

Xác định mối quan hệ di truyền của một số dòng Keo lá trà (Acacia auriculiformis) bằng chỉ thị ISSR

Dương Văn Đoàn, Trần Thị Thu Thảo, Bùi Tri Thức, Nguyễn Mạnh Tuấn, Nguyễn Tiến Dũng*

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên, xã Quyết Thắng, TP Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

Ngày nhận bài 17/4/2023; ngày chuyển phân biện 20/4/2023; ngày nhận phân biện 2/5/2023; ngày chấp nhận đăng 8/5/2023

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, 7 dòng Keo lá trà (*Acacia auriculiformis*) đang trồng khảo nghiệm tại huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị được tiến hành đánh giá đa dạng di truyền bằng 15 môi ISSR. Kết quả cho thấy, 7 dòng keo có hệ số biến động di truyền ở mức độ trung bình. Trong đó, 4 môi gồm ISSR1, ISSR3, ISSR8 và ISSR15 cho chỉ số đa hình di truyền tốt hơn các môi còn lại. Trong tổng số 40 phân đoạn được khuếch đại có 30 phân đoạn đa hình, chiếm 75%. Chỉ số đa dạng di truyền PIC dao động trong khoảng 0,28-0,33. Trong đó, môi ISSR8 cho chỉ số đa dạng di truyền cao nhất (0,33), môi ISSR15 cho mức độ đa dạng di truyền thấp nhất (0,28). 7 dòng Keo lá trà được chia thành 2 nhóm chính. Nhóm I gồm 4 dòng Clt7, Clt18, Clt19 và Clt26. Nhóm II gồm 3 dòng Clt25, Clt43 và Clt57. Sự khác biệt di truyền có mối tương quan với khả năng sinh trưởng của cây. Kết quả này cho thấy, chỉ thị ISSR là công cụ hỗ trợ hiệu quả trong công tác đánh giá và chọn lọc nguồn gen tốt trong chương trình chọn giống cây lâm nghiệp của Việt Nam.

Từ khóa: chỉ thị phân tử, ISSR, Keo lá trà, quan hệ di truyền.

Chỉ số phân loại: 4.6

1. Đặt vấn đề

Keo lá trà còn được gọi là cây Tràm bông vàng có nguồn gốc từ Australia, Papua New Guinea và Indonesia..., được nhập vào Việt Nam từ đầu thế kỷ XX [1, 2]. Cây Keo lá trà có đặc tính sinh trưởng nhanh về đường kính, chiều cao và hình khối, khả năng chống chịu sâu bệnh hại tốt, có khả năng thích ứng với nhiều điều kiện sinh thái và các loại đất khác nhau [2]. Ngoài giá trị về mặt kinh tế, cây Keo lá trà còn có giá trị về mặt môi trường vì có khả năng cải tạo đất, chống xói mòn [2].

Hiện nay, công tác nghiên cứu, chọn tạo giống Keo lá trà theo hướng nâng cao khả năng chống chịu và cho năng suất, chất lượng tốt đang được nhiều nhà khoa học quan tâm [2]. Ở Việt Nam, việc nghiên cứu chọn tạo giống Keo lá trà được tiến hành chủ yếu bằng các phương pháp chọn lọc từ các dòng nhân giống vô tính (*in vitro*) hay các dòng nhập nội. Từ năm 1990, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam đã tiến hành Chương trình cải thiện giống Keo lá trà và đến nay đã chọn lọc được một số dòng vô tính có khả năng sinh trưởng nhanh, chất lượng gỗ tốt [3]. Năm 2015, 9 dòng Keo lá trà vô tính bao gồm Clt7, Clt18, Clt19, Clt25, Clt26, Clt43, Clt57, Clt98 và AA9 được đánh giá khảo nghiệm mở rộng tại huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị cho thấy, giữa các dòng keo lá trà này có sự khác biệt rõ rệt về sinh trưởng và tính chất cơ học gỗ [4, 5]. Kết quả nghiên cứu cũng cho

thấy sự cần thiết phải có các nghiên cứu chi tiết hơn về mối quan hệ di truyền giữa các dòng Keo lá trà với khả năng sinh trưởng của chúng.

