

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT

VIỆN CHĂN NUÔI



NGUYỄN VĂN BA

**MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DI TRUYỀN Ở MỨC ĐỘ PHÂN TỬ
CỦA 15 GIỐNG LỢN NỘI VIỆT NAM**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

HÀ NỘI, NĂM 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT

VIỆN CHĂN NUÔI



NGUYỄN VĂN BA

**MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DI TRUYỀN Ở MỨC ĐỘ PHÂN TỬ
CỦA 15 GIỐNG LỢN NỘI VIỆT NAM**

CHUYÊN NGÀNH: Di truyền và Chọn giống vật nuôi

MÃ SỐ: 9. 62. 01. 08

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Phạm Doãn Lân

2. TS. Nguyễn Văn Hậu

HÀ NỘI, NĂM 2021

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu khoa học do chính tôi thực hiện và một số kết quả cùng cộng tác với các đồng nghiệp khác. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án này là trung thực, một phần đã được công bố trên các tạp chí chuyên ngành với sự đồng ý và cho phép của các đồng tác giả. Phần còn lại chưa được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Mọi sự giúp đỡ trong quá trình thực hiện luận án này đã được cảm ơn và các thông tin trích dẫn trong luận án này đã được chỉ rõ nguồn gốc.

Nghiên cứu sinh

Nguyễn Văn Ba

LỜI CẢM ƠN

Trước tiên, tôi xin trân trọng cảm ơn TS. Phạm Doãn Lân và TS. Nguyễn Văn Hậu là hai thầy hướng dẫn khoa học đã luôn ở bên giúp đỡ, tận tình chỉ bảo, hướng dẫn tôi trong suốt quá trình thực hiện luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành tới tập thể Ban Giám đốc Viện Chăn nuôi, Phòng Khoa học, Đào tạo và Hợp tác quốc tế, các thầy cô đã giúp đỡ về mọi mặt, tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất cho tôi hoàn thành luận án.

Đồng thời, tôi xin chân thành cảm ơn Lãnh đạo Phòng Thí nghiệm trọng điểm Tế bào động vật - Viện Chăn nuôi đã luôn ủng hộ, động viên và tạo điều kiện giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn toàn thể gia đình, anh chị em đồng nghiệp, bạn bè đã tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi về mọi mặt, động viên khuyến khích tôi hoàn thành luận án này.

Nghiên cứu sinh

Nguyễn Văn Ba

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH SÁCH HÌNH	vii
DANH SÁCH BẢNG	ix
PHẦN MỞ ĐẦU	1
1. ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU.....	3
2.1. Mục tiêu tổng quát	3
2.2. Mục tiêu cụ thể	3
3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU	3
4. ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	4
5. Ý NGHĨA KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN.....	4
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	6
1.1. NGUỒN GỐC VÀ QUÁ TRÌNH HÌNH THÀNH CÁC GIỐNG LỢN NHÀ.....	6
1.1.1. Nguồn gốc.....	6
1.1.2. Quá trình thuần hóa hình thành các giống lợn nhà	7
1.2. ĐẶC ĐIỂM VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA MỘT SỐ GIỐNG LỢN NỘI VIỆT NAM	9
1.2.1. Giống lợn Móng Cái	10
1.2.2. Giống lợn Hạ Lang	12
1.2.3. Giống lợn Hương.....	13
1.2.4. Giống lợn Táp Ná	14
1.2.5. Giống lợn Lũng Pù.....	15
1.2.6. Giống lợn Hưng	16

1.2.7. Giống lợn Mường Khương.....	17
1.2.8. Giống lợn Lũng.....	18
1.2.9. Giống lợn Mèo.....	19
1.2.10. Giống lợn Cỏ	20
1.2.11. Giống lợn Sóc	21
1.2.12. Giống lợn Ba Xuyên.....	22
1.2.13. Giống lợn Bản.....	23
1.2.14. Giống lợn Vân Pa.....	24
1.2.15. Giống lợn Chư Prông	25
1.3. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC.....	30
1.3.1. Nghiên cứu trên thế giới.....	30
1.3.1.1. Nghiên cứu sử dụng các chỉ thị microsatellite để đánh giá đặc điểm di truyền ở một số giống lợn.....	30
1.3.1.2. Một số nghiên cứu về gen Cytochrome B ty thể.....	36
1.3.1.3. Một số nghiên cứu về gen MX trên lợn	39
1.3.2. Nghiên cứu về di truyền phân tử trên lợn nội Việt Nam.....	43
1.3.2.1. Một số nghiên cứu đa dạng di truyền bằng chỉ thị microsatellite	43
1.3.2.2. Những nghiên cứu đa dạng di truyền ty thể ở các giống lợn ở Việt Nam.....	44
1.3.2.3. Một số nghiên cứu các gen kháng bệnh	45
1.4. CÁC VẤN ĐỀ CÒN TỒN TẠI	46
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	48
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	48
2.2. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU	49
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	49
2.3.1. Phương pháp thu mẫu và bảo quản mẫu	49

2.3.2. Phương pháp tách chiết và xác định nồng độ ADN.....	49
2.3.3. Phương pháp nghiên cứu đa dạng di truyền, khoảng cách di truyền và cấu trúc di truyền bằng các chỉ thị microsatellite	51
2.3.4. Phương pháp nghiên cứu đa dạng di truyền gen <i>Cytochrome B</i> và mối quan hệ phát sinh loài.....	57
2.3.5. Phương pháp nghiên cứu đa hình di truyền locus gen <i>MX1</i> và <i>MX2</i>	59
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	61
3.1. NỒNG ĐỘ VÀ ĐỘ TINH SẠCH CỦA MẪU ADN.....	61
3.2 ĐA DẠNG DI TRUYỀN, CẤU TRÚC DI TRUYỀN CỦA 15 GIỐNG LỢN NỘI DỰA TRÊN 19 CHỈ THỊ MICROSATELLITE	62
3.2.1. Kết quả chuẩn hóa 4 tổ hợp phản ứng PCR đa môi (multiplex PCR)	62
3.2.2. Đa hình di truyền 19 chỉ thị microsatellite.....	64
3.2.3. Đa dạng di truyền của các giống lợn nghiên cứu	66
3.2.4. Khoảng cách di truyền	70
3.2.5. Cấu trúc di truyền.....	75
3.2.5.1. Kết quả phân tích PCA.....	75
3.2.5.2. Kết quả phân tích DAPC.....	77
3.3. ĐA DẠNG DI TRUYỀN GEN CYTOCHROME B Ở MUỖI LĂM GIỐNG LỢN NỘI.....	80
3.3.1. Kết quả phản ứng PCR.....	80
3.3.2. Kết quả giải trình tự gen <i>Cytochrome B</i>	80
3.3.3. Đa dạng nucleotide và đa hình trình tự gen <i>Cytochrome B</i> ở từng giống lợn nội Việt Nam.....	82
3.3.4. Mối quan hệ phát sinh giữa lợn Việt Nam với lợn nuôi, lợn rừng Châu Á và Châu Âu	89

3.4. ĐA HÌNH DI TRUYỀN GEN MX1 VÀ MX2 Ở MUỖI LẮM GIỐNG LỢN NỘI.....	92
3.4.1. Kết quả phản ứng nhân gen PCR	92
3.4.1.1. Gen MX1 intron 6	92
3.4.1.2. Gen MX1 promoter	93
3.4.1.3. Gen MX2.....	94
3.4.2. Đa hình di truyền gen <i>MX1</i> và <i>MX2</i>	94
3.4.2.1. Gen MX1 - intron 6.....	94
3.4.2.2. Gen MX1- promoter.....	98
3.4.2.3. Gen MX2.....	100
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	102
KẾT LUẬN	102
1. Đa dạng di truyền, cấu trúc di truyền của 15 giống lợn dựa trên các chỉ thị microsatellite.....	102
2. Đa dạng di truyền gen <i>Cytochrome b</i> ty thể.....	102
3. Đa hình di truyền gen <i>MX1</i> và <i>MX2</i>	103
ĐỀ NGHỊ.....	103
TÀI LIỆU THAM KHẢO	104
TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT	104
TÀI LIỆU TIẾNG ANH	106

DANH SÁCH HÌNH

Hình 1.1. Lịch sử hình thành giống lợn	6
Hình 1.2. Quan hệ di truyền giữa 11 giống lợn châu Âu dựa trên khoảng cách di truyền của từng cá thể	32
Hình 1.3. Cây quan hệ di truyền giữa 18 giống lợn bản địa Trung Quốc và 3 giống lợn ngoại.....	33
Hình 1.4. Cây quan hệ di truyền giữa 6 giống lợn bản địa Ukraina	36
Hình 1.5. Cấu trúc hệ gen ty thể ở lợn	37
Hình 1.6. Cấu trúc của phân tử Protein MX	41
Hình 2.1. Hệ thống máy CEQ 8000	54
Hình 3.1. Kết quả điện di kiểm tra ADN trên gel agarose 1%	61
Hình 3.2. Kiểm tra nồng độ DNA trên máy Nanodrop.....	61
Hình 3.3. Cây phát sinh chủng loại của 15 giống lợn nội, lợn Landrace và lợn rừng	73
Hình 3.4. PCA của 18 giống lợn được thể hiện trên 3 trục.....	76
Hình 3.5. Kết quả phân tích cấu trúc di truyền của 18 giống lợn bằng DAPC..	77
Hình 3.6. Ảnh điện di sản phẩm PCR gen <i>Cytochrome B</i>	80
trên gel agarose 2%	80
Hình 3.7. Một đoạn kết quả giải trình tự gen <i>Cytochrome B</i>	81
Hình 3.8. Cây phân loại thể hiện mối quan hệ theo dòng mẹ giữa 15 giống lợn nội Việt Nam xây dựng theo mô hình neighbor-joining.....	87
Hình 3.9. Cây phân loại thể hiện mối quan hệ phát sinh giữa 39 haplotype được xây dựng theo mô hình Neighbor-joining.....	90
Hình 3.10. Kết quả PCR nhân đoạn gen <i>MX1</i> intron 6.....	93
Hình 3.11. Kết quả PCR nhân đoạn gen <i>MX1</i> Promoter	93
Hình 3.12. Kết quả PCR nhân đoạn gen <i>MX2</i>	94
Hình 3.13. Kết quả cắt đoạn gen <i>MX1</i> intron 6 bằng <i>SnaBI</i>	94

