

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT

VIỆN CHĂN NUÔI

HOÀNG THỊ THÚY

**MỐI LIÊN KẾT GIỮA ĐA HÌNH MỘT SỐ GEN ỨNG VIÊN VỚI TÍNH TRẠNG
TĂNG KHỐI LƯỢNG, DÀY MỠ LƯNG VÀ TỶ LỆ MỠ GIẤT Ở LỢN DUROC**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Ngành: Di truyền và Chọn giống vật nuôi

Mã Số: 9. 62. 01. 08

HÀ NỘI - 2021

Công trình hoàn thành tại: Viện Chăn nuôi

Người hướng dẫn khoa học: 1. TS. Phạm Doãn Lân

2. TS. Đoàn Văn Soạn

Phản biện 1: PGS.TS. Đồng Văn Quyền

Phản biện 2: PGS.TS. Phan Xuân Hào

Phản biện 3: TS. Nguyễn Văn Hậu

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án cấp Viện họp tại Viện Chăn nuôi,
Thụy Phương, Bắc Từ Liêm, Hà Nội

Vào hồi giờ, ngày tháng năm 2021

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

1. Thư viện Viện Chăn nuôi
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC
ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Hoang Thi Thuy, Giang Thi Thanh Nhan, Pham Thi Phuong Mai, Tran Thi Thu Thuy, Le Quang Nam, Doan Phuong Thuy, Nguyen Van Hung, Tran Xuan Manh, Doan Van Soan and Pham Doan Lan. 2019. Associations of some candidate genes polymorphisms with growth traits in Duroc pigs. *Livestock Research for Rural Development*, Volume 31(10), October.
2. Hoàng Thị Thúy, Giang Thị Thanh Nhân, Phạm Thị Phương Mai, Trần Thị Thu Thủy, Lê Quang Nam, Đoàn Phương Thúy, Nguyễn Văn Hùng, Trần Xuân Mạnh, Đoàn Văn Soạn và Phạm Doãn Lân. 2021. Mối liên kết giữa đa hình một số gen ứng viên với khả năng sinh trưởng và dày mỡ lưng của lợn Duroc qua hai thế hệ. *Tạp chí KHKT Chăn nuôi*. Số 264: 1 - 7.
3. Hoang Thi Thuy, Pham Thu Thao, Giang Thi Thanh Nhan, Nguyen Van Hung, Tran Xuan Manh, Doan Van Soan and Pham Doan Lan. 2021. Polymorphisms of candidate genes and their association with intramuscular fat in Duroc Pig. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi, Viện Chăn nuôi*. Số tháng 2. Vol 120: 90 - 98.

MỞ ĐẦU

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, sự phát triển nhanh chóng của lĩnh vực di truyền học phân tử đã hỗ trợ chọn lọc giống vật nuôi nhanh, chính xác và hiệu quả hơn.

Nhiều gen ứng viên liên quan đến tính trạng sinh trưởng, chất lượng thịt đã được nghiên cứu và đề xuất sử dụng cho các chương trình chọn lọc hỗ trợ bởi chỉ thị phân tử như gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP*, *PIK3C3*, *FABP3*, *ADRB3*, *PLIN2*, *ACSL4*. Tuy nhiên, mối liên quan giữa đa hình gen với các tính trạng còn tùy thuộc vào đặc điểm hay bản chất di truyền của từng quần thể lợn tại mỗi cơ sở chăn nuôi. Do đó, để có thể ứng dụng các gen trong hỗ trợ chọn lọc theo từng tính trạng mong muốn cần có nghiên cứu đánh giá mối liên kết của các gen ứng viên trên quần thể cần chọn lọc.

Lợn Duroc là một trong những giống lợn ngoại có khả năng tăng khối lượng nhanh, chất lượng thịt tốt (thịt mềm do mô mỡ xen lẫn với mô nạc) và tỷ lệ nạc cao. Chính vì vậy, ở Việt Nam, lợn Duroc được sử dụng trong các chương trình nạc hóa đàn lợn, góp phần nâng cao năng suất và chất lượng thịt cho ngành chăn nuôi lợn thịt. Mặt khác, nhiều nghiên cứu cho thấy tăng khối lượng trên lợn Duroc ở Việt Nam không vượt trội so với tăng khối lượng trên lợn Duroc của một số nước phát triển. Vì vậy, mục tiêu cải tạo khả năng tăng khối lượng, dày mỡ lưng và nâng cao chất lượng đàn lợn Duroc nhằm góp phần đẩy mạnh ngành chăn nuôi lợn thịt đang trở thành hướng nghiên cứu quan trọng.

Để có cơ sở khoa học ứng dụng các chỉ thị di truyền trong việc hỗ trợ chọn lọc nâng cao khả năng tăng khối lượng và chất lượng thịt của đàn lợn Duroc nuôi tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco, tôi nghiên cứu đề tài **“Mối liên kết giữa đa hình một số gen ứng viên với tính trạng tăng khối lượng, dày mỡ lưng và tỷ lệ mỡ giắt ở lợn Duroc”**.

2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

Xác định được tính đa hình các gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP*, *PIK3C3* và mối liên kết với các tính trạng tăng khối lượng, dày mỡ lưng, năng suất sinh sản ở lợn Duroc.

Xác định được tính đa hình các gen *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3*, *PLIN2* và mối liên kết với tỷ lệ mỡ giắt ở lợn Duroc.

Bước đầu ứng dụng chọn lọc dòng lợn Duroc theo hướng tăng khối lượng cơ thể sử dụng sự hỗ trợ từ thông tin kiểu gen.

3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Nội dung 1: Nghiên cứu đa hình di truyền và mối liên kết của các đa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* và *PIK3C3* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng, khả năng sinh sản của lợn Duroc.

Nội dung 2: Nghiên cứu đa hình di truyền và mối liên kết của các đa hình gen *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* và *PLIN2* với tỷ lệ mỡ giắt.

Nội dung 3: Chọn lọc đàn lợn Duroc theo hướng tăng khối lượng dựa trên thông tin kiểu gen.

4. Ý NGHĨA KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN

Luận án cung cấp những thông tin về tần số kiểu gen, tần số alen và mối liên kết với tính trạng tăng khối lượng và dày mỡ lưng, năng suất sinh sản, tỷ lệ mỡ giết của một số gen ứng viên *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP*, *PIK3C3*, *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3*, *PLIN2* trên lợn Duroc nuôi tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco.

Luận án đã cung cấp cơ sở khoa học cho việc sử dụng một số gen ứng viên để hỗ trợ chọn lọc lợn Duroc có khả năng tăng khối lượng, dày mỡ lưng và tỷ lệ mỡ giết tại Công ty TNHH giống lợn hạt nhân Dabaco.

Các bài báo đăng trên tạp chí khoa học trong và ngoài nước là những tư liệu có giá trị tham khảo trong nghiên cứu khoa học và giảng dạy.

5. ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Luận án là công trình khoa học nghiên cứu một cách hệ thống bao gồm: phân tích đa hình các gen ứng viên *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP*, *PIK3C3*, *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3*, *PLIN2*; đánh giá mối liên kết giữa đa hình các gen này với năng suất sinh trưởng, dày mỡ lưng và tỷ lệ mỡ giết; ứng dụng chọn lọc lợn Duroc có khả năng tăng khối lượng cao dựa trên thông tin các gen ứng viên tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco.

Cung cấp cơ sở khoa học cho việc định hướng sử dụng các chỉ thị phân tử hỗ trợ chọn lọc nhằm nâng cao năng suất, chất lượng thịt trong chăn nuôi đối với giống lợn Duroc, từ đó rút ngắn thời gian chọn lọc và nâng cao hiệu quả chăn nuôi, góp phần đáp ứng yêu cầu sản xuất chăn nuôi lợn năng suất, chất lượng cao ở nước ta.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Với sự phát triển của công nghệ sinh học phân tử, các chỉ thị phân tử ADN đã có những tiến bộ nhanh chóng. Chỉ thị phân tử ADN được áp dụng khá rộng rãi trong nghiên cứu đa hình di truyền phục vụ cho công tác chọn giống, nghiên cứu tiến hoá và phân loại học,... dựa trên những đặc tính của phân tử ADN (tính đa dạng, ổn định và đặc trưng cho cá thể và cho loài,...). Các phương pháp này thể hiện ưu điểm vượt trội hơn so với các phương pháp chọn lọc truyền thống dựa vào kiểu hình như giảm thời gian chọn lọc và có thể chọn lọc trên các tính trạng có hệ số di truyền thấp hay khó đánh giá, đo lường kiểu hình hoặc rất tốn kém khi đánh giá qua kiểu hình.

Nhiều gen ứng viên liên quan đến tính trạng sinh trưởng, chất lượng thịt đã được nghiên cứu và đề xuất sử dụng cho các chương trình chọn lọc hỗ trợ bởi chỉ thị phân tử (MAS) như: gen *PIT1* (Feng và cs., 2012; Daga và cs., 2012; Kim và cs., 2014; Al-Khuzai và cs., 2018). Gen *MC4R* mã hoá cho thụ thể protein xuyên màng của tế bào. Thụ thể này đóng vai trò quan trọng trong việc điều khiển lượng thức ăn thu nhận, khối lượng cơ thể và duy trì ổn định năng lượng nội bào. Gen *MC4R* có mối liên kết với tăng khối lượng và dày mỡ lưng (Davoli và cs., 2012; Hirose và cs., 2014). Gen *GH* liên quan đến các tính trạng thân thịt và sinh trưởng (Bižienė và cs., 2011; Lyubov và cs.,

2017). Gen *LEP* đóng một vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh lượng thức ăn và cân bằng năng lượng. Gen *LEP* liên quan đến mức tăng khối lượng (Tempfli và cs., 2015). Gen *PIK3C3* liên quan đến tăng khối lượng trong giai đoạn trọng lượng cơ thể từ 30 - 90 kg (Hirose và cs., 2011). Các gen *FABP3*, *ADRB3*, *PLIN2* và *ACSL4* liên quan đến các tính trạng chất lượng thịt, là những gen có tiềm năng để xây dựng thành các chỉ thị chọn lọc lợn thịt cho tỷ lệ mỡ giết cao (Davoli và cs., 2011; Han và cs., 2012; Chen và., 2014; Xue và cs., 2015).

Lợn Duroc được Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco nhập từ Canada và Đài Loan từ năm 2014 - 2018, nuôi tại xã Tân Chi, huyện Tiên Du, tỉnh Bắc Ninh. Đực giống trưởng thành có khối lượng từ 320 - 350 kg. Nái trưởng thành có khối lượng từ 250 - 280 kg. Khả năng tăng khối lượng từ 750 - 800 g/ngày, dày mỡ lưng 10 - 12 mm. Tăng khối lượng của lợn Duroc nuôi tại Nhật Bản đạt 873,6 g/ngày (Suzuki và cs., 2005), nuôi tại Tây Ban Nha đạt 861g/ngày (Rauw và cs., 2006). Công ty DanBred (2014) cho biết tại Đan Mạch, lợn đực Duroc nuôi tại trạm kiểm tra năng suất có mức tăng khối lượng trung bình hàng ngày tương ứng là: 1,140 g/ngày. Như vậy, khả năng tăng khối lượng của lợn Duroc có nguồn gốc từ Canada và Đài Loan không vượt trội so với một số cơ sở khác và đặc biệt là thấp hơn nhiều so với một số nước phát triển. Vì vậy, nghiên cứu theo hướng tăng cường chọn lọc tính trạng tăng khối lượng, dày mỡ lưng, tỷ lệ mỡ giết đối với lợn Duroc là một yêu cầu cấp thiết được đặt ra.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Lợn Duroc được nuôi tại Công ty TNHH Lợn giống hạt nhân Dabaco có nguồn gốc từ Đài Loan và Canada.

2.2. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

Thời gian: Từ tháng 12/2016 đến tháng 12/2020.