Trong vài thập niên trở lại đây, các kỹ thuật đánh giá mối quan hệ di truyền bằng các chỉ thị phân tử (RAPD, SSR, ISSR...) đã được nghiên cứu và áp dụng cho hiệu quả cao để đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các cá thể thực vật. V.D. Tuan (2011) [1] đã sử dụng 33 cặp môi SSR và 12 môi RAPD để nghiên cứu mối quan hệ di truyền của quần thể Keo lá trà ở Đông Nam Bộ, kết quả cho thấy biến động giữa các cá thể thấp. A. Shanthy và cs (2013) [6] đã sử dụng 10 môi ISSR để nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền của 53 kiểu gen của quần thể Keo lá trà. O.A. Attia và cs (2017) [7] đã nghiên cứu sự đa dạng di truyền của quần thể *Acacia* spp. bằng 20 môi ISSR. Các tác giả đều ghi nhận mức độ đa dạng di truyền giữa các quần thể ở mức cao. Các kết quả nghiên cứu trên cho thấy, chỉ thị ISSR có hiệu quả cao trong đánh giá đa dạng di truyền ở cây Keo lá trà. Từ các kết quả nghiên cứu trên, 7 dòng Keo lá trà Clt7, Clt18, Clt19, Clt25, Clt26, Clt43 và Clt57 do Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam chọn lọc đang trồng khảo nghiệm tại huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị được xác định mối quan hệ di truyền bằng chỉ thị ISSR. Kết quả nghiên cứu nhằm bổ sung cơ sở dữ liệu xác định mối tương quan giữa khả năng sinh trưởng và tính chất gỗ ở các dòng Keo lá trà được nghiên cứu.

*Tác giả liên hệ: Email: dungnt@tuaf.edu.vn

Identification of genetic relationships of *Acacia auriculiformis* clones using ISSR markers

Van Doan Duong, Thi Thu Thao Tran, Tri Thuc Bui, Manh Tuan Nguyen, Tien Dung Nguyen*

Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University, Quyet Thang Commune, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

Received 17 April 2023; revised 2 May 2023; accepted 8 May 2023

Abstract:

In this study, seven clones of *Acacia auriculiformis*, collected in Cam Lo district, Quang Binh province were assessed for genetic diversity using 15 ISSR markers. The results showed that seven *Acacia* clones had an average level of genetic variation. In which, four ISSR markers including ISSR1, ISSR3, ISSR8, and ISSR15 showed higher polymorphism information content (PIC) value than the others. The results analysis indicated that 30 out of 40 DNA fragments were polymorphic (75%, PIC=0.28-0.33). The ISSR8 exhibited the highest genetic diversity index (0.33), while ISSR15 showed the lowest diversity (0.28). Seven clones of *A. auriculiformis* were divided into two main groups: group I comprised four clones: Clt7, Clt18, Clt19, and Clt26; group II included the remaining three clones: Clt25, Clt43, and Clt57. Genetic variation was correlated with plant growth ability. This result exhibited that the ISSR marker was an efficient tool in assessing and selecting the good genetic resource of *A. auriculiformis* for the forestry tree breeding program in Vietnam.

Keywords: *Acacia auriculiformis*, genetic relationships, ISSR, molecular markers.

Classification number: 4.6

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Nghiên cứu được tiến hành trên 7 dòng Keo lá tràm, gồm Clt7, Clt18, Clt19, Clt25, Clt26, Clt43 và Clt57 được thu thập ở huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị, sử dụng 15 mồi ISSR (bảng 1) để đánh giá mối quan hệ di truyền. Thông tin chi tiết về rừng trồng khảo nghiệm các dòng Keo lá tràm được trình bày trong các nghiên cứu trước của D.H. Son và cs (2021) [4], D.V. Duong và cs (2022) [5].

Bảng 1. Trình tự mồi ISSR sử dụng trong nghiên cứu.

