dăm, gỗ xây dựng và đồ nội thất [1, 2, 3]. Vì vậy, nghiên cứu nhằm cải thiện năng suất và chất lượng gỗ bạch đàn thông qua chọn giống là hết sức cấp thiết [2]. Tuy nhiên, tính trạng sinh trưởng là tính trạng số lượng do nhiều gen quy định và chịu ảnh hưởng của các yếu tố địa lý và môi trường. Việc chọn giống bằng phương pháp truyền thống đối với loài cây mọc nhanh

nói chung và bạch đàn nói riêng đòi hỏi thời gian dài từ 7 đến 10 năm [4]. Ngày nay, các nhà chọn giống đang tập trung vào việc chọn giống nhờ sự trợ giúp của chỉ thị DNA liên kết với các tính trạng quan tâm (Molecular Assisted Selection - MAS), như vậy, có thể rút ngắn thời gian chọn lọc, thậm chí có thể chọn lọc sớm ở giai đoạn cây non.

Chọn giống bằng chỉ thị phân tử đòi hỏi phải có bản đồ liên kết phân tử với mật độ chỉ thị cao và bản đồ QTLs (Quantitative Trait Locus) với các chỉ thị có sự liên kết chặt với các tính trạng quan tâm. Hiện nay, hệ gen của bạch đàn đã được lập bản đồ liên kết dựa trên sự đa hình của các chỉ thị SSR (Simple Sequence Repeats), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)... Brondani et al., 2006 [1, 5, 6] đã xây dựng bản đồ bao phủ 90% hệ gen của bạch đàn, bao gồm 234 locus EMBRA (là các chỉ thị SSR) trên 11 nhóm liên kết với độ dài 1568 cM, khoảng cách trung bình giữa các chỉ thị là 8,4 cM. Bản đồ QTLs của một số tính trạng sinh trưởng (chiều cao cây, đường kính thân...) cũng đã được xây dựng dựa trên các chỉ thị RFLP, AFLP và SSR [7, 8], tạo điều kiện thuận lợi cho các nhà chọn giống sử dụng các chỉ thị này trong việc đánh giá ngay từ giai đoạn sớm, rút ngắn thời gian chọn lọc.

Tuy nhiên, vị trí của các chỉ thị phân tử trên bản đồ liên kết có thể có sự thay đổi giữa các loài, vì vậy, việc ứng dụng các chỉ thị phân tử cho các loài khác nhau gặp một số trở ngại. Theo Brondani et al., 2006 [2], trên bản đồ liên kết cho loài *E. grandis*, trong số 172 chỉ thị có 153 (89%) chỉ thị giữ nguyên vị trí trên bản đồ chung cho *Eucalyptus*. Trong khi đó trên bản đồ liên kết cho loài *E. urophylla* có 140 trên 152 (92%) chỉ thị giữ nguyên vị trí trên bản đồ chung. Thamarus et al., (2002) [9] cũng nhận thấy có sự thay đổi vị trí của một số chỉ thị trên bản đồ giữa các loài khác nhau, tuy nhiên, sự thay đổi này là rất hiếm xảy ra và chỉ ở một vài chỉ thị.

Trong bài báo này, các chỉ thị SSR được dùng để đánh giá tính trạng sinh trưởng của các dòng bạch đàn lai thuộc đề tài “*Nghiên cứu lai giống một số loài cây bạch đàn, keo, tràm và thông*” giai đoạn II nhằm nghiên cứu khả năng sử dụng các chỉ thị này trong chọn lọc sớm các dòng bạch đàn lai có khả năng

sinh trưởng triển vọng bằng chỉ thị phân tử.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu là các dòng bạch đàn lai từ các tổ hợp lai giữa các loài khác nhau, bao gồm:

- Các dòng bạch đàn UE24, UE27, UE3 thuộc tổ hợp lai giữa bạch đàn uro (*E. urophylla*) và bạch đàn liễu (*E. exserta*), là các dòng đã được công nhận giống quốc gia và giống tiến bộ kỹ thuật.

- Các dòng bạch đàn lai UC2, UC80, CU91, UC78 thuộc tổ hợp lai giữa bạch đàn uro (*E. urophylla*) và bạch đàn caman (*E. camadulensis*). Trong đó, có 3 dòng là UC2, UC80, CU91 là giống được công nhận là giống tiến bộ kỹ thuật, còn dòng lai UC78 là giống lai có sinh trưởng chậm ở cả ba địa điểm khảo nghiệm.

