

**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  
GIÁT Ở LỢN DUROC**

**NGÀNH: Di truyền và Chọn giống vật nuôi**

**MÃ SỐ: 9 62 01 08**

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC**

**1. TS. Phạm Doãn Lân**

**2. TS. Đoàn Văn Soạn**

**HÀ NỘI, 2021**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi.

Các số liệu và kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác. Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm về những số liệu trong luận án này.

Nghiên cứu sinh

**Hoàng Thị Thúy**

## LỜI CẢM ƠN

Trong suốt thời gian học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án, tôi đã nhận được sự hướng dẫn, chỉ bảo tận tình của các thầy cô giáo, sự giúp đỡ, động viên của bạn bè, đồng nghiệp và gia đình.

Nhân dịp hoàn thành luận án, cho phép tôi được bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc TS. Phạm Doãn Lâm và TS. Đoàn Văn Soạn đã tận tình hướng dẫn, đưa ra nhiều ý kiến đóng góp quý báu, dành nhiều công sức, thời gian và tạo điều kiện cho tôi trong suốt quá trình học tập và thực hiện đề tài.

Tôi xin cảm ơn tới Lãnh đạo và các cán bộ Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ tế bào động vật Viện Chăn nuôi đã tạo điều kiện, hướng dẫn và giúp đỡ trong quá trình nghiên cứu để hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn tập thể cán bộ công nhân viên Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco đã tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp tôi hoàn thành tốt luận án này.

Tôi xin cảm ơn Ban Giám đốc, Phòng Khoa học, Đào tạo và Hợp tác quốc tế Viện Chăn nuôi đã tạo mọi điều kiện và giúp đỡ trong quá trình học tập nghiên cứu.

Tôi xin cảm ơn Ban Giám hiệu trường Đại học Nông - Lâm Bắc Giang đã giúp đỡ và tạo điều kiện cho tôi trong suốt quá trình học tập và thực hiện đề tài.

Xin chân thành cảm ơn gia đình, người thân, bạn bè, đồng nghiệp đã tạo mọi điều kiện thuận lợi và giúp đỡ tôi về mọi mặt, động viên khuyến khích tôi hoàn thành luận án./

Nghiên cứu sinh

**Hoàng Thị Thúy**

## MỤC LỤC

<b>LỜI CAM ĐOAN</b> .....	<b>i</b>
<b>LỜI CẢM ƠN</b> .....	<b>ii</b>
<b>MỤC LỤC</b> .....	<b>iii</b>
<b>DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT</b> .....	<b>vi</b>
<b>DANH MỤC BẢNG</b> .....	<b>vii</b>
<b>DANH MỤC HÌNH</b> .....	<b>viii</b>
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<b>1</b>
1. TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI.....	1
2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU.....	3
2.1. Mục tiêu chung .....	3
2.2. Mục tiêu cụ thể .....	3
3. Ý NGHĨA KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN .....	3
4. ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN .....	4
<b>CHƯƠNG I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	<b>5</b>
1.1. CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU.....	5
1.1.1. Chọn lọc giống vật nuôi dựa vào sự hỗ trợ của gen ứng viên và chỉ thị di truyền .....	5
1.1.2. Một số phương pháp nghiên cứu đa hình di truyền .....	7
1.1.3. Đặc điểm giống lợn Duroc .....	16
1.2. ĐẶC ĐIỂM CỦA CÁC GEN ỨNG VIÊN.....	18
1.2.1. Bộ gen của lợn.....	18
1.2.2. Gen <i>MC4R</i> (Manocortin-4 Receptor).....	19
1.2.3. Gen <i>PIT1</i> (Pituitary-specific transcription factor) .....	19
1.2.4. Gen <i>GH</i> (Growth hormone) .....	21
1.2.5. Gen <i>LEP</i> (Leptin) .....	22
1.2.6. Gen <i>PIK3C3</i> (Class 3 phosphoinositide-3-kinase) .....	24
1.2.7. Gen <i>FABP3</i> (Fatty acid binding protein) .....	24

1.2.9. Gen <i>PLIN2</i> (Perilipin 2) .....	26
1.2.10. Gen <i>ACSL4</i> (Acyl coA synthetase) .....	27
1.3. MỠ GIẤT VÀ VAI TRÒ CỦA MỠ GIẤT.....	28
1.3.1. Khái niệm mỡ giết .....	28
1.3.2. Lợi ích cung cấp từ mỡ giết.....	29
1.4. KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA LỢN VÀ CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG .....	31
1.4.1. Các chỉ tiêu đánh giá khả năng sinh trưởng .....	31
1.4.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng.....	32
1.5. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC .....	35
1.5.1. Tình hình nghiên cứu trong nước .....	35
1.5.2. Tình hình nghiên cứu ngoài nước.....	40
<b>CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>45</b>
2.1. ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU.....	45
2.2. THỜI GIAN NGHIÊN CỨU.....	45
2.3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU .....	45
2.4. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	45
2.4.1. Đánh giá khả năng sinh trưởng của lợn Duroc.....	45
2.4.2. Phương pháp phân tích đa hình di truyền các gen ứng viên .....	46
2.4.3. Môi liên kết giữa đa hình gen <i>MC4R</i> , <i>PIT1</i> , <i>GH</i> , <i>LEP</i> và <i>PIK3C3</i> với tăng khối lượng và dày mỡ lưng.....	51
2.4.4. Năng suất sinh sản và môi liên kết của các đa hình gen <i>MC4R</i> , <i>PIT1</i> , <i>GH</i> , <i>LEP</i> và <i>PIK3C3</i> với tính trạng sinh sản .....	52
2.4.5. Môi liên kết giữa đa hình gen <i>ADRB3</i> , <i>ACSL4</i> , <i>FABP3</i> và <i>PLIN2</i> với tính trạng mỡ giết.....	53
2.4.6. Chọn lọc đàn lợn Duroc theo hướng tăng khối lượng dựa trên kiểu gen	55
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>56</b>
3.1. KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA LỢN DUROC.....	56

3.2. ĐA HÌNH GEN <i>MC4R</i> , <i>PIT1</i> , <i>GH</i> , <i>LEP</i> VÀ <i>PIK3C3</i> .....	59
3.2.1. Nồng độ và độ tinh sạch của mẫu ADN.....	59
3.2.2. Nhân ADN đặc hiệu của gen <i>MC4R</i> , <i>PIT1</i> , <i>GH</i> , <i>LEP</i> và <i>PIK3C3</i> ...	60
3.2.3. Đa hình các đoạn gen <i>MC4R</i> , <i>PIT1</i> , <i>GH</i> , <i>LEP</i> và <i>PIK3C3</i> .....	62
3.3. MỐI LIÊN KẾT CỦA ĐA HÌNH GEN <i>MC4R</i> , <i>PIT1</i> , <i>GH</i> , <i>LEP</i> VÀ <i>PIK3C3</i> VỚI TĂNG KHỐI LƯỢNG, DÀY MỠ LƯNG.....	74
3.3.1. Mối liên kết của gen <i>MC4R</i> với tăng khối lượng và dày mỡ lưng....	74
3.3.2. Mối liên kết của gen <i>PIT1</i> với tăng khối lượng và dày mỡ lưng .....	78
3.3.3. Mối liên kết của gen <i>GH</i> với tăng khối lượng và dày mỡ lưng .....	80
3.3.4. Mối liên kết của gen <i>LEP</i> với tăng khối lượng và dày mỡ lưng .....	83
3.3.5. Mối liên kết của gen <i>PIK3C3</i> với tăng khối lượng và dày mỡ lưng .	86
3.3.6. Năng suất sinh sản và mối liên kết giữa hình gen <i>MC4R</i> , <i>PIT1</i> , <i>GH</i> , <i>LEP</i> với tính trạng sinh sản .....	88
3.4. ĐA HÌNH GEN <i>ADRB3</i> , <i>ACSL4</i> , <i>FABP3</i> VÀ <i>PLIN2</i> .....	96
3.4.1. Kết quả nhân ADN đặc hiệu.....	96
3.4.2. Đa hình các gen <i>ADRB3</i> , <i>ACSL4</i> , <i>FABP3</i> ( <i>HinfI</i> ), <i>FABP3</i> ( <i>BsrFI</i> ) và <i>PLIN2</i> .....	98
3.5. MỐI LIÊN KẾT GIỮA ĐA HÌNH CỦA GEN <i>ACSL4</i> , <i>ADRB3</i> , <i>PLIN2</i> VÀ <i>FABP3</i> ( <i>HinfI</i> ) VỚI TỶ LỆ MỠ GIẤT .....	108
3.5.1. Mối liên kết của gen <i>ACSL4</i> với tỷ lệ mỡ giết .....	108
3.5.2. Mối liên kết của gen <i>ADRB3</i> với tỷ lệ mỡ giết .....	108
3.5.3. Mối liên kết của gen <i>PLIN2</i> với tỷ lệ mỡ giết.....	110
3.5.4. Mối liên kết của gen <i>FABP3</i> ( <i>HinfI</i> ) với tỷ lệ mỡ giết.....	110
3.6. CHỌN LỌC ĐÀN LỢN DUROC THEO HƯỚNG TĂNG KHỐI LƯỢNG DỰA TRÊN KIỂU GEN .....	113
<b>KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ .....</b>	<b>115</b>
<b>DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN.....</b>	<b>116</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>117</b>

## DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Việt	Tiếng Anh
μl	Mi crô lít	Microliter
ADN	Axit deoxyribonucleic	Deoxyribonucleic acid
AFLP	Đa hình độ dài đoạn nhân chọn lọc	Amplified fragment length polymorphism
ARN	Axit ribonucleic	Ribonucleic acid
bp	Cặp Bazơ	Base pair
cm	Cen ti mét	Centimet
cs.	Cộng sự	et al
DLY	Duroc × (Landrace × Yorkshire)	Duroc × (Landrace × Yorkshire)
DML	Dày mỡ lưng	backfat thickness
GLM	Mô hình tuyến tính tổng quát	General Linear Model
kg	Ki lô gam	Kilogram
KLbđKT	Khối lượng bắt đầu kiểm tra	Pre-test weight
KLktKT	Khối lượng kết thúc kiểm tra	Post-test weight
LSM	Trung bình bình phương nhỏ nhất	Least Square Mean
PCR	Phản ứng khuếch đại gen	Polymerase Chain Reaction
QTL	Tính trạng số lượng	Quantitative Trait Locus
RAPD	Đa hình ADN nhân ngẫu nhiên	Random amplified polymorphism DNA
RFLP	Kỹ thuật đa hình độ dài đoạn cắt hạn chế	Restriction fragment length polymorphism
SNP	Đa hình nucleotide đơn	Single Nucleotide Polymorphism
STS	Vị trí chuỗi đánh dấu	Sequencetagged Sites
TA	Thức ăn	Food
TKL	Tăng khối lượng trung bình ngày	Average daily gain
TLMG	Tỷ lệ mỡ giết	Intramuscular fat
TTTA	Tiêu tốn thức ăn	Food consumed

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 2.1. Trình tự và thông tin các cặp mồi .....	48
Bảng 2.2. Số lứa đẻ của 104 nái Duroc .....	52
Bảng 3.1. Kết quả theo dõi kiểm tra năng suất lợn Duroc .....	56
Bảng 3.2. Tần số các kiểu gen và alen trên đoạn gen <i>MC4R</i> .....	63
Bảng 3.3. Tần số các kiểu gen và alen trên đoạn gen <i>PIT1</i> .....	65
Bảng 3.4. Tần số các kiểu gen và alen trên đoạn gen <i>GH</i> .....	68
Bảng 3.5. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen <i>LEP</i> .....	71
Bảng 3.6. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen <i>PIK3C3</i> .....	73
Bảng 3.7. Mối liên kết của kiểu gen <i>MC4R</i> với các chỉ tiêu sinh trưởng ...	74
Bảng 3.8. Mối liên kết của kiểu gen <i>PIT1</i> với các chỉ tiêu sinh trưởng.....	78
Bảng 3.9. Mối liên kết của kiểu gen <i>GH</i> với các chỉ tiêu sinh trưởng.....	81
Bảng 3.10. Mối liên kết của kiểu gen <i>LEP</i> với các chỉ tiêu sinh trưởng.....	83
Bảng 3.11. Mối liên kết của kiểu gen <i>PIK3C3</i> với các chỉ tiêu sinh trưởng.....	87
Bảng 3.12. Năng suất sinh sản của lợn nái Duroc.....	88
Bảng 3.13. Liên kết đa hình gen <i>MC4R</i> với tính trạng sinh sản .....	90
Bảng 3.14. Liên kết đa hình gen <i>PIT1</i> với tính trạng sinh sản.....	91
Bảng 3.15. Liên kết đa hình gen <i>GH</i> với tính trạng sinh sản .....	93
Bảng 3.16. Liên kết đa hình gen <i>LEP</i> với tính trạng sinh sản.....	95
Bảng 3.17. Tần số kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen <i>ADBR3</i> .....	99
Bảng 3.18. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen <i>ACSL4</i> ....	101
Bảng 3.19. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen <i>FABP3 (HinfI)</i> .	103
Bảng 3.20. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen <i>FABP3 (BsrI)</i> .	104
Bảng 3.21. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen <i>PLIN2</i> .....	106
Bảng 3.22. Mối liên kết của gen <i>ACSL4</i> với TLMG.....	108
Bảng 3.23. Mối liên kết của gen <i>ADBR3</i> với TLMG.....	109
Bảng 3.24. Mối liên kết của gen <i>PLIN2</i> với TLMG .....	110
Bảng 3.25. Mối liên kết của gen <i>FABP3 (HinfI)</i> với TLMG .....	110
Bảng 3.26. Khả năng sinh trưởng của lợn Duroc thế hệ 1,2 mang đồng thời hai kiểu gen AA (gen <i>MC4R</i> ) và AA (gen <i>PIT1</i> ).....	113



## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Giống lợn Duroc.....	17
Hình 1.2. Bộ nhiễm sắc thể của lợn.....	18
Hình 1.3. Vị trí <i>MC4R</i> trên NST số 1 - NC_010443.5.....	19
Hình 1.4. Vị trí <i>PIT1</i> trên NST số 13 - NC_010455.5.....	20
Hình 1.5. Vị trí <i>GH</i> trên NST số 12- NC_010454.4.....	21
Hình 1.6. Vị trí <i>LEP</i> trên NST số 18 - NC_010460.4.....	23
Hình 1.7. Vị trí <i>PIK3C3</i> trên NST số 6 - NC_010448.4.....	24
Hình 1.8. Vị trí <i>FABP3</i> trên NST số 6 - NC_010448.4.....	25
Hình 1.9. Vị trí <i>ADRB3</i> trên NST số 15 - NC_010457.5.....	26
Hình 1.10. Vị trí <i>PLIN2</i> trên NST số 1 - NC_010443.5.....	27
Hình 1.11. Vị trí <i>ACSL4</i> trên NST X- NC_010461.5.....	27
Hình 3.1. Một số chỉ tiêu sinh trưởng của lợn Duroc.....	58
Hình 3.2. Kết quả điện di kiểm tra ADN trên gel agarose 2%.....	59
Hình 3.3. Kiểm tra nồng độ ADN.....	59
Hình 3.4. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>MC4R</i> ..... trên gel agarose 2%.....	60 60
Hình 3.5. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>PIT1</i> ..... trên gel agarose 2%.....	60 60
Hình 3.6. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>GH</i> ..... trên gel agarose 2%.....	61 61
Hình 3.7. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>PIK3C3</i> ..... trên gel agarose 2%.....	61 61
Hình 3.8. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>LEP</i> ..... trên gel agarose 2%.....	61 61
Hình 3.9. Phổ điện di phân tích đa hình gen <i>MC4R</i> bằng enzyme <i>TaqI</i> .....	62
Hình 3.10. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen <i>MC4R</i> .....	63
Hình 3.11. Tần số các kiểu gen AA, AG, GG của gen <i>MC4R</i> ở thế hệ 1 và 2 .....	64 64

Hình 3.12. Phổ điện di phân tích đa hình gen <i>PIT1</i> bằng enzyme <i>RasI</i> .....	65
Hình 3.13. Tần số các kiểu gen AA, AB, BB của gen <i>PIT1</i> ở.....	66
thế hệ 1 và 2.....	66
Hình 3.14. Phổ điện di phân tích đa hình gen <i>GH</i> bằng enzyme <i>FokI</i> .....	67
Hình 3.15. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen <i>GH</i> .....	68
Hình 3.16. Tần số kiểu gen AA, AG, GG của gen <i>GH</i> ở thế hệ 1 và 2 .....	69
Hình 3.17. Phổ điện di phân tích đa hình gen <i>LEP</i> bằng enzyme <i>HinfI</i> .....	70
Hình 3.18. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen <i>LEP</i> .....	70
Hình 3.19. Tần số các kiểu gen CT, CC của gen <i>LEP</i> ở thế hệ 1 và 2 .....	72
Hình 3.20. Phổ điện di phân tích đa hình <i>PIK3C3</i> bằng enzyme <i>Hpy8I</i> ....	72
Hình 3.21. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen <i>PIK3C3</i> .....	73
Hình 3.22. Tăng khối lượng của lợn Duroc mang các kiểu gen AA, AG, GG của gen <i>MC4R</i> ở thế hệ thứ 1 và 2 .....	75
Hình 3.23. Tăng khối lượng của lợn Duroc mang các kiểu gen AA, AB, BB của gen <i>PIT1</i> ở thế hệ thứ 1 và 2.....	80
Hình 3.24. Tăng khối lượng của lợn Duroc mang các kiểu gen AA, AG, GG của gen <i>GH</i> ở thế hệ thứ 1 và 2.....	82
Hình 3.25. Tăng khối lượng của lợn Duroc mang các kiểu gen CT, TT của gen <i>LEP</i> ở thế hệ 1 và 2 .....	85
Hình 3.26. Số con sơ sinh/ổ của lợn Duroc mang kiểu gen AA, AG và GG của gen <i>MC4R</i> .....	91
Hình 3.27. Khối lượng cai sữa/ổ của lợn Duroc mang kiểu gen AA, AB và BB của gen <i>PIT1</i> .....	93
Hình 3.28. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>ADRB3</i> trên gel agarose 2%.....	96
Hình 3.29. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>ACSL4</i> .....	97
trên gel agarose 2%.....	97
Hình 3.30. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>FABP3 (HinfI)</i> trên gel agarose 2% .....	97

Hình 3.31. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>FABP3</i> ( <i>BsrFI</i> ) trên gel agarose 2% .....	97
Hình 3.32. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen <i>PLIN2</i> .....	98
trên gel agarose 2%.....	98
Hình 3.33. Phổ điện di phân tích đa hình gen <i>ADRB3</i> bằng enzyme <i>TaqI</i>	98
Hình 3.34. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen <i>ADRB3</i> .....	99
Hình 3.35. Phổ điện di phân tích đa hình gen <i>ACSL4</i> bằng enzyme <i>RsaI</i>	100
Hình 3.36. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen <i>ACSL4</i> .....	101
Hình 3.37. Phổ điện di phân tích đa hình gen <i>FABP3</i> bằng enzyme <i>HinfI</i> .....	102
Hình 3.38. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen <i>FABP3</i> ( <i>HinfI</i> ) .....	102
Hình 3.39. Phổ điện di phân tích đa hình gen <i>FABP3</i> bằng enzyme <i>BsrFI</i>	104
Hình 3.40. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen <i>FABP3</i> ( <i>BsrFI</i> )....	104
Hình 3.41. Phổ điện di phân tích đa hình gen <i>PLIN2</i> bằng enzyme <i>MvaI</i> .....	105
Hình 3.42. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen <i>PLIN2</i> .....	106
Hình 3.43. Tần số kiểu gen của các gen <i>ADRB3</i> , <i>ACSL4</i> , <i>FABP3</i> ( <i>HinfI</i> ), <i>FABP3</i> ( <i>BsrFI</i> ), <i>PLIN2</i> .....	107
Hình 3.44. Tần số alen của các gen <i>ADRB3</i> , <i>ACSL4</i> , <i>FABP3</i> ( <i>HinfI</i> ), <i>FABP3</i> ( <i>BsrFI</i> ), <i>PLIN2</i> .....	107
Hình 3.45. Tỷ lệ mỡ giết của các gen <i>ADRB3</i> , <i>ACSL4</i> , <i>FABP3</i> ( <i>HinfI</i> ) và <i>PLIN2</i> .....	112

## MỞ ĐẦU

### 1. TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI

Trong những năm gần đây, sự phát triển nhanh chóng của lĩnh vực khoa học di truyền học phân tử đã đóng góp to lớn vào việc mở ra những hiểu biết sâu về bản chất di truyền ở mức độ gen và hệ gen của nhiều đối tượng vật nuôi. Những phát hiện về một số gen hay chỉ thị di truyền có liên quan tới biểu hiện kiểu hình của một số tính trạng nhất định đã mở ra triển vọng chọn giống vật nuôi thành công trên cơ sở các gen ứng viên.

Hiện nay, các biện pháp chọn lọc với sự hỗ trợ của chỉ thị phân tử (Marker-Assisted Selection-MAS) dựa trên bản chất đa hình của ADN cho phép xác định nhanh chóng các gen kiểm soát hình thành các tính trạng khác nhau của động vật cũng như năng suất của chúng (Ma và cs., 2017). 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. Có các cách xác định chỉ thị phân tử như xác định các locus tính trạng số lượng (QTL) và các alen liên kết với QTL; xác định các gen ứng viên. Trong đó, cách tiếp cận bằng các gen ứng viên tập trung phân tích trực tiếp gen để tìm mối liên kết giữa bản thân các gen ứng viên với kiểu hình. Những sai khác về kiểu hình thường gây ra bởi những thay đổi sâu sắc về cấu trúc ADN ở các gen ứng viên đã và đang được nghiên cứu. Những thông tin hữu ích này sẽ được sử dụng cho các chương trình chọn lọc dựa vào chỉ thị phân tử.

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* (Song và cs., 2005; Franco và cs., 2005; 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 (Houston và cs., 2004; Kim và cs., 2006; Meidtner và cs., 2006; Maagdenberg và cs., 2007; Fan và cs., 2009; Kováčik và cs., 2009; Switonski và cs., 2010; Piórkowska và cs., 2010; Davoli và cs., 2012; Hirose và cs., 2014). Gen *GH* liên quan đến các tính trạng thân thịt và sinh trưởng (Faria và cs., 2006; Bižienė và cs., 2011; Lyubov và cs., 2017). Gen *LEP* liên quan đến mức tăng khối lượng (Urban và cs., 2002; 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 cs., 2014; Xue và cs., 2015). 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 giết ở lợn Duroc*”.

## **2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Mục tiêu chung**

Xác định tính đa hình và mối liên kết giữa đa hình của một số gen ứng viên với tính trạng tăng khối lượng và dày mỡ lưng, tỷ lệ mỡ giết ở lợn Duroc nuôi tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco. Từ đó, là cơ sở khoa học để sử dụng các chỉ thị phân tử hỗ trợ chọn lọc và nhân giống vật nuôi.

### **2.2. Mục tiêu cụ thể**

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 giết 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. 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.

#### **4. 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 I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 1.1. CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

#### 1.1.1. Chọn lọc giống vật nuôi dựa vào sự hỗ trợ của gen ứng viên và chỉ thị di truyền

Cải tiến di truyền qua chọn lọc đã góp phần quan trọng trong cải tiến năng suất vật nuôi trong nhiều thập kỷ năm qua. Theo phương pháp truyền thống, các giống vật nuôi được chọn lọc qua kiểu hình, hệ phả và đánh giá giá trị giống nhờ vào sự sai khác mong đợi qua các thế hệ sau. Hầu hết các tính trạng kinh tế là những tính trạng phức tạp được kiểm soát bởi nhiều gen và bị ảnh hưởng bởi nhân tố môi trường.

Một gen là một đoạn axit deoxyribonucleic (ADN) được tạo nên từ các cặp của 4 nucleotid (A, C, G, T). Một gen mã hóa cho một protein đặc hiệu. Nó có thể xảy ra sự thay đổi đối với trình tự ADN ở một gen và trình tự này có sự khác biệt giữa các cá thể. Những sự khác biệt này trong một gen được gọi là alen và dẫn tới sự khác nhau về số lượng và các dạng protein được mã hóa từ các gen đó. Protein được tạo ra từ các alen khác nhau, có thể ảnh hưởng đến sự biểu hiện của một tính trạng xác định và ảnh hưởng tới năng suất quan sát. Gần đây đã có khá nhiều công bố về gen ứng viên liên quan đến các tính trạng năng suất, chất lượng và khả năng kháng bệnh như: gen *ESR*, *PRLR*, *FSHB*, *RNF4* và *RBP4* liên quan tới tính trạng sinh sản ở lợn; gen, *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP*, *PIK3C3* liên quan đến tính trạng năng suất thịt ở lợn; gen *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3*, *PLIN2* liên quan đến tính trạng chất lượng thịt ở lợn; gen *FUT1*, *MUC* liên quan đến khả năng kháng bệnh...

Chỉ thị di truyền hoặc chỉ thị phân tử hay chỉ thị ADN (Genetic Marker hoặc Molecular Marker hay ADN marker) là một gen hoặc trình tự ADN tại một vị trí đã biết trên một nhiễm sắc thể được sử dụng để xác định cho các cá thể hoặc loài vật nuôi. Chỉ thị di truyền có thể là một trình tự



ADN ngắn, chẳng hạn một trình tự xung quanh một đa hình nucleotide đơn hoặc một trình tự dài như là minisatellite (Wikipedia).

Kor và cs. (2014) cho rằng các chỉ thị di truyền được xem như những “dấu chuẩn” trong bộ gen, có thể so sánh các con vật với nhau trên cơ sở những “dấu chuẩn” này. Bốn ứng dụng quan trọng của chỉ thị di truyền trong chọn giống vật nuôi là: 1) Kiểm tra hệ phả thông qua việc xác định chính xác được bố của con vật; 2) Tìm ra các alen có ảnh hưởng thuận lợi trong chọn giống. Nhiều chỉ thị di truyền liên kết chặt chẽ với một locus tính trạng số lượng (Quantitative Trait Locus, QTL) ảnh hưởng tới nhiều tính trạng của vật nuôi; 3) Tìm kiếm các alen có ảnh hưởng xấu tới vật nuôi, chẳng hạn các khuyết tật di truyền do một gen lặn gây ra từ đó có thể chọn lọc để loại bỏ ảnh hưởng của các gen này trong đàn vật nuôi và 4) Tham gia vào chọn lọc bộ gen.

Gần đây các nhà khoa học đã bắt đầu nhận dạng các vùng ADN có ảnh hưởng tới các tính trạng. Họ đã sử dụng kỹ thuật phân tử để xác định những đa hình di truyền trong trình tự các cặp bazơ tại những vùng này. Thí nghiệm đã phát triển để nhận biết những sai khác tinh vi (khó phát hiện ra). Điều này cho phép phát triển các chỉ thị di truyền mà có thể sử dụng để nhận biết một cá thể đang mang một đoạn ADN gắn với tính trạng quan tâm có biểu hiện hay không biểu hiện. Các chỉ thị di truyền ở một vùng xác định trên phân tử ADN có thể chỉ khác nhau ở một cặp bazơ. Những sai khác như vậy được gọi là đa hình nucleotide đơn hay SNPs. Các thử nghiệm dựa vào SNPs phân tích ADN bắt nguồn từ một cá thể để xác định trình tự ADN có mặt ở một vị trí đặc hiệu (cặp nucleotide).

Phân tích kiểu gen (genotyping) là một thuật ngữ được sử dụng để mô tả quá trình mà được sử dụng trong các phương pháp phòng thí nghiệm để xác định trình tự các nucleotide trong đoạn ADN từ một cá thể, thường ở một của gen riêng biệt hoặc một vị trí đặc hiệu trong hệ gen. Chọn lọc một cá thể có chỉ thị mang gen biểu hiện có lợi lên tính trạng quan tâm, có

thể dẫn tới sự thay đổi kiểu hình quan sát. Mặc dù các tính trạng phức tạp bị chi phối bởi nhiều gen, tuy nhiên kiểu di truyền của mỗi chỉ thị là đơn giản, mỗi cá thể có một alen chỉ thị từ bố hoặc mẹ.

Chọn lọc dựa vào sự hỗ trợ của chỉ thị di truyền là phương pháp sử dụng các kết quả phân tích ADN để giúp cho sự chọn lọc cá thể từ bố mẹ cho tới các thế hệ tiếp theo trong chương trình cải tiến di truyền. Phân tích kiểu gen cho phép phát hiện chính xác các dạng ADN đặc hiệu mà ảnh hưởng lên các tính trạng phức tạp. Các chỉ thị của các tính trạng phức tạp được kết hợp với chỉ một gen trong nhiều gen mà di truyền theo hướng tính trạng đó.

Chọn lọc dựa vào sự hỗ trợ của chỉ thị di truyền có hiệu quả nhất đối với các tính trạng có các đặc điểm sau: khả năng di truyền thấp; khó khăn và tốn kém để đánh giá; tính trạng biểu hiện muộn không thể đánh giá cho tới khi cá thể đã di truyền cho các thế hệ tiếp theo; hiện tại không được chọn lọc vì không được đánh giá đều đặn.

### ***1.1.2. Một số phương pháp nghiên cứu đa hình di truyền***

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 nghiên cứu đa hình di truyền dựa trên chỉ thị phân tử ADN phổ biến như:

#### ***1.1.2.1. Kỹ thuật đa hình độ dài đoạn cắt hạn chế (Restriction fragment length polymorphism- RFLP)***

Kỹ thuật cơ bản trong xác định RFLP được tiến hành theo các bước cắt mẫu ADN bằng enzyme cắt giới hạn, là các enzyme nhận biết và cắt một đoạn ADN ngắn đặc hiệu. Các mảnh ADN tạo ra sau đó được phân

tách bằng quá trình điện di trên gel agarose và được chuyển lên màng lai thông qua quy trình lai Southern. Kết quả của quá trình là tạo ra hình ảnh các phân đoạn ADN khác nhau. Các hình ảnh phân đoạn ADN khác nhau này được tạo nên do sự thay thế, thêm vào hay bớt đi của các nucleotide hoặc do đa hình nucleotide đơn.

Phương pháp này được ứng dụng trong lập hồ sơ di truyền, lập bản đồ hệ gen, phân tích bệnh di truyền và xét nghiệm phả hệ.

RFLP là công nghệ nghiên cứu đa hình ADN đầu tiên được ứng dụng một cách rộng rãi vì có độ tin cậy cao, bởi nó được tạo ra từ các vị trí cụ thể thông qua các enzyme hạn chế đã biết và kết quả không đổi theo thời gian và vị trí.

Kết quả nghiên cứu có thể phân biệt dị hợp tử với đồng hợp tử.

*Hạn chế của RFLP như sau:*

RFLP chỉ có thể kiểm tra các đột biến cụ thể tại các vị trí cắt enzyme, điều này hạn chế việc xác định toàn bộ biến đổi gen ở động vật.

Tính đa hình của các dấu RFLP tương đối thấp và phải được phát hiện bởi đồng vị phóng xạ, điều này làm hạn chế ứng dụng của nó.

Ngày nay, kỹ thuật này đã trở nên lỗi thời và bị thay thế bởi công nghệ giải trình tự. Tuy nhiên, RFLP vẫn là một kỹ thuật được sử dụng trong lựa chọn hồ trợ marker.

#### *1.1.2.2. Kỹ thuật PCR-RFLP*

PCR là một kỹ thuật của sinh học phân tử cho phép nhân bản một đoạn ADN mong muốn từ hệ gen ADN của sinh vật thành nhiều bản sao ở bên ngoài tế bào. RFLP là kỹ thuật nghiên cứu tính đa hình chiều dài của các phân đoạn ADN dựa trên điểm cắt các enzyme giới hạn (Restriction Enzyme, RE).

Phương pháp PCR-RFLP được phát minh dựa trên kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction,) được ứng dụng để xác định đa hình gen của các gen ứng viên.

Sau khi nhân đoạn ADN nhờ một cặp mồi đặc hiệu, sản phẩm PCR được cắt bằng một enzyme giới hạn. Sau khi phân tích các sản phẩm cắt bằng điện di trên gel agarose có thể thấy được sự thay thế các bazơ nitơ hay sự thay đổi trật tự các bazơ nitơ tại vị trí cắt trên ADN được nhân lên.

Nguyên tắc của phương pháp là tạo lượng lớn các đoạn ADN đặc thù từ ADN khuôn dựa trên cơ sở hoạt động của ADN polymerase để tổng hợp sợi mới bổ sung.

Các yếu tố cơ bản để thực hiện phản ứng PCR bao gồm:

- Sợi khuôn ADN chỉ cần biết trình tự nucleotide của đoạn nhỏ nằm cạnh đoạn cần nhân để thiết kế hai mồi oligonucleotide.

- Hai đoạn mồi ngắn để xác định các điểm bắt đầu tổng hợp ADN. Là tín hiệu chỉ hướng đi ( $5' \rightarrow 3'$ ) của enzyme ADN polymerase. Mồi dài khoảng 20 nucleotide và các nucleotide ở hai đầu của mồi không tự kết hợp với nhau theo nguyên tắc bổ sung.

- Có đầy đủ các loại nucleotide dATP, dTTP, dGTP, dCTP.

- Môi trường đệm cung cấp ion Mg và nước tinh khiết không có enzyme RNase và DNase.

- Enzyme chịu nhiệt *Thermus aquaticus* (Taq)

Dung tích tổng số cho một phản ứng PCR khoảng từ 20  $\mu$ l đến 50  $\mu$ l.

Phương pháp này được áp dụng khá phổ biến trên nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới do phát hiện đa hình tương đối cao, dễ tiến hành, chi phí thấp.

Kỹ thuật PCR được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau, từ nghiên cứu khoa học đến sản xuất và đời sống xã hội.

Xác định các đoạn trình tự cần nghiên cứu;

Phát hiện đột biến;

Nghiên cứu quá trình tiến hoá phân tử;

Phục hồi các gen đã tồn tại hàng triệu năm;

Chọn giống vật nuôi, cây trồng;

Lựa chọn các cặp cha mẹ thuần chủng trong thời gian ngắn;  
Xác định các loài mới, các loài đặc hữu bằng phương pháp di truyền phân tử;

Y học - Khoa học hình sự.

Chuẩn đoán chính xác các bệnh nhiễm trùng từ vi khuẩn, nấm, virus;

Chuẩn đoán sớm các bệnh gây ra do ung thư, các bệnh di truyền;

Xác định huyết thống, truy tìm dấu vết tội phạm.

### *1.1.2.3. Kỹ thuật đa hình độ dài đoạn nhân chọn lọc (Amplified fragment length polymorphism - AFLP)*

Kỹ thuật AFLP được sử dụng để phát hiện đa hình ADN. Phân tích AFLP được kết hợp cả RFLP và PCR bằng việc gắn các chuỗi nhận biết vào môi hay còn gọi là chuỗi tiếp hợp (adapter) để nhân chọn lọc các phân đoạn ADN được cắt hạn chế. Các cặp môi thường tạo được từ 50 - 100 băng trong một phân tích. Mỗi đoạn bao gồm một phần cố định dài hơn 15 bp chứa vị trí nhận biết của enzyme giới hạn và một phần thay đổi ngắn 2 - 4 bp. Phần cố định dài tạo ra sự ổn định của sản phẩm và phần thay đổi ngắn tạo ra nhiều locus, có thể trên 100 locus với một tổ hợp môi AFLP. Sự đa hình được xác định bằng sự có mặt hoặc không có mặt của một phân đoạn ADN. Sản phẩm PCR sau đó được phân tách trên gel có độ phân giải trình tự cao và có thể nhìn thấy bằng phóng xạ tự chụp. Nếu không sử dụng nucleotit được đánh dấu phóng xạ, có thể sử dụng kỹ thuật nhuộm huỳnh quang hoặc nhuộm bạc để quan sát sản phẩm.

Kỹ thuật này gồm bốn bước:

Cắt ADN hệ gene bằng enzyme giới hạn và gắn các oligonucleotide tiếp hợp (adapter).

Khuếch đại tiền chọn lọc bằng cặp môi tiền chọn lọc.

Khuếch đại chọn lọc sử dụng các tổ hợp môi EcoRI và MseI chọn lọc khác nhau.

Phân tích trên gel các đoạn ADN được nhân lên.

#### *Ưu điểm của kỹ thuật AFLP:*

AFLP không phức tạp như RFLP nhưng vẫn khảo sát được toàn bộ gen.

Có tính lặp lại cao hơn RAPD và chỉ cần sử dụng một lượng nhỏ ADN ban đầu.

Khuếch đại có chọn lọc một lượng lớn các đoạn ADN đa hình (polymorphism) trong một phản ứng PCR, phù hợp cho việc phân tích đa dạng giữa các quần thể có quan hệ gần nhau.

Không cần biết trước trình tự ADN của gen cần nghiên cứu, không cần sử dụng nhiều loại môi.

Là kỹ thuật in dấu ADN còn khá mới lạ nhưng rất hiệu quả, có thể in dấu ADN của bất kỳ nguồn gốc phức tạp nào từ sinh vật nhân sơ, thực vật, động vật đến con người.

#### *Hạn chế của kỹ thuật AFLP:*

AFLP là một marker trội, điều này làm hạn chế phân biệt cá thể đồng hợp và dị hợp.

Quy trình dài, phức tạp, tốn nhiều thời gian thực hiện.

Lệ thuộc nhiều vào thao tác ở những bước đầu để có được phổ điện các phân đoạn ADN lý tưởng.

#### *Ứng dụng của kỹ thuật AFLP:*

In dấu ADN, lập bản đồ ADN marker hiệu quả nhất so với những marker khác.

Tạo nhóm liên kết di truyền giữa các giống.

Đánh giá mức độ liên hệ di truyền hoặc sự khác nhau giữa các giống.

Là công cụ hiệu quả để phát hiện tính chất đa hình nên dễ dàng nhận biết sự khác biệt giữa các cá thể.

#### *1.1.2.4. Kỹ thuật vị trí chuỗi đánh dấu (Sequence Tagged Sites-STS)*

Khái niệm STS được đưa ra bởi Olson và cs., 1989 khi đánh giá tác động có khả năng xảy ra của phản ứng chuỗi polymerase (PCR) đối với

ngiên cứu bộ gen người. Vị trí chuỗi đánh dấu (STS) là vùng ngắn trong genome (có độ dài 200 - 500 cặp bazơ) mà trình tự của nó không thể có ở bất cứ nơi nào khác trong genome. Chuỗi trình tự duy nhất này có thể nhân bản được bằng PCR. Trình tự ADN của STS có thể có các yếu tố lặp lại, và các trình tự xuất hiện bất cứ ở đâu trong genome, nhưng trình tự ở hai đầu của STS là duy nhất. Chúng ta có thể tổng hợp các môi duy nhất bổ sung với trình tự ở hai đầu STS và nhân đoạn STS bằng PCR.

Phân loại STS:

Với nghĩa rộng, STS bao gồm các chỉ thị như microsatellites (SSR, STMS or SSRP), SCAR, CAP và ISSR.

Microsatellites: Các locus đa hình thể hiện trong ADN hạt nhân và ADN tổ chức bao gồm các đơn vị lặp lại của 1 - 10 cặp cơ sở, điển hình nhất, có chiều dài 2 - 3 bp, còn được gọi là Simple Sequence Repeats (SSR), Sequence-Tagged Microsatellite Sites (STMS) hoặc Simple Sequence Repeats Polymorphisms (SSRP). Các SSR rất dễ thay đổi và phân bố đồng đều trong toàn bộ hệ gen. Đây là loại ADN lặp lại phổ biến ở sinh vật nhân thực. Các đa hình này được xác định bằng cách xây dựng các đoạn môi PCR cho ADN bên cạnh vùng microsatellite. Các vùng bên sườn có xu hướng được bảo tồn trong loài, mặc dù đôi khi chúng cũng có thể được bảo tồn ở các cấp độ phân loại cao hơn.

Vùng Khuếch đại trình tự đặc trưng (Sequence Characterized Amplified Region - SCAR).

Các đoạn ADN được khuếch đại bằng phản ứng chuỗi polymerase (PCR) bằng cách sử dụng các đoạn môi 15 - 30 bp cụ thể, được thiết kế từ các trình tự nucleotide được thiết lập trong các đoạn RAPD được nhân bản (Random Amplified Polymorphic DNA), được liên kết với một đặc điểm quan tâm. Bằng cách sử dụng môi PCR dài hơn, SCAR không phải đối mặt với vấn đề độ tái lập thấp thường gặp với RAPD. Có được một điểm đánh

dấu đồng chi phối có thể là một lợi thế bổ sung của việc chuyển đổi RAPD thành SCAR.

Trình tự đa hình được khuếch đại đã xóa (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences - CAPS).

Các dạng đa hình STS có thể được phát hiện bởi sự khác biệt về độ dài đoạn giới hạn do SNP hoặc INDEL tạo ra hoặc loại bỏ các vị trí nhận dạng endonuclease giới hạn trong các amplicon PCR được tạo ra bởi môi oligonucleotide đặc trưng cho vị trí. Nói cách khác, kỹ thuật này nhằm mục đích chuyển đổi và dải khuếch đại không cho thấy sự thay đổi theo độ dài của sản phẩm PCR thành dải đa hình.

Lặp lại trình tự liên đơn giản (Inter-Simple Sequence Repeats - ISSR).

STS đa hình được tìm thấy giữa các lần lặp lại của tế bào vi mô. Các đoạn môi có thể được thiết kế dựa trên sự lặp lại của một tế bào vi mô. Trong trường hợp đó, kỹ thuật này sẽ nhắm mục tiêu đến nhiều locus do sự phong phú của các trình tự lặp lại trong bộ gen.

Ngoài ra, các đoạn môi có thể được mở rộng bên ngoài hoặc bên trong ISSR. Trong trường hợp đó, một vùng duy nhất có nhiều khả năng sẽ được khuếch đại.

Ưu điểm của kỹ thuật STS là tạo ra các chỉ thị đồng trội, có thể phân biệt được dị hợp tử và có tính lặp lại cao vì các môi sử dụng dài.

Nhược điểm của kỹ thuật này là cần biết về trình tự vùng STS và cần đầu tư cho việc phát triển môi đặc hiệu.

STS được sử dụng cho nghiên cứu đa dạng di truyền, nhận biết gen, so sánh bản đồ, xác định gen liên kết, xác định độ thuần hạt lai và đánh giá tính kháng bệnh.

#### *1.1.2.5. Kỹ thuật đa hình nucleotide đơn (Single Nucleotide Polymorphism-SNP)*

Đa hình nucleotide đơn (SNP) là sự thay thế của một nucleotide ở một vị trí cụ thể trong genome. Các vị trí thể hiện SNP trong genome là nơi



mà ở đó chuỗi ADN được phân biệt bởi một bazơ duy nhất khi hai hoặc nhiều cá thể được so sánh. Sự khác nhau về nucleotide này có thể dẫn đến thay đổi tính trạng đặc biệt hay kiểu hình, hoặc có thể là sự thay đổi trung tính được sử dụng để đánh giá sự đa dạng trong tiến hóa. SNP là dạng thay đổi trình tự trong genome phổ biến nhất cho tới nay.

SNP được chia thành hai loại chính:

SNP được liên kết (còn gọi là SNP chỉ định) không cư trú trong gen và không ảnh hưởng đến chức năng protein.

SNP ảnh hưởng đến chức năng của protein, có hai dạng: SNP mã hóa là các SNP nằm trong vùng mã hóa của gen, làm thay đổi trình tự axit amin của protein do gen mã hóa. SNP không mã hóa, nằm trong trình tự điều hòa của gen, làm thay đổi thời gian, vị trí hoặc mức độ biểu hiện gen.

Có nhiều phương pháp để phát hiện SNP bao gồm các phương pháp lai (lai allele đặc biệt, SNP microarray), các phương pháp sử dụng các enzyme (RFLP, PCR, phương pháp kéo dài môi, sử dụng 5'-nuclease...), các phương pháp dựa trên tính chất vật lý của ADN đối với các sản phẩm PCR (SSCP, điện di gradient nhiệt độ, sắc ký lỏng cao áp biến tính...) và phương pháp giải trình tự.

Phương pháp định kiểu SNP thông dụng nhất hiện nay là “lai, phương pháp cắt và kéo dài môi”. Lai liên quan đến việc lai một sợi đơn của một sản phẩm PCR có chứa SNP với oligonucleotide bổ sung và đo mức độ liên kết giữa chúng. Phương pháp kéo dài môi đo khả năng của ADN polymerase để mở rộng một nucleotide qua vị trí đa hình mà nucleotide này sẽ chỉ cho kéo dài qua một trong hai biến thể đã biết. Công nghệ cắt xác định kiểu SNP dựa vào khả năng của một enzyme cắt.

Torjek và cs., 2003 sử dụng các xét nghiệm mở rộng PCR giúp thu nhận đột biến điểm một cách hiệu quả. Quy trình yêu cầu ít ADN trên

mỗi mẫu và chi phí ít cho mỗi mẫu sau khi phương pháp được thiết lập (Korzun, 2003).

Mặc dù SNP có các ưu việt hơn các kỹ thuật khác, nó vẫn có một số nhược điểm như: sự hạn chế khám phá các SNP trong các cơ thể không phải hình mẫu do sự tồn kém và khó khăn trong các công nghệ đang được sử dụng để phát hiện SNP.

SNP được sử dụng trong lập bản đồ di truyền, trong nghiên cứu đa dạng di truyền, trong nhận biết giống và trong chọn giống.

#### *1.1.2.6. Kỹ thuật đa hình ADN nhân ngẫu nhiên (Random amplified polymorphism-RAPD)*

RAPD là phương pháp phân tích đa hình các đoạn ADN được nhân bản ngẫu nhiên. Kỹ thuật RAPD dựa trên cơ sở của phản ứng PCR với các cặp mồi có trình tự ngẫu nhiên thường dài khoảng 10 bazơ. Các đoạn mồi nếu bắt cặp ngẫu nhiên với cả hai mạch đối diện của mạch khuôn ADN trong khoảng cách có thể khuếch đại được (dưới 3000 bp) và sẽ cho ra những đoạn ADN có kích thước khác nhau sau khi khuếch đại. Sự có mặt của các sản phẩm ADN khác nhau chứng tỏ đã có một sự tương đồng hoàn toàn hay một phần giữa ADN bộ gen và mồi. Các mồi dùng trong RAPD thường ngắn, vì vậy dễ dàng tìm được các đoạn tương đồng trên mạch đơn ADN bộ gen. Do đó, tính đa dạng thu được nhờ RAPD là đáng tin cậy, vì khi có sự thay đổi một bazơ nitơ nào đó thì nó sẽ ngăn cản việc tiếp hợp giữa mồi và ADN mạch khuôn. Sự mất đoạn nhiễm sắc thể hoặc sự thêm bớt điểm gắn mồi cũng như sự xen vào của một gen nào đó sẽ làm thay đổi kích thước đoạn ADN được khuếch.

Phương pháp này cho phép phát hiện đa hình nhanh, đơn giản, không đòi hỏi kỹ thuật cao, rẻ tiền hơn so với các phương pháp khác như RFLP, SSR.

Tuy nhiên, phương pháp này cũng có những hạn chế như:

Sự xuất hiện các băng tính trội, điều đó không phân biệt được cá thể đồng hợp tử và cá thể dị hợp tử.

Tính lặp lại không cao do mỗi là mỗi ngẫu nhiên và phụ thuộc điều kiện phản ứng PCR trở ngại trong việc giải thích các băng có cùng tốc độ di chuyển.

Kỹ thuật RAPD được ứng dụng để nghiên cứu đa dạng di truyền của các giống và thiết lập bản đồ di truyền.

### ***1.1.3. Đặc điểm giống lợn Duroc***

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.

Lợn có màu lông từ màu vàng cho đến màu nâu đậm toàn thân; thân ngắn, mõm và bốn chân có màu đen; ngoại hình cân đối, vững chắc, tai to ngắn cụp che mắt, tầm vóc vừa phải; chân to cứng chắc.

Đánh giá khả năng sinh trưởng và sinh sản của lợn Duroc Đài Loan và Canada nuôi tại công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco cho thấy:

Khả năng sinh sản: Tuổi đẻ lứa đầu của lợn nái Duroc 355 - 365 ngày. Tuổi đẻ lứa đầu của lợn nái Duroc nuôi tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco đều đạt tiêu chuẩn theo Quyết định số 657/QĐ-BNN-CN (2014) về việc phê duyệt các chỉ tiêu định mức kinh tế kỹ thuật cho các đàn vật nuôi giống gốc đối với lợn ngoại (từ 340 - 385 ngày); khoảng cách lứa đẻ của lợn nái Duroc 140 - 145 ngày; số lứa đẻ của lợn nái Duroc 2,2 - 2,3 lứa/nái/năm; số con bình quân mỗi lứa 9 - 11 con/lứa; khối lượng sơ sinh đạt 14 - 16 kg/ổ; khối lượng cai sữa đạt 60 - 70 kg/ổ. Lợn nái tiết sữa kém, nuôi con kém, nhu cầu dinh dưỡng cao, sức kháng bệnh kém.

Khả năng sinh trưởng: 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. Nguyen Huu Tinh và cs. (2015) nghiên cứu trên 482 lợn Duroc nuôi tại Trung tâm

Nghiên cứu và Phát triển Chăn nuôi heo Bình Thắng, cho biết tăng khối lượng trung bình hàng ngày giai đoạn 20 - 100 kg của lợn Duroc đạt 743,48 g/ngày. Ngô Thị Kim Cúc và cs. (2015) đã nghiên cứu trên 282 lợn Duroc nuôi tại Trung tâm nghiên cứu lợn Thụy Phương - Viện Chăn nuôi chỉ ra rằng tăng khối lượng là: 755,06 g/ngày. Tuy nhiên, các mức tăng khối lượng nêu trên còn thấp so với số liệu theo dõi ở một số nước phát triển. 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.



Lợn đực



Lợn cái

(Nguồn: Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco)

**Hình 1.1. Giống lợn Duroc**

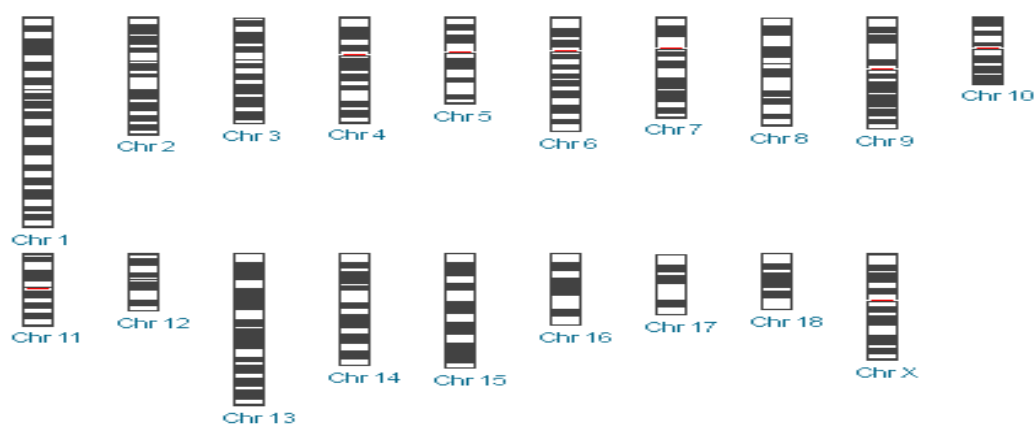
## 1.2. ĐẶC ĐIỂM CỦA CÁC GEN ỨNG VIÊN

### 1.2.1. Bộ gen của lợn

Bộ gen của lợn (*Sus scrofa*) gồm 18 cặp NST thường và 1 cặp NST giới tính, bao gồm khoảng 2.5 tỷ cặp bazơ (base pair, bp). Kích thước bộ gen tương tự như của người vào khoảng 2,7 Gb. Vào những năm 90, bản đồ di truyền đầu tiên trong bộ gen của lợn đã được công bố (Pigmap). Hiệp hội giải trình tự bộ gen lợn (the Swine Genome Sequencing Consortium, SGSC) công bố trình tự bộ gen lợn, đặt tên là Sscrofa 10.2, bao gồm tổng cộng 21,630 gen mã hóa, 30,585 gen phiên mã và 3,124 gen không mã hóa (bản Ensembl 89; <http://www.ensembl.org>). Sau đó, bộ tham chiếu Sscrofa 11.1 trở thành bộ gen tham chiếu cho nghiên cứu bộ gen ở lợn, có độ chính xác cao hơn đáng kể (> 90 lần) so với Sscrofa 10.2.

Tổ hợp bộ gen lợn Sscrofa 11.1 được xuất bản vào tháng 01 năm 2017 (bản nâng cấp Ensembl 104; <http://www.ensembl.org>, truy cập tháng 5 năm 2021), bao gồm tổng cộng 21,303 gen mã hóa, 63,041 gen phiên mã và 8,979 gen không mã hóa.

Những tiến bộ về di truyền học phân tử đã mở ra những cơ hội tăng cường cải thiện di truyền giống lợn bằng cách chọn lọc trực tiếp dựa trên các gen hay vùng nhiễm sắc thể chứa các gen ảnh hưởng đến tính trạng mong muốn ở lợn.

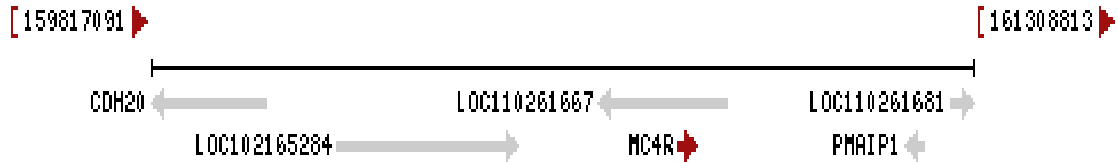


Nguồn: <https://www.animalgenome.org/pig/genome/db/>

**Hình 1.2. Bộ nhiễm sắc thể của lợn**

### 1.2.2. Gen *MC4R* (Manocortin-4 Receptor)

Gen *MC4R* nằm trên nhiễm sắc thể số 1 được mã hóa bởi một exon duy nhất, có chiều dài 2112 bp, (mã trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen: NC\_010443.5), mã hóa cho 332 axit amin.



Nguồn: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Nc\\_010443.5+mc4r](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Nc_010443.5+mc4r)

### Hình 1.3. Vị trí *MC4R* trên NST số 1 - NC\_010443.5

Gen *MC4R* thụ thể được biểu hiện chủ yếu trong hệ thống thần kinh trung ương đóng vai trò quan trọng trong việc điều tiết khả năng tiếp nhận thức ăn và cân bằng năng lượng (Yang, 2011).

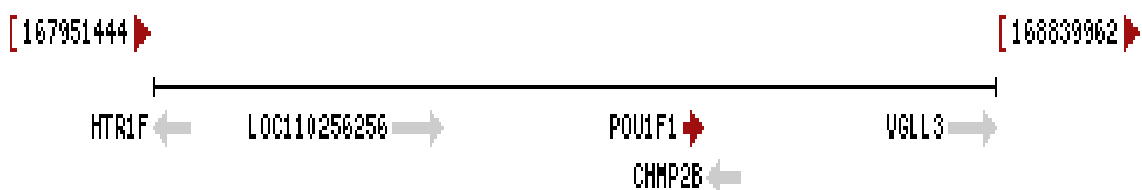
Phân tích đa hình gen *MC4R* ở lợn cho thấy đa hình gen liên quan với tăng khối lượng, dày mỡ lưng và tỷ lệ nạc (Hernandez-Sanchez và cs., 2003; Houston và cs., 2004; Jokubka và cs., 2006; Kim và cs., 2006; Ovilo và cs., 2006; Bruun và cs., 2006; Piońrkowska và cs., 2010; Switonski và cs., 2010; Hirose và cs., 2014; Jokubka và cs., 2006).

Ở người, gen *MC4R* liên quan đến bệnh béo phì (MacKenzie, 2006; Loos và cs., 2008; Chambers và cs., 2008; Thorliefsson và cs., 2009). Mặc dù phần lớn các nghiên cứu cho thấy bệnh béo phì có mối liên quan với đa hình gen *MC4R*, một số nghiên cứu khác lại cho rằng mối liên quan không đáng kể (Sherag và cs., 2010; Xi và cs., 2012, Bazzi và cs., 2014, Albuquerque và cs., 2014, Fernandez và cs., 2015).

### 1.2.3. Gen *PIT1* (Pituitary-specific transcription factor)

Gen *PIT1* nằm trên nhiễm sắc thể số 13 gồm có 6 exon và 5 intron có kích thước 19724 bp (mã trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen: NC\_010455.5), mã hoá một phân tử protein gồm 290 axit amin. So sánh trình tự nucleotit thấy rằng cADN *PIT1* ở lợn tương đồng với các động vật có vú khác (người, bò, cừu, chuột) là 90 - 95%. Tuy nhiên, khi so sánh giữa

các giống lợn khác nhau, trình tự gen *PIT1* giống nhau 93%. Như vậy, có sự khác nhau lớn giữa các giống lợn.



Nguồn: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Nc\\_010455.5+pit1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Nc_010455.5+pit1)

#### Hình 1.4. Vị trí *PIT1* trên NST số 13 - NC\_010455.5

Gen *PIT1* là một gen ứng viên quan trọng liên quan đến tăng trưởng, sinh sản, năng suất sữa và các thành phần của sữa. Điều này là do gen *PIT1* mã hóa cho các protein đóng vai trò quan trọng trong quá trình phát triển của cơ thể và điều hòa sự phiên mã các hoocmon tăng trưởng *GH*, prolactin (PRL) và hoocmon kích thích tuyến giáp (TSH- $\beta$ ) (Yu và cs., 1995; Cogan và Phillips., 1998; Ribeca và cs., 2014; Li và cs., 2016).