Địa điểm:

+ Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco; xã Tân Chi huyện Tiên Du tỉnh Bắc Ninh

+ Phòng TNTĐ Công nghệ tế bào động vật, Viện Chăn Nuôi; phường Thụy Phương, quận Bắc Từ Liêm, thành phố Hà Nội.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Đánh giá khả năng sinh trưởng của lợn Duroc

Đánh giá khả năng sinh trưởng của 500 cá thể lợn Duroc hậu bị.

Chế độ nuôi dưỡng và phòng bệnh: áp dụng theo quy trình chăn nuôi của Công ty Dabaco.

Thu thập số liệu

Cân khối lượng của từng cá thể tại thời điểm bắt đầu và kết thúc thí nghiệm bằng cân điện tử Mettler Toledo (Trung Quốc).

Tăng khối lượng (g/ngày) được tính dựa trên khối lượng kết thúc của từng cá thể và số ngày nuôi.

Đày mỡ lưng được đo bằng máy đo siêu âm Exago với đầu dò ALOKA SSD 500v ở vị trí gốc xương sườn cuối cùng cách đường sống lưng 6,5 cm trên từng cá thể sống cùng với thời điểm cân khối lượng kết thúc theo phương pháp được mô tả trong nghiên cứu của Youssao và cs., 2002.

Xử lý số liệu

Tất cả các phép phân tích được xử lý bằng phần mềm Minitab 16.

2.3.2. Phương pháp nghiên cứu đa hình các gen ứng viên

+ Nghiên cứu tính đa hình các gen ứng viên với tăng khối lượng (TKL) và Đày mỡ lưng (DML) (*MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* và *PIK3C3*) được thực hiện trên 02 thế hệ: Thế hệ 1 (TH1) trên 500 con lợn Duroc hậu bị (362 cái và 138 đực); Thế hệ 2 (TH2) trên 188 con lợn Duroc hậu bị (133 cái và 55 đực).

+ Nghiên cứu tính đa hình các gen ứng viên với tính trạng mỡ giắt (*ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* và *PLIN2*) được thực hiện trên 200 cá thể lợn Duroc gồm 118 con đực và 82 con cái được tạo ra từ 23 con đực và 69 con cái.

+ Lấy mẫu

Dùng kim chuyên dụng để cắt 2 - 3 cm phần đuôi của mỗi cá thể lợn khi lợn được 4 ngày tuổi. Mẫu đuôi được chuyển vào các ống 1,5 ml có chứa dung dịch ethanol 90°. Mẫu được bảo quản ở nhiệt độ -20°C trước khi tiến hành tách chiết ADN.

+ Tách chiết ADN

Từ mỗi mẫu mô đuôi tiến hành tách chiết ADN bằng kit GeneJET Genomic ADN Purification Kit (Thermo Fisher Scientific).

+ Phản ứng PCR

Một phản ứng PCR được chuẩn bị với tổng thể tích 25 µl bao gồm 12,5 µM DreamTaq PCR Master Mix 2X (Thermo Fisher Scientific), 0,4 µM mỗi mỗi và 50 ng ADN.

+ Điện di kiểm tra sản phẩm PCR

Các sản phẩm PCR được kiểm tra chất lượng và xác định kích thước bằng phương pháp điện di trên gel agarose 2% với điện thế 100V trong khoảng 30 phút. Gel điện di được quan sát dưới tia UV nhờ chất phát huỳnh quang là ethidium bromide.

+ Giải trình tự các gen

Sản phẩm PCR các gen ứng viên được làm sạch theo quy trình của Kit làm sạch sản phẩm PCR PureLink® PCR Purification Kit (Invitrogen).

Quá trình giải trình tự được tiến hành tuần tự theo 3 bước: thực hiện phản ứng giải trình tự, làm sạch sau phản ứng và tiến hành giải trình tự trên máy ABI 3130 của hãng AB (Applied Biosystem).

2.3.3. Xác định mối liên kết của các đa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP*, *PIK3C3* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 16. Mô hình tuyến tính tổng quát GLM được sử dụng để đánh giá mối liên kết giữa đa hình các gen *PIT1*, *MC4R*, *GH*, *LEP*, *PIK3C3* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng với mô hình :

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + SE_j + G*SE_{ij} + S_k + e_{ijk}$$

Trong đó:

Y_{ijk} là tăng khối lượng của lợn hay dày mỡ lưng;

μ là giá trị trung bình quần thể;

G_i là ảnh hưởng của kiểu gen i của mỗi gen (kiểu gen $i = GH$: kiểu gen AA/GG/AG; *LEP*: kiểu gen TT/CT; *PIK3C3*: kiểu gen TT/CC/CT; *MC4R*: AA/GG/AG; *PIT1*: AA/AB/BB);

SE_j là ảnh hưởng của giới tính j ($j = đực$ và $cái$);

$G * SE_{ij}$ là ảnh hưởng tương tác giữa kiểu gen và giới tính;

S_k là ảnh hưởng của các đực giống;

e_{ijk} là sai số ngẫu nhiên.

So sánh mức độ tin cậy giữa các số trung bình bằng Least Square Mean – LSM với phép so sánh Tukey.

2.3.4. Xác định mối liên kết của các đa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* với năng suất sinh sản

Đối tượng nghiên cứu là: 104 con nái; số ổ đẻ (445 ổ), số lượng bố (27 con) và mẹ của lợn nái (73 con); số lứa đẻ được thể hiện ở bảng 2.1.

Bảng 2.1. Số lứa đẻ của 104 nái Duroc

Lứa đẻ	1	2	3	4	5	6
Ổ đẻ	104	85	81	69	56	50

Mô hình tuyến tính tổng quát GLM được sử dụng để đánh giá mối liên kết giữa đa hình các gen *PIT1*, *MC4R*, *GH*, *LEP* với năng suất sinh sản:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + e_{ij}$$

Trong đó:

Y_{ij} là giá trị kiểu hình của tính trạng;

μ là giá trị trung bình quần thể;

G_i là ảnh hưởng của kiểu gen của mỗi gen (kiểu gen $i = GH$: kiểu gen AA/GG/AG; *LEP*: kiểu gen TT/CT; *MC4R*: AA/GG /AG; *PIT1*: AA/AB/BB);

e_{ij} là sai số ngẫu nhiên.

So sánh mức độ tin cậy giữa các số trung bình bằng Least Square Mean – LSM bằng phép so sánh Tukey.

2.3.5. Mối liên kết giữa đa hình gen *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* và *PLIN2* với tính trạng mỡ giắt

Nghiên cứu được thực hiện trên 200 cá thể lợn Duroc gồm 118 con đực và 82 con cái đực

tạo ra từ 23 con đực và 69 con cái (thời gian theo dõi qua 1 thế hệ).

Tỷ lệ mỡ giết cơ thăn của 200 cá thể lợn Duroc được đo bằng máy siêu âm Exago và đầu dò Aloka SSD 500v tại thời điểm kết thúc kiểm tra năng suất. Máy siêu âm với một đầu dò phẳng có độ dài 12 cm với tần số 3,5 MHz có thể quét sâu 12,5 cm để ghi nhận hình ảnh. Đầu dò được đặt thẳng đứng, song song và cách chính giữa sống lưng của con vật khoảng 6 -7 cm tại vị trí xương sườn thứ 10. Từ các hình ảnh thu được qua siêu âm, các dữ liệu về dày mỡ lưng có thể đo lường trực tiếp trên màn hình của máy siêu âm hoặc chuyển vào máy tính và được xử lý bằng phần mềm Biosoft Toolbox II for Swine của công ty Biotronics.In. Riêng tỷ lệ mỡ giết, chỉ có thể đo lường thông qua phần mềm Biosoft khi dữ liệu hình ảnh từ máy siêu âm chuyển vào máy tính. Mỗi cá thể khảo sát được tiến hành đo và ghi lại ít nhất 5 hình ảnh, tương ứng với 5 lần đo lặp lại. Sau đó, mỗi hình ảnh (lần lặp lại) sẽ được xử lý để đưa ra các thông số về độ dày mỡ lưng và tỷ lệ mỡ giết. Kết quả trung bình số học của 5 lần đo lặp lại sẽ được sử dụng để đánh giá so sánh các chỉ tiêu này giữa các cá thể khảo sát.

Mô hình tuyến tính tổng quát GLM được sử dụng để đánh giá mối liên kết giữa các điểm đa hình các gen *FABP3*, *ADRB3*, *PLIN2*, *ACSL4* với Tỷ lệ mỡ giết (TLMG) theo mô hình:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + S_j + G_i * S_j + S_k + e_{ijk}$$

trong đó:

Y_{ijk} : tỷ lệ mỡ giết có kiểu gen i và giới tính j ;

μ : giá trị trung bình quần thể;

G_i : ảnh hưởng cố định của kiểu gen thứ i ($i=3$, tương ứng với 3 kiểu gen);

S_j : ảnh hưởng cố định của giới tính thứ j ($j=2$, tương ứng với con đực hoặc cái);

$G_i * S_j$: ảnh hưởng cố định cộng gộp của kiểu gen thứ i và giới tính thứ j ;

S_k : ảnh hưởng của con đực giống;

e_{ijk} : sai số ngẫu nhiên.

So sánh mức độ tin cậy giữa các số trung bình bằng Least Square Mean (LSM) bằng phép so sánh Tukey.

2.3.6. Chọn lọc đàn lợn Duroc theo hướng tăng khối lượng dựa trên kiểu gen

Bước 1: Chọn lợn Duroc đực (20) và cái (100) mang kiểu gen đồng hợp cả 2 gen *MC4R* (AA) và *PIT1* (AA) hoặc đồng hợp 1 gen và dị hợp 1 gen từ 1000 cái và 400 đực hậu bị. Cho tiến hành phối tạo thế hệ xuất phát.

Bước 2: Chọn 60 cá thể (50 cái + 10 đực) mang đồng thời kiểu gen *MC4R*, (AA) và gen *PIT1* (AA) có khả năng sinh trưởng cao từ các ổ đẻ của thế hệ xuất phát để tiến hành theo dõi khả năng sinh trưởng ở thế hệ 1. Ghép phối tạo thế hệ 2.

Bước 3. Chọn lợn cái và đực có khả năng sinh trưởng cao để theo dõi kiểm tra năng suất ở thế hệ thứ 2.

* Các chỉ tiêu nghiên cứu:

- Khối lượng bắt đầu kiểm tra (KLbđKT) (kg);
- Khối lượng kết thúc kiểm tra (KLkt KT) (kg);
- TKL (g/ngày);
- DML (mm).

* Phương pháp nghiên cứu khả năng sinh trưởng của lợn Duroc ở thế hệ 1 và thế hệ 2 mang đồng thời kiểu gen *MC4R* (AA) và *PIT1* (AA) thực hiện như mục 2.3.1.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA LỢN DUROC

Khả năng sinh trưởng của 500 lợn hậu bị Duroc trong giai đoạn kiểm tra năng suất cá thể được trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả theo dõi kiểm tra năng suất lợn Duroc

Tính trạng	Mean ± SE	CV (%)
Khối lượng sơ sinh/con (kg)	1,55 ± 0,01	16,91
Khối lượng cai sữa/con (kg)	6,68 ± 0,06	19,34
Khối lượng bắt đầu kiểm tra/con (kg)	31,67 ± 0,14	10,16
Khối lượng kết thúc/con (kg)	94,71 ± 0,34	8,14
Tuổi bắt đầu kiểm tra (ngày)	71,52 ± 0,13	4,05
Tuổi kết thúc (ngày)	149,29 ± 0,29	4,17
Số ngày cai sữa (ngày)	23,39 ± 0,09	9,46
Số ngày kiểm tra (ngày)	77,99 ± 0,28	8,12
Tăng khối lượng (g/ngày)	809,04 ± 4,12	11,39
Dày mỡ lưng (mm)	12,01 ± 0,08	14,41

Khả năng sinh trưởng của 500 lợn hậu bị Duroc trong giai đoạn kiểm tra năng suất cá thể cho thấy: lợn hậu bị Duroc có khối lượng sơ sinh/con, khối lượng cai sữa/con lần lượt là 1,55 kg và 6,68 kg, tuổi bắt đầu kiểm tra là 71,52 ngày; tuổi kết thúc là 149,29 ngày; số ngày cai sữa là 23,39 ngày; số ngày kiểm tra là 77,99 ngày; khối lượng bắt đầu kiểm tra/con là 31,67 kg; khối lượng kết thúc/con là 94,71 kg, tăng khối lượng là 809,04 g/ngày, dày mỡ lưng 12,01 mm.

