

SƠ SÁNH MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI CỦA CÂY BẠCH ĐÀN LAI UP (*E. urophylla* x *E. pellita*) CHUYỂN GEN *EchB1* VÀ CÂY ĐỐI CHỨNG

Nguyễn Thị Việt Hà¹, Hà Thị Huyền Ngọc¹, Nguyễn Thị Huyền¹,
Lê Thị Thủy¹, Trần Thị Thu Hà¹, Trần Đức Vương¹, Nguyễn Đức Kiên¹, Lê Sơn¹

TÓM TẮT

Cây bạch đàn lai UP (*E. urophylla* x *E. pellita*) chuyển gen *EchB1* và cây đối chứng có sự khác biệt rõ rệt về một số đặc điểm hình thái, cụ thể ở kích thước thân và lá trong cả 2 giai đoạn nuôi cấy *in vitro* và cây con 3 tháng tuổi. Các dòng bạch đàn lai UP chuyển gen *EchB1* được nuôi cấy trong cùng điều kiện cho tỷ lệ cây cao hơn về số lông trung bình, chiều dài lông, chiều cao chồi, chiều dài lá, chiều rộng lá, chỉ số lá so với cây đối chứng cùng dòng. Ở giai đoạn cây con 3 tháng tuổi thì sự khác biệt được thể hiện rõ hơn cả về chỉ tiêu chiều cao cây và hình thái lá: cây chuyển gen có chiều cao và kích thước lá lớn hơn rõ rệt so với các dòng đối chứng. Sự hoạt động của gen *EchB1* trong cây có thể là nguyên nhân của việc tăng trưởng về chiều cao và kích thước lá so với cây đối chứng trong cùng một điều kiện môi trường nuôi dưỡng.

Từ khóa: Bạch đàn lai UP, chuyển gen, gen *EchB1*, hình thái, *in vitro*.

1. BẬT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, công nghệ biến đổi gen đã có những bước đi quan trọng trong quá trình phát triển khoa học công nghệ. Biến đổi gen thường được thực hiện với việc phát triển một tính trạng mong muốn hoặc kiểu hình có lợi (El-Banna *et al.*, 2010). Gen *EchB1* mã hóa nhân tố phiên mã loại II (HD-Zip class II transcription factor) liên quan đến việc hình thành và phát triển sợi gỗ đã được phân lập từ các nhóm gen nhân tố phiên mã trên bạch đàn *E. camaldulensis*. Vai trò của gen này đã được đánh giá thông qua việc phân tích biểu hiện của gen. Các nghiên cứu cho thấy các dòng thuốc lá được chuyển gen *EchB1* có chiều dài sợi gỗ dài hơn 20% và có sinh trưởng về chiều cao hơn 50% so với đối chứng ở giai đoạn 6 tháng tuổi (Sonoda *et al.*, 2009).

Bạch đàn lai UP là giống lai giữa bạch đàn *urophylla* và bạch đàn *pellita* (*E. urophylla* x *E. pellita*), là giống cây lâm nghiệp đang ngày càng được ưa chuộng trong trồng rừng sản xuất ở nước ta. Một số dòng bạch đàn lai UP (UP54, UP72, UP97, UP99...) do Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp chọn tạo có năng suất cao và đã được công nhận là giống tiến bộ khoa học kỹ thuật (Hà Huy Thịnh và cộng sự, 2015). Các dòng này đã

được nghiên cứu chuyển gen *EchB1* thành công tại Bộ môn Sinh học Phân tử - Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp (Trần Thị Thu Hà và cộng sự, 2019) nhằm tạo được các giống bạch đàn chuyển gen mới vừa có sinh trưởng nhanh lại có chiều dài sợi gỗ để phục vụ cho trồng rừng gỗ lớn.