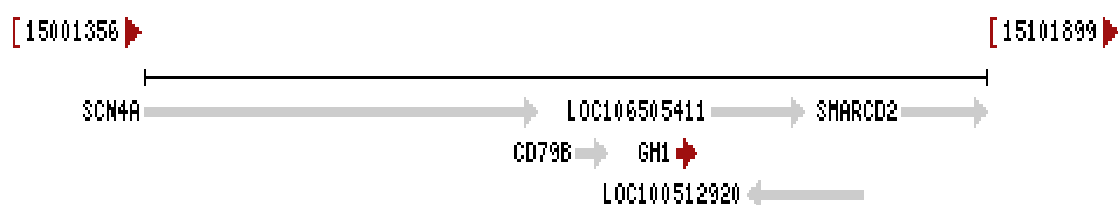
Yu và cs. (1995) chỉ ra rằng đa hình *PIT1* ở lợn có liên kết với khối lượng sơ sinh, khối lượng cai sữa, tăng khối lượng trung bình và dày mỡ lưng. Brunsch và cs. (2002) kết luận gen *PIT1* có mối liên kết với các tính trạng sinh trưởng, chất lượng thịt ở lợn. Franco và cs. (2005) sử dụng phương pháp PCR-RFLP phân tích 218 cá thể lợn Landrace thấy rằng đa hình gen *PIT1* có liên quan đến dày mỡ lưng. Theo Kim và cs. (2014), kiểu gen này còn ảnh hưởng tích cực đến khối lượng thịt xẻ, dày mỡ lưng và màu sắc thịt ở lợn lai thương phẩm giữa ba giống Duroc, Yorkshre và Landrace. Gen *PIT1* liên quan đến tăng trưởng, chất lượng thịt và năng suất sinh sản của lợn (Piórkowska và cs., 2013). Song và cs. (2007) cho rằng sự thay đổi di truyền trong intron 1 (sự chèn hoặc xóa 313 bp) của gen *PIT1* có liên quan đến sự phát triển của lợn và tần số kiểu gen của intron 1 khác nhau giữa các giống lợn.

Một số đa hình trong gen *PIT1* cũng đã được báo cáo liên quan đến đặc điểm tăng trưởng ở dê và bò (Zhang và cs., 2009; Zhou và vs.,

2016; Ma và cs., 2017; Zhu và cs., 2019); sản lượng sữa ở bò (Ahmadi và cs., 2015); các đặc điểm tăng trưởng, khối lượng cai sữa, kích thước lứa đẻ và các đặc điểm chất lượng thịt ở cừu (Mura và cs., 2012; Özmen và cs., 2013; Sadeghi và cs., 2014; Jalil-Sarghale và cs., 2014; Bai và cs., 2016; Al-Khuzai và Al-Anbari., 2018); các đặc điểm tăng trưởng và chất lượng thịt ở thỏ (Wang và cs., 2015); khối lượng cơ thể và số lượng trứng ở gà (Yan và cs., 2013; Lê Thị Thu Hà và cs., 2015; Ma và cs., 2017).

#### 1.2.4. Gen *GH* (*Growth hormone*)

Gen *GH* nằm trên nhiễm sắc thể số 12 (p1.2 - p1.5) có kích thước chiều dài 2231 bp bao gồm 5 exon và 4 intron (mã trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen: NC\_010454.4)



Nguồn: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Nc\\_010454.4+gh](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Nc_010454.4+gh)

#### Hình 1.5. Vị trí *GH* trên NST số 12- NC\_010454.4

Hoocmon tăng trưởng (*GH*), còn gọi là Somatotropin. Hoocmon này được sản xuất bởi thùy trước tuyến yên (anterior pituitary gland). *GH* được giải phóng vào hệ tuần hoàn và gây ra sự tiết insulin giống như yếu tố tăng trưởng (IGF-1) trong các mô đích, nó gây ra một loạt các tác dụng trao đổi chất vì nó vừa là chất tăng đường huyết vừa là chất phân giải mỡ (Polkowska và cs., 2011); Hoocmon tham gia trực tiếp vào các quá trình trao đổi chất của động vật (Barrera-Saldaña và cs., 2010), tăng trưởng (Hua và cs., 2009), sinh sản (Scaramuzzi và cs., 1999) và cho con bú (Baldi, 1999).

Tuyến yên ở người vì một lý do đặc biệt khiến việc sản xuất *GH* chậm hoặc không thể sản xuất được *GH* gây ra bệnh lùn, còi cọc, tí hon. Trong khi, thừa *GH* gây ra hội chứng người khổng lồ (bệnh to đầu chi). Gen *GH* ảnh hưởng hầu hết đến toàn bộ các mô trong cơ thể, với các chức



năng chính như: Làm tăng sự vận chuyển axit amin vào mô, tổng hợp protein ở gan, đưa axit béo vào máu, giảm hấp thu glucose ở cơ và mô mỡ, tăng tái tạo glucose ở gan, kích thích gan thận cơ và một số mô khác tạo ra yếu tố tăng trưởng giống insulin (IGF = Insulin Like Growth Factor) làm tăng sự phân bào. Do đó, *GH* là một loại hormone đặc biệt quan trọng giúp cơ thể vận hành theo đúng nhịp sinh học tự nhiên.

Nhiều nghiên cứu về mối liên quan giữa gen *GH* với các tính trạng sinh trưởng đã được tiến hành. Nisen và Larsen (1991) cho thấy sự sai khác trong gen *GH* có thể ảnh hưởng trực tiếp đến sự biểu hiện của các protein liên quan đến trục sinh trưởng. Knorr và cs. (1997) khi nghiên cứu đa hình *Apal* và *Hinpl* đã chỉ ra mối liên kết giữa các kiểu gen với các tính trạng về mỡ (dày mỡ lưng, khối lượng mỡ lưng, tỷ lệ nạc mỡ, phần trăm thịt nạc, phần trăm thịt mỡ và dày mỡ lưng ở phần hông) trên quần thể con lai F2 (Meishan x Pietrian).

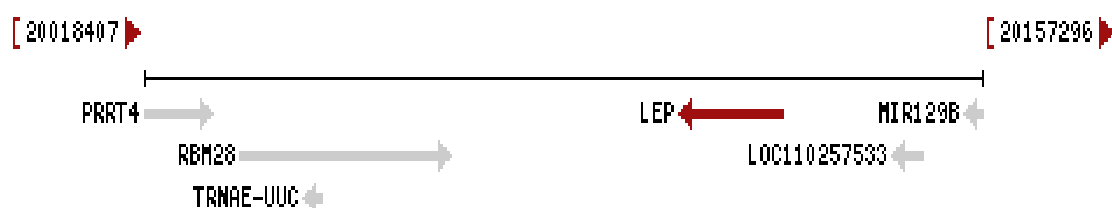
Đa hình *DedI*-RFLP cũng được khẳng định có liên quan đến dày mỡ lưng và tăng khối lượng trên lợn Landarce (Franco và cs., 2005). Gần đây, đa hình *FokI*-RFLP của gen *GH* cũng được báo cáo là có liên quan đến các tính trạng thân thịt và sinh trưởng (Biziené và cs., 2011; Faria và cs., 2006; Lyubov và cs., 2017).

Nghiên cứu 2 điểm đa hình gen A781G, A1575G trong gen *GH* và mối liên quan của chúng với khoảng cách lứa đẻ (LS), khảo sát ở cả giống dê sinh sản cao (Matou, n = 182) và giống dê sinh sản thấp (Boer, n = 352) bằng cách sử dụng phương pháp PCR-RFLP. Kết quả cho thấy hai locus của gen *GH* có liên quan nhiều đến năng suất sinh sản tốt (Zhang và cs., 2011).

#### **1.2.5. Gen *LEP* (*Leptin*)**

Gen *LEP* nằm trên NST số 18 (q13 - q21) gồm 3 exon và 2 intron (mã trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen: NC\_010454.4). Gen *LEP* mã

hoá phân tử protein có khối lượng phân tử 16 kDa. *LEP* đóng một vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh lượng thức ăn và cân bằng năng lượng.



Nguồn: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term= NC\\_010460.4+Lep](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NC_010460.4+Lep)

### Hình 1.6. Vị trí *LEP* trên NST số 18 - NC\_010460.4

Các đa hình C867T, A1112G, G3714T, A2845T, T3996C, G2728A, C798T, T2411C, T3266G và T3469C (Jiang và Gibson, 1999; Kennes và cs., 2001; Oliveira và cs., 2006) đã được xác định trên gen *LEP*, trong đó đa hình T3469C được biết đến có mối liên kết cao với khả năng tiêu tốn thức ăn và tăng khối lượng. Stratil và cs. (1997) đã mô tả đa hình T3469C thuộc exon 2 và được xác định khi sử dụng enzyme giới hạn *HinfI*. Khi đánh giá mối liên kết giữa T3469C với các tính trạng thân thịt, kết quả nghiên cứu của Jiang và Gibson (1999) cho thấy đa hình T3469C có thể liên quan lượng mỡ thân thịt của lợn. Sự sai khác có ý nghĩa giữa các kiểu gen của đa hình *LEP-HinfI* được tìm thấy khi so sánh tỷ lệ nạc và tăng khối lượng trên lợn Landrace của Ba Lan (Kulig và cs., 2001). Mối liên kết giữa đa hình T3469C với tiêu tốn thức ăn và tăng khối lượng cũng được khẳng định trên giống lợn Landrace và lợn lai giữa con đực là lợn nội của Brazil với con cái Landrace, Large White và Pietrain (Kennes và cs., 2001; Oliveira và cs., 2006).

Đa hình gen *LEP* ở bò có liên quan đến lượng thức ăn, tính trạng thân thịt và tốc độ sinh trưởng, sản lượng sữa (Banos và cs., 2008), chức năng miễn dịch (Asiamah và cs., 2009), tử vong trước khi sinh của bê (Brickell và cs., 2010) và khoảng thời gian đẻ (Almeida và cs., 2003). Vì vậy, gen *LEP* là một trong những gen ứng viên để phát hiện động vật có khả năng cho năng suất và thích ứng cao (Datta và cs., 2012).

### 1.2.6. Gen *PIK3C3* (Class 3 phosphoinositide-3-kinase)

Gen *PIK3C3* nằm trên NST số 6 (q22 - q23), nơi tập trung nhiều các locus QTL liên quan đến tỷ lệ sinh trưởng, dày mỡ lưng và các tính trạng sinh sản khác (Hirose và cs., 2011). Do đó, gen *PIK3C3* cũng là một gen ứng viên cho chọn lọc bằng chỉ thị phân tử.



Nguồn: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NC\\_010448.4+PIK3C3](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NC_010448.4+PIK3C3)

### Hình 1.7. Vị trí *PIK3C3* trên NST số 6 - NC\_010448.4

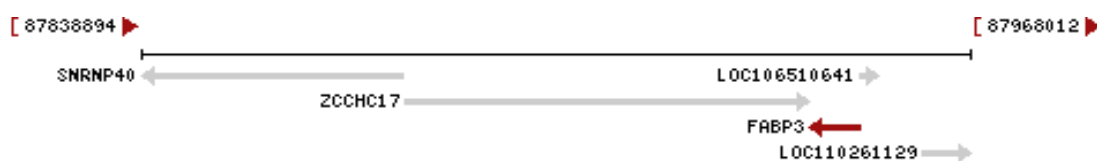
*PIK3C3* là một thành viên của gia đình *phosphoinositide-3-kinase*. Các nghiên cứu sinh hóa đã xác định được hai phức hợp protein chứa *PIK3C3* ở tế bào động vật có vú. Phức hợp I chứa *PIK3C3/PIK3R4/BECN1/ATG14*. Phức hợp II bao gồm *PIK3C/PIK3R4/BECN1/UVRAG*. *PIK3C3* đóng vai trò quan trọng trong việc vận chuyển nội bào, thực bào, hoạt động chuyển tín hiệu điều khiển thụ thể (Backer, 2016).

Kim và cs. (2005) đã giải trình tự toàn bộ gen *PIK3C3* của lợn và tìm được năm điểm đa hình đơn SNP (C339G, C1401T, A2058G, A2256G và C2604T). Sử dụng thế hệ con lai F2 giữa lợn đực nội Hàn Quốc và lợn cái Landrace, nhóm tác giả đã phân tích mối liên kết của đa hình C2604T với tính trạng sinh trưởng và tỷ lệ mỡ giết. Kết quả cho thấy alen C có ảnh hưởng tích cực và ý nghĩa đến thành phần mỡ. Nghiên cứu khác của Hirose và cs. (2011) trên giống lợn Duroc cũng cho thấy alen C của đa hình C2604T có ảnh hưởng tích cực đến tăng khối lượng trung bình ngày, dày mỡ lưng và tỷ lệ mỡ giết.

### 1.2.7. Gen *FABP3* (Fatty acid binding protein)

Ở lợn, gen *FABP3* nằm trên NST số 6. Gen *FABP3* biểu hiện nhiều trong các mô cơ quan như: ruột, gan, thận, tim, chúng có ảnh hưởng đến

các con đường chuyển đổi tín hiệu trong tế bào liên quan đến quá trình nhận hay sử dụng các axit béo chuỗi dài.



Nguồn: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term= NC\\_010448.4+ FABP3](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NC_010448.4+FABP3)

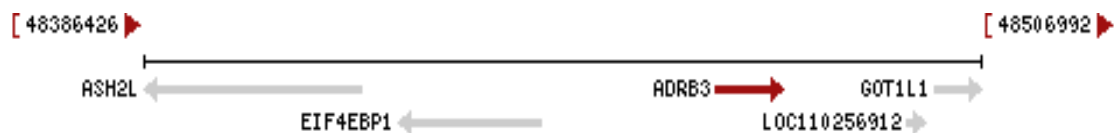
### Hình 1.8. Vị trí *FABP3* trên NST số 6 - NC\_010448.4

Gen *FABP3* có liên quan đến các protein liên kết phối tử kỵ nước trong tế bào chất và chuyển hóa lipit bằng cách vận chuyển nội bào các axit béo chuỗi dài liên kết với chất béo acyl-coA và acyl-L-Carnitines (Glatz và cs., 2003). Trên giống lợn Yorkshire, các đa hình đơn nucleotit được phát hiện ở các điểm 80 (A/G), 167 (A/G), 260 (A/G), 295 (A/G), 394 (T/C) và 440 (A/G) cho thấy sự thay thế của các axit amin tại các điểm 80 (S thành G), 167 (T thành A) và 260 (S thành G). Trong đó, đa hình gen *FABP3* ở vị trí 167 được chứng minh có liên kết với dày mỡ lưng và tỷ lệ mỡ giắt (Cho và cs., 2011). Trong một nghiên cứu khác đối với các giống lợn Yanan, Jinhua, Duroc, Landrace, Yorkshire và lợn lai DLY, đa hình đơn nucleotide trên gen *FABP3* được phát hiện bằng enzyme cắt giới hạn *HinfI* cho thấy rằng, locus *FABP3/HinfI* có ảnh hưởng đến tỷ lệ mỡ giắt trên dòng lợn DLY và Yanan (Chen và cs., 2014). Khi so sánh biểu hiện mRNA và biểu hiện protein *FABP3* giữa lợn Tibetan (tỷ lệ mỡ giắt cao) và lợn Large White (tỷ lệ mỡ giắt thấp), sự biểu hiện của *FABP3* ở các mô mỡ lưng, cơ thăn và gan ở lợn Tibetan cao hơn một cách đáng kể so với lợn Large White. Ba đa hình đơn nucleotide SNPs (C-1375G, C-314T và T-158G) giữa hai quần thể lợn Tibetan và lợn Large White được xác định, kết quả cho thấy đa hình đơn nucleotide C-1375G có thể đóng vai trò vào quá trình điều hòa hoạt động của gen *FABP3*, từ đó nghiên cứu đã cung cấp những dữ liệu quan trọng cho nghiên cứu trong tương lai về cơ chế điều hòa của *FABP3* có liên quan đến quá trình tích tụ mỡ ở lợn (Shang và cs.,

2019). Trong nghiên cứu đa hình đơn nucleotit gen *FABP3* của Chmurzynska và cs., 2007, ba đa hình đơn nucleotit C(-221)T, C(-160) và T(-158)G được phát hiện nhưng chỉ có đa hình đơn nucleotit T(-158)G có mối liên kết với dày mỡ lưng. Kết quả của các nghiên cứu trên chỉ ra rằng đa hình gen *FABP3* có thể được sử dụng như chỉ thị phân tử trong chương trình chọn lọc giống liên quan tới tình trạng tỷ lệ mỡ giết.

### 1.2.8. Gen *ADRB3* (*Adrenergic beta-3*)

Gen *ADRB3* mã hóa cho thụ thể adrenergic beta-3 và nằm trên nhiễm sắc thể số 15 (q13-q14) trong các vùng locus tính trạng số lượng (QTL) đặc trưng cho tính trạng chất béo (Nowacka-Wozuk và cs., 2008).



Nguồn: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NC\\_010457.5+ADRB3](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NC_010457.5+ADRB3)

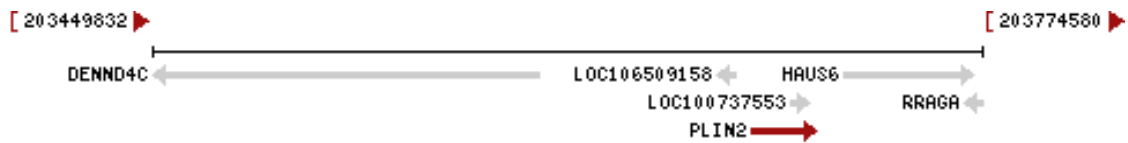
### Hình 1.9. Vị trí *ADRB3* trên NST số 15 - NC\_010457.5

Thụ thể adrenergic beta-3 là chất trung gian chính trong các phản ứng lipolytic và phản ứng sinh nhiệt trong mô mỡ. Hơn nữa, sản phẩm của gen *ADRB3* chủ yếu giúp điều hòa sự cân bằng năng lượng dưới sự kiểm soát thần kinh giao cảm (Cieslak và cs., 2009). Trong một nghiên cứu về mối tương quan của đa hình đơn nucleotide trong các gen ứng viên về tính trạng chất béo trong cơ thăn ở lợn lai Shanzhu × Duroc, *ADRB3* được chứng minh có sự liên kết với 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. Cùng với đó, *ADRB3* c.1192G>A trong phản ứng PCR-RFLP được cắt bằng enzyme giới hạn *TaqI* có mối liên kết chặt chẽ với tổng số axit béo không bão hòa đơn (MUFA) và tổng số axit béo không bão hòa (PUFA) (Xue và cs., 2015).

### 1.2.9. Gen *PLIN2* (*Perilipin 2*)

Gen *PLIN2* nằm trên NST số 1 bao gồm 10 exon. Gen *PLIN2* mã hoá protein cytosolic đóng vai trò thúc đẩy sự hình thành và ổn định các giọt

chất béo nội bào, các bào quan tham gia vào quá trình dự trữ chất béo (Brasaemle và cs., 1997; Gao và Serrero, 1999).



Nguồn: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term= NC\\_010443.5+ PLIN2](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NC_010443.5+PLIN2)

### Hình 1.10. Vị trí *PLIN2* trên NST số 1 - NC\_010443.5

Gen *PLIN2* ở lợn là một gen ứng viên liên quan đến quá trình tích tụ chất béo, tính trạng đa gen ảnh hưởng đến thân thịt và chất lượng thịt. Sáu đơn hình đa nucleotide (SNP) mới được phát hiện bằng phương pháp giải trình tự 32 mẫu từ 5 giống lợn Italian Large White, Italian Duroc, Italian Landrace, Belgian Landrace và Pietrain (Davoli và cs., 2011). Hai SNP nằm trong vùng introns, hai SNP nằm trong vùng không dịch mã 3'-UTR và hai SNP sai nghĩa (missense) được tìm thấy trong vùng exon. Đột biến 3'-UTR (GU461317:g.98G>A) ở lợn Italian Duroc có sự liên kết với mức tăng khối lượng trung bình ngày, tỷ lệ chuyển đổi thức ăn, tỷ lệ nạc và các giá trị ước lượng trọng lượng chăn nuôi (Davoli và cs., 2011).

#### 1.2.10. Gen *ACSL4* (*Acyl coA synthetase*)

Gen *ACSL4* nằm trên NST giới tính X của lợn giữa chỉ thị SW2456 và SW1943 gần với locus tính trạng số lượng đối với khả năng sinh trưởng mỡ cơ. Gene *ACSL4* của lợn mã hóa một protein chuỗi dài acyl-CoA synthetase gồm 670 axit amin. Gen *ACSL4* được biểu hiện trong nhiều mô khác nhau: gan, tim, phổi, lá lách, dạ dày, não, cơ xương, mỡ lưng, tử cung, buồng trứng và vú.



Nguồn: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term= NC\\_010461.5+ ACSL4](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NC_010461.5+ACSL4)

### Hình 1.11. Vị trí *ACSL4* trên NST X- NC\_010461.5

Tỷ lệ mỡ giết là một tính trạng phức tạp, có thể bị ảnh hưởng bởi gen đa hình liên quan đến quá trình tổng hợp lipid và quá trình phân hủy axit

béo. Gen mã hóa cho enzyme tổng hợp acyl-coA chuỗi dài (*ACSL*) được kỳ vọng là ứng cử viên đóng vai trò quan trọng ảnh hưởng đến tính trạng tỷ lệ mỡ giết, vì enzyme tổng hợp chuỗi dài acyl-coA là enzyme thiết yếu trong cả hai quá trình tổng hợp lipid và quá trình phân hủy axit béo. Trong đó, gen *ACSL4* trên lợn thuộc họ 5 đồng phân khác nhau về chất nền axit béo, sự phân bố trong các mô, vị trí và quá trình điều hòa (Mercade và cs., 2006). Một nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá các kiểu gen khác nhau của enzyme tổng hợp acyl-coA (locus *ACSL4*, SNP G2645A) có ảnh hưởng đến chất lượng thịt trên lợn DLY bằng phương pháp PCR-RFLP. Kết quả cho thấy, những cá thể mang kiểu gen đồng hợp tử GG có tỷ lệ mỡ giết cao nhất và đồng thời có ảnh hưởng đến các chỉ số đánh giá chất lượng thịt (nước, tỷ lệ glycogen, khả năng đường phân và độ pH) (Rusc và cs., 2011). Trong một nghiên cứu khác trên lợn Yanan, Jinhua, Duroc, Landrace, Yorkshire và DLY, đa hình đơn nucleotide phân tích bởi enzyme cắt giới hạn *RsaI*, kiểu gen đồng hợp tử GG có tỷ lệ mỡ giết cao hơn kiểu gen AA trên lợn DLY. Từ đó cho thấy đa hình gen *ACSL4* đóng vai trò như một chỉ thị phân tử để phát triển hệ thống chọn nuôi lợn nhằm nâng cao tỷ lệ mỡ giết (Chen và cs., 2014).

### **1.3. MỠ GIẤT VÀ VAI TRÒ CỦA MỠ GIẤT**

#### **1.3.1. Khái niệm mỡ giết**

Mỡ giết là chất béo (phần mô mỡ) nằm xen kẽ giữa thịt nạc trong cơ, bao gồm mô mỡ nằm xen trong mô và sợi cơ, tất cả các hạt mỡ nằm trong tế bào cơ và giữa sợi cơ; do đó mỡ giết bám xung quanh hoặc trong bó sợi cơ. Về mặt hóa học, mỡ giết được cấu tạo chủ yếu từ các phân tử phospholipid, triacylglycerol, cholesterol và các axit béo tự do. Phospholipid là thành phần chính của màng tế bào và luôn đóng góp cho hàm lượng mỡ giết trong thịt lợn với tỷ lệ gần như không thay đổi trong các mô cơ giống nhau, đồng thời có sự thay đổi giữa các mô cơ khác nhau.

Hiện nay, ở Việt Nam người tiêu dùng không chỉ quan tâm tới an toàn vệ sinh thực phẩm, mà còn chú ý đến chất lượng thịt đó là độ mềm và

hương vị của thịt. Theo Goodwin (2004) thịt lợn có tỷ lệ mỡ giết cao sẽ cho hương vị thơm ngon hơn và được nhiều người tiêu dùng chấp nhận hơn. Tỷ lệ mỡ giết trong cơ thăn thịt lợn thấp sẽ làm cho thịt khô cứng hơn, đồng thời, làm giảm độ ngon miệng (Doyle, 2007).

Tỷ lệ mỡ giết trong thăn thịt lợn phụ thuộc rất nhiều yếu tố, trong đó giống được xác định là yếu tố có tác động mạnh nhất. Nghiên cứu của Lê Phạm Đại và cs. (2014) cho thấy tỷ lệ mỡ giết cao nhất ở giống Duroc (2,98%), kế đến ở giống Yorkshire (2,21%), Landrace (2,20%), Móng Cái (1,87%) và thấp nhất ở giống Pietrain (1,48%). 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. Công bố của Goodwin (2004) cho thấy giống lợn Duroc có tỷ lệ mỡ giết cao nhất (3,07%), tiếp đến là giống Berkshire (2,51%), giống Chester White (2,39%), giống Spot (2,37%), giống Poland China (2,18%) và giống Hampshire (2,09%). Hai giống Landrace và Yorkshire có tỷ lệ mỡ giết thấp nhất (1,70 - 1,90%).

Ngoài ra khối lượng giết mổ cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ mỡ giết Eugenia và cs. (2007) lợn thịt có trọng lượng 80 kg có tỷ lệ mỡ giết trong thăn thịt là 1,91%; trọng lượng 90 kg có tỷ lệ mỡ giết trong thăn thịt là 2,31%; trọng lượng từ 100kg có tỷ lệ mỡ giết trong thăn thịt là 2,37% và trọng lượng trên 100 kg có tỷ lệ mỡ giết trong thăn thịt là 2,67%. Nghiên cứu của Marjeta và cs. (2007) cho thấy với mức chênh lệch khối lượng giết mổ 100 kg và 125 kg, tỷ lệ mỡ giết cũng có chênh lệch rất lớn, tương ứng 1,29% và 2,70%.

### ***1.3.2. Lợi ích cung cấp từ mỡ giết***

Chất béo có vai trò tham gia vào cấu trúc cơ thể. Ở người trưởng thành, có khoảng 18 - 24% trọng lượng cơ thể là chất béo. Chất béo là chất thiết yếu, có mặt ở màng tế bào và các màng nội quan của tế bào như nhân và ti thể, vì vậy đóng vai trò quan trọng trong các hoạt động sống của tế



bào. Chất béo cũng có vai trò trong dự trữ năng lượng, điều hòa hoạt động, bảo vệ cơ thể trước những thay đổi về nhiệt độ...

Chất béo trong khẩu phần ăn của con người có 2 vai trò chính là cung cấp năng lượng và hấp thu vận chuyển các vitamin tan trong dầu mỡ. Mật độ năng lượng của chất béo cao nhất trong các chất sinh năng lượng. 1 gram chất béo khi đốt cháy trong cơ thể cung cấp 38kj, tương ứng với 9kcal, gấp hơn 2 lần so với chất đạm (Protein) và chất đường bột (Glucid). Chất béo là dung môi vận chuyển (carrier) các vitamin tan trong dầu mỡ (như vitamin A, D, E và K). Các vitamin này vào cơ thể một phần lớn phụ thuộc vào hàm lượng của chất béo trong thực phẩm. Điều đó có nghĩa là khi lượng chất béo trong khẩu phần ăn thấp sẽ dẫn đến giảm hấp thu các vitamin này. Thiếu vitamin A sẽ dẫn đến tình trạng khô mắt, suy giảm thị lực, nghiêm trọng hơn là thoái hóa giác mạc mắt và dẫn đến mù lòa. Cơ thể thiếu hụt vitamin D sẽ dễ mắc các bệnh còi xương, xương yếu và dễ gãy hơn thi gặp phải chấn động. Bên cạnh đó, khả năng hấp thụ vitamin E cũng yếu theo dẫn đến sự chậm phát triển cơ bắp, làm cho cơ thể gặp nhiều rối loạn.

Cristina và cs. (2004) đưa ra bằng chứng cho thấy axit béo linolenic (n-3), linoleic (n-6) và oleic (n-9) có thể điều chỉnh quá trình đóng vết thương da do phẫu thuật. Các axit béo thực hiện các chức năng chính đối với các phản ứng viêm, ở dạng phospholipid cố định trong màng tế bào hoặc như chất trung gian hòa tan lipoic. Các axit béo không bão hòa đa omega-3 trong chế độ ăn uống ( $\omega$ -3 PUFAs) bảo vệ chống lại sự hình thành ung thư ở động vật (Lesley và cs., 2003).

Khi hoàn toàn loại mỡ ra chế độ ăn uống, cơ thể con người sẽ không thể hấp thụ được vitamin K, đây là một loại vitamin có chức năng hỗ trợ điều hòa mạch máu. Cơ thể sẽ giảm chức năng của tế bào mạch máu,

làm tăng nguy cơ xơ vữa động mạch, tắc nghẽn mạch, nhồi máu cơ tim hay đau thắt ngực. Trong mỡ động vật có nhiều chất cholesterol cần thiết cho cấu trúc tế bào, đặc biệt là tế bào thần kinh mà trong dầu thực vật không có. Hơn nữa, mỡ nếu được sử dụng ở mức độ vừa phải sẽ có tác dụng làm bền vững các mao mạch máu, bảo vệ hệ tuần hoàn của cơ thể, dự phòng cho các bệnh xuất huyết não.

## **1.4. KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA LỢN VÀ CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG**

### ***1.4.1. Các chỉ tiêu đánh giá khả năng sinh trưởng***

Sinh trưởng là quá trình tích lũy các chất hữu cơ do đồng hóa và dị hóa, là sự tăng chiều cao, chiều dài, bề ngang, khối lượng của các bộ phận và toàn bộ cơ thể của con vật trên cơ sở tính di truyền có từ đời trước.

*Độ sinh trưởng tích lũy:* Độ sinh trưởng tích lũy là khối lượng, kích thước, thể tích của toàn bộ cơ thể hoặc của từng bộ phận cơ thể tại các thời điểm khảo sát. Mối liên hệ giữa khối lượng và tuổi của vật nuôi được thể hiện bằng đồ thị hình chữ S. Giai đoạn trước thành thực sinh dục có tốc độ sinh trưởng nhanh, sau đó tốc độ sinh trưởng chậm lại và giảm dần cho đến khi đạt ổn định về khối lượng, lúc này vật nuôi thành thực về thể vóc. Tuy nhiên, đường biểu diễn này thay đổi theo loài, phẩm giống, theo điều kiện nuôi dưỡng, cho nên cần so sánh đường biểu diễn thực tế với đường biểu diễn lý thuyết để biết khả năng sinh trưởng của vật nuôi.

*Sinh trưởng tuyệt đối:* được xác định bằng tỷ lệ giữa khối lượng cơ thể vật nuôi tăng lên ( $w_2 - w_1$ ) với khoảng thời gian để tăng được khối lượng đó ( $t_2 - t_1$ ). Chỉ tiêu này được sử dụng để đánh giá khả năng tăng khối lượng trung bình hàng tháng (kg/tháng) hoặc hàng ngày (g/ngày). Sinh trưởng tuyệt đối được mô hình hoá bằng đồ thị parabol. Đối với lợn thịt cần xác định được thời điểm đạt giá trị cực đại (đỉnh parabol) để kết thúc giai đoạn nuôi thịt nhằm đạt hiệu quả cao nhất.

*Sinh trưởng tương đối*: được xác định bằng tỷ lệ giữa khối lượng cơ thể vật nuôi tăng lên ( $w_2 - w_1$ ) với khối lượng tại thời điểm bắt đầu ( $w_1$ ).

#### **1.4.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sinh trưởng**

##### **1.4.2.1. Yếu tố di truyền**

*Giống*: là yếu tố tiền đề, quan trọng quyết định đến năng suất và phẩm chất vật nuôi. Các giống khác nhau có khả năng sinh trưởng, lượng tiêu thụ thức ăn và khả năng thích nghi với điều kiện môi trường khác nhau. Giống lợn ngoại thường có năng suất cao và tiêu tốn thức ăn ít hơn lợn nội. Trong cùng một giống, cá thể mang kiểu gen có lợi có khả năng sinh trưởng và thích nghi tốt hơn.

Trong nghiên cứu của Nguyễn Văn Đức và cs. (2010) cho thấy tăng khối lượng của giống lợn nội Móng Cái (MC) đạt 320,04g/ngày thấp hơn nhiều so với các giống nhập nội như Landrace (LR), Large White (Y), Pietrain (Pi) lần lượt đạt 704,33; 674,27; 675,60 g/ngày. Lượng tiêu tốn thức ăn (TTTA) lợn MC nuôi trong nông hộ ở Đông Anh có mức TTTA cao, đó là 4,20 kg. TTTA ở 3 giống Pi, LR và Y là 3,30; 3,32 và 3,34 kg. Theo nghiên cứu của Nguyễn Đức Hưng (2011) lợn cỏ có tầm vóc nhỏ, khả năng sinh trưởng chậm. Khối lượng 6 - 12 tháng tuổi đạt tương ứng 10,3 và 25,0 kg/con. Tăng khối lượng của 3 giống (282 lợn Duroc; 140 Piétrain và 945 Landrace) đạt tương ứng là: 755,06; 732,42 và 732,60 g/ngày (Ngô Thị Kim Cúc và cs., 2015).

*Ảnh hưởng đến phẩm chất thịt*: Giữa các giống khác nhau sẽ có phẩm chất thịt xẻ cũng như chất thịt khác nhau. Hầu hết các giống lợn nội, thân thịt có tỷ lệ mỡ cao (tỷ lệ mỡ lên tới 48% so với thịt xẻ và tỷ lệ nạc rất thấp, lợn Móng Cái tỷ lệ nạc cũng chỉ đạt 37%). Trong khi đó, hầu hết các giống lợn ngoại nhập nội chủ yếu là những giống hướng nạc như lợn Yorkshire có tỷ lệ nạc 52 - 53%, lợn Landrace có tỷ lệ nạc 54-56%, đặc biệt là lợn Pietrain có tỷ lệ nạc rất cao, trên 60%. Tuy nhiên, những giống lợn nội thường có vị thơm, ngon, thớ cơ nhỏ, mịn. Trái lại,

giống lợn Pietrain tuy có tỷ lệ nạc cao thịt thường nhão, chua (pH giảm nhanh sau khi mổ 45 phút) (Vũ Đình Tôn, 2005).

*Giới tính:* Đối với lợn đực nuôi không thiếu thì khả năng sinh trưởng và phát triển nhanh hơn, tỷ lệ thân thịt cao hơn và chuyển đổi thức ăn hiệu quả hơn lợn cái. Tuy nhiên, mùi trong thịt xuất hiện khi lợn đực trưởng thành. Ngày nay, lợn sinh trưởng nhanh hơn và được giết thịt sớm hơn, bởi vậy vấn đề mùi hôi cũng được giảm đáng kể.

#### 1.4.2.2. Dinh dưỡng

Mức dinh dưỡng bao gồm chất đạm (protein), bột đường (năng lượng Kcal), chất xơ, nước, muối khoáng và vitamin.

*Protein* đóng vai trò trong việc hình thành các cơ, bắp thịt, phát triển các cơ quan trong cơ thể lợn. Trong khẩu phần ăn, nếu thiếu protein, lợn sẽ rất còi cọc, chậm lớn, chậm tăng khối lượng, cơ thể suy yếu, các cơ vai, hông, đùi không nở rộng, hình dáng lợn không đẹp. Protein có trong nhiều loại thức ăn tự nhiên từ động vật như bột cá, tôm, cua, bột sữa, thức ăn thực vật như đỗ, đậu tương, đậu nành, khô dầu dừa, khô dầu lạc,... Trong thức ăn cho lợn nhanh lớn dạng công nghiệp, lợn con giai đoạn cai sữa đến 30 kg cho ăn thức ăn có protein khoảng 17 - 18%. Giai đoạn lợn 30 - 60 kg cho ăn thức ăn chứa khoảng 15% - 16% protein. Giai đoạn từ 60 kg tới xuất chuồng cho ăn thức ăn chứa 14 - 15% protein.

*Chất xơ* đóng vai trò hỗ trợ lợn tiêu hóa tốt hơn, tăng khả năng hấp thu dinh dưỡng, các chức năng tiêu hóa. Chất xơ có nhiều trong các loại rau xanh bổ sung bên ngoài. Trong thức ăn cho lợn nhanh lớn dạng công nghiệp, thành phần chất xơ chiếm từ 6% - 8%.

*Muối khoáng* cần thiết cho sức khỏe của lợn. Muối khoáng cũng tốt cho quá trình phát triển hệ xương, khung xương của lợn. Muối khoáng giúp bảo vệ các tế bào trong cơ thể. Thiếu hụt muối khoáng dẫn tới tình trạng lợn bị suy nhược, khung xương yếu, chân run, móng không chắc. Thức ăn cho lợn nhanh lớn có hàm lượng muối khoáng dao động 0,5 - 0,7%. Lượng

muối khoáng này đã đáp ứng đủ nhu cầu của lợn.

*Nước* là thành phần bắt buộc trong chế độ dinh dưỡng của lợn. Nếu thiếu nước, lợn không thể sinh trưởng tốt, bởi nước là yếu tố trực tiếp tham gia vào các phản ứng thủy phân xảy ra trong tế bào; tham gia vào các quá trình trao đổi chất, quá trình tiết; điều hòa nhiệt độ môi trường bên trong cũng như bên ngoài cơ thể sinh vật; khi nước được dùng làm môi trường khuếch tán, hay dung môi, tham gia vào phản ứng,... nước ở trạng thái tự do, chiếm đến 95% lượng nước trong cơ thể.

*Vitamin* đóng vai trò quan trọng đối với sức khỏe và sự phát triển của lợn. Vitamin là chất hỗ trợ cho hầu hết các hoạt động tái tạo tế bào, hỗ trợ các chất khác phát huy vai trò của mình. Có thể bổ sung vitamin cho lợn theo dạng thức ăn bổ sung dinh dưỡng, chế phẩm vi sinh, hay từ các nguồn thức ăn tự nhiên như rau, củ, quả,...

#### *1.4.2.3. Môi trường xung quanh*

Môi trường xung quanh có tác động trực tiếp đến đàn lợn nuôi. Các yếu tố như nhiệt độ, độ ẩm của tiêu khí hậu chuồng nuôi tác động đến khả năng ăn vào, tiêu hóa, hấp thu và sức khỏe đàn lợn.

*Nhiệt độ và độ ẩm* có mối liên quan mật thiết. Nhiệt độ và ẩm độ thích hợp thì lợn ăn tốt, tỷ lệ tiêu hóa cao, tích lũy cao, sinh trưởng phát triển nhanh và cho năng suất cao. Độ ẩm cao hơn 80% hay thấp hơn 50% đều làm cho lợn bị ảnh hưởng lớn về sức khỏe. Nhiệt độ tiêu khí hậu chuồng nuôi từ 22 - 27°C, độ ẩm 65 - 70% là thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của lợn thịt.

*Tốc độ gió* có tác dụng cung cấp không khí sạch và giúp giảm độ ẩm trong trại. Tốc độ gió thích hợp trong trại đẻ là dưới 0,15 m/s; trong trại lợn thịt và trại sinh sản là dưới 0,2 m/s. Lợn con đặc biệt nhạy cảm với gió lạnh, nếu lợn bị gió lạnh lùa vào sẽ bị mất nhiệt dẫn tới tiêu chảy và ho. Theo các nghiên cứu, lợn thịt dưới 60 kg nếu bị gió lạnh thổi trực tiếp vào cơ thể thì nhiệt độ lợn cảm nhận sẽ bị giảm xuống. Nếu tốc độ gió là 0,15

m/s chạm trực tiếp vào lợn thì nhiệt độ cảm nhận sẽ giảm xuống  $4^{\circ}\text{C}$ , tốc độ gió  $0,46\text{ m/s}$  nhiệt độ cảm nhận sẽ giảm xuống  $7,2^{\circ}\text{C}$  và tốc độ gió  $0,52\text{ m/s}$  sẽ giảm xuống khoảng  $10^{\circ}\text{C}$ . Do đó, người quản lý trại cần lưu ý theo dõi để kiểm soát được tốc độ gió cho thích hợp tại các trại nuôi.

*Nền chuồng* có những tác động trực tiếp đến sức khỏe lợn, bởi lợn nằm trực tiếp lên nền chuồng nuôi và chịu tác động từ các mức nhiệt độ trên nền. Tùy thuộc vào chất liệu nền chuồng khác nhau mà chúng có những tác động khác nhau lên lợn nuôi.

*Mùa vụ* ảnh hưởng đến khả năng chống chịu và sinh trưởng của lợn. Lợn điều chỉnh thân nhiệt của chúng bằng cách cân bằng nhiệt lượng mất đi với nhiệt tạo ra qua trao đổi chất và lượng nhiệt hấp thụ được. Khi sự khác nhau giữa thân nhiệt và nhiệt độ môi trường trở nên lớn thì tỉ lệ thoát nhiệt sẽ tăng lên. Về mùa lạnh, nhiệt độ môi trường xuống thấp dưới nhiệt độ hữu hiệu thì tăng thêm chi phí thức ăn để tăng nhiệt lượng trao đổi chất giúp vật nuôi tự tạo ra nhiệt lượng để giữ ấm cho cơ thể.

*Ảnh hưởng của thời gian nuôi* thời gian nuôi ảnh hưởng lớn đến năng suất thịt và mục tiêu khai thác thịt có tỷ lệ nạc và mỡ khác nhau. Dựa vào quy luật sinh trưởng tích lũy chất dinh dưỡng trong cơ thể lợn và khả năng tích tạo mỡ, người ta đưa ra các phương thức nuôi khác nhau: nuôi lấy nạc đòi hỏi thời gian nuôi ngắn, khối lượng giết thịt nhỏ hơn phương thức nuôi lấy thịt - mỡ, còn phương thức nuôi lấy mỡ cần thời gian nuôi dài, khối lượng giết thịt lớn hơn.

## **1.5. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC**

### ***1.5.1. Tình hình nghiên cứu trong nước***

#### ***1.5.1.1. Khả năng sinh trưởng và các yếu tố ảnh hưởng***

Các yếu tố ảnh hưởng (như giống, nhiệt độ, protein, chất khoáng, năng lượng ăn vào, vitamin,...) đóng vai trò quan trọng đến sự sinh trưởng, phát triển và chất lượng thịt của vật nuôi.

Các giống lợn khác nhau có khả năng sinh trưởng, phát triển, chất lượng thịt khác nhau. Giống lợn nội thường có khả năng sinh trưởng thấp hơn giống lợn ngoại. Lợn Lũng Pù, lợn Vân Pa và lợn Sóc có khả năng sinh trưởng chậm: khối lượng cai sữa/con đạt 3,02 - 4,98 kg/con ở thời điểm cai sữa từ 44,59 - 56,47 ngày, tăng khối lượng đạt 76,67 - 208,0 g/con/ngày (Đào Thị Bình An và cs., 2019). Trong nghiên cứu của Ngô Thị Kim Cúc và cs. (2015) trên 282 lợn Duroc; 140 Piétrain và 945 Landrace, kết quả nghiên cứu cho thấy tăng khối lượng của 3 giống này đạt tương ứng là: 755,06; 732,42 và 732,60 g/ngày.

Tỷ lệ lysine/ME có trong khẩu phần ăn ảnh hưởng đến sinh trưởng của lợn. Tỷ lệ lysine/ME cao nhất trong khẩu phần là 3,437 g/1000kcal, đạt mức sinh trưởng cao nhất so với những lô có tỷ lệ lysine/ME thấp hơn. Khi giảm mức protein thô trong khẩu phần mà vẫn cân đối đủ tỷ lệ lysine/ME ở mức cao thì vẫn duy trì mức sinh trưởng cao của lợn giai đoạn 18 - 50 kg (Trần Văn Phùng và cs., 2008).

Khối lượng cơ thể và mức tăng khối lượng của lợn con ở các giai đoạn từ sơ sinh đến 3 và từ 3 đến 8 tuần tuổi tăng theo khối lượng sơ sinh/con (Phan Xuân Hào và cs., 2008).

Hiệu quả sử dụng thức ăn có xu hướng giảm đi và chi phí thức ăn cho một kg tăng khối lượng tăng lên khi cho lợn ăn khẩu phần giảm protein. Các chỉ tiêu về năng suất thịt và thành phần hóa học của thịt lợn không có sự khác biệt, mặc dù tỉ lệ nạc có xu hướng giảm. Trong chăn nuôi lợn ngoại giai đoạn sinh trưởng hiện nay, nên giảm tỉ lệ protein trong thức ăn có sử dụng axit amin tổng hợp để góp phần tiết kiệm thức ăn đạm, giảm ô nhiễm môi trường (Bùi Thị Thơm và cs., 2009).

Bùi Thị Thơm và cs. (2012) cho biết mức năng lượng 3000 - 2900 kcal/kg, protein thô trong khẩu phần là 16 - 14% thì tốc độ sinh trưởng của lợn rừng lai F2 tăng hơn 4,31%; giảm tiêu tốn thức ăn tinh 4,71% và thức ăn xanh 5,97%, đồng thời giảm được chi phí thức ăn 4,74% so với lô thí

nghiệm có mức năng lượng 2900 - 2800 kcal/kg thức ăn ở cùng giai đoạn tuổi. Chất lượng thịt nạc có xu hướng tăng lên khi năng lượng trao đổi trong khẩu phần hợp lý.

Nghiên cứu của Lê Trọng Đại và cs. (2014) khảo sát tỷ lệ mỡ giết trên các giống lợn thuần Duroc, Yorkshire, Landrace, Móng Cái và Pietrain và một số tổ hợp lợn lai thương phẩm. Kết quả khảo sát cho thấy tỷ lệ mỡ giết cao nhất ở giống Duroc (2,98%), kế đến ở giống Yorkshire (2,21%), Landrace (2,20%), Móng Cái (1,87%) và thấp nhất ở giống Pietrain (1,48%). 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.

Nghiên cứu 120 lợn lai thương phẩm ( DLY và DmgLY) được tạo thành từ phối giống bằng 2 dòng đực Duroc khác nhau: Duroc bình thường và Duroc được chọn lọc theo hướng mỡ giết trên nền nái F1(Landrace x Yorkshire) tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Chăn nuôi lợn Bình Thắng và Đồng Nai. Kết quả cho thấy tỷ lệ mỡ giết trong thăn thịt lợn thương phẩm từ dòng Duroc được chọn lọc theo hướng mỡ giết cao hơn so với từ dòng Duroc thường ở mọi thời điểm khối lượng khác nhau 75 kg, 100 kg và 125 kg là 2,73%, 2,92% và 3,06% so với 2,43%, 2,66% và 2,78% (Lê Trọng Đại và cs., 2015).

Sử dụng thức ăn dạng viên và dạng lỏng so với thức ăn dạng bột đã tăng 5,12% và 3,92% TKL; tăng 1,62% và 2,16% lượng thức ăn ăn vào; cải thiện 2,95% và 2,19% hiệu quả sử dụng thức ăn. Việc cho ăn thức ăn dạng lỏng và dạng viên đã mang lại lợi ích kinh tế tốt, tiết kiệm được 2,4 - 2,1% tiền so với thức ăn dạng bột (Lã Văn Kính và cs., 2015).

Nghiên cứu của Lê Văn An và cs. (2017) cho thấy bổ sung hỗn hợp chế phẩm probiotic vào khẩu phần thức ăn ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng, hiệu quả sử dụng thức ăn. Mức độ bổ sung ( $3 \times 10^8$  CFU/g TĂ) vào khẩu phần thức ăn đạt tốc độ sinh trưởng và chuyển hóa thức ăn là tốt nhất.



Đồng thời, chi phí thức ăn giảm 16% trong toàn bộ giai đoạn thí nghiệm so với lô đối chứng (không bổ sung).

Khi bổ sung thức ăn hỗn hợp vào khẩu phần ở mức 20% đã cải thiện được tăng khối lượng, hệ số chuyển hóa thức ăn, dài thân thịt và tỷ lệ thịt xẻ nhưng tỷ lệ thịt nạc giảm và tỷ lệ mỡ tăng. Cụ thể: tăng khối lượng và hệ số chuyển hóa thức ăn được cải thiện lần lượt ở mức 93,87 g/con/ngày và 4,76 kg thức ăn/kg tăng khối lượng khi bổ sung 20% thức ăn hỗn hợp vào khẩu phần. Mặc dù dài thân thịt và tỷ lệ thịt xẻ cũng được cải thiện lần lượt ở mức 57,5 và 66,83%, nhưng tỷ lệ thịt nạc giảm còn 39,18% và tỷ lệ mỡ tăng lên 21,88% (Lâm Thái Hùng và cs., 2019).

Việc bổ sung nano khoáng trong thức ăn giúp tăng khả năng chuyển hóa thức ăn ở lợn thịt, giảm lượng thức ăn cho 1 kg tăng khối lượng đồng thời làm giảm lượng các kim loại thải ra môi trường (Nguyễn Hoàng Sơn, 2020).

#### 1.5.1.2. Nghiên cứu đa hình gen và mối liên quan đến một số tính trạng sản xuất

Ở Việt Nam, một số nghiên cứu về các gen ứng viên liên quan đến tính trạng sinh trưởng và chất lượng thịt cũng đã được tiến hành trên các giống lợn bản địa, lợn ngoại và các tổ hợp lai lợn nội và lợn ngoại. Trong nghiên cứu của Nguyễn Văn Hậu và cs. (2000) đã xác định được hai alen C2 và C4 của đa hình *CfoI*-RFLP trên gen *GH* ở giống lợn Móng Cái nhưng trong quần thể nghiên cứu chỉ có hai kiểu gen C2C2 và C4C4.

Lê Thị Thúy và cs. (2004) đã nghiên cứu đa hình gen *LEP* trên các giống lợn Landrace, Đại Bạch, Móng Cái và lợn Bản nuôi tại Việt Nam. Kết quả cho thấy, có sự sai khác đặc trưng giữa lợn ngoại và lợn nội. Trong khi lợn Landrace và Đại Bạch 100% mang kiểu gen GG, lợn Móng Cái và lợn Bản chủ yếu mang kiểu gen AA với tỷ lệ tương ứng là 85% và 100%.

Nguyễn Văn Cường và cs. (2006) đã phân tích đa hình các gen *GH*, *MYOG*, *H-FABP*, *RYR1*, *FSH* và *PRLR* của lợn bằng kỹ thuật PCR -RFLP

để xác định tần suất alen ở các giống lợn khác nhau. Tác giả cho biết các giống lợn nội có mức độ đa hình cao hơn so với các giống lợn ngoại. Kết quả nghiên cứu cho thấy đa hình gen *GH* có mối liên quan với tăng khối lượng. Kết quả này cho thấy triển vọng có mối liên quan của chỉ thị phân tử với tốc độ tăng khối lượng của lợn.

Nguyễn Văn Anh và cs. (2010) đã xác định mối quan hệ giữa đa hình *HhaI*-RFLP trên gen *GH* với tính trạng tăng khối lượng các nhóm lợn Móng Cái, Yorkshire và Móng Cái Lai: F<sub>1</sub>(YxMC) và F<sub>2</sub>(YxMC). Kết quả cho thấy lợn mang kiểu gen C2C2 tăng khối lượng cao nhất, kiểu gen C2C4 tăng khối lượng và kiểu gen C4C4 tăng khối lượng thấp nhất.

Nghiên cứu được tiến hành trên lợn đực rừng Thái Lan và con lai giữa lợn đực rừng Thái Lan và lợn nái địa phương Pác Nặm. Nguyễn Văn Nơi (2010) phân tích đa hình gen *MC4R* và *GHRH* thấy rằng lợn mang kiểu gen AA có tốc độ tăng khối lượng, tỷ lệ nạc cao hơn và dày mỡ lưng thấp so với lợn mang kiểu gen (AG; GG).

Phân tích đa hình gen *LEP* trên lợn Kiêng Sắt bằng kỹ thuật PCR-RFLP Hồ Trung Thông và cs. (2011) thu được kết quả tần số kiểu gen AA chiếm tỉ lệ cao nhất (77,78%), kiểu gen GA và GG chiếm tỉ lệ thấp (11,11%).

Nghiên cứu nhằm đánh giá tính đa hình của một số gen *GH*, *GHRH* và *LEP* và *PIT1* cho tính trạng tăng khối lượng ở các giống lợn Móng Cái và lợn Yorkshire. Hai alen khác nhau của các gen *GHRH* và *LEP* và *PIT1* đã được xác định ở lợn Móng Cái và lợn Yorkshire. Tính đa hình của gen *GH* chỉ được xác định ở lợn Yorkshire. Lợn Móng Cái có kiểu gen *GHRH*-AA có mức tăng khối lượng trung bình hàng ngày cao hơn so với lợn có kiểu gen *GHRH*-AB ( $p < 0,05$ ). Lợn Yorkshire có kiểu gen *LEP*-TC và *GH*-D1D2 có mức tăng trung bình hàng ngày cao hơn so với lợn có kiểu gen *LEP*-TT và *GH*-D1D1 tương ứng. (Trần Xuân Hoàn và cs., 2012).

Nghiên cứu của Trần Xuân Hoàn và cs. (2013) đánh giá ảnh hưởng của các đa hình trên gen *GH*, *GHRH* và *LEP* đến khả năng tăng khối

lượng trên hai quần thể lợn Móng Cái và Yorkshire. Kết quả cho thấy ảnh hưởng của từng kiểu gen đến tăng khối lượng của các giống lợn là có ý nghĩa thống kê.

Ma Thị Trang và cs. (2015) sử dụng kỹ thuật PCR-RFLP để phân tích đa hình đoạn gen *GH* trên giống lợn rừng lai và giống lợn đối chứng (Yorkshire). Phân đoạn gen *GH* với kích thước 605 bp được khuếch đại bằng phương pháp PCR từ cặp mồi đặc hiệu *GH*. Kết quả phân tích mối tương quan giữa các kiểu gen của gen *GH* với khả năng sinh trưởng của lợn cho thấy kiểu gen dị hợp tử D1D2 có khả năng sinh trưởng cao hơn kiểu gen đồng hợp D1D1 và D2D2 ở lợn rừng lai cũng như D1D1 ở lợn Yorkshire. Nghiên cứu này cung cấp dữ liệu khoa học và công cụ cho chọn giống lợn rừng lai nhằm nâng cao hiệu quả cho chăn nuôi.

### ***1.5.2. Tình hình nghiên cứu ngoài nước***

#### ***1.5.2.1. Khả năng sinh trưởng và các yếu tố ảnh hưởng***

Li và cs. (2017) cho rằng khả năng tiêu thụ năng lượng và chất dinh dưỡng cần thiết của lợn để đạt hiệu suất tối ưu là một yếu tố quan trọng cần xem xét trong chăn nuôi lợn thương phẩm. Lượng thức ăn tự nguyện ăn vào (VFI) hoặc năng lượng ăn vào của lợn bị ảnh hưởng bởi các yếu tố chế độ ăn uống (như nồng độ năng lượng, mức protein và sự cân bằng axit amin) và các yếu tố phi khẩu phần (giới tính động vật và trọng lượng cơ thể, tình trạng sức khỏe, chế biến thức ăn, nhiệt môi trường và quản lý vật lý).

*Ảnh hưởng của nhiệt độ:* Căng thẳng nhiệt gây nguy hiểm cho sức khỏe của lợn và làm giảm năng suất (Pearce và cs., 2015). Căng thẳng nhiệt làm thay đổi rõ rệt quá trình chuyển hóa lipid và carbohydrate độc lập với chất dinh dưỡng đầu vào (Fernandez và cs., 2015). Khi điều kiện môi trường vượt quá vùng trung hòa nhiệt của lợn, các chất dinh dưỡng được chuyển hướng từ quá trình tổng hợp sản phẩm (thịt, bào thai, sữa) sang duy trì thân nhiệt, do đó ảnh hưởng đến hiệu quả kinh tế (Ross và cs., 2015). Lợn tiếp xúc với 35°C hoặc cao hơn cho thấy dấu hiệu căng thẳng nhiệt rõ rệt (Liu và

cs., 2009), ảnh hưởng đến lượng thức ăn vào của chúng (VFI) và tốc độ tăng trưởng (Renaudeau và cs., 2011). Theo nghiên cứu của Oliveira và cs. (2019) khi đánh giá tác động của nhiệt độ môi trường xung quanh cao (29°C đến 35°C) đối với năng suất lợn đang phát triển và lợn xuất chuồng, so sánh với lợn được nuôi trong môi trường nhiệt đới (18°C - 25°C), kết quả cho thấy môi trường xung quanh làm giảm giá trị của TKL (654,38 so với 595,81 g/ngày) và FI (2,141 so với 1,875 g/ngày) khi so sánh với nhóm môi trường nhiệt đới. Từ đó đưa ra kết luận, nhiệt độ môi trường cao ảnh hưởng tiêu cực đến các thông số năng suất của lợn đang phát triển và lợn xuất chuồng khi so sánh với lợn ở điều kiện nhiệt đới. Song và cs. (2014) đánh giá ảnh hưởng của stress nhiệt đến năng suất tăng trưởng. Lợn được chia thành 04 nhóm, mỗi nhóm gồm 32 con lợn xuất chuồng (n = 128) với BW ban đầu từ 80 - 90 kg. Kết quả cho thấy lợn tiếp xúc đối với căng thẳng nhiệt có TKL ít hơn 31% (p < 0,001).

