

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

VIỆN SINH THÁI & TÀI NGUYÊN SINH VẬT

ĐỒ THỊ THỰC

NGHIÊN CỨU CHUYÊN GEN TĂNG CHIỀU DÀI SỢI GỖ
(EcHB1) VÀO BACHJ ĐÀN LAI PHỤC VỤ CÔNG NGHIỆP CHẾ
BIẾN GIẤY

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 60420114

TÓM TẮT LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

Hà Nội, 2014

MỞ ĐẦU

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

Các loài Bạch đàn được nhập vào Việt Nam từ những năm 1930 và đến nay đã trở thành nhóm cây trồng chủ lực trong các chương trình trồng rừng tập trung và phân tán ở nước ta. Đến năm 2011, tổng diện tích rừng trồng Bạch đàn ở Việt Nam là 353,000 ha, chiếm 32% diện tích rừng trồng cả nước (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2011).

Bạch đàn là loài cây sinh trưởng nhanh, thích nghi tốt. Tại Việt Nam, Bạch đàn được trồng tại các tỉnh thuộc vùng Tây Bắc, Đông Bắc, vùng trung tâm, đồng bằng sông Hồng, Bắc Trung Bộ và Tây Nguyên. Gỗ Bạch đàn được dùng làm nguyên liệu giấy (hiệu suất bột giấy 49.5%), ván dăm, ván sợi ép, trụ mỏ, gỗ lớn được dùng trong xây dựng, đóng đồ mộc; gỗ nhỏ dùng làm gỗ củi. Tỷ trọng gỗ ở năm 6 tuổi là 488 kg m³ (Luo Jianzhong , 2003), chiều dài sợi gỗ là 982,4 mm (cho phần gỗ mềm) và 110,46 mm (cho phần gỗ cứng) (Bai Jyayu và cs , 2003) [15].

Gỗ Bạch đàn được coi là nguồn cung cấp nguyên liệu chính cho ngành công nghiệp sản xuất giấy vì gỗ Bạch đàn có thành phần hóa học và cấu tạo sợi rất thích hợp cho sản xuất bột giấy. Mỗi năm trên thế giới có hàng triệu tấn bột giấy được sản xuất từ gỗ Bạch đàn. Bên cạnh đó, gỗ Bạch đàn còn được sử dụng làm đồ mộc, sản phẩm thủ công mỹ nghệ, sản xuất ván dăm, ván sợi xuất khẩu, gỗ xây dựng, cột chống,... Ngoài ra, lá của một số loài Bạch đàn còn được sử dụng để tách chiết tinh dầu, tanin và chế biến dược phẩm.

Bạch đàn lai được đánh giá có ưu thế lai và sinh trưởng tốt hơn bố mẹ của chúng (Lê Đình Khả và cs, 1993) [6]. Cho đến nay, nhiều tổ hợp Bạch đàn lai có sinh trưởng vượt trội hơn bố mẹ đã được công nhận giống tiến bộ khoa học kỹ thuật và được khuyến khích gây trồng rộng rãi.

Dân số thế giới đã đạt đến con số kỷ lục 7 tỷ người và nó được dự đoán sẽ tăng lên 8 tỷ người vào năm 2025 và 10 tỷ người vào những năm 2050. Do vậy vấn đề cung cấp lương thực cũng như các nguyên vật liệu khác cho nhu cầu sinh hoạt của con người trong những thập niên tới là một thách thức rất lớn đối với toàn nhân loại. Các phương pháp chọn giống truyền thống sẽ khó có thể đáp ứng nhu cầu cung cấp thực phẩm cho con

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

người trong tương lai. Để đáp ứng được nhu cầu đó, trong những thập kỷ vừa qua, công nghệ sinh học đã đem lại những thành quả to lớn, đặc biệt là công nghệ biến đổi gen đã đem lại một bước nhảy vọt không những trong việc tăng năng suất và chất lượng cây trồng như tạo giống năng suất cao, chống bệnh sâu hại, chống chịu khí hậu lạnh, khô hạn và thiếu nguồn dinh dưỡng, kháng thuốc trừ cỏ...mà còn cải thiện được môi trường như giảm hàm lượng thuốc bảo vệ thực vật, giảm lượng phân bón....