Các nghiên cứu trước đây cho thấy, sự biểu hiện của các gen đích đã được chuyển thành công vào cây có ảnh hưởng rõ rệt đến hình thái và quá trình trao đổi chất ở cây chuyển gen, ví dụ gen *PtGT1* làm tăng hàm lượng lignin và ảnh hưởng đến sự ra hoa sớm trong cây thuốc lá chuyển gen (Wang *et al.*, 2012), hay gen *PtNDPK2* làm tăng sinh trưởng và khả năng chống chịu ở Dương (*Populus trichocarpa*) với một số điều kiện môi trường khắc nghiệt (Zhang *et al.*, 2017). Trong khi gen *PtEXPA3* và *PnEXPA3* có ảnh hưởng rõ ràng đến quá trình sinh tổng hợp hormone sinh trưởng cũng như kích thước lá ở Dương tremula (*P. tremula*) (Kuluev *et al.*, 2017). Tuy nhiên, sự hoạt động quá mức (over - expression) cũng gây nên các hiện tượng biến dạng ở cây chuyển gen ngay từ giai đoạn nuôi cấy *in vitro* đến giai đoạn vườn ươm: như lá kém phát triển, hàm lượng lignin thấp ở Dương. Do đó, làm cho cây chuyển gen thiếu sức sống và có hình dáng thân kém hơn so với cây đối chứng (Ye *et al.*, 2020).

Trong khuôn khổ bài báo này đã tiến hành so sánh một số đặc điểm về hình thái của cây bạch đàn lai UP đã được chuyển gen *EchB1* thành công với

¹ Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam
Email: nguyenvietha295@gmail.com

các cây đối chứng để đánh giá những thay đổi về hình thái ở cây chuyển gen, cũng như được đầu theo dõi sự hoạt động của gen *EchB1* trong cây chuyển gen ở cả giai đoạn nuôi cấy *in vitro* và tại vườn ươm. Để từ đó, xác định được ảnh hưởng của hoạt động của gen *EchB1* đến quá trình phát triển của cây chuyển gen làm cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu được sử dụng trong nghiên cứu này là 2 dòng bạch đàn lai UP chuyển gen (UP72CG, UP99CG) đã được kiểm tra bằng phương pháp PCR để khẳng định sự có mặt của gen *EchB1* với các cặp mồi đặc hiệu và 2 dòng đối chứng (các dòng UP72, UP99) ở giai đoạn nuôi cấy *in vitro* và giai đoạn vườn ươm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Để đánh giá sự hoạt động ổn định và vai trò của gen *EchB1*, cây bạch đàn lai UP được chuyển gen tăng chiều dài sợi gỗ *EchB1* sẽ kiểm tra thông qua phương pháp phân tích hình thái và phân tích chiều dài sợi gỗ. Đối với nghiên cứu này, đã đánh giá sự sai khác về hình thái của cây bạch đàn không chuyển gen (đặc điểm thân, chồi, lá) của các dòng UP72 và UP99 (gọi là cây đối chứng) với hình thái của các cây chuyển gen từ chính các dòng này (các dòng chuyển gen UP72CG và UP99CG – gọi là cây chuyển gen) ở cả 2 giai đoạn là *in vitro* và cây con 1 tháng tuổi.

2.2.1. Đánh giá các chỉ tiêu hình thái ở điều kiện *in vitro*

Các dòng Bạch đàn lai UP đã được chuyển gen và dòng đối chứng sau cấy nhân chồi được nuôi trong cùng một điều kiện môi trường MS + 0,5 mg/l BAP + 0,25 mg/l NAA + 30 g/l sucrose + 15 mg/l Riboflavin + 6,5 g/l agar, sau 3 tuần nuôi cấy ở nhiệt độ 25°C ± 2°C (1 tuần tối hoàn toàn - 2 tuần chiếu sáng với cường độ chiếu sáng 2.500 lux, thời gian chiếu sáng 8 giờ/ngày) được sử dụng làm vật liệu so sánh về hình thái.