Hình 3.14. Trình tự đoạn 1133 bp gen <i>MX1</i> từ điểm mỗi xuôi và mỗi ngược và điểm cắt của enzyme <i>SnaBI</i> ở lợn nội Việt Nam	95
Hình 3.15. Vị trí của axit amin 514 (A4 là Gly và A6 là Arg) trong protein <i>MX2</i>	101
Hình 3.16. Kết quả cắt đoạn gen <i>MX2</i> bằng enzyme <i>XhoI</i>	101

DANH SÁCH BẢNG

Bảng 1.1. Tổng hợp đặc điểm ngoại hình, khả năng sản xuất và hướng sử dụng của 15 giống lợn nội.....	26
Bảng 2.1. Danh sách 15 giống lợn nội được sử dụng trong nghiên cứu.....	48
Bảng 2.2. Thông tin 19 chỉ thị microsatellite được sử dụng.....	52
Bảng 2.3. Công thức tính một số giá trị thống kê của quần thể.....	55
Bảng 2.4. Trình tự môi và enzyme được sử dụng trong nghiên cứu	60
Bảng 3.1. Kết quả chuẩn hóa 4 tổ hợp phản ứng PCR đa môi	63
Bảng 3.2. Số mẫu (N), số alen (Na), độ phong phú alen (Rs), hệ số thông tin đa hình (PIC), tần số dị hợp tử quan sát (Ho), dị hợp tử lý thuyết (He), hệ số cận huyết (Fis) và hệ số khác biệt di truyền (Fst).....	65
Bảng 3.3. Số alen, trung bình số alen/chỉ thị (Na) và độ phong phú alen (Rs), tần số dị hợp tử quan sát (Ho), dị hợp tử lý thuyết (He), giá trị hệ số cận huyết (Fis), ở các giống lợn nghiên cứu.....	67
Bảng 3.4. So sánh tính đa dạng di truyền của lợn bản địa Việt Nam với một số kết quả nghiên cứu trên các giống lợn thế giới.....	69
Bảng 3.5. Ma trận khoảng cách di truyền ước lượng theo Nei 1972.....	72
Bảng 3.6. Đa dạng nucleotide và đa hình trình tự gen <i>Cytochrome B</i>	83
ở từng giống lợn	83
Bảng 3.7. Đa dạng trình tự nucleotide của 28 haplotype gen <i>Cytochrome B</i> ở các giống lợn nghiên cứu	84
Bảng 3.8. Số lượng và phân bố của các haplotype gen <i>Cytochrome B</i> ở 285 mẫu lợn nghiên cứu.....	85
Bảng 3.9. Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen gen <i>MX1</i> - intron 6.....	96
Bảng 3.10. Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen gen <i>MX1</i> -intron 6 trên một số giống lợn ngoại.....	98
Bảng 3.11. Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen gen <i>MX1</i> -promoter của 15 giống lợn nội.....	99

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
μ l	Microliter	Mi crô lít
ADN	Deoxyribo nucleic acid	Axit Deoxyribô Nuclêic
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphisms	Đa hình chiều dài các đoạn nhân chọn lọc
bp	Base pair	Cặp Bazơ
cm	Centimet	Cen ti mét
cs	et al	Cộng sự
DAPC	Discriminant Analysis of Principal Components	Phân tích thành phần chính
EL	Elution Buffer	Đệm hòa tan
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations	Tổ chức nông lương thế giới
Fis	Inbreeding coefficient within populations	Hệ số cận huyết
Fst	Genetic differentiation index	Hệ số khác biệt di truyền
He	Expected heterozygosity	Tần số dị hợp tử mong đợi
Ho	Observed heterozygosity	Tần số dị hợp tử quan sát

kg	Kilogram	Ki lô gam
mM	Milimol	Mi li môn
PCR	Polymerase chain reaction	Phản ứng chuỗi trùng hợp
PIC	Polymorphic Information Content	Giá trị thông tin đa hình
pM	Picromol	Pi crô môn
RAPD	Random amplified polymorphic DNA	Đa hình độ dài các đoạn ADN được khuếch đại ngẫu nhiên
RFLP	Restriction fragment length polymorphism	Đa hình độ dài các đoạn cắt giới hạn
Rs	Allelic Richness	Độ phong phú alen
SNP	Single nucleotide polymorphism	Đa hình đơn nucleotit
SSCP	Single strand conformation polymorphism	Đa hình di truyền sợi đơn
χ^2	Chi-squared	Khi bình phương

PHẦN MỞ ĐẦU

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nguồn gen vật nuôi rất quan trọng đối với an ninh lương thực và sinh kế toàn cầu, đặc biệt đối với các nước đang phát triển, nơi có khoảng một tỷ người phụ thuộc trực tiếp vào chăn nuôi để sinh kế (FAO, 2009). Nhu cầu đối với các sản phẩm động vật đang ngày càng tăng lên, do đó dẫn đến những thay đổi trong sản xuất chăn nuôi hệ thống và thay thế hoặc lai tạo giữa các giống địa phương với các giống ngoại có năng suất cao hơn ở nhiều nước đang phát triển (Groeneveld và cs., 2010; Ibeagha Awemu và cs., 2019). Kết quả là, nhiều giống bản địa đã bị tuyệt chủng dẫn đến sự suy giảm đáng kể về đa dạng sinh học (Rege và Gibson, 2003). Hơn nữa, đã có nhiều tài liệu chứng minh rằng việc duy trì đa dạng các nguồn gen động vật là rất quan trọng để đảm bảo sự thích nghi đối với tương lai chẳng hạn như biến đổi khí hậu, dịch bệnh. Sử dụng công nghệ sinh học trong nghiên cứu đánh giá đặc điểm di truyền phân tử ở các quần thể, giống vật nuôi phục vụ cho mục đích bảo tồn, sử dụng hợp lý nguồn tài nguyên di truyền bản địa, đồng thời hỗ trợ chọn lọc các giống vật nuôi có năng suất, chất lượng cao đã được tiến hành ở nhiều quốc gia trên thế giới (Stolpovski và Zakharov, 2017). Nhiều kỹ thuật phân tử hữu hiệu đã được FAO khuyến cáo sử dụng để đánh giá đặc điểm di truyền nguồn gen vật nuôi bản địa như phân tích các chỉ thị microsatellite, giải trình tự và phân tích hệ gen ty thể, phân tích đa hình các gen liên quan đến các tính trạng năng suất, chất lượng và khả năng kháng bệnh nhằm hỗ trợ cho công tác bảo tồn và chọn giống.

Việt Nam nằm ở trung tâm thuần hóa lợn (Groenen và cs., 2012). Trên thực tế, lợn là loài vật nuôi đặc biệt quan trọng của Việt Nam với hơn 23 triệu con (tính đến ngày 1/7/2020 của Tổng cục Thống kê Việt Nam). Do các ưu tiên về năng suất, tỷ lệ lợn nái bản địa đã giảm từ 72% tổng đàn năm 1994

xuống chỉ còn 26% năm 2002 ở Việt Nam (Lemke và cs., 2005). Theo FAO (<http://dad.fao.org/>, truy cập vào tháng 7 năm 2018), nguồn gen lợn bản địa Việt Nam có 16 giống được nuôi giữ bởi đồng bào vùng sâu vùng xa. Sách đỏ của Việt Nam cho biết các giống lợn bản địa như lợn Thuộc Nhiều, Lang Hồng và Phú Khánh đã tuyệt chủng do năng suất thấp hơn so với các giống lợn nhập nội. Các nghiên cứu trong nước về đặc điểm di truyền trước đây về các giống lợn nội Việt Nam chủ yếu là được đánh giá, xác định, so sánh, phân loại thông qua các đặc điểm về ngoại hình. Những nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền và sai khác di truyền giữa các giống lợn ở mức độ phân tử còn chưa được tiến hành đầy đủ và hệ thống. Hongo và cs. (2002) đã báo cáo các biến thể về trình tự ty thể của lợn Việt Nam và mối quan hệ của chúng với vật nuôi châu Á và lợn rừng Nhật Bản. Thúy và cs. (2006) đã sử dụng 20 chỉ thị microsatellite để đánh giá đặc điểm di truyền của năm giống lợn bản địa Việt Nam và so sánh với lợn châu Âu. Sự suy giảm đa dạng di truyền cũng được báo cáo trong một số quần thể lợn ở tỉnh Hà Giang (Berthouly và cs., 2012). Kết quả của Lan và cs. (2014) cũng cho thấy mức độ đa dạng di truyền cao của một số giống lợn ở các tỉnh phía Bắc Việt Nam (lợn Lũng Pù ở Hà Giang, lợn Mường Tè ở Lai Châu, lợn Lũng ở Phú Thọ và lợn Ha Lang ở Cao Bằng). Gần đây, (Ishihara và cs., 2018) cũng chỉ ra rằng một số giống bản địa của Việt Nam có khoảng cách di truyền tương đồng với vị trí địa lý khu vực phân bố của chúng. Tuy nhiên, nghiên cứu này dựa trên vài mẫu (6 mẫu trên một giống) và sử dụng chip Illumina Porcine SNP60 được thiết kế dựa trên thông tin từ các giống lợn khác. Qua đó cho thấy mới chỉ có một số nghiên cứu đã được tiến hành trên các giống bản địa Việt Nam cung cấp thông tin di truyền ít ỏi trong sự nỗ lực bảo tồn di truyền nguồn gen lợn bản địa. Do đó, chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu ***“Một số đặc điểm di truyền ở mức độ phân tử của 15 giống lợn nội Việt Nam”*** với mục đích đánh giá đặc điểm đa dạng di truyền, cấu trúc di truyền, mối quan hệ di truyền, nguồn gốc phát sinh chủng