STT	Tên mồi	Trình tự mồi (5' - 3')	Tm (°C)	Nguồn
1	ISSR1	CCACCACCACCACCA	51,6	S. Alansi và cs (2016) [8]
2	ISSR2	CACACCACACACACAGT	53,8	
3	ISSR3	CAGCAGCAGCAGCAG	51,6	
4	ISSR4	GAGAGAGAGAGAGAGAA	50,0	
5	ISSR5	GTCCTCTCTCTCTCTCT	57,3	
6	ISSR6	CACACACACACACAGT	48,2	
7	ISSR7	ACACACACACACACT	50,0	
8	ISSR8	AGAGAGAGAGAGAGAYC	55,0	
9	ISSR9	AGAGAGAGAGAGAGAYA	52,7	
10	ISSR10	GAGCACCACCACCACRC	58,4	
11	ISSR11	ATATATATATATATATGT	53,8	
12	ISSR12	GAGGAGGAGGC	38,0	
13	ISSR13	CTCTCTCTCTCTCTRC	55,0	
14	ISSR14	GAGAGAGAGAGAGAYG	55,0	
15	ISSR15	ACACACACACACACTG	53,8	

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA tổng số: DNA tổng số được tách từ lá của từng dòng Keo lá tràm được thu thập bằng bộ kit DNA e (RM301-02, Nanjing Vazyme Biotech). DNA tổng số được xác định nồng độ bằng máy đo quang phổ Nano DropOne của Hãng Thermo Fisher kết hợp với điện di trên gel Agarose 1%.

Thiết lập phản ứng PCR và kiểm tra kết quả: DNA tổng số của các mẫu được pha loãng với nước cất khử ion ở cùng nồng độ (50 ng/μl) để sử dụng làm khuôn cho phản ứng PCR. Mỗi phản ứng PCR được tiến hành ở thể tích 20 μl, bao gồm các thành phần sau: 10 μl PCR Master mix 2X, 1,5 μl mồi ISSR (10 pmol), 2 μl DNA và 6,5 μl nước khử ion. Phản ứng PCR được thực hiện bằng máy luân nhiệt PCR (Mastercycler nexus GX3, Eppendorf) trong 35 chu kỳ theo chu trình nhiệt như sau: 94°C 1 phút, 56°C 40 giây, 72°C 1 phút và kết thúc kéo dài mồi ở 72°C 5 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel Agarose 2,0% sử dụng thang chuẩn 1 kb plus DNA ladder của Hãng Thermo Fisher, hiển thị kết quả bằng máy soi gel UVP GelStudio của Hãng Analytik Jena.

Phân tích số liệu và xây dựng cây phát sinh chủng loại: Kết quả hiển thị của các băng DNA trên bản gel điện di được mã hóa dưới dạng nhị phân theo phương pháp của J.A. Anderson và cs (1993) [9], tất cả băng xuất hiện trên phổ điện di được mã hóa thành số theo dạng nhị phân (1 và 0), 1 tương ứng với locus được khuếch đại, 0 tương ứng với locus không được khuếch đại. Chỉ số đa hình di truyền PIC (Polymorphism information content) được tính toán theo J.D. Riek và cs (2001) [10] theo công thức sau:

$$PIC(i) = 2f_i(1 - f_i)$$

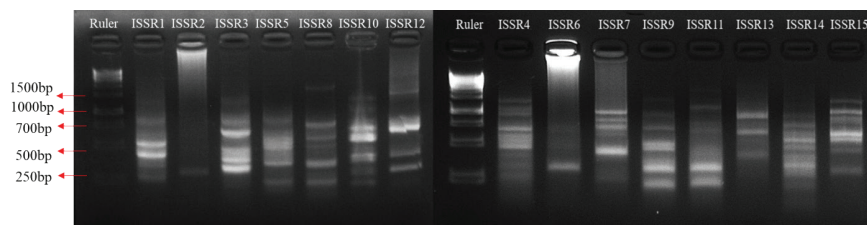
trong đó, f_i là tần số alen của mẫu thứ i với locus thứ i .

Kết quả chỉ số PIC sau cùng sẽ là chỉ số PIC trung bình cộng của tất cả locus được tính theo công thức trên. Bảng hệ số ma trận tương đồng di truyền và sơ đồ hình cây biểu thị mối quan hệ di truyền giữa các dòng Keo lá tràm được xây dựng dựa trên chỉ số tương ứng đơn giản SM (Simple matching) và phân nhóm UPGMA (Unweighted pair-group method with arithmetic mean) sử dụng phần mềm NTSYSpc 2.1 [11].