Các chỉ tiêu đo đếm như sau: Màu sắc thân, màu sắc lá, số lông/chồi, chiều dài các lông (đơn vị đo cm), tổng số mẫu đo đếm số liệu về chồi: 90 mẫu chồi/đồng, số mẫu đo kích thước lá: 2 lá/chồi x 90 chồi = 180 lá/đồng, chiều dài và chiều rộng các lá từ 3-4 tính từ phần đỉnh chồi (Mũi tên - hình 1) (Đơn vị đo - mm).



Hình 1. Vị trí các lá được chọn để đánh giá hình thái và kích thước

2.2.2. So sánh khả năng sinh trưởng và hình thái của cây chuyển gen giai đoạn vườn ươm

Các chồi bạch đàn lai chuyển gen và đối chứng thu được sau quá trình nhân chồi, đủ tiêu chuẩn để cấy ra rễ được chọn lọc, tách khỏi cụm chồi và được cắt tạo chồi với chiều dài đồng đều 2,5cm rồi cấy vào môi trường ra rễ. Sau 7-10 ngày, các chồi đã ra rễ được huấn luyện 7 - 10 ngày trong nhà lưới có mái che.

Sau thời gian huấn luyện, các chồi ra rễ được cấy vào luống cát. Sau 2 tuần, cây ra rễ được cấy chuyển vào bầu có thành phần ruột bầu là 70% đất đồi, 20% xơ dừa và 10% phân vi sinh. Cây con bạch đàn lai sau khi cấy bầu đất được chăm sóc trong điều kiện vườn ươm. Các cây Bạch đàn chuyển gen ở giai đoạn vườn ươm tiếp tục được đánh giá, kiểm tra sự có mặt của gen *EchB1* bằng phương pháp PCR với các cặp mồi đặc hiệu trước khi tiến hành đo đếm số liệu.

Tiến hành thu thập số liệu và đánh giá sự sai khác giữa cây chuyển gen và cây đối chứng cây thông qua các chỉ tiêu về chiều cao cây và hình thái lá (hình dạng, màu sắc và kích thước lá) ở các thời điểm 1 tháng, 2 tháng và 3 tháng sau khi cấy vào bầu.

Lá được chọn để đo kích thước vẫn là các lá ở vị trí thứ 3-4 tính từ ngọn của cây ở giai đoạn 3 tháng tuổi. Tổng số lá đo đếm là 180 mẫu lá/đồng (2 lá/cây).

Chiều cao được đo bằng thước kẻ ly.

Các chỉ tiêu kích thước lá được xác định bằng thước kẹp.

Chỉ số kích thước lá (I) được xác định theo công thức:

$$I = \frac{\text{Chiều rộng lá}}{\text{Chiều dài lá}}$$

2.2.3. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Số liệu được thu thập bằng phương pháp theo dõi, quan sát, đếm trực tiếp trên từng công thức thí nghiệm với 30 mẫu/lần lặp và thực hiện 3 lần lặp cho từng dòng.

Số liệu được xử lý theo phương pháp phân tích thống kê toán học.

- Trung bình mẫu: $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$

- Phương sai: $S^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$

Quá trình xử lý số liệu được thực hiện trên máy tính với ứng dụng Data Analysis của chương trình Excel. Dùng hàm thống kê ANOVA để phân tích phương sai một nhân tố với các lần lặp, trong đó giá trị P-value được sử dụng để kiểm định giả thuyết H_0 .

Bảng 1. So sánh hình thái thân giữa cây chuyển gen và cây đối chứng cùng dòng

Dòng	Tổng số mẫu	Các chỉ tiêu hình thái thân		
		Số lông trung bình (số lông/thân)	Chiều dài lông trung bình (cm)	Chiều cao chồi (cm)
UP72	90	3,38±0,06	0,89±0,05	2,84±0,02
UP72CG	90	3,71±0,03	1,06±0,04	3,18±0,04
UP99	90	3,23±0,05	0,85±0,06	2,92±0,07
UP99CG	90	3,65±0,06	1,03±0,11	3,12±0,03
P-value		<0,001	<0,001	<0,001