Trong lĩnh vực Lâm nghiệp, cây biến đổi gen cũng đã được quan tâm nghiên cứu. Trong những năm gần đây một số kết quả nghiên cứu chuyển gen cho một số loài cây rừng như Bạch dương, Thông radiata, Liễu và Bạch đàn đã được tiến hành và thử nghiệm thành công ở một số nước như Hoa Kỳ, Nhật Bản, Brasil, Chi Lê và Trung Quốc. Mục đích chính cho nghiên cứu chuyển gen cây lâm nghiệp ở đây là chuyển một số gen liên quan đến tăng sinh khối, chống chịu sâu bệnh và điều kiện khô hạn, giảm hàm lượng lignin, tăng hàm lượng và độ dài sợi cellulose, mang lại lợi ích to lớn cho ngành công nghiệp giấy cũng như cải tạo môi trường tại những vùng đất suy thoái thiếu chất dinh dưỡng...

Chuyển gen gián tiếp thông qua vi khuẩn *A. tumefaciens* được sử dụng rộng rãi hơn cả, vì phương pháp này dễ sử dụng, ít tốn kém nhưng lại mang lại hiệu quả cao (lượng bản sao gen biến nạp ít tạo thuận lợi cho việc phân tích cây chuyển gen và không gây tổn thương tế bào). Hầu hết các nghiên cứu chuyển gen vào cây lâm nghiệp đã công bố đều sử dụng vector trung gian là vi khuẩn *A. tumefaciens* (Chen và cs, 2001; Han và cs, 2000; Vengadesan và cs, 2006;...) [17].

Ở cây rừng, một số tính trạng có giá trị kinh tế như tính chất gỗ (hàm lượng cellulose, hàm lượng lignin, chiều dài sợi gỗ ...) và khả năng ra rễ... do nhiều gen (polygene) quy định. Những gen này tùy từng giai đoạn phát triển của cây mà có ảnh hưởng nhất định, tuy nhiên, trong đó có những gen chính (major genes) có ảnh hưởng lớn đến biểu hiện tính trạng của cây.

Đối với tính trạng chiều dài sợi gỗ, các nhà khoa học đã xác định được một số gen chính có ảnh hưởng đến tính trạng này, trong đó có gen *EcHB1* (accession number: AB458829). Gen *EcHB1* được xác định là mã hóa cho nhân tố phiên mã HD-Zip class II ở Bạch đàn trắng (*E. camaldulensis*) và thường biểu hiện ở thân trưởng thành và tế bào rỗ. Các nghiên cứu cho thấy gen *EcHB1* sau khi biến nạp vào cây Thuộc lá đã cho chiều dài sợi gỗ dài hơn 1,2 lần so với đối chứng.

Xuất phát từ cơ sở trên tôi thực hiện đề tài “*Nghiên cứu chuyển gen tăng chiều dài sợi gỗ (EcHB1) vào Bạch đàn lai phục vụ công nghiệp chế biến giấy*”

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về Bạch đàn nói chung và Bạch đàn lai nói riêng

Bạch đàn (*Ecucalyptus*) là một chi thực vật thuộc họ Sim (*Myrtaceae*), bộ Sim (*Myrtales*), phân lớp Hoa hồng (*Rosidae*), lớp Hai lá mầm (*Dicotyledone*). Tên Bạch đàn *Ecucalyptus* lần đầu tiên được nhà thực vật học người Pháp Charles Louis L'Heritier de Brutell đặt cho vào năm 1788. Từ đó đến nay đã có tới 600 loài và biến chủng đã được mô tả và đặt tên, gần đây 500 loài đã được chấp nhận chính thức. Theo Boland và cs (1987), Eldridge và cs (1993) chi Bạch đàn được chia làm 8 chi phụ. Trong đó, chi phụ *Symphyomyrtus* có nhiều loài được sử dụng và trồng rừng đại trà như: *E. camaldulensis*, *E. urophylla*, *E. tereticornis*, *E. grandis*... Bạch đàn có xuất xứ từ Australia và chỉ có 2 loài phân bố ngoài Australia là loài *E. deglupta* Blume và *E. urophylla* S.T. Blake.