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Đánh giá tính đa hình của các chỉ thị ISSR

Để lựa chọn chỉ thị ISSR cho phân tích đa dạng di truyền ở các dòng keo, nghiên cứu tiến hành đánh giá tính đa hình của 15 môi ISSR (bảng 1). Kết quả cho thấy, trong 15 môi ISSR khảo sát, ISSR2 và ISSR6 cho duy nhất 1 phân đoạn DNA, các môi còn lại đều cho nhiều phân đoạn DNA trên bản gel điện di (hình 1). Sự đa hình của chỉ thị ISSR được



Hình 1. Kết quả khảo sát 15 môi ISSR ở cây Keo lá tràm (ClT25) sử dụng 1 kb plus DNA ladder.

Bảng 2. Chỉ số đánh giá tính đa hình của 7 dòng Keo lá tràm nghiên cứu được khuếch đại bằng chỉ thị ISSR.

Tên môi	Trọng lượng phân tử (bp)	Tổng số phân đoạn	Số phân đoạn đa hình	Tỷ lệ phân đoạn đa hình (%)	PIC
ISSR1	200-1200	9	6	66,67	0,31
ISSR3	300-1200	8	6	75	0,31
ISSR8	200-2000	13	11	85	0,33
ISSR15	310-1500	10	7	70	0,28
Tổng cộng		40	30	75	0,31

thể hiện qua các phân đoạn DNA và đánh giá thông qua chỉ số PIC. Kết quả cho thấy, trong tổng số 40 phân đoạn được khuếch đại có 30 phân đoạn DNA đa hình chiếm tỷ lệ 75% (bảng 2).

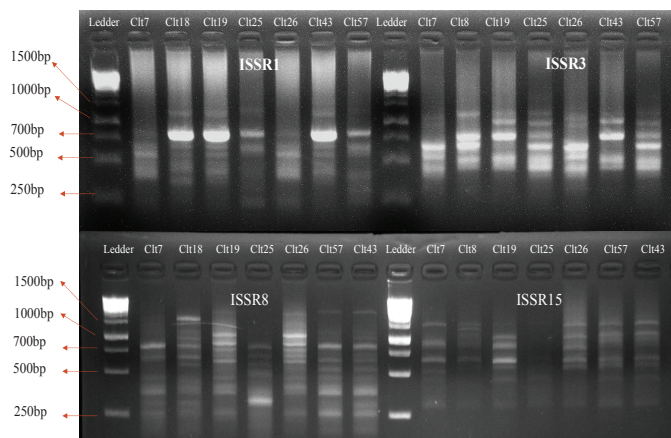
I.R. Ruiz và cs (2000) [12] cho rằng, chỉ số PIC phân chia thành 3 nhóm: (i) lớn hơn 0,5 có tính đa hình cao, (ii) từ 0 đến 0,5 có tính đa hình trung bình và (iii) dưới 0,2 là đa hình thấp. Dựa trên kết quả điện di, chúng tôi lựa chọn được 4 môi cho kết quả đa hình ở mức trung bình, bao gồm ISSR1, ISSR3, ISSR8 và ISSR15, chỉ số PIC từ 0,28 đến 0,33 (bảng 2). Các môi còn lại có mức độ đa hình thấp.

Môi ISSR1: Kết quả điện di thu được tổng số 9 phân đoạn có kích thước nằm trong khoảng từ 200 đến 1200 bp. Trong đó, có 6 phân đoạn đa hình chiếm 66,67%, chỉ số PIC đạt 0,31. Cụ thể, tại vị trí 200 bp, có 2 dòng Clt25 và Clt26 có hiển thị phân đoạn DNA, vị trí 250 bp có 1 phân đoạn ở dòng Clt57. Tại vị trí 1200 bp có 4 dòng Clt18, Clt19, Clt25 và Clt43 có hiển thị băng vạch. Các vị trí từ 300 đến 700 bp hầu hết các dòng đều có các phân đoạn DNA giống nhau (hình 2).

Môi ISSR3: Kết quả điện di thu được 8 phân đoạn DNA có kích thước nằm trong khoảng từ 300 đến 1200 bp. Trong đó, có 6 phân đoạn đa hình chiếm 75%, chỉ số PIC đạt 0,31. Cụ thể, tại vị trí khoảng 600 bp có Clt7, Clt18, Clt25, Clt26 và Clt57 hiển thị phân đoạn DNA, 2 dòng Clt9 và Clt43 không có băng vạch nào. Ở vị trí 700 bp có 2 dòng Clt7 và Clt45, vị trí 1000 bp dòng Clt18 không hiển thị phân đoạn DNA nào (hình 2).