loài và đặc điểm tần số kiểu gen, tần số alen của một số chỉ thị phân tử nhằm hỗ trợ phục vụ công tác bảo tồn, chọn giống và khai thác nguồn gen các giống lợn nội một cách có hiệu quả.

2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

2.1. Mục tiêu tổng quát

Đánh giá được đặc điểm di truyền của 15 giống lợn nội bằng một số chỉ thị phân tử nhằm hỗ trợ cho công tác bảo tồn, chọn tạo và khai thác sử dụng các giống lợn nội Việt Nam.

2.2. Mục tiêu cụ thể

Xác định được đa dạng di truyền, khoảng cách di truyền và cấu trúc di truyền của 15 giống lợn nội dựa trên 19 chỉ thị microsatellite.

Xác định được mối quan hệ phát sinh loài của 15 giống lợn nội thông qua đa hình trình tự gen *Cytochrome B* ty thể.

Xác định được kiểu gen và tần số alen của gen ứng cử (*MX1* và *MX2*) liên quan đến khả năng kháng vi rút viêm loét miệng và vi rút gây bệnh tai xanh ở 15 giống lợn nội.

3. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Nội dung 1. Nghiên cứu đa dạng di truyền, khoảng cách di truyền và cấu trúc di truyền của 15 giống lợn nội bằng 19 chỉ thị microsatellite.

Nội dung 2. Nghiên cứu đa dạng di truyền gen *Cytocrome B* ở 15 giống lợn nội và mối quan hệ phát sinh loài với một số giống lợn trên thế giới.

Nội dung 3. Nghiên cứu đa hình di truyền gen *MX1* và *MX2* ở 15 giống lợn nội.

4. ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Luận án là công trình hệ thống đầu tiên nghiên cứu một số đặc điểm di truyền ở mức độ phân tử của 15 giống lợn nội sử dụng các chỉ thị của cả hệ gen nhân (microsatellite, *MX1*, *MX2*) và hệ gen ty thể (*Cytochrome B*) tại Việt Nam.

- Luận án đã đánh giá được tính đa dạng, mối quan hệ và cấu trúc di truyền của 15 giống lợn nội dựa trên 19 chỉ thị microsatellite.

- Đã xác định được cây phát sinh loài thể hiện mối quan hệ di truyền theo dòng mẹ giữa các haplotype của 15 giống lợn nội Việt Nam với một số giống lợn trên thế giới thông qua đa hình gen *Cytochrome B*.

- Đã xác định được tính đa hình của gen *MX1* và *MX2* - những gen ứng cử liên quan đến tính kháng bệnh của 15 giống lợn nội.

5. Ý NGHĨA KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN

- Luận án là tài liệu khoa học hệ thống đầu tiên cung cấp thông tin về tính đa dạng, khoảng cách và cấu trúc di truyền dựa trên các chỉ thị microsatellite và nguồn gốc phát sinh chủng loài của 15 giống lợn nội Việt Nam với một số giống lợn trên thế giới thông qua trình tự gen *Cytochrom B*.

- Luận án là công trình hệ thống đầu tiên ở Việt Nam cung cấp những thông tin về tần số kiểu gen, tần số alen của gen *MX1* và *MX2*, đây là những gen được cho liên quan đến khả năng kháng bệnh của 15 giống lợn nội.

- Các bài báo đã đăng trên các tạp chí trong và ngoài nước là những tài liệu có giá trị tham khảo trong nghiên cứu và giảng dạy.

- Các kết quả nghiên cứu đã đóng góp vào cơ sở dữ liệu về nguồn gen của các giống lợn nội Việt Nam; tạo tiền đề cho các nghiên cứu xác định những giống lợn nội có khả năng kháng bệnh.

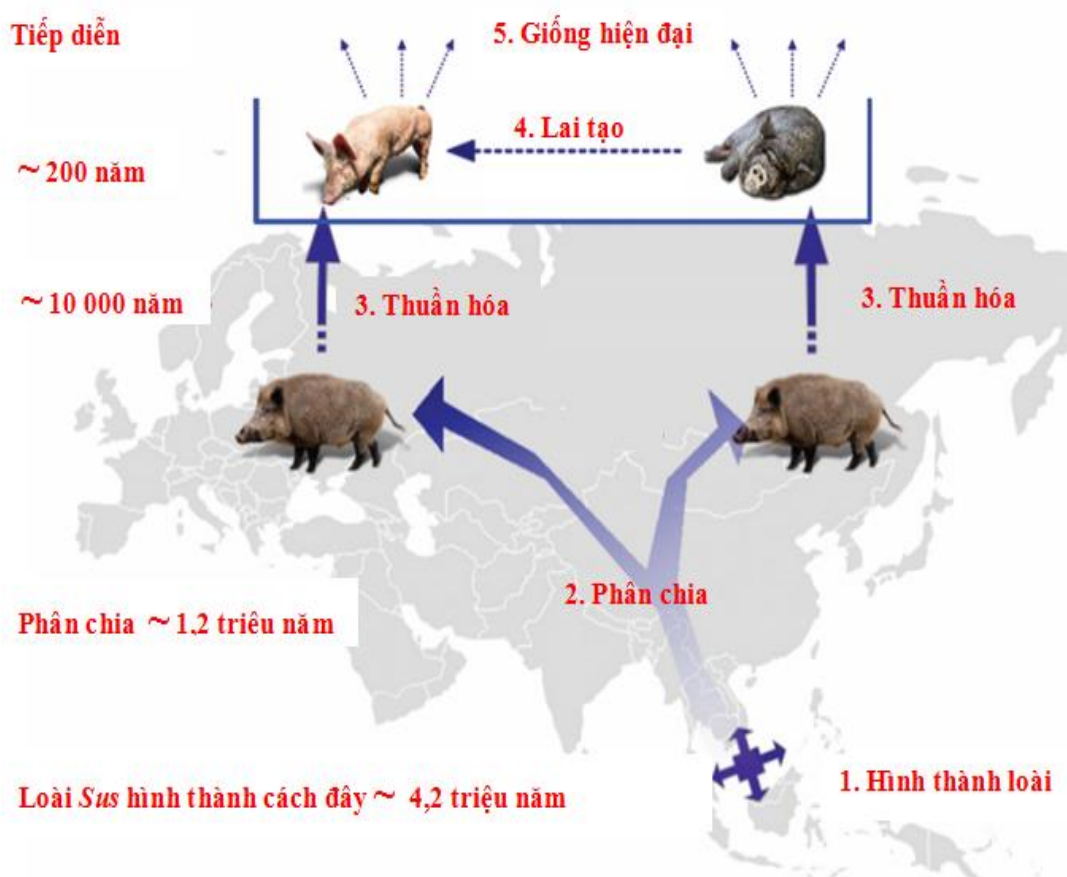
- Luận án cung cấp thông tin hữu ích cho công tác bảo tồn, chọn giống, định hướng lai tạo, khai thác và sử dụng nguồn gen các giống lợn nội một cách có hiệu quả.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. NGUỒN GỐC VÀ QUÁ TRÌNH HÌNH THÀNH CÁC GIỐNG LỢN NHÀ

1.1.1. Nguồn gốc

Lợn nhà có nguồn gốc từ lợn rừng. Con người trong quá trình săn bắn, hái lượm, đã bắt được lợn rừng và đem về nuôi, theo thời gian con người ý thức và lựa chọn những con lợn tốt để nuôi, còn những con kém chất lượng có thể giết thịt nhằm cung cấp thực phẩm. Giuffra và cs. (2000) cho rằng lợn nhà ngày nay được tạo ra từ các giống lợn rừng châu Á và châu Âu. Nguồn gốc các giống lợn được minh họa trên hình 1.1.



Hình 1.1. Lịch sử hình thành giống lợn (Bosse Mirte, 2018)

Quá trình lịch sử hình thành các giống lợn hiện đại được cho là đã trải qua 5 giai đoạn: (1) Loài *Sus* tổ tiên chung hình thành từ Đông Nam Á; (2) Quá

trình phân ly thành hai dòng châu Âu và châu Á; (3) Quá trình thuần hóa độc lập dẫn đến sự phân tách thành hai nhánh châu Âu và châu Á; (4) Quá trình lai tạo giữa lợn nhà châu Âu và lợn nhà châu Á; (5) Quá trình hình thành các giống lợn ngày nay.