Bạch đàn bao gồm nhiều loài khác nhau và là cây trồng rừng phổ biến trên thế giới. Ước tính có trên 10 triệu ha Bạch đàn được trồng ở châu Á, Nam Mỹ, Nam Âu, Úc và New Zealand. Bạch đàn urô (*Eucalyptus urophylla* S.T. Blake) và Bạch đàn *grandis* (*E. grandis*) thuộc chi phụ *Symphyomyrtus*, họ Sim (*Myrtaceae*), là những loài cây gỗ lớn, mọc nhanh, được trồng nhiều tại các nước nhiệt đới có nhiệt độ trung bình từ 24 – 28°C.

Bạch đàn là cây thân gỗ lâu năm, mọc nhanh, cây trồng 5-6 năm tuổi thường có chiều cao trên 7m và đường kính thân khoảng 9- 10cm. Cây Bạch đàn có cơ chế tự bảo vệ nhờ một cơ quan dưới mặt đất gọi là “củ gỗ” và cơ chế phát triển nhanh nhờ chồi bất định và búp phụ, do đó cây có khả năng thích nghi cao với nhiều loại lập địa và khí hậu lại cho năng suất tương đối cao (18-20m³/ha/năm).

Trên thế giới Bạch đàn là cây trồng rừng sản xuất chính với diện tích ngày càng được mở rộng. Theo số liệu công bố năm 2009, rừng trồng Bạch đàn năm 2009 đã đạt khoảng 19,5 triệu ha tại 3 châu lục lớn là Châu Phi, Châu Mỹ và Châu Á-Thái Bình

Dương, Ấn Độ là nước có diện tích rừng trồng Bạch đàn lớn nhất thế giới, năm 2009 ước tính có khoảng 3,9 triệu ha (Nguồn www.git-forestry.com).

Ở Việt Nam, cây Bạch đàn được người Pháp đưa vào gây trồng từ trước năm 1945, song việc gây trồng Bạch đàn trên quy mô lớn mới chỉ được bắt đầu từ năm 1960 (Bùi Thị Huế). Trong một thời gian ngắn, cây Bạch đàn đã phát triển mạnh mẽ và trở thành một trong số các loài cây lâm nghiệp trồng rừng quan trọng của nước ta hiện nay.

Bạch đàn là nhóm cây được trồng rộng rãi ở nước ta, đặc biệt là các tỉnh miền Trung và miền Nam. Đây cũng là cây trồng chủ yếu trên các đường nông thôn, các bờ vùng, bờ thửa ở đồng bằng Bắc Bộ và đồng bằng sông Cửu Long. Kết quả nghiên cứu và gây trồng nhiều năm qua cho thấy nhiều loài Bạch đàn được nhập vào nước ta chỉ một số loài sinh trưởng nhanh và có khả năng thích ứng lớn. Trong đó, đáng chú ý là các loài Bạch đàn urô (*E. urophylla*), Bạch đàn tere (*E. tereticornis*) và Bạch đàn trắng (*E. camaldulensis*), Bạch đàn liễu (*E. exserta*). Ở những nơi thấp Bạch đàn urô (*E. urophylla*) có thể mọc lẫn với Bạch đàn trắng (*E. alba*) (Martin and Cossalater, 1975 - 1976). Bạch đàn urô là cây thích hợp với các lập địa có vùng đất sâu ẩm ở các tỉnh miền Bắc, Bắc Trung Bộ và Tây Nguyên. Các xuất xứ có triển vọng nhất cho vùng trung tâm miền Bắc là Lewotobi và Egor Flores (Lê Đình Khả, 1996). Egor Flores cũng là một trong những xuất xứ có triển vọng nhất ở Mang Linh và Hang Hanh của vùng Đà Lạt (Lê Đình Khả, 1996; Phạm Văn Tuấn và cs, 2000) [7][14].