3.2. ĐA HÌNH GEN *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* VÀ *PIK3C3*

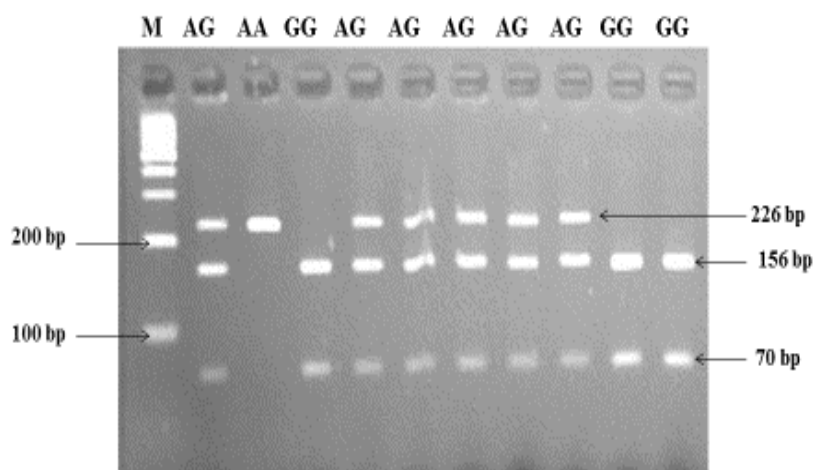
3.2.1. Nồng độ và độ tinh sạch của mẫu ADN

Đã tách chiết thành công các mẫu mô đuôi của giống lợn Duroc. Hình ảnh điện di cho thấy ADN tập trung thành băng đậm nét sáng rõ không bị đứt gãy. Sau khi tiến hành đo trên máy Nano drop 2000, các mẫu ADN có độ tinh sạch cao với tỷ lệ A260/280 trong khoảng 1,79 - 2,03 và nồng độ DNA tổng số dao động trong khoảng 70-150 µg/µl.

3.2.2. Đa hình các đoạn gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* và *PIK3C3*

Với các cặp mồi được thiết kế đặc hiệu và các điều kiện phản ứng PCR đã được chuẩn hóa, các đoạn ADN có chứa các điểm đa hình quan tâm trên các gen nghiên cứu (*MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* và *PIK3C3*) đã được nhân bản đặc hiệu. Sản phẩm PCR của gen ứng viên được cắt bằng enzyme đặc hiệu. Kết quả cho thấy:

Gen *MC4R* được cắt bằng enzyme *TaqI* tạo nên ba kiểu gen khác nhau (AA, AG và GG). Kiểu gen AA có 1 băng duy nhất tương ứng kích thước 226 bp; kiểu gen AG có 3 băng tương ứng với kích thước 226 bp, 156 bp và 70 bp; kiểu gen GG có 2 băng tương ứng với kích thước 156 và 70 bp. Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *MC4R* trong quần thể lợn Duroc cho thấy kiểu gen dị hợp AG chiếm ưu thế ở thế hệ thứ 1 và thứ 2 với tần số lần lượt là 0,51 và 0,48. Tần số alen A và G tương ứng là 0,41 và 0,59 ở cả 2 thế hệ.

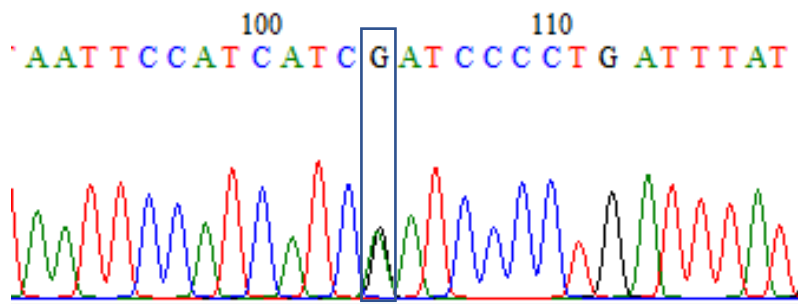


Hình 3.1. Phổ điện di phân tích đa hình gen *MC4R* bằng enzyme *TaqI*

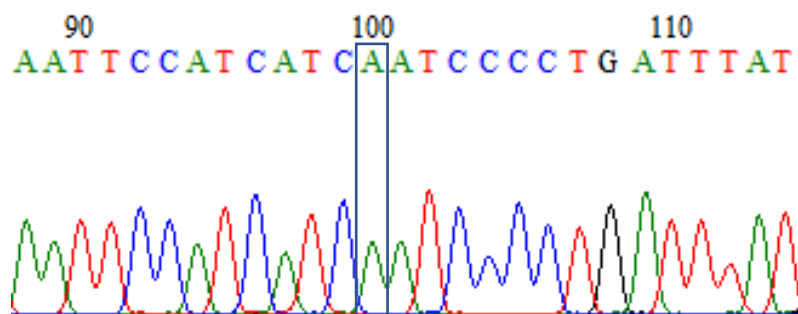
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự các điểm đa hình gen *MC4R* được thể hiện ở hình 3.2.

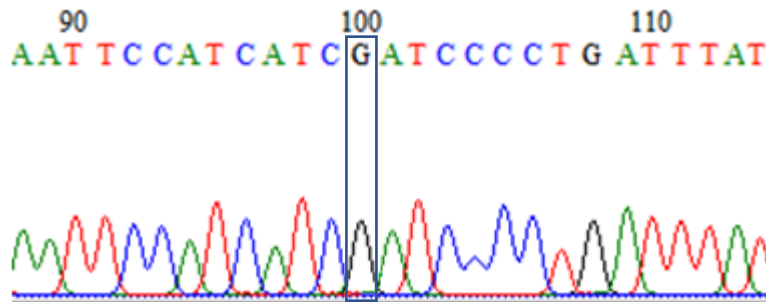
Kiểu gen AG



Kiểu gen AA

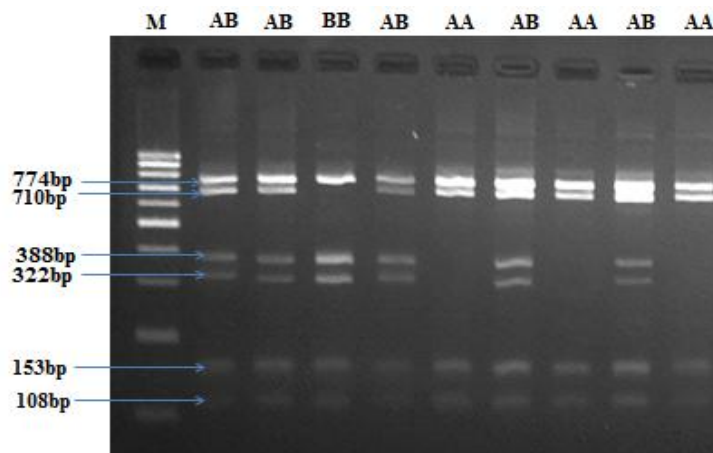


Kiểu gen GG



Hình 3.2. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *MC4R*

Đối với gen *PIT1*, sản phẩm được cắt bằng enzyme *RasI* tạo nên ba kiểu gen khác nhau AA, AB và BB. Kiểu gen AA có 4 băng tương ứng với kích thước 774 bp, 710 bp, 153 bp và 108 bp; kiểu gen AB có 6 băng tương ứng với kích thước 774 bp, 710 bp, 388 bp, 322 bp, 153 bp và 108 bp; kiểu gen BB có 5 băng tương ứng với kích thước 774 bp, 388 bp, 322 bp, 153 bp và 108 bp. Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *PIT1* trong quần thể lợn Duroc cho thấy tần số kiểu gen dị hợp tử AB cao nhất ở cả 2 thế hệ, ở thế hệ thứ 1 và 2 lần lượt là 0,40; 0,41. Tiếp theo là kiểu gen AA (0,30) ở thế hệ 1 và 0,32 ở thế hệ 2; cuối cùng kiểu gen BB là 0,30 ở thế hệ 1 và 0,27 ở thế hệ 2. Tần số alen A/B ở thế hệ 1 là (0,5A/0,5B); tần số alen A/B ở thế hệ 2 là 0,53A/0,47B.

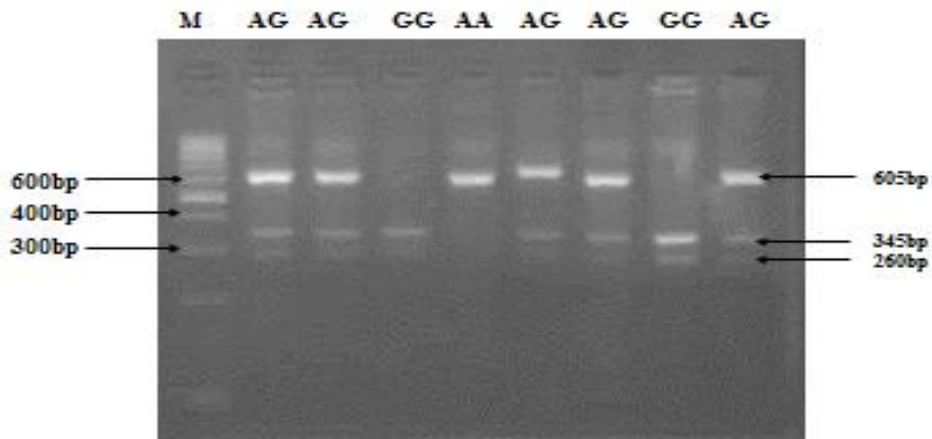


Hình 3.3. Phổ điện di phân tích đa hình gen *PIT1* bằng enzyme *RasI*

M: thang ADN chuẩn 100 bp

Đa hình gen *GH* được xác định khi sử dụng enzyme giới hạn *FokI*. Kết quả phân tích hình ảnh điện di cho thấy trong quần thể lợn nghiên cứu tồn tại ba kiểu gen là kiểu gen đồng hợp AA tương ứng với một băng điện di 605 bp, kiểu gen đồng hợp GG tương ứng với hai băng điện di là 260 bp và 345 bp và kiểu gen dị hợp AG tương ứng với ba băng điện di là 605 bp, 345 bp và 260 bp. Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *GH* trong quần thể lợn Duroc cho thấy ở thế hệ thứ 1, kiểu gen AA có tỷ lệ thấp nhất là 0,15 kiểu gen GG là 0,35 và kiểu gen AG có tỷ lệ cao nhất là 0,50. Các alen A và G có tần số lần lượt là 0,40 và 0,60. Ở thế hệ thứ 2, kiểu gen AG có

tỷ lệ cao nhất là 0,44; tiếp theo là kiểu gen GG 0,41 và thấp nhất là kiểu gen AA 0,15. Các alen A và G có tần số lần lượt là 0,37 và 0,63.