1.1.2. Quá trình thuần hóa hình thành các giống lợn nhà

Sus scrofa là một trong những loài động vật có vú phổ biến trên toàn thế giới. Từ lâu nhân tố thúc đẩy sự tiến hóa đã được giả định là sự thuần hoá và chọn lọc tự nhiên. Lợn bản địa được tìm thấy ở hầu khắp các vùng khác nhau trên toàn cầu. Một số đặc tính, bao gồm răng và hình thái xương sọ, tỷ lệ bên ngoài, lông và màu sắc, đa hình sinh hóa và phân tử, sinh thái và hành vi, cách ly sinh sản và các khu vực sống tự nhiên, được sử dụng để phân biệt nhiều loài trong chi *Sus*. *S. scrofa*.

Thuần hoá là quá trình thích nghi di truyền của sinh vật hoang dã để đáp ứng tốt hơn với nhu cầu của con người, là kết quả của điều kiện sinh sống và sinh sản dưới sự kiểm soát của con người trong nhiều thế hệ. Việc thuần hóa lợn là một phần không thể thiếu của sự phát triển nông nghiệp và áp dụng các phương pháp canh tác nông nghiệp trên khắp thế giới. Việc hiểu rõ quá trình tiến hóa và sự phân bố rộng khắp của giống loài này có thể giúp chúng ta hiểu rõ hơn về nguồn gốc và sự tăng trưởng của nông nghiệp chăn nuôi, sự phát triển của nền văn minh con người thừa ban đầu. Những tàn tích sớm nhất của lợn thuần hoá đã được khai quật tại Cayonu ở đông nam Anatolia từ 7.000 năm trước Công nguyên (Reed, 1969). Theo quan điểm truyền thống về động vật học, lợn sinh ra ở vùng Cận Đông và phía tây lan sang châu Âu và phía đông sang Trung Quốc. Tuy nhiên, việc sử dụng chuỗi DNA mtDNA từ các mẫu lợn đực Eurasian và các giống lợn khác nhau trong các nghiên cứu sơ bộ gần đây đã cung cấp bằng chứng để hỗ trợ giả thuyết "sự thuần hóa diễn ra độc lập ở nhiều nơi" (Giuffra và cs., 2000; Kijas và Andersson, 2001). Các dữ

liệu mtDNA gần đây từ phân tích 685 cá thể bao gồm lợn rừng, lợn hoang và lợn bản địa ở khắp Eurasia cũng ủng hộ giả thuyết rằng sự thuần hóa lợn xảy ra độc lập trên thế giới tại các vị trí địa lý khác nhau trên khắp Eurasia: ba từ Viễn Đông (hai ở Trung Quốc, một ở Thái Lan / Miến Điện và miền bắc Ấn Độ), một từ hòn đảo Đông Nam Á (Wallacea), và hai từ Châu Âu (Larson và cs., 2005). Các kết quả này cũng cho thấy *S. scrofa* là một loài có nguồn gốc từ các hòn đảo ở Đông Nam Á (Phillippines, Indonesia), nơi chúng phân tán khắp lục địa Âu Á, và có ít hoặc không có sự di nhập lợn từ vùng Cận Đông vào Châu Âu. Larson và cs. (2007) cho rằng lợn nhà châu Âu có tổ tiên ở vùng Cận Đông vào thời kỳ Đồ đá mới. Bằng chứng khảo cổ học cho thấy lợn nhà lần đầu được khai thác ở Bắc Âu vào khoảng 4100 năm trước Công Nguyên. Ngay sau khi được đưa vào châu Âu, những người nông dân đã kết hợp lợn rừng địa phương vào đàn lợn của họ. Bắt đầu từ khoảng 7000 năm trước, người Trung Á di cư đến châu Âu đã mang theo vật nuôi và cây trồng bản địa. Nhưng có thể cùng thời điểm ấy, lợn rừng tại châu Âu cũng được thuần hóa. Và sau đó lợn rừng bản địa châu Âu nhanh chóng thay thế lợn nhà có nguồn gốc Cận Đông trên khắp châu Âu. Do đó phần lớn lợn châu Âu ngày nay không bắt nguồn từ lợn gốc Cận Đông. Các ghi chép lịch sử cho thấy lợn châu Á đã được đưa vào châu Âu trong thế kỷ 18 và đầu thế kỷ 19 (Kim và cs., 2002). Thời điểm này ở nước Anh nhu cầu về thịt lợn tăng cao, các nhà chọn giống đã lai tạo lợn châu Âu với lợn Trung Quốc nhằm tăng tính trạng sinh sản và tỷ lệ mỡ ở lợn gốc châu Âu. Những giống lợn thương mại châu Âu ngày nay có sự đa dạng di truyền cao hơn lợn rừng bản địa vì chúng được lai với lợn Trung Quốc. Các bằng chứng phân tử về sự di nhập gen đã chỉ ra nguồn gốc lai của một số giống lợn châu Âu. Lợn thương phẩm của châu Âu hiện đại có chứa ADN nguồn gốc từ lợn châu Á (Kim và cs., 2002).

1.2. ĐẶC ĐIỂM VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA MỘT SỐ GIỐNG LỢN NỘI VIỆT NAM

Các giống lợn nội của Việt Nam rất phong phú và được phân bố khắp các vùng của đất nước, tại mỗi vùng có những giống với các nét đặc trưng riêng. Các giống lợn nội đều có ưu điểm chung: dễ nuôi thích nghi với điều kiện chăn nuôi kham khổ, có khả năng tận dụng tốt nguồn thức ăn từ phụ phẩm nông nghiệp, chất lượng thịt ngon phù hợp với thị hiếu tiêu dùng nội địa, có khả năng kháng bệnh và chống chịu điều kiện khí hậu khắc nghiệt. Theo Tạ Thị Bích Duyên và cs. (2013) Việt Nam có khoảng 26 giống lợn nội được nuôi chủ yếu ở vùng nông thôn, vùng xa và vùng cao của tổ quốc. Bức tranh về số lượng và sự phân bố các giống lợn nội Việt Nam cho thấy:

Các tỉnh thuộc trung du miền núi phía Bắc có số lượng các giống lợn nội phong phú và nhiều nhất so với các vùng sinh thái khác của cả nước. Bao gồm 13 nhóm giống: Lợn Táp Ná, lợn Hạ Lang và lợn Hương được nuôi ở Cao Bằng; Lợn Lũng Pù và lợn Hung được nuôi ở tỉnh Hà Giang; Lợn Mường Lay 14 vú ở tỉnh Điện Biên (số lượng rất ít); Lợn Đen Mường Tè và lợn Hung Sin Hồ ở tỉnh Lai Châu; Lợn Mường Khương ở Lào Cai; Lợn Lũng ở tỉnh Phú Thọ; Lợn Lang Hồng ở tỉnh Bắc Giang nhưng hiện nay không còn nữa. Lợn Bản ở tỉnh Hòa Bình; Lợn Bản ở tỉnh Sơn La.

Khu vực đồng bằng Bắc bộ và Bắc Trung bộ có 4 giống lợn nội đó là: Lợn Móng Cái - quê hương ở tỉnh Quảng Ninh - đang được nuôi rải rác ở các vùng nông thôn trong cả nước; Lợn I hiện chỉ còn số lượng ít ở công ty giống lợn hạt nhân DaBaCo - Bắc Ninh; Lợn Mẹo ở tỉnh Nghệ An; Lợn Khùa ở tỉnh Quảng Bình (số lượng ít).

Khu vực các tỉnh Trung và Nam Trung Bộ có 5 giống: Lợn Vân Pa ở tỉnh Quảng Trị; Lợn Cỏ A Lưới ở tỉnh Thừa Thiên Huế; Lợn Cỏ Quảng Nam ở tỉnh Quảng Nam; Lợn Kiềng Sắt ở tỉnh Quảng Ngãi; Lợn Trắng Phú Khánh trước

kia nuôi nhiều ở tỉnh Phú Yên và Khánh Hòa hiện nay cũng không còn.

Tây Nguyên có 2 nhóm giống: Lợn Sóc ở các tỉnh thuộc vùng Tây Nguyên, nhưng chủ yếu ở Đắk Lắk; Lợn Chur Prông ở tỉnh Gia Lai.

Các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long chỉ còn lại 2 nhóm giống: Lợn Ba Xuyên ở tỉnh Sóc Trăng với số lượng ít; lợn Ô Lâm ở tỉnh An Giang và Kiên Giang. Riêng lợn Thuộc Nhiều hiện đã không còn nữa. Lợn Mọi- Hà Tiên, theo báo cáo của tỉnh Kiên Giang thì vùng Hà Tiên có giống lợn đen được bà con nông dân nuôi và gọi là lợn Mọi. Tuy nhiên, kết quả điều tra thực địa cho thấy đây là con lai giữa lợn rừng và lợn địa phương đưa từ vùng khác về.