- Các dòng bạch đàn lai UG54, UG38 thuộc tổ hợp lai giữa bạch đàn uro (*E. urophylla*) và bạch đàn grandis (*E. grandis*), UT64 thuộc tổ hợp lai giữa bạch đàn uro (*E. urophylla*) và bạch đàn tere (*E. tereticoris*), UCM48 thuộc tổ hợp lai ba giữa bạch đàn uro (*E. urophylla*) với bạch đàn caman (*E. camadulensis*) và bạch đàn microcorys (*E. microcorys*), các dòng này mới được khảo nghiệm ở một địa điểm.

- Các dòng bạch đàn uro thuần U6, PN14 được sử dụng làm kiểm chứng để đánh giá sinh trưởng.

Tất cả các dòng bạch đàn lai này được trồng ở 2 lập địa khác nhau tại 4 địa điểm của vùng Trung tâm: Tam Thanh - Phú Thọ (đặc điểm tự nhiên của đất feralit/phiến sét thạch anh) và vùng Đông Nam Bộ: Bầu Bàng - Bình Dương (đặc điểm tự nhiên của đất xám/phù sa cổ) và Tân lập - Bình Phước (feralit/phiến sa thạch).

DNA genome của các mẫu bạch đàn lai (từ các mẫu lá khô được bảo quản bằng silicagel) được tách bằng phương pháp của Keb - Llanes et al., 2002.

Các chỉ thị SSR dùng trong nghiên cứu là các chỉ thị nằm trên vùng liên kết với các gen kiểm soát tính trạng chiều cao cây và đường kính thân trên bản đồ QTLs xây dựng cho *E. globulus* [7], *E. nitens* [8] và bản đồ liên kết xây dựng cho các loài *E. grandis* và *E. urophylla* [1] (bảng 1).

Bảng 1: trình tự các cặp mỗi SSR sử dụng trong nghiên cứu

Stt	Tên mỗi	Trình tự mỗi xuôi	Trình tự mỗi ngược	Tham khảo
1	EMBRA16	CAACGTTCCTTTCTTC	ATGTTAGGCCAAACCCAG	Thumma và cs., 2010
2	EMBRA28	CAAGACATGCATTTCGTAGT	ACTCTTGATGTGACGAGACA	Thumma và cs., 2010
3	EMBRA29	CTTCGCTCACATCAGTCTC	CAATCGAGTCAATAACATTC	Brondani et al., 2006
4	EMBRA70	GTCACGTGTTCAGAACGTA	TTGTTGCTGATACCAATCC	Thumma và cs., 2010
5	EMBRA80	GCTTGCAATTGCTGATGTA	ATGGCCTTTGTACCTCT	Thumma và cs., 2010
6	EMBRA93	TGAAGTCTTGATCAGATGGA	TGAGTAGAGACATGCGAAGA	Thumma và cs., 2010
7	EMBRA111	CACAATGGACCCAGCATA	AAAAGTTTGGCTGATGGG	Freeman và cs., 2009
8	EMBRA130	AATTGTGTGAATCTGATCC	GCTCCAAAGTTATCGAAAGT	Thumma và cs., 2010
9	EMBRA187	CTCATGCATAGCTGCTACTC	GCAGCTCAGTGATATTGG	Thumma và cs., 2010
10	EMBRA189	CGTGCTTTTGAGGCTCT	GATTGAGGATGAGTGGTC	Brondani et al., 2006
11	EMBRA222	CAATGATCAGAACCGCT	TTCGGCATCCATGCTAGA	Brondani et al., 2006
12	EMBRA242	GAGGGACAGAGCAGAAGA	TATGCTTGAATGCCATGTA	Freeman và cs., 2009
13	EMBRA361	GTCGCCATCGTCGTAGT	ATCATCCGTATCAGCCGA	Brondani et al., 2006

Kỹ thuật PCR với các môi SSR được tiến hành với tổng thể tích của phản ứng là 25 µl/mẫu, gồm các thành phần sau: DNA tổng số (50 ng), mỗi (10 ng), dNTP (2,5 mM), đệm 10XPCR, enzyme Taq polymerase (0,5 U). Chu trình nhiệt bao gồm các bước: 94°C (3 phút), 94°C (1 phút), 56°C (1 phút), 72°C (1 phút), 72°C - 10 phút, lặp lại 30 chu kỳ từ bước 2 đến bước 4.