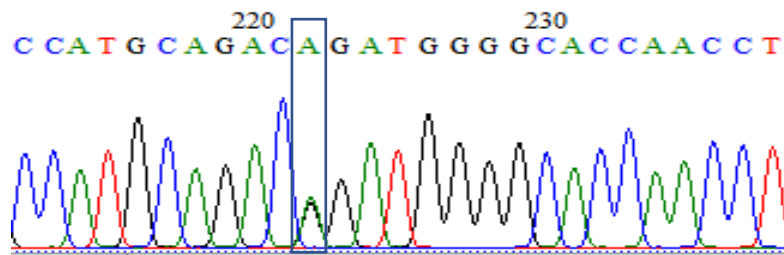


Hình 3.4. Phổ điện di phân tích đa hình gen GH bằng enzyme FokI

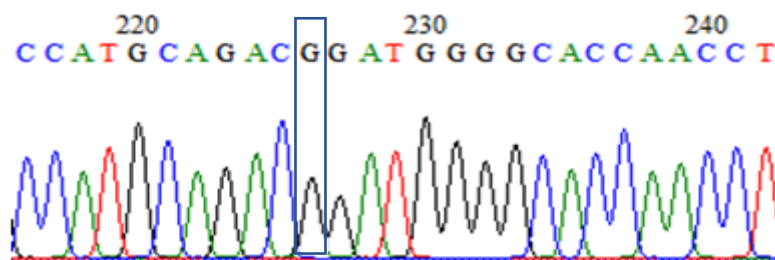
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự các điểm đa hình gen GH được thể hiện ở hình 3.5.

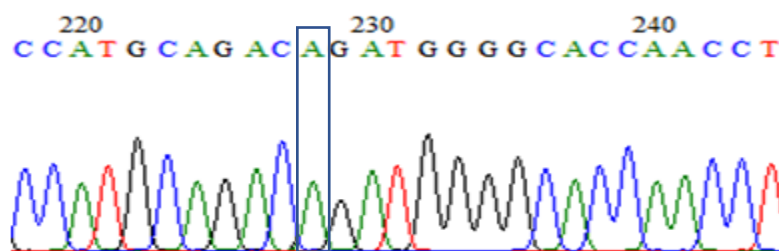
Kiểu gen AG



Kiểu gen GG

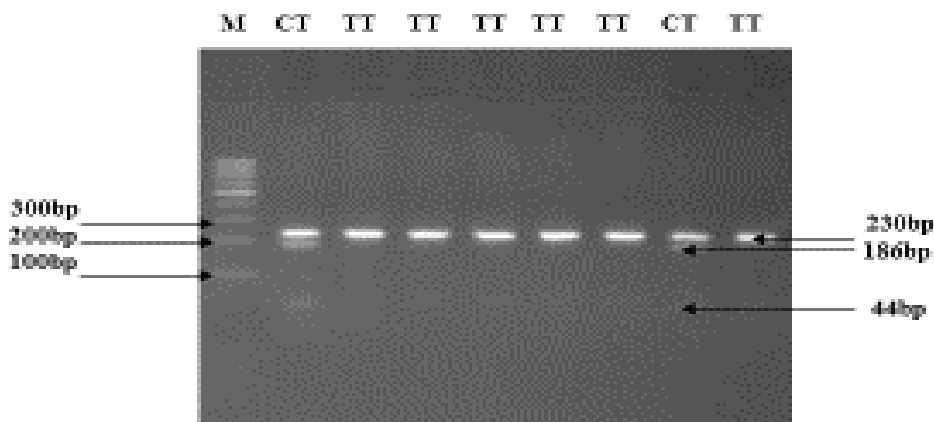


Kiểu gen AA



Hình 3.5. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen GH

Sử dụng phương pháp PCR-RFLP đã được xây dựng để xác định đa hình gen *LEP*. Kết quả phân tích trên quần thể nghiên cứu chỉ thu được 2 kiểu gen. Kiểu gen CT tương ứng với 3 băng điện di là 230 bp, 186 bp và 44 bp và kiểu gen TT tương ứng với một băng điện di 230 bp. Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *LEP* trong quần thể lợn Duroc cho thấy alen T chiếm ưu thế với tần số 0,98 ở thế hệ thứ 1 và 0,97 ở thế hệ thứ 2.

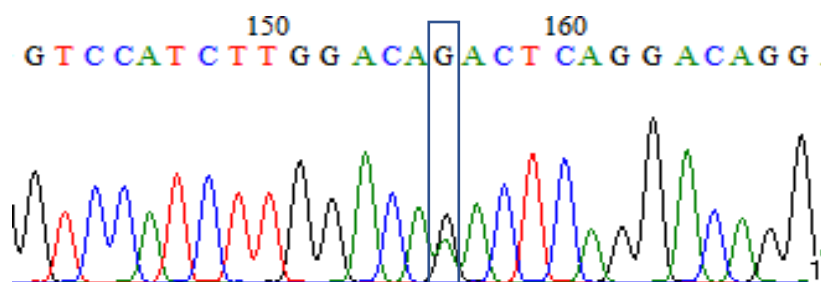


Hình 3.6. Phổ điện di phân tích đa hình gen *LEP* bằng enzyme *HinfI*

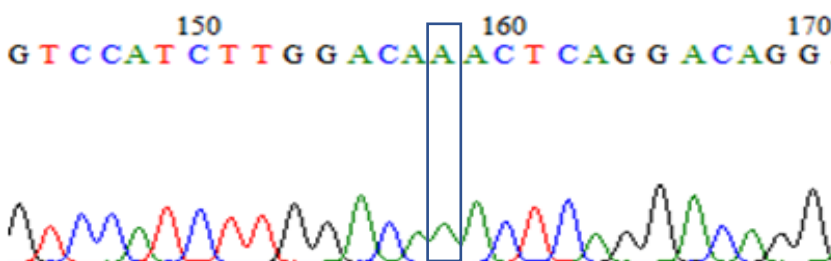
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự các điểm đa hình gen *LEP* được thể hiện ở hình 3.7.

Kiểu gen TC (chiều reverse là kiểu gen AG)

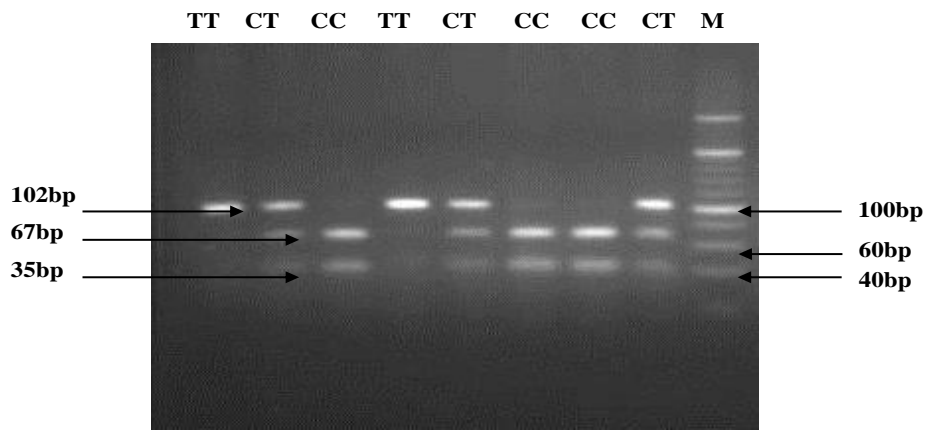


Kiểu gen TT (chiều reverse là kiểu gen AA)



Hình 3.7. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *LEP*

Khi phân tích đa hình C2604T trên đoạn gen *PIK3C3* thuộc exon 24, nhiễm sắc thể số 7 bằng enzyme giới hạn *Hpy8I*, ba kiểu gen đã được xác định bao gồm kiểu gen TT tương ứng với một băng điện di 102 bp, kiểu gen dị hợp CT tương ứng với 3 băng điện di 102 bp, 67 bp và 35 bp và kiểu gen đồng hợp CC tương ứng với hai băng điện di 67 bp và 35 bp. Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *PIK3C3* trong quần thể lợn Duroc cho thấy alen C chiếm ưu thế với tần số 0,62.

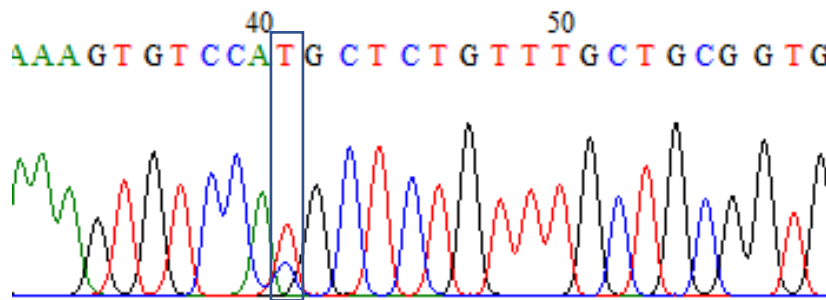


Hình 3.8. Phổ điện di phân tích đa hình *PIK3C3* bằng enzyme *Hpy8I*

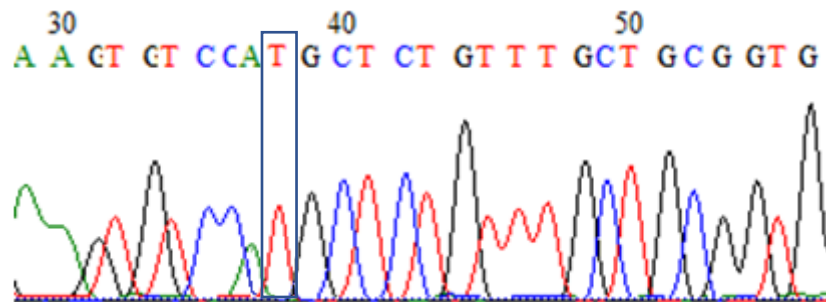
M: thang ADN chuẩn 50 bp

Giải trình tự các điểm đa hình gen *PIK3C3* được thể hiện ở hình 3.9.

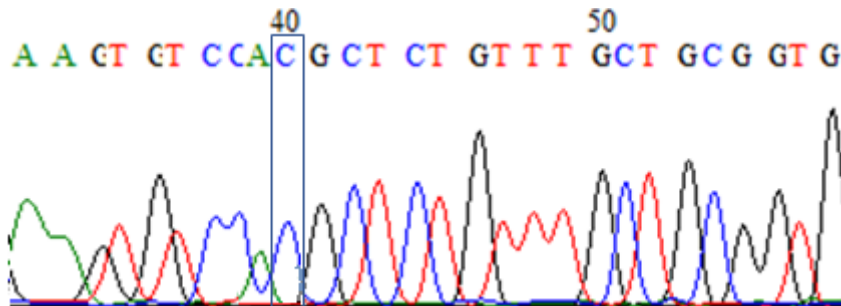
Kiểu gen CT



Kiểu gen TT



Kiểu gen CC



Hình 3.9. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *PIK3C3*

3.3. MỐI LIÊN KẾT CỦA ĐA HÌNH GEN *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* VÀ *PIK3C3* VỚI TĂNG KHỐI LƯỢNG, DÀY MỠ LƯNG

3.3.1. Mối liên kết của gen *MC4R* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng

Mức độ ảnh hưởng của các yếu tố đến khả năng sinh trưởng của lợn Duroc được trình bày qua bảng 3.2.