Như vậy, bức tranh về các giống lợn nội Việt Nam được phân bố rải rác khắp các vùng miền dọc theo chiều dài của đất nước, tập trung nhiều ở các vùng trung du, miền núi, vùng sâu, vùng xa và vùng cao, nơi có điều kiện kinh tế nghèo khổ, khí hậu thời tiết khắc nghiệt, giao thông đi lại khó khăn. Số lượng lợn bản địa tại các vùng giảm nhanh trong những năm gần đây (có một số giống đã bị mất như lợn Trắng Phú Khánh, Thuộc Nhiều). Tuy nhiên, tốc độ giảm ở mỗi vùng, mỗi tỉnh là khác nhau. Nguyên nhân số lượng giảm nhanh do người miền xuôi đến mua nhiều đã làm giống lợn bản địa vốn đã ít lại ngày càng ít hơn, do không kịp phục hồi. Mặt khác, do điều kiện thời tiết khắc nghiệt, những giống lợn này không được chọn lọc, nâng cấp, lợn nuôi thả rộng, đầu tư thức ăn thấp, lợn con giao phối với lợn mẹ làm thoái hóa về giống và đặc biệt sự khai thác quá mức của thương lái từ miền xuôi lên mua về phục vụ cho các nhà hàng đặc sản đã làm các giống lợn địa phương đang đứng trước nguy cơ bị mất dần (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

1.2.1. Giống lợn Móng Cái

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Móng Cái là giống lợn nội được hình thành và phát triển lâu đời ở

vùng Đông Bắc Việt Nam. Có thể xem các vùng Hà Cối (huyện Đàm Hà), Tiên Yên (Đông Triều) tỉnh Quảng Ninh là nguồn cội của giống lợn Móng Cái. Do đặc điểm sinh sản tốt nên từ những năm 60-70 trở đi lợn Móng Cái đã lan nhanh ra khắp đồng bằng Bắc Bộ. Từ sau 1975 giống lợn này được lan nhanh ra các tỉnh miền Trung kể cả phía Nam (Lê Viết Ly và cs., 1999).

Đặc điểm ngoại hình

Đặc điểm của lợn Móng Cái có đầu đen, giữa nếp nhăn to và ngắn ở miệng. Giống lợn này cổ to và ngắn, ngực nở và sâu, lưng dài và hơi võng, bụng hơi xệ, mông rộng và xuôi. Bốn chân tương đối cao thẳng, móng xoè. Đặc biệt, một khoang trắng nổi giữa 2 bên hông với nhau vắt qua vai trông giống như cái “Yên ngựa” là nét đặc trưng nhất về màu sắc của giống lợn này. Tầm vóc tương đối lớn, hướng mỡ (Lê Viết Ly và cs., 1999).

Khả năng sản xuất

Lợn Móng Cái sinh sản tốt nhất trong lợn nội của nước ta. Lợn phát dục sớm: lợn cái lúc 5 tháng tuổi và lợn đực có biểu hiện nhảy giống lúc 2 tháng tuổi nhưng có khả năng phối chửa lúc 3-4 tháng tuổi. Số con sơ sinh sống/ổ cao (11-13 con/ổ), kỷ lục đạt 28 con/ổ. Số con cai sữa 10-11 con/ổ. Khoảng cách giữa 2 lứa đẻ 170 ngày, đẻ 2,2 lứa/nái/năm. Khả năng làm mẹ rất tốt, có 10-16 vú. Khối lượng sơ sinh 0,5-0,6 kg và cai sữa ở 7-8 tuần tuổi là 5,5-6,5 kg (Nguyễn Văn Đức và cs, 2004).

Lợn Móng Cái sinh trưởng trung bình: 2 tháng tuổi nặng 6 kg và 10 tháng tuổi chỉ đạt 80-85 kg. Tăng khối lượng trung bình 330 g/ngày; tỷ lệ mót hàm thấp: 73-75%; tỷ lệ nạc 33-35%; tỷ lệ mỡ 35-38%; tiêu tốn thức ăn 4,0-4,5 kg

Hướng sử dụng

Chủ yếu được sử dụng làm nái nền để tạo các tổ hợp lai lợn nội khác có chất lượng thịt thơm ngon và hiệu quả kinh tế cao hơn.

1.2.2. Giống lợn Hạ Lang

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Hạ Lang là giống lợn địa phương lâu đời của đồng bào dân tộc tại các vùng núi Bảo Lạc, Thông Nông và Hạ Lang của tỉnh Cao Bằng. Trong đó lợn Hạ Lang chủ yếu tập trung tại huyện vùng núi Hạ Lang, ngoài ra còn thấy một ít tại huyện Bảo Lâm.

Đặc điểm ngoại hình

Lợn Hạ Lang thuộc giống lợn lang có đặc điểm ngoại hình nhiều nét giống lợn Móng Cái như da bụng màu trắng, bốn chân trắng, giữa trán nhiều con cũng có điểm màu trắng nhưng hình nêm cổ không rõ, có dải yếm ngựa màu trắng vắt qua vai nhưng không thật điển hình như lợn Móng Cái, mõm ngắn tròn, mặt nhẵn và to, chân to và ngắn, lưng võng bụng không sệ. Tầm vóc tương đối lớn, hướng mỡ. (Phạm Đức Hồng và Phạm Hải Ninh, 2013).

Khả năng sản xuất

Lợn cái có số lượng vú dao động từ 10-12 vú. Tuổi động dục lần đầu của lợn cái Hạ Lang là 124 ngày. Tuổi đẻ lứa đầu là 310,21 ngày. Thời gian mang thai của lợn Hạ Lang là 114,35 ngày, mỗi lứa đẻ có thể đạt 11-16 con/lứa. So với lợn Móng Cái lợn Hạ Lang sinh sản tốt hơn. Lợn con cai sữa ở 40 ngày tuổi có khối lượng 6,09 kg, đến 10 tháng tuổi khối lượng đạt 46,33 kg (Phạm Đức Hồng và Phạm Hải Ninh, 2013).

Hướng sử dụng

Làm nái nền lai với đực giống ngoại để phục vụ chăn nuôi nông hộ tại Cao Bằng và một số tỉnh phụ cận và nuôi khai thác thịt đặc sản.

1.2.3. Giống lợn Hương

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Hương là giống lợn địa phương có nguồn gốc từ Trung Quốc nhưng được du nhập và nuôi từ lâu đời tại một số huyện vùng cao giáp ranh biên giới Việt – Trung của tỉnh Cao Bằng như Bảo Lạc, Bảo Lâm. Giống lợn Hương được đặt tên theo tên gọi địa phương do thịt lợn Hương có mùi thơm rất đặc trưng và khác với các giống bản địa khác. Chính vì vậy, giống lợn này dần dần được nhân dân đặt tên là “lợn Hương”.

Đặc điểm ngoại hình

Phần thân và 4 chân trắng, có mảng lông da màu đen ở mông và ở đầu. Phần tiếp giáp giữa đen và trắng rộng khoảng 2-3 cm, trên đó da đen lông trắng. Đầu đen và thô, giữa trán có một điểm trắng, chân to bụng to vừa phải và không chạm đất, lưng võng nhưng không gầy, bốn chân có màu trắng, mông dốc, vai nở, ngực sâu. Tầm vóc trung bình (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Khả năng sản xuất

Lợn cái thường có 8-12 vú, nhưng thông dụng nhất là 10 vú. Tuổi động dục lần đầu: 5-6 tháng. Số con sơ sinh/ổ đạt 6-8 con. Số con cai sữa/ổ lúc 60 ngày tuổi: 6-7 con. Khối lượng sơ sinh đạt 0,3-0,4 kg. Khối lượng cai sữa lúc 60 ngày tuổi đạt 5,53 kg (Phạm Công Thiều, 2017). Lợn Hương sinh trưởng chậm, khối lượng lúc 8 tháng tuổi: 35-45kg/con. Tỷ lệ thịt nạc cao, mỡ ít và thơm ngậy chắc, da ăn giòn. Chống chịu bệnh tốt, thích nghi với tập quán sinh sống ở địa phương (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Hướng sử dụng

Chủ yếu làm nái nền lai với đực giống khác để phục vụ chăn nuôi nông hộ tại Cao Bằng và một số tỉnh phụ cận và sử dụng làm thịt đặc sản.

1.2.4. Giống lợn Táp Ná

Nguồn gốc và phân bố

Giống lợn Táp Ná có nguồn gốc từ một giống lợn địa phương của vùng núi Cao Bằng. Do điều kiện địa lý, đồi núi cao hiểm trở, việc thông thương có nhiều hạn chế, người dân nuôi lợn ở vùng núi huyện Thông Nông, tỉnh Cao Bằng chỉ giao dịch mua bán lợn tại chợ Táp Ná. Chính vì vậy, giống lợn nội Việt Nam này dần dần được nhân dân đặt tên là giống lợn Táp Ná. Ngoài nuôi phổ biến ở các bản làng hẻo lánh trên các vùng núi cao hiểm trở của huyện Thông Nông, tỉnh Cao Bằng. Lợn Táp Ná còn được nuôi ở một số vùng núi cao của một số huyện khác của tỉnh Cao Bằng và một số tỉnh lân cận thuộc vùng núi phía Bắc Việt Nam.

Đặc điểm ngoại hình

Hầu hết, các nghiên cứu trên giống lợn Táp Ná của Nguyễn Văn Đức và cs. (2004); Đặng Đình Trung và cs. (2007); Nguyễn Văn Đức, (2012) đều khẳng định: Ngoại hình của giống lợn Táp Ná có nhiều nét tương tự như giống lợn nội Móng Cái Lợn Táp Ná có màu sắc lông da rất đặc trưng. Lông và da đều đen, ngoại trừ 6 điểm trắng: giữa trán, 4 cẳng chân và chóp đuôi, đặc biệt bụng của lợn Táp Ná có màu đen. Đầu lợn Táp Ná to vừa phải, tai của nó hơi rủ cúp xuống, bụng tuy to nhưng không bị sệ. Tầm vóc trung bình.