Kết quả và thảo luận

Kết quả đánh giá khả năng sinh trưởng của các dòng bạch đàn lai

Kết quả đánh giá sinh trưởng các dòng bạch đàn lai dựa vào số liệu đo đếm hàng năm của khảo nghiệm hậu thế dòng vô tính tại 4 địa điểm trên hai vùng sinh thái chính là vùng Trung tâm và vùng Đông Nam Bộ với hai lập địa khác biệt cho thấy, có thể tạm phân chia sinh trưởng của các dòng bạch đàn lai theo các nhóm sau (bảng 2):

- Nhóm 1: UE24, UE27 là dòng lai có sinh trưởng nhanh nhất ở cả hai hiện trường đã được công nhận giống quốc gia (các dòng này sinh trưởng nhanh vượt các dòng kiểm chứng U6, PN14).

- Nhóm 2: dòng sinh trưởng nhanh ở một hiện trường và chậm ở hai hiện trường là UE3 được công nhận là giống tiến bộ kỹ thuật.

- Nhóm 3: dòng có sinh trưởng nhanh trung bình ở cả ba hiện trường là UC80, UC2, CU91, cả ba

dòng lai này đều được công nhận giống tiến bộ kỹ thuật (các dòng này có sinh trưởng nhanh bằng các dòng kiểm chứng U6, PN14).

- Nhóm 4: dòng sinh trưởng chậm ở cả ba hiện trường là UC78.

- Nhóm 5: các dòng có sinh trưởng nhanh ở một hiện trường là UG54.

- Nhóm 6: các dòng có sinh trưởng chậm ở một hiện trường là UT64, UCM48, UG38.

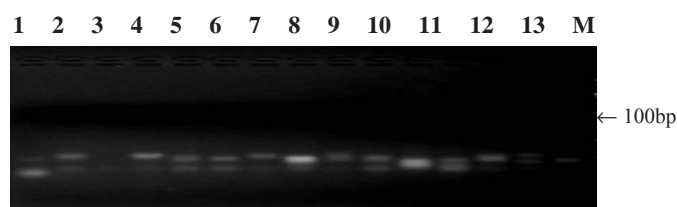
Bảng 2: tổng hợp sinh trưởng của các dòng lai tại 4 địa điểm khảo nghiệm