Bảng 2. So sánh hình thái lá giữa cây chuyển gen và cây đối chứng

	Tổng số mẫu	Các chỉ tiêu hình thái lá		
		Chiều dài lá (mm)	Chiều rộng lá (mm)	Chỉ số lá
UP72	180	6,3±0,6	3,2±0,1	0,51
UP72CG	180	9,9±0,2	5,1±0,1	0,52
UP99	180	6,8±0,1	3,5±0,1	0,51
UP99CG	180	9,7±0,2	4,9±0,2	0,51
P-value		<0,001	<0,001	>0,001

Do sự khác biệt về cả chỉ tiêu số lông trung bình và chiều dài lông trung bình nên có thể dễ dàng thấy rằng chiều cao chồi của cây chuyển gen và cây đối chứng có sự khác biệt rõ rệt. Chiều cao chồi trung bình ở cây chuyển gen đạt từ 3,12 đến 3,18cm cao hơn so với cây đối chứng (chi đạt từ 2,84 đến 2,92cm) (Bảng 1). Kết quả này cũng tương tự với cây Dương đen (*P. nigra*) khi các chồi ở cây chuyển gen

(giữa các dòng Bạch đàn chuyển gen và đối chứng là không có sự sai khác ở giá trị trung bình của các chỉ tiêu theo dõi). Nếu P-value <0,001 thì giả thuyết H_0 bị bác bỏ (với mức độ sai khác 99,9%), ngược lại giả thuyết được chấp nhận nếu P-value>0,001.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. So sánh hình thái cây chuyển gen và cây đối chứng ở giai đoạn *in vitro*

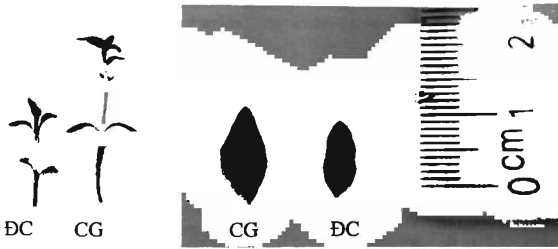
Trong giai đoạn nuôi cấy *in vitro*, quá trình đánh giá các chỉ tiêu màu sắc thân, lá giữa cây chuyển gen và cây đối chứng là không có sự khác biệt. Nhưng các chỉ tiêu về hình thái và chất lượng chồi (số lông trung bình, chiều dài lông và chiều cao chồi) ở cây chuyển gen có sự khác biệt rõ rệt so với cây đối chứng ở cả 2 dòng nghiên cứu (P-value <0,001 và F tính > Fcrit) (Bảng 1, Hình 2). Tuy nhiên, giữa các dòng chuyển gen lại không có sự sai khác về các chỉ số đánh giá này (P-value>0,001).

PnEXPA3 có chiều dài hơn so với cây đối chứng (Kuluev *et al.*, 2013). Tuy nhiên, ở một nghiên cứu khác, gen *PnEXPA3* và *PnEXPA3* lại không làm thay đổi về chiều cao chồi ở cây Dương *P. tremular* chuyển gen khi được nuôi cấy ở một điều kiện lạnh (10°C) (Kuluev *et al.*, 2017). Như vậy, hình thái và chiều dài chồi trong nuôi cấy *in vitro* không những phụ thuộc vào bản chất di truyền mà còn phụ thuộc vào điều kiện môi trường nuôi cấy.

Không những khác biệt rõ rệt về các chỉ tiêu hình thái và chất lượng chồi, cây chuyển gen và cây đối chứng cũng có sự sai khác về kích thước của lá: chiều dài và chiều rộng (P-value <0,001) (Bảng 2, hình 2). Kết quả phân tích cho thấy, là ở cây chuyển gen có kích thước lớn hơn cả về chiều rộng và chiều dài so với lá ở cây đối chứng. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đây trên một số loài cây Dương (Kuluev *et al.*, 2017, Zhang *et al.*, 2017) và thuốc lá (Kuluev *et al.*, 2012) khi các tác giả khẳng định các gen được chuyển vào cây có ảnh

hường rõ rệt đến kích thước của lá ngoại trừ một số trường hợp được nuôi cây trên môi trường đặc biệt (Kuluev *et al.*, 2013; Kuluev *et al.*, 2017). Tuy nhiên, giữa cây chuyển gen và cây đối chứng lại không có sự sai khác về chỉ số lá khi mà cả 2 đối tượng trên đều có giá trị chỉ số lá xấp xỉ 0,51 (Bảng 2).