*Ảnh hưởng của dinh dưỡng:* Dinh dưỡng là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới sinh trưởng, phát triển, chất lượng thịt và khả năng chống chịu của vật nuôi. Tăng mức axit amin trong khẩu phần ăn có thể là cách tốt cho lợn stress nhiệt. Mức axit amin có thể được tăng lên bằng cách nâng hàm lượng protein hoặc axit amin tự do trong khẩu phần. Tăng hàm lượng protein trong khẩu phần có thể làm tăng thêm khả năng chống stress nhiệt vì quá trình tiêu hóa protein có thể tăng tải nhiệt cơ thể (Pesta và Samuel. 2014).

Morales và cs. (2018) cho rằng lợn bị stress nhiệt làm giảm lượng thức ăn tự nguyện và bổ sung axit amin cải thiện tình trạng giảm năng suất sinh trưởng của lợn stress nhiệt. Việc tăng hàm lượng ngũ cốc sấy khô hỗ trợ tăng khối lượng trung bình ngày do đó ảnh hưởng đến năng suất tăng trưởng, đặc điểm thân thịt và chất lượng mỡ ở lợn đang sinh trưởng (Dahlen và cs., 2011).

### 1.5.2.2. Nghiên cứu đa hình gen và mối liên quan đến một số tính trạng sản xuất

Cùng với sự phát triển vượt trội của ngành di truyền phân tử và công nghệ sinh học, các locus tính trạng số lượng (QTL) và các gen chức năng được phát hiện, sử dụng trong công tác chọn giống lợn vì có liên kết chặt chẽ với các tính trạng sinh sản, sinh trưởng và chất lượng thịt ở lợn. Do vậy, các nhà chọn giống đã nghiên cứu tính đa hình kiểu gen sinh sản (*ESR*, *FSHB*, *PRLR*,...), kiểu gen tác động đến khả năng sinh trưởng (*PIT1*, *MC4R*,...) để ứng dụng vào chọn giống, cải thiện năng suất sinh sản, sinh trưởng ở đàn lợn. Công nghệ phân tích kiểu gen hiện nay đã được ứng dụng trên ở nhiều quốc gia tiên tiến trên thế giới.

Houston và cs. (2004) phân tích đa hình gen *MC4R* của quần thể Lợn Đại Bạch cho thấy đột biến Asp298Asn có mối liên quan đáng kể với dày mỡ lưng và tăng khối lượng. Lợn mang kiểu gen AA có tăng khối lượng cao nhất trong các đa hình gen *MC4R*.

Franco và cs. (2005) nghiên cứu trên giống lợn Landrace mục đích để nghiên cứu mối liên hệ giữa các đa hình trong gen *PIT1* (n=218), *GH* (n=213) và *GHRH* (n = 206) và dày mỡ lưng, tăng khối lượng. Kết quả cho thấy đa hình gen *PIT1*, *GH*, *GHRH* có liên quan đến dày mỡ lưng ( $p = 0,0019$ ), tăng khối lượng ( $p = 0,0001$ ). Những kết quả này đã khẳng định tiềm năng, tính ứng dụng của những gen này trong các chương trình chọn lọc có sự hỗ trợ của marker để chăn nuôi lợn.

Nghiên cứu đa hình của bốn gen liên quan đến chuyển hóa năng lượng (*RETN*, *UCP1*, *UCP3* và *ADRB3*) trên 672 con lợn hậu bị (PLW (n = 186), PL (n = 243) và L990 (n = 243)) xuất phát từ trại lợn Pawlowice, Ba Lan. Kết quả cho thấy không quan sát thấy đa hình gen *ADRB3* có mối tương quan với các tính trạng năng suất như trọng lượng mỡ bụng, dày mỡ lưng (Cieslak và cs., 2009).

Hirose và cs., 2011 nghiên cứu đa hình *PIK3C3* với các tính trạng sản xuất (tăng khối lượng, dày mỡ lưng và tỷ lệ mỡ giết) ở 739 con lợn Duroc cho thấy, tần số alen C là 67,9%. Đa hình *PIK3C3* có tác động đáng kể đến tăng khối lượng, dày mỡ lưng, tỷ lệ mỡ giết.

Muñoz và cs. (2011) phân tích ảnh hưởng của những đa hình *MC4R* c.1426ANG (p.Asp298Asn) và *LEPR* c.2002CNT (p.Leu663Phe) đến các đặc điểm sản xuất và chất lượng ở 526 con lợn lai Duroc × Iberia. Kết quả cho thấy không có tác động đáng kể nào của *MC4R* c.1426ANG SNP được xác định.

Phân tích đặc điểm thân thịt theo kiểu gen *PIT1* của 168 con lợn lai Landrace, Yorkshire, và Duroc (LYD hoặc YLD), khối lượng 110 kg. Kim và cs. (2014) cho thấy những thay đổi ảnh hưởng của gen *PIT1* đến khối lượng thân thịt, dày mỡ lưng và màu sắc của thịt. Do đó, điều tra sâu rộng về mối quan hệ giữa đặc điểm của thân thịt và những thay đổi trong gen *PIT1* là cần thiết để cung cấp một chỉ số đáng tin cậy sự cải tiến cho chất lượng thịt.

Nghiên cứu trên 1414 con lợn Duroc thuần chủng từ thế hệ thứ hai đến thứ năm tại Viện Nghiên cứu Thức ăn Chăn nuôi Trung ương Zennoh (Hokkaido, Nhật Bản) từ năm 2004 - 2010. Hirose và cs. (2014) đánh giá nhiều tác động của các đa hình di truyền của năm locus ứng cử viên (*LEP*, *LEPR*, *MC4R*, *PIK3C3* và *VRTN*) trên các đặc điểm sản xuất (tăng khối lượng, dày mỡ lưng và tỷ lệ mỡ giết). Trong đó, đa hình kiểu gen của các gen *LEPR*, *MC4R* và *PIK3C3* có ảnh hưởng đến tính trạng TKL và DML. Không có mối liên kết nào được tìm thấy giữa đa hình gen *LEP* với các đặc điểm sản xuất trên.

Chen và cs., 2014 đã phân tích mối liên kết của đa hình gen *FABP*/(*HinfI*, *MspI* và *HaeIII*) và đa hình gen *ACSL4*/*RsaI* với tỷ lệ mỡ giết (IMF) và dày mỡ lưng (BFT) ở lợn Yanan, Jinhua, Duroc, Landrace, Yorkshire, and Duroc x (Landrace x Yorkshire) (DLY). Đa hình gen *FABP/HinfI* có mặt trong tất cả 6 quần thể. Đa hình gen *ACSL4/RsaI* ở

lợn nái có 3 kiểu gen, trong khi lợn đực giống chỉ có haplotype A hoặc G, ở Duroc, Landrace, Yorkshire và lợn DLY. *FABP*/(*MspI* và *HaeIII*) và đa hình *ACSL4/RsaI* không có ở lợn Yanan và Jinhua. Phân tích mối liên kết đa hình gen *FABP/HinfI* với tỷ lệ mỡ giết cho thấy kết đa hình gen *FABP/HinfI* có mối liên kết với IMF trong lợn DLY ( $p < 0,05$ ) và lợn Yanan ( $p < 0,001$ ). IMF cao nhất được ghi lại trong haplotype adH của 3 locus đa hình *FABP/HinfI* (2,59%,  $p < 0,05$ ) ở lợn DLY. Đa hình gen *ACSL4/RsaI* có hàm lượng IMF cao ở lợn nái có kiểu gen GG hoặc lợn đực có kiểu gen đơn bội G so với kiểu gen AA (2,53% so với 2,10%,  $p < 0,05$ ) hoặc A haplotype (2,48% so với 1,73%,  $p < 0,01$ ) trong Lợn DLY. Không có sự khác biệt đáng kể giữa 4 locus đa hình và BFT ( $p > 0,05$ ). Kết quả chỉ ra rằng các gen *FABP/HinfI* và *ACSL4* có thể đóng vai trò là các dấu hiệu để cải thiện IMF trong hệ thống chăn nuôi lợn.

Lyubov và cs. (2016) nghiên cứu trên giống lợn Duroc thuần chủng ( $n = 360$  đực) được nuôi tại trại nhân giống Yubileiny ở Nga. Tất cả lợn được nuôi trong điều kiện đồng nhất và tiêu chuẩn. Phân tích các đặc điểm số lượng ngày đến 100 kg, mức TKL, chiều dài thân và dày mỡ lưng (DML). Kết quả cho thấy ảnh hưởng của *PIT1*, *GH*, *PRLR* và *MC4R* đến tính trạng tăng trưởng và sự cần thiết việc sử dụng các đa hình gen trên trong các chương trình nhân giống.

Hà Xuân Bộ và cs. (2019) nghiên được tiến hành ở quần thể lợn Duroc tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco, Bắc Ninh. Cho thấy đa hình của gen *MC4R* alen A và G xuất hiện với tần số tương ứng là 0,430 và 0,570. Đối với gen *PIT1*, alen A và B xuất hiện với tần số lần lượt là 0,428 và 0,572.

## **CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU**

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.

### **2.2. THỜI GIAN NGHIÊN CỨU**

Từ tháng 12/2016 đến tháng 12/2020.

### **2.3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU**

Đề tài được thực hiện với các nội dung nghiên cứu sau:

- Đánh giá khả năng sinh trưởng của lợn Duroc.
- 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.
- Năng suất sinh sản và mối liên kết của các đa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* và *PIK3C3* với tính trạng sinh sản.
- Đa hình di truyền và mối liên kết của các đa hình gen *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* và *PLIN2* với tỷ lệ mỡ giết.
- Chọn lọc đàn lợn Duroc theo hướng tăng khối lượng dựa trên thông tin kiểu gen.

### **2.4. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

#### **2.4.1. Đánh giá khả năng sinh trưởng của lợn Duroc**

##### **2.4.1.1. Đối tượng**

Lợn Duroc hậu bị nuôi kiểm tra năng suất tại Công ty TNHH Lợn giống hạt nhân Dabaco gồm 500 cá thể (362 cái và 138 đực). Lợn hậu bị được chọn từ các cặp bố mẹ có nguồn gốc từ Đài Loan và Canada.



#### *2.4.1.2. Phương pháp nghiên cứu*

##### *a. Chế độ nuôi dưỡng và phòng bệnh*

Sau thời gian theo mẹ và cai sữa, lợn thí nghiệm (TN) được chuyển vào nuôi theo dõi khi có khối lượng từ 18 - 35 kg, tương ứng với ngày tuổi 65 - 75 ngày. Kết thúc kiểm tra khi lợn đạt 80 - 100 kg, tương ứng với 140 - 165 ngày tuổi. Các loại thức ăn do Dabaco sản xuất được sử dụng cho lợn từ bắt đầu kiểm tra tới 70 kg là 962 (năng lượng trao đổi: 3200 kcal/kg, protein tổng số: 16,5%) từ 70 kg tới kết thúc kiểm tra là 972 (năng lượng trao đổi: 3150 kcal/kg, protein tổng số: 16%). Lợn được ăn tự do và uống bằng núm nước tự động.

Quy trình chăm sóc, vệ sinh phòng bệnh của Công ty lợn giống hạt nhân Dabaco được thực hiện trong suốt thời gian kiểm tra. Giai đoạn lợn con và kiểm tra năng suất, lợn được tiêm các loại vaccine: phòng suyễn, viêm teo mũi truyền nhiễm, Glasser, tai xanh, dịch tả, lở mồm long móng và Circovirus.

##### *b. Phương pháp 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. Dày mỡ lưng được đo bằng máy đo siêu âm Exago với đầu dò Aloka SSD 500v ở vị trí góc 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.

##### *c. Phương pháp xử lý số liệu*

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

#### **2.4.2. Phương pháp phân tích đa hình di truyền các gen ứng viên**

##### *a. Lấy mẫu*

Dùng kìm 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.

*b. Tách chiết ADN*

Từ mỗi mẫu mô đuôi, tiến hành loại bỏ phần lông và sụn của mẫu, sử dụng dao mổ để cắt mẫu thành từng miếng nhỏ. Lấy khoảng 25 mg mẫu mô đã cắt nhỏ cho vào ống eppendorf 1,5 ml. Sau đó tiến hành tách chiết ADN theo quy trình bộ kit tách chiết GeneJET Genomic ADN Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Mỹ).

*c. Trình tự môi*

Trình tự các cặp môi để nhận đặc hiệu các đoạn gen trong nghiên cứu được sử dụng theo các tác giả đã công bố trước đây (bảng 2.1).

**Bảng 2.1. Trình tự và thông tin các cặp mồi**

Gen	Mồi xuôi và mồi ngược (5'-3')	Tm (°C)	Kích thước PCR	RE	Nguồn
<i>MC4R</i>	TACCCTGACCATCTTGATTG ATAGCAACAGATGATCTCTTTG	56	226 bp	<i>TaqI</i>	(Kim và cs. (2006))
<i>PIT1</i>	AGTGTAGCCAGAGCATCT ACCACATCTGCACACTCA	62	1745bp	<i>RasI</i>	(Yu và cs. (1995))
<i>GH</i>	TTATCCATTAGCACATGCCTGCC CTGGGGAGCTTACAAACTCCTT	62	605 bp	<i>FokI</i>	Faria và cs. (2006)
<i>LEP</i>	GGGTCACCGGTTTGGACTTCATCC GCCCAGGCTCTCCAAGGTCTCC	67	230 bp	<i>HinfI</i>	Szydowski và cs. (2004)
<i>PIK3C3</i>	ATTTCGTCTAGACCTGTCCG TGAATCTGTTCTACCACCGC	62	102 bp	<i>Hpy8I</i>	(Kim và cs. (2005))
<i>FABP3</i>	GGACCCAAGATGCCTACGCCG CTGCATCTTTGACCAAGAGG	57	693 bp	<i>HinfI</i>	(Gerbens và cs. (1997))
<i>FABP3</i>	CAGCCCAAGAGTGAGTTTCC GAATAGGAAGCCCCATG	57	321 bp	<i>BsrFI</i>	(Schwab và cs. (2009))
<i>ADRB3</i>	CGTTCAACCCGCTCATCTACTGC GGTTCCTACTCTGTGCCCGTCTT	63	315 bp	<i>TaqI</i>	(Cieslak và cs. (2009))
<i>PLIN2</i>	AGAAAATTCAAGGCACTCAGG TTAGCTGCATCCTGTTAGGG	55	317 bp	<i>Mva</i> 1269I	(Davoli và cs. (2011))
<i>ACSL4</i>	CAGAAGATGCTTAAATATTAAGCATGACA TGTCTAACCTACACAACAATTATGAATCC	61,8	181 bp	<i>RsaI</i>	(Ruśc và cs. (2011))

*Tm*: Nhiệt độ gắn mồi; *RE*: enzyme giới hạn

#### d. 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, Mỹ), 0,4 µM mỗi mồi và 50 ng ADN.

Phản ứng được thực hiện với chu trình nhiệt: 95°C: 3 phút; 35 chu kỳ (95°C: 30 giây, Tm°: 45 giây, 72°C: 1 phút); 72°C: 5 phút. Nhiệt độ gắn

mồi ( $T_m$ ) tùy thuộc vào từng cặp mồi (theo bảng 2.1).

#### *e. 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 nhuộm ethidium bromide (4%)

#### *f. Phản ứng cắt enzyme giới hạn (RFLP)*

Sản phẩm PCR đã được kiểm tra chất lượng và xác định đúng kích thước của đoạn gen đích sẽ được ủ với các enzyme giới hạn tương ứng (bảng 2.1) để nhận biết các điểm đa hình. Phản ứng cắt enzyme có tổng thể tích là 20  $\mu$ l bao gồm 2  $\mu$ l dung dịch đệm 10X, 1  $\mu$ l enzyme 10 U/ $\mu$ l, 10  $\mu$ l sản phẩm PCR và 7  $\mu$ l nước khử ion. Phản ứng được ủ ở nhiệt độ 37°C đối với tất cả các enzyme cắt giới hạn ngoài trừ enzyme *TaqI* là 65°C trong 16 giờ để enzyme cắt hoàn toàn sản phẩm PCR.

#### *g. Điện di kiểm tra và đọc kết quả kiểu gen*

Sản phẩm cắt được thực hiện điện di trên gel agarose 2% trong đệm TBE 1X và được nhuộm bằng ethidium bromide. Kết quả soi gel agarose dưới đèn UV sẽ là căn cứ để xác định các điểm đa hình trên các đoạn gen ứng viên dựa vào kích thước các đoạn ADN trên gel agarose, từ đó xác định kiểu gen cho từng cá thể.

#### *h. Giải trình tự các gen ứng viên*

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).

##### *Bước 1: Thực hiện các phản ứng giải trình tự*

Phản ứng giải trình tự được thực hiện theo bộ kit BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem™ - Thermo Fisher

Scientific, Mỹ), thành phần phản ứng cụ thể như sau:

H<sub>2</sub>O: 6,4 μl

Bigdye® Terminator V 3.1 Cycle (2,5 X): 8 μl

Bigdye Terminator V 1.1, V3.1 Sequencing Buffer (5X) : 4 μl

Primer (3,2pmol/μl): 1 μl

Template (PCR): 0,6 μl

Tổng thể tích phản ứng: 20 μl

Chu trình nhiệt:

Chu kì 1: biến tính ở nhiệt độ 96°C trong 1 phút

Chu kì 2: Gồm 3 bước, lặp 25 chu kỳ. Nhiệt độ và thời gian tương ứng cho mỗi bước là 96°C trong 10 giây, 50°C trong 5 giây, và 60°C trong 4 phút.

Chu kì 3: hạ nhiệt độ xuống 4°C ở ∞.

*Bước 2: làm sạch phản ứng giải trình tự bằng BigDye® X Terminator™ Purification Kit (Applied Biosystem™ - Thermo Fisher Scientific, Mỹ)*

Hóa chất và dụng cụ sử dụng gồm:

SAM™ Solution: lọ 9 ml

X Terminator™ Solution: 2 ml

Đĩa chạy phản ứng 96 giếng tám cao su đậy, khay cố định đĩa (cung cấp theo máy), tám phủ nylon. Máy lắc đĩa IKA® Vibrax VXR basic và máy li tâm đĩa Hettich Rotanta 460R C5605.

Quy trình làm sạch được tiến hành như sau:

Lấy theo tỉ lệ 90 μl dung dịch SAM™ Solution +20 μl dung dịch X Terminator™ Solution cho một mẫu vào ống eppendorf, lắc kĩ. Chia 110 μl dung dịch này vào mỗi giếng của đĩa chạy phản ứng giải trình tự. Tra mẫu 20 μl (phản ứng giải trình tự) vào mỗi giếng. Phủ đĩa bằng nylon, tiến hành lắc đĩa trên máy lắc 1800 vòng/phút trong 30 phút. Ly tâm đĩa ở 1,000 g trong 3 phút, nhiệt độ 15°C. Bỏ nylon phủ, đậy đĩa bằng tám cao su. Sau khi làm sạch, có thể cho đĩa lên máy chạy hoặc bảo quản ở 4°C.

*Bước 3: Tiến hành đưa mẫu đã làm sạch vào phân tích và đọc kết quả trên máy giải trình tự ABI*

*k. Xử lý số liệu*

*Xác định tần số alen và kiểu gen*

Tần số kiểu gen = (Số cá thể mang kiểu gen tương ứng)/(Tổng số cá thể trong quần thể)

Tần số alen A, kí hiệu f(A) được quan sát và tính toán theo công thức:

$$f(A) = f(AA) + 1/2 f(AB)$$

Trong đó:

f(AA): tần số kiểu gen đồng hợp tử của alen A

f(AB): tần số kiểu gen dị hợp tử của alen A với alen khác

Sử dụng phương pháp kiểm định Chi-square Goodness of Fit Test trong Minitab 16.

### **2.4.3. Mối liên kết giữa đa hình gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* và *PIK3C3* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng**

#### **2.4.3.1. Đối tượng**

Nghiên cứu tính đa hình các gen ứng viên với tăng khối lượng và dày mỡ lưng (*MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* và *PIK3C3*) được thực hiện trên 2 thế hệ: thế hệ 1 trên 500 con lợn Duroc hậu bị (362 cái và 138 đực). Thế hệ 2 trên 188 con lợn Duroc hậu bị (133 cái và 55 đực). Lợn hậu bị thế hệ 1 được chọn từ các cặp bố mẹ có nguồn gốc từ Đài Loan và Canada, thế hệ 2 được sinh ra từ các cặp bố mẹ từ thế hệ thứ 1 giữ lại làm giống.

#### **2.4.3.2. Phương pháp nghiên cứu**

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 16. Mô hình tuyến tính tổng quát (Generalized Linear Models; 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 ứng dụng sau:

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

Trong đó:

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

$\mu$  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  $j$  ( $j = \text{đực và cái}$ );

$G * SE_{ij}$  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.

#### **2.4.4. Năng suất sinh sản và mối liên kết của các đa hình gen $MC4R$ , $PIT1$ , $GH$ , $LEP$ và $PIK3C3$ với tính trạng sinh sản**

##### **2.4.4.1. Đối tượng**

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 2.2.

**Bảng 2.2. Số lứa đẻ của 104 nái Duroc**

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

##### **2.4.4.2. Phương pháp nghiên cứu**

Lợn Duroc đều được nuôi dưỡng, chăm sóc và vệ sinh phòng bệnh theo cùng một quy trình của Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco. Thức ăn do Dabaco sản xuất được sử dụng cho nái hậu bị là 3200 kcal ME/kg, protein thô 16,5%. Thức ăn cho lợn nái chửa là 2900 kcal ME/kg, protein thô 14%. Thức ăn cho nái nuôi con là 3100 kcal ME/kg, protein thô 17%. Thức ăn cho lợn con tập ăn, sau cai sữa là 3450 kcal ME/kg, protein thô 21%.

Lợn con và hậu bị được tiêm các loại vacxin phòng: suyễn, viêm teo mũi truyền nhiễm, Glasser, tai xanh, dịch tả, lở mồm long móng và Circo.

Lợn nái sinh sản được tiêm các loại vacxin phòng: tai xanh, giả dại, dịch tả, *E. coli*, khô thai, lở mồm long móng và tẩy nội ngoại ký sinh trùng.

Theo dõi các chỉ tiêu số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con chọn nuôi/ổ và số con cai sữa/ổ, khối lượng sơ sinh/ổ (kg), khối lượng cai sữa/ổ (kg).

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 tính trạng sinh sản:

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

Trong đó:

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

$\mu$  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.

#### **2.4.5. Mối liên kết giữa đa hình gen *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* và *PLIN2* với tính trạng mỡ giết**

##### **2.4.5.1. Đối tượng**

Nghiên cứu 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 (thời gian theo dõi qua 1 thế hệ).

##### **2.4.5.2. Phương pháp nghiên cứu**

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* và *ACSL4* với tỷ lệ mỡ giết với mô hình ứng dụng sau:

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

trong đó:

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

$\mu$ : 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);

$S_{ej}$ : 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.

#### **2.4.6. 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:**

- KLbđKT (kg);
- 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 2.4.1.

## 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 $\pm$ SE	CV (%)
Khối lượng sơ sinh/con (kg)	1,55 $\pm$ 0,01	16,91
Khối lượng cai sữa/con (kg)	6,68 $\pm$ 0,06	19,34
KLbđKT (kg)	31,67 $\pm$ 0,14	10,16
KLkt KT (kg)	94,71 $\pm$ 0,34	8,14
Tuổi bắt đầu kiểm tra (ngày)	71,52 $\pm$ 0,13	4,05
Tuổi kết thúc (ngày)	149,29 $\pm$ 0,29	4,17
Số ngày cai sữa (ngày)	23,39 $\pm$ 0,09	9,46
Số ngày kiểm tra (ngày)	77,99 $\pm$ 0,28	8,12
TKL (g/ngày)	809,04 $\pm$ 4,12	11,39
DML (mm)	12,01 $\pm$ 0,08	14,41

Kết quả bảng 3.1 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. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự công bố của Đoàn Phương Thuý và cs. (2015) trên lợn Duroc có khối lượng sơ sinh/con là 1,56 kg, khối lượng cai sữa/con là 6,90 kg. Nguyễn Văn Đức (2015) nghiên cứu năng suất sinh sản của các giống lợn Landrace, Yorkshire và Duroc nguồn gốc Đan Mạch, nuôi tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển chăn nuôi lợn Bình Thắng. Kết quả công bố cho thấy khối lượng sơ sinh/con của 3 giống lần lượt là 1,21 kg; 1,24 kg và 1,36 kg. Nghiên cứu Lê Đình Phùng và cs. (2009) trên giống lợn Landrace và Yorkshire nuôi ở Quảng Bình, kết quả khối lượng sơ sinh/con, khối lượng cai sữa/con của giống Landrace đạt 1,44 kg và 6,25 kg và Yorkshire tương ứng đạt 1,41 kg và 6,14 kg, tương tự như trong nghiên cứu của chúng tôi.

Trong nghiên cứu này, 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. Theo Zebua và cs. (2017) cho thấy, tuổi đạt được khối lượng cơ thể 90 kg ở lợn cái Duroc là 200,86 ngày, còn ở lợn đực là 188,94 ngày.

Các giá trị thu được tại bảng 3.1 đều đạt tiêu chuẩn Định mức kinh tế kỹ thuật đối với lợn giống gốc theo quyết định số 657/QĐ-BNN-CN (2014) về việc phê duyệt các chỉ tiêu định mức kinh tế kỹ thuật cho các đàn vật nuôi giống gốc đối với lợn Duroc như sau: Số con đẻ ra còn sống/ổ  $\geq 9,5$  con; Số con cai sữa/ổ  $\geq 8,7$  con; Khối lượng toàn ổ lúc sơ sinh  $\geq 13,0$  kg; Số ngày cai sữa 21 - 28 ngày; Khối lượng toàn ổ lúc cai sữa 55-80 kg; Số con 75 ngày tuổi/ổ  $\geq 8,3$  con; Tỷ lệ nuôi sống từ sơ sinh đến cai sữa  $\geq 92\%$ ; Tỷ lệ nuôi sống từ cai sữa đến 75 ngày  $\geq 95\%$ .

Kết quả nghiên cứu cho thấy tăng khối lượng là 809,04 g/ngày. Tăng khối lượng của lợn Duroc trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với các nghiên cứu của Nguyen Huu Tinh và cs. (2015) nghiên cứu trên 482 lợn Duroc từ năm 2011 - 2013. Trong đó, Nguyen Huu Tinh và cs chỉ ra, tăng khối lượng giai đoạn 20 - 100 kg của lợn Duroc là 743,48 g/ngày. Ngô Thị Kim Cúc và cs. (2015) nghiên cứu trên 282 lợn Duroc, kết quả nghiên cứu cho thấy tăng khối lượng đạt 755,06 g/ngày. Trong công bố của Chen và cs. (1997), tăng khối lượng là 745,5 g/ngày. Tăng khối lượng đạt 687,0 g/ngày trong nghiên cứu của Nędza và cs. (2010). Trong nghiên cứu của Nakavisut và cs. (2006), tăng khối lượng của lợn Duroc là 794 g/ngày.

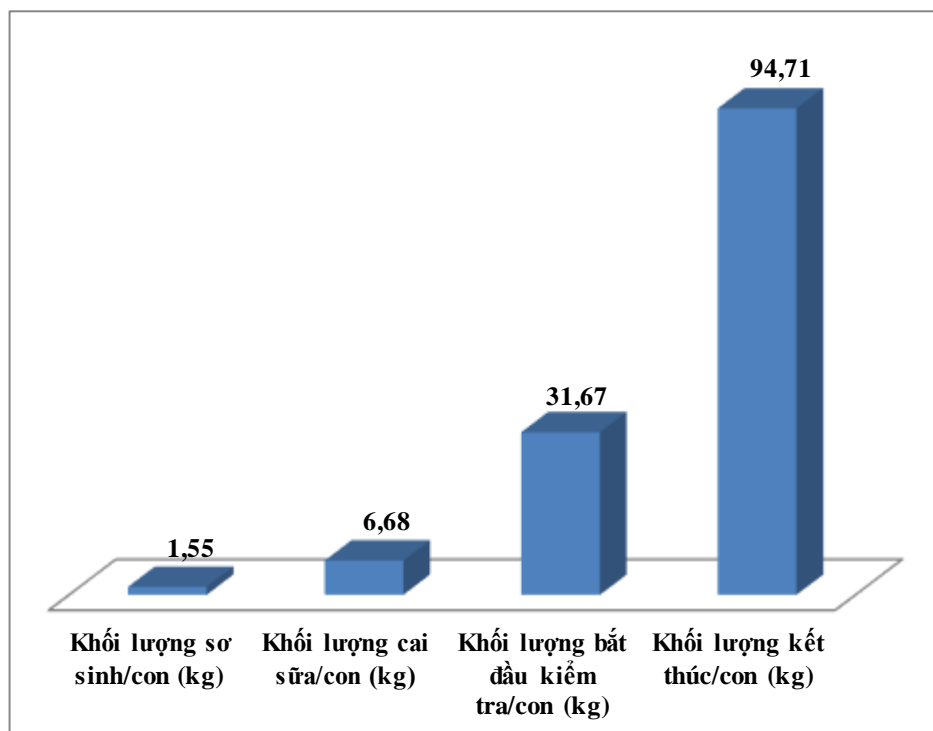
Mức tăng khối lượng của lợn Duroc trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu trên đối tượng lợn Duroc nuôi tại Nhật Bản của Suzuki và cs. (2005) đạt 873,6 g/ngày. Nghiên cứu của Rauw và cs. (2006) trên lợn Duroc nuôi tại Tây Ban Nha đạt 861 g/ngày.

Bảng 3.1. cho thấy, lợn Duroc có dày mỡ lưng 12,01 mm. Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với một số nghiên cứu đã công bố. Ngô

Thị Kim Cúc và cs. (2015) cho biết dày mỡ lưng ở vị trí P2 của lợn Duroc đạt 10,85 mm. Szyndler và cs. (2010) cũng chỉ ra rằng, dày mỡ lưng của lợn đực Duroc nuôi tại Hà Lan đạt 8,9 mm. Trần Văn Hào và cs. (2015) cho biết dày mỡ lưng ở vị trí P2 lúc 100 kg của lợn Duroc đạt 11,26 mm.

Tuy nhiên, dày mỡ lưng trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với một số công bố. Nakavisut và cs. (2006) cho biết dày mỡ lưng của lợn Duroc nuôi tại Thái Lan đạt tương ứng 13,5 mm. Holl và cs. (2010) nghiên cứu dày mỡ lưng trên 2186 lợn Duroc nuôi tại Mỹ ở vị trí BF1 (mỡ lưng phía sau vai), BF2 (Mỡ lưng trên xương sườn cuối cùng), BF3 (mỡ lưng trên thắt lưng cuối cùng) đạt 17,51 mm. Zebua và cs. (2017) nghiên cứu lợn Duroc có dày mỡ lưng là 15,1 mm.

Sự khác biệt về các kết quả thu được đối với tăng khối lượng, dày mỡ lưng trong các nghiên cứu là do các đặc điểm trên không chỉ phụ thuộc vào đặc điểm di truyền của giống mà còn phụ thuộc vào tuổi, khối lượng con vật tại thời điểm xác định, cũng như khẩu phần ăn, phương thức chọn lọc, nuôi dưỡng và thiết bị sử dụng đo.

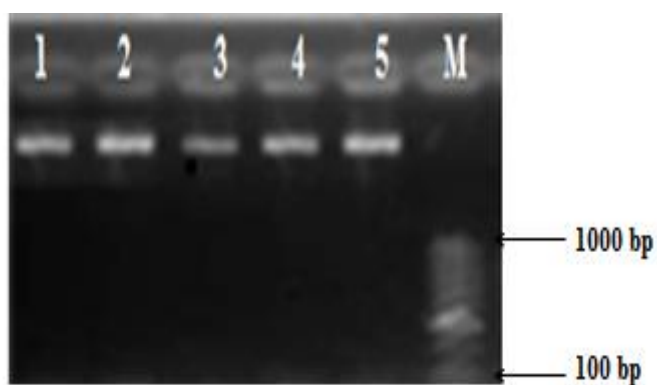


**Hình 3.1. Một số chỉ tiêu sinh trưởng của lợn Duroc**

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

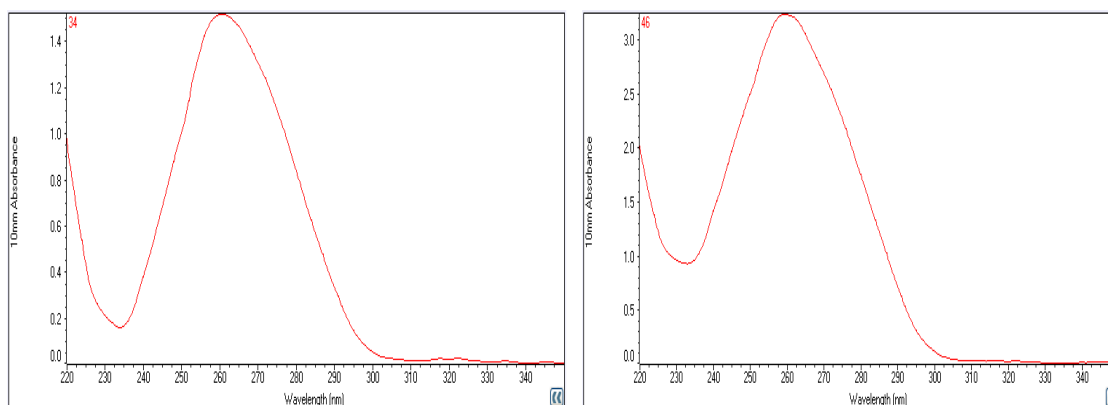
### 3.2.1. Nồng độ và độ tinh sạch của mẫu ADN

Đã tách chiết thành công các mẫu mô đuôi của giống lợn Duroc. Kiểm tra kết quả tách chiết ADN bằng điện di trên gel agarose 2% (hình 3.2) và đo nồng độ trên máy quang phổ Nanodrop 2000 (hình 3.3). Hình ảnh điện di cho thấy ADN tập trung thành băng nét sáng rõ không bị đứt gãy. Sau khi tiến hành đo trên máy Nanodrop 2000, các mẫu ADN có độ tinh sạch cao với tỷ lệ A260/280 trong khoảng 1,79 - 2,03 và nồng độ ADN tổng số dao động trong khoảng 70 - 150  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . Kết quả trên phản ánh toàn bộ những mẫu ADN tách chiết được đạt chất lượng cao đảm bảo cho các thí nghiệm tiếp theo.



M: thang ADN chuẩn 100 bp; 1 - 5: là mẫu ADN tổng số

**Hình 3.2. Kết quả điện di kiểm tra ADN trên gel agarose 2%**



**Hình 3.3. Kiểm tra nồng độ ADN**

### 3.2.2. Nhân ADN đặc hiệu của 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. Kết quả được thể hiện trong các hình từ 3.4 - 3.8. Hình ảnh điện di cho thấy các đoạn ADN thu được là một băng điện di và có kích thước như mong đợi. Như vậy các sản phẩm PCR phù hợp cho phân tích đa hình tiếp theo.



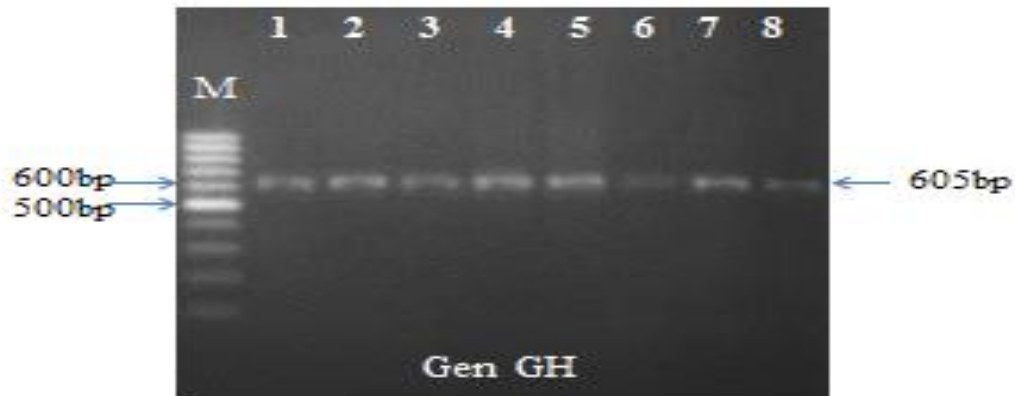
**Hình 3.4. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *MC4R* trên gel agarose 2%**

M: thang ADN chuẩn 100 bp; 1 - 9: sản phẩm PCR



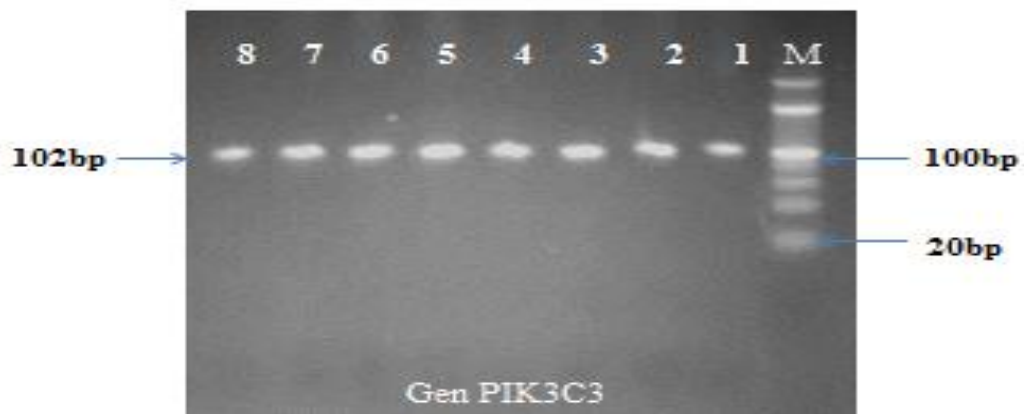
**Hình 3.5. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *PIT1* trên gel agarose 2%**

M: thang ADN chuẩn 1 kb; 1 - 8: sản phẩm PCR



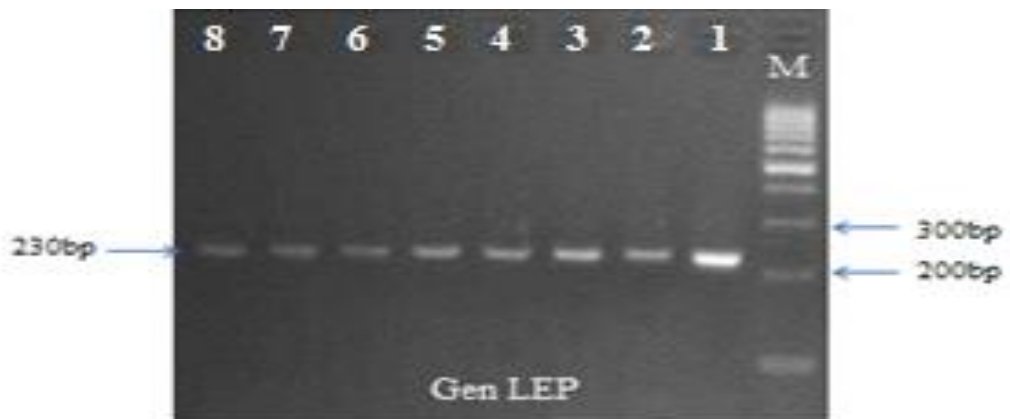
**Hình 3.6. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *GH* trên gel agarose 2%**

M: thang ADN chuẩn 100 bp; 1 - 8: sản phẩm PCR



**Hình 3.7. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *PIK3C3* trên gel agarose 2%**

M: thang ADN chuẩn 20 bp; 1 - 8: Sản phẩm PCR



**Hình 3.8. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *LEP* trên gel agarose 2%**

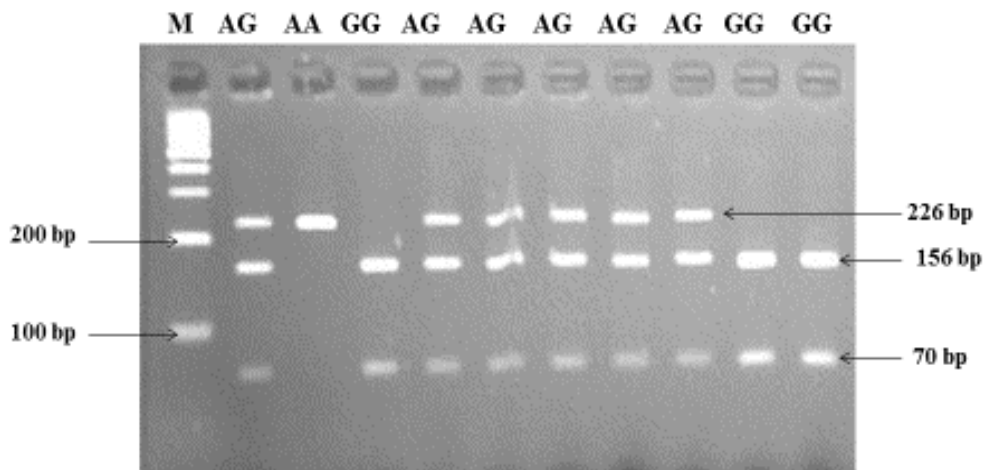
M: thang ADN chuẩn 100 bp; 1 - 8: Sản phẩm PCR



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

#### 3.2.3.1. Đa hình đoạn gen *MC4R*

Sản phẩm PCR của 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 (hình 3.9). Kết quả phân tích đa hình gen *MC4R* trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả công bố của Kim và cs. (2000); Li và cs. (2006); Chao và cs. (2012).

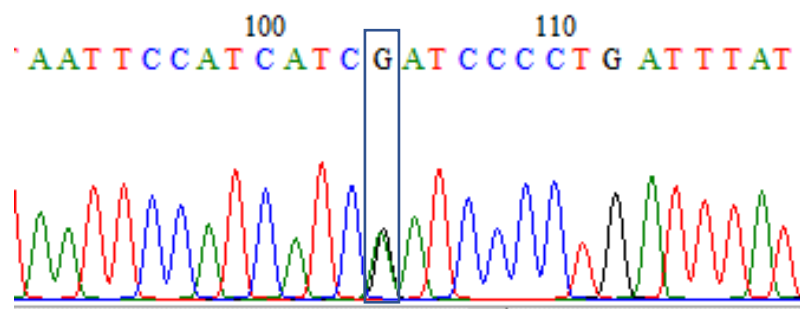


**Hình 3.9. Phổ điện di phân tích đa hình gen *MC4R* bằng enzyme *TaqI***

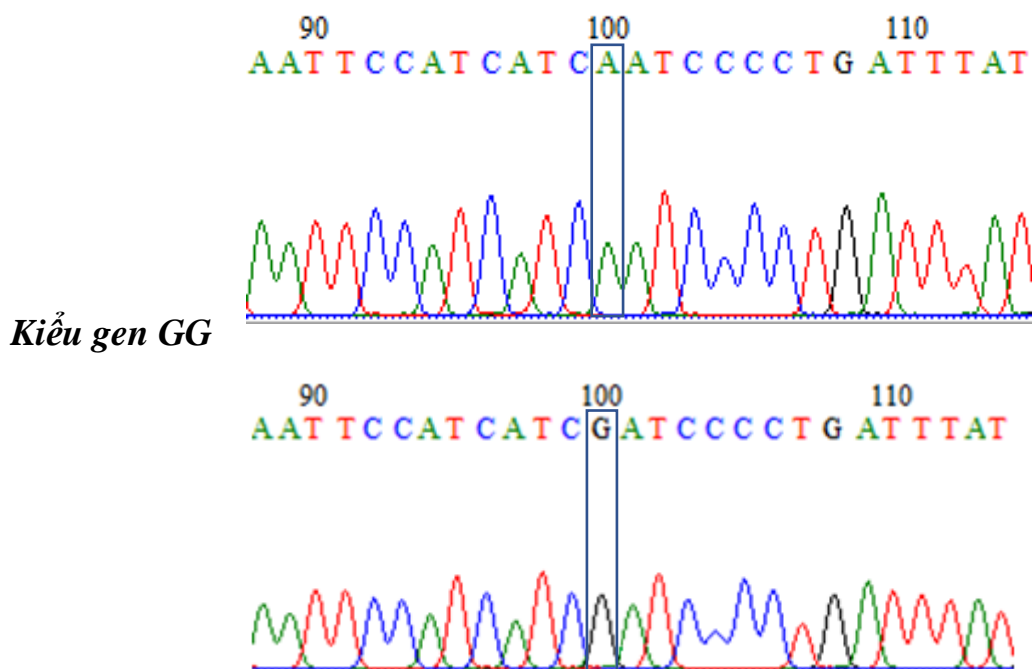
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự các điểm đa hình gen *MC4R* được thể hiện ở hình 3.10.

#### **Kiểu gen AG**



### Kiểu gen AA



**Hình 3.10. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *MC4R***

Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *MC4R* trong quần thể lợn Duroc được trình bày ở bảng 3.2.

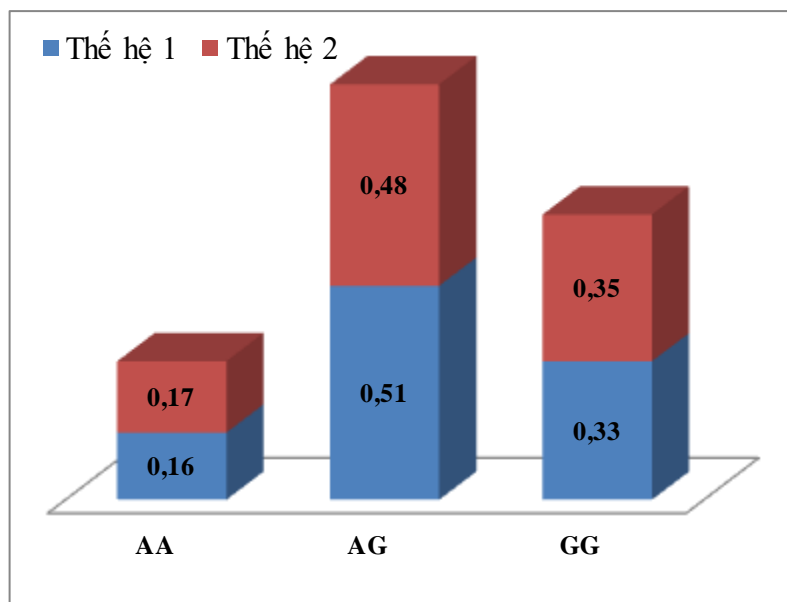
**Bảng 3.2. Tần số các kiểu gen và alen trên đoạn gen *MC4R***

Gen	Tần số	Kiểu alen, kiểu gen	Thế hệ	
			TH1 (n = 500)	TH2 (n = 188)
<i>MC4R</i>	Tần số alen	A	0,41	0,41
		G	0,59	0,59
	Tần số kiểu gen	AA	0,16 (n = 80)	0,17 (n = 32)
		AG	0,51 (n = 254)	0,48 (n = 91)
		GA	0,51 (n = 254)	0,48 (n = 91)
		GG	0,33 (n = 166)	0,35 (n = 65)

Qua bảng 3.2 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. Tỷ lệ này tương tự với một nghiên cứu của Szyndler và cs. (2010) trên quần thể lợn Pulawska với tần số alen A và G lần lượt là 0,42 và 0,58. Hà Xuân Bộ và cs. (2019) nghiên cứu trên quần thể lợn Duroc cho thấy tần số alen A và G xuất hiện với tần số tương ứng là 0,430 và 0,570.

Hirose và cs. (2014) nghiên cứu trên giống lợn Duroc thấy rằng alen A xuất hiện với tần số thấp hơn so với alen G ở 5 thế hệ. Ở thế hệ thứ 1 tần số alen A/G là 0,34/0,66; thế hệ thứ 2 là 0,46/0,54; thế hệ thứ 3 là 0,39/0,61; thế hệ thứ 4 là 0,3/0,7; thế hệ thứ 5 là 0,23/0,77. Điều này tương tự như nghiên cứu của Klimenko và cs. (2014) trên giống lợn Danish Landrace (LD), Canadian Landrace (LC) có tần số lần lượt là ♂LD (0,3A; 0,7G); ♀ LD (0,32A; 0,68G); ♂LC (0,3A; 0,7G); ♀LC (0,25A; 0,75G). Kết quả công bố của Galve và cs. (2012) khi nghiên cứu trên 202 lợn Duroc×Landrace/Large White tại Tây Ban Nha cho thấy, tần số xuất hiện của alen A (0,235) thấp hơn so với alen G (0,765).

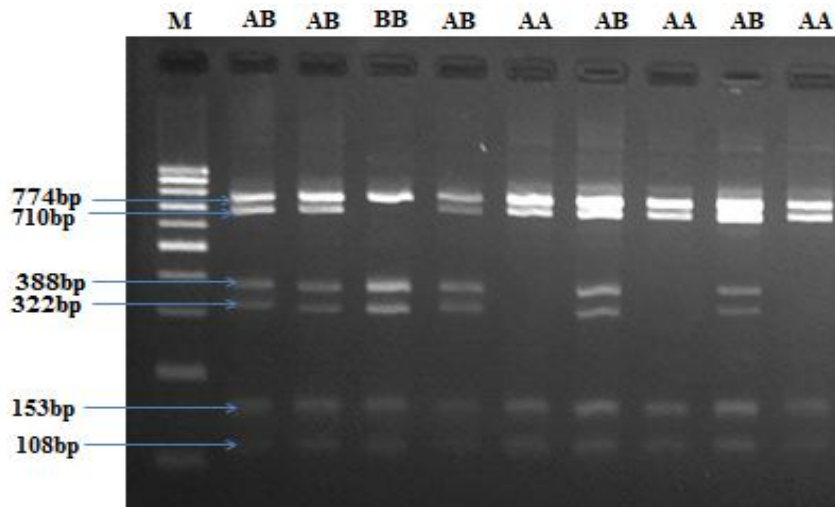
Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu lại chỉ ra rằng alen A xuất hiện với tần số cao hơn so với alen G (Kováčik và cs., 2009; Davoli và cs., 2012; Hong và cs., 2015). Trong nghiên cứu của Nguyễn Văn Noi (2010), khi phân tích đa hình gen *MC4R* và *GHRH* của lợn đực rừng Thái Lan và con lai giữa lợn đực rừng Thái Lan và lợn nái địa phương Pác Nặm, chỉ thu được một kiểu gen GG duy nhất trong đàn lợn lai.



**Hình 3.11. Tần số các kiểu gen AA, AG, GG của gen *MC4R* ở thế hệ 1 và 2**

### 3.2.3.2. Đa hình đoạn gen *PIT1*

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 (hình 3.12). Kết quả phân tích đa hình gen *PIT1* trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả công bố của Yu và cs. (1995).



**Hình 3.12. Phổ điện di phân tích đa hình gen *PIT1* bằng enzyme *RasI***

M: thang ADN chuẩn 100 bp

Nghiên cứu của Franco và cs. (2005) khi nghiên cứu mối liên kết đa hình *PIT1*, *GH* và *GHRH* với đặc điểm hiệu suất và thân thịt ở lợn Landrace cũng cho kết quả tương tự.

Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *PIT1* trong quần thể lợn Duroc được trình bày ở bảng 3.3.

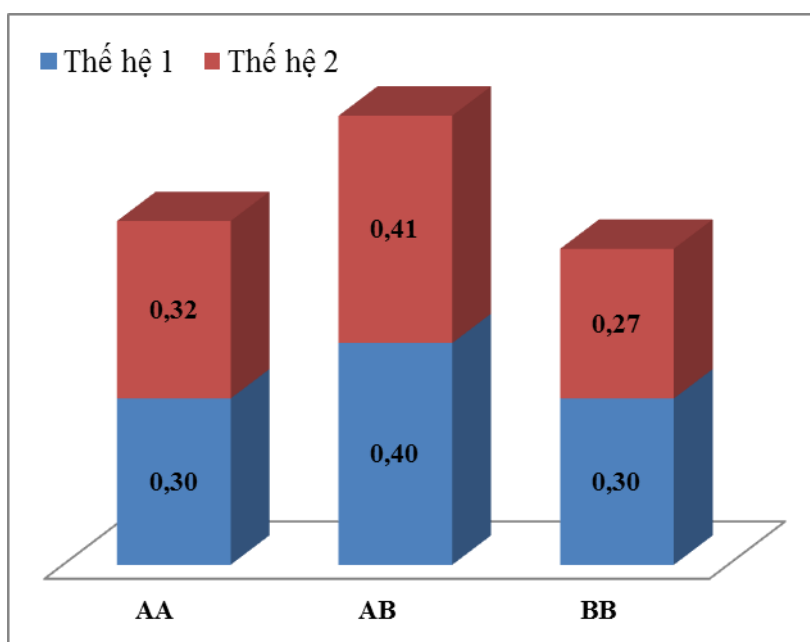
**Bảng 3.3. Tần số các kiểu gen và alen trên đoạn gen *PIT1***

Gen	Tần số	Kiểu alen, kiểu gen	Thế hệ	
			TH1 (n = 500)	TH2 (n = 188)
<i>PIT1</i>	Tần số alen	A	0,50	0,53
		B	0,50	0,47
	Tần số kiểu gen	AA	0,30 (n = 149)	0,32 (n = 61)
		AB	0,40 (n = 202)	0,41 (n = 78)
		BB	0,30 (n = 149)	0,27 (n = 49)

Kết quả phân tích đa hình gen *PIT1* xuất hiện 3 kiểu gen AA, AB và BB. Bảng 3.3 thể hiện 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.

Trong nghiên cứu của Franco và cs. (2005) sử dụng phương pháp PCR-RFLP, enzym *RsaI* phân tích trên 218 cá thể Landrace cho thấy, tần số alen A (0,878) cao hơn so với alen B (0,122).

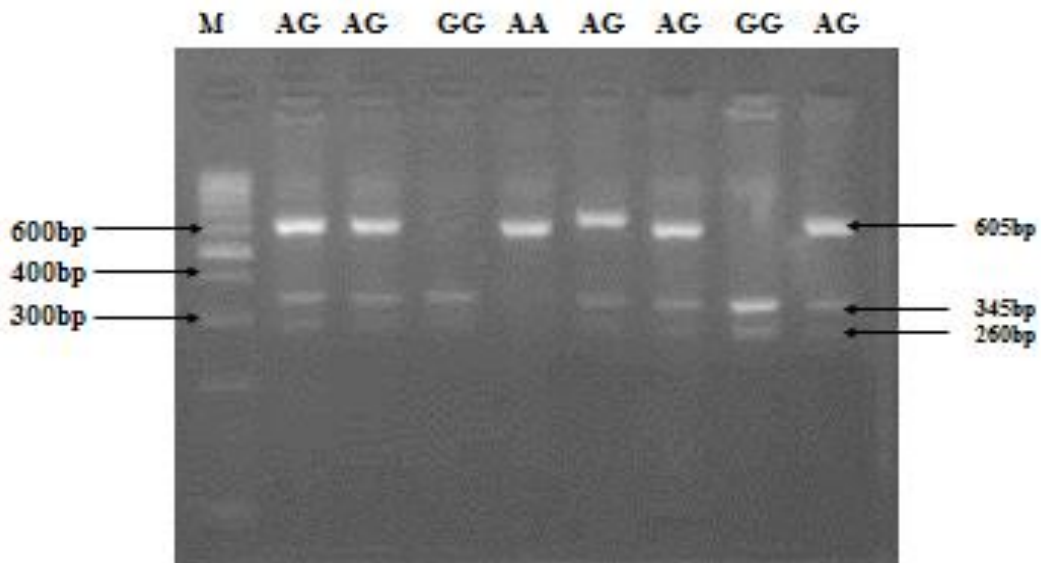
Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu lại chỉ ra rằng tần số alen A thấp hơn so với alen B (Brunsch và cs., 2002; Oczkiewicz và Różycki., 2013). Theo như công bố của Yu và cs. (1995) thì không tìm thấy alen B trên quần thể lợn Meishan và lợn Minzhu; trên quần thể lợn Duroc tần số alen A và B xuất hiện bằng nhau (0,5); tần số alen A trên quần thể lợn Hampshire (0,38) thấp hơn so với alen B (0,62); tần số alen A trên quần thể lợn Landrace (0,88) cao hơn so với alen B (0,12). Như vậy, định hướng chọn lọc theo kiểu hình có thể làm thay đổi tần số alen trong quần thể.



**Hình 3.13. Tần số các kiểu gen AA, AB, BB của gen *PIT1* ở thế hệ 1 và 2**

### 3.2.3.3. Đa hình gen *GH*

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 (hình 3.14).