Khả năng sản xuất

Lợn cái Táp Ná thường có từ 8 đến 12 vú, nhưng phổ biến nhất là 10 vú. Tuổi động dục lần đầu: 5-7 tháng. Số con sơ sinh sống/ổ đạt 6-9 con/ổ. Số con

cai sữa/ ổ lúc 60 ngày tuổi: 5-8 con. Khối lượng sơ sinh/ổ: 3,5-5 kg/con. Khối lượng cai sữa/ổ: 25-40 kg. Khối lượng lúc 2 tháng tuổi: 4-5 kg/con, khối lượng 8 tháng tuổi: 30-40 kg/con. Thích nghi rất tốt với hầu hết điều kiện môi trường sinh thái, chống chịu bệnh rất tốt, thịt thơm ngon (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Hướng sử dụng

Nuôi lấy thịt theo hướng sản xuất hàng đặc sản.

1.2.5. Giống lợn Lũng Pù

Nguồn gốc và phân bố

Giống lợn Lũng Pù được phát hiện tại xã Lũng Pù, huyện Mèo Vạc, Hà Giang. Giống lợn Lũng Pù hiện đang nuôi phổ biến tại một số thôn bản vùng núi cao của huyện Mèo Vạc, tỉnh Hà Giang.

Đặc điểm ngoại hình

Đặc điểm nổi rõ về ngoại hình của giống lợn Lũng Pù là lông và da giống như lợn Táp Ná, lợn Bản đó là: lông và da đen, trừ 6 điểm trắng ở trán, 4 cẳng chân và chóp đuôi, không có lang yên ngựa màu trắng bắt qua vai như giống lợn Móng Cái. Lông dày và ngắn, da thô, tai nhỏ cúp, mõm dài trung bình, lưng võng và bụng không xệ. Đặc trưng nhất về ngoại hình của giống là chòm lông trắng ở trán của giống lợn Lũng Pù dài tạo thành một xoáy ngược lên đỉnh đầu. Lợn Lũng Pù có tầm vóc tương đối to so với các giống lợn nội khác (Trịnh Quang Phong, 2012).

Khả năng sản xuất

Tuổi động dục lần đầu: 2-3 tháng, tuổi đẻ lứa đầu là 13 tháng tuổi. Trung bình giống lợn Lũng Pù có 10 vú và đẻ từ 6 đến 10 con/ổ. Số con cai sữa lúc 60

ngày tuổi: 5-8 con. Khối lượng sơ sinh/con: 0,5-0,7 kg. Khối lượng cai sữa/con 5-6 kg, 1,5-1,7 lứa/nái/năm. Khối lượng lúc 2 tháng: 5-6 kg/con, khối lượng 8 tháng tuổi 35-45 kg/con. (Trịnh Quang Phong, 2012).

Hướng sử dụng

Chủ yếu nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản.

1.2.6. Giống lợn Hưng

Nguồn gốc và phân bố

Giống lợn Hưng được hình thành, tồn tại và phát triển ở các vùng xa, vùng cao của tỉnh Hà Giang, theo người dân địa phương đây là giống lợn bản địa có từ lâu đời được đồng bào các dân tộc thiểu số thuần hoá nuôi theo phương thức tự phát quảng canh. Lợn Hưng hiện được nuôi nhiều ở các huyện Bắc Mê, Hoàng Su Phì, Quản Bạ của tỉnh Hà Giang.

Đặc điểm ngoại hình

Lợn Hưng Hà Giang có màu hung đỏ hoặc nâu nhạt, lông cứng và dài hơn giống lợn khác. Thân hình thon chắc, lưng hơi võng và bụng không chạm đất, mõm nhọn tai to và hơi cụp, bốn chân cao thẳng. Giống lợn này có tầm vóc nhỏ hoặc trung bình và có đến 50% lợn hưng là không có dấu vết điểm trắng trên thân, nhưng có 6 đốm trắng ở mõm và chân. Tầm vóc nhỏ (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Khả năng sản xuất

Tuổi đẻ lứa đầu 13 tháng, số lứa đẻ 1,5-1,7 lứa/năm. Số con sơ sinh sống/ổ đạt 5,96 con. Số con sai sữa/ổ đạt 5,57 con. Khối lượng sơ sinh đạt 0,4 kg/con. Khối lượng cai sữa lúc 61 ngày đạt 5,74 kg/con (Nguyễn Văn Mão và cs., 2013). Khả năng sinh trưởng của lợn Hưng chậm lớn, khối lượng một năm tuổi

đạt bình quân 40-45 kg/con đực, 50-55 kg/con cái. Khối lượng khi trưởng thành đạt 70-80 kg. Tỷ lệ móc hàm: 74%, tỷ lệ thịt xẻ: 62%, tỷ lệ nạc: 41%. Lợn Hưng thích nghi với khí hậu vùng cao, tạp ăn, dễ nuôi, chống chịu bệnh tốt, chất lượng thịt thơm ngon (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Hướng sử dụng

Chủ yếu nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản.

1.2.7. Giống lợn Mường Khương

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Mường Khương được nuôi nhiều ở vùng núi phía Bắc và gắn liền với đời sống người H'Mông. Mường Khương là giống lợn địa phương, có từ lâu đời, được nuôi ở nhiều vùng thuộc tỉnh Lào Cai, nhiều nhất là ở huyện Mường Khương.

Đặc điểm ngoại hình

Lợn có màu sắc lông da là đen tuyền hoặc đen có đốm trắng ở đầu và đuôi. Lông thưa và mềm. Đa số lợn có mõm dài thẳng hoặc hơi cong, trán nhẵn, tai to hơi cúp rủ về phía trước. Bốn chân to cao vững chắc. Lưng không thẳng nhưng cũng không võng lằm, bụng to nhưng không sệ tới sát đất, mông hơi dốc. Lợn có tầm vóc to nhưng mình lép. (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Khả năng sản xuất

Lợn Mường Khương có tuổi động dục lần đầu (6-7 tháng tuổi), tuổi đẻ lứa đầu là khoảng một năm tuổi, thời gian động hơn dài (5-7 ngày), thời gian có chửa 114-116 ngày, số con đẻ ra và nuôi sống thấp (5con/lứa), khả năng nuôi con thấp do tập quán thả rông, thiếu dinh dưỡng, số lứa đẻ trong năm 1,2-1,3 lứa. Lợn Mường Khương có tốc độ sinh trưởng chậm, khối lượng sơ sinh khá cao (0,6 kg), từ sơ sinh đến 4 tháng tuổi lợn tăng trọng thấp (3-4

kg/tháng), từ giai đoạn choai 5-6 tháng tuổi lợn bắt đầu cho tăng trọng khá hơn (5-6 kg/tháng). Sau 12 tháng tuổi lợn vẫn còn phát triển và khối lượng trung bình trên 90 kg, có những con đạt tới 121,5 kg ở 18 tháng tuổi. Tầm vóc lớn, sức chống chịu tốt với chăn thả ở các vùng núi cao là đặc điểm nổi bật của giống lợn này (Lê Viết Ly và cs., 1999).

Hướng sử dụng

Nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản và có thể sử dụng trong một số công thức lai lợn nội khác để nâng tầm vóc những giống lợn địa phương có khối lượng nhỏ hơn.

1.2.8. Giống lợn Lũng

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Lũng là giống lợn của bà con dân tộc vùng cao tỉnh Phú Thọ, còn được gọi là giống lợn ri của đồng bào Mường và Mông. Lợn Lũng có nhiều ở Tân Sơn, Thanh Sơn - Phú Thọ và ngày nay nó trở thành đặc sản độc đáo của vùng này.

Đặc điểm ngoại hình

Giống lợn này có da và lông đen, mõm dài và nhọn, bốn chân nhỏ và cao, tai thẳng, tầm vóc nhỏ. Tầm vóc nhỏ.

Khả năng sản xuất

Tuổi động dục: 7-8 tháng tuổi, số con sơ sinh/ổ: 5-8 con/ổ. Số con cai sữa/ổ lúc 60 ngày tuổi: 4-7 con, khối lượng sơ sinh/ổ: 2-3,5 kg, khối lượng cai sữa/ổ: 20-28 kg. Khối lượng lúc 2 tháng tuổi: 4-5 kg/con, khối lượng 8 tháng tuổi: 25-30 kg/con. Chất lượng thịt thơm, bùi, mềm và rất ít mỡ. Lợn Lũng có sức chịu đựng rất giỏi, thích nghi với cách kiếm ăn ủi đất tìm côn trùng, gặm

rễ cây, nhai cỏ để sống (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Hướng sử dụng

Nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản.

1.2.9. Giống lợn Mẹo

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Mẹo được hình thành tại vùng núi cao của dãy Trường Sơn, nơi có khí hậu mát mẻ và địa hình đồi núi rộng rãi thích hợp cho thả rông tự do. Giống lợn này thích nghi và phát triển tốt trong điều kiện sinh thái, kinh tế và tập quán chăn nuôi của người H'Mông địa phương. Lợn Mẹo hiện được nuôi chủ yếu ở hai huyện Kỳ Sơn và Tương Dương.