Giữa các dòng chuyển gen UP72CG và UP99CG không có sự sai khác rõ rệt về các chỉ tiêu hình thái và kích thước là nghiên cứu (P -value $>0,001$). Như vậy, có thể nhận định gen *EcHB1* không chỉ có tác dụng trong việc tác động đến chỉ tiêu chiều dài thân mà ảnh hưởng đến chiều dài và rộng của lá của cây Bạch đàn lai chuyển gen trong giai đoạn *in vitro*.



Hình 2. Sự sai khác về hình thái thân và lá của dòng bạch đàn chuyển gen (CG) và đối chứng (ĐC)



Hình 3. Bình nhân chồi dòng Bạch đàn lai chuyển gen (CG) và đối chứng (ĐC)

3.2. So sánh hình thái cây chuyển gen và cây đối chứng giai đoạn vườn ươm

Chồi Bạch đàn sau khi ra rễ, được huấn luyện cho quen với điều kiện tự nhiên rồi được cấy vào bầu đất và được theo dõi, đánh giá các chỉ tiêu về hình thái lá và chiều cao cây sau 1 tháng, 2 tháng và 3 tháng tuổi. Kết quả về đánh giá sinh trưởng được trình bày ở bảng 3.

Kết quả phân tích cho thấy, ở giai đoạn 1 tháng tuổi, chiều cao của cây chuyển gen và cây đối chứng hầu như không có sự khác biệt đáng kể do giai đoạn đầu các cây chủ yếu tập trung thích nghi với điều kiện tự nhiên ngoài vườn ươm (P -value $>0,001$). Sau 2

tháng tuổi, các dòng cây chuyển gen có sự phát triển mạnh về chiều cao và vượt hơn hẳn so với các cây đối chứng (P -value $<0,001$). Lúc này chiều cao cây chuyển gen đạt trung bình 6,4cm gấp 1,3 lần so với chiều cao của cây đối chứng (xấp xỉ 5cm). Đến giai đoạn 3 tháng tuổi các dòng bạch đàn chuyển gen vẫn có sinh trưởng về chiều cao hơn hẳn so với cây đối chứng trong cùng 1 điều kiện môi trường (Bảng 3).

Bảng 3. Đánh giá sinh trưởng về chiều cao của cây con ngoài vườn ươm sau 1, 2 và 3 tháng

Mẫu	Tổng số cây	Chiều cao (cm)		
		1 tháng	2 tháng	3 tháng
UP72	90	3,0	5,1	16,9
UP72CG	90	3,1	6,3	20,8
UP99	90	3,1	4,9	16,4
UP99 CG	90	3,2	6,5	20,7
<i>P</i> -value		$>0,001$	$<0,001$	$<0,001$

Ở cả 3 giai đoạn đo đếm, hầu như không có sự khác biệt giữa các dòng chuyển gen là UP72CG và UP99CG về chiều cao cây (P -value $>0,001$). Điều này chứng tỏ, các dòng chuyển gen là khá tương đồng về sinh trưởng cũng như các chỉ tiêu hình thái.

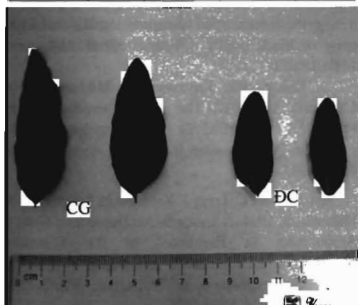
Đối với hình thái lá, dòng bạch đàn lai chuyển gen có dạng bản lá tròn và có kích thước lớn hơn rõ rệt so với lá của cây đối chứng ở giai đoạn 2 tháng tuổi (P -value $<0,001$) (Bảng 4, hình 5). Tuy nhiên giữa chúng lại không có sự khác biệt về chỉ số lá (P -value $>0,001$).