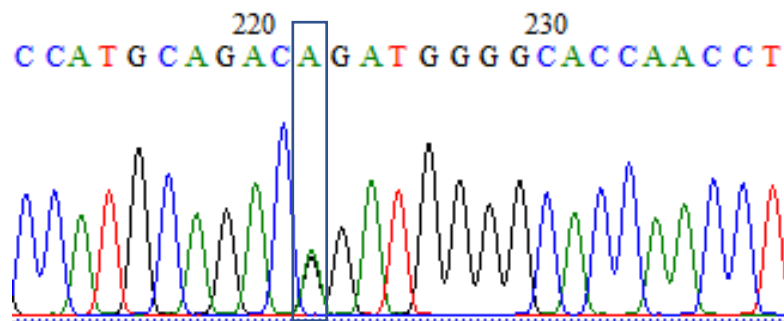


**Hình 3.14. Phổ điện di phân tích đa hình gen *GH* bằng enzyme *FokI***

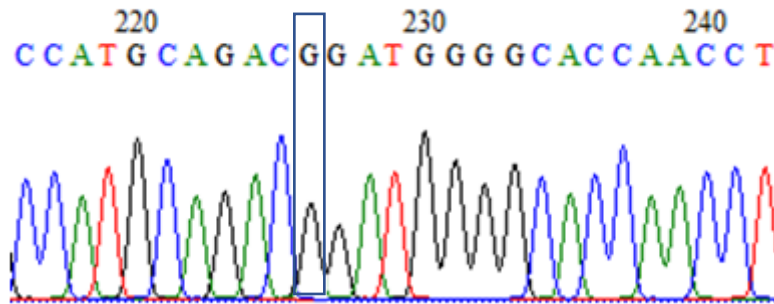
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự các điểm đa hình gen *GH* được thể hiện ở hình 3.15.

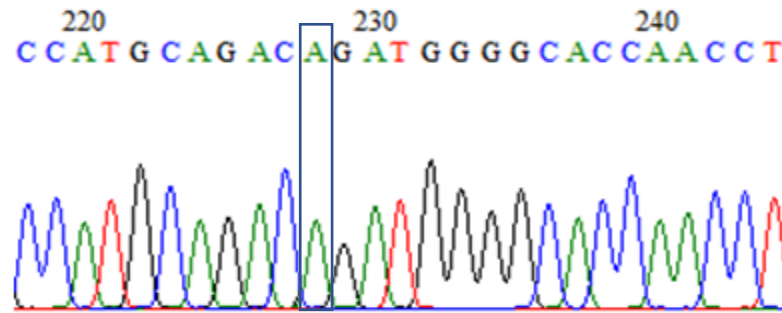
#### **Kiểu gen AG**



**Kiểu gen GG**



**Kiểu gen AA**



**Hình 3.15. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen GH**

Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen GH trong quần thể lợn Duroc được trình bày ở bảng 3.4.

**Bảng 3.4. Tần số các kiểu gen và alen trên đoạn gen GH**

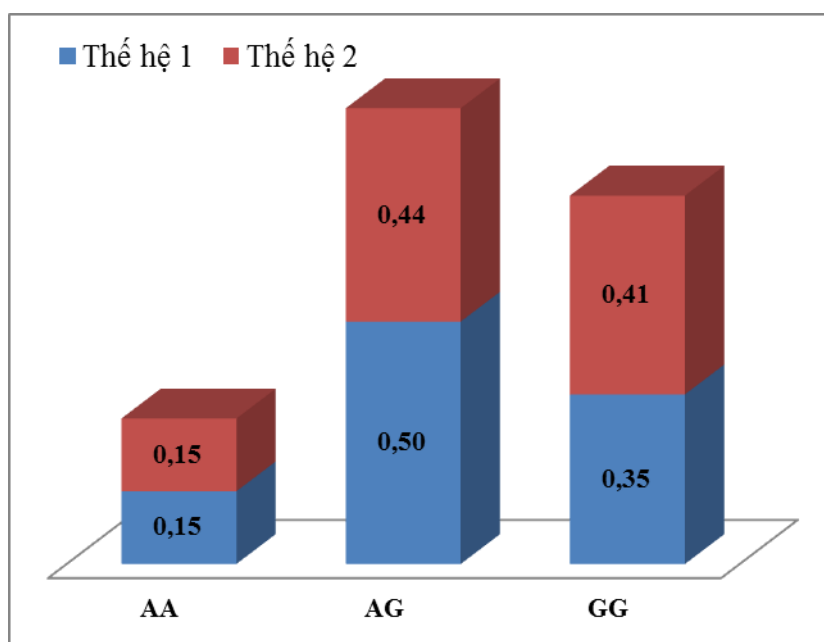
Gen	Tần số	Kiểu alen, kiểu gen	Thế hệ	
			TH1 (n = 500)	TH2 (n = 188)
GH	Tần số alen	A	0,40	0,37
		G	0,60	0,63
	Tần số kiểu gen	AA	0,15 (n = 75)	0,15 (n = 29)
		AG	0,50 (n = 252)	0,44 (n = 83)
		GG	0,35 (n = 173)	0,41 (n = 76)

Tần số kiểu gen và alen của gen GH được thể hiện ở bảng 3.4.

Bảng 3.4 cho thấy, trong quần thể nghiên cứu, 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.

Tỷ lệ này tương tự với một nghiên cứu của Bižienė và cs. (2011) trên một số giống lợn có nguồn gốc châu Âu (Yorkshire, Lithuanian White, Lanrge White ) và con lai của nó, tần số alen A và G lần lượt là 0,36 và 0,64. Trong quần thể lợn lai F2 giữa lợn nội Brazil và lợn lai ba máu (Landrace x Large White x Pietran), tần số alen G là 0,77 và alen A là 0,23 (Faria và cs., 2006).

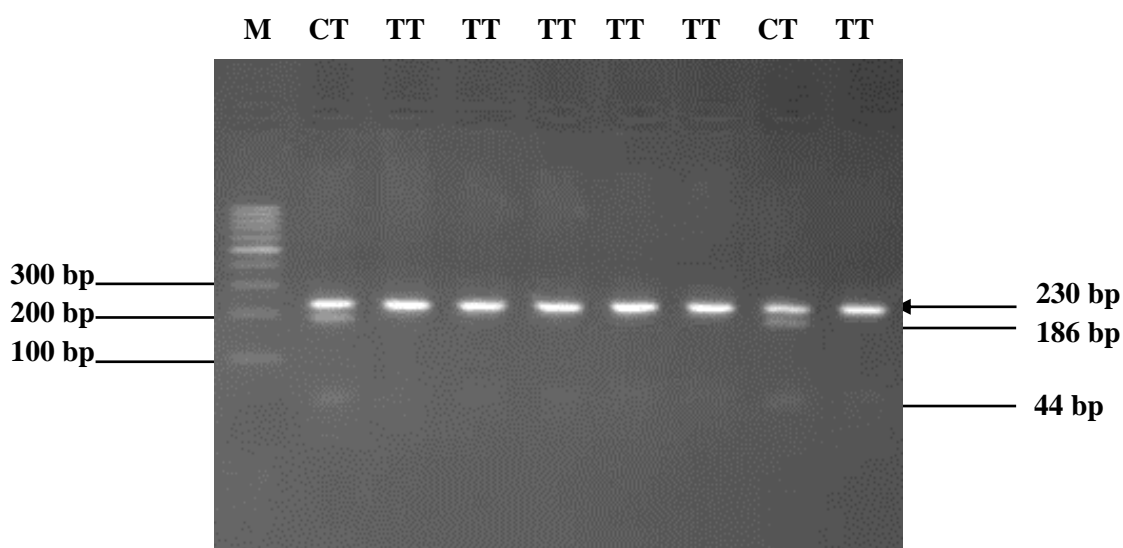


**Hình 3.16. Tần số kiểu gen AA, AG, GG của gen GH ở thế hệ 1 và 2**

#### 3.2.3.4. Đa hình đoạn gen LEP

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 (hình 3.17).



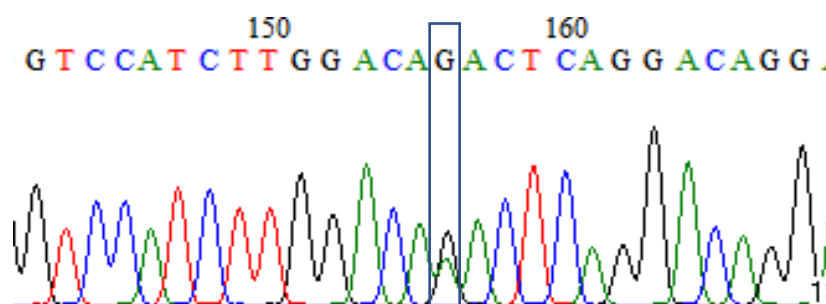


**Hình 3.17. Phổ điện di phân tích đa hình gen *LEP* bằng enzyme *HinfI***

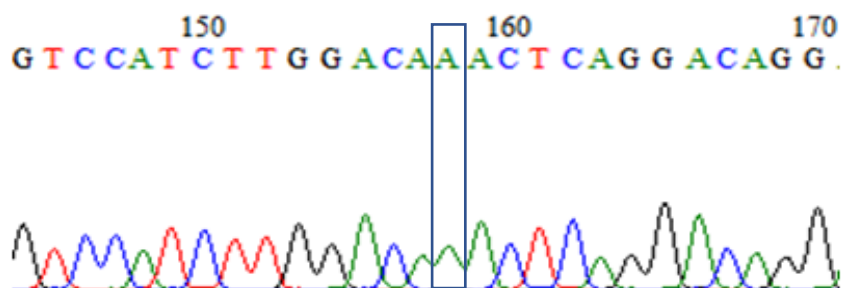
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự các điểm đa hình gen *LEP* được thể hiện ở hình 3.18.

**Kiểu gen TC (chiều reverse là kiểu gen AG)**



**Kiểu gen TT (chiều reverse là kiểu gen AA)**



**Hình 3.18. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *LEP***

Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *LEP* trong quần thể lợn Duroc được trình bày ở bảng 3.5.

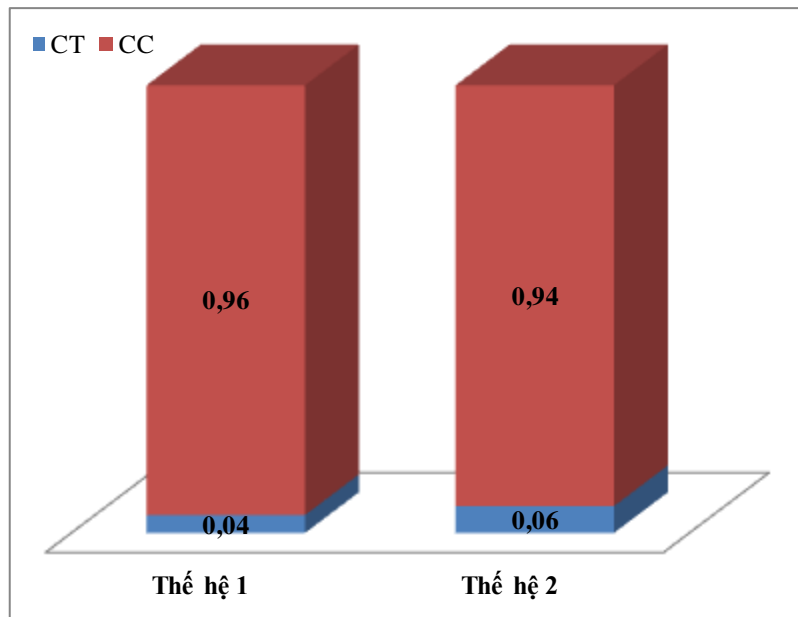
**Bảng 3.5. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen *LEP***

Gen	Tần số	Kiểu alen, kiểu gen	Thế hệ	
			TH1 (n = 500)	TH2 (n = 188)
<i>LEP</i>	Tần số alen	C	0,02	0,03
		T	0,98	0,97
	Tần số kiểu gen	CT	0,04 (n = 21)	0,06 (n = 11)
		TT	0,96 (n = 479)	0,94 (n = 177)

Bảng 3.5 cho thấy có hai kiểu gen TT và CT xuất hiện trong quần thể nghiên cứu, điều đó cho thấy sự phổ biến của alen C là rất thấp, trong khi đó alen T chiếm ưu thế với tần số 0,98 ở thế hệ thứ 1 và 0,97 ở thế hệ thứ 2.

Tần số thấp đặc thù của alen C cũng được mô tả trong các nghiên cứu trước đây ở giống lợn Landrace Ba Lan (Kulig và cs., 2001); Duroc (Hirose và cs., 2014); quần thể lợn lai giữa lợn Brazilian Piau (một giống lợn nội của Brazil) với lợn Landrace, Large White và Pietrain (Oliveira và cs., 2006); Yorkshire (Trần Xuân Hoàn và cs., 2013) và tổ hợp lai Mangalia x Duroc (Tempfli và cs., 2015).

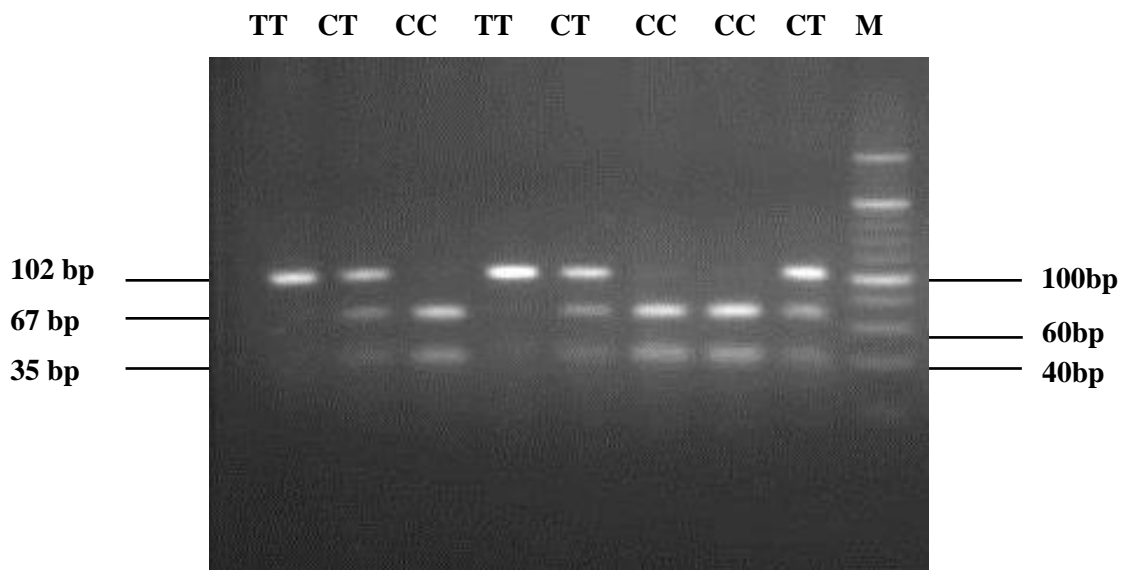
Tuy nhiên, ở một số quần thể lợn nội thì alen C có tần số chiếm ưu thế như lợn Móng Cái của Việt Nam (với tần số 0,83) (Trần Xuân Hoàn và cs., 2013), lợn thịt của Cộng hòa Séc (tần số 0,73) và lợn Meishan của Trung Quốc không xuất hiện alen T (Stratil và cs., 1997).



**Hình 3.19.** Tần số các kiểu gen CT, CC của gen *LEP* ở thế hệ 1 và 2

### 3.2.3.5. Đa hình đoạn gen *PIK3C3*

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 (hình 3.20).

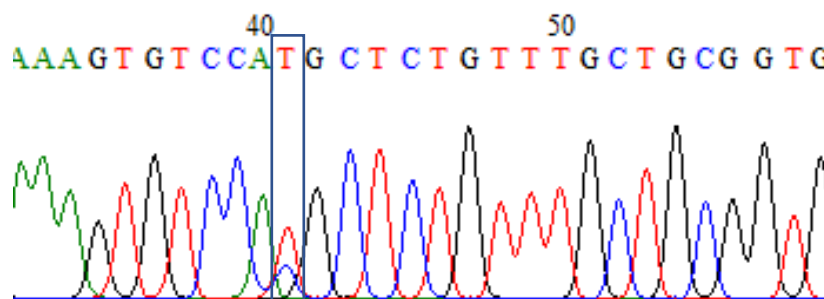


**Hình 3.20.** Phổ điện di phân tích đa hình *PIK3C3* bằng enzyme *Hpy8I*

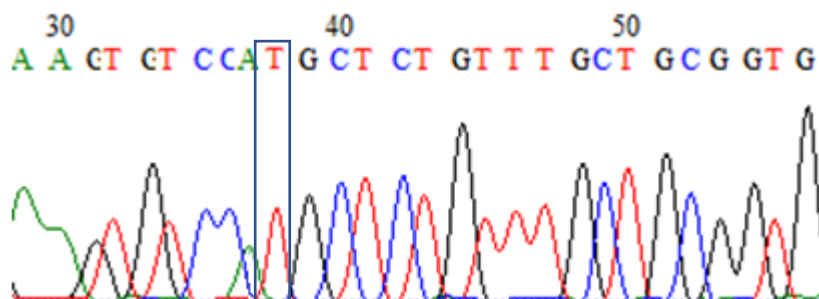
M: thang ADN chuẩn 50 bp

Giải trình tự các điểm đa hình gen *PIK3C3* được thể hiện ở hình 3.21.

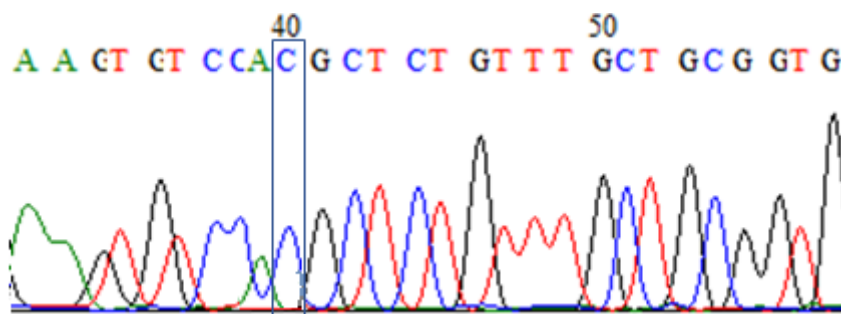
**Kiểu gen CT**



**Kiểu gen TT**



**Kiểu gen CC**



**Hình 3.21. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *PIK3C3***

Kết quả xác định tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *PIK3C3* trong quần thể lợn Duroc được trình bày ở bảng 3.6.

**Bảng 3.6. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen *PIK3C3***

Chỉ tiêu	Kiểu gen <i>PIK3C3</i>			Alen	
	CC	CT	TT	C	T
Số lượng quan sát	180	259	61		
Tần số quan sát	0,36	0,52	0,12	0,62	0,38

Qua bảng 3.6 cho thấy alen C chiếm ưu thế với tần số 0,62. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Kim và cs. (2005) trên giống lợn Duroc, alen C chiếm tần số 0,725. Ở các giống lợn ngoại khác như Landrace và Large White, tần số alen C cũng tương đối cao, tương ứng là 0,6 và 0,425 (Kim và cs., 2005).

Một nghiên cứu khác của Hirose và cs. (2011) cũng trên đối tượng lợn Duroc cho thấy alen C chiếm ưu thế trong quần thể với tần số 0,679. Trong khi đó, ở lợn nội Hàn Quốc, alen C lại có tần số thấp chỉ 0,175.

### 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 nuôi tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco được trình bày qua bảng 3.7.

**Bảng 3.7. Mối liên kết của kiểu gen *MC4R* với các chỉ tiêu sinh trưởng**

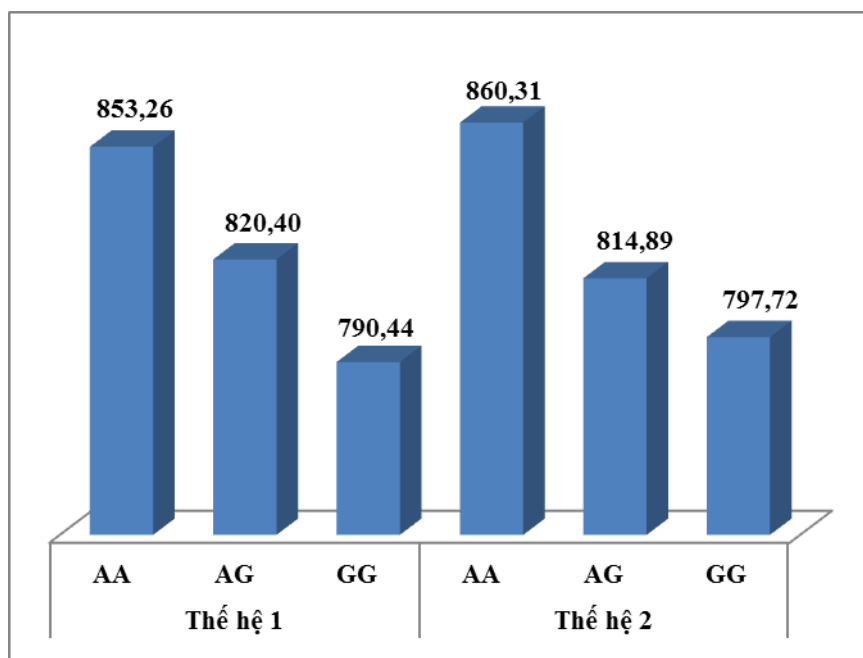
Thế hệ	Chỉ tiêu	AA		AG		GG		p
		n	LSM ± SE	n	LSM±SE	n	LSM±SE	
1	KLbđKT (kg)	80	31,58 ± 0,44	254	31,71 ± 0,29	166	31,70 ± 0,34	0,96
	KLktKT (kg)	80	98,61 <sup>a</sup> ± 0,11	254	94,86 <sup>b</sup> ± 0,69	166	93,15 <sup>b</sup> ± 0,80	0,00
	TKL (g/ngày)	80	<b>853,26<sup>a</sup> ± 9,59</b>	254	820,40 <sup>b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

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

Kết quả bảng 3.7 cho thấy, kiểu gen *MC4R* có mối liên kết với tăng khối lượng, dày mỡ lưng và khối lượng kết thúc (p<0,05) ở thế hệ thứ 1 và thế hệ thứ 2.

Lợn Duroc mang kiểu gen AA có khối lượng kết thúc 98,61 kg cao hơn so với kiểu gen AG 94,86 kg và kiểu gen GG 93,15 kg; lợn có khối lượng đầu vào kiểm tra 31,58 kg - 31,71 kg.

Tính trạng tăng khối lượng ở lợn Duroc ở các kiểu gen AA; AG; GG 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. Chênh lệch tăng khối lượng giữa lợn mang kiểu gen AA so với lợn mang kiểu gen GG là +62,82 g/ngày. Sự sai khác giữa các kiểu gen AA, AG, GG có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) (hình 3.22). Lợn Duroc mang kiểu gen AA có dày mỡ lưng 12,62 mm đạt cao nhất và thấp nhất ở lợn mang kiểu gen GG 11,38 mm.



**Hình 3.22. Tăng khối lượng của lợn Duroc mang các kiểu gen AA, AG, GG của gen *MC4R* ở thế hệ thứ 1 và 2**

Theo dõi mối liên kết của đa hình gen *MC4R* với tính trạng tăng khối lượng và dày mỡ lưng của lợn Duroc ở thế hệ thứ 2. Kết quả thu được ở bảng 3.7 chỉ ra rằng đa hình gen *MC4R* có mối liên kết chặt với tính trạng tăng khối lượng, dày mỡ lưng và khối lượng kết thúc ở lợn Duroc ở cả thế hệ thứ 1 và thế hệ thứ 2 ( $p < 0,05$ ).

Khối lượng kết thúc 92,47 kg ở lợn mang kiểu gen GG đạt giá trị thấp nhất; cao nhất là lợn mang kiểu gen AA 101,76 kg.

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). Chênh lệch tăng khối lượng giữa lợn mang kiểu gen AA so với lợn mang kiểu gen GG là +62,59 g/ngày. Sự sai khác có ý nghĩa thống kê chỉ tìm thấy ở lợn mang kiểu gen AA, AG ở tính trạng tăng khối lượng, và kiểu gen AG, GG ở tính trạng dày mỡ lưng ( $p < 0,05$ ).

Như vậy, chọn lọc kiểu gen AA-*MC4R* sẽ cải tiến nhanh chóng được tốc độ tăng trưởng của giống lợn Duroc trong điều kiện chăn nuôi ở miền Bắc Việt Nam. Tuy nhiên, tần suất kiểu gen AA trong quần thể chiếm tỷ lệ thấp nhất trong số các kiểu gen. Có thể do trong một thời gian dài, việc chọn lọc giống chủ yếu dựa vào ngoại hình, những lợn thon bụng, hình dáng gọn, dài... được giữ lại nuôi. Để giải thích được nguyên nhân này cần có những nghiên cứu chi tiết hơn.

Ở Đan Mạch, gen *MC4R* được đưa vào chương trình chọn lọc giống để cải thiện tăng khối lượng của 4 giống lợn Hamshire, Duroc, Landrace và Yorkshire (Bruun và cs., 2006). Lợn mang kiểu gen AA trong nghiên cứu của này có tăng khối lượng và dày mỡ lưng cao hơn so với lợn mang kiểu gen GG. Điều này tương tự các nghiên cứu đã được báo cáo Houston và cs., 2004; Kim và cs., 2006; Meidtner và cs., 2006; Maagdenberg và cs., 2007; Piorkowska và cs., 2010; Broeke và cs., 2015.

Công bố của Houston và cs. (2004) cho thấy lợn mang kiểu gen AA có tăng khối lượng cao nhất, sau đó đến lợn mang kiểu gen AG và cuối cùng là lợn mang kiểu gen GG với kết quả lần lượt là 805; 792 và 733g/ngày. Nghiên cứu Kim và cs., 2006 công bố lợn mang kiểu gen AA có tăng khối lượng tốt hơn lợn mang kiểu gen GG. Nghiên cứu của Maagdenberg và cs., 2007 cho thấy lợn mang kiểu gen AA có tăng khối lượng và dày mỡ lưng lớn nhất là 531 g/ngày và 14,58 mm, tiếp theo là lợn mang kiểu gen AG (516

g/ngày và 13,91 mm), thấp nhất là lợn mang kiểu gen GG (507 g/ngày và 13,46 mm). Theo công bố của Dvořáková và cs., 2011 lợn mang alen A có tăng khối lượng tốt hơn lợn mang alen G. Cụ thể, lợn mang kiểu gen AA có tăng khối lượng là 907 g/ngày. Lợn mang kiểu gen GG đạt tăng khối lượng là 892 g/ngày. Công bố của Meidtner và cs. (2006) tìm thấy 2 kiểu gen AG và GG trong quần thể lợn nghiên cứu. Trong đó, tăng khối lượng và dày mỡ lưng của lợn mang kiểu gen AG là 567 g/ngày; 29,6 mm, cao hơn so với lợn mang kiểu gen GG là 535 g/ngày; 28,3 mm.

Lyubov và cs. (2016) cho thấy tăng khối lượng của lợn mang kiểu gen GG là 857 g/ngày cao hơn lợn mang kiểu gen AA là 853,05 g/ngày và kiểu gen AG là 848,4 g/ngày. Kováčik và cs. (2009) chỉ ra rằng lợn mang kiểu gen GG có tăng khối lượng cao nhất và dày mỡ lưng thấp nhất trong các kiểu gen. Tăng khối lượng và dày mỡ lưng của các kiểu gen cụ thể như sau: AA (601,32 g/ngày; 10,74 mm), AG (595,46 g/ngày; 10,01 mm); GG (607,36 g/ngày; 8,08 mm).

Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Klimenko và cs., 2014 trên lợn Landrace cho thấy tác động tích cực của kiểu gen AG/*MC4R* lên tính trạng tăng khối lượng. Cụ thể: ở lợn đực Landrace, lợn mang kiểu gen AG có chỉ số tăng khối lượng và dày mỡ lưng cao nhất (1140,16 g/ngày; 10,81 mm), tiếp sau là lợn mang kiểu gen GG (1090,41 g/ngày; 10,69 mm) và sau cùng lợn mang kiểu gen AA (1067,57 g/ngày; 10,29 mm). Ở lợn cái Landrace, lợn mang kiểu gen AG có tăng khối lượng cao nhất là 865,44 g/ngày, sau đó là kiểu gen AA 860,69 g/ngày và cuối cùng là lợn mang kiểu gen GG 817,51 g/ngày. Tính trạng dày mỡ lưng ở lợn mang kiểu gen AA là cao nhất, tiếp theo là lợn mang kiểu gen AG và cuối cùng là lợn mang kiểu gen GG với chỉ số dày mỡ lưng lần lượt là 11,54 mm; 11,10 mm; 11,00 mm.

Một số nghiên cứu khác không phát hiện bất kỳ mối liên kết nào giữa đa hình gen *MC4R* với các tính trạng tăng khối lượng, dày mỡ lưng (Park và cs., 2002; Stachowiak và cs., 2005).



Nguyên nhân của sự sai khác về kết quả giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến sự sai khác trong thiết kế thí nghiệm. Đó là sự sai khác giữa các quần thể nghiên cứu như sự khác nhau về giống, số lượng mẫu, hệ thống giao phối đã dẫn đến sự sai khác trong tần số các gen và alen. Sự sai khác trong nền tảng di truyền, ảnh hưởng của các yếu tố môi trường và các mô hình phân tích khác nhau cũng có thể làm tăng hoặc giảm ảnh hưởng của các gen đến tính trạng. Buske và cs. (2006) đã khẳng định sự ảnh hưởng của nhiều locus tính trạng số lượng thường thay đổi phụ thuộc vào giống và quần thể.

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 3.8.

**Bảng 3.8. 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 <sup>b</sup> ±0,36	202	32,36 <sup>a</sup> ±0,29	149	32,15 <sup>ab</sup> ±0,37	0,02
	KLktKT (kg)	14	96,27 <sup>a</sup> ± 0,86	202	95,60 <sup>a</sup> ±0,69	149	93,36 <sup>b</sup> ±0,88	0,02
	TKL (g/ngày)	14	<b>833,10<sup>a</sup>±8,00</b>	202	816,41 <sup>ab</sup> ±6,41	149	807,89 <sup>b</sup> ±8,20	<b>0,04</b>
	DML (mm)	14	<b>12,42<sup>a</sup>±0,24</b>	202	11,81 <sup>ab</sup> ±0,19	149	11,58 <sup>b</sup> ±0,24	<b>0,01</b>
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 <sup>a</sup> ±1,22	78	95,55 <sup>a</sup> ±1,17	49	89,50 <sup>b</sup> ±1,45	0,00
	TKL (g/ngày)	61	<b>844,70<sup>a</sup>±10,25</b>	78	811,62 <sup>b</sup> ±9,82	49	782,93 <sup>b</sup> ±12,16	<b>0,00</b>
	DML (mm)	61	<b>12,37<sup>a</sup>± 0,40</b>	78	11,43 <sup>a</sup> ±0,38	49	9,62 <sup>b</sup> ±0,47	<b>0,00</b>

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

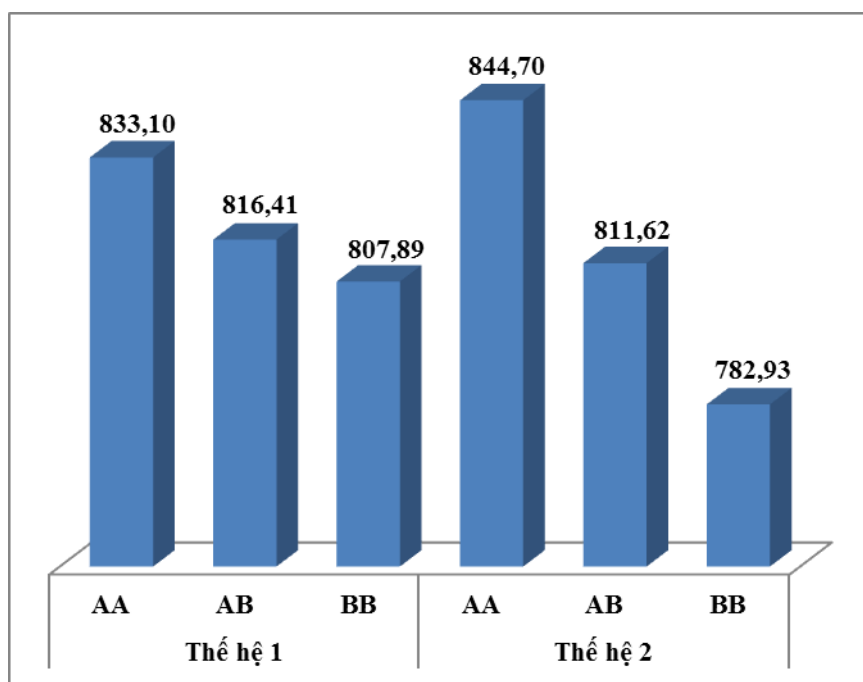
Phân tích đa hình kiểu gen *PIT1/RasI* kết hợp với số liệu về một số chỉ tiêu sinh trưởng thu được. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 16. Mô hình tuyến tính tổng quát GLM được sử dụng để đánh giá mối liên kết giữa đa hình các gen *PIT1* với các tính trạng nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.8 cho thấy, kiểu gen *PIT1* có mối liên kết với tăng khối lượng và dày mỡ lưng, khối lượng kết thúc ở thế hệ thứ 1 ( $p < 0,05$ ). Cụ thể, tính trạng tăng khối lượng và dày mỡ lưng, khối lượng kết thúc đạt cao nhất ở lợn mang kiểu gen AA (833,10 g/ngày; 12,42 mm; 96,27 kg), sau đó đến kiểu gen AB (816,41 g/ngày; 11,81 mm; 95,60 kg) và cuối cùng là kiểu gen BB (807,89 g/ngày; 11,58 mm; 93,36 kg). Chênh lệch tăng khối lượng và dày mỡ lưng ở lợn mang kiểu gen AA so với lợn mang kiểu gen BB lần lượt là +25,21 g/ngày; +0,84 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 quả Brunsch và cs., 2002; Song và cs., 2005. Brunsch và cs. (2002) nghiên cứu trên lợn lai Pietrain (P) x (W) European Wild trong quần thể xuất hiện 02 kiểu gen AB và BB. Kiểu gen AB cho các chỉ số tính trạng cao hơn so với kiểu gen BB. Vẫn trong nghiên cứu này, không tìm thấy mối quan hệ của đa hình gen *PIT1* với các tính trạng khảo sát trên lợn lai Meishan x Pietrain (M x P).

Như vậy, chọn lọc kiểu gen AA- *PIT1* sẽ cải tiến nhanh chóng được tốc độ tăng trưởng của giống lợn Duroc nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu mối liên kết của đa hình gen *PIT1* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng ở thế hệ thứ 2 được thể hiện ở bảng 3.8 cho thấy: Tính trạng tăng khối lượng và dày mỡ lưng, khối lượng kết thúc có mối liên kết chặt chẽ ở thế hệ thứ 2 trong quần thể lợn Duroc nghiên cứu ( $p < 0,05$ ). Lợn mang kiểu gen AA có khối lượng kết thúc cao nhất 98,29 kg và thấp nhất là lợn mang kiểu gen GG là 89,50 kg. Nghiên cứu di truyền cho thấy, 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 ( $p < 0,05$ ).



**Hình 3.23. Tăng khối lượng của lợn Duroc mang các kiểu gen AA, AB, BB của gen *PIT1* ở thế hệ thứ 1 và 2**

Kết luận đa hình gen *PIT1* 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 3.9.

**Bảng 3.9. 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 <sup>ab</sup> ±1,10	252	94,23 <sup>b</sup> ±0,69	173	96,52 <sup>a</sup> ±0,79	0,03
	TKL (g/ngày)	75	818,34 <sup>ab</sup> ±10,13	252	809,00 <sup>b</sup> ±6,37	173	<b>832,33<sup>a</sup>±7,27</b>	0,01
	DML (mm)	75	<b>12,57<sup>a</sup>±0,30</b>	252	12,02 <sup>ab</sup> ±0,19	173	11,48 <sup>b</sup> ±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 <sup>b</sup> ±1,19	82	95,24 <sup>b</sup> ±1,18	30	101,90 <sup>a</sup> ±1,78	0,00
	TKL (g/ngày)	78	835,74 <sup>a</sup> ±10,15	82	788,50 <sup>b</sup> ±10,10	30	<b>839,93<sup>a</sup>±15,16</b>	0,00
	DML (mm)	78	<b>12,09<sup>a</sup>±0,39</b>	82	11,34 <sup>ab</sup> ±0,39	30	9,97 <sup>b</sup> ±0,59	0,01

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

Kết quả bảng 3.9 cho thấy đa hình gen *GH* có mối liên kết với tăng khối lượng, dày mỡ lưng, khối lượng kết thúc trong quần thể lợn Duroc ở cả 2 thế hệ nghiên cứu ( $p < 0,05$ ).

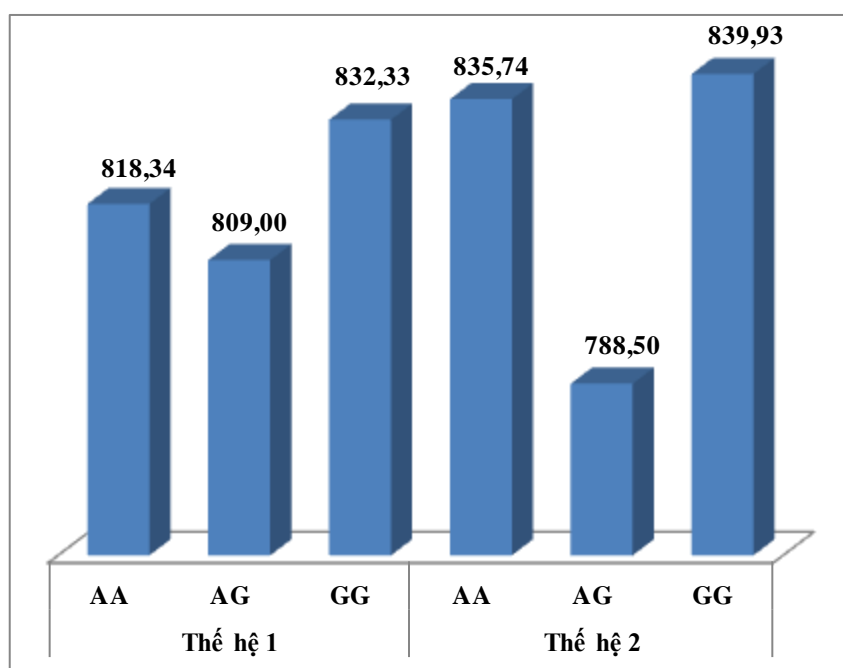
Đa hình gen *GH* có sự sai khác ý nghĩa về tăng khối lượng giữa các kiểu gen ở cả 2 thế hệ. Trong đó, lợn mang kiểu gen GG có khối lượng cao nhất so với 2 kiểu gen còn lại (AG và GG) ở cả 2 thế hệ. Lợn mang kiểu gen GG ở thế hệ 1 có khối lượng kết thúc là 96,52 kg ở thế hệ 2 là 101,90 kg.

Kết quả bảng 3.9 cho thấy 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 ( $p < 0,05$ ). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Bižienė và cs. (2011) trên lợn Lithuanian White, Landrace, Yorkshire và Large White, tăng khối lượng đạt cao nhất ở lợn có kiểu gen GG (777,4 g/ngày) và lợn mang kiểu gen AA có tăng khối lượng thấp nhất (743,7 g/ngày).

Khi giải thích về mối liên kết của đa hình G316A với một số QTL, Faria và cs. (2006) đã đưa ra một số giả thuyết. Giả thuyết thứ nhất cho rằng đa hình G316A trực tiếp chịu trách nhiệm cho sự sai khác của các tính trạng được quan sát do đa hình liên quan đến sự tổng hợp nhiều hay ít protein quan trọng (ví dụ như hormone sinh trưởng) hoặc can thiệp vào các

cấp độ biểu hiện gen khác nhau như dịch mã, sản xuất, vận chuyển hay chu kỳ nửa phân rã của quá trình tuần hoàn hoocmon. Mặc dù đa hình G316A nằm ở vùng intron I, là vùng gen không mã hóa, đa hình cũng có thể can thiệp vào quá trình biểu hiện gen do đa hình có thể thuộc những vùng kích hoạt tác động đến quá trình điều hòa biểu hiện gen. Giả thiết thứ hai là đa hình có mối tương quan và trạng thái mất cân bằng liên kết với các đa hình khác, là nguyên nhân chính gây ra những sai khác của các tính trạng quan sát. Các gen quan trọng khác cũng có thể liên quan đến các tính trạng sản xuất cũng thuộc nhiễm sắc thể 12 như gen acetyl CoA carboxylase và gen apolipoprotein H.

Bên cạnh đa hình G316A (*GH-FokI*), một số đa hình gen *GH* được xác định bằng phương pháp PCR-RFLP cũng được báo cáo có liên kết với các tính trạng sinh trưởng như *GH-DedI* (Trần Xuân Hoàn và cs., 2013), *GH-TaqI*, *GH-DraI* (Cheng và cs., 2000), *GH-ApaI* và *GH-HinI* (Knorr và cs., 1997). Chính vì vậy, có thể xem xét gen *GH* là một chỉ thị phân tử quan trọng trong chọn lọc giống lợn có khả năng sinh trưởng cao.



**Hình 3.24. Tăng khối lượng của lợn Duroc mang các kiểu gen AA, AG, GG của gen *GH* ở thế hệ thứ 1 và 2**

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 ( $p < 0,05$ ). Kết quả nghiên cứu của Franco và cs., 2005 cũng cho thấy đa hình gen *GH* liên kết với dày mỡ lưng trên 213 cá thể lợn Landrace. Trong quần thể xuất hiện 02 kiểu gen  $D_1D_1$  và  $D_1D_2$ , trong đó chỉ số dày mỡ lưng lần lượt là 11,640 mm; 10,981 mm.

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 3.10.

**Bảng 3.10. 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	KLbđKT (kg)	479	32,40 ± 0,23	21	34,07 ± 0,88	0,06
	KLktKT (kg)	479	95,09 <sup>b</sup> ± 0,57	21	100,59 <sup>a</sup> ± 2,20	0,01
	TKL (g)	479	817,13 <sup>b</sup> ± 5,31	21	<b>870,65<sup>a</sup> ± 20,24</b>	0,01
	DML (mm)	479	12,92 ± 0,61	21	11,89 ± 0,16	0,09
2	KLbđKT (kg)	177	29,93 ± 0,26	11	30,78 ± 0,78	0,31
	KLktKT (kg)	177	94,05 <sup>b</sup> ± 0,95	11	102,72 <sup>a</sup> ± 2,87	0,00
	TKL (g/ngày)	177	807,44 <sup>b</sup> ± 7,75	11	<b>884,23<sup>a</sup> ± 23,42</b>	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 ( $p < 0,05$ )*

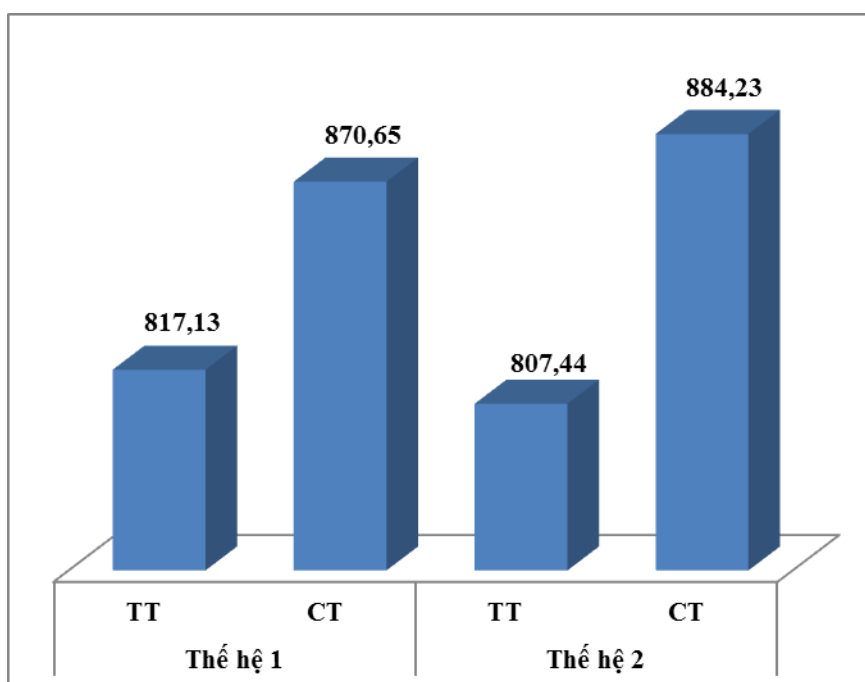
Ở thể hệ thứ 1, khi phân tích mối liên kết của đa hình gen *LEP* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng, khối lượng bắt đầu và khối lượng kết thúc, kết quả thể hiện trong bảng 3.10. Số liệu bảng 3.10 cho thấy có mối liên kết của đa hình gen *LEP* với khối lượng kết thúc ( $p < 0,05$ ) ở cả 2 thể hệ. Khối lượng kết thúc 100,59 kg ở lợn mang kiểu gen CT cao hơn lợn mang kiểu gen TT 95,09 kg ở thể hệ 1 và 102,72 kg ở lợn mang kiểu gen CT cao hơn so với lợn mang kiểu gen TT 94,05 kg ở thể hệ 2.

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 này phù hợp với công bố của Park và cs., 2015 chỉ ra rằng đa hình gen *LEP* có mối liên kết với tăng khối lượng trên lợn Duroc. Tuy nhiên, cũng trong nghiên cứu này, Park không tìm thấy mối liên kết của đa hình gen *LEP* với tính trạng tăng khối lượng trên lợn Landrace và lợn Yorkshire. Tương tự, nghiên cứu của Hirose và cs. (2014) trên lợn Duroc cho thấy đa hình T3469C không có liên quan đến bất cứ tính trạng tăng khối lượng giai đoạn 30-90 kg, dày mỡ lưng và tỷ lệ mỡ giết trong thăn thịt.

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 thể hệ 1; ở thể hệ 2 là 884,23 g/ngày so với 807,44 g/ngày. Kết quả tương tự cũng được quan sát trong các quần thể lợn khác như lợn Landrace Ba Lan (Kulig và cs., 2001), Duroc (Urban và cs., 2002), Yorkshire (Trần Xuân Hoàn và cs., 2013) và Mangalica x Duroc (Tempfli và cs., 2015). Nghiên cứu của Kennes và cs. (2001) trên giống lợn Landrace cho kết quả ngược lại, kiểu gen đồng hợp TT có tăng khối lượng là 910 g/ngày trong khi kiểu gen dị hợp CT có tăng khối lượng là 850 g/ngày.

Bên cạnh tính trạng liên quan đến khối lượng, gen *LEP* còn được cho là một trong những gen ứng viên tiềm năng cho tính trạng thành phần mỡ trong thân thịt. Nghiên cứu của Kulig và cs. (2001) chỉ ra sự sai khác về tỷ

lệ nạc giữa lợn mang kiểu gen TT và TC. Tỷ lệ nạc của lợn mang gen TT thấp hơn lợn mang kiểu gen CT.



**Hình 3.25. Tăng khối lượng của lợn Duroc mang các kiểu gen CT, TT của gen *LEP* ở thế hệ 1 và 2**

Nghiên cứu của Urban và cs. (2002) trên lợn Duroc cho thấy có mối liên kết giữa đa hình *LEP-HinfI* với dày mỡ lưng cũng như tỷ lệ nạc với ý nghĩa thống kê ( $p \leq 0,04$ ). Theo đó, lợn có kiểu gen CT có dày mỡ lưng thấp hơn lợn mang kiểu gen TT. Tuy nhiên, 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 ( $p > 0,05$ ). Sự sai khác với kết quả của các nghiên cứu trước được tác giả giải thích có thể do nền tảng di truyền khác nhau của các quần thể nghiên cứu.

Szydłowski và cs. (2004) cho rằng đa hình *LEP-HinfI* không đóng góp trực tiếp vào sự sai khác của tính trạng thân thịt. Nhóm tác giả cho rằng nhiều nghiên cứu phân tích đa hình gen *LEP* và các tính trạng thân thịt ở lợn là không thuyết phục. Szydłowski đã dẫn chứng trong nghiên cứu của



Jiang và cs. (1999) trên bốn giống lợn Duroc, Hampshire, Landrace và Large White, sự sai khác có ý nghĩa chỉ xảy ra giữa nhóm lợn Large White có dày mỡ lưng cao và nhóm lợn Large White có dày mỡ lưng thấp.

Jiang và cs. (1999) cũng đề xuất là đa hình gen *LEP* có liên kết với dày mỡ lưng ở lợn, tuy nhiên nhóm tác giả cũng khẳng định bằng chứng trong nghiên cứu chưa thuyết phục. Nghiên cứu của Jiang và cs. (1999) đã đề xuất mối liên kết giữa alen C với dày mỡ lưng thấp. Kennes và cs. (2001) chỉ ra alen C có tần số thấp trong nhóm lợn Landrace có giá trị giống về dày mỡ lưng thấp. Điều này cho thấy mối liên kết giữa đa hình gen *LEP* với tính trạng dày mỡ lưng theo các hướng trái ngược nhau. Khi giải thích mối liên kết giữa đa hình gen *LEP* với các tính trạng sản xuất, các nhà khoa học có chung quan điểm cho rằng mặc dù gen *LEP* là một đa hình đồng nghĩa (synonymous polymorphisms), *LEP* cũng có thể ảnh hưởng đến các tính trạng sản xuất do tác động thay đổi sự ổn định của quá trình phiên mã và hiệu suất dịch mã của mRNA hoặc có thể do liên kết gần gũi với các đa hình không đồng nghĩa khác là nguyên nhân dẫn đến sự sai khác về kiểu hình (Jiang & Gibson, 1999; Tempfli cs., 2015; Urban cs., 2002).

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 nhân 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 3.11.

**Bảng 3.11. 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	
KLbđKT (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 ( $p < 0,05$ )*

Đa hình C6204T trên gen *PIK3C3* được xem là một chỉ thị di truyền cho việc chọn lọc tính trạng dày mỡ lưng và mỡ thân thịt. Mối liên kết giữa đa hình C6204T của gen *PIK3C3* với tính trạng sinh trưởng và dày mỡ lưng được nghiên cứu đầu tiên bởi Kim và cs. (2005) trên thế hệ con lai F2 giữa lợn nội Hàn Quốc và lợn Landrace. Kết quả cho thấy có sự sai khác ý nghĩa giữa alen C và alen T ở các chỉ tiêu nghiên cứu khối lượng cơ thể ở 30 tuần tuổi, phần trăm mỡ thân thịt ( $p < 0,05$ ) và dày mỡ lưng ( $p < 0,01$ ). Nghiên cứu cũng cho thấy alen C có ảnh hưởng tích cực và ý nghĩa đến thành phần mỡ.

Một nghiên cứu khác của Hirose và cs. (2011) trên 739 lợn Duroc cũng cho thấy ảnh hưởng có ý nghĩa của alen C đến khả năng tăng khối lượng cũng như dày mỡ lưng. Lợn mang kiểu gen CC có tăng khối lượng và dày mỡ lưng cao hơn lợn mang kiểu gen CT và TT. Các cách phân tích locus QTL hiện nay cho thấy sự tồn tại mối quan hệ giữa tính trạng dày mỡ lưng và các QTL ở nhiễm sắc thể số 6.

Trong nghiên cứu này, khi đánh giá mối liên kết của đa hình gen *PIK3C3* với tăng khối lượng và dày mỡ lưng, khối lượng bắt đầu, khối lượng kết thúc 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 khối lượng bắt đầu và khối lượng kết thúc ( $p > 0,05$ ). Do vậy, đa hình

gen *PIK3C3* được khảo sát ở thể hệ 1, không tiến hành khảo sát ở thể 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 3.12.

**Bảng 3.12. Năng suất sinh sản của lợn nái Duroc**

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

Kết quả bảng 3.12 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. Tương tự trong nghiên cứu của Đoàn Phương Thuý và cs. (2015), 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 đạt 10,30; 9,33; 9,92 và 9,71 con.

Leonova và cs. (2015) nghiên cứu trên 34 lợn nái Duroc nuôi ở Nga. Kết quả cho thấy số con sơ sinh/ổ đạt 10,94; số con sơ sinh sống/ổ đạt 9,81 con. Đỗ Đức Lực và cs. (2013) cho biết số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con cai sữa/ổ của nái Duroc đạt tương ứng 10,21; 9,14 và 8,79 con.

Nakavisut và cs. (2006) nghiên cứu trên lợn Duroc nuôi tại Thái Lan cho biết số con sơ sinh/ổ đạt 7,8; số con cai sữa/ổ đạt 6,9 con. Raghavendran và cs. (2015) nghiên cứu trên 25 lợn nái Duroc cho thấy số con sơ sinh/ổ đạt 9,56; số con cai sữa/ổ ở thời điểm 45 ngày tuổi đạt 6,04 con. Lewis và Hermesch. (2013) nghiên cứu trên lợn nái Duroc tại Úc. Kết quả cho thấy số con sơ sinh/ổ đạt 11,4 con.

Trong nghiên cứu trên, kết quả số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con đẻ nuôi/ổ và số con cai sữa/ổ thấp hơn so với công bố của Nguyễn Văn Đức (2015) nghiên cứu trên đàn lợn Duroc nuôi tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển chăn nuôi lợn Bình Thắng với số con sơ sinh/ổ là 13,9 con; số con sơ sinh sống/ổ là 11,0 con; số con cai sữa/ổ là 10,5 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. Đỗ Đức Lục và cs. (2013) cho biết khối lượng sơ sinh/ổ và khối lượng cai sữa/ổ của nái Duroc đạt 13,93 kg/ổ và 58,56 kg/ổ. Theo Nakavisut và cs. (2006), khối lượng sơ sinh/ổ đạt 11,9kg, khối lượng cai sữa/ổ đạt 32,9 kg. Raghavendran và cs. (2015) cho biết lợn nái Duroc có khối lượng sơ sinh đạt 11,86 kg/ổ; khối lượng cai sữa lúc 45 ngày tuổi đạt 46,05 kg/ổ.

Tỷ lệ sơ sinh sống, tỷ lệ sống đến cai sữa trong nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ lần lượt là 91,15%, 97,30%. Tỷ lệ này tương tự trong nghiên cứu của Đỗ Đức Lục và cs. (2013) có tỷ lệ sơ sinh sống là 91,75%, tỷ lệ sống đến cai sữa là 96,03%.

### 3.3.6.2. Mối liên kết của gen *MC4R* với tính trạng sinh sản

Mối liên kết giữa đa hình *MC4R* với số con sơ sinh/ổ, con sơ sinh sống/ổ, số con cai sữa/ổ, số con đẻ nuôi/ổ, tỷ lệ sơ sinh sống, tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa, khối lượng sơ sinh/ổ, khối lượng cai sữa/ổ của lợn nái Duroc được trình bày ở bảng 3.13.

**Bảng 3.13. Liên kết đa hình gen *MC4R* với tính trạng sinh sản**

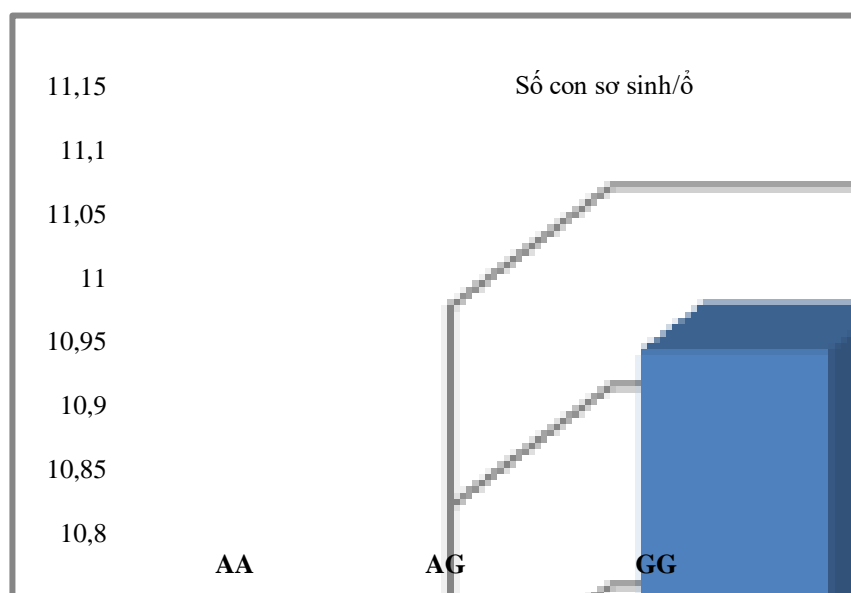
Chỉ tiêu	AA	AG	GG	p
	(n = 89)	(n = 219)	(n = 137)	
	LSM ± SE	LSM ± SE	LSM ± SE	
Số con sơ sinh/ổ (con)	11,13 ± 0,18	10,94 ± 0,12	10,91 ± 0,15	0,60
Số con sơ sinh sống/ổ (con)	10,18 ± 0,16	9,96 ± 0,10	9,81 ± 0,13	0,23
Số con đẻ nuôi/ổ (con)	9,70 ± 0,15	9,51 ± 0,10	9,33 ± 0,12	0,17
Số con cai sữa/ổ (con)	9,50 ± 0,17	9,21 ± 0,11	9,09 ± 0,13	0,15
Tỷ lệ sơ sinh sống (%)	91,66 ± 0,87	91,37 ± 0,55	90,46 ± 0,70	0,48
Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa (%)	97,94 ± 0,86	96,89 ± 0,54	97,52 ± 0,69	0,54
Khối lượng sơ sinh/ổ (kg)	14,33 ± 0,27	14,09 ± 0,17	13,75 ± 0,21	0,23
Khối lượng cai sữa/ổ (kg)	65,87 <sup>a</sup> ± 1,24	62,82 <sup>ab</sup> ± 0,80	60,16 <sup>b</sup> ± 1,00	0,00

Bảng 3.13 cho thấy đa hình gen *MC4R* không có mối liên kết với chỉ tiêu con sơ sinh/ổ, con sơ sinh sống/ổ, số con cai sữa/ổ, số con đẻ nuôi/ổ, tỷ lệ sơ sinh sống, tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa, khối lượng sơ sinh/ổ (kg) ( $p > 0,05$ ). Tuy nhiên, chỉ tiêu về khối lượng cai sữa/ổ có mối liên kết với đa hình gen *MC4R* ( $p < 0,01$ ).