Đặc điểm ngoại hình

Lợn Mẹo có tầm vóc khá lớn, trường mình, phát triển cân đối. Lông da màu đen, da dày, lông dài và cứng, thường có 6 điểm trắng ở 4 chân, trán và đuôi, một số có loang trắng ở bụng. Đầu to, rộng, mặt hơi gầy, trán dô và thường có khoáy trán, mõm hơi dài, tai vừa phải và hơi chúc về phía trước. Vai rộng, lưng dài rộng, phẳng hoặc hơi vòng lên. Phần hông rộng và phẳng, mông rộng và chiều cao mông thường cao hơn vai. Bụng lợn to, dài nhưng không sệ. Chân lợn cao, thẳng, vòng ống thô, đi đứng trên hai ngón trước (Lê Viết Ly và cs., 1999).

Khả năng sản xuất

Lợn Mẹo được nuôi chủ yếu trong điều kiện thả rông quanh năm, ít được chăm sóc của con người nên tốc độ sinh trưởng chậm. Trong điều kiện nuôi thả rông miền núi mỗi lứa lợn Mẹo chỉ đẻ trung bình 6-7 con, lứa đầu thường chỉ 3-4 con, tỷ lệ nuôi sống thấp. Số lứa đẻ 1,73 lứa/năm. Lợn đực thành thực lúc 5 tháng tuổi. Phối giống lúc 9 tháng (khối lượng đạt 55 kg). Lợn nái đẻ 1

lứa/năm. Số con sơ sinh và số con sơ sinh sống/ổ là 8-7 và 6-7 con/ổ. Khối lượng sơ sinh và cai sữa là 0,5 và 5 kg (Hoàng Thị Phi Phượng và cs., 2020).

Khối lượng 2 tháng tuổi đạt 4-4,5 kg. Khối lượng 8 tháng tuổi đạt 40 kg. Thời gian nuôi kéo dài, có khi đến 2-3 năm tuổi. Nhiều con lợn được nuôi trên 2 năm có khối lượng lớn từ 200-300 kg. Tỷ lệ móc hàm 75-78%. Tỷ lệ thịt nạc cao hơn các giống lợn nội Việt Nam khác, đó là 43%. Tỷ lệ mỡ thấp, chỉ có 25%. Tăng khối lượng trung bình 340-380 g/ngày (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Hướng sử dụng

Nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản.

1.2.10. Giống lợn Cỏ

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Cỏ là sản phẩm đặc trưng của một số vùng đất miền Trung mà chủ yếu là ở các tỉnh khu Bốn cũ. Trước những năm 60, giống lợn này thấy nhiều ở các tỉnh Nghệ An, Hà Tĩnh, khu vực Bình Trị Thiên. Do lợi ích kinh tế thấp và nhất là sau khi có chủ trương phổ biến rộng lợn Móng Cái ra các tỉnh miền Trung thì đàn lợn này bị thu hẹp nhanh chóng (Lê Viết Ly và cs., 1999). Hiện chỉ một số xã thuộc huyện A Lưới –Thừa Thiên Huế còn nuôi giữ giống lợn này.

Đặc điểm ngoại hình

Lợn Cỏ có tầm vóc trung bình, nhỏ hơn so với lợn Móng Cái, lợn Í. Thể trạng của lợn trưởng thành trung bình vào khoảng 30 - 35 kg. Đại đa số có da và lông đen. Lông dày và dài thường mọc thành cụm. Hình dạng mõm dài. Xương nhỏ, chân yếu và đi bần, bụng xệ.

Khả năng sản xuất

Lợn nái động dục sớm, khoảng 4 - 5 tháng tuổi. Tuổi đẻ lứa đầu thường khoảng 10 tháng tuổi. Lợn Cỏ mỗi năm đẻ 1,2 - 1,3 lứa, mỗi lứa chỉ 6 - 7 con. Khối lượng sơ sinh 0,4 kg. Khối lượng lợn con lúc cai sữa (2 tháng tuổi) khoảng 4,5 kg. Khối lượng 8 tháng tuổi đạt 45 kg. Lợn Cỏ có tỷ lệ mót hàm, thịt xẻ, nạc, mỡ xương ở mức trung bình so với các giống lợn nội khác. Kết quả mô khảo sát lợn Cỏ cho thấy tỷ lệ mót hàm đạt 72,05-74,53%, thịt xẻ chỉ đạt khoảng 60 - 61%. Tỷ lệ thịt nạc 38%, tỷ lệ mỡ cao 39-40% (Nguyễn Thị Tường Vi và cs., 2012).

Hướng sử dụng

Nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản.

1.2.11. Giống lợn Sóc

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Sóc là giống lợn do đồng bào các dân tộc Tây Nguyên thuần dưỡng từ lợn rừng và gắn liền với đời sống và văn hóa của đồng bào từ lâu đời. Trước đây lợn Sóc là một trong những vật nuôi quan trọng hàng đầu trong mỗi gia đình đồng bào Ê Đê, Gia Rai, Mơ Nông. Tuy nhiên, trong vài thập kỷ đến nay, lợn Sóc có xu thế giảm dần về cả số lượng và chất lượng do sự thay thế dần của các giống lợn cao sản, do tạp giao và giao phối cận huyết. Chưa có số liệu chính xác về số lượng lợn Sóc trong toàn khu vực, nhưng có các nghiên cứu ở Đắk Lắk cho thấy lợn Sóc vẫn đang còn tồn tại với số lượng khá cao (Trương Tấn Khanh, 2013).

Đặc điểm ngoại hình

Lợn Sóc có tầm vóc nhỏ, có hình dáng rất gần với lợn rừng, mõm dài, nhọn màu lông đen tuyền, chân nhỏ, đi bằng móng, rất nhanh nhẹn.

Khả năng sản xuất

Các chỉ tiêu về sinh sản của lợn Sóc khá thấp, tuổi động dục lần đầu khá muộn (6-9 tháng), số lứa đẻ trên năm thấp (1,33 lứa/năm) và số con trên lứa ít (6,25 con/lứa). Tỷ lệ nuôi sống rất thấp chỉ đạt trung bình 70%.

Lợn Sóc sinh trưởng chậm, trung bình tăng trọng từ 90-120g/ngày. Khối lượng 2 tháng tuổi 4-5 kg lúc 8 tháng đạt 35-40 kg. Khi nuôi Lợn Sóc ở 2 phương thức khác nhau (nuôi nhốt theo tiêu chuẩn ăn của lợn nội và nuôi thả rông theo tập quán của nông dân) có tốc độ sinh trưởng khác nhau khá rõ, 12 tháng tuổi nuôi theo tiêu chuẩn có khối lượng 40,42 kg/con, trong khi đó nuôi thả rông chỉ đạt 30,57 kg. Tốc độ tăng trọng trung bình từ 2-24 tháng tuổi nuôi theo tiêu chuẩn là 121 g/ngày, trong khi đó nuôi thả rông chỉ đạt 95 g/ngày (Trương Tấn Khanh, 2013).

Hướng sử dụng

Nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản.

1.2.12. Giống lợn Ba Xuyên

Nguồn gốc và phân bố

Giống Ba Xuyên được hình thành vào cuối thế kỷ 19, từ một giống lợn có màu da đen tuyền cho lai với lợn lang từ đảo Hải Nam đưa vào vùng Hậu Giang rồi tiếp tục lai với các giống lợn từ Pháp đưa vào như lợn Craonais, Berkshire, Tamworth...(Lê Viết Ly và cs., 1999).

Trước kia lợn Ba Xuyên được nuôi rải rác ở các tỉnh Vĩnh Long, Cần Thơ, Tiền Giang, Kiên Giang, An Giang, Long An, Đồng Tháp....Hiện nay giống lợn này chỉ còn số ít được nuôi tập trung nhiều ở huyện Kế Sách tỉnh Sóc Trăng.

Đặc điểm ngoại hình

Phần lớn lợn Ba Xuyên có cả bông đen và bông trắng trên cả da và lông, phân bố xen kẽ nhau. Đầu to vừa phải, mặt ngắn, mõm hơi cong, trán có nếp nhăn, tai to vừa và đứng. Bụng to nhưng gọn, hông rộng. Chân ngắn, móng xoè, chân chữ bát và đi móng, đuôi nhỏ và ngắn.

Khả năng sản xuất

Tuổi động dục lần đầu vào 6-7 tháng, số con sơ sinh/ổ đạt 8-9 con. Số con cai sữa/ổ lúc 60 ngày tuổi được 7-8 con. Khối lượng sơ sinh/ổ là 5,5-5,6 kg, khối lượng cai sữa/ổ 40-50 kg.

Khối lượng lúc 2 tháng tuổi: 6-8 kg/con, khối lượng 8 tháng tuổi: 55-65 kg/con. Lợn Ba Xuyên dễ nuôi chịu đựng kham khổ tốt, thích nghi với phương thức chăn thả ở vùng ven biển, phèn, mặn (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Hướng sử dụng

Sử dụng trong một số công thức lai lợn nội khác để nâng tầm vóc những giống lợn địa phương có khối lượng thấp hơn.