Bạch đàn urô là một trong những loài Bạch đàn chính được trồng chủ yếu ở Việt Nam (Nguyễn Đức Kiên, 2009). Tác giả đã chỉ ra rằng các tính trạng sinh trưởng và chất lượng gỗ ảnh hưởng lớn đến hiệu xuất bột giấy cho ngành công nghiệp. Các nghiên cứu đánh giá về sinh trưởng của Bạch đàn urô tại Việt Nam cũng cho thấy tỷ lệ sinh trưởng của Bạch đàn tại Việt Nam chậm hơn so với các nước khác như Trung Quốc, Braxin (Santos, 1990; Wei và Borralho, 1998a; Nguyễn Đức Kiên, 2009). Vì vậy, các chương trình chọn giống Bạch đàn ở Việt Nam tập trung chủ yếu vào tăng sinh trưởng, tuy nhiên

ở các vùng sinh thái suy thoái, nghèo chất dinh dưỡng, tỷ lệ sinh trưởng của Bạch đàn vẫn tồn tại ở dạng sinh trưởng chậm so với nhiều nước khác. Do vậy, các định hướng nghiên cứu làm tăng hiệu suất bột giấy và tăng khả năng sinh trưởng của cây Bạch đàn tại các vùng sinh thái suy thoái và nghèo chất dinh dưỡng tại Việt Nam đã và đang được quan tâm nghiên cứu.

Bạch đàn lai được đánh giá có ưu thế lai và sinh trưởng tốt hơn bố mẹ của chúng (Lê Đình Khả và cs, 1993) [6]. Một số giống Bạch đàn lai có năng suất cao đã được chọn và gây trồng rất thành công ở một số nước như Brasil và Công Gô. Tại đây, trên những lập địa tốt và áp dụng kỹ thuật trồng thâm canh có thể đạt năng suất 40 - 80m³/ha/năm. Trung Quốc và Philippin cũng tạo được một số giống Bạch đàn lai có năng suất cao và đang được trồng làm nguyên liệu giấy.

1.2. Tình hình trồng và sinh trưởng Bạch đàn lai ở Việt Nam

Bạch đàn là một trong những nhóm cây đang được gây trồng rộng rãi ở nước ta. Hiện nay Bạch đàn được coi là cây nguyên liệu giấy chủ yếu ở vùng trung tâm miền Bắc.

Các nghiên cứu trong nước về lai giống và sử dụng giống lai đang là hướng đi được nhiều nhà chọn giống quan tâm. Nghiên cứu về giống lai tự nhiên giữa Bạch đàn trắng (*E. camaldulensis*) với Bạch đàn đỏ (*E. robusta*) cho thấy giống lai có năng suất cao hơn rất nhiều so với giống bố mẹ (Lê Đình Khả, 1970) [5]. Từ năm 1994, những nghiên cứu về lai nhân tạo cho một số loài Bạch đàn đã được tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu Giống cây rừng và đã tạo được hàng chục tổ hợp lai thuận nghịch trong loài và khác loài ở 3 loài Bạch đàn chính của nước ta là Bạch đàn urô (*E. urophylla*), Bạch đàn trắng (*E. camaldulensis*) và Bạch đàn liễu (*E. exserta*). Qua khảo nghiệm đã chọn được 31 cây trội trong 8 tổ hợp lai Bạch đàn có năng suất cao hơn giống sản xuất tốt nhất trên 30%. Những giống này đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn công nhận là giống tiến bộ kỹ thuật và cho phép triển khai khảo nghiệm trên các vùng sinh thái khác nhau. Nghiên cứu lai giống Bạch đàn cũng cho thấy một số tổ hợp lai có hiệu suất bột giấy cao

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

hơn, trong lúc độ bền của giấy tương đương với các loài bố mẹ (Lê Đình Khả và Nguyễn Việt Cường, 2001) [4].

Ở Việt Nam từ các năm 1996 – 2000, Trung tâm Nghiên cứu giống cây rừng thuộc Viện khoa học Lâm nghiệp Việt Nam đã tạo được gần 80 tổ hợp lai trong loài và lai khác loài giữa các loài Bạch đàn urô (*Eucalyptus urophylla*), Bạch đàn trắng (*E. camaldulensis*) và Bạch đàn liễu (*E. exserta*).