Các chỉ tiêu về số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con đẻ nuôi/ổ và số con cai sữa/ổ ở những cá thể mang kiểu gen AA có xu hướng cao hơn so với những cá thể mang 2 kiểu gen còn lại. Cụ thể, đối với chỉ tiêu số con sơ sinh/ổ ở lợn mang kiểu gen AA cao hơn so với lợn mang kiểu gen AG, GG (11,13 con so với 10,94 và 10,91 con); số con sơ sinh sống/ổ ở những cá thể mang kiểu gen AA, AG và GG lần lượt là 10,18; 9,96 và 9,81 con. Lợn mang kiểu gen AA đạt số con cai sữa/ổ cao nhất 9,50 con, lợn mang kiểu gen GG có số con cai sữa/ổ thấp nhất 9,09 con.

Tỷ lệ sơ sinh sống/ổ, tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa/ổ vẫn theo xu hướng chung ở trên lợn mang kiểu gen AA đạt cao nhất, sau đó đến lợn mang kiểu gen AG và thấp nhất là lợn mang kiểu gen GG. Tuy nhiên, sự khác biệt ở 3 đa hình không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa đạt khá cao ở cá thể mang kiểu gen AA (97,94%) và thấp nhất là cá thể mang kiểu gen AG (96,89%).

Khối lượng sơ sinh/ổ cao nhất ở cá thể mang kiểu gen AA (14,33 kg), sau đó đến kiểu gen AG (14,09 kg) và thấp nhất là kiểu gen GG (13,75 kg). Cá thể mang kiểu gen AA, AG và GG có khối lượng cai sữa/ổ lần lượt là 65,87; 62,82; 60,16 kg có sự sai khác ở cá thể mang kiểu gen AA và GG ( $p < 0,05$ ).



**Hình 3.26. Số con sơ sinh/ổ của lợn Duroc mang kiểu gen AA, AG và GG của gen *MC4R***

### 3.3.6.3. Mối liên kết của gen *PIT1* với tính trạng sinh sản

Số liệu mối liên kết giữa đa hình gen *PIT1* với tính trạng sinh sản được thể hiện ở bảng 3.14.

**Bảng 3.14. Liên kết đa hình gen *PIT1* với tính trạng sinh sản**

Chỉ tiêu	AA	AB	BB	p
	(n = 131)	(n = 188)	(n = 126)	
	LSM ± SE	LSM ± SE	LSM ± SE	
Số con sơ sinh/ổ (con)	11,05 ± 0,15	11,02 ± 0,12	10,81 ± 0,15	0,48
Số con sơ sinh sống/ổ (con)	10,00 ± 0,14	9,99 ± 0,11	9,88 ± 0,14	0,79
Số con để nuôi/ổ (con)	9,44 ± 0,13	9,52 ± 0,10	9,51 ± 0,13	0,84
Số con cai sữa/ổ (con)	9,25 ± 0,14	9,21 ± 0,11	9,24 ± 0,14	0,97
Tỷ lệ sơ sinh sống (%)	90,94 ± 0,72	91,07 ± 0,60	91,68 ± 0,73	0,73
Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa (%)	97,92 ± 0,71	96,85 ± 0,59	97,36 ± 0,72	0,50
Khối lượng sơ sinh/ổ (kg)	14,14 ± 0,22	14,09 ± 0,18	13,85 ± 0,23	0,62
Khối lượng cai sữa/ổ (kg)	63,08 ± 1,04	62,52 ± 0,86	62,58 ± 1,06	0,91

Số liệu mối liên kết giữa đa hình gen *PIT1* với tính trạng sinh sản được thể hiện ở bảng 3.14. Kết quả bảng 3.14 cho thấy, đa hình gen *PIT1* không ảnh hưởng đến các chỉ tiêu nghiên cứu như số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con đẻ nuôi/ổ, số con cai sữa/ổ, tỷ lệ sơ sinh sống, tỷ lệ sống đến cai sữa, khối lượng sơ sinh/ổ, khối lượng cai sữa/ổ ( $p>0,05$ ).

Cá thể mang kiểu gen AA có các chỉ tiêu về số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con cai sữa/ổ, tỷ lệ sống đến cai sữa, khối lượng sơ sinh/ổ, khối lượng cai sữa/ổ có xu hướng cao hơn so với hai cá thể mang kiểu gen còn lại (AB, BB). Tuy nhiên, sự sai khác về các chỉ tiêu trên ở những cá thể mang kiểu gen khác nhau không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ). Cụ thể, cá thể mang kiểu gen AA có số con sơ sinh/ổ là 11,05 con, tiếp theo là kiểu gen AB (11,02 con) và thấp nhất là kiểu gen BB (10,81 con). Chỉ tiêu số con sơ sinh sống/ổ ở kiểu gen AA; AB và BB lần lượt là 10,00; 9,99; 9,88 con. Số con cai sữa/ổ ở lợn mang các kiểu gen AA, AB, BB lần lượt là 9,25; 9,21; 9,24 con.

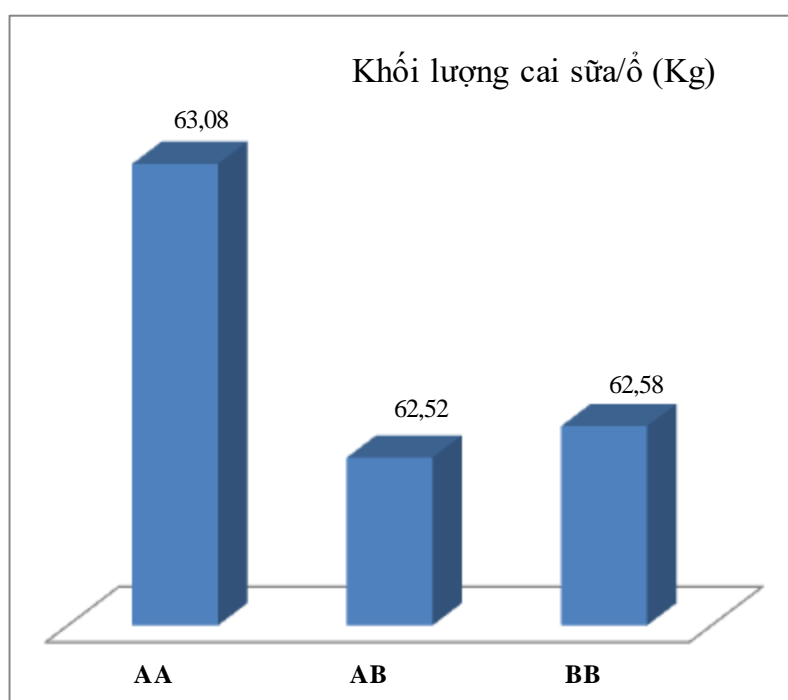
Số con đẻ nuôi/ổ ở lợn mang kiểu gen AB đạt cao nhất là 9,52 con, thấp nhất là lợn mang kiểu gen AA là 9,44 con.

Tỷ lệ sơ sinh sống đạt cao nhất ở lợn mang kiểu gen BB, sau đó đến lợn mang kiểu gen AB và cuối cùng là ở cá thể lợn mang kiểu gen AA. Cá thể lợn mang kiểu gen BB (91,68%) cao hơn so với cá thể lợn mang kiểu gen AA (90,94%) là 0,74%.

Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa cao nhất ở lợn mang kiểu gen AA, tiếp theo là lợn mang kiểu gen BB và thấp nhất là lợn mang kiểu gen AB lần lượt có tỷ lệ phần trăm là 97,92%; 97,36%; 96,85%.

Về chỉ tiêu khối lượng sơ sinh/ổ và khối lượng cai sữa/ổ, những cá thể mang kiểu gen AA có xu hướng cao hơn những cá thể lợn mang kiểu gen AB, BB. Cụ thể: chỉ tiêu khối lượng sơ sinh/ổ ở lợn mang các kiểu gen AA, AB, BB lần lượt là 14,14; 14,09; 13,85 (kg); khối lượng cai sữa/ổ ở lợn mang các kiểu gen AA, BB, AB lần lượt đạt 63,08; 62,58; 62,52 (kg).

Nghiên cứu của Song và cs., 2007 cho thấy lợn mang kiểu gen AA có khối lượng sơ sinh cao hơn các kiểu gen còn lại.



**Hình 3.27. Khối lượng cai sữa/ổ của lợn Duroc mang kiểu gen AA, AB và BB của gen *PIT1***

#### 3.3.6.4. Mối liên kết của gen *GH* với tính trạng sinh sản

Số liệu mối liên kết giữa đa hình gen *GH* với tính trạng sinh sản được thể hiện ở bảng 3.15.

**Bảng 3.15. Liên kết đa hình gen *GH* với tính trạng sinh sản**

Chỉ tiêu	AA	AG	GG	P
	(n = 67)	(n = 199)	(n = 179)	
	LSM ± SE	LSM ± SE	LSM ± SE	
Số con sơ sinh/ổ (con)	11,22 ± 0,21	10,76 ± 0,12	11,11 ± 0,13	0,06
Số con sơ sinh sống/ổ (con)	10,19 ± 0,19	9,82 ± 0,11	10,02 ± 0,12	1,19
Số con để nuôi/ổ (con)	9,75 ± 0,18	9,40 ± 0,10	9,50 ± 0,11	0,24
Số con cai sữa/ổ (con)	9,58 ± 0,20	9,09 ± 0,11	9,25 ± 0,12	0,08
Tỷ lệ sơ sinh sống (%)	91,26 ± 1,00	91,70 ± 0,58	90,49 ± 0,61	0,36
Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa (%)	98,19 ± 1,00	96,75 ± 0,58	97,57 ± 0,61	0,38
KL sơ sinh/ổ (kg)	14,17 ± 0,31	13,85 ± 0,18	14,19 ± 0,19	0,40
KL cai sữa/ổ (kg)	63,63 ± 1,45	62,87 ± 0,84	61,93 ± 0,89	0,56



Dựa vào bảng 3.15 cho thấy đa hình gen *GH* không có mối liên kết với các tính trạng nghiên cứu như số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con đẻ nuôi/ổ, số con cai sữa/ổ, tỷ lệ sơ sinh sống, tỷ lệ sống đến cai sữa, khối lượng sơ sinh/ổ, khối lượng cai sữa/ổ ( $p > 0,05$ ).

Đối với các chỉ tiêu là số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con đẻ nuôi/ổ, số con cai sữa/ổ, khối lượng cai sữa/ổ thì lợn mang kiểu gen AA có xu hướng cao hơn lợn mang các kiểu gen còn lại. Số con sơ sinh/ổ cao nhất ở lợn có kiểu gen AA (11,22 con), tiếp theo là lợn có kiểu gen GG (11,11 con) và thấp nhất là lợn có kiểu gen AG (10,76 con). Số con sơ sinh sống/ổ ở lợn mang các kiểu gen AA, GG, AG lần lượt là 10,19; 10,02; 9,82 con. Về tính trạng số con đẻ nuôi/ổ đạt cao nhất ở lợn mang kiểu gen AA, tiếp theo là lợn mang kiểu gen GG và thấp nhất là lợn mang kiểu gen AG. Lợn mang kiểu gen AA cao hơn so với lợn mang kiểu gen AG là 0,49 con và cao hơn so với lợn mang kiểu gen GG là 0,33 con. Cũng theo xu hướng trên, lợn mang kiểu gen AA có chỉ số con cai sữa/ổ đạt cao nhất (9,58 con) sau đó đến lợn mang kiểu gen GG (9,25 con) và cuối cùng là lợn mang kiểu gen AG (9,09 con).

Tỷ lệ sơ sinh sống đạt cao nhất ở lợn mang kiểu gen AG (91,70%), thấp nhất ở lợn mang kiểu gen GG (90,49%). Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa đạt cao nhất ở cá thể mang kiểu gen AA (98,19%), thấp nhất ở cá thể mang kiểu gen AG (96,75%).

Chỉ tiêu khối lượng sơ sinh/ổ cao nhất ở cá thể mang kiểu gen GG, sau đó đến cá thể mang kiểu gen AA và cuối cùng là cá thể mang kiểu gen AG tương ứng 14,19 kg; 14,17 kg; 13,85 kg. Tuy nhiên, tỷ lệ khối lượng cai sữa/ổ đạt cao nhất lại ở cá thể mang kiểu gen AA (63,63 kg), tiếp theo là kiểu gen AG (62,87 kg) và cuối cùng là kiểu gen GG (61,93 kg).

#### 3.3.6.5. Mối liên kết của gen *LEP* với tính trạng sinh sản

Số liệu mối liên kết giữa đa hình gen *LEP* với tính trạng sinh sản được thể hiện ở bảng 3.16.

**Bảng 3.16. Liên kết đa hình gen *LEP* với tính trạng sinh sản**

Chỉ tiêu	CT	TT	p
	(n = 44)	(n = 401)	
	LSM ± SE	LSM ± SE	
Số con sơ sinh/ổ (con)	11,06 ± 0,25	10,96 ± 0,09	0,70
Số con sơ sinh sống/ổ (con)	9,94 ± 0,22	9,96 ± 0,08	0,92
Số con đẻ nuôi/ổ (con)	9,51 ± 0,21	9,49 ± 0,07	0,78
Số con cai sữa/ổ (con)	9,16 ± 0,22	9,24 ± 0,07	0,76
Tỷ lệ sơ sinh sống (%)	89,91 ± 1,70	91,30 ± 0,41	0,27
Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa (%)	96,43 ± 0,16	97,40 ± 0,41	0,43
Khối lượng sơ sinh/ổ (kg)	14,48 ± 0,37	13,98 ± 0,13	0,20
Khối lượng cai sữa/ổ (kg)	62,95 ± 1,70	62,57 ± 0,60	0,83

Số liệu bảng 3.16 chỉ ra rằng đa hình gen *LEP* không có mối liên kết với các tính trạng sinh sản, số con sơ sinh/ổ, số con sơ sinh sống/ổ, số con đẻ nuôi/ổ, số con cai sữa/ổ, tỷ lệ sơ sinh sống, tỷ lệ sống đến cai sữa, khối lượng sơ sinh/ổ, khối lượng cai sữa/ổ ( $p > 0,05$ ).

Cá thể mang kiểu gen CT có xu hướng đạt các chỉ số nghiên cứu về số con sơ sinh/ổ, số con đẻ nuôi/ổ, khối lượng sơ sinh/ổ, khối lượng cai sữa/ổ cao hơn cá thể mang kiểu gen TT. Sự khác biệt giữa các tính trạng không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Số con sơ sinh/ổ ở cá thể mang kiểu gen CT cao hơn cá thể mang kiểu gen TT là 0,1 con. Kiểu gen CT có số con đẻ nuôi/ổ cao hơn kiểu gen TT là 0,02 con.

Chỉ tiêu khối lượng sơ sinh/ổ của kiểu gen CT và TT lần lượt là 14,48 và 13,98 kg; khối lượng cai sữa/ổ của kiểu gen CT là 62,95 kg của lợn mang kiểu gen TT là 62,57 kg.

Tuy nhiên, chỉ tiêu về số con sơ sinh sống/ổ, số con cai sữa/ổ, tỷ lệ sơ sinh sống, tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa ở lợn mang kiểu gen TT cao hơn so với lợn mang kiểu gen CT. Số con sơ sinh sống/ổ của kiểu gen CT và

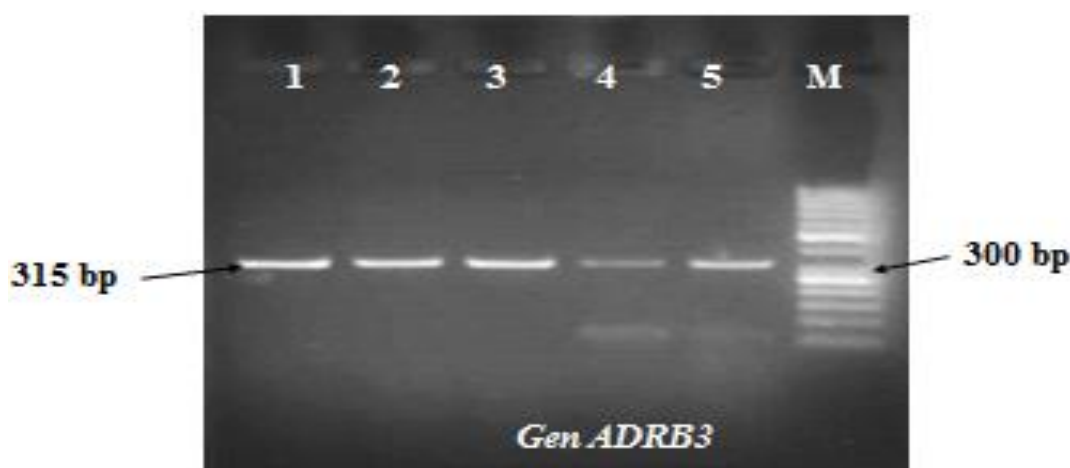
TT lần lượt là 9,94 con; 9,96 con. Số con cai sữa/ổ là 9,16 con ở lợn mang kiểu gen CT và 9,24 con ở lợn mang kiểu gen TT. Tỷ lệ sơ sinh sống ở cá thể mang kiểu gen TT cao hơn cá thể mang kiểu gen CT là 1,39%. Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa ở 2 kiểu gen TT và CT lần lượt là 97,40% và 96,43%.

Như vậy, qua phân tích ở trên cho thấy rằng đa hình các gen *MC4R*, *PIT1*, *GH*, *LEP* không có mối liên kết với tính trạng sinh sản ( $p > 0,05$ ). Do đó, việc sử dụng các ứng viên gen này trong chọn giống theo hướng tăng khối lượng và độ dày mỡ lưng sẽ không ảnh hưởng đến tính trạng sinh sản.

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

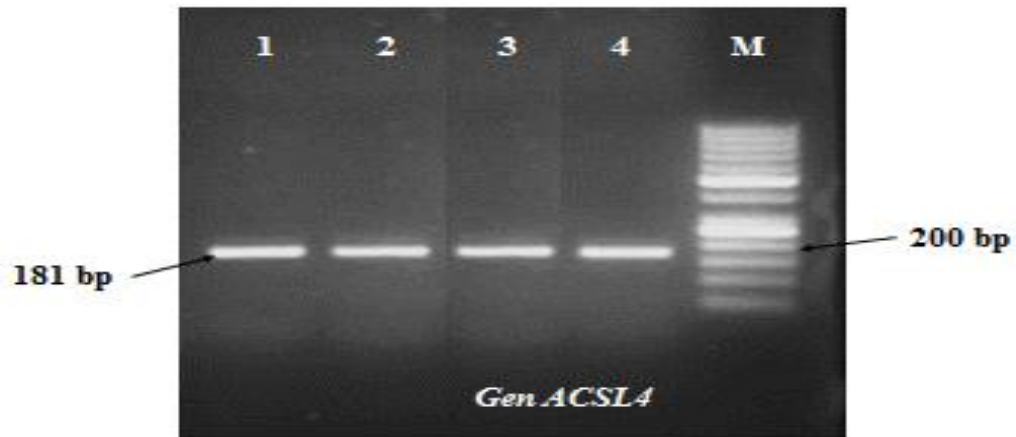
#### 3.4.1. Kết quả nhân ADN đặc hiệu

Phản ứng PCR được thực hiện với các cặp mồi đặc hiệu và các điều kiện đã được tối ưu hóa, các đoạn ADN chứa các điểm đa hình được quan tâm trên các gen nghiên cứu *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* (*Bsr*I) (đoạn gen *FABP3* chứa điểm đa hình cắt bởi enzyme giới hạn *Bsr*I), *FABP3* (*Hin*fI) (đoạn gen *FABP3* chứa điểm đa hình cắt bởi enzym giới hạn *Hin*fI) và *PLIN2* đã được nhân bản đặc hiệu thành công. Kết quả được thể hiện trong các hình từ 3.28-3.32 các băng điện di rõ nét, có kích thước như mong đợi, phù hợp để thực hiện các bước phân tích đa hình tiếp theo.



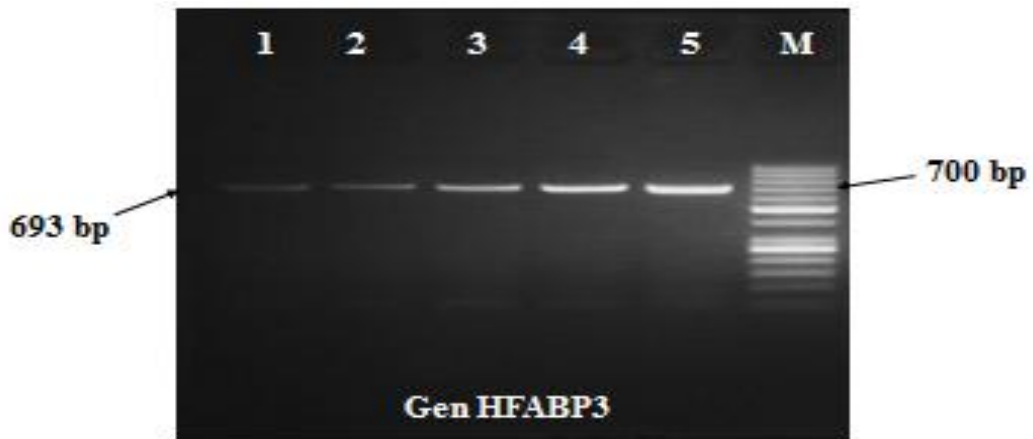
**Hình 3.28. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *ADRB3* trên gel agarose 2%**

M: thang ADN chuẩn 50 bp; 1 - 5: sản phẩm PCR



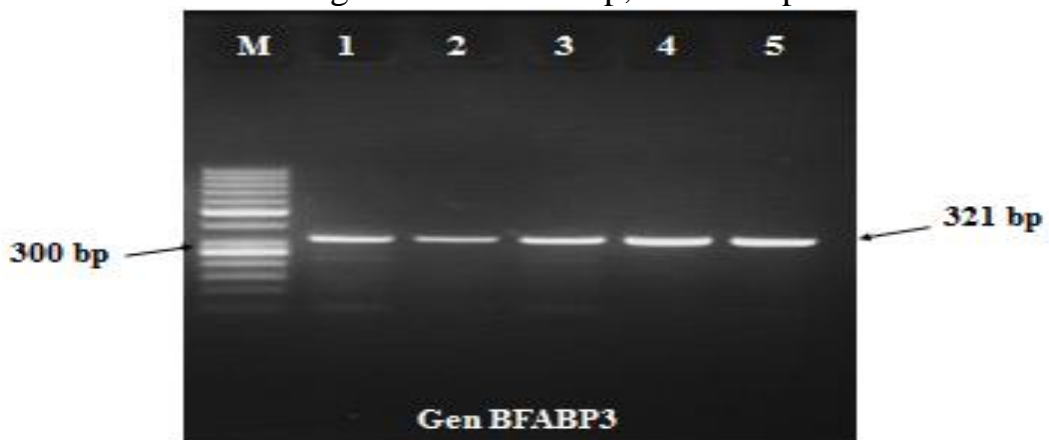
**Hình 3.29. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *ACSL4* trên gel agarose 2%**

M: thang ADN chuẩn 50 bp; 1 - 4: sản phẩm PCR



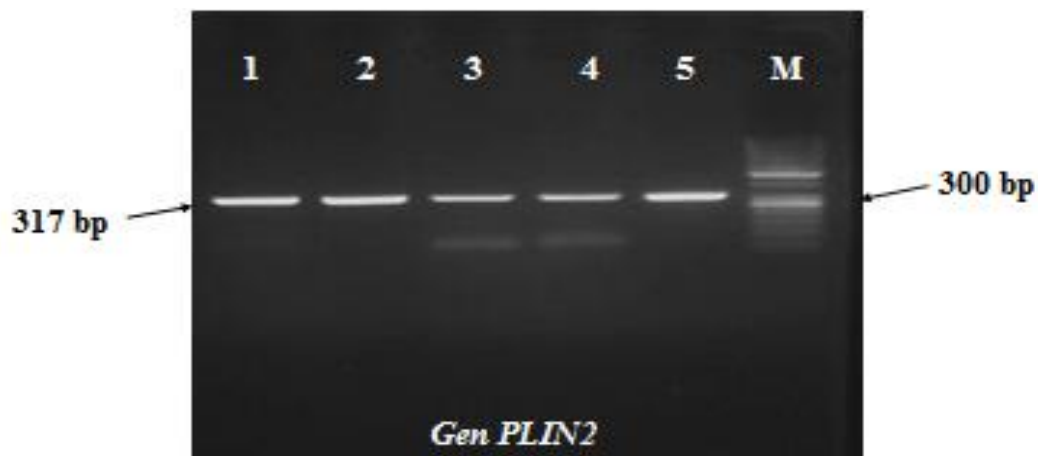
**Hình 3.30. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *FABP3* (*HinfI*) trên gel agarose 2%**

M: thang ADN chuẩn 50 bp; 1 - 5: sản phẩm PCR



**Hình 3.31. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *FABP3* (*BsrFI*) trên gel agarose 2%**

M: thang ADN chuẩn 50 bp; 1 - 5: sản phẩm PCR



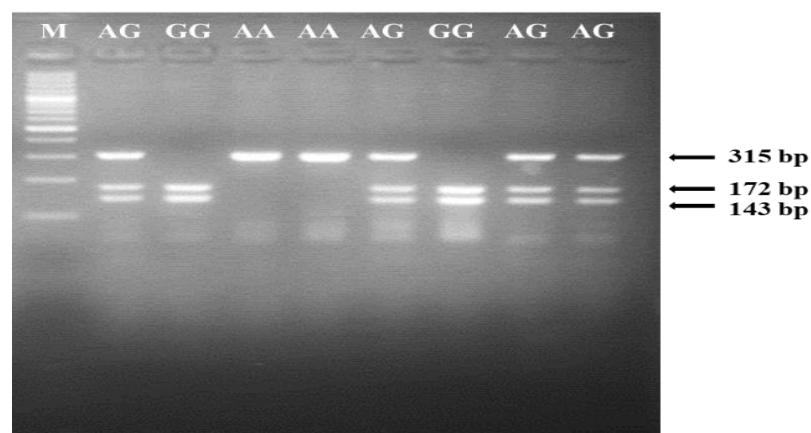
**Hình 3.32. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen *PLIN2* trên gel agarose 2%**

M: thang ADN chuẩn 50bp; 1 - 5: sản phẩm PCR

### 3.4.2. Đa hình các gen *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3 (HinfI)*, *FABP3 (Bsrfl)* và *PLIN2*

#### 3.4.2.1. Đa hình đoạn gen *ADRB3*

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 (hình 3.33). Kết quả phân tích đa hình gen *ADRB3* trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả công bố của Cieslak và cs., 2009.

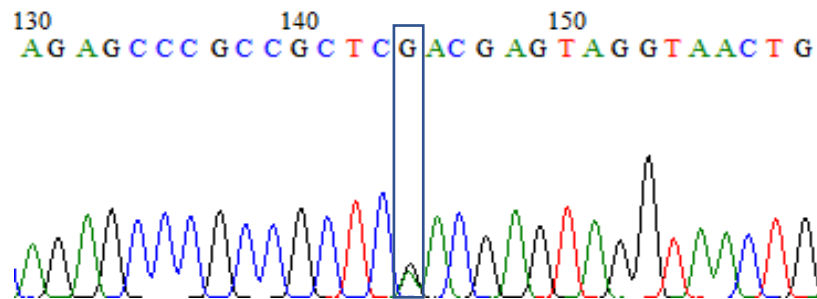


**Hình 3.33. Phổ điện di phân tích đa hình gen *ADRB3* bằng enzyme *TaqI***

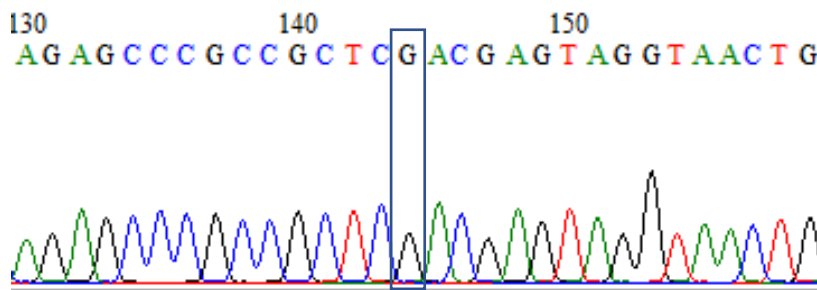
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự đa hình gen *ADRB3* được thể hiện ở hình 3.34

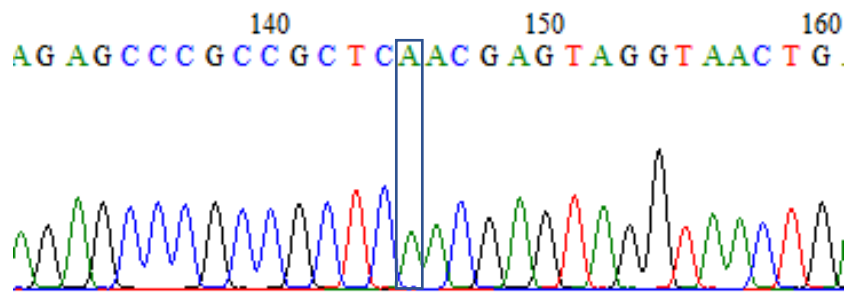
**Kiểu gen AG**



**Kiểu gen GG**



**Kiểu gen AA**



**Hình 3.34. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *ADRB3***

Tần suất kiểu gen và alen *ADRB3* của lợn Duroc được trình bày ở bảng 3.17.

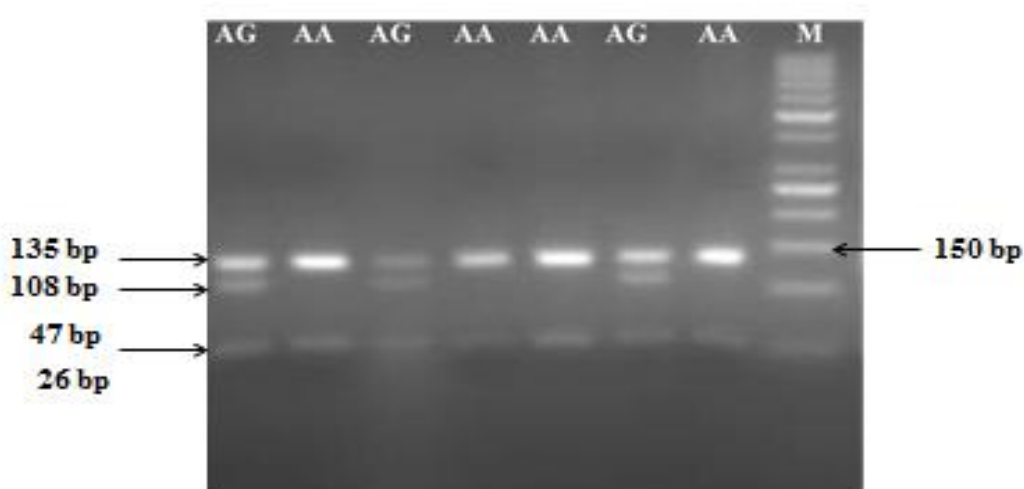
**Bảng 3.17. Tần số kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen *ADRB3***

Chỉ tiêu	Kiểu gen <i>ADRB3</i>			Alen	
	AA	AG	GG	A	G
Số lượng quan sát	15	125	60		
Tần số quan sát	0,07	0,63	0,3	0,40	0,60

Tại điểm đa hình phát hiện được trên vùng exon 1 của gen *ADRB3* bởi enzyme cắt giới hạn *TaqI*, 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 (bảng 3.17). Kết quả này cũng được tìm thấy trong nghiên cứu của Xue và cs., 2015 khi phân tích 440 con lai của lợn Shanzhu × Duroc được nuôi ở Trung Quốc cho thấy tần số kiểu gen dị hợp AG cũng là tần số kiểu gen cao nhất 54,3%. Wang và cs., 2012 phân tích từ 305 con lai Shanzhu và Duroc lợn được nuôi trong cùng một trang trại (Viện Nghiên cứu Chăn nuôi và Gia cầm Nam Kinh, Trung Quốc), cho thấy alen G/A của gen *ADRB3* có tần số lần lượt là 0,34/0,66. Cieslak và cs., 2009 cho biết tần số kiểu gen AA, AG và GG của gen *ADRB3* trong quần thể Duroc lần lượt là 0,227; 0,500; 0,273.

#### 3.4.2.2. Đa hình đoạn gen *ACSL4*

Gen *ACSL4* mã hóa cho chuỗi dài acyl-CoA synthetase 4, đóng vai trò thiết yếu trong quá trình sinh tổng hợp lipid và quá trình phân hủy axit béo. Đa hình tại vùng 3'-UTR được xác định sau khi sử dụng enzyme cắt giới hạn *RsaI*. Kết quả phân tích hình ảnh điện di (hình 3.35) cho thấy, trong quần thể lợn Duroc nghiên cứu 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). Kết quả phân tích đa hình gen *ACSL4* trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả công bố của Rusc và cs., 2011.

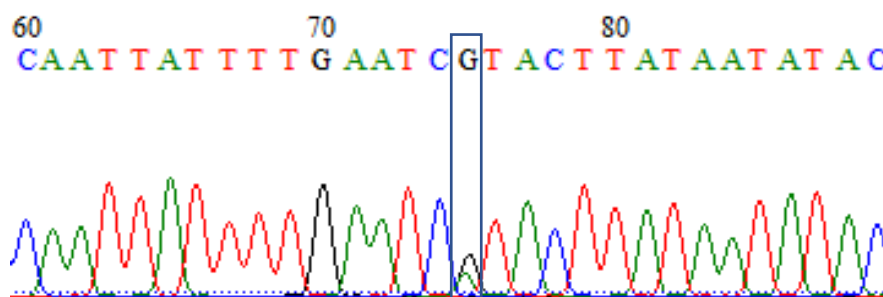


**Hình 3.35. Phổ điện di phân tích đa hình gen *ACSL4* bằng enzyme *RsaI***

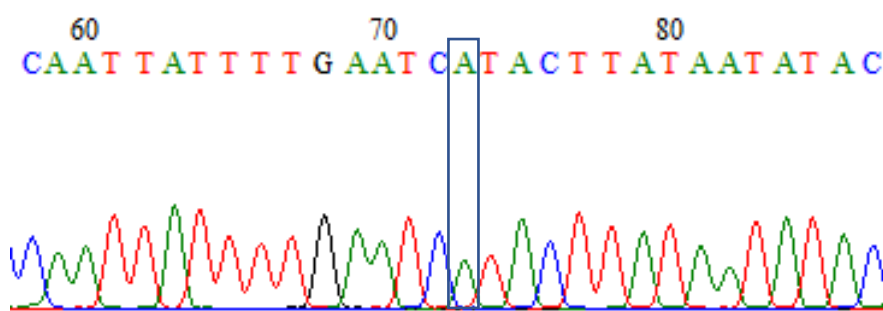
M: thang ADN chuẩn 50 bp

Giải trình tự đa hình gen *ACSL4* được thể hiện ở hình 3.36.

**Kiểu gen AG**



**Kiểu gen AA**



**Hình 3.36. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *ACSL4***

Tần suất kiểu gen và alen *ACSL4* của lợn Duroc được trình bày ở bảng 3.18.

**Bảng 3.18. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen *ACSL4***

Chỉ tiêu	Kiểu gen <i>ACSL4</i>		Alen	
	AA	AG	A	G
Số lượng quan sát	183	17		
Tần số quan sát	0,92	0,08	0,95	0,05

Kết quả cho thấy trong quần thể lợn Duroc nghiên cứu xuất hiện 2 kiểu gen AA và GG. 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. Chen và cs., 2014 phân tích đa hình gen *ACSL4* cho thấy tần số alen A/G là 0,386/ 0,614. Rusc và cs., 2011 nghiên cứu 132 con lai (Landrace × Yorkshire) × Duroc cho thấy xuất hiện 03 kiểu gen AA; AG; GG của gen *ASCL4* với tần số kiểu gen lần lượt là 0,174; 0,25; 0,575.



### 3.4.2.3. Đa hình đoạn gen *FABP3* (*HinfI*)

Sản phẩm PCR của gen *FABP3* (*HinfI*) được cắt bằng enzyme *HinfI*. Kết quả của gen *FABP3* (*HinfI*) được hiển thị trong hình 3.37. Trong quần thể lợn Duroc nghiên cứu 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). Kết quả tương tự như kết quả nghiên cứu trước đó của Rothschild và cs., 2000.

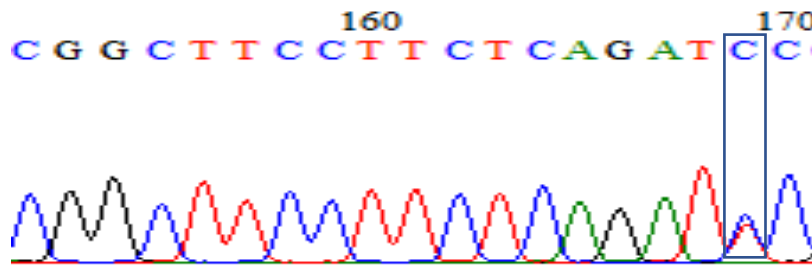


**Hình 3.37. Phổ điện di phân tích đa hình gen *FABP3* bằng enzyme *HinfI***

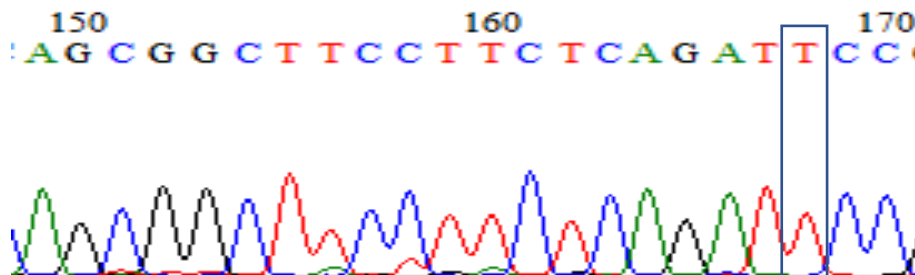
M: thang ADN chuẩn 100 bp

Giải trình tự đa hình gen *FABP3* (*HinfI*) được thể hiện ở hình 3.38.

#### Kiểu gen CT



#### Kiểu gen TT



**Hình 3.38. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *FABP3* (*HinfI*)**

Tần suất kiểu gen và alen *FABP3* (*HinfI*) của lợn Duroc được trình bày ở bảng 3.19.

**Bảng 3.19. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen *FABP3* (*HinfI*)**

Chỉ tiêu	Kiểu gen <i>FABP3</i> ( <i>HinfI</i> )			Alen	
	TT	CT	CC	T	C
Số lượng quan sát	185	15	0		
Tần số quan sát	0,93	0,07	0,00	0,96	0,04

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. Sự xuất hiện phổ biến của alen T so với alen C cũng được mô tả trong nghiên cứu của Wang và cs.(2012) Alen T/C của gen *FABP3* (*HinfI*) lần lượt là 0,948; 0,052. Trong nghiên cứu Xue và cs., 2015 tần số alen T/C: 0,959/0,041. Theo Schwab và cs. (2009), cũng tại điểm đa hình này, alen T được tìm thấy với tần số 98,4% trên quần thể lợn Duroc;

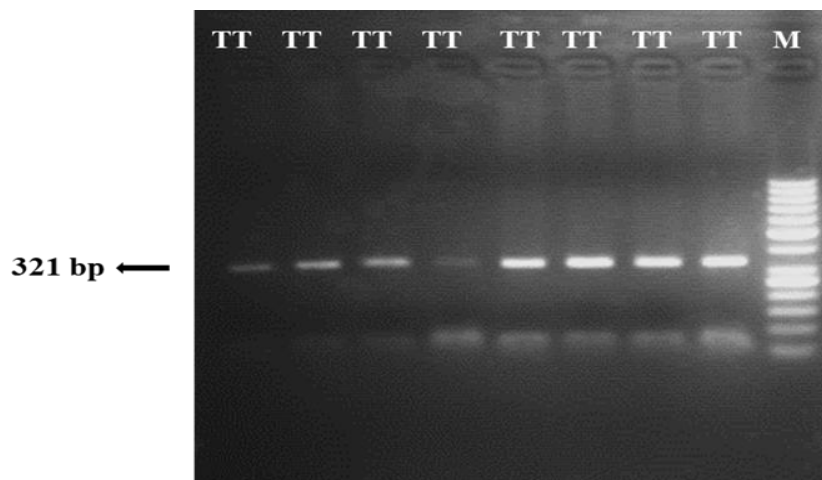
Li và cs. (2006) khi nghiên cứu tính đa hình của gen *FABP3* (*HinfI*) trong quần thể lợn Meishan và bốn quần thể lợn khác (Sutai, Yorkshire × Sutai, Landrace × Sutai và Duroc × Landrace × Yorkshire) ở Trung Quốc, sử dụng PCR-RFLP cho thấy các tần số alen xuất hiện rất khác nhau trong các quần thể lợn như Meishan 100%A, Sutai là 75,5%A, Yorkshire × Sutai là 37,55%A, Landrace × Sutai là 46,45%A; Duroc × Landrace × Yorkshire là 29,15%A.

Chen và cs., 2014 nghiên cứu 6 quần thể lợn (Yanan, Jinhua, Duroc, Landrace, Yorkshire, và Duroc x (Landrace x Yorkshire), trong đó gen *H-FABP/HinfI* ở quần thể lợn Duroc tần số alen H/h là 0,887/0,113; tần số kiểu gen HH; Hh và hh lần lượt là 0,815; 0,143; 0,042.

#### 3.4.2.4. Đa hình gen *FABP3* (*BsrFI*)

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

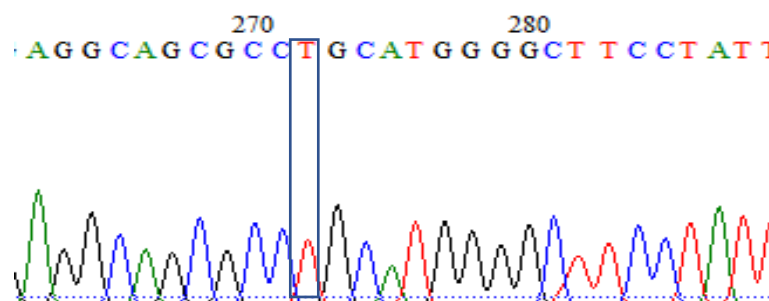
ứng với 1 băng điện di là 321 bp (hình 3.39). Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Schwab và cs., 2009. Tuy nhiên, kết quả phân tích trên quần thể nghiên cứu chỉ thu được một kiểu gen duy nhất là TT.



**Hình 3.39. 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 3.40.



**Hình 3.40. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *FABP3* (*BsrFI*)**

Tần suất kiểu gen và alen gen *FABP3* cắt bằng enzyme *BsrFI* ở lợn Duroc nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.20.

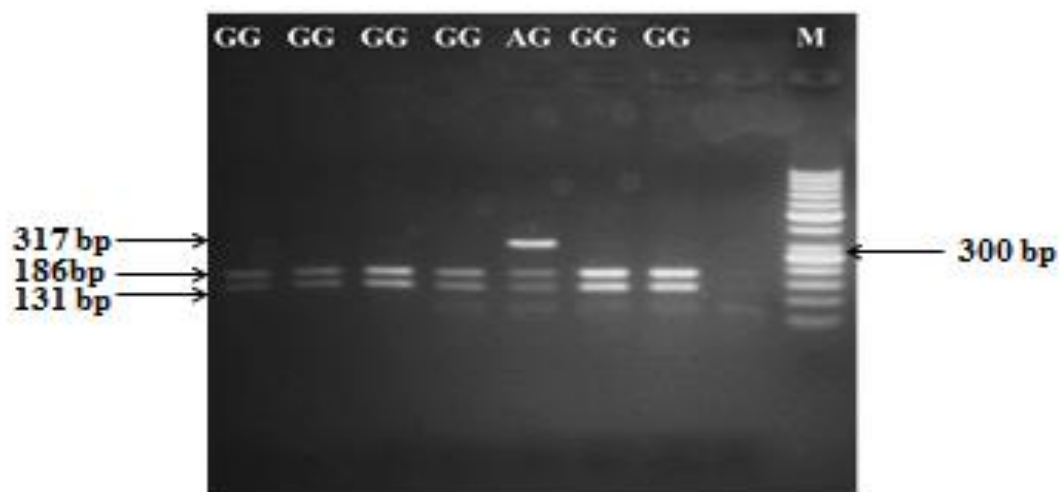
**Bảng 3.20. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen *FABP3* (*BsrFI*)**

Chỉ tiêu	Kiểu gen <i>FABP3</i> ( <i>BsrFI</i> )			Alen	
	TT	GT	GG	T	G
Số lượng quan sát	200	0,00	0,00		
Tần số quan sát	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00

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*) không được tiến hành ở nghiên cứu tiếp theo.

#### 3.4.2.5. Đa hình đoạn gen *PLIN2*

Sản phẩm PCR của gen *PLIN2* được cắt bằng enzyme *Mva*1269I. Trong quần thể lợn Duroc nghiên cứu 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 (hình 3.41). Kết quả phân tích đa hình gen *PLIN2* trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả công bố của Davoli và cs. (2011).

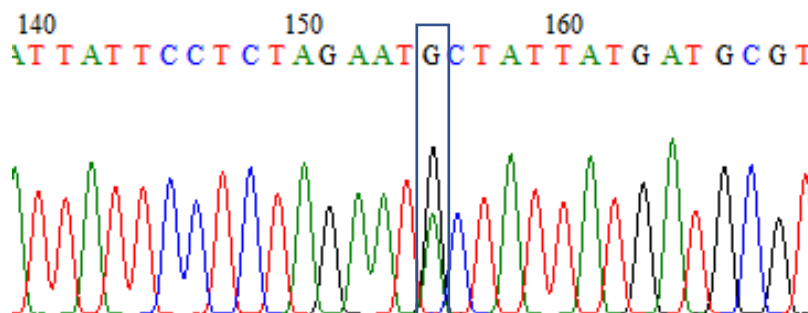


**Hình 3.41. Phổ điện di phân tích đa hình gen *PLIN2* bằng enzyme *Mva*1269I**

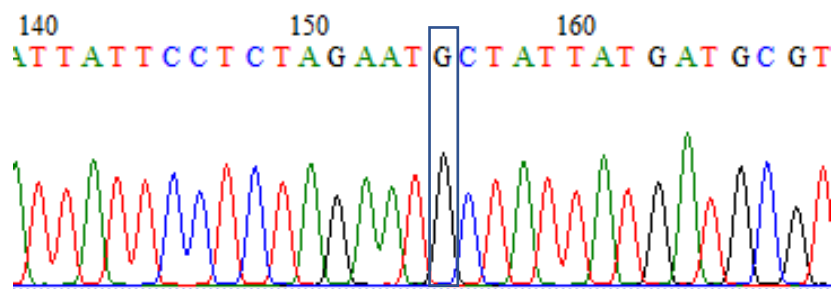
M: thang ADN chuẩn 50 bp

Giải trình tự đa hình gen *PLIN2* được thể hiện ở hình 3.42.

#### **Kiểu gen AG**



### Kiểu gen GG



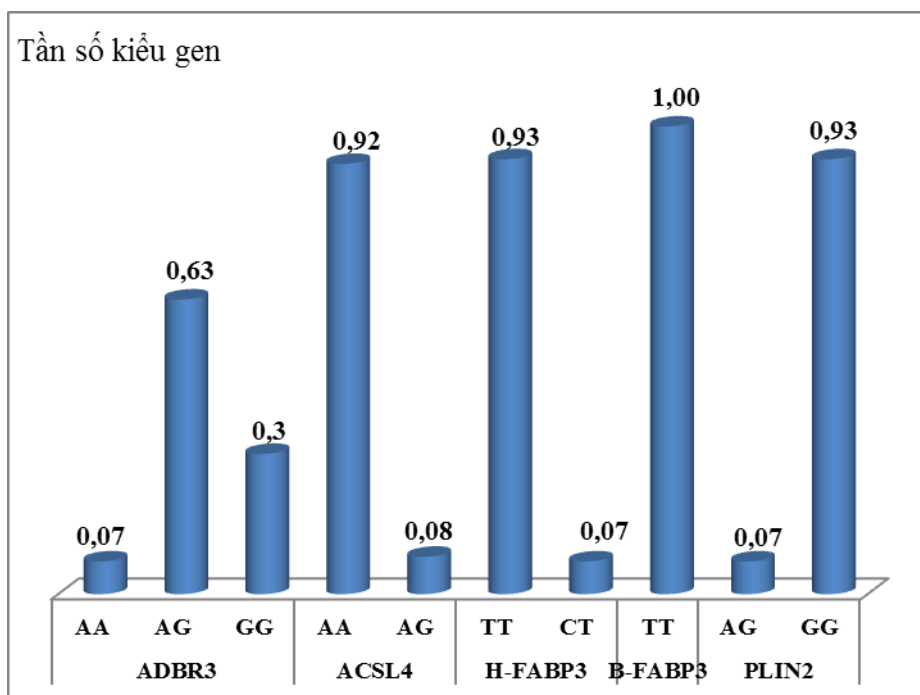
**Hình 3.42. Kết quả giải trình tự các điểm đa hình gen *PLIN2***

Tần suất kiểu gen và alen *PLIN2* của lợn Duroc được trình bày ở bảng 3.21.

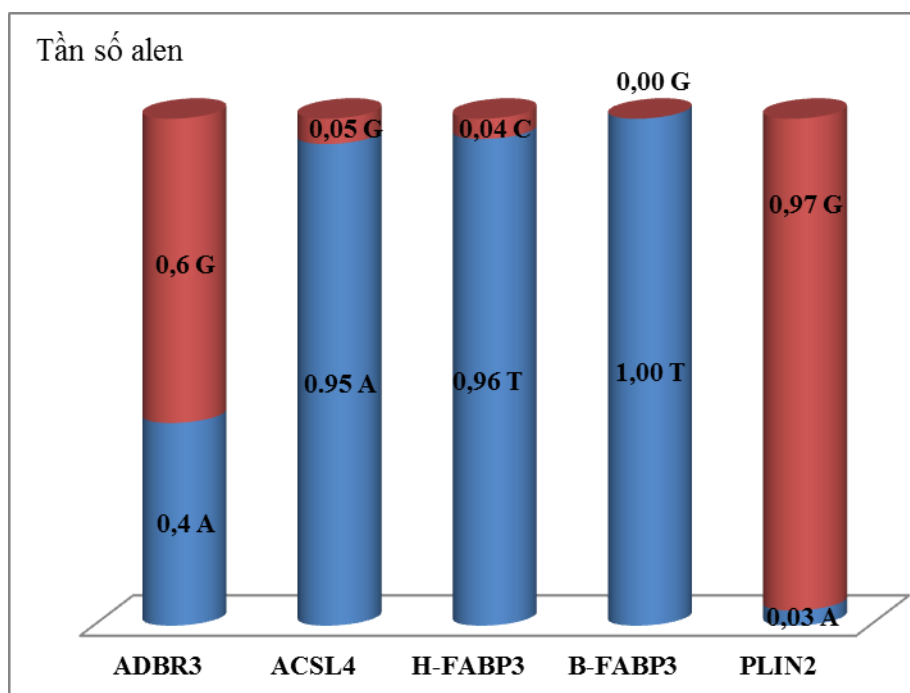
**Bảng 3.21. Tần số các kiểu gen và alen đa hình trên đoạn gen *PLIN2***

Chỉ tiêu	Kiểu gen <i>PLIN2</i>			Alen	
	AA	AG	GG	A	G
Số lượng quan sát	0	13	187		
Tần số quan sát	0,00	0,07	0,93	0,03	0,97

Qua bảng 3.21 cho thấy, 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. Điều đó cho thấy sự phổ biến của tần số alen G (0,97) trong quần thể là rất cao, tần số alen A xuất hiện trong quần thể rất thấp (0,03). Kết quả này phù hợp với công bố của Davoli và cs., 2011 khi phân tích đa hình gen của gen *PLIN2* ở lợn Italian Duroc có tần số alen G/A là 0,922/0,078.



**Hình 3.43.** Tần số kiểu gen của các gen *ADBR3*, *ACSL4*, *FABP3* (*HinfI*), *FABP3* (*BsrFI*), *PLIN2*



**Hình 3.44.** Tần số alen của các gen *ADBR3*, *ACSL4*, *FABP3* (*HinfI*), *FABP3* (*BsrFI*), *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 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 3.22.

**Bảng 3.22. Mối liên kết của gen *ACSL4* với TLMG**

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

Kết quả bảng 3.22 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 tính 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 3.23.

**Bảng 3.23. Mối liên kết của gen *ADBR3* với TLMG**

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 *ADBR3* 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*, *PPAR $\gamma$* , *PPAR $\alpha$* , *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 3.24.

**Bảng 3.24. Mối liên kết của gen *PLIN2* với TLMG**

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 lipit 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 chỉ ra 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 3.24). 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 3.25.

**Bảng 3.25. Mối liên kết của gen *FABP3* (*HinfI*) với TLMG**

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	

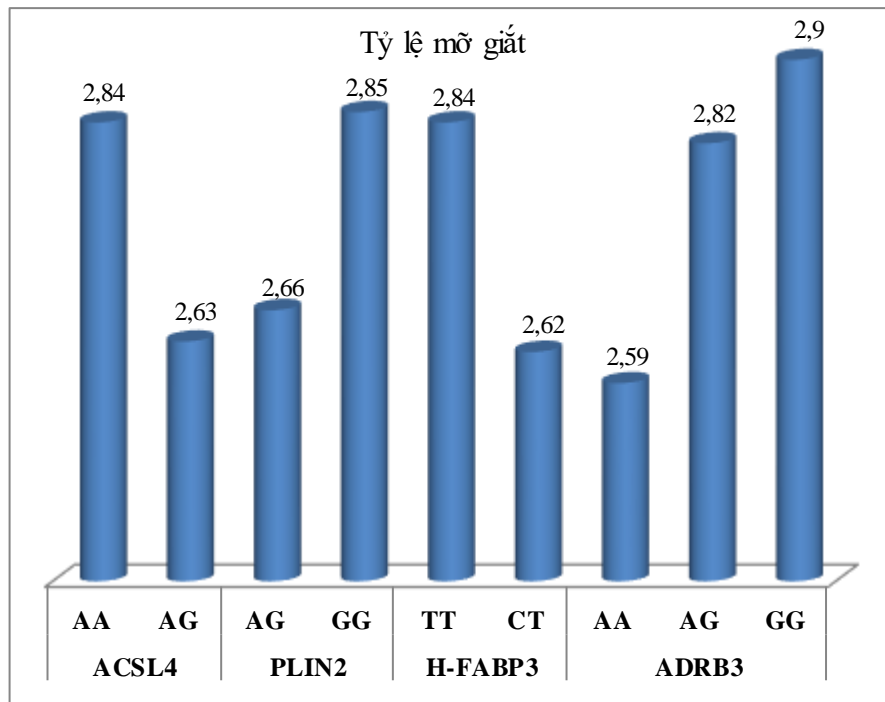
Đa hình gen *FABP3* (*HinfI*) xuất hiện 2 kiểu gen CT và TT. Lợn mang kiểu gen TT có xu hướng có tỷ lệ mỡ giết cao hơn lợn mang kiểu gen CT (2,84 so với 2,62). Tuy nhiên, hai điểm đa hình này không có mối liên kết với tỷ lệ mỡ giết trong quần thể Duroc nghiên cứu ( $p > 0,05$ ).

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.

Một điểm đa hình khác cũng được tìm thấy trên gen *FABP3* ở vị trí 5'-UTR (G/T, -158) xác định bởi enzyme cắt giới hạn *Bsrfl*. Điểm đa hình này có mối liên kết với tính trạng dày mỡ lưng trên quần thể lợn lai L990 ở Ba Lan (lai tạo từ các giống Yorkshire, Duroc, Hampshire và 3 dòng lợn Landrace) (Chmurzynska và cs., 2007).