Môi ISSR8: Kết quả điện di cho thấy, tổng số 13 phân đoạn được nhận bản, trong đó, 11 phân đoạn đa hình, chiếm 85%. Kích thước các băng dao động từ 200 đến 2000 bp. Cụ thể, tại vị trí 200 bp, hầu hết các dòng đều không cho băng vạch, ngoại trừ 2 dòng Clt57 và Clt43. Tại 2 vị trí 250 và 450 bp, chỉ có duy nhất dòng Clt25 không cho băng vạch. Tại 2 vị trí 375 và 800 bp, tất cả các dòng nghiên cứu đều cho băng vạch. Tại vị trí 500 bp, các dòng Clt7, Clt18, Clt19 và Clt26 không cho băng vạch. Tại vị trí 700 bp, chỉ có 2 dòng Clt19 và Clt25 cho băng vạch. Tại vị trí 1000 bp, có 3 dòng cho băng vạch (Clt18, Clt19 và Clt25). Tại vị trí 1500 bp, duy nhất chỉ có dòng Clt18 cho băng vạch. Tại vị trí 2000 bp, có 3 dòng không cho băng vạch (Clt7, Clt18 và Clt25) (hình 2).

Môi ISSR15: Kết quả điện di cho thấy, 7 phân đoạn đa hình trên tổng số 10 phân đoạn được khuếch đại, chiếm 70%. Kích thước các phân đoạn dao động từ 310 đến 1500 bp. Cụ thể, tại các vị trí 310, 650 và 1500 bp tất cả các dòng đều cho băng vạch. Tại vị trí 450 bp, chỉ có 2 dòng Clt18 và Clt26 không cho băng vạch. Tại vị trí 500 bp, chỉ có dòng Clt7 cho băng vạch. Tại vị trí 575 bp, duy chỉ có dòng Clt7 không cho băng vạch. Tại vị trí 1000 bp, có 5 dòng cho băng vạch, gồm: Clt18, Clt19, Clt26, Clt57 và Clt43 (hình 2).



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm ISSR trên gel agarose 2%.

3.2. Đa dạng di truyền của các dòng Keo lá trà

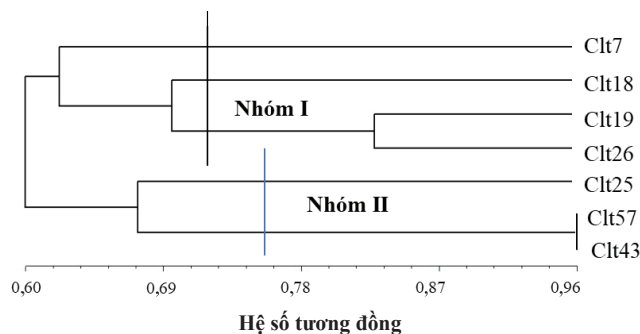
A. Shanthi và cs (2013) [6] đã sử dụng 10 môi ISSR để nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền của 53 kiểu gen của quần thể Keo lá trà. Các tác giả ghi nhận 215 phân đoạn được khuếch đại, trong đó có 184 phân đoạn đa hình, chiếm tỷ lệ 85,5%. O.A. Attia và cs (2017) [7] đã nghiên cứu sự đa dạng di truyền của quần thể keo *Acacia* spp. sử dụng 20 môi ISSR, kết quả thu được 48 phân đoạn đa hình trên tổng số 60 phân đoạn được khuếch đại, ghi nhận tỷ lệ đa hình đạt 80,13%. Các kết quả này chỉ ra rằng, ISSR có thể sử dụng như một công cụ hiệu quả và chính xác để nghiên cứu và đánh giá mối quan hệ di truyền giữa các dòng Keo lá trà.

Trong nghiên cứu này, dựa trên kết quả phân tích của 4 môi ISSR (ISSR1, ISSR3, ISSR8 và ISSR15) cho thấy, sự khác biệt về di truyền giữa 7 dòng Keo lá trà (Clt7, Clt18, Clt19, Clt25, Clt26, Clt43 và Clt57) đang được trồng khảo nghiệm tại huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị. Sử dụng phần mềm NTSYSpc ver 2.1 dựa trên phương pháp UPGMA đã xây dựng được sơ đồ hình cây mối quan hệ di truyền và bảng hệ số tương đồng của 7 dòng Keo lá trà nghiên cứu (hình 3, bảng 3).