Hình 4. Cây Bạch đàn chuyển gen (B) và cây đối chứng (A) giai đoạn 2 tháng tuổi

Bảng 4. Tổng hợp kết quả đo kích thước lá ở giai đoạn 2 tháng tuổi

Mẫu	Tổng số lá	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Chỉ số lá
UP72	180	3,2	1,5	0,47
UP72CG	180	5,0	2,4	0,48
UP99	180	3,1	1,5	0,48
UP99CG	180	4,8	2,3	0,48
<i>P-value</i>		<0,001	<0,001	>0,001



Hình 5. Sự khác biệt về hình thái và kích thước lá của cây chuyển gene (CG) và cây đối chứng (ĐC) ở giai đoạn 2 tháng tuổi

Đến giai đoạn 3 tháng tuổi, kết quả phân tích thống kê cho thấy các chỉ tiêu chiều dài, chiều rộng lá của các dòng chuyển gen có sự khác biệt so với

đồng đối chứng (P -value >0,001) (Bảng 5, Hình 6), cụ thể như sau:

- Về chiều dài lá: giá trị trung bình của các dòng chuyển gen đạt từ 7,5-7,6 cm, trong khi các dòng đối chứng có giá trị trung bình từ 4,7 - 4,9cm.

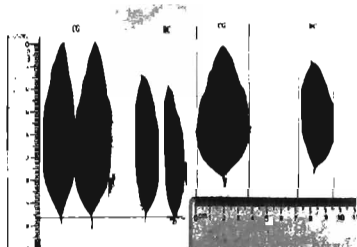
- Về chiều rộng lá, giá trị trung bình của các dòng chuyển gen đạt trong khoảng 3,7 -3,8cm trong khi ở các dòng đối chứng chỉ đạt 2,3 - 2,4 cm.

Tuy nhiên, phân tích chỉ tiêu chỉ số lá cho thấy tương tự như trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* và giai đoạn 2 tháng tuổi, ở giai đoạn 3 tháng tuổi, cây chuyển gen và cây đối chứng không có sự sai khác về mặt thống kê ở chỉ tiêu này (P -value >0,001) (Bảng 5).

Bảng 5. Tổng hợp kết quả đo kích thước lá ở giai đoạn 3 tháng tuổi

Mẫu	Tổng số lá	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Chỉ số lá
UP72	180	4,9	2,4	0,49
UP72CG	180	7,6	3,8	0,50
UP99	180	4,7	2,3	0,49
UP99CG	180	7,5	3,7	0,49
<i>P-value</i>		<0,001	<0,001	>0,001

Kết quả này cũng tương tự như đối với một số nghiên cứu về đánh giá sai khác về hình thái lá giữa cây chuyển gen và cây không chuyển gen ở một loài cây mô hình như *Arabidopsis thaliana* (Lincoln *et al.*, 1994; Kuluev *et al.*, 2017), thuốc lá (Kuluev *et al.*, 2012) cũng như trên một số loài cây rừng như: Dương (Kuluve *et al.*, 2017; Zang *et al.*, 2017), bạch đàn (Macrae và Staden, 2000) và thông *P. sylvestris* (Dubouzet *et al.*, 2013).



Hình 6. Sự khác biệt về hình thái và kích thước lá của cây chuyển gene (CG) và cây đối chứng (ĐC) ở giai đoạn 3 tháng tuổi