**Hình 3.45. Tỷ lệ mỡ giết của các gen *ADRB3*, *ACSL4*, *FABP3* (*HinfI*) và *PLIN2***

Kết quả nghiên cứu cho thấy đa hình gen của các gen ứng viên trong nghiên cứu này 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 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 1,2 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 ( $\geq 800$  g/ngày). So sánh 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, 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 giát 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.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ  
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.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### 1. TIẾNG VIỆT

- Đào Thị Bình An, Cao Đình Tuấn, Phạm Sỹ Tiệp, Dương Thị Oanh và Trịnh Phú Cử. 2019. Đặc điểm ngoại hình, khả năng sinh trưởng và sinh sản của lợn Lũng Pù, lợn Vân Pa và lợn Sóc. Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi. Số 103: 2 - 12.
- Lê Văn An, Nguyễn Thị Lộc, Nguyễn Minh Hương, Nguyễn Thị Thu Trang. 2017. Nghiên cứu sử dụng chế phẩm Probiotic (*Bacillus subtilis* và *Lactobacillus plantarum*) trong khẩu phần thức ăn nuôi lợn giai đoạn sau cai sữa và nuôi thịt. Tạp chí khoa học & công nghệ nông nghiệp. Số 2: 209 - 216.
- Nguyễn Văn Anh, Nguyễn Văn Cường và Nguyễn Văn Đức. 2010. Mối quan hệ giữa gen Hooomon sinh trưởng và tăng khối lượng ở lợn Móng Cái lai. Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi. Số 2: 73 - 80.
- Hà Xuân Bộ, Lưu Thị Trang, Trần Xuân Mạnh, Nguyễn Văn Hùng, Nguyễn Xuân Cảnh và Đỗ Đức Lực. 2019. Đa hình gen MC4R và PIT1 ở quần thể lợn Duroc. KHKT Chăn nuôi. Số 243: 2 - 6.
- Ngô Thị Kim Cúc, Tạ Thị Bích Duyên, Nguyễn Văn Trung, Đinh Ngọc Bách, Phạm Sỹ Tiệp và Nguyễn Thanh Sơn. 2015. Phân tích mức độ di truyền về khả năng tăng khối lượng, dày mỡ lưng và tiêu tốn thức ăn giữa các giống lợn thuần Duroc, Piétrain, Landrace và các tổ hợp lai giữa chúng. Tạp chí Khoa học công nghệ chăn nuôi. Số 57: 48 - 60.
- Nguyễn Văn Cường. 2006. Phân tích các biến thể ADN của một số gen có ý nghĩa kinh tế trong giống lợn thuần nội Việt Nam. Báo cáo tổng kết đề tài theo nghị định thư Việt Nam - Đức.
- Lê Phạm Đại, Lê Thanh Hải, Lã Văn Kính và Nguyễn Hữu Tĩnh. 2014. Ảnh hưởng của nhóm giống, giới tính và khối lượng giết mổ đến tỷ lệ mỡ giết ở đàn lợn thịt tại Việt Nam. Tạp chí KHKT Chăn nuôi. Số 6: 2 - 11.
- Lê Phạm Đại, Lê Thanh Hải, Lã Văn Kính và Nguyễn Hữu Tĩnh. 2015. Tác



động của việc sử dụng 2 dòng đực giống Duroc có tỷ lệ mỡ giết và khối lượng giết thịt khác nhau đến tỷ lệ mỡ giết trong thăn thịt lợn lai thương phẩm giống ngoại. Tạp chí KHKT Chăn nuôi. Số 2: 1 - 7.

Nguyễn Văn Đức. 2015. Lợn Đan Mạch - một nguồn gen quý về năng suất sinh sản và tăng khối lượng. Tạp chí KHKT Chăn nuôi. 2: 95 - 98.

Nguyễn Văn Đức, Bùi Quang Hộ, Giang Hồng Tuyền, Đặng Đình Trung, Nguyễn Văn Trung, Trần Quốc Việt và Nguyễn Thị Viễn. 2010. Năng suất sinh sản, sản xuất của lợn Móng Cái, Piétrain, Landrace, Yorkshire, và ưu thế lai của lợn lai  $F_1$ (Landrace x Móng Cái),  $F_1$ (Yorkshire x Móng Cái) và  $F_1$ (Piétrain x Móng Cái). Tạp chí Khoa học công nghệ. Số 22: 29 - 36.

Lê Thị Thu Hà, Đỗ Võ Anh Khoa, Phạm Tất Thắng, Trần Văn Tịnh, Nguyễn Thị Diệu Thúy. 2015. Ảnh hưởng của đa hình gen PIT1 đến tính trạng năng suất của giống gà tàu vàng. Tạp chí KHKT Chăn nuôi. 195: 8 - 15

Trần Văn Hào, Nguyễn Hữu Tĩnh, Phạm Tất Thắng, Nguyễn Văn Hợp và Nguyễn Quốc Vũ. 2015. Tăng khối lượng, dày mỡ lưng và chuyển hóa thức ăn của tổ hợp lai lợn đực cuối giữa Duroc và Landrace. Tạp chí Khoa học kỹ thuật chăn nuôi. Số 10: 23 - 29.

Phan Xuân Hào. 2008. Xác định ảnh hưởng của khối lượng sơ sinh và giới tính tới sinh trưởng của lợn con đến 8 tuần tuổi. Tạp chí Khoa học và Phát triển. Số 2: 128 - 133.

Trần Xuân Hoàn, Phạm Thị Phương Mai, Trần Xuân Toàn, Nguyễn Thị Quỳnh Châu, Giang Thị Thanh Nhân và Lương Nhân Tuấn. 2012. Đa hình một số ứng cử gen liên kết với khả năng tăng trọng của lợn Móng Cái và Yorkshire. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Chăn nuôi. Số 37: 64 - 72.

Trần Xuân Hoàn, Phạm Thị Phương Mai, Giang Thị Thanh Nhân, Lương Nhân Tuấn, Trịnh Hồng Sơn và Nguyễn Văn Hà. 2013. Mối liên kết của đa hình một số ứng cử gen với khả năng tăng trọng của lợn

- Móng Cái và Yorkshire. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Chăn nuôi. Số 41: 73 - 79.
- Nguyễn Văn Hậu, Phạm Doãn Lân, Nhữ Văn Thụ và Lê Thị Thúy. 2000. Phân tích trình tự nucleotit gen hoocmon sinh trưởng của một số giống lợn bản địa Việt Nam. Tạp chí Di truyền và Ứng dụng. Số 3: 6 - 10.
- Phạm Thành Hồ. 2008. Giáo trình Di truyền học. Nxb Giáo dục, Hà Nội.
- Lâm Thái Hùng, Lý Thị Thu Lan. 2019. Ảnh hưởng của khẩu phần thức ăn lên sinh trưởng và tỷ lệ thân thịt của heo rừng lai nuôi tại Trà Vinh. KHKT Chăn nuôi. Số 241: 37 - 42.
- Nguyễn Đức Hưng. 2011. Nghiên cứu điều kiện chăn nuôi và sức sản xuất của giống lợn địa phương (lợn cỏ) đang nuôi tại huyện miền núi tỉnh Quảng Nam. Tạp chí khoa học. Đại học Huế. Số 64: 55 - 63.
- Lã Văn Kính, Phạm Ngọc Thảo, Vương Nam Trung và Đoàn Vĩnh. 2015. Ảnh hưởng của các dạng thức ăn tới sức sản xuất và chất lượng thịt của lợn thương phẩm. Tạp chí KHKT Chăn nuôi. Số 12: 15 - 20.
- Đỗ Đức Lực, Hà Xuân Bộ, Nguyễn Chí Thành, Nguyễn Xuân Trạch và Vũ Đình Tôn. 2013. Năng suất sinh sản của đàn lợn hạt nhân Piétrain kháng stress và Duroc nuôi tại Trung tâm giống lợn chất lượng cao Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội. Tạp chí Khoa học và Phát triển. Số 11: 30 - 35.
- Nguyễn Văn Nôi, Trần Văn Phùng và Trần Xuân Hoàn. 2010. Phân tích đa hình gen *MC4R* và *GHRH* của lợn đực rừng Thái Lan và con lai giữa lợn đực rừng Thái Lan và lợn nái địa phương Pác Nặm. Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi. Số 25: 71 - 76.
- Trần Văn Phùng, Bùi Thị Thơm và Hồ Thị Bích Ngọc. 2008. Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ lysine và năng lượng trao đổi của thức ăn có các mức protein khác nhau đến sinh trưởng của lợn giai đoạn 18-50 kg, Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Số 2: 41 - 45.

- Lê Đình Phùng. 2009. Năng suất sinh sản của lợn nái lai F<sub>1</sub>(Landrace x Yorkshire) phối tinh đực F<sub>1</sub>(Duroc x Piétrain) trong điều kiện chăn nuôi trang trại tại Quảng Bình. Tạp chí Khoa học, Đại học Huế. Số 55: 41 - 51.
- Nguyễn Hoàng Sơn. 2020. Ảnh hưởng của bổ sung khoáng Nano trong khẩu phần thức ăn đến sinh trưởng của lợn thịt. Tạp chí Sinh học. Số 42: 125–131. Doi: 10.15625/0866-7160/v42n1.14863.
- Bùi Thị Thơm, Trần Văn Phùng. 2012. Ảnh hưởng của năng lượng trao đổi trong khẩu phần ăn đến sinh trưởng, chất lượng thịt và hiệu quả chăn nuôi lợn rừng lai tại Thái Nguyên. Tạp chí Khoa học & Công nghệ. Số 112: 169 - 175.
- Bùi Thị Thơm, Trần Văn Phùng, Phan Đình Thắm. 2009. Nghiên cứu ảnh hưởng của các tỉ lệ Protein khác nhau với mức 10g Lysine/kg thức ăn đến sinh trưởng và cho thịt của lợn ngoại lai giai đoạn 18-50kg. Tạp chí Khoa học và Công nghệ. Số 51: 3 - 7.
- Hồ Trung Thông, Hồ Lê Quỳnh Châu. 2011. Sử dụng kỹ thuật PCR-RFLP trong nghiên cứu đa hình gen liên quan đến chất lượng thịt lợn. Tạp chí khoa học, Đại học Huế. Số 64: 167 - 172.
- Đoàn Phương Thủy, Phạm Văn Học, Trần Xuân Mạnh, Lưu Văn Tráng, Đoàn Văn Soạn, Vũ Đình Tôn, Đặng Vũ Bình. 2015. Năng suất sinh sản và định hướng chọn lọc đối với lợn nái Durocs, Landrace và Yorkshire tại công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco. Tạp chí Khoa học và Phát triển. Số 8: 1397-1404 [www.vnua.edu.vn](http://www.vnua.edu.vn).
- Lê Thị Thúy, Lưu Quang Minh, Trần Thu Thủy, Nguyễn Trọng Bình và Nguyễn Văn Ba. 2004. Đa hình kiểu gen Leptin liên quan đến tính trạng kinh tế của một số giống lợn nuôi tại Việt Nam. Tạp chí Di truyền học và Ứng dụng. Số 4: 12 - 17.
- Vũ Đình Tôn, Trần Thị Thuận. 2005. Giáo trình chăn nuôi lợn. NXb Hà Nội.

Ma Thị Trang, Nguyễn Thị Quyên, Nguyễn Văn Hiên, Dương Văn Cường. 2015. Khảo sát mối liên kết giữa đa hình gen GH với khả năng sinh trưởng của lợn rừng lai. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Tháng 11: 136 - 140.

Bộ Nông Nghiệp và Phát triển nông thôn. 2014. Quyết định 657/QĐ-BNN-CN về việc phê duyệt các chỉ tiêu định mức kinh tế kỹ thuật cho các đàn vật nuôi giống gốc.

## **2. TIẾNG NƯỚC NGOÀI**

Ahmadi, M. M., Mirzaei, A., Sharifiyazdi, H., Hajibemani, A., and Ghasrodashti, R. A. 2015. Pituitary-specific transcription factor 1 (PIT1) polymorphism and its association on milk production and some reproductive performance in Holstein dairy cows. Rev. Med. Vet. Sci 5: 127 - 131.

Albuquerque, D., Nóbrega, C., Rodríguez-López R., Manco L. 2014. Association study of common polymorphisms in MSRA, TFAP2B, MC4R, NRXN3, PPARGC1A, TMEM18, SEC16B, HOXB5 and OLFM4 genes with obesity-related traits among Portuguese children. J Hum Genet. Sci. 59: 307 - 313.

Al-Khuzai, H. M. and Al-Anbari, N. N. 2018. Relationship of *POUIF1* gene polymorphism with some of economical traits in Iraqi awassi ewes, JouARNI of Entomology and Zoology Studies, 6, 2082 - 2085.

Almeida, S.E., Almeida, E. A., Moraes, J.C.F., Weimer, T.A. 2003. Molecular markers in the LEP gene and reproductive performance of beef cattle. J Anim Breed Genet. Sci. 120: 106 - 113.

Asiamah, P. A., Bechtel, D. G., Waldner, C., Buchanan, F. C. 2009. Effects of leptin Arg25Cys on peripheral mononuclear cell counts and antibody response to vaccination in beef cattle. Anim Genet. Sci. 40: 783 - 787.

- Backer, J. M. 2016. The intricate regulation and complex functions of the Class III phosphoinositide 3-kinase Vps34. *Biochem. J. Sci.* 473: 2251-2271.
- Bai, J. Y., Wang, X., Yang, Y. B., Zhang, X. H., Pang, Y. Z., and Li, H. W. 2016. Study on the polymorphism of POU1F1 gene in sheep, *Rev. Bras. Zootecn. Sci* 45: 604 - 607.
- Baldi, A. 1999. Manipulation of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow. *Domestic Animal Endocrinology. Sci.* 17: 131 - 137.
- Banos, G., Woolliams, J. A., Woodward, B.W., Forbes, A. B., Coffey, M. P. 2008. Impact of single nucleotide polymorphisms in leptin, leptin receptor, growth hormone receptor, and diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) gene loci on milk production, feed, and body energy traits of UK dairy cows. *J Dairy. Sci.* 91: 3190 - 3200.
- Barrera-Saldaña, H. A., Ascacio-Martínez, J. A., Sifuentes-Rincón, A. M., Arellano-Vera, W and Arbiza, S. I. 2010. Applications of biotechnology and genomics in goats. *Small Ruminant Research. Sci.* 89: 81 - 90.
- Bazzi, M. D., Nasr, F. A., Alanazi, M. S., Alamri, A., Turjoman, A. A., Moustafa, A. S., Alfadda, A. A., Pathan, A. A., Parine, N. R.. 2014. Association between FTO, MC4R, SLC30A8, and KCNQ1 gene variants and type 2 diabetes in Saudi population. *Genet Mol Res. Sci.* 13: 10194 - 10203.
- Bižienė, R., Miceikienė, I., Baltrėnaitė, L and Krasnopiorova, N. 2011. Association between growth hormone gene polymorphism and economic traits in pigs. *Veterinarija ir Zootechnika* 56(78): 27 - 31. <https://vetzoo.lsmuni.lt/data/vols/2011/56/pdf/biziene.p>
- Brasaemle, D.L., Barber, T., Wolins, N.E., Serrero, G., Blanchette-Mackie, E.J., Londos, C., 1997. Adipose differentiation-related protein is an

- ubiquitously expressed lipid storage droplet-associated protein. *J. Lipid Res.* 38: 2249 - 2263.
- Brickell, J. S., Pollott, G. E., Clempson, A. M., Otter, N., Wathes, D. C. 2010. Polymorphisms in the bovine Leptin gene associated with perinatal mortality in Holstein-Friesian heifers. *J Dairy. Sci.* 93: 340 - 347.
- Broeke, A. V. D., Aluwé, M., Tuytens, F. A. M., Ampe, B., Vanhaecke, L., Wauters, J., Janssens, S., Coussé, A., Buys, N. and Millet, S. 2015. An intervention study demonstrates effects of MC4R genotype on boar taint and performances of growing–finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 93: 934–943 doi:10.2527/jas2014 - 8184.
- Brunsch, C., Sternstein, I., Reinecke, P., Bieniek, J. 2002. Analysis of associations of POU1F1 genotypes with growth, meat quality and carcass composition traits in pigs. *Journal of Applied Genetics*, 43(1): 85 - 91.
- Bruun, C. S., Jorgensen, C. B., Nielsen, V. H., Andersson, L. And Fredholm, M . 2006. Evaluation of the porcine melanocortin 4 receptor (MC4R) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire. *Animal Genetics. Sci* 37: 359 - 362.
- Buske, B., Sternstein, I., and Brockmann, G. 2006. QTL and candidate genes for fecundity in sows. *Animal reproduction science*, 95(3), 167 - 183.
- Chambers, J. C., Elliott, P., Zabaneh, D., Zhang, W., Li, Y., Froguel, P., Balbing, D., Scott, J., Kooner, J. S. 2008. Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. *Nat Genet. Sci* 40: 716 - 718.
- Chao, Z., Wang, F., Deng, C. Y., Wei, L. M., Sun, R. P., Liu, H. L., Liu, Q. W. and Zheng, X. L. 2012. Distribution and linkage disequilibrium analysis of polymorphisms of MC4R LEP H–FABP genes in the different populations of pigs associated with economic traits in DIV2 line. *Mol. Biol. Rep.* 39: 6329 - 6335

- Chen W. G., Li, J. Q., Yuan, J. K., Li, Z. Q., Zhong A.W. and Li. X. 1997. Selecsion of new strains of Duroc pigs. *Journal of South China Agricultural University*. 18: 79 - 84.
- Chen. J.N., Jiang, Y.Z., Cen, W.M., Xing, S.H., Zhu, L., Tang, G.Q., Li, M.Z., Jiang A.A., Lou, P.E., Wen, A.X., Wang, Q., He, T., Zhu, G.X., Xie, M. and Li, X.W. 2014. Distribution of H-FABP and ACSL4 gene polymorphisms and their associations with intramuscular fat content and backfat thickness in different pig populations. *Genetics and Molecular Research* 13(3): 6759 - 6772.
- Cheng, W. T., Lee, C., Hung, C., Chang, T., and Chen, C. 2000. Growth hormone gene polymorphisms and growth performance traits in Duroc, Landrace and Tao-Yuan pigs. *Theriogenology*, 54(8): 1225 - 1237.
- Chmurzynska, A., Szydlowski, M., Stachowiak, M., Stankiewicz, M., Switonski, M., 2007. Association of a new SNP in promoter region of the porcine FABP3 gene with fatness traits in a Polish synthetic line. *Anim. Biotechnol.* 18: 37 - 44.
- Cho, E.S., Parka, D.H., Kim, B., Jung, W.Y., Kwon, E. J. and Kim, C.W. 2009. Association of GHRH, H-FABP and MYOG Polymorphisms with Economic Traits in Pigs. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 22, No. 3 : 307 - 312 .
- Cho, K.H., Kim, M.J., Jeon, G.J., Chung, H.Y., 2011. Association of genetic variants for FABP3 gene with back fat thickness and intramuscular fat content in pig. *Mol. Biol. Rep.* 38: 2161 - 2166.
- Cieslak, J., Nowacka-Woszuik, J., Bartz, M., Fijak-Nowak, H., Grzes, M., Szydlowski, M., Switonski, M. 2009. Association studies on the porcine RETN, UCP1, UCP3 and ADRB3 genes polymorphism with fatness traits. *Meat Science* 83: 551 - 554.
- Cogan, J. D and Phillips, III. J. A. 1998. Growth disorders caused by genetic defects in the growth hormone pathway. *Adv Pediatr. Sci* 45: 337 - 361.

- Cristina, R. B. C., Maria. A. S., Eloísa. A. V. F., Sílvia. Jr., Janethe. D. O. P., 2004. Influence of topical administration of n-3 and n-6 essential and n-9 nonessential fatty acids on the healing of cutaneous wounds. *The international of tissue repair and regeneration: Volume12, Issue: 2: 235-243.* DOI: 10.1111 / j.1067-1927.2004.012216.x
- Daga, C., Paludo, M., Luridiana, S., Consuelo Mura, M., Bodano, S., Pazzola, M., Dettori, M. L., Vacca, G. M., and Carcangiu, V. 2012. Identification of novel SNPs in the Sarda breed goats POU1F1 gene and their association with milk productive performance, *Mol. Biol. Rep.*, 40, 2829–2835, <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2298-0>.
- Dahlen. R. B. A., Baidoo, S. K., Shurson, G. C., Anderson, J. E., Dahlen, C. R. and Johnston, L. J. 2011. Assessment of energy content of low-solubles corn distillers dried grains and effects on growth performance, carcass characteristics, and pork fat quality in growing-finishing pigs. *J Anim. Sci:*1 - 20.
- Datta, S., Verma, A., Gupta, I. D., Chauhan, I., Azad, M. S., Yathish, H. M., Batul, N.K., Ha, T. 2012. Identification of polymorphism in Leptin gene of Murrah buffalo by PCRRFLP. *Explor Anim Med Res. Sci* 2: 7 - 17.
- Davoli, R., Braglia, S., Valastro, V., Annarratone, C., Comella, M., Zambonelli, P., Nisi, I., Gallo, M., Buttazzoni, L. và Russo, V. 2012. Analysis of MC4R polymorphism in Italian Large White and Italian Duroc pigs: association with carcass traits, *Meat science*, 90(4): 887 - 892.
- Davoli, R., Gandolfi, G., Braglia, S., Comella, M., Zambonelli, P., Buttazzoni, L., Russo, V., 2011. New SNP of the porcine Perilipin 2 (PLIN2) gene, association with carcass traits and expression analysis in skeletal muscle. *Mol. Biol. Rep.* 38: 1575 - 1583.
- Doyle E.W. 2007. Use of Real Time Ultrasound in % IMF Prediction For Swine, Biotronics, Inc, Ames, IA 50010. <http://www.nsisf.com/Conferences/2007/pdf%5CUltrasound.pdf>



- Dvořáková, V., Stupka, R., Šprysl, M., Čítek, J., Okrouhlá, M., Kluzáková E., Kratochvílová, H. 2011. Effect of the missense mutation Asp298Asn in *MC4R* on growth and fatness traits in commercial pig crosses in the Czech Republic. *Czech J. Anim. Sci.* 56: 176 - 180.
- Eugenia G., Dariusz L., Andrzej B., Karol B., Piotr J. and Jerzy S. 2007. Investigations of factors influencing the level of subcutaneous and intramuscular fat in swine carcasses. *Pol. J. Food. Nutr. Sci.*, 57(4A): 213-218.  
<http://journal.pan.olsztyn.pl/fd.php?f=1032>.
- Fan, B., Onteru, S. K., Plastow, G. S. and Rothschild, M. F. 2009. Detailed characterization of the porcine *MC4R* gene in relation to fatness and growth. *Anim. Genet.* 40: 401 - 409.
- Faria, D. A. d., Guimarães, S. E. F., Lopes, P. S., Pires, A. V., Paiva, S. R., Sollero, B. P. and Wenceslau, A. A. 2006. Association between G316A growth hormone polymorphism and economic traits in pigs. *Genetics and Molecular Biology*, 29(4): 634 - 640.
- Feng, T., Chu, M. X., Cao, G. L., Tang, Q. Q., Di, R., Fang, L. and Li, N. 2012. Polymorphisms of caprine *POU1F1* gene and their association with litter size in Jining Grey goats, *Mol. Biol. Rep.*, 39: 4029 - 4038.
- Fernandez, A. E., De Melo, M. E., Fujiwara, C. T., Pioltine, M.B., Matioli, S. R., Santos, A., Cercato, C., Halpern, A., Mancini, M. C. 2015. Associations between a common variant near the *MC4R* gene and serum triglyceride levels in an obese pediatric cohort. *Endocrine. Sci* 49: 653 - 658.
- Fernandez, V. S. M. , Johnson, J. S., Abuajamieh. M., Stoakes, S. K., Seibert, J. T., Cox, L., Kahl, S., Elsasser, T. H., Ross, J. W., Isom, S. C., Rhoads, R. P. and Baumgard, L. H. 2015. Effects of heat stress on carbohydrate and lipid metabolism in growing pigs. *Physiological Reports* ISSN 2051-817 X. 3 (2) e12315, doi: 10.14814/phy2.12315.

- Franco, M. M., Antunes, R. C., Silva, H. D. and Goulart, L. R. 2005. Association of PIT1, GH and GHRH polymorphisms with performance and carcass traits in Landrace pigs. *J. Appl. Genet. Sci* 46 (2): 195 - 200.
- Galve, A., Burgos, C., Silió, L., Varona, L., Rodríguez, C., Ovilo, C. and López-Buesa, P. 2012. The effects of leptin receptor (LEPR) and melanocortin-4 receptor (MC4R) polymorphisms on fat content, fat distribution and fat composition in a Duroc× Landrace/Large White cross, *Livestock Science*, 145(1-3): 145 - 152.
- Gao, J., Serrero, G. 1999. Adipose differentiation related protein (ADRP) expressed in transfected COS-7 cells selectively stimulates long chain fatty acid uptake. *J. Biol. Chem.* 274: 16825 - 16830.
- Gerbens, F., Rettenberger, G., Lenstra, J.A., Veerkamp, J.H., Te Pas, M.F.W., 1997. Characterization, chromosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gen. *Mamm. Genome* 8, 328–332. <https://doi.org/10.1007/s003359900433>.
- Glatz, J.F.C., Schaap, F.G., Binas, B., Bonen, A., Van Der Vusse, G.J., Luiken, J. 2003. Cytoplasmic fatty acid-binding protein facilitates fatty acid utilization by skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.* 178: 367 - 371.
- Goodwin R.N. 2004. Growth, carcass and mat quality trait performance of pure breeds, *Proceeding of th 29th annual: National swine improvement federation conference and meeting*, Dec. 9-10, Ames, Iowa, USA.
- Green, E. D., Maffei, M., Braden, V. V., Proenca, R., DeSilva, U., Zhang, Y., Chua, S.C., Leibel, R.L., Weissenbach, J., Friedman, J. M. 1995. The human obese (OB) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome Res. Sci* 5: 5 - 12.

- Han, X., Jiang, T., Yang, H., Zhang, Q. 2012. Investigation of four porcine candidate genes (H-FABP, MYOD1, UCP3 and MASTR) for meat quality traits in Large White pigs. *Mol. Biol. Rep.* 39: 6599-6605.
- Han, X., Jiang, T., Yang, H., Zhang, Q., Wang, W., Fan, B. and Liu, B. 2012. Investigation of four porcine candidate genes (H-FABP, MYOD1, UCP3 and MASTR) for meat quality traits in Large White pigs. *Molecular Biology Reports.* 39: 6599 - 6605.
- Hernandez-Sanchez, J., Visscher, P., Plastow, G. and Haley, C. 2003. Candidate gene analysis for quantitative traits using the transmission disequilibrium test: The example of the melanocortin 4-receptor in pigs. *Genetics. Sci* 164: 637 - 644.
- Hirose, K., Ito, T., Fukawa, K., Arakawa, A., Mikawa, S., Hayashi, Y. and Tanaka, K. 2014. Evaluation of effects of multiple candidate genes (*LEP*, *LEPR*, *MC4R*, *PIK3C3*, and *VRTN*) on production traits in Duroc pigs. *Animal Science Journal*, 85(3): 198 - 206.
- Hirose, K., Takizawa, T., Fukawa, K., Ito, T., Ueda, M., Hayashi, Y., & Tanaka, K. 2011. Association of an SNP marker in exon 24 of a class 3 phosphoinositide-3-kinase (*PIK3C3*) gene with production traits in Duroc. *Animal Science Journal. Sci* 82(1): 46 - 51.
- Holl, J. W., Rohrer, G. A. and Brown-Brandl, T. M. 2010. Estimates of genetic parameters among scale activity scores, growth, and fatness in pigs. *J. Anim. Sci.* 88: 455 - 459.
- Hong, J., Kim, D., Cho, K., Sa, S., Choi, S., Kim, Y., Park, J., Schmidt, G. S., Davis, M. E. and Chung, H. 2015. Effects of genetic variants for the swine *FABP3*, *HMGA1*, *MC4R*, *IGF2*, and *FABP4* genes on fatty acid composition, *Meat science*, 110: 46 - 51.
- Houston, R. D., Cameron, N. D. and Rance, K. A. 2004. A melanocortin-4 receptor (*MC4R*) polymorphism is associated with performance traits

- in divergently selected large white pig populations. *Animal genetics*, 35(5): 386-390. DOI: 10.1111/j.1365- 2052.2004.01182.x  
<https://doi.org/10.1093/carcin/bgg038>.
- Hua, G. H., Chen, S. L., Yu, J. N., Cai, K. L, Wu, C.J., Li, Q.L., Zhang, C. Y., Liang, A. X., Han, L., Geng, L. Y., Shen, Z., Xu, D. Q. and Yang, L. G. 2009. Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks. *Meat Science* 81: 391–395.
- Jalil-Sarghale, A., Shahrabak, M. M., Sharbabak, M. H., Sadeghi, M., and Mura, M. C. 2014. Association of pituitary specific transcription factor-1 (POU1F1) gene polymorphism with growth and biometric traits and blood metabolites in Iranian Zel and Lori-Bakhtiari sheep, *Mol. Biol. Rep. Sci* 41: 5787 -5792. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3451-8>.
- Jiang, Z. H. and Gibson, J. P. 1999. Genetic polymorphisms in the leptin gene and their association with fatness in four pig breeds. *Mammalian Genome. Sci* 10 (2): 191-193.
- Jokubka, R., Maak, S., Kerziene. S. and Swalve, H. H. 2006. Association of a Melanocortin 4 Receptor (MC4R) polymorphism with performance traits in Lithuanian White pigs. *J. Anim. Breed. Genet. Sci* 123: 17-22. DOI: 10.1111/j.1439-0388.2006.00559.x
- Kennes, Y., Murphy, B., Pothier, F. And Palin, M. F. 2001. Characterization of swine leptin (LEP) polymorphisms and their association with production traits. *Animal genetics. Sci* 32 (4): 215 - 218.
- Kim, G. W., Yoo, J. Y., Kim, H. Y. 2014. Association of genotype of POU1F1 intron 1 with carcass characteristics in crossbred pigs. *J Anim. Sci* 56: 2-6 <http://www.janimscitechnol.com/content/56/1/25>.
- Kim, J., Choi, B., Lim, H., Park, E., Lee, S., Seo, B., Jeon, J. 2005. Characterization of phosphoinositide-3-kinase, class 3 (PIK3C3) gene

- and association tests with quantitative traits in pigs. *Asian australasian journal of animal sciences*. Sci 18 (12): 1701-1707.
- Kim, K. S, Larsen, N., Short, T., Plastow, G. and Rothschild, M. F. 2000. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mammalian Genome* 11(2): 131-135
- Kim, K.S., Lee, J.J., Shin, H.Y., Choi, B. H., Lee, C. K., Kim, J. J., Cho, B. W., Kim, T. H. 2006. Association of melanocortin 4 receptor (MC4R) and high mobility group AT-hook 1 (HMGA1) polymorphisms with pig growth and fat deposition traits. *Anim Genet*. 37: 419 - 421.
- Klimenko, A., Usatov, A., Lyubov, G., Yu, K., Tretyakova, O., Bakoev, S., Kostjunina, O. and Zinovieva, N. 2014. Effects of melanocortin-4 receptor gene on growth and meat traits in pigs raised in Russia. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 9 (2): 232-237, ISSN: 1557-4989.
- Knorr, C., Moser, G., Müller, E. and Geldermann, H. 1997. Associations of GH gene variants with performance traits in F2 generations of European wild boar, Pietrain and Meishan pigs. *Animal genetics*. Sci 28 (2): 124-128.
- Kor Oldenbroek and Liesbeth van der Waaij (2014). *Texbook Animal Breeding and Genetics for BSc Students*. Centre for Genetic Resources and Animal Breeding and Genomics Group, Wageningen University and Research Centre, the Netherlands.
- Korzun, V. 2003. Molecular markers and their application in cereal breeding  
Marker Assisted selection. A fast track to increase genetic gain in plant and animal breeding. Food and Agriculture Organization <http://www.fao.org/biotech/Conf10.htm>.

- Kováčik, A., Trakoviká, A., Bulla, J., Bobček, B., Rafayová, A. 2009. Effects of genotypes *lerp* and *MC4R* on pigs production. *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii*, vol. 42 (2).
- Kulig, H., Grzesiak, W. and Szatkowska, I. 2001. Effect of leptin gene polymorphism on growth and carcass traits in pigs. *Archiv fur tierzucht – archives of animal breeding*. *Sci* 44(3): 291-296.
- Lee, S. H., Choi, Y. M., Choe, J. H., Kim, J. M., Hong, K. C., Park, H. C. and Kim, B. C. 2010. Association between polymorphisms of the heart fatty acid binding protein gene and intramuscular fat content, fatty acid composition, and meat quality in Berkshire breed. *Meat Science*, 86: 794-800.
- Leonova, M.A., Getmantseva, L.V., Vasilenko, V.N., Klimenko, A.I., Usatov, A.V., Bakoev, S. Y., Kolosov, A. Y. and Shirockova, N.V. 2015. Leukemia Inhibitory Factor (LIF) Gene Polymorphism and its Impact on Reproductive Traits of Pigs. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*. 10 (4): 212 - 216.
- Lesley. E., Rhodes., Hassan. S., Richard. M., Azurdia, Ralf M.W., Moison., Marie. S.T., Steenwinkel, Marie I., Homburg., Michael. P., Dean. F., McArdle, Gerard. M.J., Beijersbergen. H. 2003. Effect of eicosapentaenoic acid, an omega-3 polyunsaturated fatty acid, on UVR-related cancer risk in humans. An assessment of early genotoxic markers. *Carcinogenesis*. Volume 24. Issue 5: 919–925.
- Lewis, C. R. G. and Hermes, S. 2013. Genetic parameters and phenotypic trends in the mean and variability of number of stillborn piglets and changes in their relationships with litter size and gestation length. *Animal Production Science*. 53: 395 - 402.
- Li, C. L., Pan, Y.C. and Meng, H. 2006. Polymorphism of the *H-FABP*, *MC4R* and *ADD1* genes in the Meishan and four other pig populations in China. *South African Journal of Animal Science* 2006, 36 (1): 1- 6.

- Li, M. J., Zhang, C. M., Lan, X. Y., Fang, X. T., Lei, C. Z. and Chen, H. 2016. Analysis of POU1F1 gene DdeI polymorphism in Chinese goats, *Genet. Mol. Res. Sci* 15: 2-6 15017747, <https://doi.org/10.4238/gmr.15017747>.
- Li, Q., Patience, J.F. 2017. Factors involved in the regulation of feed and energy intake of pigs. Volume 233: 22 - 33.
- Li, X., Kim, S.W., Choi, J.S., Lee, Y. M., Lee, C.K., Choi, B. H., Kim, T. H., Choi, Y. I., Kim, J.J., Kim, K. S. 2010. Investigation of porcine FABP3 and LEPR gene polymorphisms and mRNA expression for variation in intramuscular fat content. *Mol Biol Rep* 37: 3931 - 3939.
- Liu, F., Yin, J., Du, M., Yan, P., Xu, J., Zhu, X. and Yu, J. 2009. Heat-stress-induced damage to porcine small intestinal epithelium associated with downregulation of epithelial growth factor signaling. *J. Anim. Sci.* 87:1941–1949. doi:10.2527/jas.2008 - 1624.
- Loos, R. J., Lindgren, C. M., Li, S., Wheeler, E., Zhao, J. H., Prokopenko, I., Inouye, M., Freathy, R. M., Attwood, A. P., Beckmann, J. S., Berndt, S. I., Colorectal, P. L. and Chanock, S.J., Hayes, R.B., Bergmann, S. 2008. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet. Sci* 40: 768 - 775.
- Lyubov, G., Kolosov, A., Leonova, M., Bakoev, S., Klimenko, A., Vasilenko, V. and Radyuk, A. 2016. Polymorphisms in Several Porcine Genes are Associated with Growth Traits. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 11 (4): 136.141 DOI:10.3844/ajavsp.2016.136.141
- Lyubov, G., Leonova, M., Usatov, A., Bakoev, S., Klimenko, A., Vasilenko, V., Makarenko, M. 2017. The Single and Combined Effect of MC4R and GH Genes on Productive Traits of Pigs. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences.* 12 (1): 28 - 32.

- Ma, L., Qin, Q., Yang, Q., Zhang, M., Zhao, H., Pan, C., Lei, C., Chen, H., and Lan, X. 2017. Associations of six SNPs of POU1F1-PROP1-PITX1-SIX3 pathway genes with growth traits in two Chinese indigenous goat breeds, *Ann. Anim. Sci* 17: 399 - 411.
- Maagdenberg, K.V.D., Stinckens, A., Claeys, E., Seynaeve, M. and Clinquart, A. 2007. The Asp298Asn missense mutation in the porcine Melanocortin-4 Receptor (MC4R) gene can be used to affect growth and carcass traits without an effect on meat quality. *Animal. Sci* 1: 1089-1098. DOI: 10.1017/S1751731107000456.
- MacKenzie, R. G. 2006. Obesity-associated LCLLD mutations in the human melanocortin-4 receptor gene. *Peptides. Sci* 27: 395 - 403.
- Marjeta F., Špela M., Sever S., and Milena K. 2007. The effect of genotype and sex on pork quality. ISSN 1330-7142
- Meidtner, K., Wermter, A. K., Hinney, A., Remschmidt, H., Hebebrand, J. and Fries, R. 2006. Association of the melanocortin 4 receptor with feed intake and daily gain in F2 Mangalitsa × Piétrain pigs. *Animal genetics*, 37(3): 245 - 257.
- Mercade, A., Estelle, J., Pérez-Enciso, M., Varona, L., Silió, L., Noguera, J.L., Sanchez, A., Folch, J.M. 2006. Characterization of the porcine acyl-CoA synthetase long-chain 4 gene and its association with growth and meat quality traits. *Anim. Genet.* 37: 219 - 224.
- Michael J., Christoffers. 2018. in *Fundamentals of Weed Science (Fifth Edition)*. Academic Press.
- Morales, M., Chávez, M., Vásquez, N., Htoo, J. K., Buenabad, L., Espinoza, S. and Cervantes, M. 2018. Increased dietary protein or free amino acids supply for heat stress pigs: effect on performance and carcass traits, *J. Anim. Sci.* 96:1419–1429. doi: 10.1093/jas/sky044.
- Munoz, G., Alcazar, E., Fernandez, A., Barragan, C., Carrasco, A., Pedro, E. de., Silió, L., Sánchez, J.L., Rodríguez, M.C. 2011. Effects of porcine



- MC4R* and *LEPR* polymorphisms, gender and Duroc sire line on economic traits in Duroc × Iberian crossbred pigs. *Meat Sci.* 88: 169 - 173.
- Mura, C. M., Daga, C., Paludo, M., Luridiana, S., Pazzola, M., Bodano, S., Dettori, M. L., Vacca, G. M., and Carcangiu, V. 2012. Analysis of polymorphism within *POU1F1* gene in relation to milk production traits in dairy Sarda sheep breed, *Mol. Biol. Rep. Sci* 39: 6975 - 6979.
- Nakavisut S., Crump, R. E. and Graser, H. U. 2006. Body length and its genetic relationships with production and reproduction traits in pigs. *AGBU Pig Genetics Workshop*: 25 - 29.
- Narsai, R., Howell, K. A, Millar, A. H., O'Toole, N. 2007. Genome-wide analysis of mRNA decay rates and their determinants in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell. Sci* 19: 3418 - 3436.
- Nguyen Hoang Thinh, Hoang Anh Tuan, Nguyen Thi Vinh, Bui Huu Doan, Nguyen Thi Phuong Giang, Farnir Frédéric, Moula Nassim, Nguyen Viet Linh and Pham Kim Dang. Association of single nucleotide polymorphisms in the insulin and growth hormone gene with growth traits of Mia Chicken. *Indian Journal Of Animal Research*.(54):661 - 666.
- Nguyen Huu Tinh, Nguyen Van Hop and Tran Van Hao. 2015. Estimation of the genetic association between purebred and crossbred performance for growth and backfat thickness traits of pigs in Vietnam. *Journal of Animal Husbandry sciences and Technics*. No 8 (197): 2 - 8.
- Nielsen, V. H. and Larsen, N. 1991. Restriction fragment length polymorphisms at the growth hormone gene in pigs. *Animal genetics. Sci* 22 (3): 291-294.
- Nowacka-Woszuik, J., Szczerbal, I., Fijak-Nowak, H., Switonski, M., 2008. Chromosomal localization of 13 candidate genes for human obesity in the pig genome. *J. Appl. Genet.* 49: 373 - 377.

- Oczkowicz, M. And Różycki, K. Ž. 2013. Association study of PIT1 and GHRH SNPs with economically important traits in pigs of three breeds reared in Poland, *Animal Science Papers and Reports*, 31(4): 303 - 314.
- Oliveira, P. J., Facioni, G. S., Savio, L. P., Soares, M. A., Vieira, P. A., Barbosa, G. M.V., Almeida, R. T. (2006). Associations of leptin gene polymorphisms with production traits in pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 123(6), 378 - 383.
- Oliveira, A.C. F., Vanelli, K., Sotomaior, C.S., Weber, S. H and Costa, L. B. 2019. Impacts on performance of growing-finishing pigs under heat stress conditions: a meta-analysis, *Veterinary Research Communications Sci.* 43: 37 - 43.
- Ovilo, C., Fernandez, A., Rodríguez, M. C., Nieto, M. and Silio, L. 2006. Association of MC4R gene variants with growth, fatness, carcass composition and meat and fat quality traits in heavy pigs. *Meat Sci.* 73: 42-47. DOI: 10.1016/j.meatsci.2005.10.016.
- Özmen, Ö., Kul, S. and Ünal, E. O. 2013. Polymorphism of sheep POU1F1 gene exon 6 and 3'UTR region and their association with milk production traits, *Iran. J. Vet. Res. Sci* 15: 331 - 335.
- Pang, W. J., Bai, L. and Yang, G. S. 2006. Relationship among H-FABP gene polymorphism, intramuscular fat content, and adipocyte lipid droplet content in main pig breeds with different genotypes in western China. *Yi Chuan Xue Bao* 33: 515 - 524.
- Park H.B., Carlborg Ö., Marklund S., Andersson L. 2002. Melanocortin-4 receptor (MC4R) genotypes have no major effect on fatness in a Large White × Wild Boar intercross. *Animal Genetics*, 33: 155–157. DOI: 10.1046/j.1365-2052.2002.00824.x.
- Park, S.J., Ha, J., Kim, I. S., Kwon, S. G., Hwang, J. H., Park, D. H., Kang, D. G., Kim, T. W., Kim, S. W., Kim, C. W. 2015. Effects of LEP, GYS1, MYOD1, and MYF5 polymorphisms on pig economic

- traits. *Ann. Anim. Sci.* 15 (3): 629–640 DOI: 10.1515/aoas-2015-0022.
- Pearce, S.C., Gabler, N. K., Ross, J. W., Escobar, J., Patience, J. F., Rhoads, R. P. and Baumgard, L. H. 2015. The effects of heat stress and plane of nutrition on metabolism in growing pigs. *American Society of Animal Science*. 91: 2108–2118 doi:10.2527/jas2012 - 5738.
- Peixoto, O. J., Guimaraes, F. S., Lopes, S. P., Soares, M., Pires, V. A., Barbosa, G., Silva, D. M. 2006. Associations of leptin gene polymorphisms with production traits in pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. *Sci* 123(6): 378 - 383.
- Pesta, D. H. and Samuel, V. T. 2014. a high-protein diet for reducing body fat: mechanisms and possible caveats. *Nutr. Metab. (Lond)*. *Sci* 11 (1): 53-59. doi:10.1186/1743-7075-11 - 53.
- Phillips., Theresa. 2021. Genetic Polymorphism-Different Does Not Mean Mutated. ThoughtCo.
- Piórkowska, K., Ropka-Molik , K., Oczkiewicz, M., Różycki, M., Żukowski, K. 2013. Association study of PIT1 and GHRH SNPs with economically important traits in pigs of three breeds reared in Poland. *Anim. Sci* 31: 303 - 314.
- Piórkowska, K., Tyra , M., Rogoz, M., Ropka-Molik, K. and Oczkiewicz M. 2010. Association of the Melanocortin-4 Receptor (MC4R) with feed intake, growth, fatness and carcass composition in pigs raised in Poland. *Meat Sci.*, 85: 297-301. DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.01.017
- Polkowska, J., Wan´kowska , M., Romanowicz, K., Gajewska, A., Misztal, T. and Wójcik-Gładysz, A. 2011. The effect of intracerebroventricular infusions of ghrelin and/or short fasting on the gene expression and immunoreactivity of somatostatin in the hypothalamic neurons and on pituitary growth hormone in prepubertal female lambs. *Morphological arguments. Brain Research*. *Sci* 1414: 41 – 49.

- Raghavendran V. B., Tirupathy, V.C. and Usha, A. P. 2015. Analysis of litter traits in three genetic groups of pigs. *Indian Res. J. Genet. & Biotech* 7(3): 347 – 349.
- Rauw, W.M., Soler, J., Tibau, J., Reixach, J. and Raya, L.G. 2006. The relationship between residual feed intake and feed intake behavior in group-housed Duroc barrows. *Journal of Animal Science*. 84(4): 956-962.
- Renaudeau, D., Gourdine, J. L. and St-Pierre, N. R. 2011. A meta-analysis of the effects of high ambient temperature on growth performance of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 89: 2220–2230. doi:10.2527/jas.2010 - 3329.
- Ribeca C., Bonfatti V., Cecchinato A., Albera A., Gallo L., Carnier P. 2014. Effect of polymorphisms in candidate genes on carcass and meat quality traits in double muscled Piemontese cattle. *Meat. Sci.* 96: 1376 - 1383.
- Ross, J.W., Hale, B. J., Gabler, N. K., Rhoads, R. P., Keating, A. F. and Baumgard, L. H. 2015. Physiological consequences of heat stress in pigs. *Animal Production Science*, 55: 1381 - 1390.
- Ruść, A., Sieczkowska, H., Krzecio, E., Antosik, K., Zybert, A., Koćwin-Podsiadła, M., Kamiński, S. 2011. The association between acyl-CoA synthetase (ACSL4) polymorphism and intramuscular fat content in (Landrace × Yorkshire) × Duroc pigs. *Meat Sci.* 89: 440 - 443.
- Sadeghi, M., Jalil-Sarghale, A. and Moradi-Shahrbabak, M. 2014. Associations of POU1F1 gene polymorphisms and protein structure changes with growth traits and blood metabolites in two Iranian sheep breeds, *J. Genet. Sci* 93: 831 - 835.
- Scaramuzzi, R. J., Murray, J. F., Downing, J. A. and Campbell, B. K. 1999. The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid

- secretion and ovulation rate in sheep. *Domestic Animal Endocrinology*.  
*Sci* 17: 269 - 277
- Scherag, A., Jarick, I., Grothe, J., Biebermann, H., Scherag, S., Volckmar, A., Vogel, C. L., Greene, B., Hebebrand, J., Hinney, A. 2010. Investigation of a genome wide association signal for obesity: synthetic association and haplotype analyses at the melanocortin 4 receptor gene locus. *PLoS One* 5: e13967.
- Schwab, C.R., Mote, B.E., Du, Z.Q., Amoako, R., Baas, T.J., Rothschild, M.F., 2009. An evaluation of four candidate genes for use in selection programmes aimed at increased intramuscular fat in Duroc swine. *J. Anim. Breed. Genet.* 126, 228–236. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2008.00770>.
- Sellier, P. 1998. Genetics of meat and carcass traits. In: Rothschild MF, Ruvinsky A (eds). *The Genetics of the Pig*. Wallingford, UK: CAB International: 463 - 510.
- Shang, P., Zhang, B., Zhang, J., Duan, M., Wu, L., Gong, X., Tang, K., Zhang, H., Chamba, Y., 2019. Expression and single-nucleotide polymorphisms of the H-FABP gene in pigs. *Gene* 710: 156 - 160.
- Song, C .Y., Gao, B., Teng, S., Wang, X. Y., Xie, F., Chen, G., Wang, Z., Jing, R., Mao, J. 2007. Polymorphisms in intron 1 of the porcine POU1F1 gene. *J Appl Genet. Sci* 48(4): 371 - 374
- Song. R., Foster, D. N. and Shurson, G. C. 2014. Effects of feeding diets containing bacitracin methylene disalicylate to heat-stressed finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 89: 1830 - 1843.
- Stachowiak, M., Szydlowski, M., Obarzanek-Fojt, M., Switonski, M. 2005. An effect of a missense mutation in the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene on production traits in Polish pig breeds is doubtful. *Animal Genetics*, 37: 55 - 57.

- Stratil, A., Peelman, L., Poucke, M. and Čepica, S. 1997. A *Hinf*I PCR-RFLP at the porcine leptin (LEP) gene. *Animal genetics*. *Sci* 28(5): 371 - 372.
- Suzuki K., Irie, M., Kadowaki, H., Shibata, T., Kumagai, M. and Nishida, A. 2005. Genetic parameter estimates of meat quality traits in Duroc pigs 123 selected for average daily gain, longissimus muscle area, backfat thickness and intramuscular fat content. *Journal of animal science*, vol 83: 2058 - 2065.
- Switonski, M., M. Stachowiak, J. Cieslak, M. Bartz and M. Grzes, 2010. Genetics of fat tissue accumulation in pigs: A comparative approach. *J. Applied Genet. Sci* 51: 153-168. DOI: 10.1007/BF03195724.
- Szydłowski, M., Stachowiak, M., Mackowski, M., Kamyczek, M., Eckert, R., Rozycki, M. and Switonski, M. 2004. No major effect of the leptin gene polymorphism on porcine production traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 121(3): 149 - 155.
- Szyndler-Nedza, M., Tyra, M. and Rozycki M. 2010. Coefficients of heritability for fattening and slaughter traits included in a modified performance testing method. *Annals of Animal Science*. 10(2): 117-125.
- Szyndler-Nędzka, M., Tyra, M., Blicharski, T., Piórkowska, K. 2010. Effect of mutation in MC4R gene on carcass quality in Pulawska pig included in conservation breeding programme. *Animal Science Papers and Reports* vol. 28 (1): 37 - 45.
- Tempfli, K., Simon, Z., Kovács, B., Posgay, M. and Papp, B. A. 2015. PRLR, MC4R and LEP polymorphisms, and ADIPOQ, A-FABP and LEP expression in crossbred Mangalica pigs. *J. Anim. Plant Sci*, 25: 1746 -1752.
- Thorleifsson, G., Walters, G. B., Gudbjartsson, D. F., Steinthorsdottir, V., Sulem, P., Helgadóttir, A., Styrkarsdóttir, U., Gretarsdóttir, S., Thorlacius, G. H., Jonsdóttir, I., Jonsdóttir, T., Olafsdóttir, E. J., Olafsdóttir, G. H., Jonsson, T., Jonsson, F., Borchjohnsen, K., Hansen,

- T., Andersen, G., Jorgense, T., Lauritzen ,T., Aben, K. K., Verbeek, Al., Roeleveld, N., Kampman, E., Yanek, L. R., Becker, L. C., Tryggvadottir, L., Rafnar, T., Becker, D. M., Gulcher, J., Kimeney, L. A., Pedersen. O., Kong , A., Thorsteinsdottir, U., Stefansson, K. 2009. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nat Genet. Sci* 41: 18 - 24.
- Tyra. M., Ropka-Molik, K. 2011. Effect of the FABP3 and LEPR gene polymorphisms and expression levels on intramuscular fat (IMF) content and fat cover degree in pigs. *Livestock Science* 142: 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.07.003>.
- Urban, T., Kuciel, J. and Mikolasova, R. 2002. Polymorphism of genes encoding for ryanodine receptor, growth hormone, leptin and MYC protooncogene protein and meat production in Duroc pigs. *Czech Journal of Animal Science*, 47(10): 411 - 417.
- Vallinoto, M., Schneider, M. P. C., Silva, A., Iannuzzi, L., Brenig, B., 2004. Molecular cloning and analysis of the swamp and river buffalo leptin gene. *Anim Genet. Sci* 35: 462 - 463.
- Vize, P. D. and Wells, J. R. E. 1987. Isolation and characterization of the porcine growth hormone gene. *Gene. Sci* 55: 339 - 344.
- Wang, J., Li, G.W., Elzo, M.A., Yan, L.J., Chen, S.Y., Jia, X. B., Lai, S.J. 2015. A novel single nucleotide polymorphism of the POU1F1 gene associated with meat quality traits in rabbits. *Ann. Anim. Sci.* 15: 611- 620.
- Wang. W., Xue, W., Zhou, X., Zhang, L., Wu, J., Qu, L., Jin, B., Zhang, X., Ma, F. and Xue, X. 2014. Effects of candidate genes' polymorphisms on meat quality traits in pigs. *Acta Agriculturae Scand Section A*, 62(3): 120-126.
- Xi, B., Chanbar, G. R., Shen, Y., Wang, Q., Zhou, D. 2012. Association between common polymorphism near the MC4R gene and obesity risk: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 7: 1 - 7.

- Xue, W., W. Wang, B. Jin, X. Zhang, X. Xu. 2015. Association of the ADRB3, FABP3, LIPE, and LPL gene polymorphisms with pig intramuscular fat content and fatty acid composition. *Czech J. Anim. Sci.*, 60, 2015 (2): 60–66. doi: 10.17221/7975-CJAS
- Yan, L.J., Fang, X.T., Liu, Y., Zhang, C.L., Liu, X. X., Zhao, J., Li, J. J., Chen, H. 2013. Effects of single and combined genotypes of MC4R and POU1F1 genes on two production traits in Langshan chicken. *Mol. Biol. Rep. Sci.*, 40: 4645 - 4650.
- Yang, Y . 2011. Structure, function and regulation of the melanocortin receptors. *Eur J Pharmacol. Sci* 660:125 - 130.
- Youssao N., G. R. Nute, R. I. Richardson, F. M. Whittington and D. O. Southwood. 2002. Genetic correlations among average daily gain, backfat thickness and sow longevity in Landrace và Yorkshire sows. *Thai J Vet med.* Vol 45 (2): 221 - 227.
- Yu, T.P., Tuggle, C.K., Schmitz, C.B. and Rothschild, M.F. 1995. Association of PIT1 polymorphisms with growth and carcass traits in pigs. *J. Anim. Sci.*, 73: 1282 - 1288.
- Zebua,C.K.N., Muladno and Siagian, P. H. 2017. Comparative performance of Landrace, Yorkshire and Duroc breeds of swine, *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 42(3):147 - 152
- Zhang, C., Liu,Y., Huang, K., Zeng, W., Xu, D., Wen, Q. and Yang, L. 2011. The association of two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in growth hormone (GH) gene with litter size and superovulation response in goat-breeds. *Genetics and Molecular Biology*, 34(1): 49 - 55.
- Zhang, C.L., Chen, H., Lan, X.Y., Lei, C.Z., Zhang, Z.Q., Zhang , R.F. 2009. Associations of a HinfI PCR-RFLP of POU1F1 gene with growth traits in Qinchuan cattle. *Anim. Biotechnol. Sci.*, 20: 71 - 74.
- Zhou, F.Y., Yang, Q., Lei, C.Z., Chen, H., Lan, X.Y. 2016. Relationship between genetic variants of POU1F1, PROP1, IGFBP3 genes and milk



performance in Guanzhong dairy goats. *Small Ruminant Res. Sci.*, 140: 40 - 45.

Zhu, H., Zhang, Y., Bai, Y., Yang, H., Yan, H., Liu, J., Shi, L., Song, X., Li, L., Dong, S., Pan, C., Lan, X. and Qu, L. 2019. Relationship between SNPs of POU1F1 Gene and Litter Size and Growth Traits in Shaanbei White Cashmere Goats. *Animals*, 9: 114 - 128.

**PHỤ LỤC 1:**  
**GIẤY XÁC NHẬN CỦA ĐƠN VỊ THỰC TẬP**



**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM**

**Độc lập – Tự do – Hạnh phúc**

*Bắc Ninh, ngày 28 tháng 4 năm 2021*

**GIẤY XÁC NHẬN CỦA ĐƠN VỊ THỰC TẬP**

**Công ty TNHH lợn giống hạt nhân DABACO, huyện Tiên Du, tỉnh Bắc Ninh xác nhận:**

Nghiên cứu sinh Hoàng Thị Thúy

Sinh ngày: 01/9/1983

CMND số: 121533251

Cấp ngày: 06/7/2017

Tại: CA Bắc Giang

Giảng viên: Trường Đại Học Nông – Lâm Bắc Giang

Số điện thoại: 0984474753

Email: thuylnbg@gmail.com

Nghiên cứu sinh Hoàng Thị Thúy thuộc cơ sở đào tạo Viện Chăn nuôi. Trong khuôn khổ thực hiện nghiên cứu đề tài luận án Tiến sĩ về nội dung phân tích sự đa hình và mối liên kết giữa đa hình của một số ứng cử gen vớitính trạng sinh trưởng (gen MC4R, PIT1, GH, LEP và PIK3C3), tính trạng mỡ giết (gen ADRB3, ACSL4, FABP3 và PLIN2) trên lợn Duroc, nghiên cứu sinh đã được sự đồng ý của Lãnh đạo Công ty TNHH lợn giống hạt nhân DABACO cho phép tiến hành các thí nghiệm và sử dụng các số liệu liên quan tính trạng nói trên trong thời gian từ 12/2016 đến tháng 12/2020 (có file đính kèm).

Nghiên cứu sinh và các đồng tác giả (có đồng tác giả của Công ty) đã đăng 03 bài trên các tạp chí:

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 gen polymorphisms with growth traits in Duroc pigs. Livestock Research for Rural Development, Volume 31, Number 10, October 2019.

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 cử 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. Polymorphisms of candidate genes and their association with intramuscular fat in Duroc Pig. Đã gửi đăng trên tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi, Viện Chăn nuôi.