Bảng 3. Hệ số tương đồng giữa 7 dòng Keo lá trà dựa trên kết quả phân tích 4 chỉ thị ISSR.

	Clt7	Clt18	Clt19	Clt25	Clt26	Clt43	Clt57
Clt7	1,00						
Clt18	0,65	1,00					
Clt19	0,70	0,70	1,00				
Clt25	0,61	0,61	0,48	1,00			
Clt26	0,52	0,70	0,83	0,48	1,00		
Clt43	0,61	0,70	0,65	0,65	0,65	1,00	
Clt57	0,56	0,65	0,61	0,70	0,61	0,96	1,00

Kết quả bảng 3 cho thấy, hệ số tương đồng ở 7 dòng Keo lá trà dao động từ 0,48 đến 0,96. Ở hệ số di truyền 0,6, 7 dòng Keo lá trà được phân chia thành 2 nhóm chính (hình 3). Nhóm I gồm 4 dòng: Clt7, Clt18, Clt19 và Clt26, khoảng cách di truyền giữa các dòng trong nhóm dao động từ 0,52 đến 0,83. Trong đó, 2 dòng Clt7 và Clt26 có khoảng cách di truyền xa nhau, hệ số tương đồng 0,52. 2 dòng Clt19 và Clt26 có khoảng cách di truyền tương đối gần (hệ số tương đồng 0,83). Nhóm II gồm 3 dòng: Clt25, Clt43 và Clt57 có khoảng cách di truyền dao động 0,65-0,96. Trong đó, Clt25 và Clt43 có khoảng cách di truyền tương đối xa (hệ số tương đồng 0,65). 2 dòng Clt57 và Clt43 có khoảng cách di truyền gần nhất (hệ số tương đồng 0,96).



Hình 3. Mối quan hệ giữa 7 dòng Keo lá trà nghiên cứu bằng phương pháp UPGMA dựa trên 4 chỉ thị ISSR.

Dựa trên kết quả đánh giá khả năng sinh trưởng của các dòng Keo lá trà của D.H. Sơn và cs (2021) [4] nhận thấy có mối tương quan giữa hệ số di truyền với khả năng sinh trưởng của cây. Trong 7 dòng keo nghiên cứu, có 3 dòng thuộc nhóm I, gồm Clt7, Clt18 và Clt26 có các chỉ tiêu sinh trưởng vượt trội như chiều cao vút ngọn ($H_{vn}=11,9-13$ m), chiều cao dưới cành ($H_{DC}=7,9-8,5$ m) và năng suất ($14,9-20,1$ m³/ha/năm) [4]. Trong khi đó, các dòng nhóm II như Clt25, Clt43 và Clt57 có các chỉ số sinh trưởng thấp hơn: $H_{vn}=10,7-11,3$ m $H_{DC}=6,3-6,7$ m và năng suất dao động $9,7-10,4$ m³/ha/năm [4]. Kết quả này cho thấy sự sai khác di truyền có tác động đến khả năng

sinh trưởng của các dòng Keo lá tràm trong nghiên cứu. Các dòng keo nhân giống vô tính bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* hoặc hữu tính thông qua lai tạo luôn có sự biến động về hệ số di truyền [13, 14]. Do vậy, sử dụng chỉ thị phân tử trong công tác đánh giá nguồn gen là công cụ hỗ trợ hiệu quả trong chương trình chọn giống cây lâm nghiệp của Việt Nam.

4. Kết luận

Kết quả đánh giá đa dạng di truyền của 7 dòng Keo lá tràm đang trồng khảo nghiệm tại huyện Cam Lộ, tỉnh Quảng Trị dựa trên chỉ thị ISSR đã xác định được 4 mồi ISSR1, ISSR3, ISSR8 và ISSR15 có chỉ số đa hình tốt, tỷ lệ đoạn đa hình trung bình 75% và phân tách rõ mối quan hệ di truyền giữa các dòng keo thành 2 nhóm chính: Nhóm I gồm 4 dòng: Clt7, Clt18, Clt19 và Clt 26 có khoảng cách di truyền 0,52-0,83. Nhóm II gồm 3 dòng Keo lá tràm còn lại: Clt25, Clt43 và Clt57.