Bảng 3.2. Mối liên kết của kiểu gen *MC4R* với các chỉ tiêu sinh trưởng

Thế hệ	Chỉ tiêu	AA		AG		GG		P
		n	LSM ± SE	n	LSM±SE	n	LSM±SE	
1	KLbđKT (kg)	80	31,58 ± 0,44	254	31,71 ± 0,29	166	31,70 ± 0,34	0,96
	KLktKT (kg)	80	98,61 ^a ± 0,11	254	94,86 ^b ±0,69	166	93,15 ^b ± 0,80	0,00
	TKL (g/ngày)	80	853,26^a ± 9,59	254	820,40 ^b ±6,36	166	790,44 ^c ± 7,31	0,00
	DML (mm)	80	12,62^a ± 0,29	254	11,95 ^a ± 0,19	166	11,38 ^b ± 0,22	0,00
2	KLbđKT (kg)	32	31,23 ^a ± 0,52	91	30,00 ^{ab} ± 0,31	65	29,45 ^b ± 0,35	0,02
	KLktKT (kg)	32	101,76 ^a ± 1,88	91	94,54 ^b ± 1,15	65	92,47 ^b ± 1,29	0,00
	TKL (g/ngày)	32	860,31^a±15,91	91	814,89 ^b ±9,73	65	797,72 ^b ±10,96	0,00
	DML (mm)	32	12,85^a ± 0,59	91	11,48 ^a ± 0,36	65	10,04 ^b ± 0,41	0,00

Trong cùng chỉ tiêu, các giá trị LSM mang chữ cái khác nhau, sai khác có ý nghĩa thống kê (p<0,05)

Kiểu gen *MC4R* có mối liên kết với tăng khối lượng và dày mỡ lưng (p<0,05) ở thế hệ thứ 1 và thế hệ thứ 2. Tính trạng tăng khối lượng ở lợn Duroc ở các kiểu gen AA; AG; GG ở thế hệ 1 lần lượt là 853,26; 820,40; 790,44 g/ngày, đạt cao nhất ở lợn mang kiểu gen AA và thấp nhất là ở lợn mang kiểu gen GG. Dày mỡ lưng đạt cao nhất ở lợn Duroc mang kiểu gen AA 12,62 mm và thấp nhất ở lợn mang kiểu gen GG 11,38 mm. Ở thế hệ thứ 2, lợn Duroc mang kiểu gen AA có tăng khối lượng (860,31 g/ngày), dày mỡ lưng (12,85 mm) đạt cao nhất và thấp nhất ở lợn mang kiểu gen GG (797,72 g/ngày; 10,04 mm). Kết luận đa hình gen *MC4R* có mối liên kết chặt với tăng khối lượng và dày mỡ lưng ở cả 2 thế hệ (p<0,05). Trong đó, lợn mang kiểu gen AA đạt tăng khối lượng và dày mỡ lưng cao nhất ở cả 2 thế hệ. Thế hệ 1 là 853,3 g/ngày và 12,62 mm, thế hệ 2 là 860,3 g/ngày và 12,85 mm.

3.3.2. Mối liên kết của gen *PIT1* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng

Kết quả phân tích mối liên kết giữa các điểm đa hình với các chỉ tiêu sinh trưởng của lợn Duroc được thể hiện ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Mối liên kết của kiểu gen *PIT1* với các chỉ tiêu sinh trưởng

Thế hệ	Chỉ tiêu	AA		AB		BB		P
		n	LSM ± SE	n	LSM ± SE	n	LSM ± SE	
1	KLbđKT (kg)	14	31,23 ^b ±0,36	202	32,36 ^a ±0,29	149	32,15 ^{ab} ±0,37	0,02
	KLktKT (kg)	14	96,27 ^a ± 0,86	202	95,60 ^a ±0,69	149	93,36 ^b ±0,88	0,02
	TKL (g/ngày)	14	833,10^a±8,00	202	816,41 ^{ab} ±6,41	149	807,89 ^b ±8,20	0,04
	DML (mm)	14	12,42^a±0,24	202	11,81 ^{ab} ±0,19	149	11,58 ^b ±0,24	0,01
2	KLbđKT (kg)	61	30,23±0,36	78	29,89±0,34	49	29,95±0,42	0,75
	KLktKT (kg)	61	98,29 ^a ±1,22	78	95,55 ^a ±1,17	49	89,50 ^b ±1,45	0,00
	TKL (g/ngày)	61	844,70^a±10,25	78	811,62 ^b ±9,82	49	782,93 ^b ±12,16	0,00
	DML (mm)	61	12,37^a ± 0,40	78	11,43 ^a ± 0,38	49	9,62 ^b ± 0,47	0,00

Trong cùng chỉ tiêu, các giá trị LSM mang chữ cái khác nhau, sai khác có ý nghĩa thống kê (p<0,05)

Kiểu gen *PITI* có mối liên kết với tăng khối lượng và dày mỡ lưng ở thế hệ thứ 1 và thế hệ thứ 2 ($p < 0,05$). Cụ thể, tính trạng tăng khối lượng và dày mỡ lưng ở thế hệ thứ 1 đạt cao nhất ở lợn mang kiểu gen AA (833,10 g/ngày; 12,42 mm), sau đó đến kiểu gen AB (816,41 g/ngày; 11,81 mm) và cuối cùng là kiểu gen BB (807,89 g/ngày; 11,58 mm). Ở thế hệ thứ 2, kiểu gen AA vẫn đạt chỉ tiêu cao nhất về tăng khối lượng và dày mỡ lưng, thấp nhất là lợn mang kiểu gen BB, lần lượt là 844,70 g/ngày so với 782,93 g/ngày; chênh lệch +61,77 g/ngày; 12,37 mm so với 9,62 mm; chênh lệch +2,75 mm. Tăng khối lượng và dày mỡ lưng có sự khác biệt giữa 02 kiểu gen AA và BB ở quần thể lợn Duroc ($p < 0,05$). Kết luận đa hình gen *PITI* có mối liên kết chặt với tăng khối lượng và dày mỡ lưng ở cả 2 thế hệ ($p < 0,05$). Tăng khối lượng và dày mỡ lưng đạt cao nhất ở lợn mang kiểu gen AA ở cả 2 thế hệ: Thế hệ 1 là 833,1 g/ngày; 12,42 mm, thế hệ 2 là 844,70 g/ngày; 12,37 mm.

3.3.3. Mối liên kết của gen *GH* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng

Khả năng sinh trưởng của lợn Duroc theo kiểu gen *GH* được trình bày qua bảng 3.4.

Bảng 3.4. Mối liên kết của kiểu gen *GH* với các chỉ tiêu sinh trưởng

Thế hệ	Chỉ tiêu	AA		AG		GG		p
		n	LSM±SE	n	LSM±SE	n	LSM±SE	
1	KLbđKT (kg)	75	32,05±0,47	252	31,75±0,29	173	31,89±0,33	0,82
	KLktKT (kg)	75	95,73 ^{ab} ±1,10	252	94,23 ^b ±0,69	173	96,52 ^a ±0,79	0,03
	TKL (g/ngày)	75	818,34 ^{ab} ±10,13	252	809,00 ^b ±6,37	173	832,33 ^a ±7,27	0,01
	DML (mm)	75	12,57^a±0,30	252	12,02 ^{ab} ±0,19	173	11,48 ^b ±0,22	0,00
2	KLbđKT (kg)	78	30,37±0,34	82	29,49±0,34	30	30,40±0,51	0,10
	KLktKT (kg)	78	92,31 ^b ±1,19	82	95,24 ^b ±1,18	30	101,90 ^a ±1,78	0,00
	TKL (g/ngày)	78	835,74 ^a ±10,15	82	788,50 ^b ±10,10	30	839,93^a±15,16	0,00
	DML (mm)	78	12,09^a±0,39	82	11,34 ^{ab} ±0,39	30	9,97 ^b ±0,59	0,01

Trong cùng chỉ tiêu, các giá trị LSM mang chữ cái khác nhau, sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Đa hình gen *GH* có mối liên kết với tăng khối lượng, dày mỡ lưng trong quần thể lợn Duroc ở cả 2 thế hệ nghiên cứu ($p < 0,05$). Lợn mang kiểu gen GG có tốc độ tăng khối lượng cao nhất ở thế hệ thứ 1 và thứ 2 lần lượt là 832,33 g/ngày; 839,93 g/ngày, thấp nhất là lợn mang kiểu gen AG 809,00 g/ngày; 788,50 g/ngày. Tăng khối lượng có sự khác biệt giữa 2 kiểu gen GG và AG ở quần thể lợn Duroc ($p < 0,05$). Đa hình gen *GH* có liên quan chặt chẽ với tính trạng dày mỡ lưng ($p < 0,05$) ở cả 2 thế hệ. Dày mỡ lưng cao nhất ở lợn mang kiểu gen AA, thấp nhất ở kiểu gen GG ở cả 2 thế hệ. Lợn mang kiểu gen AA (12,57 mm); AG (12,02 mm); GG (11,48 mm) ở thế hệ thứ 1. Ở thế hệ thứ 2, dày mỡ lưng của các kiểu gen AA; AG; GG lần lượt là (12,09 mm; 11,34 mm; 9,97 mm). Dày mỡ lưng có sự khác biệt giữa 2 kiểu gen AA và GG ở quần thể lợn Duroc ($p < 0,05$). Đa hình gen *GH* có mối liên kết chặt với tăng khối lượng và dày mỡ lưng ở cả 2 thế hệ ($p < 0,05$). Lợn mang kiểu gen GG có tăng khối lượng cao nhất ở thế hệ thứ 1 và thứ 2 lần lượt là 832,33 g/ngày; 839,93 g/ngày. Dày mỡ lưng cao nhất ở lợn mang kiểu gen AA ở thế hệ 1 và 2 lần lượt là 12,57 mm; 12,09 mm.

3.3.4. Mối liên kết của gen *LEP* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng

Kết quả phân tích mối liên kết giữa các điểm đa hình với các chỉ tiêu sinh trưởng của lợn Duroc được thể hiện ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Mối liên kết của kiểu gen *LEP* với các chỉ tiêu sinh trưởng

Thế hệ	Chỉ tiêu	TT		CT		p
		n	LSM±SE	n	LSM±SE	
1	KLbdKT (kg)	479	32,40±0,23	21	34,07±0,88	0,06
	KLktKT (kg)	479	95,09 ^b ±0,57	21	100,59 ^a ±2,20	0,01
	TKL (g)	479	817,13 ^b ±5,31	21	870,65^a±20,24	0,01
	DML (mm)	479	12,92±0,61	21	11,89±0,16	0,09
2	KLbdKT (kg)	177	29,93±0,26	11	30,78±0,78	0,31
	KLktKT (kg)	177	94,05 ^b ±0,95	11	102,72 ^a ±2,87	0,00
	TKL (g/ngày)	177	807,44 ^b ±7,75	11	884,23^a±23,42	0,00
	DML (mm)	177	11,31±0,31	11	11,40±0,94	0,93

Trong cùng chỉ tiêu, các giá trị LSM mang chữ cái khác nhau, sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Nghiên cứu mối liên kết của đa hình gen *LEP* với tăng khối lượng cho thấy, đa hình gen *LEP* có mối liên kết với tăng khối lượng ($p < 0,05$). Kết quả phân tích mối liên kết của đa hình gen *LEP* với tăng khối lượng cho thấy lợn mang kiểu gen CT có tăng khối lượng cao hơn lợn mang kiểu gen TT lần lượt là 870,65 g/ngày so với 817,13 g/ngày ở thế hệ 1; ở thế hệ 2 là 884,23 g/ngày so với 807,44 g/ngày. Trong nghiên cứu này không tìm thấy mối liên kết giữa đa hình gen *LEP* và tính trạng dày mỡ lưng. Trong một nghiên cứu của Hirose và cs. (2014), kết quả cũng cho thấy không có mối liên kết ý nghĩa giữa đa hình gen *LEP* với tính trạng tăng khối lượng cũng như dày mỡ lưng ($p > 0,05$). Như vậy, nghiên cứu cho thấy đa hình gen *LEP* có mối liên kết chặt với tăng khối lượng ở cả 2 thế hệ ($p < 0,05$) của giống lợn Duroc nuôi tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhận Dabaco. Lợn mang kiểu gen CT có tăng khối lượng cao hơn so với lợn mang kiểu gen TT, lần lượt là 870,65 g/ngày so với 817,13 g/ngày ở thế hệ 1 và 884,23 g/ngày so với 807,44 g/ngày ở thế hệ 2. Không có mối liên kết nào được tìm thấy giữa đa hình gen *LEP* với dày mỡ lưng ở cả 2 thế hệ ($p > 0,05$).