CÔNG TY TNHH LỢN GIỐNG HẠT NHÂN DABACO  
**GIÁM ĐỐC**



GIÁM ĐỐC  
*Trần Xuân Mạnh*

**PHỤ LỤC 2:**  
**HÓA CHẤT, HÃNG VÀ NƯỚC SẢN XUẤT**

<b>STT</b>	<b>Hóa chất</b>	<b>Hãng, Nước sản xuất</b>
1	Bộ kit tách chiết ADN GeneJET Genomic ADN Purification Kit	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
2	DreamTaq PCR Master Mix 2X	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
3	Mồi xuôi gen <i>MC4R</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
4	Mồi ngược gen <i>MC4R</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
5	Mồi xuôi gen <i>PIT1</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
6	Mồi ngược gen <i>PIT1</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
7	Mồi xuôi gen <i>GH</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
8	Mồi ngược gen <i>GH</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
9	Mồi xuôi gen <i>LEP</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
10	Mồi ngược gen <i>LEP</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
11	Mồi xuôi gen <i>PIK3C3</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
12	Mồi ngược gen <i>PIK3C3</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
13	Mồi xuôi gen <i>FABP3</i>	Integrated DNA Technologies

<b>STT</b>	<b>Hóa chất</b>	<b>Hãng, Nước sản xuất</b>
		(IDT), Mỹ
14	Mồi ngược gen <i>FABP3</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
15	Mồi xuôi gen <i>ADRB3</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
16	Mồi ngược gen <i>ADRB3</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
17	Mồi xuôi gen <i>PLIN2</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
18	Mồi ngược gen <i>PLIN2</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
19	Mồi xuôi gen <i>ACSL4</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
20	Mồi ngược gen <i>ACSL4</i>	Integrated DNA Technologies (IDT), Mỹ
21	Enzyme <i>TaqI</i>	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
22	Enzyme <i>RasI</i>	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
23	Enzyme <i>FokI</i>	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
23	Enzyme <i>HinfI</i>	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
24	Enzyme <i>Hpy8I</i>	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
25	Enzyme <i>BsrFI</i>	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ

<b>STT</b>	<b>Hóa chất</b>	<b>Hãng, Nước sản xuất</b>
26	Enzyme <i>Mva</i> 1269I	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
27	Enzyme <i>Rsa</i> I	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
28	TopVision Agarose	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
29	Ethidium bromide	Invitrogen™ - Thermo Fisher Scientific, Mỹ
30	PureLink™ PCR Purification Kit	Invitrogen™ - Thermo Fisher Scientific, Mỹ
31	BigDye™ Terminator V 3.1 Cycle Sequencing Kit	Applied Biosystem™ - Thermo Fisher Scientific, Mỹ
32	BigDye Xterminator™ Purification Kit	Applied Biosystem™ - Thermo Fisher Scientific, Mỹ
33	Dung dịch cồn tuyệt đối	Merck, Đức
34	Thang ADN 100 bp	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ
35	Thang ADN 1 kb	Thermo Scientific™ Thermo Fisher Scientific, Mỹ

**PHỤ LỤC 3:**  
**MỘT SỐ HÌNH ẢNH TRONG QUÁ TRÌNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI**

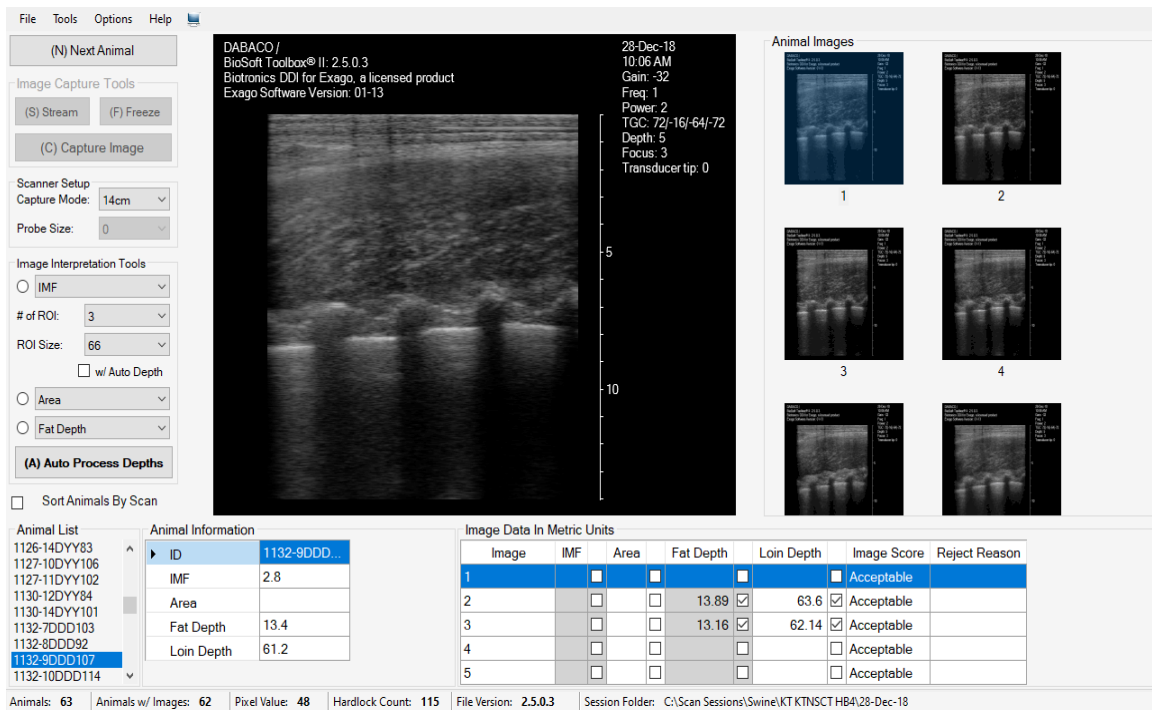


Hình 1: Nghiên cứu sinh phân tích đa hình các gen ứng viên tại Phòng TNTĐ Công nghệ tế bào động vật, Viện Chăn Nuôi và phòng thí nghiệm CNSH tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco năm 2017; 2018.





Hình 2: Đo mỡ lưng và mỡ giắt trên giống lợn Duroc bằng máy đo siêu âm Exago với đầu dò ALOKA SSD 500v tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco; Xã Tân Chi, Huyện Tiên Du, Tỉnh Bắc Ninh năm 2018.



Hình 3. Ảnh đo mỡ giắt trên giống lợn Duroc năm 2018 tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Dabaco



## PHỤ LỤC 4: XỬ LÝ SỐ LIỆU

### MỐI LIÊN KẾT ĐA HÌNH GEN VỚI TRẠNG SINH TRƯỜNG

#### 1. MC4R

##### General Linear Model: ADG versus MC4R, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
MC4R	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
MC4R	2	217195	149829	74914	17.06	0.000
SEX	1	11500	5433	5433	1.24	0.267
MC4R*SEX	2	12797	6567	3283	0.75	0.474
MaBo	31	174552	174552	5631	1.28	0.145
Error	463	2033618	2033618	4392		
Total	499	2449663				

S = 66.2742    R-Sq = 16.98%    R-Sq(adj) = 10.53%

Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
4	891.00	814.05	38.97	76.95	1.44	X
22	948.00	868.42	38.90	79.58	1.48	X
25	987.00	852.18	13.87	134.82	2.08	R
27	853.00	860.50	39.07	-7.50	-0.14	X
37	842.00	848.95	38.92	-6.95	-0.13	X
39	779.00	867.75	38.90	-88.75	-1.65	X
41	857.00	857.00	66.27	-0.00	*	X
54	724.00	887.04	17.13	-163.04	-2.55	R
59	783.00	813.49	47.15	-30.49	-0.65	X
61	725.00	835.43	38.41	-110.43	-2.04	RX
62	825.00	835.43	38.41	-10.43	-0.19	X
81	638.00	787.07	17.95	-149.07	-2.34	R
87	986.00	833.11	10.80	152.89	2.34	R
91	973.00	829.20	11.05	143.80	2.20	R
123	972.00	820.34	10.85	151.66	2.32	R
140	848.00	845.44	38.64	2.56	0.05	X
151	858.00	819.15	47.13	38.85	0.83	X
179	986.00	840.01	13.48	145.99	2.25	R
196	923.00	844.77	38.64	78.23	1.45	X
220	705.00	845.96	13.13	-140.96	-2.17	R
229	797.00	825.97	38.64	-28.97	-0.54	X
243	686.00	840.01	13.48	-154.01	-2.37	R
247	726.00	837.53	38.91	-111.53	-2.08	RX
248	678.00	829.27	11.84	-151.27	-2.32	R
249	686.00	843.96	16.93	-157.96	-2.47	R
253	821.00	790.51	47.15	30.49	0.65	X
258	734.00	763.76	38.76	-29.76	-0.55	X
269	675.00	805.79	11.45	-130.79	-2.00	R
277	618.00	767.98	13.19	-149.98	-2.31	R
301	628.00	793.02	11.38	-165.02	-2.53	R
316	641.00	805.79	11.45	-164.79	-2.52	R
339	960.00	812.69	14.29	147.31	2.28	R
349	945.00	793.02	11.38	151.98	2.33	R
368	716.00	849.78	18.08	-133.78	-2.10	R

372	986.00	866.97	39.73	119.03	2.24	RX
379	985.00	849.78	18.08	135.22	2.12	R
382	746.00	875.41	18.87	-129.41	-2.04	R
384	943.00	822.14	38.84	120.86	2.25	RX
409	750.00	832.14	38.85	-82.14	-1.53	X
427	842.00	831.48	38.85	10.52	0.20	X
429	946.00	801.29	14.40	144.71	2.24	R
435	767.00	805.85	47.13	-38.85	-0.83	X
445	698.00	745.19	38.90	-47.19	-0.88	X
489	950.00	794.48	17.84	155.52	2.44	R
490	816.00	780.08	38.90	35.92	0.67	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for ADG

MC4R	Mean	SE Mean
AA	853.26	9.597
AG	820.40	6.364
GG	790.44	7.309

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

MC4R	N	Mean	Grouping
AA	80	853.26	A
AG	254	820.40	B
GG	166	790.44	C

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: BF versus MC4R, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
MC4R	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for BF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
MC4R	2	79.034	57.363	28.682	7.04	0.001
SEX	1	1.304	4.440	4.440	1.09	0.297
MC4R*SEX	2	7.906	5.606	2.803	0.69	0.503
MaBo	31	130.994	130.994	4.226	1.04	0.414
Error	463	1885.598	1885.598	4.073		
Total	499	2104.836				

S = 2.01806 R-Sq = 10.42% R-Sq(adj) = 3.45%

Unusual Observations for BF

Obs	BF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	16.5000	11.6534	0.4018	4.8466	2.45 R
4	10.2000	12.5966	1.1866	-2.3966	-1.47 X
5	7.2000	11.6534	0.4018	-4.4534	-2.25 R
7	16.2000	11.2926	0.3935	4.9074	2.48 R
14	8.4000	12.4187	0.4271	-4.0187	-2.04 R
22	12.5000	13.0172	1.1844	-0.5172	-0.32 X
27	15.0000	12.1923	1.1897	2.8077	1.72 X

37	12.4000	10.9253	1.1850	1.4747	0.90	X
39	11.9000	12.6172	1.1844	-0.7172	-0.44	X
41	14.0000	14.0000	2.0181	-0.0000	*	X
59	15.3000	13.7317	1.4358	1.5683	1.11	X
61	7.2000	10.2749	1.1695	-3.0749	-1.87	X
62	11.6000	10.2749	1.1695	1.3251	0.81	X
75	7.2000	12.5734	0.4664	-5.3734	-2.74	R
138	7.6000	11.8506	0.4618	-4.2506	-2.16	R
140	14.6000	12.6538	1.1765	1.9462	1.19	X
151	12.5000	12.2624	1.4351	0.2376	0.17	X
196	12.5000	12.2538	1.1765	0.2462	0.15	X
214	7.5000	11.4745	0.3605	-3.9745	-2.00	R
229	9.9000	10.5620	1.1765	-0.6620	-0.40	X
247	11.9000	11.8289	1.1847	0.0711	0.04	X
250	6.9000	11.2901	0.3288	-4.3901	-2.20	R
251	17.3000	12.1839	0.4640	5.1161	2.60	R
253	11.8000	13.3683	1.4358	-1.5683	-1.11	X
258	12.5000	11.7195	1.1803	0.7805	0.48	X
261	16.2000	10.9740	0.6320	5.2260	2.73	R
318	16.3000	12.0597	0.4766	4.2403	2.16	R
340	7.6000	11.7260	0.4016	-4.1260	-2.09	R
372	10.0000	12.8788	1.2098	-2.8788	-1.78	X
384	12.1000	10.3501	1.1826	1.7499	1.07	X
409	11.3000	12.7290	1.1831	-1.4290	-0.87	X
416	7.9000	12.2590	0.4927	-4.3590	-2.23	R
423	7.6000	11.5496	0.4345	-3.9496	-2.00	R
427	12.8000	12.3290	1.1831	0.4710	0.29	X
432	7.9000	12.1927	0.4098	-4.2927	-2.17	R
435	12.1000	12.3376	1.4351	-0.2376	-0.17	X
445	13.3000	11.6840	1.1846	1.6160	0.99	X
487	7.5000	11.6904	0.4531	-4.1904	-2.13	R
490	9.2000	10.0127	1.1844	-0.8127	-0.50	X
497	15.0000	10.9466	0.4657	4.0534	2.06	R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for BF

MC4R	Mean	SE Mean
AA	12.62	0.2922
AG	11.95	0.1938
GG	11.38	0.2226

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

MC4R	N	Mean	Grouping
AA	80	12.62	A
AG	254	11.95	A
GG	166	11.38	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLBD versus MC4R, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
MC4R	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for KLBD, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
MC4R	2	42.564	0.757	0.378	0.04	0.961
SEX	1	41.836	90.118	90.118	9.39	0.002
MC4R*SEX	2	67.635	71.062	35.531	3.70	0.025
MaBo	31	295.580	295.580	9.535	0.99	0.479
Error	463	4441.447	4441.447	9.593		
Total	499	4889.062				

S = 3.09722 R-Sq = 9.16% R-Sq(adj) = 2.09%

Unusual Observations for KLBD

Obs	KLBD	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
4	35.0000	34.4596	1.8212	0.5404	0.22	X
15	27.0000	33.1877	0.6554	-6.1877	-2.04	R
22	37.0000	34.4474	1.8177	2.5526	1.02	X
27	31.0000	30.8214	1.8258	0.1786	0.07	X
28	24.0000	32.6229	0.6963	-8.6229	-2.86	R
37	30.0000	33.3452	1.8186	-3.3452	-1.33	X
39	32.0000	29.7807	1.8177	2.2193	0.88	X
41	36.0000	36.0000	3.0972	-0.0000	*	X
52	39.0000	32.7073	1.4158	6.2927	2.28	R
59	29.0000	30.9227	2.2036	-1.9227	-0.88	X
61	35.0000	35.5504	1.7949	-0.5504	-0.22	X
62	43.0000	35.5504	1.7949	7.4496	2.95	RX
89	25.0000	31.7272	0.5162	-6.7272	-2.20	R
105	23.0000	31.1215	0.6298	-8.1215	-2.68	R
108	18.0000	32.1199	0.8389	-14.1199	-4.74	R
138	25.0000	31.6069	0.7088	-6.6069	-2.19	R
140	31.0000	33.6019	1.8056	-2.6019	-1.03	X
145	40.0000	32.0342	0.5046	7.9658	2.61	R
151	31.0000	32.3256	2.2025	-1.3256	-0.61	X
173	40.0000	32.8475	0.7911	7.1525	2.39	R
186	39.0000	32.2284	0.7121	6.7716	2.25	R
191	24.0000	31.8618	1.3988	-7.8618	-2.85	R
192	22.0000	31.1640	0.5068	-9.1640	-3.00	R
196	30.0000	28.9353	1.8056	1.0647	0.42	X
200	23.0000	31.7272	0.5162	-8.7272	-2.86	R
229	31.0000	32.4998	1.8057	-1.4998	-0.60	X
239	38.0000	31.7774	0.6136	6.2226	2.05	R
241	40.0000	31.7272	0.5162	8.2728	2.71	R
242	38.0000	31.7272	0.5162	6.2728	2.05	R
247	30.0000	29.9759	1.8182	0.0241	0.01	X
248	25.0000	31.7228	0.5532	-6.7228	-2.21	R
253	32.0000	30.0773	2.2036	1.9227	0.88	X
258	34.0000	33.2709	1.8114	0.7291	0.29	X
266	39.0000	30.8207	0.5317	8.1793	2.68	R
268	38.0000	31.7767	0.8834	6.2233	2.10	R
298	41.0000	31.6909	0.5351	9.3091	3.05	R
302	40.0000	31.3796	0.5931	8.6204	2.84	R
311	43.0000	31.2637	0.7311	11.7363	3.90	R
361	24.0000	30.8207	0.5317	-6.8207	-2.24	R
372	28.0000	28.2026	1.8568	-0.2026	-0.08	X
384	28.0000	34.8992	1.8151	-6.8992	-2.75	RX
397	22.0000	30.5127	0.5983	-8.5127	-2.80	R
409	33.0000	32.9507	1.8158	0.0493	0.02	X
427	25.0000	28.2840	1.8158	-3.2840	-1.31	X
435	33.0000	31.6744	2.2025	1.3256	0.61	X
445	32.0000	33.2694	1.8181	-1.2694	-0.51	X
478	39.0000	31.2622	0.7477	7.7378	2.57	R
481	39.0000	32.5028	0.8692	6.4972	2.19	R
490	37.0000	32.1550	1.8178	4.8450	1.93	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLBD

MC4R	Mean	SE Mean
AA	31.58	0.4485
AG	31.71	0.2974
GG	31.70	0.3416

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

MC4R	N	Mean	Grouping
AG	254	31.71	A
GG	166	31.70	A
AA	80	31.58	A

Means that do not share a letter are significantly different.

**General Linear Model: KLKT versus MC4R, SEX, MaBo**

Factor	Type	Levels	Values
MC4R	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for KLKT, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
MC4R	2	1800.88	1036.86	518.43	9.81	0.000
SEX	1	30.28	1.84	1.84	0.03	0.852
MC4R*SEX	2	534.89	346.53	173.27	3.28	0.039
MaBo	31	2823.50	2823.50	91.08	1.72	0.010
Error	463	24470.97	24470.97	52.85		
Total	499	29660.53				

S = 7.27001 R-Sq = 17.50% R-Sq(adj) = 11.08%

Unusual Observations for KLKT

Obs	KLKT	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
4	109.000	99.631	4.275	9.369	1.59 X
22	111.000	100.830	4.267	10.170	1.73 X
27	95.000	99.103	4.286	-4.103	-0.70 X
37	94.000	98.859	4.269	-4.859	-0.83 X
38	80.000	95.046	1.418	-15.046	-2.11 R
39	85.000	97.496	4.267	-12.496	-2.12 RX
41	96.000	96.000	7.270	-0.000	* X
43	79.000	95.046	1.418	-16.046	-2.25 R
52	102.000	88.391	3.323	13.609	2.10 R
54	62.000	97.292	1.879	-35.292	-5.03 R
59	78.000	89.160	5.173	-11.160	-2.18 RX
61	92.000	104.284	4.213	-12.284	-2.07 RX
62	101.000	104.284	4.213	-3.284	-0.55 X
83	122.000	95.371	1.184	26.629	3.71 R
88	75.000	95.371	1.184	-20.371	-2.84 R
113	115.000	97.916	1.212	17.084	2.38 R
140	102.000	99.511	4.238	2.489	0.42 X
151	102.000	96.926	5.170	5.074	0.99 X
165	117.000	95.973	1.664	21.027	2.97 R
167	80.000	94.629	1.671	-14.629	-2.07 R
191	62.000	87.072	3.283	-25.072	-3.87 R
196	105.000	96.177	4.238	8.823	1.49 X
227	76.000	91.435	1.485	-15.435	-2.17 R

229	89.000	97.540	4.238	-8.540	-1.45	X
243	67.000	95.142	1.478	-28.142	-3.95	R
247	99.000	97.784	4.268	1.216	0.21	X
253	99.000	87.840	5.173	11.160	2.18	RX
258	91.000	94.997	4.252	-3.997	-0.68	X
267	77.000	91.386	1.392	-14.386	-2.02	R
301	75.000	90.412	1.248	-15.412	-2.15	R
305	108.000	92.486	1.586	15.514	2.19	R
308	76.000	90.860	1.945	-14.860	-2.12	R
344	70.000	92.057	1.256	-22.057	-3.08	R
356	114.000	92.658	1.716	21.342	3.02	R
372	104.000	101.113	4.358	2.887	0.50	X
384	117.000	101.433	4.260	15.567	2.64	RX
391	70.000	92.520	1.420	-22.520	-3.16	R
408	76.000	90.875	1.404	-14.875	-2.09	R
409	84.000	96.660	4.262	-12.660	-2.15	RX
427	97.000	93.326	4.262	3.674	0.62	X
435	89.000	94.074	5.170	-5.074	-0.99	X
441	106.000	90.875	1.404	15.125	2.12	R
442	70.000	92.950	1.660	-22.950	-3.24	R
445	90.000	95.372	4.268	-5.372	-0.91	X
476	76.000	90.786	1.432	-14.786	-2.07	R
490	108.000	94.600	4.267	13.400	2.28	RX

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLKT

MC4R	Mean	SE Mean
AA	98.61	1.0527
AG	94.86	0.6981
GG	93.15	0.8018

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

MC4R	N	Mean	Grouping
AA	80	98.61	A
AG	254	94.86	B
GG	166	93.15	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## 2. PIT1

### General Linear Model: ADG versus PIT1, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
PIT1	fixed	3	AA, AB, BB
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIT1	2	47387	30916	15458	3.33	0.036
SEX	1	21732	19236	19236	4.15	0.042
PIT1*SEX	2	10325	10553	5276	1.14	0.321
MaBo	31	224031	224031	7227	1.56	0.030
Error	463	2146188	2146188	4635		
Total	499	2449663				

S = 68.0837 R-Sq = 12.39% R-Sq(adj) = 5.58%

Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
2	825.00	839.77	39.82	-14.77	-0.27	X
12	618.00	781.65	13.50	-163.65	-2.45	R
58	987.00	851.42	15.43	135.58	2.04	R
69	986.00	840.16	14.69	145.84	2.19	R
84	923.00	860.57	39.74	62.43	1.13	X
92	705.00	856.28	13.79	-151.28	-2.27	R
97	797.00	821.32	39.80	-24.32	-0.44	X
112	783.00	812.99	48.40	-29.99	-0.63	X
120	891.00	789.59	39.68	101.41	1.83	X
130	973.00	826.32	11.57	146.68	2.19	R
159	682.00	826.32	11.57	-144.32	-2.15	R
165	972.00	826.24	11.90	145.76	2.17	R
172	948.00	858.14	39.46	89.86	1.62	X
173	848.00	858.14	39.46	-10.14	-0.18	X
175	641.00	834.63	11.57	-193.63	-2.89	R
178	858.00	826.71	48.43	31.29	0.65	X
180	987.00	826.32	11.57	160.68	2.39	R
193	853.00	870.25	39.68	-17.25	-0.31	X
210	842.00	816.68	39.79	25.32	0.46	X
213	779.00	855.92	39.68	-76.92	-1.39	X
216	857.00	857.00	68.08	-0.00	*	X
246	686.00	836.19	17.78	-150.19	-2.29	R
250	725.00	817.78	39.87	-92.78	-1.68	X
254	957.00	817.29	11.48	139.71	2.08	R
258	734.00	772.24	39.73	-38.24	-0.69	X
269	638.00	771.29	18.96	-133.29	-2.04	R
273	986.00	817.29	11.48	168.71	2.51	R
274	675.00	817.29	11.48	-142.29	-2.12	R
300	628.00	808.89	10.93	-180.89	-2.69	R
359	726.00	852.91	39.73	-126.91	-2.30	RX
360	678.00	812.00	12.49	-134.00	-2.00	R
362	821.00	791.01	48.40	29.99	0.63	X
363	943.00	835.45	40.19	107.55	1.96	X
365	688.00	826.64	15.22	-138.64	-2.09	R
387	816.00	817.00	40.17	-1.00	-0.02	X
390	980.00	826.64	15.22	153.36	2.31	R
402	698.00	761.17	39.84	-63.17	-1.14	X
430	750.00	829.72	39.92	-79.72	-1.45	X
440	986.00	841.84	39.84	144.16	2.61	RX
448	896.00	748.59	15.35	147.41	2.22	R
452	842.00	827.51	39.84	14.49	0.26	X
453	985.00	797.82	13.17	187.18	2.80	R
457	767.00	798.29	48.43	-31.29	-0.65	X
478	942.00	806.51	14.77	135.49	2.04	R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
 X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for ADG

PIT1	Mean	SE Mean
AA	833.10	8.001
AB	816.41	6.411
BB	807.89	8.200

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIT1	N	Mean	Grouping
AA	149	833.10	A
AB	202	816.41	A B
BB	149	807.89	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## General Linear Model: BF versus PIT1, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
PIT1	fixed	3	AA, AB, BB
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for BF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIT1	2	64.739	35.377	17.688	4.30	0.014
SEX	1	0.115	0.969	0.969	0.24	0.627
PIT1*SEX	2	5.630	6.769	3.384	0.82	0.440
MaBo	31	131.553	131.553	4.244	1.03	0.421
Error	463	1902.798	1902.798	4.110		
Total	499	2104.836				

S = 2.02724 R-Sq = 9.60% R-Sq(adj) = 2.57%

Unusual Observations for BF

Obs	BF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
2	11.6000	10.3843	1.1858	1.2157	0.74 X
9	8.2000	12.2971	0.3835	-4.0971	-2.06 R
22	8.4000	12.4151	0.3949	-4.0151	-2.02 R
36	7.6000	11.6085	0.4596	-4.0085	-2.03 R
84	12.5000	12.6612	1.1834	-0.1612	-0.10 X
97	9.9000	10.4522	1.1852	-0.5522	-0.34 X
112	15.3000	13.8887	1.4412	1.4113	0.99 X
120	10.2000	12.2059	1.1814	-2.0059	-1.22 X
123	16.2000	11.4230	0.6252	4.7770	2.48 R
172	12.5000	12.8738	1.1750	-0.3738	-0.23 X
173	14.6000	12.8738	1.1750	1.7262	1.04 X
178	12.5000	12.4107	1.4419	0.0893	0.06 X
193	15.0000	12.5059	1.1814	2.4941	1.51 X
202	7.6000	11.7725	0.4220	-4.1725	-2.10 R
210	12.4000	10.1711	1.1848	2.2289	1.35 X
213	11.9000	12.3801	1.1816	-0.4801	-0.29 X
216	14.0000	14.0000	2.0272	-0.0000	* X
247	6.9000	11.3033	0.3445	-4.4033	-2.20 R
248	17.3000	12.2993	0.4711	5.0007	2.54 R
250	7.2000	9.7069	1.1871	-2.5069	-1.53 X
251	16.5000	10.9069	0.3420	5.5931	2.80 R
258	12.5000	11.8096	1.1828	0.6904	0.42 X
260	7.2000	11.9192	0.4943	-4.7192	-2.40 R
281	16.2000	10.6598	0.3254	5.5402	2.77 R
359	11.9000	12.1096	1.1828	-0.2096	-0.13 X
362	11.8000	13.2113	1.4412	-1.4113	-0.99 X
363	12.1000	10.8088	1.1966	1.2912	0.79 X
387	9.2000	10.8767	1.1961	-1.6767	-1.02 X
402	13.3000	11.9845	1.1862	1.3155	0.80 X
430	11.3000	12.6524	1.1887	-1.3524	-0.82 X
440	10.0000	12.2845	1.1862	-2.2845	-1.39 X
446	7.5000	11.5511	0.4572	-4.0511	-2.05 R
452	12.8000	12.1587	1.1863	0.6413	0.39 X
457	12.1000	12.1893	1.4419	-0.0893	-0.06 X
486	7.9000	12.0087	0.5392	-4.1087	-2.10 R



R denotes an observation with a large standardized residual.  
 X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for BF

PIT1	Mean	SE Mean
AA	12.42	0.2382
AB	11.81	0.1909
BB	11.58	0.2442

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIT1	N	Mean	Grouping
AA	149	12.42	A
AB	202	11.81	A B
BB	149	11.58	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLBD versus PIT1, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
PIT1	fixed	3	AA, AB, BB
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for KLBD, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIT1	2	21.995	78.053	39.027	4.10	0.017
SEX	1	0.472	14.358	14.358	1.51	0.220
PIT1*SEX	2	124.947	142.551	71.276	7.50	0.001
MaBo	31	338.639	338.639	10.924	1.15	0.269
Error	463	4403.010	4403.010	9.510		
Total	499	4889.062				

S = 3.08379 R-Sq = 9.94% R-Sq(adj) = 2.94%

Unusual Observations for KLBD

Obs	KLBD	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
2	35.0000	33.8899	1.8038	1.1101	0.44 X
13	24.0000	31.9797	0.8052	-7.9797	-2.68 R
27	40.0000	32.1694	0.6245	7.8306	2.59 R
58	39.0000	31.8538	0.6991	7.1462	2.38 R
62	22.0000	32.1694	0.6245	-10.1694	-3.37 R
69	23.0000	30.3968	0.6655	-7.3968	-2.46 R
84	33.0000	35.5351	1.8001	-2.5351	-1.01 X
86	25.0000	31.8686	0.5833	-6.8686	-2.27 R
92	40.0000	32.1694	0.6245	7.8306	2.59 R
97	34.0000	34.7389	1.8028	-0.7389	-0.30 X
112	29.0000	30.4020	2.1923	-1.4020	-0.65 X
120	31.0000	31.7855	1.7971	-0.7855	-0.31 X
123	41.0000	32.9154	0.9510	8.0846	2.76 R

129	39.0000	30.7215	0.5241	8.2785	2.72	R
165	23.0000	30.8906	0.5389	-7.8906	-2.60	R
172	33.0000	32.6345	1.7874	0.3655	0.15	X
173	29.0000	32.6345	1.7874	-3.6345	-1.45	X
178	34.0000	31.9517	2.1934	2.0483	0.94	X
193	29.0000	29.7855	1.7971	-0.7855	-0.31	X
209	37.0000	30.6644	0.6420	6.3356	2.10	R
210	36.0000	34.3879	1.8022	1.6121	0.64	X
212	22.0000	30.8906	0.5389	-8.8906	-2.93	R
213	36.0000	35.1841	1.7974	0.8159	0.33	X
216	33.0000	33.0000	3.0838	0.0000	*	X
231	24.0000	31.1910	0.6053	-7.1910	-2.38	R
234	24.0000	31.2154	0.5825	-7.2154	-2.38	R
250	32.0000	34.0859	1.8058	-2.0859	-0.83	X
258	35.0000	32.3325	1.7993	2.6675	1.07	X
288	25.0000	31.0945	0.8316	-6.0945	-2.05	R
319	40.0000	31.4376	0.4950	8.5624	2.81	R
324	39.0000	32.1758	0.8269	6.8242	2.30	R
329	26.0000	32.0647	0.5754	-6.0647	-2.00	R
334	43.0000	32.5835	0.7315	10.4165	3.48	R
356	25.0000	31.4376	0.4950	-6.4376	-2.11	R
359	27.0000	30.3325	1.7993	-3.3325	-1.33	X
362	32.0000	30.5980	2.1923	1.4020	0.65	X
363	33.0000	32.0242	1.8203	0.9758	0.39	X
375	18.0000	29.2068	0.6928	-11.2068	-3.73	R
387	32.0000	32.8732	1.8194	-0.8732	-0.35	X
402	31.0000	32.8821	1.8045	-1.8821	-0.75	X
420	40.0000	32.8631	1.1396	7.1369	2.49	R
430	37.0000	33.7311	1.8082	3.2689	1.31	X
440	35.0000	30.8821	1.8045	4.1179	1.65	X
452	38.0000	36.2807	1.8045	1.7193	0.69	X
457	31.0000	33.0483	2.1934	-2.0483	-0.94	X
478	43.0000	30.8488	0.6690	12.1512	4.04	R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

#### Least Squares Means for KLBD

PIT1	Mean	SE Mean
AA	31.23	0.3624
AB	32.36	0.2904
BB	32.15	0.3714

#### Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIT1	N	Mean	Grouping
AB	202	32.36	A
BB	149	32.15	A B
AA	149	31.23	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLKT versus PIT1, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
PIT1	fixed	3	AA, AB, BB
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05,

Analysis of Variance for KLKT, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIT1	2	838.15	457.49	228.75	4.19	0.016
SEX	1	108.65	130.58	130.58	2.39	0.123
PIT1*SEX	2	108.00	53.94	26.97	0.49	0.610
MaBo	31	3327.39	3327.39	107.34	1.97	0.002
Error	463	25278.33	25278.33	54.60		
Total	499	29660.53				

S = 7.38897    R-Sq = 14.77%    R-Sq(adj) = 8.15%

Unusual Observations for KLKT

Obs	KLKT	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
2	101.000	104.264	4.322	-3.264	-0.54	X
12	75.000	89.577	1.465	-14.577	-2.01	R
58	117.000	94.860	1.675	22.140	3.08	R
77	62.000	88.500	3.386	-26.500	-4.04	R
79	70.000	95.595	1.336	-25.595	-3.52	R
84	105.000	96.217	4.313	8.783	1.46	X
97	89.000	97.023	4.320	-8.023	-1.34	X
102	114.000	94.860	1.675	19.140	2.66	R
112	78.000	89.743	5.253	-11.743	-2.26	RX
120	109.000	98.281	4.306	10.719	1.79	X
127	122.000	95.831	1.256	26.169	3.59	R
145	82.000	97.713	1.787	-15.713	-2.19	R
153	115.000	97.971	1.256	17.029	2.34	R
172	111.000	99.707	4.283	11.293	1.88	X
173	102.000	99.707	4.283	2.293	0.38	X
175	81.000	95.831	1.256	-14.831	-2.04	R
178	102.000	96.561	5.255	5.439	1.05	X
191	80.000	95.377	1.717	-15.377	-2.14	R
193	95.000	100.948	4.306	-5.948	-0.99	X
210	94.000	97.259	4.318	-3.259	-0.54	X
212	80.000	94.568	1.291	-14.568	-2.00	R
213	85.000	96.453	4.307	-11.453	-1.91	X
216	96.000	96.000	7.389	-0.000	*	X
219	79.000	94.568	1.291	-15.568	-2.14	R
232	102.000	88.736	3.343	13.264	2.01	R
250	92.000	101.778	4.327	-9.778	-1.63	X
258	91.000	95.559	4.311	-4.559	-0.76	X
270	77.000	92.349	1.356	-15.349	-2.11	R
275	75.000	93.109	1.246	-18.109	-2.49	R
300	75.000	91.846	1.186	-16.846	-2.31	R
309	76.000	91.142	1.992	-15.142	-2.13	R
351	62.000	92.374	1.855	-30.374	-4.25	R
355	67.000	91.990	1.616	-24.990	-3.47	R
359	99.000	98.226	4.311	0.774	0.13	X
362	99.000	87.257	5.253	11.743	2.26	RX
363	117.000	103.958	4.361	13.042	2.19	RX
387	108.000	96.718	4.359	11.282	1.89	X
402	90.000	96.159	4.324	-6.159	-1.03	X
427	76.000	92.446	1.430	-16.446	-2.27	R
430	84.000	97.585	4.332	-13.585	-2.27	RX
440	104.000	98.826	4.324	5.174	0.86	X
452	97.000	94.330	4.324	2.670	0.45	X
457	89.000	94.439	5.255	-5.439	-1.05	X
461	70.000	94.408	1.619	-24.408	-3.39	R
469	70.000	91.952	1.603	-21.952	-3.04	R
478	109.000	91.952	1.603	17.048	2.36	R
484	76.000	90.689	1.615	-14.689	-2.04	R
499	106.000	90.689	1.615	15.311	2.12	R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
 X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLKT

PIT1	Mean	SE Mean
AA	96.27	0.8684
AB	95.60	0.6958
BB	93.36	0.8899

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIT1	N	Mean	Grouping
AA	149	96.27	A
AB	202	95.60	A
BB	149	93.36	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### 3. GH General Linear Model: ADG versus GH, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
GH	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
GH	2	40160	39380	19690	4.28	0.014
SEX	1	21823	5446	5446	1.19	0.277
GH*SEX	2	40815	29553	14776	3.22	0.041
MaBo	31	219182	219182	7070	1.54	0.034
Error	463	2127683	2127683	4595		
Total	499	2449663				

S = 67.7896    R-Sq = 13.14%    R-Sq(adj) = 6.39%

Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
20	628.00	797.79	13.49	-169.79	-2.56	R
27	858.00	803.68	48.45	54.32	1.15	X
36	960.00	821.49	15.74	138.51	2.10	R
37	986.00	821.49	15.74	164.51	2.49	R
56	725.00	841.91	39.27	-116.91	-2.12	RX
57	825.00	841.91	39.27	-16.91	-0.31	X
67	891.00	769.66	39.51	121.34	2.20	RX
80	986.00	823.98	11.24	162.02	2.42	R
81	675.00	823.98	11.24	-148.98	-2.23	R
83	973.00	820.64	11.55	152.36	2.28	R
97	618.00	777.05	14.12	-159.05	-2.40	R
114	682.00	820.64	11.55	-138.64	-2.08	R

147	948.00	859.57	39.27	88.43	1.60	X
148	848.00	859.57	39.27	-11.57	-0.21	X
194	842.00	817.53	39.32	24.47	0.44	X
198	779.00	847.20	39.32	-68.20	-1.24	X
199	923.00	847.20	39.32	75.80	1.37	X
203	857.00	857.00	67.79	-0.00	*	X
220	705.00	842.93	13.68	-137.93	-2.08	R
225	797.00	817.53	39.32	-20.53	-0.37	X
236	726.00	862.03	39.45	-136.03	-2.47	RX
237	678.00	823.89	12.08	-145.89	-2.19	R
238	686.00	831.53	18.06	-145.53	-2.23	R
247	734.00	781.28	39.55	-47.28	-0.86	X
253	638.00	795.95	19.38	-157.95	-2.43	R
275	972.00	824.65	11.45	147.35	2.21	R
286	641.00	835.60	11.25	-194.60	-2.91	R
291	987.00	832.26	12.06	154.74	2.32	R
302	853.00	873.65	39.53	-20.65	-0.38	X
318	714.00	846.54	16.57	-132.54	-2.02	R
338	724.00	860.52	15.89	-136.52	-2.07	R
356	686.00	848.35	15.10	-162.35	-2.46	R
361	821.00	802.00	47.93	19.00	0.40	X
362	783.00	802.00	47.93	-19.00	-0.40	X
377	985.00	814.30	17.82	170.70	2.61	R
384	943.00	809.19	39.68	133.81	2.43	RX
410	942.00	791.27	12.67	150.73	2.26	R
418	750.00	826.86	39.68	-76.86	-1.40	X
429	986.00	829.32	39.63	156.68	2.85	RX
452	698.00	772.06	39.79	-74.06	-1.35	X
484	816.00	819.93	39.86	-3.93	-0.07	X
485	842.00	849.60	39.86	-7.60	-0.14	X
487	980.00	823.04	13.84	156.96	2.37	R
492	767.00	821.32	48.45	-54.32	-1.15	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

#### Least Squares Means for ADG

GH	Mean	SE	Mean
AA	818.34	10.128	
AG	809.00	6.365	
GG	832.33	7.266	

#### Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

GH	N	Mean	Grouping
GG	173	832.33	A
AA	75	818.34	A B
AG	252	809.00	B

Means that do not share a letter are significantly different.

#### General Linear Model: BF versus GH, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
GH	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for BF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
GH	2	47.194	46.713	23.357	5.73	0.003
SEX	1	0.247	0.006	0.006	0.00	0.970
GH*SEX	2	0.263	1.394	0.697	0.17	0.843
MaBo	31	170.883	170.883	5.512	1.35	0.101
Error	463	1886.249	1886.249	4.074		
Total	499	2104.836				

S = 2.01841    R-Sq = 10.38%    R-Sq(adj) = 3.42%

Unusual Observations for BF

Obs	BF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	16.5000	12.0868	0.4277	4.4132	2.24 R
3	16.2000	11.7510	0.6608	4.4490	2.33 R
27	12.5000	12.8909	1.4426	-0.3909	-0.28 X
56	7.2000	10.2461	1.1694	-3.0461	-1.85 X
57	11.6000	10.2461	1.1694	1.3539	0.82 X
67	10.2000	12.3038	1.1763	-2.1038	-1.28 X
69	7.2000	12.2339	0.4582	-5.0339	-2.56 R
86	16.2000	10.8737	0.3322	5.3263	2.68 R
143	7.6000	11.7136	0.4607	-4.1136	-2.09 R
147	12.5000	12.7461	1.1694	-0.2461	-0.15 X
148	14.6000	12.7461	1.1694	1.8539	1.13 X
158	16.3000	12.2339	0.4582	4.0661	2.07 R
194	12.4000	10.6590	1.1708	1.7410	1.06 X
198	11.9000	12.5590	1.1708	-0.6590	-0.40 X
199	12.5000	12.5590	1.1708	-0.0590	-0.04 X
203	14.0000	14.0000	2.0184	-0.0000	* X
225	9.9000	10.6590	1.1708	-0.7590	-0.46 X
230	7.6000	11.8330	0.4073	-4.2330	-2.14 R
236	11.9000	12.3909	1.1747	-0.4909	-0.30 X
239	17.3000	12.2116	0.4664	5.0884	2.59 R
247	12.5000	11.8694	1.1776	0.6306	0.38 X
253	14.6000	10.2732	0.5770	4.3268	2.24 R
302	15.0000	11.9566	1.1769	3.0434	1.86 X
359	6.9000	10.9477	0.3351	-4.0477	-2.03 R
361	11.8000	13.5500	1.4272	-1.7500	-1.23 X
362	15.3000	13.5500	1.4272	1.7500	1.23 X
384	12.1000	10.4077	1.1815	1.6923	1.03 X
418	11.3000	12.9077	1.1815	-1.6077	-0.98 X
429	10.0000	12.5525	1.1800	-2.5525	-1.56 X
452	13.3000	11.8268	1.1847	1.4732	0.90 X
484	9.2000	10.1820	1.1869	-0.9820	-0.60 X
485	12.8000	12.0820	1.1869	0.7180	0.44 X
492	12.1000	11.7091	1.4426	0.3909	0.28 X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for BF

GH	Mean	SE Mean
AA	12.57	0.3016
AG	12.02	0.1895
GG	11.48	0.2163

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

GH	N	Mean	Grouping
----	---	------	----------

AA 75 12.57 A  
 AG 252 12.02 A B  
 GG 173 11.48 B

Means that do not share a letter are significantly different.

**General Linear Model: KLBD versus GH, SEX, MaBo**

Factor	Type	Levels	Values
GH	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for KLBD, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
GH	2	6.650	4.003	2.001	0.20	0.818
SEX	1	24.234	15.988	15.988	1.60	0.206
GH*SEX	2	0.244	2.596	1.298	0.13	0.878
MaBo	31	236.237	236.237	7.621	0.76	0.819
Error	463	4621.697	4621.697	9.982		
Total	499	4889.062				

S = 3.15944 R-Sq = 5.47% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for KLBD

Obs	KLBD	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
27	35.0000	33.8871	2.2581	1.1129	0.50	X
37	23.0000	31.2957	0.7337	-8.2957	-2.70	R
41	25.0000	31.7603	0.6827	-6.7603	-2.19	R
56	30.0000	29.4643	1.8305	0.5357	0.21	X
57	27.0000	29.4643	1.8305	-2.4643	-0.96	X
67	31.0000	30.3723	1.8413	0.6277	0.24	X
101	18.0000	30.1963	0.8261	-12.1963	-4.00	R
127	24.0000	31.4166	0.5239	-7.4166	-2.38	R
134	25.0000	32.0244	0.5629	-7.0244	-2.26	R
147	33.0000	32.1310	1.8305	0.8690	0.34	X
148	32.0000	32.1310	1.8305	-0.1310	-0.05	X
150	40.0000	31.2473	0.7827	8.7527	2.86	R
182	40.0000	32.0244	0.5629	7.9756	2.57	R
194	24.0000	29.8122	1.8326	-5.8122	-2.26	RX
198	26.0000	30.1455	1.8326	-4.1455	-1.61	X
199	32.0000	30.1455	1.8326	1.8545	0.72	X
203	35.0000	35.0000	3.1594	-0.0000	*	X
225	29.0000	29.8122	1.8326	-0.8122	-0.32	X
236	31.0000	31.6911	1.8387	-0.6911	-0.27	X
241	40.0000	32.5984	0.7868	7.4016	2.42	R
242	39.0000	31.7362	0.5245	7.2638	2.33	R
243	38.0000	30.8488	0.6076	7.1512	2.31	R
245	25.0000	31.7362	0.5245	-6.7362	-2.16	R
247	29.0000	30.6919	1.8433	-1.6919	-0.66	X
255	39.0000	31.7362	0.5245	7.2638	2.33	R
257	38.0000	31.7362	0.5245	6.2638	2.01	R
265	25.0000	31.1881	0.8080	-6.1881	-2.03	R
287	43.0000	31.7362	0.5245	11.2638	3.62	R
300	39.0000	32.3258	0.7485	6.6742	2.17	R
302	34.0000	32.0107	1.8422	1.9893	0.78	X

304	39.0000	31.4612	0.6481	7.5388	2.44	R
311	43.0000	31.7422	0.6653	11.2578	3.64	R
338	26.0000	32.4934	0.7404	-6.4934	-2.11	R
343	23.0000	31.5669	0.7723	-8.5669	-2.80	R
361	28.0000	30.5000	2.2341	-2.5000	-1.12	X
362	33.0000	30.5000	2.2341	2.5000	1.12	X
374	22.0000	32.2870	0.8888	-10.2870	-3.39	R
384	32.0000	30.0714	1.8494	1.9286	0.75	X
386	39.0000	32.2799	0.8233	6.7201	2.20	R
391	24.0000	32.0237	0.5904	-8.0237	-2.59	R
392	22.0000	30.9874	0.9136	-8.9874	-2.97	R
418	32.0000	32.7381	1.8494	-0.7381	-0.29	X
429	31.0000	32.2982	1.8471	-1.2982	-0.51	X
452	32.0000	30.9358	1.8545	1.0642	0.42	X
465	41.0000	32.7374	0.7971	8.2626	2.70	R
467	40.0000	33.8623	1.1256	6.1377	2.08	R
484	37.0000	30.3757	1.8579	6.6243	2.59	RX
485	33.0000	30.7090	1.8579	2.2910	0.90	X
492	33.0000	34.1129	2.2581	-1.1129	-0.50	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

#### Least Squares Means for KLBD

GH	Mean	SE Mean
AA	32.05	0.4720
AG	31.75	0.2966
GG	31.89	0.3386

#### Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

GH	N	Mean	Grouping
AA	75	32.05	A
GG	173	31.89	A
AG	252	31.75	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLKT versus GH, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
GH	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

#### Analysis of Variance for KLKT, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
GH	2	300.62	395.50	197.75	3.60	0.028
SEX	1	85.67	33.64	33.64	0.61	0.434
GH*SEX	2	188.66	140.06	70.03	1.28	0.280
MaBo	31	3665.95	3665.95	118.26	2.15	0.000
Error	463	25419.63	25419.63	54.90		
Total	499	29660.53				

S = 7.40959 R-Sq = 14.30% R-Sq(adj) = 7.63%



Unusual Observations for KLKT

Obs	KLKT	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
12	82.000	96.703	1.959	-14.703	-2.06	R
20	75.000	91.916	1.475	-16.916	-2.33	R
27	102.000	95.038	5.296	6.962	1.34	X
56	92.000	104.091	4.293	-12.091	-2.00	RX
57	101.000	104.091	4.293	-3.091	-0.51	X
67	109.000	95.895	4.318	13.105	2.18	RX
75	77.000	93.584	1.320	-16.584	-2.27	R
81	79.000	93.878	1.229	-14.878	-2.04	R
147	111.000	99.758	4.293	11.242	1.86	X
148	102.000	99.758	4.293	2.242	0.37	X
191	62.000	87.322	3.331	-25.322	-3.83	R
192	70.000	93.878	1.229	-23.878	-3.27	R
194	94.000	96.774	4.298	-2.774	-0.46	X
198	85.000	95.440	4.298	-10.440	-1.73	X
199	105.000	95.440	4.298	9.560	1.58	X
203	96.000	96.000	7.410	-0.000	*	X
221	102.000	87.322	3.331	14.678	2.22	R
225	89.000	96.774	4.298	-7.774	-1.29	X
236	99.000	99.546	4.312	-0.546	-0.09	X
247	91.000	97.530	4.323	-6.530	-1.09	X
253	82.000	96.459	2.118	-14.459	-2.04	R
254	122.000	95.513	1.230	26.487	3.62	R
256	75.000	95.513	1.230	-20.513	-2.81	R
269	115.000	98.238	1.318	16.762	2.30	R
281	76.000	93.937	2.052	-17.937	-2.52	R
298	117.000	95.798	1.736	21.202	2.94	R
300	80.000	95.409	1.755	-15.409	-2.14	R
302	95.000	101.181	4.320	-6.181	-1.03	X
338	62.000	95.798	1.736	-33.798	-4.69	R
349	114.000	95.798	1.736	18.202	2.53	R
356	67.000	95.571	1.651	-28.571	-3.96	R
361	99.000	88.500	5.239	10.500	2.00	RX
362	78.000	88.500	5.239	-10.500	-2.00	RX
372	76.000	93.146	1.947	-17.146	-2.40	R
384	117.000	101.818	4.337	15.182	2.53	RX
391	70.000	91.605	1.385	-21.605	-2.97	R
410	109.000	91.605	1.385	17.395	2.39	R
418	84.000	97.485	4.337	-13.485	-2.24	RX
429	104.000	97.273	4.332	6.727	1.12	X
449	70.000	92.730	1.694	-22.730	-3.15	R
452	90.000	96.575	4.349	-6.575	-1.10	X
468	76.000	92.840	1.510	-16.840	-2.32	R
484	108.000	97.453	4.357	10.547	1.76	X
485	97.000	96.120	4.357	0.880	0.15	X
492	89.000	95.962	5.296	-6.962	-1.34	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLKT

GH	Mean	SE Mean
AA	95.73	1.1070
AG	94.23	0.6957
GG	96.52	0.7942

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

GH	N	Mean	Grouping
GG	173	96.52	A
AA	75	95.73	A B
AG	252	94.23	B

Means that do not share a letter are significantly different.