Giai đoạn 2001-2010 nghiên cứu lai giống cho các loài bạch đàn đã tạo được trên 100 tổ hợp lai đôi, ba cho các loài cho 7 loài bạch đàn là Bạch đàn urô, Bạch đàn tere (*E. tereticornis*), Bạch đàn trắng (*E. camaldulensis*), Bạch đàn grandis (*E. grandis*), Bạch đàn saligna (*E. saligna*), Bạch đàn microcorys (*E. microcorys*), Bạch đàn pellita (*E. pellita*). Sau 2 năm tại đất đồi trọc nghèo dinh dưỡng ở Cẩm Quỳnh- Ba Vì- Hà Nội, năng suất của các tổ hợp lai P18U29 đạt 17,3dm³/cây vượt mẹ (P18) là 316%, vượt bố của chúng (U29) là 363% về thể tích, còn vượt giống lai đối chứng nhập từ Brasin GU8 là 160%. Tổ hợp lai U29S6 có thể tích thân cây đạt 16,62dm³/cây vượt thể tích của mẹ (U29) là 349% và vượt giống lai đối chứng GU8 là 153%. Tại hiện trường Minh Đức- Bình Phước sau 2 năm tổ hợp lai T1P17, C18P17, P18U29C3, P18U29 và C9G15 đạt thể tích thân cây tương ứng là 26,1; 26,1; 22,8; 21,8 và 21 dm³/cây vượt giống đối chứng PN14 tương ứng là 383%, 384%, 335%, 321% và 309% về thể tích (Nguyễn Việt Cường, 2006) [13].

Qua khảo nghiệm cũng đã chọn được 30 dòng bạch đàn lai có sinh trưởng nhanh hơn các giống đối chứng PN2, PN14, U6 và GU8 ở hầu hết các điểm khảo nghiệm và có thể tích thân cây vượt hơn giống đối chứng từ 110% đến 300% ở năm thứ 3. Một nghiên cứu khảo nghiệm giống Bạch đàn lai tại lâm trường Vạn Xuân cho thấy trong các dòng lai được chọn lọc có một số dòng sinh trưởng vượt trội so với dòng kiểm chứng U6, GU8, PN2, PN14 cả về đường kính, chiều cao và chỉ số thể tích thân cây, đặc biệt là

dòng lai UE24, UE83, UE5. Những dòng này có chỉ số thể tích bằng 70,4-73,9; trong khi đó dòng GU8 có chỉ số thể tích là 50,3.

Trong một vài năm gần đây công ty trồng rừng Innov Green Quảng Ninh đã tiến hành trồng rừng các giống Bạch đàn lai nhập từ Trung Quốc (giống lai giữa Bạch đàn urô x grandis, Bạch đàn urô x tere, với tên gọi là Bạch đàn cự vĩ và vĩ hệ) với diện tích vài trăm ha ở Quảng Ninh. Bạch đàn lai này có sinh trưởng nhanh hơn Bạch đàn U6 (Bảng 1.1)

Bảng 1.1. Sinh trưởng dòng Bạch đàn lai cự vĩ và vĩ hệ ở Quảng Ninh (2007-2009)

Kí hiệu	IG01	IG02	IG03	IG04	U6
Tên KH	U x G (BĐ cự vĩ)	G x U (BĐ cự vĩ)	U x G (BĐ cự vĩ)	U x T (BĐ vĩ hệ)	Uro
Nơi trồng (2007 và 2008)	Xã Quảng Sơn Huyện Hải Hà- QN	Xã Quảng Sơn Huyện Hải Hà- QN	Xã Quảng Sơn Huyện Hải Hà- QN	Xã Quảng Sơn Huyện Hải Hà- QN	Xã Quảng Sơn Huyện Hải Hà- QN
D.tích (ha)	246	1,2	1,7	1	3,6
Mật độ	1500	1500	1500	1500	1500
D₁₃ (m)	10,4	9,3	7,9	9,8	7,7
Hvn (m)	12,5	12,1	9,0	12,8	7,6

(Nguồn: Innov Green Quảng Ninh) [12].