3.3.5. Mối liên kết của gen *PIK3C3* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng

Kết quả phân tích mối liên kết giữa các điểm đa hình với các chỉ tiêu sinh trưởng của lợn Duroc được thể hiện ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Mối liên kết của kiểu gen *PIK3C3* với các chỉ tiêu sinh trưởng

Chỉ tiêu	TT	CT	CC	p
	(n = 61)	(n = 259)	(n = 180)	
	LSM ± SE	LSM ± SE	LSM ± SE	
KLbdKT (kg)	32,26 ± 0,48	32,14 ± 0,28	32,37 ± 0,32	0,82
KLktKT (kg)	96,29 ± 1,18	94,65 ± 0,70	95,71 ± 0,9	0,27
TKL (g/ngày)	829,00 ± 10,90	812,72 ± 6,44	822,71 ± 7,32	0,23
DML(mm)	11,53 ± 0,33	11,93 ± 0,19	12,04 ± 0,22	0,37

Trong cùng chỉ tiêu, các giá trị LSM mang chữ cái khác nhau, sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Khi đánh giá mối liên kết của đa hình gen *PIK3C3* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng ở thế hệ 1, kết quả cho thấy không có mối liên kết nào được tìm thấy giữa đa hình C2604T với tăng khối lượng cũng như dày mỡ lưng ($p>0,05$). Do vậy, đa hình gen *PIK3C3* được khảo sát ở thế hệ 1, không tiến hành khảo sát ở thế hệ thứ 2.

3.3.6. Năng suất sinh sản và mối liên kết giữa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* với tính trạng sinh sản

3.3.6.1. Năng suất sinh sản của lợn nái Duroc

Nghiên cứu được tiến hành trên 104 lợn nái Duroc theo dõi năng suất sinh sản từ thế hệ thứ 1 đến thế hệ thứ 6, tổng số 445 ổ đẻ. Kết quả được thể hiện qua bảng 3.7.

Bảng 3.7. Năng suất sinh sản của lợn nái Duroc

Tính trạng	n	Mean \pm SE	CV(%)
Số con sơ sinh/ổ (con)	445	10,97 \pm 0,08	15,71
Số con sơ sinh sống/ổ (con)	445	9,96 \pm 0,07	15,67
Số con để nuôi/ổ (con)	445	9,49 \pm 0,07	15,34
Số con cai sữa/ổ (con)	445	9,23 \pm 0,07	16,90
Tỷ lệ sơ sinh sống (%)	445	91,15 \pm 0,39	8,99
Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa (%)	445	97,30 \pm 0,39	8,34
KL sơ sinh/ổ (kg)	445	14,03 \pm 0,12	18,20
KL cai sữa/ổ (kg)	445	62,61 \pm 0,56	18,95

Kết quả bảng 3.7 cho thấy lợn nái Duroc có số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con để nuôi/ổ và số con cai sữa/ổ của lợn nái Duroc lần lượt là 10,97; 9,96; 9,49 và 9,23 con. Các chỉ tiêu khối lượng sơ sinh/ổ, khối lượng cai sữa/ổ của lợn nái Duroc trong nghiên cứu này là 14,03 kg; 62,61 kg; tỷ lệ sơ sinh sống, tỷ lệ sống đến cai sữa lần lượt là 91,15%, 97,30%.

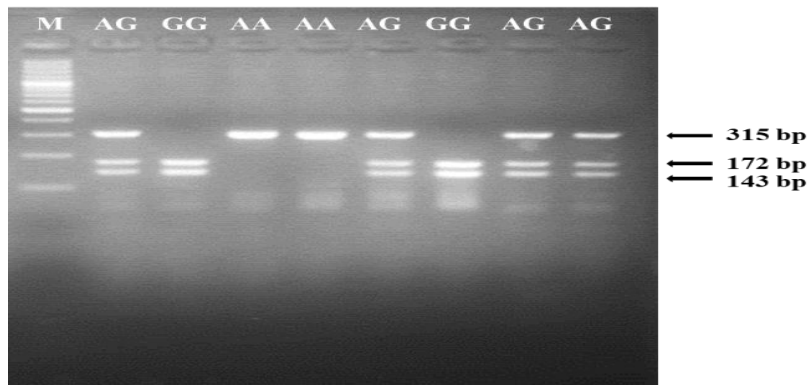
3.3.6.2. Mối liên kết giữa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* với tính trạng sinh sản

Đa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* không có mối liên kết với các chỉ tiêu sinh sản như số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con để nuôi/ổ, số con cai sữa/ổ, tỷ lệ sơ sinh sống, tỷ lệ sống đến cai sữa, khối lượng sơ sinh/ổ ($p>0,05$). Ngoại trừ, đa hình gen *MC4R*, còn lại các đa hình gen không có mối liên kết với chỉ tiêu về khối lượng cai sữa/ổ.

3.4. ĐA HÌNH GEN *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* VÀ *PLIN2*

Với các cặp mồi được thiết kế đặc hiệu và các điều kiện phản ứng PCR đã được chuẩn hóa, các đoạn ADN có chứa các điểm đa hình quan tâm trên các gen nghiên cứu (*ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* và *PLIN2*) đã được nhân bản đặc hiệu. Sản phẩm PCR của gen ứng viên được cắt bằng enzyme đặc hiệu. Kết quả cho thấy:

Sản phẩm PCR của gen *ADRB3* được cắt bằng enzyme *TaqI* tạo nên ba kiểu gen khác nhau (AA, AG và GG). Kiểu gen AA có 1 băng duy nhất tương ứng kích thước 315 bp; kiểu gen AG có 3 băng tương ứng với kích thước 143 bp, 172 bp và 315 bp; kiểu gen GG có 2 băng tương ứng với kích thước 143 bp và 172 bp. Ba kiểu gen AA, AG và GG có tần số kiểu gen tương ứng là 7,0%, 63% và 30%, với kiểu gen AG có tần số kiểu gen cao nhất. Tần số alen A được tìm thấy là 0,40 và tần số alen G là 0,60.

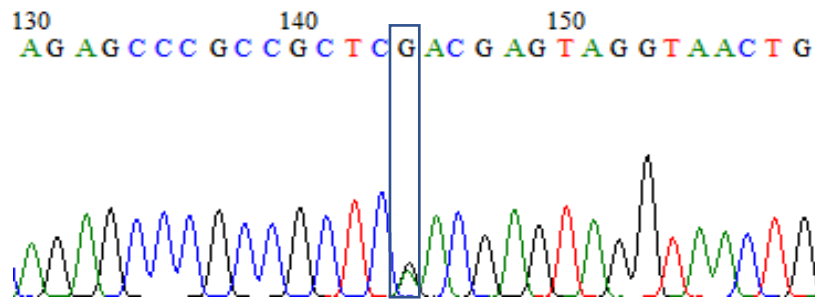


Hình 3.10. Phổ điện di phân tích đa hình gen *ADRB3* bằng enzyme *TaqI*

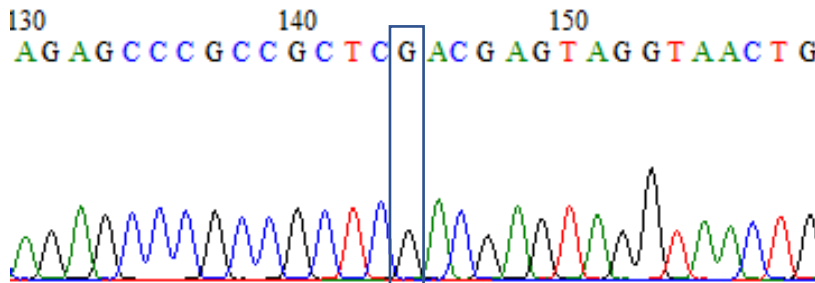
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự đa hình gen *ADRB3* được thể hiện ở hình 3.11.

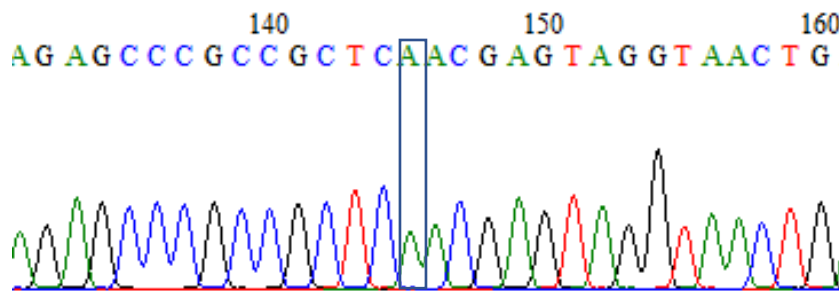
Kiểu gen AG



Kiểu gen GG

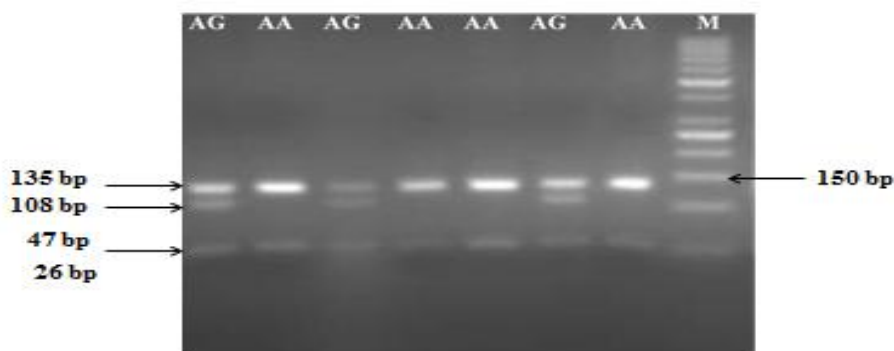


Kiểu gen AA



Hình 3.11. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *ADRB3*

Trong quần thể lợn Duroc nghiên cứu đa hình đoạn gen *ACSL4* có 2 kiểu gen là kiểu gen đồng hợp AA (135 bp và 47 bp) và kiểu gen dị hợp AG (135 bp, 108 bp, 47 bp và 26 bp). Trong đó, kiểu gen AA (92%) có tỷ lệ cao hơn rất nhiều so với kiểu gen AG (8,0%). Các alen A và G có tần số lần lượt là 0,95 và 0,05.

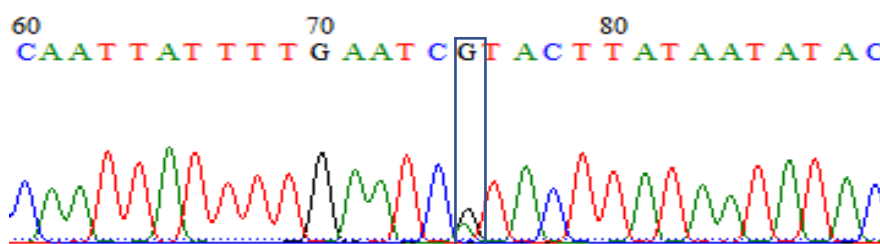


Hình 3.12. Phổ điện di phân tích đa hình gen *ACSL4* bằng enzyme *RsaI*

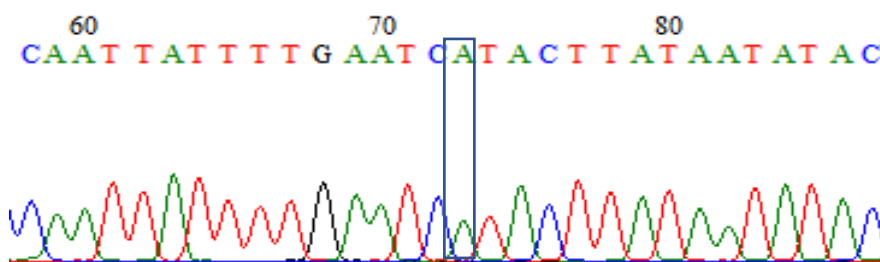
M: thang ADN chuẩn 50 bp

Giải trình tự đa hình gen *ACSL4* được thể hiện ở hình 3.13.