Địa điểm	Tên dòng	Tuổi 2			Tuổi 3			Tuổi 4			Tuổi 5			Tuổi 6		
		D _{1,3} (cm)	H (m)	V (dm ³ /cây)	D _{1,3} (cm)	H (m)	V (dm ³ /cây)	D _{1,3} (cm)	H (m)	V (dm ³ /cây)	D _{1,3} (cm)	H (m)	V (dm ³ /cây)	D _{1,3} (cm)	H (m)	V (dm ³ /cây)
Tân Lập - Bình Phước (2003-2009)	UE27	7.1	7.0	13.7	10.4	10.7	45.3	13.1	12.6	96.1	16.7	16.4	172.2	19.8	17.2	255.9
	UE24	7.2	7.3	14.8	10.0	11.1	43.2	13.7	12.6	104.5	14.6	15.8	141.0	17.5	17.8	220.5
	PN14	5.0	5.1	4.9	7.1	8.4	16.6	10.6	8.8	54.5	15.3	13.4	120.6	15.3	15.8	145.2
	U6	7.7	6.8	15.8	10.7	11.5	51.5	13.4	12.5	91.5	13.5	12.5	91.5	13.9	17.1	139.9
	UC80	6.6	6.5	11.2	9.9	10.8	41.9	10.6	11.7	67.5	11.6	12.5	68.5	12.2	15.6	107.9
	UC2	7.1	7.1	14.3	9.8	10.4	39.1	11.1	12.5	79.5	12.1	13.9	81.8	12.6	15.4	87.1
	UC78	6.5	8.3	13.6	9.1	11.4	37.2	9.8	11.8	44.5	10.2	12.2	48.5	10.6	12.7	60.1
	UE3	5.8	6.3	8.4	8.0	9.9	24.6	9.3	10.4	39.7	9.4	11.2	45.2	10.2	11.7	49.0
Bầu Bàng - Bình Dương (2003-2009)	UE3	6.3	6.6	10.6	9.9	11.8	47.3	13.1	14.3	98.5	14.8	15.1	135.4	15.5	17.4	145.9
		5.9	6.5	9.3	9.9	11.4	46.0	12.6	13.8	91.0	12.6	13.9	94.0	14.1	16.0	128.4
		5.7	6.0	7.8	9.8	11.5	44.5	13.1	12.5	88.7	13.8	13.5	108.6	14.8	14.4	121.4
		4.6	4.6	5.1	9.7	11.2	43.2	12.2	11.6	69.1	13.7	12.2	98.2	14.3	12.3	109.7
	U6	5.4	5.6	7.2	9.6	11.4	42.3	12.1	12.2	73.7	13.1	13.0	94.8	13.4	13.2	99.0
	UC2	6.3	6.3	10.2	9.9	11.0	46.0	11.1	12.1	58.6	11.7	12.7	76.3	12.3	13.4	79.2
	UE24	5.5	6.5	8.4	9.1	11.4	38.2	10.2	11.9	55.9	10.9	12.0	64.6	11.1	12.9	68.8
	UC78	5.2	6.2	6.7	8.3	10.4	30.3	9.4	11.2	40.3	10.1	11.4	46.5	10.1	11.7	50.0
Tân Thành - Phú Thọ (2002-2008)	UE24	8.5	8.7	25.1	10.8	11.1	51.4	12.2	12.1	70.7	14.1	13.6	111.4	16.1	14.2	139.7
	UE27	7.2	7.5	15.3	9.2	9.4	32.0	10.9	10.1	48.8	12.4	12.7	80.3	13.9	12.9	99.7
	CU91	7.6	8.3	19.9	9.5	10.8	39.0	10.7	12.1	54.4	11.9	13.2	73.4	13.0	14.0	92.9
	UC80	7.1	7.4	15.2	8.9	9.3	30.4	10.4	11.1	49.1	11.7	12.9	75.4	12.7	13.5	83.9
	U6	7.1	7.4	15.1	9.0	9.4	30.7	10.3	10.2	44.0	11.2	12.1	64.8	13.0	12.7	83.5
	UC2	7.2	7.6	15.9	8.7	9.3	27.7	9.4	9.4	32.9	10.0	10.7	43.8	10.7	10.9	49.7
	UE3	6.6	7.2	12.4	8.1	9.1	24.3	8.9	9.7	31.1	9.3	10.1	37.7	9.8	10.5	40.1
	UC78	5.5	6.8	8.2	6.7	8.2	14.8	7.4	8.4	18.7	8.2	10.1	27.3	8.5	10.2	29.6
Tân Thành - Phú Thọ (2007-2012)	UG54	7.4	9.1	20.7	9.9	11.3	43.5	11.5	14.7	76.3	16.3	16.0	166.9			
	UG38	5.1	6.2	6.3	6.1	6.5	9.5	7.6	7.9	17.9	7.9	8.1	19.8			
	UT64	6.3	8.4	13.6	7.3	9.2	19.3	8.2	9.4	24.8	9.2	9.8	32.6			
	UCM48	5.9	6.4	8.7	6.5	7.0	11.6	6.8	7.2	13.1	7.2	7.5	14.2			

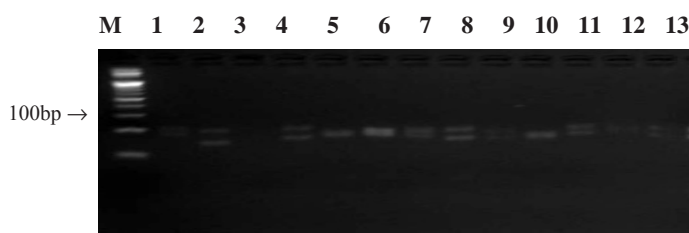
Kết quả phân tích với các chỉ thị SSR

Các chỉ thị SSR dùng trong nghiên cứu để đánh giá tính trạng sinh trưởng nhanh của các dòng bạch đàn lai từ một số tổ hợp lai khác nhau. Trong bài báo này, tập trung phân tích mối liên quan giữa các chỉ thị nghiên cứu với các dòng có sinh trưởng nhanh và chậm của các tổ hợp lai khác nhau, vật liệu được chọn nghiên cứu là các dòng lai đã được đánh giá là có sinh trưởng tương đối ổn định (nhanh hoặc chậm) từ hai địa điểm nghiên cứu tại hai vùng sinh thái khác nhau.