Kết quả nghiên cứu này là cơ sở để xác định mối tương quan giữa sự khác biệt di truyền với khả năng sinh trưởng, năng suất và chất lượng của 7 dòng Keo lá tràm để từ đó tuyển chọn được các giống Keo lá tràm mới cho sản xuất.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) cho đề tài mã số 106.06-2019.319. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] V.D. Tuan (2011), "Study on genetic diversity of *Acacia auriculiformis* using RAPD and SSR markers", *Proceedings of The Conference on Forestry Science and Technology for Sustainable Development and Climate Change*, pp.13-22 (in Vietnamese).

[2] N.T. Nguyen, R.E.A. Maghaieb, H. Saneoka, et al. (2004), "RAPD markers associated with salt tolerance in *Acacia auriculiformis* and *Acacia mangium*", *Plant Science*, **167**(4), pp.797-805, DOI: 10.1016/j.plantsci.2004.05.016.

[3] T.G. Pham, C.T.M. Tran, H.T. Nguyen, et al. (2022), "Land evaluation for *Acacia (Acacia mangium × Acacia auriculiformis)* plantations in the mountainous regions of Central Vietnam", *Land*, **11**(12), DOI: 10.3390/land11122184.

[4] D.H. Son, V.D. Hai, N.D. Kien, et al. (2021), "Evaluation of growth of *Acacia auriculiformis* Cunn. Ex. Benth clones in an extended testing in Cam Lo, Quang Tri", *Journal of Agriculture and Rural Development*, **1**(2), pp.126-130.

[5] D.V. Duong, L.R. Schimleck, D.L. Tran, et al. (2022), "Radial and among-clonal variations of stress-wave velocity, wood density, and mechanical properties in 5-year-old *Acacia auriculiformis* clones", *Bioresources*, **17**(2), pp.2084-2096, DOI: 10.15376/biores.17.2.2084-2096.

[6] A. Shanthi, P. Gokula (2013), "ISSR marker analysis of *Acacia auriculiformis* in first generation orchard populations", *International Journal of Science and Research (IJSR)*, **4**(4), pp.57-59.

[7] O.A. Attia, S.D.E. Dessoky, M.S. Yassin (2017), "Genetic diversity and *in vitro* propagation of some *Acacia* spp. trees grown in Taif governorate", *Bioscience Research*, **14**(4), pp.924-933.

[8] S. Alansi, M. Tarroum, F.A. Qurainy, et al. (2016), "Use of ISSR markers to assess the genetic diversity in wild medicinal *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd. collected from different regions of Saudi Arabia", *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, **30**(5), pp.942-947, DOI: 10.1080/13102818.2016.1199287.

[9] J.A. Anderson, G.A. Churchill, J.E. Autrique, et al. (1993), "Optimising parental selection for genetic linkage maps", *Genome*, **36**(1), pp.181-186, DOI: 10.1139/g93-024.

[10] J.D. Riek, E. Calsyn, I. Everaert (2001), "AFLP based alternatives for the assessment of distinctness, uniformity and stability of sugar beet varieties", *Theor. Appl. Genet.*, **103**, pp.1254-1265, DOI: 10.1007/s001220100710.

[11] F.J. Rohlf (2002), *NTSYSpc: Numerical Taxonomy System, Version 2.1*, Exeter Publishing, USA, 43pp.

[12] I.R. Ruiz, J. Dendauw, E. Vanbockstaele, et al. (2000), "AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.)", *Mol. Breed.*, **6**, pp.125-134, DOI: 10.1023/A:1009680614564.

[13] A.A. Assoumane, A. Vaillant, A.Z. Mayaki, et al. (2009), "Isolation and characterization of microsatellite markers for *Acacia senegal* (L.) Willd., a multipurpose arid and semi-arid tree", *Molecular Ecology Resources*, **9**(5), pp.1-4, DOI: 10.1111/j.1755-0998.2009.02669.x.

[14] P.A. Butcher, G.F. Moran, H.D. Perkins (1998), "RFLP diversity in the nuclear genome of *Acacia mangium*", *Heredity*, **81**, pp.205-213, DOI:10.1046/j.1365-2540.1998.00392.x.