Kiểu gen AG



Kiểu gen AA



Hình 3.13. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *ACSL4*

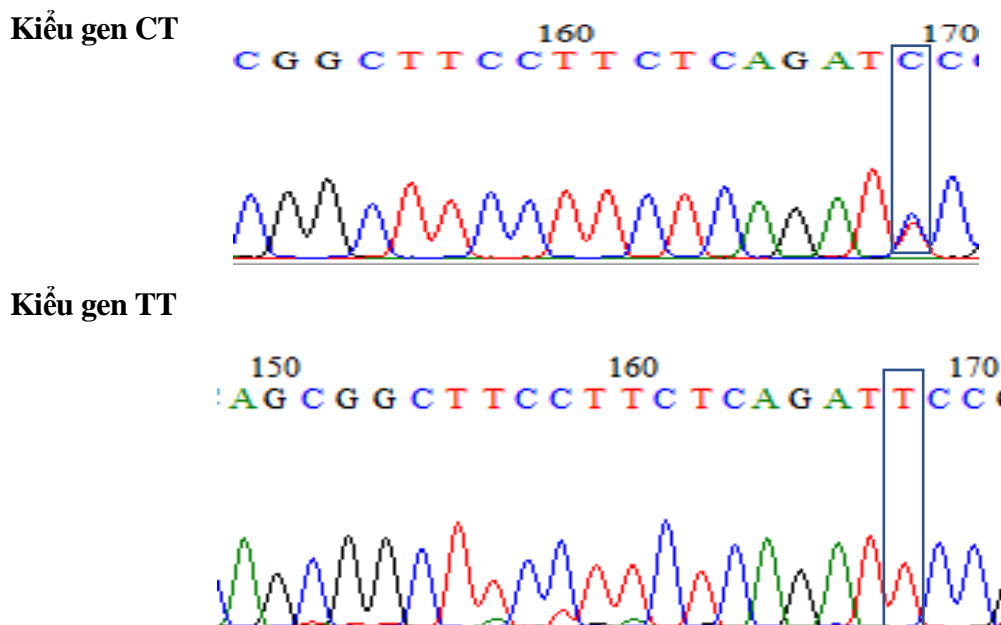
Chúng tôi quan sát đa hình đoạn gen *FABP3* (*HinfI*) có hai kiểu cắt giới hạn dựa vào kích thước của các băng điện di là kiểu gen CT (6 vạch 339 bp, 231 bp, 172 bp, 98 bp, 59 bp và 25 bp), kiểu gen TT (5 vạch 339 bp, 172 bp, 98 bp, 59 bp và 25 bp). Gen *FABP3* tại điểm đa hình 5'- UTR c.-314 T>C được phát hiện bởi enzyme giới hạn *HinfI* cho 2 kiểu gen TT và CT. Alen C xuất hiện với tần số rất thấp 0,04. Alen T xuất hiện phổ biến với tần số 0,96.



Hình 3.14. Phổ điện di phân tích đa hình gen *FABP3* bằng enzyme *HinfI*

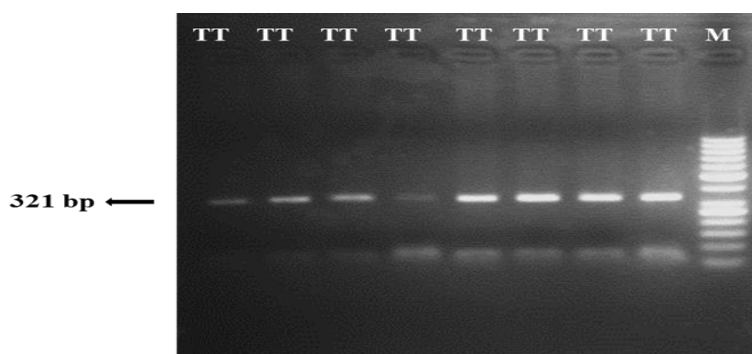
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự đa hình gen *FABP3* (*HinfI*) được thể hiện ở hình 3.15.



Hình 3.15. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *FABP3* (*HinfI*)

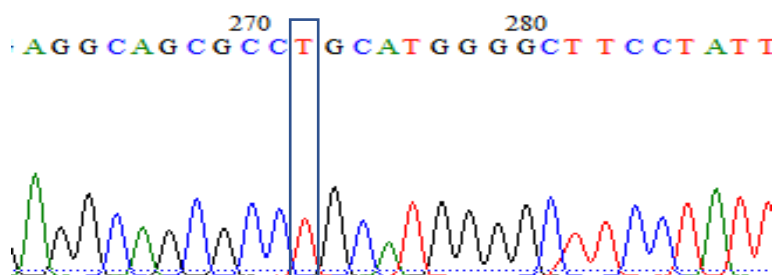
Sản phẩm PCR của gen *FABP3* (*BsrFI*) được cắt bằng enzyme *BsrFI*. Kết quả phân tích trên quần thể nghiên cứu chỉ thu được 1 kiểu gen TT tương ứng với 1 băng điện di là 321 bp. Trong quần thể lợn Duroc nghiên cứu xuất hiện 100% kiểu gen TT. Do đó, việc phân tích mối liên kết giữa đa hình *FABP3* (*BsrFI*) với tỷ lệ mỡ giết không được tiến hành ở nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3.16. Phổ điện di phân tích đa hình gen *FABP3* bằng enzyme *BsrFI*

M: thang ADN chuẩn 50 bp

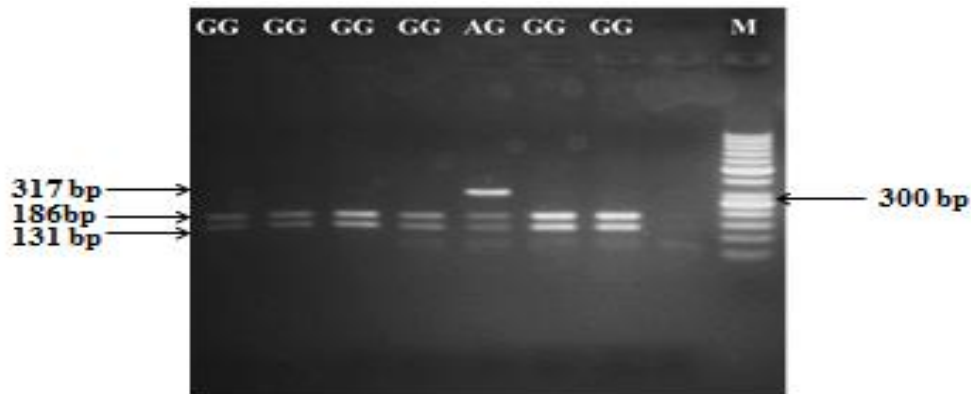
Giải trình tự đa hình gen *FABP3* (*BsrFI*) được thể hiện ở Hình 3.17.



Hình 3.17. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *FABP3* (*BsrFI*)

Sản phẩm PCR của gen *PLIN2* được cắt bằng enzyme *MvaI*269I. Trong quần thể nghiên cứu chúng tôi thấy có 2 kiểu gen AG và GG. Kiểu gen AG có 3 băng tương ứng kích thước 131 bp, 186

bp, 317 bp; kiểu gen GG có 2 băng tương ứng với kích thước 131 bp và 186 bp. Trong quần thể lợn Duroc nghiên cứu xuất hiện 2 kiểu gen AG và GG, trong đó kiểu gen GG có tần số rất cao 0,93 so với tần số kiểu gen AG là 0,07.

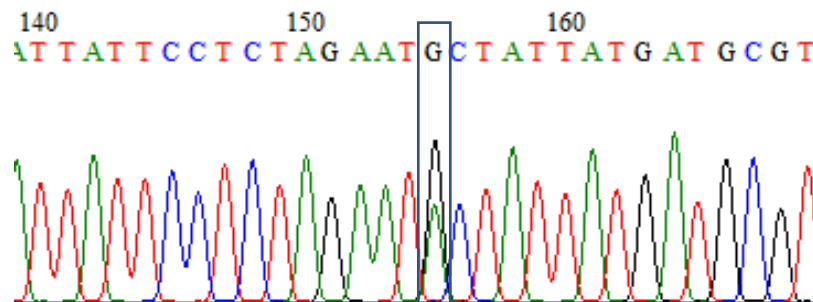


269I

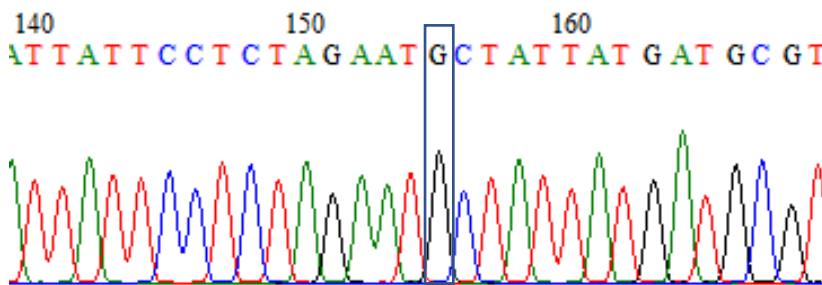
M: thang ADN chuẩn 50 bp

Giải trình tự đa hình gen *PLIN2* được thể hiện ở hình 3.19.

Kiểu gen AG



Kiểu gen GG



Hình 3.19. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *PLIN2*

3.5. MỐI LIÊN KẾT GIỮA ĐA HÌNH CỦA GEN *ACSL4*, *ADRB3*, *PLIN2* VÀ *FABP3* (*HinfI*) VỚI TỶ LỆ MỠ GIẤT

3.5.1. Mối liên kết của gen *ACSL4* với tỷ lệ mỡ giắt

Kết quả phân tích mối liên kết giữa các điểm đa hình với tỷ lệ mỡ giắt của lợn Duroc được thể hiện ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Mối liên kết của gen *ACSL4* với tỷ lệ mỡ giắt

Gen	Kiểu gen	Mỡ giắt		p
		n	LSM ± SE	
<i>ACSL4</i>	AA	183	2,84 ± 0,05	0,10
	AG	17	2,63 ± 0,13	

Kết quả bảng 3.8 cho thấy, trong nghiên cứu này, đa hình gen *ACSL4* không có mối liên kết với tỷ lệ mỡ giết ($p>0,05$). Đa hình gen *ACSL4/RsaI* ở quần thể lợn Duroc có 2 kiểu gen AA và AG với tỷ lệ mỡ giết là 2,84/2,63. Lợn Duroc mang kiểu gen AA có xu hướng có tỷ lệ mỡ giết cao hơn lợn có kiểu gen AG.

Điều này trái với công bố của Rusć và cs. (2011) chứng minh rằng đa hình *ACSL4/RsaI* liên kết với tỷ lệ mỡ giết ở con lai DLY. Lợn có kiểu gen GG có hàm lượng mỡ giết cao nhất (2,47%). Trong nghiên cứu của Chen và cs., 2014, đa hình *ACSL4/RsaI* được tìm thấy ở các giống lợn Duroc, Landrace, Yorkshire và dòng lợn lai DLY, và mối liên kết được hình thành giữa đa hình gen *ACSL4/RsaI* với tỷ lệ mỡ giết. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu chỉ ra mối liên kết này chỉ có ý nghĩa trên các giống lợn ngoại và mối liên kết giữa gen *ACSL4* với tỷ lệ mỡ giết không được tìm thấy trên giống lợn nội Trung Quốc.

3.5.2. Mối liên kết của gen *ADBR3* với tỷ lệ mỡ giết

Kết quả phân tích mối liên kết giữa các điểm đa hình với tỷ lệ mỡ giết của lợn Duroc được thể hiện ở bảng 3.9.

Bảng 3.9. Mối liên kết của gen *ADBR3* với tỷ lệ mỡ giết

Gen	Kiểu gen	Mỡ giết		P
		n	LSM ± SE	
<i>ADBR3</i>	AA	15	2,59 ± 0,16	0,17
	AG	125	2,82 ± 0,05	
	GG	60	2,90 ± 0,07	

Gen *ADBR3* có 03 kiểu gen AA, AG, GG, trong đó lợn mang kiểu gen GG (2,90) có tỷ lệ mỡ giết là cao nhất, thấp nhất là lợn mang kiểu gen AA (2,59) và lợn mang kiểu gen dị hợp AG cho tỷ lệ mỡ giết là 2,82. Kết quả sau khi phân tích thống kê chỉ ra không có mối liên kết giữa đa hình gen *ADRB3* với tính trạng tỷ lệ mỡ giết ($p>0,05$).