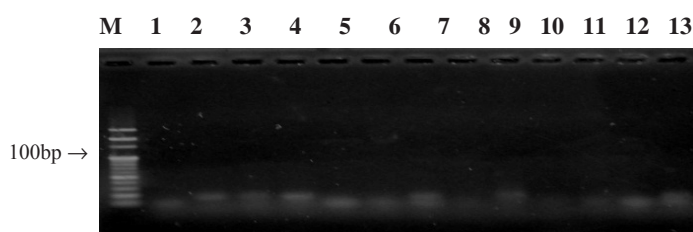
Sản phẩm PCR với các cặp mồi SSR được điện di trên gel agarose 3,5% (hình 1, 2, 3) để đánh giá sự khác biệt về mặt phân tử giữa các dòng bạch đàn lai.



Hình 1: kết quả điện di sản phẩm PCR cặp mồi EMBRA80 với các dòng bạch đàn



Hình 2: kết quả điện di sản phẩm PCR cặp mồi EMBRA242 với các dòng bạch đàn



Hình 3: kết quả điện di sản phẩm PCR cặp mồi EMBRA361 với các dòng bạch đàn

Ghi chú: M: Marker 100bp, 1-13: các dòng bạch đàn UC80, UE27, UG54, UE24, U6, UE3, UC2, UT64, UCM48, UC78, PN14, UG38, CU91

Kết quả điện di sản phẩm PCR của các cặp mồi SSR với các dòng bạch đàn lai cho thấy các cặp mồi SSR sử dụng trong nghiên cứu cho sự đa hình giữa các dòng bạch đàn lai (trừ cặp mồi EMBRA70 và EMBRA87). Một số cặp mồi có sự đa hình cao và sự khác biệt rõ rệt giữa các dòng bạch đàn có thể sử dụng để đánh giá bước đầu về khả năng sinh trưởng (bảng 3).

Bảng 3: một số cặp mồi SSR có sự đa hình cao và có thể sử dụng để phân biệt các dòng sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm

Stt	Tên dòng	EMBRA16 DBH7	EMBRA28 DBH3-4	EMBRA80 DBH8, H4	EMBRA93 DBH7	EMBRA111 DBH3-4, H3-4	EMBRA130 H3	EMBRA187 DBH3-4	EMBRA242 DBH3-4, H3-4	EMBRA361 DBH8
1	UE27	2	2-4	1-4	2-3	3-4	2	3	2-5	1
2	UE24	1-2	2-4	2-4	1-2-3	3	2	3	2-5	1
3	UE3	1	2-4	1-4	2-3	3-4	1	3	3-4	1-2
4	UC80	1	3	2-5	2-3	4	1	2	1-3	2
5	UC2	1	1-5	2	1-2-3	2-4	1	2	2-5	2
6	CU91	2	3	2				2-4	4	1
7	UC78		3-5	3	1-3	3		3	2-4	2
8	UG38	1	3	2		1		1-3	2-5	1-2
9	UG54			1-4				1-3		1
10	UT64	1	1	1	3	4	1	1	3-5	1
11	UCM48		1	2-4	2-3	3-4	1-2	3	4	2
12	U6	1	1	2-4	2-3		1	3	4	2
13	PN14	1	2-4	3-4	1-2-3	3-4	2	1-3	3	2

Kết quả thí nghiệm ghi nhận ở bảng 2 và 3 cho thấy, các dòng có sinh trưởng nhanh nhất thuộc các tổ hợp lai giữa bạch đàn uro (ký hiệu chữ U) và bạch đàn liễu (E) là UE24, UE27, UE3 đều mang các alen EMBRA28-2-4, EMBRA80-4, EMBRA93-2-3, EMBRA111-3, EMBRA187-3, EMBRA361-1. Các dòng có sinh trưởng nhanh trung bình thuộc các tổ hợp lai giữa bạch đàn uro và bạch đàn caman (C) và ngược lại là UC80, UC2, CU91 đều mang các alen EMBRA80-2 và EMBRA187-2, trong khi đó dòng bạch đàn lai có sinh trưởng chậm ở cả ba địa điểm