Tuy vậy, do hình thái lá là một tính trạng có tính biến dị lớn cả thể, thay đổi theo từng cá thể trong quần thể, nên chỉ số này cũng không ổn định (Lê Đình Khả và cộng sự, 2009). Do đó, rất khó đánh giá cây nào thuộc nhóm nào, vì vậy cần sử dụng thêm các chỉ tiêu khác để đưa ra kết luận chính xác là cây thuộc nhóm chuyển gen hay không chuyển gen. Sự khác biệt về hình thái và kích thước lá giữa cây chuyển gen và cây đối chứng ở Bạch đàn lai có thể do ảnh hưởng của gen *EcHBI* là gen liên quan đến phát triển chiều dài sợi gỗ. Tuy nhiên đây mới chỉ là những quan sát và đánh giá bước đầu với số lượng các dòng chuyển gen còn hạn chế. Do đó, để đưa ra được các kết luận chính xác hơn, cần tiếp tục theo dõi và đánh giá cây chuyển gen và đối chứng khi được trồng trong điều kiện tự nhiên cũng như tăng số lượng các dòng chuyển gen trong các nghiên cứu tiếp theo.

4. KẾT LUẬN

Trong cùng một điều kiện nuôi cấy, gen *EcHBI* làm thay đổi một số chỉ tiêu hình thái cây bạch đàn chuyển gen theo chiều hướng có lợi. Cây chuyển gen *EcHBI* cây đối chứng có sự khác biệt về hình thái và kích thước thân, là giai đoạn *in vitro* và xuất hiện rõ hơn ở giai đoạn cây con 3 tháng tuổi. Về cơ bản, các dòng Bạch đàn lai UP chuyển gen có chiều dài chồi cao hơn và cũng có chiều cao thân cây ở giai đoạn 3 tháng tuổi tốt hơn so với cây đối chứng. Lá của cây bạch đàn chuyển gen dài và rộng hơn so với cây đối chứng ở cả 2 giai đoạn nhưng chỉ tiêu chỉ số lá là không có sự sai khác rõ ràng giữa cây chuyển gen và cây đối chứng. Sự có mặt và biểu hiện của gen *EcHBI* trong cây bạch đàn lai UP chuyển gen có thể là nguyên nhân chính dẫn đến sự thay đổi về kích thước và hình thái của thân và lá ở cây chuyển gen.

LỜI CẢM ƠN

Bài báo là một phần kết quả của đề tài "Nghiên cứu tạo giống bạch đàn lai biến đổi gen cho chiều dài sợi gỗ (giai đoạn 2)". Xin trân trọng cảm ơn Bộ Nông nghiệp và PTNT đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Thu Hà, Lê Thị Thủy, Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Thị Việt Hà, Trần Đức Vương, Lê Sơn, Nguyễn Đức Kiên, Nguyễn Hữu Sỹ, Tô Nhật Minh, Đào Thị Thủy Trang, Phùng Thị Kim Huệ, 2019. Nghiên cứu chuyển gen *EcHBI* làm tăng chiều dài sợi

gỗ cho bạch đàn lai UP thông qua *Agrobacterium tumefaciens*. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, 1: 37-47.

2. Lê Đình Khả, Griffin AR, Hà Huy Thịnh, Harbard Jane L, Lê Sơn, Dương Thanh Hoa, Nghiêm Quỳnh Chi, 2009. Nghiên cứu xác định và so sánh một số đặc điểm của các dòng Keo tai tượng tứ bội và nhị bội ở Việt Nam. Tạp chí Nông nghiệp và PTNT, số 9, trang 114-120.

3. Hà Huy Thịnh và các cộng tác viên, 2015. Báo cáo tổng kết đề tài "Nghiên cứu chọn tạo giống có năng suất, chất lượng cao cho một số loài cây trồng rừng chủ yếu. Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

4. Dubouzet DJ, Strabala JT, Wagner A, 2013. Potential transgenic routes to increase tree biomass. Plant Sciences, 212: 72-101.

5. El-Banna A, Hajrezai MR, Wissing J, Ali Z, Vaas L, HeineDobbernack E, Jacobsen HJ, Schumacher HM, Kiesecker H (2010). Over-expression of PR-10a leads to increased salt and osmotic tolerance in potato cell cultures. J Biotechnol 150: 277- 287.

6. Kuluev BR, Kniazev AV, Il'iasova AA, Chemeris AV, 2012. Ectopic expression of the PnANTL1 and PnANTL2 black poplar genes in transgenic tobacco plants. Genetika 48(10):1162-70.