Kết quả này tương tự như công bố của Cieslak và cs. (2009) chỉ ra trên nhiều đàn lợn khác nhau như lợn Yorkshire, Landrace, Duroc, Pietrain và Hampshire, cũng không tìm thấy mối liên kết giữa gen *ADRB3* với các tính trạng năng suất như dày mỡ lưng hay khối lượng mỡ bụng. Tương tự kết quả đó, Wang và cs., 2013 nghiên cứu trên đàn lợn thương phẩm Duroc x Shanzhu, các dữ liệu tỷ lệ mỡ giết và các thành phần axit béo được thu thập và nghiên cứu nhằm tìm ra mối tương quan giữa các tính trạng này với sự biểu hiện ở cấp độ mRNA của các gen ứng viên *AdPLA*, *ADRB3*, *LEPR*, *MC4R*, *PPARγ*, *PPARα*, *LPL*, *PEPCK* và *SCD*. Kết quả khi nghiên cứu về gen *ADRB3* cho thấy, gen này không có mối tương quan nào đối với tính trạng tỷ lệ mỡ giết và các thành phần axit béo trên đàn lợn thí nghiệm ($p>0,05$).

Tuy nhiên, ngược lại, Xue và cs., 2015 khi nghiên cứu 440 lợn lai thương phẩm Shanzhu × Duroc, chứng minh gen *ADRB3* có mối tương quan với tính trạng tỷ lệ mỡ giết, trong đó kiểu gen dị hợp tử AG cho tỷ lệ mỡ giết cao hơn kiểu gen đồng hợp tử AA và GG ($p<0,05$).

3.5.3. Mối liên kết của gen *PLIN2* với tỷ lệ mỡ giết

Kết quả phân tích mối liên kết giữa các điểm đa hình với tỷ lệ mỡ giết của lợn Duroc được thể hiện ở bảng 3.10.

Bảng 3.10. Mối liên kết của gen *PLIN2* với tỷ lệ mỡ giết

Gen	Kiểu gen	Mỡ giết		p
		n	LSM ± SE	
<i>PLIN2</i>	AG	13	2,66 ± 0,14	0,22
	GG	187	2,85 ± 0,05	

Gen *PLIN2* đóng vai trò điều hòa quá trình dự trữ và huy động các giọt lipid nội bào. Một số nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm kiếm các điểm đa hình trên gen *PLIN2*, tuy nhiên tần số của các đa hình này ở các giống lợn châu Âu thấp hơn ở các giống lợn châu Á (Kim và cs., 2005).

Nghiên cứu của chúng tôi thấy rằng đa hình gen *PLIN2* không có mối liên kết với tỷ lệ mỡ giết ($p > 0,05$). Quần thể lợn nghiên cứu xuất hiện 2 kiểu gen AG và GG trong đó kiểu gen GG (2,85) có tỷ lệ mỡ giết cao hơn kiểu gen AG (2,66) (bảng 3.10). Điểm đa hình này cũng được tìm thấy trên các giống lợn Duroc, Landrace, Pietrain và Belgian Landrace. Kết quả cho thấy tần số alen G cao hơn tần số alen A và nghiên cứu cũng chỉ ra không có mối liên kết giữa đa hình tại điểm g.184G/A với tỷ lệ mỡ giết (Davoli và cs., 2011).

3.5.4. Mối liên kết của gen *FABP3* (*HinfI*) với tỷ lệ mỡ giết

Kết quả phân tích mối liên kết giữa các điểm đa hình với tỷ lệ mỡ giết của lợn Duroc được thể hiện ở bảng 3.11.

Bảng 3.11. Mối liên kết của gen *FABP3* (*HinfI*) với tỷ lệ mỡ giết

Gen	Kiểu gen	Mỡ giết		p
		n	LSM ± SE	
<i>FABP3</i> (<i>HinfI</i>)	CT	15	2,62 ± 0,05	0,10
	TT	185	2,84 ± 0,14	

Đa hình gen *FABP3* (*HinfI*) xuất hiện 2 kiểu gen CT và TT. Lợn mang kiểu gen TT có xu hướng có tỷ lệ mỡ giết cao hơn lợn mang kiểu gen CT (2,84 so với 2,62). Tuy nhiên, hai điểm đa hình này không có mối liên kết với tỷ lệ mỡ giết trong quần thể Duroc nghiên cứu ($p > 0,05$).

Kết quả tương tự được tìm thấy trên quần thể lợn lai kinh tế Shanzhu x Duroc, đa hình gen *FABP3* được xác định bởi enzyme *HinfI* cũng gồm 2 kiểu gen TT và CC, đồng thời cũng không có mối liên kết nào với tỷ lệ mỡ giết ($p > 0,05$) (Xue và cs., 2015).

Kết quả này khác với các nghiên cứu của (Pang và cs., 2006; Lee và cs., 2010; Li và cs., 2010; Han và cs., 2012). Theo nghiên cứu của Tyra và cs., 2011 trên 5 giống lợn Duroc, Pietrain, Puławska, Polish Large White (PLW) và Polish Landrace (PL), đa hình gen *FABP3* có mối liên quan đến tỷ lệ mỡ giết.

Chen và cs. (2014) nghiên cứu trên 6 quần thể lợn, bao gồm 2 giống lợn bản địa của Trung Quốc (Yanan và Jinhua), 3 giống lợn ngoại (Duroc, Landrace và Yorkshire) và 1 giống lợn lai DLY, đa hình đơn nucleotit trên gen *FABP3* được phát hiện bằng enzyme cắt giới hạn *HinfI* cho thấy rằng, locus *FABP3/HinfI* có mối liên kết với tỷ lệ mỡ giết 2/6 giống lợn nghiên cứu là giống lợn DLY và Yanan.

Chúng tôi nhận thấy rằng đa hình gen của các gen ứng viên trong nghiên cứu của chúng tôi có kết quả tương tự như các nghiên cứu trước đây. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa xác định được mối liên kết có ý nghĩa giữa các đa hình gen ứng viên với tính trạng tỷ lệ mỡ giết. Điều này có thể do quần thể nghiên cứu nhỏ, độ đa dạng kiểu gen của quần thể chưa cao, trong đó có 3 điểm đa hình

FABP3/HinfI, *PLIN2/Mva1269I* và *ACSL4/RasI* có hai kiểu gen và đa hình *FABP3/BsrFI* chỉ có một kiểu gen đã dẫn đến tần số một số alen quá thấp trong quần thể không phù hợp để đánh giá mối liên kết.

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ mỡ giết trên lợn Duroc tương tự với nghiên cứu đã công bố của Lê Trọng Đại và cs. (2014) khảo sát tỷ lệ mỡ giết trên các giống lợn thuần Duroc cho thấy tỷ lệ mỡ giết cao nhất ở giống Duroc là 2,98%. Khi tăng mức khối lượng giết mổ từ 95 - 110 kg lên 111 - 125 kg, tỷ lệ mỡ giết tăng lên rất đáng kể. Đồng thời, những lợn đực thiến có tỷ lệ mỡ giết cao hơn so với lợn cái.

3.6. CHỌN LỌC ĐÀN LỢN DUROC THEO HƯỚNG TĂNG KHỐI LƯỢNG DỰA TRÊN KIỂU GEN

Từ kết quả phân tích mối liên kết của một số gen ứng viên, nghiên cứu tiến hành chọn lọc đàn lợn theo hướng tăng khối lượng mang đồng thời 2 kiểu gen AA (gen *MC4R*) và AA (gen *PIT1*). Khả năng sinh trưởng lợn mang những kiểu gen này được theo dõi, đánh giá qua 2 thế hệ chọn lọc.

Khả năng sinh trưởng của lợn Duroc thế hệ 1 và thế hệ 2 sau khi được chọn lọc mang đồng thời kiểu gen AA (*MC4R*) và kiểu gen AA (*PIT1*) được thể hiện ở bảng 3.26.

Bảng 3.26. Khả năng sinh trưởng của lợn Duroc thế hệ 1 mang đồng thời hai kiểu gen AA (gen *MC4R*) và AA (gen *PIT1*)

Chỉ tiêu	Thế hệ 1		Thế hệ 2	
	n	Mean ± SE	n	Mean ± SE
KLbđKT (kg)	60	29,45 ± 0,17	120	29,03 ± 0,15
KLkt KT (kg)	60	97,18 ± 0,16	120	102,24 ± 0,27
TKL (g/ngày)	60	962,37 ± 3,47	120	1015,00 ± 4,28
DML (mm)	60	11,00 ± 0,01	120	10,78 ± 0,03

Trong cùng một chỉ tiêu, các giá trị Mean mang chữ cái khác nhau, sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Qua bảng 3.26 cho thấy, lợn Duroc thế hệ 1 mang đồng thời hai kiểu gen AA (gen *MC4R*) và AA (gen *PIT1*) có các chỉ tiêu về khả năng sinh trưởng đạt mức cao với tăng khối lượng đạt 962,37 g/ngày. Lợn Duroc thế hệ 1 mang đồng thời hai kiểu gen AA (gen *MC4R*) và AA (gen *PIT1*) có chỉ tiêu tăng khối lượng đạt cao hơn so với tiêu chuẩn đối với lợn ngoại giống gốc quy định tại quyết định số 675/QĐ-CN-BNN (2014) của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn quy định về mức độ tăng trọng ở lợn (≥ 800 g/ngày). So khả năng tăng khối lượng/ngày của quần thể trước khi chọn lọc (809,04 g/ngày) thì ở thế hệ thứ 1 cao hơn rõ rệt (962,37 g/ngày).

Kết quả đánh giá về khả năng sinh trưởng của lợn Duroc chọn lọc thế hệ 2, đề tài đã lựa chọn được 120 lợn Duroc (20 lợn đực và 100 lợn cái) mang đồng thời hai kiểu gen AA của gen *MC4R*, AA của gen *PIT1* có khả năng sinh trưởng cao nhất, tăng khối lượng trung bình đạt 1015,00 g/ngày.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết luận

1. Các gen ứng viên *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *PIK3C3* và *ADRB3* có tính đa hình cao với 3 kiểu gen được xác định; gen *LEP*, *ACSL4*, *FABP3* (*HinfI*) có tính đa hình trung bình với 2 kiểu gen; gen *FABP3* (*BsrFI*) không đa hình với 1 kiểu gen duy nhất ở quần thể lợn Duroc nuôi tại công ty TNHH lợn giống hạt nhận Dabaco

2. Đa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH* có mối liên kết chặt với tính trạng tăng khối lượng và dày mỡ lưng ở cả 2 thế hệ. Đa hình gen *LEP* có mối liên kết chặt với tính trạng tăng khối lượng ở cả 2 thế hệ nhưng không có mối liên kết với tính trạng dày mỡ lưng. Đa hình gen *PIK3C3* không có mối liên kết với tăng khối lượng và dày mỡ lưng.

3. Đa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* không có mối liên kết với tính trạng sinh sản. Do vậy, việc sử dụng các gen ứng viên này trong chọn giống theo hướng tăng khối lượng và độ dày mỡ lưng sẽ không ảnh hưởng đến tính trạng sinh sản.

4. Đa hình gen *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* (*HinfI*) và *PLIN2* không có mối liên kết với tỷ lệ mỡ giết trong quần thể lợn Duroc nghiên cứu.

5. Bước đầu đã chọn lọc dòng lợn Duroc (100 cái và 20 đực) mang đồng thời kiểu gen AA của gen *MC4R* và AA của gen *PIT1* ở thế hệ 1 tăng khối lượng là 962,37 g/ngày; ở thế hệ thứ 2 tăng khối lượng là 1015,00 g/ngày.

Đề nghị

Đề nghị sử dụng lợn Duroc mang kiểu gen AA của gen *MC4R*, kiểu gen AA của gen *PIT1*, kiểu gen GG của gen *GH* và kiểu gen CT của gen *LEP* vì có sinh trưởng nhanh và sử dụng các kiểu gen của các gen đó trong chương trình chọn giống để cải thiện tăng khối lượng ở lợn Duroc.