**4. LEP**  
**General Linear Model: ADG versus LEP, SEX, MaBo**

Factor	Type	Levels	Values
LEP	fixed	2	CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
LEP	1	38980	32939	32939	7.11	0.008
SEX	1	18694	7	7	0.00	0.970
LEP*SEX	1	5903	3182	3182	0.69	0.408
MaBo	31	233024	233024	7517	1.62	0.020
Error	465	2153060	2153060	4630		
Total	499	2449663				

S = 68.0458 R-Sq = 12.11% R-Sq(adj) = 5.68%

Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
3	725.00	836.66	39.36	-111.66	-2.01	RX
4	825.00	836.66	39.36	-11.66	-0.21	X
22	891.00	779.99	39.36	111.01	2.00	X
23	734.00	779.99	39.36	-45.99	-0.83	X
39	638.00	779.57	18.30	-141.57	-2.16	R
47	986.00	823.96	10.52	162.04	2.41	R
48	675.00	823.96	10.52	-148.96	-2.22	R
54	973.00	819.02	11.16	153.98	2.29	R
74	618.00	778.53	12.98	-160.53	-2.40	R
124	628.00	814.31	10.39	-186.31	-2.77	R
125	972.00	814.31	10.39	157.69	2.34	R
154	848.00	841.90	39.84	6.10	0.11	X
166	641.00	823.96	10.52	-182.96	-2.72	R
175	858.00	820.99	48.24	37.01	0.77	X
180	987.00	819.02	11.16	167.98	2.50	R
201	987.00	841.47	15.47	145.53	2.20	R
207	853.00	860.66	39.36	-7.66	-0.14	X
226	986.00	833.07	13.48	152.93	2.29	R
254	842.00	823.99	39.36	18.01	0.32	X
258	779.00	853.66	39.36	-74.66	-1.34	X
259	923.00	853.66	39.36	69.34	1.25	X
262	857.00	857.00	68.05	0.00	*	X
295	705.00	850.39	13.06	-145.39	-2.18	R
309	797.00	823.99	39.36	-26.99	-0.49	X
329	686.00	833.07	13.48	-147.07	-2.21	R
335	726.00	860.66	39.36	-134.66	-2.43	RX
336	678.00	819.64	11.76	-141.64	-2.11	R
337	686.00	828.59	17.19	-142.59	-2.17	R
344	821.00	802.00	48.12	19.00	0.39	X
345	783.00	802.00	48.12	-19.00	-0.39	X
346	682.00	856.31	19.16	-174.31	-2.67	R
352	948.00	879.18	41.02	68.82	1.27	X
363	943.00	819.68	39.56	123.32	2.23	RX
370	698.00	763.01	39.56	-65.01	-1.17	X
421	750.00	824.92	39.92	-74.92	-1.36	X

443	986.00	843.68	39.56	142.32	2.57	RX
455	896.00	761.55	13.90	134.45	2.02	R
462	1000.00	864.46	23.16	135.54	2.12	R
463	816.00	807.01	39.56	8.99	0.16	X
466	842.00	836.68	39.56	5.32	0.10	X
467	980.00	802.04	11.96	177.96	2.66	R
469	985.00	797.34	11.29	187.66	2.80	R
472	946.00	803.49	13.36	142.51	2.14	R
478	767.00	804.01	48.24	-37.01	-0.77	X
497	942.00	876.73	35.77	65.27	1.13	X
498	876.00	894.24	35.04	-18.24	-0.31	X
499	835.00	871.79	35.86	-36.79	-0.64	X
500	884.00	894.24	35.04	-10.24	-0.18	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for ADG

LEP	Mean	SE Mean
CT	870.65	20.238
TT	817.13	5.311

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

LEP	N	Mean	Grouping
CT	21	870.65	A
TT	479	817.13	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Factor	Type	Levels	Values
LEP	fixed	2	CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for BF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
LEP	1	5.647	12.167	12.167	2.93	0.088
SEX	1	0.275	3.686	3.686	0.89	0.347
LEP*SEX	1	3.291	3.424	3.424	0.82	0.364
MaBo	31	163.470	163.470	5.273	1.27	0.155
Error	465	1932.153	1932.153	4.155		
Total	499	2104.836				

S = 2.03842 R-Sq = 8.20% R-Sq(adj) = 1.49%

Unusual Observations for BF

Obs	BF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	7.2000	10.2933	1.1790	-3.0933	-1.86 X
4	11.6000	10.2933	1.1790	1.3067	0.79 X
8	16.5000	11.1233	0.3151	5.3767	2.67 R
22	10.2000	11.9933	1.1790	-1.7933	-1.08 X
23	12.5000	11.9933	1.1790	0.5067	0.30 X
26	16.2000	11.2491	0.6173	4.9509	2.55 R
28	7.2000	12.3110	0.4577	-5.1110	-2.57 R
58	16.2000	10.8166	0.3113	5.3834	2.67 R

154	14.6000	12.6280	1.1935	1.9720	1.19	X
173	16.3000	12.3110	0.4577	3.9890	2.01	R
175	12.5000	12.2899	1.4452	0.2101	0.15	X
207	15.0000	12.2933	1.1790	2.7067	1.63	X
231	7.6000	11.9164	0.3888	-4.3164	-2.16	R
254	12.4000	10.4933	1.1790	1.9067	1.15	X
258	11.9000	12.3933	1.1790	-0.4933	-0.30	X
259	12.5000	12.3933	1.1790	0.1067	0.06	X
262	14.0000	14.0000	2.0384	-0.0000	*	X
309	9.9000	10.4933	1.1790	-0.5933	-0.36	X
335	11.9000	12.2933	1.1790	-0.3933	-0.24	X
339	6.9000	11.1233	0.3151	-4.2233	-2.10	R
340	17.3000	12.2638	0.4520	5.0362	2.53	R
344	11.8000	13.5500	1.4414	-1.7500	-1.21	X
345	15.3000	13.5500	1.4414	1.7500	1.21	X
352	12.5000	13.1239	1.2287	-0.6239	-0.38	X
363	12.1000	10.3134	1.1852	1.7866	1.08	X
370	13.3000	12.0134	1.1852	1.2866	0.78	X
421	11.3000	12.6481	1.1959	-1.3481	-0.82	X
440	7.9000	12.2839	0.4635	-4.3839	-2.21	R
443	10.0000	12.3134	1.1852	-2.3134	-1.39	X
452	7.5000	11.9365	0.4163	-4.4365	-2.22	R
463	9.2000	10.5134	1.1852	-1.3134	-0.79	X
466	12.8000	12.4134	1.1852	0.3866	0.23	X
475	7.9000	11.9580	0.3582	-4.0580	-2.02	R
478	12.1000	12.3101	1.4452	-0.2101	-0.15	X
497	12.0000	12.7046	1.0717	-0.7046	-0.41	X
498	12.4000	12.9882	1.0497	-0.5882	-0.34	X
499	15.0000	13.5191	1.0741	1.4809	0.85	X
500	12.8000	12.9882	1.0497	-0.1882	-0.11	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for BF

LEP	Mean	SE Mean
CT	12.92	0.6063
TT	11.89	0.1591

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

LEP	N	Mean	Grouping
CT	21	12.92	A
TT	479	11.89	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLBD versus LEP, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
LEP	fixed	2	CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for KLBD, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
LEP	1	18.221	31.996	31.996	3.64	0.057

SEX	1	39.666	227.293	227.293	25.84	0.000
LEP*SEX	1	170.334	191.549	191.549	21.78	0.000
MaBo	31	571.022	571.022	18.420	2.09	0.001
Error	465	4089.819	4089.819	8.795		
Total	499	4889.062				

S = 2.96569 R-Sq = 16.35% R-Sq(adj) = 10.23%

Unusual Observations for KLBD

Obs	KLBD	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
1	37.0000	30.3980	0.7974	6.6020	2.31	R
3	34.0000	34.5476	1.7153	-0.5476	-0.23	X
4	35.0000	34.5476	1.7153	0.4524	0.19	X
22	35.0000	32.5476	1.7153	2.4524	1.01	X
23	30.0000	32.5476	1.7153	-2.5476	-1.05	X
43	23.0000	30.2431	0.4584	-7.2431	-2.47	R
47	18.0000	30.2431	0.4584	-12.2431	-4.18	R
59	27.0000	33.4008	0.7042	-6.4008	-2.22	R
90	24.0000	31.8698	0.7493	-7.8698	-2.74	R
111	25.0000	30.8831	0.4865	-5.8831	-2.01	R
126	40.0000	31.3495	0.5690	8.6505	2.97	R
154	36.0000	36.9860	1.7364	-0.9860	-0.41	X
166	22.0000	30.2431	0.4584	-8.2431	-2.81	R
169	37.0000	30.2431	0.4584	6.7569	2.31	R
175	35.0000	35.8215	2.1026	-0.8215	-0.39	X
201	39.0000	31.4204	0.6743	7.5796	2.62	R
207	31.0000	32.5476	1.7153	-1.5476	-0.64	X
208	24.0000	31.3495	0.5690	-7.3495	-2.53	R
212	24.0000	31.3495	0.5690	-7.3495	-2.53	R
213	22.0000	31.3495	0.5690	-9.3495	-3.21	R
226	23.0000	31.1731	0.5874	-8.1731	-2.81	R
253	25.0000	30.9107	0.5657	-5.9107	-2.03	R
254	30.0000	31.8810	1.7153	-1.8810	-0.78	X
258	32.0000	33.5476	1.7153	-1.5476	-0.64	X
259	33.0000	33.5476	1.7153	-0.5476	-0.23	X
262	36.0000	36.0000	2.9657	0.0000	*	X
272	25.0000	30.8831	0.4865	-5.8831	-2.01	R
293	38.0000	32.1553	0.5381	5.8447	2.00	R
295	40.0000	31.3495	0.5690	8.6505	2.97	R
296	39.0000	32.4000	1.3263	6.6000	2.49	R
307	25.0000	30.9107	0.5657	-5.9107	-2.03	R
309	34.0000	31.8810	1.7153	2.1190	0.88	X
335	38.0000	32.5476	1.7153	5.4524	2.25	RX
344	30.0000	29.5000	2.0971	0.5000	0.24	X
345	29.0000	29.5000	2.0971	-0.5000	-0.24	X
352	34.0000	34.6708	1.7876	-0.6708	-0.28	X
363	35.0000	34.9047	1.7244	0.0953	0.04	X
370	33.0000	32.9047	1.7244	0.0953	0.04	X
410	40.0000	32.6071	0.5637	7.3929	2.54	R
412	26.0000	32.6071	0.5637	-6.6071	-2.27	R
415	39.0000	31.5302	0.6231	7.4698	2.58	R
421	39.0000	37.3431	1.7399	1.6569	0.69	X
436	43.0000	31.5568	0.4921	11.4432	3.91	R
443	29.0000	32.9047	1.7244	-3.9047	-1.62	X
463	32.0000	32.2381	1.7244	-0.2381	-0.10	X
466	36.0000	33.9047	1.7244	2.0953	0.87	X
478	37.0000	36.1785	2.1026	0.8215	0.39	X
487	40.0000	33.0782	0.6743	6.9218	2.40	R
497	43.0000	36.2513	1.5591	6.7487	2.68	RX
498	41.0000	37.4287	1.5273	3.5713	1.40	X
499	35.0000	36.8914	1.5628	-1.8914	-0.75	X
500	29.0000	37.4287	1.5273	-8.4287	-3.32	RX

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLBD

LEP	Mean	SE Mean
CT	34.07	0.8820
TT	32.40	0.2315

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

LEP	N	Mean	Grouping
CT	21	34.07	A
TT	479	32.40	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLKT versus LEP, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
LEP	fixed	2	CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for KLKT, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
LEP	1	326.51	348.23	348.23	6.34	0.012
SEX	1	67.44	22.69	22.69	0.41	0.521
LEP*SEX	1	65.97	89.39	89.39	1.63	0.203
MaBo	31	3643.37	3643.37	117.53	2.14	0.000
Error	465	25557.24	25557.24	54.96		
Total	499	29660.53				

S = 7.41362    R-Sq = 13.83%    R-Sq(adj) = 7.53%

Unusual Observations for KLKT

Obs	KLKT	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
3	92.000	103.783	4.288	-11.783	-1.95	X
4	101.000	103.783	4.288	-2.783	-0.46	X
22	109.000	97.117	4.288	11.883	1.96	X
23	91.000	97.117	4.288	-6.117	-1.01	X
40	77.000	93.543	1.281	-16.543	-2.27	R
42	122.000	94.237	1.146	27.763	3.79	R
48	79.000	94.237	1.146	-15.237	-2.08	R
49	75.000	94.237	1.146	-19.237	-2.63	R
85	82.000	96.820	1.665	-14.820	-2.05	R
97	115.000	96.796	1.216	18.204	2.49	R
124	75.000	92.755	1.132	-17.755	-2.42	R
147	76.000	92.537	1.920	-16.537	-2.31	R
154	102.000	98.523	4.341	3.477	0.58	X
175	102.000	96.175	5.256	5.825	1.11	X
201	117.000	93.735	1.686	23.265	3.22	R
207	95.000	99.783	4.288	-4.783	-0.79	X
246	62.000	87.600	3.315	-25.600	-3.86	R
249	70.000	94.237	1.146	-24.237	-3.31	R
254	94.000	97.450	4.288	-3.450	-0.57	X
258	85.000	96.117	4.288	-11.117	-1.84	X

259	105.000	96.117	4.288	8.883	1.47	X
262	96.000	96.000	7.414	-0.000	*	X
296	102.000	87.600	3.315	14.400	2.17	R
301	62.000	93.735	1.686	-31.735	-4.40	R
309	89.000	97.450	4.288	-8.450	-1.40	X
329	67.000	94.017	1.468	-27.017	-3.72	R
335	99.000	99.783	4.288	-0.783	-0.13	X
344	99.000	88.500	5.242	10.500	2.00	RX
345	78.000	88.500	5.242	-10.500	-2.00	RX
346	84.000	99.578	2.087	-15.578	-2.19	R
352	111.000	101.304	4.469	9.696	1.64	X
356	80.000	95.537	2.142	-15.537	-2.19	R
362	114.000	96.517	2.389	17.483	2.49	R
363	117.000	102.434	4.311	14.566	2.41	RX
370	90.000	95.767	4.311	-5.767	-0.96	X
377	70.000	92.888	1.226	-22.888	-3.13	R
418	76.000	91.406	1.230	-15.406	-2.11	R
421	84.000	97.173	4.349	-13.173	-2.19	RX
428	76.000	91.406	1.230	-15.406	-2.11	R
443	104.000	98.434	4.311	5.566	0.92	X
463	108.000	96.100	4.311	11.900	1.97	X
466	97.000	94.767	4.311	2.233	0.37	X
478	89.000	94.825	5.256	-5.825	-1.11	X
491	70.000	94.620	1.494	-24.620	-3.39	R
497	109.000	101.111	3.898	7.889	1.25	X
498	98.000	100.609	3.818	-2.609	-0.41	X
499	101.000	103.670	3.907	-2.670	-0.42	X
500	98.000	100.609	3.818	-2.609	-0.41	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLKT

LEP	Mean	SE Mean
CT	100.59	2.2049
TT	95.09	0.5786

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

LEP	N	Mean	Grouping
CT	21	100.59	A
TT	479	95.09	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## 5. PIK3C3

### General Linear Model: ADG versus PIK3C3, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
PIK3C3	fixed	3	TT, CT, CC
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIK3C3	2	12956	13946	6973	1.49	0.227

SEX	1	20491	9810	9810	2.09	0.149
PIK3C3*SEX	2	10036	8724	4362	0.93	0.396
MaBo	31	232725	232725	7507	1.60	0.023
Error	463	2173455	2173455	4694		
Total	499	2449663				

S = 68.5149    R-Sq = 11.28%    R-Sq(adj) = 4.38%

Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
9	734.00	785.12	39.92	-51.12	-0.92	X
17	638.00	779.38	18.99	-141.38	-2.15	R
23	675.00	829.34	11.69	-154.34	-2.29	R
77	987.00	853.15	15.50	133.85	2.01	R
85	986.00	835.64	14.29	150.36	2.24	R
100	842.00	822.46	39.76	19.54	0.35	X
102	923.00	853.33	39.96	69.67	1.25	X
103	857.00	857.00	68.51	-0.00	*	X
118	705.00	854.42	14.04	-149.42	-2.23	R
122	797.00	822.46	39.76	-25.46	-0.46	X
135	725.00	838.53	39.98	-113.53	-2.04	RX
146	891.00	781.49	39.86	109.51	1.97	X
155	986.00	825.72	11.18	160.28	2.37	R
159	973.00	824.37	11.36	148.63	2.20	R
168	618.00	777.99	13.44	-159.99	-2.38	R
198	628.00	813.82	11.20	-185.82	-2.75	R
217	848.00	846.20	40.27	1.80	0.03	X
225	641.00	825.72	11.18	-184.72	-2.73	R
230	858.00	825.05	48.69	32.95	0.68	X
233	987.00	824.37	11.36	162.63	2.41	R
270	779.00	849.71	39.94	-70.71	-1.27	X
313	686.00	832.02	14.16	-146.02	-2.18	R
316	678.00	816.92	12.56	-138.92	-2.06	R
317	686.00	831.26	17.42	-145.26	-2.19	R
320	821.00	802.00	48.45	19.00	0.39	X
321	783.00	802.00	48.45	-19.00	-0.39	X
322	825.00	841.04	40.42	-16.04	-0.29	X
337	682.00	826.88	15.14	-144.88	-2.17	R
340	972.00	816.34	13.81	155.66	2.32	R
343	948.00	848.71	40.60	99.29	1.80	X
348	853.00	854.21	40.06	-1.21	-0.02	X
362	726.00	854.21	40.06	-128.21	-2.31	RX
399	1000.00	870.56	24.41	129.44	2.02	R
400	816.00	810.09	40.36	5.91	0.11	X
402	842.00	840.96	40.25	1.04	0.02	X
404	946.00	810.61	15.44	135.39	2.03	R
409	943.00	813.43	40.16	129.57	2.33	RX
414	698.00	756.39	40.03	-58.39	-1.05	X
437	942.00	800.62	12.73	141.38	2.10	R
462	980.00	799.27	13.08	180.73	2.69	R
463	985.00	788.72	12.97	196.28	2.92	R
468	767.00	799.95	48.69	-32.95	-0.68	X
486	750.00	851.09	41.10	-101.09	-1.84	X
491	986.00	856.58	41.52	129.42	2.37	RX

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for ADG

PIK3C3	Mean	SE Mean
CC	822.71	7.318
CT	812.72	6.444
TT	829.00	10.904



Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIK3C3	N	Mean	Grouping
TT	61	829.00	A
CC	180	822.71	A
CT	259	812.72	A

Means that do not share a letter are significantly different.

**General Linear Model: BF (mói) versus PIK3C3, SEX, MaBo**

Factor	Type	Levels	Values
PIK3C3	fixed	3	TT, CT, CC
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for BF (mói), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIK3C3	2	17.581	8.333	4.167	1.00	0.370
SEX	1	0.394	0.006	0.006	0.00	0.969
PIK3C3*SEX	2	0.984	1.206	0.603	0.14	0.866
MaBo	31	149.962	149.962	4.837	1.16	0.260
Error	463	1935.915	1935.915	4.181		
Total	499	2104.836				

S = 2.04481 R-Sq = 8.03% R-Sq(adj) = 0.87%

Unusual Observations for BF (mói)

Obs	BF (mói)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	16.5000	11.2999	0.3490	5.2001	2.58 R
9	12.5000	12.0399	1.1914	0.4601	0.28 X
11	7.2000	12.3389	0.4684	-5.1389	-2.58 R
14	7.4000	11.4544	0.3990	-4.0544	-2.02 R
25	16.2000	10.9924	0.3659	5.2076	2.59 R
87	7.6000	12.0289	0.4289	-4.4289	-2.22 R
100	12.4000	10.4667	1.1866	1.9333	1.16 X
102	12.5000	12.4034	1.1925	0.0966	0.06 X
103	14.0000	14.0000	2.0448	-0.0000	* X
122	9.9000	10.4667	1.1866	-0.5667	-0.34 X
132	6.9000	11.2999	0.3490	-4.3999	-2.18 R
133	17.3000	12.2909	0.4712	5.0091	2.52 R
135	7.2000	10.3468	1.1932	-3.1468	-1.89 X
146	10.2000	11.9299	1.1896	-1.7299	-1.04 X
148	16.2000	11.3007	0.6278	4.8993	2.52 R
217	14.6000	13.0365	1.2017	1.5635	0.95 X
230	12.5000	12.2499	1.4531	0.2501	0.17 X
270	11.9000	12.2935	1.1920	-0.3935	-0.24 X
320	11.8000	13.5500	1.4459	-1.7500	-1.21 X
321	15.3000	13.5500	1.4459	1.7500	1.21 X
322	11.6000	10.1062	1.2062	1.4938	0.90 X
343	12.5000	12.7959	1.2118	-0.2959	-0.18 X
348	15.0000	12.3761	1.1955	2.6239	1.58 X
362	11.9000	12.3761	1.1955	-0.4761	-0.29 X
400	9.2000	10.5665	1.2045	-1.3665	-0.83 X
402	12.8000	12.5032	1.2014	0.2968	0.18 X
409	12.1000	10.4470	1.1985	1.6530	1.00 X
414	13.3000	12.0302	1.1946	1.2698	0.77 X

451	7.9000	12.2812	0.4926	-4.3812	-2.21	R
458	7.5000	12.0192	0.4452	-4.5192	-2.26	R
468	12.1000	12.3501	1.4531	-0.2501	-0.17	X
486	11.3000	12.5677	1.2265	-1.2677	-0.77	X
491	10.0000	12.1479	1.2393	-2.1479	-1.32	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for BF (móí)

PIK3C3	Mean	SE Mean
CC	12.04	0.2184
CT	11.93	0.1923
TT	11.53	0.3254

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIK3C3	N	Mean	Grouping
CC	180	12.04	A
CT	259	11.93	A
TT	61	11.53	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLKT versus PIK3C3, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
PIK3C3	fixed	3	TT, CT, CC
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08, TW150152-08, TW161097-06

Analysis of Variance for KLKT, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIK3C3	2	112.32	147.30	73.65	1.33	0.267
SEX	1	80.77	107.41	107.41	1.93	0.165
PIK3C3*SEX	2	78.23	73.67	36.84	0.66	0.516
MaBo	31	3665.78	3665.78	118.25	2.13	0.000
Error	463	25723.44	25723.44	55.56		
Total	499	29660.53				

S = 7.45374    R-Sq = 13.27%    R-Sq(adj) = 6.53%

Unusual Observations for KLKT

Obs	KLKT	Fit	SE Fit	Residual	St Resid	
9	91.000	97.394	4.343	-6.394	-1.06	X
18	122.000	94.385	1.272	27.615	3.76	R
23	79.000	94.385	1.272	-15.385	-2.09	R
24	75.000	94.385	1.272	-19.385	-2.64	R
77	117.000	94.663	1.686	22.337	3.08	R
95	70.000	94.385	1.272	-24.385	-3.32	R
100	94.000	97.023	4.325	-3.023	-0.50	X
102	105.000	95.723	4.347	9.277	1.53	X
103	96.000	96.000	7.454	0.000	*	X
120	62.000	94.663	1.686	-32.663	-4.50	R
122	89.000	97.023	4.325	-8.023	-1.32	X

125	114.000	94.663	1.686	19.337	2.66	R
135	92.000	103.509	4.349	-11.509	-1.90	X
146	109.000	97.294	4.336	11.706	1.93	X
153	77.000	93.133	1.367	-16.133	-2.20	R
173	82.000	96.791	1.769	-14.791	-2.04	R
181	115.000	97.152	1.236	17.848	2.43	R
198	75.000	92.425	1.219	-17.425	-2.37	R
211	76.000	92.355	1.983	-16.355	-2.28	R
217	102.000	98.570	4.381	3.430	0.57	X
230	102.000	96.491	5.297	5.509	1.05	X
265	62.000	87.540	3.377	-25.540	-3.84	R
270	85.000	95.623	4.345	-10.623	-1.75	X
290	102.000	87.540	3.377	14.460	2.18	R
313	67.000	93.865	1.541	-26.865	-3.68	R
320	99.000	88.500	5.271	10.500	1.99	X
321	78.000	88.500	5.271	-10.500	-1.99	X
322	101.000	104.964	4.397	-3.964	-0.66	X
337	84.000	98.607	1.647	-14.607	-2.01	R
343	111.000	100.025	4.417	10.975	1.83	X
345	79.000	93.880	1.503	-14.880	-2.04	R
348	95.000	99.874	4.358	-4.874	-0.81	X
362	99.000	99.874	4.358	-0.874	-0.14	X
379	76.000	92.456	1.586	-16.456	-2.26	R
384	76.000	92.456	1.586	-16.456	-2.26	R
400	108.000	96.954	4.391	11.046	1.83	X
402	97.000	95.654	4.379	1.346	0.22	X
409	117.000	101.526	4.369	15.474	2.56	RX
414	90.000	95.312	4.355	-5.312	-0.88	X
417	70.000	92.303	1.385	-22.303	-3.05	R
437	109.000	92.303	1.385	16.697	2.28	R
468	89.000	94.509	5.297	-5.509	-1.05	X
478	70.000	94.018	1.591	-24.018	-3.30	R
486	84.000	98.404	4.471	-14.404	-2.42	RX
491	104.000	98.253	4.517	5.747	0.97	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

#### Least Squares Means for KLKT

PIK3C3	Mean	SE Mean
CC	95.71	0.7961
CT	94.65	0.7011
TT	96.29	1.1862

#### Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIK3C3	N	Mean	Grouping
TT	61	96.29	A
CC	180	95.71	A
CT	259	94.65	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLBD versus PIK3C3, SEX, MaBo

Factor	Type	Levels	Values
PIK3C3	fixed	3	CC, CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
MaBo	fixed	32	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501338-5, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502162-9, DB1502187-4, DB1502205-2, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, FR76DRC4071, TW140001-05, TW140002-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150122-10, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05,

Analysis of Variance for KLBD, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIK3C3	2	18.766	3.651	1.825	0.20	0.821
SEX	1	1.685	0.576	0.576	0.06	0.803
PIK3C3*SEX	2	16.622	11.970	5.985	0.65	0.524
MaBo	31	570.636	570.636	18.408	1.99	0.001
Error	463	4281.352	4281.352	9.247		
Total	499	4889.062				

S = 3.04088 R-Sq = 12.43% R-Sq(adj) = 5.62%

Unusual Observations for KLBD

Obs	KLBD	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	37.0000	30.1862	0.8429	6.8138	2.33 R
9	30.0000	32.3441	1.7718	-2.3441	-0.95 X
19	23.0000	30.5746	0.5191	-7.5746	-2.53 R
26	27.0000	33.6281	0.7362	-6.6281	-2.25 R
36	24.0000	31.8472	0.7980	-7.8472	-2.67 R
77	39.0000	32.4514	0.6880	6.5486	2.21 R
85	23.0000	30.5230	0.6342	-7.5230	-2.53 R
99	25.0000	30.9603	0.6378	-5.9603	-2.00 R
100	30.0000	33.5291	1.7646	-3.5291	-1.43 X
102	33.0000	32.5403	1.7733	0.4597	0.19 X
103	36.0000	36.0000	3.0409	-0.0000	* X
118	40.0000	31.4834	0.6233	8.5166	2.86 R
122	34.0000	33.5291	1.7646	0.4709	0.19 X
135	34.0000	33.8234	1.7744	0.1766	0.07 X
146	35.0000	32.3105	1.7691	2.6895	1.09 X
155	18.0000	30.5410	0.4962	-12.5410	-4.18 R
189	25.0000	31.1469	0.5042	-6.1469	-2.05 R
195	37.0000	30.5410	0.4962	6.4590	2.15 R
199	40.0000	31.4498	0.6052	8.5502	2.87 R
217	36.0000	34.2421	1.7871	1.7579	0.71 X
225	22.0000	30.5410	0.4962	-8.5410	-2.85 R
230	35.0000	33.9826	2.1610	1.0174	0.48 X
234	40.0000	32.4090	1.1644	7.5910	2.70 R
243	24.0000	31.4498	0.6052	-7.4498	-2.50 R
245	24.0000	31.4498	0.6052	-7.4498	-2.50 R
246	22.0000	31.4498	0.6052	-9.4498	-3.17 R
249	26.0000	32.4179	0.7116	-6.4179	-2.17 R
270	32.0000	32.5068	1.7726	-0.5068	-0.21 X
290	39.0000	32.3799	1.3777	6.6201	2.44 R
320	30.0000	29.5000	2.1502	0.5000	0.23 X
321	29.0000	29.5000	2.1502	-0.5000	-0.23 X
322	35.0000	34.3183	1.7938	0.6817	0.28 X
343	37.0000	34.7371	1.8020	2.2629	0.92 X
344	37.0000	31.0359	0.6555	5.9641	2.01 R
348	31.0000	33.2388	1.7779	-2.2388	-0.91 X
359	25.0000	31.6418	0.6721	-6.6418	-2.24 R
362	38.0000	33.2388	1.7779	4.7612	1.93 X
378	41.0000	32.8640	0.7759	8.1360	2.77 R
387	39.0000	32.8640	0.7759	6.1360	2.09 R
394	43.0000	34.0406	0.8414	8.9594	3.07 R
400	37.0000	33.9417	1.7912	3.0583	1.24 X
402	33.0000	32.9529	1.7866	0.0471	0.02 X
409	33.0000	33.8583	1.7823	-0.8583	-0.35 X
414	32.0000	32.3454	1.7766	-0.3454	-0.14 X
437	43.0000	30.5759	0.5652	12.4241	4.16 R
447	40.0000	34.0318	1.0773	5.9682	2.10 R
468	33.0000	34.0174	2.1610	-1.0174	-0.48 X
486	30.0000	34.0208	1.8239	-4.0208	-1.65 X
490	39.0000	31.5923	1.0223	7.4077	2.59 R
491	30.0000	32.5225	1.8430	-2.5225	-1.04 X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
 X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLBD

PIK3C3	Mean	SE Mean
CC	32.37	0.3248
CT	32.14	0.2860
TT	32.26	0.4839

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIK3C3	N	Mean	Grouping
CC	180	32.37	A
TT	61	32.26	A
CT	259	32.14	A

Means that do not share a letter are significantly different.

## MỐI LIÊN KẾT ĐA HÌNH GEN VỚI TRẠNG SINH TRƯỜNG F2

### 1. MC4R

#### General Linear Model: ADG versus MCR4, SEX, Mã bố

Factor	Type	Levels	Values
MCR4	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
Mã bố	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
MCR4	2	64790	55612	27806	5.64	0.004
SEX	1	8033	18392	18392	3.73	0.055
MCR4*SEX	2	20541	13637	6818	1.38	0.254
Mã bố	17	109465	109465	6439	1.31	0.194
Error	165	813136	813136	4928		
Total	187	1015966				

S = 70.2004 R-Sq = 19.96% R-Sq(adj) = 9.29%

Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
35	923.00	785.89	16.51	137.11	2.01 R
40	683.00	828.53	28.75	-145.53	-2.27 R
49	780.00	777.81	50.42	2.19	0.04 X
82	665.00	814.95	13.87	-149.95	-2.18 R
87	678.00	841.21	23.27	-163.21	-2.46 R
105	632.00	776.71	17.17	-144.71	-2.13 R
110	960.00	776.71	17.17	183.29	2.69 R
121	921.00	803.38	41.82	117.62	2.09 R
131	635.00	774.77	19.95	-139.77	-2.08 R
141	725.00	868.77	28.53	-143.77	-2.24 R
151	792.00	794.19	50.42	-2.19	-0.04 X
177	950.00	815.37	22.69	134.63	2.03 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
 X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for ADG

MCR4	Mean	SE Mean
AA	860.31	15.917
AG	814.89	9.731
GG	797.72	10.962

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

MCR4	N	Mean	Grouping
AA	32	860.31	A
AG	91	814.89	B
GG	65	797.72	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: BF versus MCR4, SEX, Mã bó

Factor	Type	Levels	Values
MCR4	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
Mã bó	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for BF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
MCR4	2	240.365	126.606	63.303	9.11	0.000
SEX	1	0.174	1.004	1.004	0.14	0.704
MCR4*SEX	2	14.995	15.857	7.929	1.14	0.322
Mã bó	17	57.029	57.029	3.355	0.48	0.958
Error	165	1146.104	1146.104	6.946		
Total	187	1458.667				

S = 2.63554 R-Sq = 21.43% R-Sq(adj) = 10.95%

Unusual Observations for BF

Obs	BF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
49	14.3000	13.3615	1.8931	0.9385	0.51 X
124	14.6000	9.2361	0.7491	5.3639	2.12 R
151	11.7000	12.6385	1.8931	-0.9385	-0.51 X
183	15.3000	9.8344	0.8192	5.4656	2.18 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for BF

MCR4	Mean	SE Mean
AA	12.85	0.5976
AG	11.48	0.3653
GG	10.04	0.4115

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

MCR4	N	Mean	Grouping
AA	32	12.85	A
AG	91	11.48	A
GG	65	10.04	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## General Linear Model: KLBD versus MCR4, SEX, Mã bó

Factor	Type	Levels	Values
MCR4	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
Mã bó	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for KLBD, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
MCR4	2	28.432	44.820	22.410	4.22	0.016
SEX	1	2.671	8.749	8.749	1.65	0.201
MCR4*SEX	2	18.918	10.757	5.379	1.01	0.366
Mã bó	17	133.361	133.361	7.845	1.48	0.109
Error	165	876.720	876.720	5.313		
Total	187	1060.101				

S = 2.30509 R-Sq = 17.30% R-Sq(adj) = 6.27%

Unusual Observations for KLBD

Obs	KLBD	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
28	34.0000	29.3374	0.5420	4.6626	2.08 R
46	26.0000	30.5928	0.4553	-4.5928	-2.03 R
49	29.0000	29.9437	1.6557	-0.9437	-0.59 X
54	23.0000	30.6326	0.7348	-7.6326	-3.49 R
102	26.0000	30.5862	0.6900	-4.5862	-2.09 R
115	35.0000	30.1124	0.5046	4.8876	2.17 R
147	26.0000	30.7054	0.5773	-4.7054	-2.11 R
151	31.0000	30.0563	1.6557	0.9437	0.59 X
155	18.0000	27.0708	1.0087	-9.0708	-4.38 R
162	35.0000	30.2861	0.8465	4.7139	2.20 R
171	24.0000	28.8317	0.6258	-4.8317	-2.18 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLBD

MCR4	Mean	SE Mean
AA	31.23	0.5227
AG	30.00	0.3195
GG	29.45	0.3599

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

MCR4	N	Mean	Grouping
AA	32	31.23	A
AG	91	30.00	A B
GG	65	29.45	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## General Linear Model: KLKT versus MCR4, SEX, Mã bó

Factor	Type	Levels	Values
MCR4	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
Mã bó	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for KLKT, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
MCR4	2	1390.76	1232.63	616.31	8.91	0.000
SEX	1	18.09	0.86	0.86	0.01	0.912
MCR4*SEX	2	130.04	103.33	51.66	0.75	0.476
Mã bó	17	1413.14	1413.14	83.13	1.20	0.269
Error	165	11418.59	11418.59	69.20		
Total	187	14370.62				

S = 8.31887 R-Sq = 20.54% R-Sq(adj) = 9.95%

Unusual Observations for KLKT

Obs	KLKT	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
49	107.000	103.326	5.975	3.674	0.63 X
82	77.000	95.528	1.643	-18.528	-2.27 R
88	81.000	98.693	3.211	-17.693	-2.31 R
151	100.000	103.674	5.975	-3.674	-0.63 X
160	109.000	92.989	2.969	16.011	2.06 R
166	110.000	87.982	2.689	22.018	2.80 R
182	117.000	89.384	2.259	27.616	3.45 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLKT

MCR4	Mean	SE Mean
AA	101.76	1.886
AG	94.54	1.153
GG	92.47	1.299

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

MCR4	N	Mean	Grouping
AA	32	101.76	A
AG	91	94.54	B
GG	65	92.47	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## 2. PIT1

### General Linear Model: ADG versus PIT1, SEX, Mã bó

Factor	Type	Levels	Values
PIT1	fixed	3	AA, AB, BB
SEX	fixed	2	C, D
Mã bó	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIT1	2	100916	78207	39103	8.71	0.000
SEX	1	3169	9194	9194	2.05	0.154
PIT1*SEX	2	25481	22895	11448	2.55	0.081
Mã bó	17	145957	145957	8586	1.91	0.020
Error	165	740442	740442	4488		
Total	187	1015966				

S = 66.9890 R-Sq = 27.12% R-Sq(adj) = 17.40%



Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	960.00	818.93	17.36	141.07	2.18 R
12	723.00	851.58	29.28	-128.58	-2.13 R
16	921.00	811.09	39.81	109.91	2.04 R
18	780.00	774.26	48.32	5.74	0.12 X
29	705.00	838.34	14.27	-133.34	-2.04 R
108	900.00	769.47	20.79	130.53	2.05 R
110	683.00	813.23	27.14	-130.23	-2.13 R
147	792.00	797.74	48.32	-5.74	-0.12 X
164	985.00	854.63	28.74	130.37	2.15 R
176	655.00	790.07	22.86	-135.07	-2.15 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
 X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for ADG

PIT1	Mean	SE Mean
AA	844.7	10.255
AB	811.6	9.816
BB	782.9	12.163

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIT1	N	Mean	Grouping
AA	61	844.70	A
AB	78	811.62	B
BB	49	782.93	B

Means that do not share a letter are significantly different.

**General Linear Model: BF versus PIT1, SEX, Mã bố**

Factor	Type	Levels	Values
PIT1	fixed	3	AA, AB, BB
SEX	fixed	2	C, D
Mã bố	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for BF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIT1	2	203.807	154.859	77.430	11.60	0.000
SEX	1	3.779	2.769	2.769	0.42	0.520
PIT1*SEX	2	6.462	7.704	3.852	0.58	0.563
Mã bố	17	143.690	143.690	8.452	1.27	0.220
Error	165	1100.928	1100.928	6.672		
Total	187	1458.667				

S = 2.58308 R-Sq = 24.53% R-Sq(adj) = 14.46%

Unusual Observations for BF

Obs	BF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	6.8000	12.4490	0.6695	-5.6490	-2.26 R
18	14.3000	13.4539	1.8632	0.8461	0.47 X
46	7.2000	11.9835	1.0835	-4.7835	-2.04 R
60	16.4000	11.6151	1.0951	4.7849	2.05 R
75	6.8000	11.1808	1.5407	-4.3808	-2.11 R
147	11.7000	12.5461	1.8632	-0.8461	-0.47 X

171	6.8000	12.1366	0.9025	-5.3366	-2.20	R
174	16.2000	11.1119	0.6875	5.0881	2.04	R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for BF

PIT1	Mean	SE Mean
AA	12.378	0.3954
AB	11.434	0.3785
BB	9.622	0.4690

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIT1	N	Mean	Grouping
AA	61	12.378	A
AB	78	11.434	A
BB	49	9.622	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLBD versus PIT1, SEX, Mã bõ

Factor	Type	Levels	Values
PIT1	fixed	3	AA, AB, BB
SEX	fixed	2	C, D
Mã bõ	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for KLBD, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIT1	2	6.220	3.208	1.604	0.29	0.749
SEX	1	1.151	2.473	2.473	0.45	0.505
PIT1*SEX	2	11.492	4.817	2.409	0.43	0.648
Mã bõ	17	126.650	126.650	7.450	1.34	0.172
Error	165	914.588	914.588	5.543		
Total	187	1060.101				

S = 2.35435    R-Sq = 13.73%    R-Sq(adj) = 2.22%

Unusual Observations for KLBD

Obs	KLBD	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
17	26.0000	30.6313	0.5014	-4.6313	-2.01 R
18	29.0000	29.7966	1.6982	-0.7966	-0.49 X
47	26.0000	30.8502	0.6717	-4.8502	-2.15 R
74	23.0000	30.3911	0.7554	-7.3911	-3.31 R
108	35.0000	30.4916	0.7308	4.5084	2.01 R
136	25.0000	29.8591	0.7236	-4.8591	-2.17 R
141	26.0000	31.0380	0.6282	-5.0380	-2.22 R
147	31.0000	30.2034	1.6982	0.7966	0.49 X
148	36.0000	31.0380	0.6282	4.9620	2.19 R
167	18.0000	26.7651	1.0712	-8.7651	-4.18 R
174	34.0000	29.2025	0.6267	4.7975	2.11 R
176	24.0000	29.6868	0.8035	-5.6868	-2.57 R
187	35.0000	30.3261	0.9389	4.6739	2.16 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLBD

PIT1	Mean	SE Mean
AA	30.23	0.3604
AB	29.89	0.3450
BB	29.95	0.4275

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIT1	N	Mean	Grouping
AA	61	30.23	A
BB	49	29.95	A
AB	78	29.89	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLKT versus PIT1, SEX, Mã bố

Factor	Type	Levels	Values
PIT1	fixed	3	AA, AB, BB
SEX	fixed	2	C, D
Mã bố	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for KLKT, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PIT1	2	2306.28	1593.63	796.81	12.46	0.000
SEX	1	83.22	38.06	38.06	0.60	0.442
PIT1*SEX	2	99.24	101.22	50.61	0.79	0.455
Mã bố	17	1328.74	1328.74	78.16	1.22	0.252
Error	165	10553.14	10553.14	63.96		
Total	187	14370.62				

S = 7.99740 R-Sq = 26.56% R-Sq(adj) = 16.77%

Unusual Observations for KLKT

Obs	KLKT	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
4	82.000	99.452	1.703	-17.452	-2.23 R
13	79.000	94.318	2.408	-15.318	-2.01 R
18	107.000	103.834	5.769	3.166	0.57 X
47	76.000	92.716	2.282	-16.716	-2.18 R
52	80.000	96.021	1.882	-16.021	-2.06 R
66	75.000	94.944	3.137	-19.944	-2.71 R
94	81.000	98.783	3.232	-17.783	-2.43 R
132	105.000	84.973	2.804	20.027	2.67 R
134	110.000	93.498	2.756	16.502	2.20 R
147	100.000	103.166	5.769	-3.166	-0.57 X
149	117.000	96.803	2.458	20.197	2.65 R
171	109.000	93.806	2.794	15.194	2.03 R
179	105.000	89.163	2.828	15.837	2.12 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLKT

PIT1	Mean	SE Mean
AA	98.29	1.224
AB	95.55	1.172
BB	89.50	1.452

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PIT1	N	Mean	Grouping
------	---	------	----------

AA	61	98.29	A
AB	78	95.55	A
BB	49	89.50	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### 3 GH

#### General Linear Model: ADG versus GH, SEX, Mã bố

Factor	Type	Levels	Values
GH	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
Mã bố	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
GH	2	53113	76496	38248	7.96	0.001
SEX	1	1634	4468	4468	0.93	0.336
GH*SEX	2	17013	15166	7583	1.58	0.209
Mã bố	17	151465	151465	8910	1.85	0.025
Error	165	792742	792742	4804		
Total	187	1015966				

S = 69.3145 R-Sq = 21.97% R-Sq(adj) = 11.57%

Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
43	665.00	833.00	14.44	-168.00	-2.48 R
83	632.00	775.87	15.98	-143.87	-2.13 R
99	923.00	775.87	15.98	147.13	2.18 R
105	683.00	843.83	27.14	-160.83	-2.52 R
114	780.00	794.32	49.89	-14.32	-0.30 X
137	678.00	823.54	23.40	-145.54	-2.23 R
151	792.00	777.68	49.89	14.32	0.30 X
162	960.00	802.43	19.70	157.57	2.37 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for ADG

GH	Mean	SE Mean
AA	835.74	10.15
AG	788.50	10.10
GG	839.93	15.16

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

GH	N	Mean	Grouping
GG	30	839.93	A
AA	76	835.74	A
AG	82	788.50	B

Means that do not share a letter are significantly different.

#### General Linear Model: BF versus GH, SEX, Mã bố

Factor	Type	Levels	Values
--------	------	--------	--------

GH	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
Mã bõ	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for BF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
GH	2	110.791	73.834	36.917	5.14	0.007
SEX	1	3.800	0.104	0.104	0.01	0.904
GH*SEX	2	21.903	24.286	12.143	1.69	0.188
Mã bõ	17	136.759	136.759	8.045	1.12	0.339
Error	165	1185.413	1185.413	7.184		
Total	187	1458.667				

S = 2.68036 R-Sq = 18.73% R-Sq(adj) = 7.90%

Unusual Observations for BF

Obs	BF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	7.2000	12.5884	1.1267	-5.3884	-2.22 R
44	7.5000	12.8844	0.5584	-5.3844	-2.05 R
91	17.1000	11.2985	0.5297	5.8015	2.21 R
96	16.4000	10.9858	1.1351	5.4142	2.23 R
114	14.3000	12.7253	1.9291	1.5747	0.85 X
151	11.7000	13.2747	1.9291	-1.5747	-0.85 X
155	15.3000	10.2262	0.9090	5.0738	2.01 R
176	15.4000	10.5023	1.6200	4.8977	2.29 R
188	16.2000	9.8925	1.0227	6.3075	2.55 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for BF

GH	Mean	SE Mean
AA	12.099	0.3926
AG	11.349	0.3905
GG	9.975	0.5863

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

GH	N	Mean	Grouping
AA	76	12.099	A
AG	82	11.349	A B
GG	30	9.975	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KL BÐ versus GH, SEX, Mã bõ

Factor	Type	Levels	Values
GH	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
Mã bõ	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for KL BÐ, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
GH	2	10.186	25.623	12.812	2.36	0.097
SEX	1	0.627	0.575	0.575	0.11	0.745
GH*SEX	2	11.436	11.349	5.674	1.05	0.353
Mã bó	17	143.149	143.149	8.421	1.55	0.083
Error	165	894.702	894.702	5.422		
Total	187	1060.101				

S = 2.32861 R-Sq = 15.60% R-Sq(adj) = 4.35%

Unusual Observations for KL BD

Obs	KL BD	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	26.0000	30.9032	0.6761	-4.9032	-2.20 R
17	26.0000	30.7033	0.4851	-4.7033	-2.07 R
53	25.0000	30.0239	0.6347	-5.0239	-2.24 R
67	18.0000	27.4413	1.0135	-9.4413	-4.50 R
70	36.0000	31.2921	0.5569	4.7079	2.08 R
89	34.0000	29.1426	0.5370	4.8574	2.14 R
92	35.0000	30.4108	0.4602	4.5892	2.01 R
94	31.0000	26.5600	1.0124	4.4400	2.12 R
114	29.0000	30.2923	1.6759	-1.2923	-0.80 X
141	24.0000	28.5580	0.6820	-4.5580	-2.05 R
151	31.0000	29.7077	1.6759	1.2923	0.80 X
169	23.0000	30.3214	0.8613	-7.3214	-3.38 R
187	35.0000	30.6913	1.0472	4.3087	2.07 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KL BD

GH	Mean	SE Mean
AA	30.37	0.3411
AG	29.49	0.3392
GG	30.40	0.5093

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

GH	N	Mean	Grouping
GG	30	30.40	A
AA	76	30.37	A
AG	82	29.49	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KL KT versus GH, SEX, Mã bó

Factor	Type	Levels	Values
GH	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
Mã bó	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for KL KT, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
GH	2	1618.10	1489.79	744.90	11.23	0.000
SEX	1	33.20	13.05	13.05	0.20	0.658
GH*SEX	2	267.76	291.61	145.80	2.20	0.114
Mã bó	17	1504.42	1504.42	88.50	1.33	0.177

Error 165 10947.14 10947.14 66.35  
 Total 187 14370.62

S = 8.14532 R-Sq = 23.82% R-Sq(adj) = 13.67%

Unusual Observations for KL KT

Obs	KL KT	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
18	80.000	96.088	1.697	-16.088	-2.02 R
27	115.000	96.088	1.697	18.912	2.37 R
43	77.000	96.088	1.697	-19.088	-2.40 R
114	107.000	102.305	5.862	4.695	0.83 X
140	110.000	92.300	2.899	17.700	2.33 R
142	78.000	93.614	2.386	-15.614	-2.00 R
151	100.000	104.695	5.862	-4.695	-0.83 X
153	117.000	93.614	2.386	23.386	3.00 R
161	79.000	98.093	2.801	-19.093	-2.50 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
 X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KL KT

GH	Mean	SE Mean
AA	92.31	1.193
AG	95.24	1.187
GG	101.90	1.782

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

GH	N	Mean	Grouping
GG	30	101.90	A
AG	82	95.24	B
AA	76	92.31	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### 3. LEP

#### General Linear Model: ADG versus LEP, SEX, Mã bố

Factor	Type	Levels	Values
LEP	fixed	2	CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
Mã bố	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
LEP	1	47443	45278	45278	9.35	0.003
SEX	1	3617	269	269	0.06	0.814
LEP*SEX	1	115	3815	3815	0.79	0.376
Mã bố	17	155781	155781	9164	1.89	0.022
Error	167	809009	809009	4844		
Total	187	1015966				

S = 69.6015 R-Sq = 20.37% R-Sq(adj) = 10.83%

Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
13	632.00	783.16	14.83	-151.16	-2.22 R

30	934.00	783.16	14.83	150.84	2.22	R
41	923.00	783.16	14.83	139.84	2.06	R
51	683.00	853.32	26.53	-170.32	-2.65	R
68	654.00	720.57	41.40	-66.57	-1.19	X
78	741.00	758.17	43.55	-17.17	-0.32	X
96	820.00	720.57	41.40	99.43	1.78	X
111	665.00	811.32	12.38	-146.32	-2.14	R
113	635.00	770.10	18.82	-135.10	-2.02	R
118	678.00	829.61	22.57	-151.61	-2.30	R
129	786.00	818.85	44.84	-32.85	-0.62	X
130	921.00	856.45	46.14	64.55	1.24	X
131	780.00	827.20	51.53	-47.20	-1.01	X
140	655.00	799.04	15.64	-144.04	-2.12	R
155	980.00	844.92	29.52	135.08	2.14	R
160	792.00	744.80	51.53	47.20	1.01	X
167	980.00	827.21	13.81	152.79	2.24	R
187	1000.00	960.01	42.64	39.99	0.73	X
188	782.00	829.39	48.14	-47.39	-0.94	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for ADG

LEP	Mean	SE Mean
CT	884.23	23.420
TT	807.44	7.753

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

LEP	N	Mean	Grouping
CT	11	884.23	A
TT	177	807.44	B

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: BF versus LEP, SEX, Mã bố

Factor	Type	Levels	Values
LEP	fixed	2	CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
Mã bố	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for BF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
LEP	1	0.007	0.059	0.059	0.01	0.931
SEX	1	1.923	0.392	0.392	0.05	0.824
LEP*SEX	1	0.357	1.432	1.432	0.18	0.670
Mã bố	17	140.052	140.052	8.238	1.05	0.413
Error	167	1316.328	1316.328	7.882		
Total	187	1458.667				

S = 2.80753 R-Sq = 9.76% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for BF

Obs	BF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
68	8.1000	11.4761	1.6698	-3.3761	-1.50 X
78	8.8000	10.0090	1.7568	-1.2090	-0.55 X
96	15.4000	11.4761	1.6698	3.9239	1.74 X



129	10.6000	11.1479	1.8087	-0.5479	-0.26	X
130	8.2000	9.6808	1.8613	-1.4808	-0.70	X
131	14.3000	12.9372	2.0786	1.3628	0.72	X
160	11.7000	13.0628	2.0786	-1.3628	-0.72	X
173	15.3000	9.8116	0.7854	5.4884	2.04	R
183	16.2000	10.6435	0.6310	5.5565	2.03	R
187	15.6000	13.8511	1.7198	1.7489	0.79	X
188	13.0000	10.3103	1.9419	2.6897	1.33	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for BF

LEP	Mean	SE Mean
CT	11.40	0.9447
TT	11.31	0.3127

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

LEP	N	Mean	Grouping
CT	11	11.40	A
TT	177	11.31	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLBG versus LEP, SEX, Mã bố

Factor	Type	Levels	Values
LEP	fixed	2	CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
Mã bố	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for KLBG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
LEP	1	10.124	5.603	5.603	1.02	0.314
SEX	1	1.062	1.475	1.475	0.27	0.605
LEP*SEX	1	2.796	0.529	0.529	0.10	0.757
Mã bố	17	129.688	129.688	7.629	1.39	0.147
Error	167	916.431	916.431	5.488		
Total	187	1060.101				

S = 2.34257 R-Sq = 13.55% R-Sq(adj) = 3.20%

Unusual Observations for KLBG

Obs	KLBG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
10	26.0000	30.7435	0.6359	-4.7435	-2.10 R
23	34.0000	29.2715	0.4991	4.7285	2.07 R
68	29.0000	30.1328	1.3933	-1.1328	-0.60 X
69	23.0000	30.3197	0.7149	-7.3197	-3.28 R
78	29.0000	29.7101	1.4659	-0.7101	-0.39 X
96	32.0000	30.1328	1.3933	1.8672	0.99 X
129	30.0000	30.7343	1.5091	-0.7343	-0.41 X
130	32.0000	30.3115	1.5531	1.6885	0.96 X
131	29.0000	30.2202	1.7344	-1.2202	-0.77 X
140	24.0000	29.4326	0.5265	-5.4326	-2.38 R
152	26.0000	30.6936	0.4648	-4.6936	-2.04 R
160	31.0000	29.7798	1.7344	1.2202	0.77 X
164	18.0000	27.1074	0.9936	-9.1074	-4.29 R
167	36.0000	30.6936	0.4648	5.3064	2.31 R

177	35.0000	30.1526	0.7943	4.8474	2.20	R
183	34.0000	29.4326	0.5265	4.5674	2.00	R
187	32.0000	32.5570	1.4350	-0.5570	-0.30	X
188	30.0000	30.9784	1.6203	-0.9784	-0.58	X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLBG

LEP	Mean	SE Mean
CT	30.78	0.7882
TT	29.93	0.2609

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

LEP	N	Mean	Grouping
CT	11	30.78	A
TT	177	29.93	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: KLKT versus LEP, SEX, Mã bó

Factor	Type	Levels	Values
LEP	fixed	2	CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
Mã bó	fixed	18	CA140D5024B, CA140D5025B, CA140D5059B, LV75DBT0027, TW140001-05, TW140002-05, TW140003-02, TW140004-05, TW140005-01, TW140006-03, TW140008-01, TW140012-05, TW140012-06, TW140037-01, TW140316-01, TW140319-02, TW140335-03, TW140336-01

Analysis of Variance for KLKT, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
LEP	1	881.43	576.77	576.77	7.92	0.005
SEX	1	70.95	27.31	27.31	0.38	0.541
LEP*SEX	1	35.56	5.03	5.03	0.07	0.793
Mã bó	17	1226.03	1226.03	72.12	0.99	0.471
Error	167	12156.66	12156.66	72.79		
Total	187	14370.62				

S = 8.53196    R-Sq = 15.41%    R-Sq(adj) = 5.28%

Unusual Observations for KLKT

Obs	KLKT	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
49	75.000	92.572	3.252	-17.572	-2.23 R
68	98.000	99.517	5.075	-1.517	-0.22 X
78	101.000	91.888	5.339	9.112	1.37 X
84	115.000	96.112	1.518	18.888	2.25 R
96	102.000	99.517	5.075	2.483	0.36 X
111	77.000	96.112	1.518	-19.112	-2.28 R
119	81.000	98.715	3.232	-17.715	-2.24 R
129	108.000	108.965	5.497	-0.965	-0.15 X
130	97.000	101.336	5.657	-4.336	-0.68 X
131	107.000	108.725	6.317	-1.725	-0.30 X
135	110.000	89.435	2.618	20.565	2.53 R
160	100.000	98.275	6.317	1.725	0.30 X
169	117.000	92.301	1.918	24.699	2.97 R
187	102.000	103.739	5.227	-1.739	-0.26 X
188	94.000	98.775	5.901	-4.775	-0.77 X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for KLKT

LEP	Mean	SE Mean
CT	102.72	2.8709
TT	94.05	0.9504

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

LEP	N	Mean	Grouping
CT	11	102.72	A
TT	177	94.05	B

Means that do not share a letter are significantly different.

## MỐI LIÊN KẾT ĐA HÌNH GEN VỚI TÍNH TRẠNG MỠ GIẤT

### General Linear Model: IMF versus ADRB3, SEX, MÃ BỐ

Factor	Type	Levels	Values
ADRB3	fixed	3	AA, AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MÃ BỐ	fixed	23	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, TW140001-05, TW140002-05, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08

Analysis of Variance for IMF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
ADRB3	2	0.7053	0.7613	0.3806	1.80	0.169
SEX	1	0.3898	0.3331	0.3331	1.57	0.212
ADRB3*SEX	2	0.0465	0.0380	0.0190	0.09	0.914
MÃ BỐ	22	3.6567	3.6567	0.1662	0.78	0.741
Error	172	36.4305	36.4305	0.2118		
Total	199	41.2288				

S = 0.460223 R-Sq = 11.64% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for IMF

Obs	IMF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	1.70000	2.59389	0.18815	-0.89389	-2.13 R
13	2.00000	2.41758	0.31418	-0.41758	-1.24 X
29	4.80000	2.89795	0.11539	1.90205	4.27 R
31	1.80000	2.69164	0.12867	-0.89164	-2.02 R
35	3.80000	2.76756	0.13561	1.03244	2.35 R
39	1.80000	2.71219	0.14466	-0.91219	-2.09 R
43	4.40000	2.84505	0.11765	1.55495	3.49 R
74	2.60000	2.60000	0.46022	-0.00000	* X
89	2.50000	3.24823	0.26845	-0.74823	-2.00 R
95	1.60000	2.47158	0.17102	-0.87158	-2.04 R
109	1.70000	2.75222	0.12089	-1.05222	-2.37 R
111	3.60000	2.77852	0.23385	0.82148	2.07 R
147	3.80000	2.86781	0.15534	0.93219	2.15 R
182	3.70000	2.71906	0.13149	0.98094	2.22 R
186	1.80000	2.73005	0.16475	-0.93005	-2.16 R
200	3.10000	3.10000	0.46022	0.00000	* X

R denotes an observation with a large standardized residual.

X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for IMF

ADRB3	Mean	SE Mean
AA	2.589	0.16119
AG	2.820	0.05426
GG	2.897	0.06788

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

ADRB3	N	Mean	Grouping
GG	60	2.897	A
AG	125	2.820	A
AA	15	2.589	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: IMF versus PLIN2, SEX, MÃ BÓ

Factor	Type	Levels	Values
PLIN2	fixed	2	AG, GG
SEX	fixed	2	C, D
MÃ BÓ	fixed	23	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, TW140001-05, TW140002-05, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08

Analysis of Variance for IMF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
PLIN2	1	0.1461	0.3253	0.3253	1.53	0.218
SEX	1	0.2436	0.0431	0.0431	0.20	0.653
PLIN2*SEX	1	0.0355	0.0097	0.0097	0.05	0.831
MÃ BÓ	22	3.7916	3.7916	0.1723	0.81	0.710
Error	174	37.0119	37.0119	0.2127		
Total	199	41.2287				

S = 0.461207 R-Sq = 10.23% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for IMF

Obs	IMF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
7	3.60000	3.16241	0.29630	0.43759	1.24 X
13	3.10000	3.10000	0.46121	-0.00000	* X
21	1.70000	2.77481	0.13328	-1.07481	-2.43 R
32	4.80000	2.88895	0.10836	1.91105	4.26 R
36	1.80000	2.70574	0.12270	-0.90574	-2.04 R
40	3.80000	2.77481	0.13328	1.02519	2.32 R
44	3.80000	2.77481	0.13328	1.02519	2.32 R
46	1.80000	2.73155	0.14202	-0.93155	-2.12 R
53	4.40000	2.87029	0.11123	1.52971	3.42 R
103	2.60000	2.60000	0.46121	-0.00000	* X
129	2.50000	3.31880	0.27409	-0.81880	-2.21 R
139	3.70000	2.66757	0.11245	1.03243	2.31 R
142	1.60000	2.54107	0.16873	-0.94107	-2.19 R
153	1.80000	2.67713	0.14939	-0.87713	-2.01 R
161	1.70000	2.77261	0.11396	-1.07261	-2.40 R
165	3.60000	2.80116	0.23355	0.79884	2.01 R

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for IMF

PLIN2	Mean	SE Mean
AG	2.659	0.14429
GG	2.847	0.05022

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

PLIN2	N	Mean	Grouping
GG	187	2.847	A
AG	13	2.659	A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: IMF versus ACSL4, SEX, MÃ BÓ

Factor	Type	Levels	Values
ACSL4	fixed	2	AA, AG
SEX	fixed	2	C, D
MÃ BÓ	fixed	23	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, TW140001-05, TW140002-05, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08

Analysis of Variance for IMF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
ACSL4	1	0.7619	0.5928	0.5928	2.81	0.096
SEX	1	0.2827	0.3228	0.3228	1.53	0.218
ACSL4*SEX	1	0.0909	0.0629	0.0629	0.30	0.586
MÃ BÓ	22	3.3645	3.3645	0.1529	0.72	0.810
Error	174	36.7288	36.7288	0.2111		
Total	199	41.2287				

S = 0.459440 R-Sq = 10.91% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for IMF

Obs	IMF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	2.00000	2.90373	0.10856	-0.90373	-2.02 R
6	1.90000	2.82181	0.13660	-0.92181	-2.10 R
8	1.70000	2.82181	0.13660	-1.12181	-2.56 R
19	4.80000	2.90373	0.10856	1.89627	4.25 R
23	1.80000	2.72843	0.12319	-0.92843	-2.10 R
28	3.80000	2.82181	0.13660	0.97819	2.23 R
29	1.90000	2.82181	0.13660	-0.92181	-2.10 R
30	3.80000	2.82181	0.13660	0.97819	2.23 R
37	4.40000	2.85498	0.11125	1.54502	3.47 R
87	2.60000	2.60000	0.45944	-0.00000	* X
113	2.50000	3.26667	0.26526	-0.76667	-2.04 R
123	3.70000	2.67338	0.11216	1.02662	2.30 R
126	1.60000	2.53975	0.16717	-0.93975	-2.20 R
144	1.70000	2.77225	0.11258	-1.07225	-2.41 R
183	3.10000	3.10000	0.45944	-0.00000	* X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for IMF

ACSL4	Mean	SE Mean
AA	2.842	0.04702
AG	2.627	0.12891

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

ACSL4	N	Mean	Grouping
-------	---	------	----------

AA 183 2.842 A  
 AG 17 2.627 A

Means that do not share a letter are significantly different.

### General Linear Model: IMF versus *FABP3 (HinfI)*, SEX, MÃ BÓ

Factor	Type	Levels	Values
FABP3 (HINFI)	fixed	2	CT, TT
SEX	fixed	2	C, D
MÃ BÓ	fixed	23	CA140D5059B, DB1500513-7, DB1500538-5, DB1501290-7, DB1501341-7, DB1501492-3, DB1502022-7, DB1502023-7, DB1502205-4, DB1502205-5, DB1502205-6, TW140001-05, TW140002-05, TW140006-03, TW140037-01, TW140316-01, TW140335-03, TW140336-01, TW150126-05, TW150128-04, TW150128-05, TW150140-06, TW150147-08

Analysis of Variance for IMF, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
FABP3 (HINFI)	1	0.4282	0.5897	0.5897	2.80	0.096
SEX	1	0.2373	0.2316	0.2316	1.10	0.296
H-FABP3*SEX	1	0.0609	0.0321	0.0321	0.15	0.697
MÃ BÓ	22	3.8184	3.8184	0.1736	0.82	0.694
Error	174	36.6840	36.6840	0.2108		
Total	199	41.2287				

S = 0.459159 R-Sq = 11.02% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for IMF

Obs	IMF	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
18	2.00000	2.91090	0.10818	-0.91090	-2.04 R
23	1.70000	2.77374	0.13269	-1.07374	-2.44 R
33	4.80000	2.91090	0.10818	1.88910	4.23 R
35	1.80000	2.70063	0.12228	-0.90063	-2.03 R
41	3.80000	2.77374	0.13269	1.02626	2.33 R
45	3.80000	2.77374	0.13269	1.02626	2.33 R
47	1.80000	2.71270	0.14110	-0.91270	-2.09 R
53	4.40000	2.88339	0.11730	1.51661	3.42 R
103	2.60000	2.60000	0.45916	-0.00000	* X
131	2.50000	3.26667	0.26510	-0.76667	-2.04 R
138	3.70000	2.67253	0.11208	1.02747	2.31 R
141	1.60000	2.52004	0.16660	-0.92004	-2.15 R
153	1.80000	2.68883	0.14927	-0.88883	-2.05 R
162	1.70000	2.79847	0.11465	-1.09847	-2.47 R
164	3.60000	2.80754	0.23261	0.79246	2.00 R
200	3.10000	3.10000	0.45916	-0.00000	* X

R denotes an observation with a large standardized residual.  
 X denotes an observation whose X value gives it large leverage.

Least Squares Means for IMF

FABP3 (HINFI)	Mean	SE Mean
CT	2.616	0.0468
TT	2.841	0.13609

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

FABP3 (HINFI)	N	Mean	Grouping
TT	185	2.841	A
CT	15	2.616	A

Means that do not share a letter are significantly different.