8. Kuluev BR, Safullina MG, Kniazev AV, Chemeris AV, 2013. Morphological analysis of transgenic tobacco plants expressing the PnEXPA3 gene of black poplar (*Populus nigra*). Ontogenez 44(3):166-73.

9. Kuluev BR, Knyazev AV, Mikhaylova EV, Chemeris AV, 2017. The role of expansin genes PnEXPA3 and PnEXPA3 in the regulation of leaf growth in Polar. Russian Journal of Genetics, Vol. 53 (6): 651-660.

10. Lincoln C, Long J, Yamaguchi J, Serikawa K, Hakeaibi S, 1994. A knotted1-like Homeobox Gene in Arabidopsis 1s Expressed in the Vegetative Meristem and Dramatically Alters Leaf Morphology When Overexpressed in Transgenic Plants. The Plant Cell, Vol. 6, 1859-1876.

11. MacRaeS. and van Staden J, 2000. "Transgenic Eucalyptus", in Bajaj. Y. P. S., Editor, *Transgenic Trees*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 88-114.

12. Nat Biotech.2015. Brazil approves transgenic eucalyptus. Nature Biotechnology 33: 577.

13. Sonoda T, Koita H, Nakamoto-Ohta S, Kondo K, Suezaki T, Kato T, Ishizaki Y, Nagai N, Iida N, Sato S, Umezawa T, Hibino T, 2009. Increasing fiber length and growth in transgenic tobacco plants overexpressing a gene encoding the *Eucalyptus camaldulensis* HD-Zip class II transcription factor. *Plant Biotech.* 26: 115-120.

14. Wang YW, Wang WC, Jin SH, Wang J, Wang B, Hou BK, 2012. Over-expression of a putative poplar glycosyltransferase gene, PtGT1, in tobacco increases lignin content and causes early flowering. *J Exp Bot.* 63(7):2799-2808. doi:10.1093/jxb/ers001.

15. Ye, Q., Liu, X., Bian, W. *et al.*, 2020. Over-expression of transcription factor *ARK1* gene leads to down-regulation of lignin synthesis related genes in hybrid poplar '717'. *Sci Rep* 10, 8549. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65328-y>.

16. Zhang J, Movahedi A, Sang M, Wei Z, Xu J, Wang X, Wu X, Wang M, Yin T, Zhuge Q, 2017. Functional analyses of NDPK2 in *Populus trichocarpa* and overexpression of PtNDPK2 enhances growth and tolerance to abiotic stresses in transgenic poplar. *Plant Physiol Biochem* 117:61-74.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN TRANSGENIC EUCALYPTUS HYBRID (*E. urophylla* x *E. pellita*) BY EXPRESSION OF *EcHB1* GENE

Nguyen Thi Viet Ha, Ha Thi Huyen Ngoc, Nguyen Thi Huyen,
Le Thi Thuy, Tran Thi Thu Ha, Tran Duc Vuong, Nguyen Duc Kien, Le Son

Summary

The *EcHB1* gene was successfully transformed into Eucalyptus hybrid between *E. urophylla* and *E. pellita* (UP hybrid). Compared to control clones, the transgenic plants have some superior morphology characteristics, particularly at height and leaf characteristics in both *in vitro* and nursery stages. The *EcHB1* transformed plants have more average number of internodes, length of internode, the height of buds, and leaf length and width of wide-type plants. At the nursery, the height of transgenic plants was higher, their leaf size was also larger than those of control plants. This result showed the *EcHB1* gene in plants may have a greater effect on the growth of height and leaf size of the transgenic plants.

Keywords: UP hybrid, transgenic plants, *EcHB1* gene, morphology, *in vitro*.

Người phân biện: PGS.TS. Hà Văn Hoàn

Ngày nhận bài: 27/3/2020

Ngày thông qua phân biện: 28/4/2020

Ngày duyệt đăng: 5/5/2020