khảo nghiệm là UC78 lại xuất hiện alen EMBRA80-3 và EMBRA187-3. Các dòng lai thuộc các tổ hợp lai UG (bạch đàn uro lai với bạch đàn grandis), CP (bạch đàn caman lai với bạch đàn pellita), UT (bạch đàn uro lai với bạch đàn tere), UCM (tổ hợp lai ba giữa bạch đàn uro với bạch đàn caman và bạch đàn microcorys) tuy chưa có số liệu đánh giá đầy đủ nhưng cũng đã cho thấy các chỉ thị dùng trong nghiên cứu có thể sử dụng để đánh giá khả năng sinh trưởng của các tổ hợp lai này.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hoàn toàn có thể sử dụng các chỉ thị SSR đã được công bố cho phân tích đánh giá ở các loài *Eucalyptus* khác nhau hoặc các giống lai khác loài giữa các loài bạch đàn. Tỷ lệ các chỉ thị SSR có thể sử dụng chung cho các loài *Eucalyptus* là rất cao (tới 90%, thậm chí 100%), trong khi tỷ lệ này ở *Corymbia* là 21% [2, 10]. Khả năng có thể ứng dụng cho nhiều loài khác nhau của chỉ thị SSR còn là do chỉ thị SSR tạo thành những vị trí neo nằm trên những vùng đặc trưng trong hệ gen của các loài khác nhau [11].

Như vậy, bước đầu phân tích 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 khác nhau. Trong số 13 cặp mỗi SSR đã xác định được các cặp mỗi EMBRA28, EMBRA80, EMBRA93, EMBRA111, EMBRA187, EMBRA361 có thể sử dụng để phân biệt giữa các dòng sinh trưởng nhanh và sinh trưởng chậm cho các dòng lai UE, UC và CU. Tuy nhiên, với số lượng mỗi SSR sử dụng trong nghiên cứu và số dòng bạch đàn lai có hạn nên cần tiến hành thí nghiệm trên số lượng mỗi và số dòng lớn hơn ■

Tài liệu tham khảo

1. Brondani R.P.V., Williams E.R., Brondani C., Grattapaglia D. (2006). A microsatellite-based consensus linkage map for species of *Eucalyptus* and a novel set of 230 microsatellite markers for the genus. *BMC Plant Biol.*
2. Grattapaglia D., Kirst M. (2008). *Eucalyptus* applied genomics: from gene sequences to breeding tools. *New Phytol.*

3. FAO: State of the World's Forests (2007). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. <http://www.fao.org/docrep/009/a0773e/a0773e00.HTM>

4. Vinod K.K. (2009). Genetic mapping of quantitative trait loci and marker assisted selection in plantation crops. *In vitro Techniques in Plantation Crops.*

5. Brondani R.P.V., Brondani C., Grattapaglia D. (2002). Towards a genuswide reference linkage map for *Eucalyptus* based exclusively on highly informative microsatellite markers. *Mol Genet Genomics.*

6. Shepherd M., Jones M.E. (2005). Molecular markers in tree improvement: characterisation and use in *Eucalyptus*. In: *Molecular marker systems in plant breeding and crop improvement.* Springer-Verlag, Heidelberg, Germany.

7. Freeman J.S., Whittock S.T., Potts B.M., Vaillancourt R.E. (2009). QTL influencing growth and wood properties in *Eucalyptus globules*. *Tree Genetics & Genomes.*

8. Thumma B.R., Baltunis B.S., Bell J.C., Emebiri C.L., Moran G.F., Southerton S.G. (2010). Quantitative trait locus (QTL) analysis of growth and vegetative propagation traits in *Eucalyptus nitens* full-sib families. *Tree Genetics & Genomes.*

9. Thamarus K.A., Groom K., Murrell J., Byrne M., Moran G.F. (2002). A genetic linkage map for *Eucalyptus globules* with candidate loci for wood, fibre, and floral traits. *Theor Appl Genet.*

10. Nagabhushana K., Hendre P.S., Sharma N., Rathinavelu R. (2011). Novel design and deployment of orthologous genic SSR markers in *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. *Proceedings* 5: P51 <http://www.biomedcentral.com/1753-6561/5/S7/P51>

11. Marques C.M., Brondani R.P.V., Grattapaglia D., Sederoff R. (2002). Conservation and synteny of SSR loci and QTLs for vegetative propagation in four *Eucalyptus* species. *Theor. Appl. Genet.*