1.2.13. Giống lợn Bản

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Bản Sơn La là giống lợn địa phương của các đồng bào dân tộc tỉnh Sơn La, nó được gọi bằng nhiều tên khác nhau: Lợn Bản, lợn dân, giống lợn này được nuôi thuần từ rất lâu đời ở các bản người dân tộc thiểu số. Trước năm 1990 lợn được nuôi thả tự do trong các bản và trong rừng, người dân tộc chỉ gọi lợn theo màu lông của nó (lợn đen). Từ những năm 1990, người Kinh vào các bản mua giống lợn này và gọi là lợn Bản. Lợn Bản Sơn La được nuôi chủ yếu tại các bản thuộc hai nhóm dân tộc Thái và H'mông của tỉnh Sơn La.

Đặc điểm ngoại hình

Lợn Bản có lông và da đen tuyền, có vệt trắng ở trán, ở 4 chân và chóp đuôi (97%). Một số có đốm trắng ở trán, vai, chân và bụng (3%). Lợn Bản không có bờm. Mõm nhọn và nhỏ, mặt và đầu nhỏ dài, tai nhỏ, đứng, bụng thon gọn, 4 chân nhỏ và cao, móng đứng, tầm vóc nhỏ.

Khả năng sản xuất

Tuổi động dục lần đầu: 5-6 tháng, số con sơ sinh sống/ổ đạt 6-6,5 con/ổ. Khối lượng sơ sinh/ổ: 2,5-3 kg, khối lượng cai sữa/ổ 22-26 kg. Tốc độ sinh trưởng chậm. Khối lượng lúc hai tháng tuổi là 4,4 kg/con, khối lượng lúc 8 tháng tuổi 28-32 kg/con. Thích nghi khí hậu vùng núi cao, chịu đựng kham khổ, rất ít khi bị bệnh. Chất lượng thịt chắc, thơm ngon ngọt (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Hướng sử dụng

Nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản.

1.2.14. Giống lợn Vân Pa

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Vân Pa là giống lợn địa phương tồn tại và gần bó từ lâu đời với tộc người Pako, Vân kiều. Giống lợn Vân Pa được phân bố rải rác dọc theo dải Trường Sơn tập trung ở 32 xã của 2 huyện Hướng Hoá, Đak Rông và 3 xã của 2 huyện Vĩnh Linh và Gio Linh.

Đặc điểm ngoại hình

Lông đen, chắc khoẻ, đặc điểm nổi bật là bố trí chân 3 lông mọc 3 lỗ khác nhau nhưng gần nhau tạo hình tam giác đều đặn chĩa ra 3 phía. Hình dáng thon, đầu nhỏ, mặt thẳng gần giống đầu chó, tai nhỏ dày và chĩa thẳng ra hai bên, lưng

thẳng, mông vai bằng nhau, bụng không chạm đất, chân thon nhỏ và cao. Tầm vóc nhỏ.

Khả năng sản xuất

Khả năng sinh sản trung bình. Tuổi động dục lần đầu: 7-8 tháng; số con sơ sinh/ổ đạt 5-8 con/ổ. Số con cai sữa/ổ lúc 60 ngày tuổi: 4-7 con. Khối lượng sơ sinh/ổ: 2-4 kg. Khối lượng cai sữa/ổ 16-30 kg. Khối lượng 2 tháng tuổi đạt 3,2-4 kg/con. Khối lượng 8 tháng tuổi khoảng 20-25 kg/con. (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Hướng sử dụng

Nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản.

1.2.15. Giống lợn Chur Prông

Nguồn gốc và phân bố

Lợn Chur Prông có nguồn gốc tại huyện Chur Prông tỉnh Gia Lai. Hiện nay chỉ còn ở xã Ia Kly là nuôi giống lợn này.

Đặc điểm ngoại hình

Giống lợn này toàn thân trắng và có các đốm đen mờ ở mắt, trán và lưng. Đầu hơi nhỏ, mõm dài, tai thẳng đứng, mặt hơi nhẵn, lưng thẳng, bụng khá thon. Lợn có 10-12 vú, chân to, khỏe và vững chắc. Tầm vóc nhỏ.

Khả năng sản xuất

Sinh sản trung bình, số con sơ sinh sống/ổ là 6-8 con. Khối lượng sơ sinh 0,45kg/con, khối lượng cai sữa 56 ngày đạt 4kg/con. Sinh trưởng kém, khối lượng 8 tháng tuổi 25-30 kg/con. Thích nghi với khí hậu vùng núi cao, chịu đựng kham khổ, rất ít khi bị bệnh, thịt thơm ngon (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013).

Hướng sử dụng

Nuôi khai thác lấy thịt theo hướng hàng đặc sản.

Bảng 1.1. Tổng hợp đặc điểm ngoại hình, khả năng sản xuất và hướng sử dụng của 15 giống lợn nội

Giống lợn	Màu sắc lông, da	Tầm vóc	Khả năng sinh sản	Khả năng sinh trưởng	Hướng sử dụng
Móng Cái	Lang trắng đen, khoang trắng yên ngựa đặc trưng.	Tương đối lớn, hướng mỡ	Sinh sản tốt, mắn đẻ, nuôi con khéo. Số con sơ sinh sống/ổ cao (11-13 con/ổ).	Khối lượng lúc 2 tháng tuổi nặng 6 kg và 10 tháng tuổi đạt 80-85 kg.	Chăn nuôi nái sinh sản, làm nền lai tạo.
Hạ Lang	Lang trắng đen, khoang yên ngựa không điển hình	Tầm vóc lớn, hướng mỡ	Sinh sản tốt. Mỗi lứa đẻ có thể đạt 11-16 con/lứa	Lợn con ở 40 ngày tuổi 6.09 kg, đến 10 tháng tuổi đạt 46,33 kg.	Chăn nuôi nái sinh sản, làm nền lai tạo.
Hương	Phân thân và 4 chân trắng, da màu đen ở mõng và ở đầu	Tầm vóc trung bình, tương đối nạc.	Sinh sản khá. Số con sơ sinh/ổ đạt 6-8 con	Sinh trưởng trung bình, khối lượng lúc 8 tháng tuổi: 35-45kg/con.	Làm nái nền lai tạo và sản xuất hàng đặc sản.
Táp Ná	Da và lông đen,	Tầm vóc	Sinh sản tốt. Số con sơ sinh	Khối lượng lúc 2 tháng	Nuôi lấy thịt theo

	có 6 điểm trắng: giữa trán, 4 cặp chân và chóp đuôi	trung bình, hướng nạc	sống/ổ đạt 6-9 con/ổ. Khối lượng sơ sinh/ổ: 3,5-5 kg/con	tuổi: 4-5 kg/con, khối lượng 8 tháng tuổi: 30-40 kg/con	hướng sản xuất hàng đặc sản
Lũng Pù	Da và lông đen trừ 6 điểm trắng: giữa trán, 4 cặp chân và chóp đuôi	Tầm vóc tương đối lớn, hướng nạc	Sinh sản Trung bình, đẻ từ 6 đến 10 con/ổ. Khối lượng sơ sinh là 0,5-0,7 kg.	Khối lượng lúc 2 tháng: 5-6 kg/con, khối lượng 8 tháng tuổi 35-45 kg/con	Nuôi lấy thịt theo hướng sản xuất hàng đặc sản
Hung	Lông màu hung đỏ hoặc nâu nhạt, lông cứng và dài	Tầm vóc nhỏ, hướng nạc	Sinh sản kém. Tuổi đẻ lứa đầu 12 tháng, số con sơ sinh sống/ổ đạt 6-8 con.	Sinh trưởng chậm, khối lượng một năm tuổi đạt bình quân 45-55 kg.	Nuôi lấy thịt theo hướng sản xuất hàng đặc sản
Mường Khương	Màu sắc lông da là đen tuyền hoặc đen có đốm trắng ở đầu, đuôi	Tầm vóc to nhưng mình lép, hướng nạc	Sinh sản kém. Số con đẻ ra và nuôi sống thấp (5con/lứa). Khối lượng sơ sinh khá cao (0,6 kg)	Sinh trưởng chậm. Sau 12 tháng khối lượng trung bình trên 90 kg.	Nuôi lấy thịt theo hướng sản xuất hàng đặc sản

Lửng	Da và lông đen	Tầm vóc nhỏ, hướng nạc	Sinh sản trung bình, số con sơ sinh/ổ: 5-8 con/ổ. Số con cai sữa/ổ lúc 60 ngày tuổi: 4-7 con.	Khối lượng lúc 2 tháng tuổi: 4-5 kg/con, khối lượng 8 tháng tuổi: 25-30 kg/con	Nuôi lấy thịt theo hướng sản xuất hàng đặc sản
Mèo	Lông da màu đen, thường có 6 điểm trắng ở 4 chân, trán và đuôi	Tầm vóc lớn, hướng nạc	Sinh sản kém, số con sơ sinh trung bình 6-7 con/ổ, tỷ lệ nuôi sống thấp.	Khối lượng 2 tháng tuổi đạt 4-4,5 kg. Khối lượng 8 tháng tuổi đạt 40 kg.	Nuôi lấy thịt sản xuất hàng đặc sản.
Cỏ	Da và lông đen tuyền	Tầm vóc nhỏ, hướng nạc	Sinh sản kém mỗi lứa chỉ 6 - 7 con. Khối lượng sơ sinh 0,4 kg	Khối lượng lúc 2 tháng khoảng 4,5 kg. Khối lượng 8 tháng tuổi đạt 45 kg	Nuôi lấy thịt theo hướng hàng đặc sản
Sóc	Da và lông đen tuyền. Da dày và lông nhọn, thẳng.	Tầm vóc nhỏ, hướng nạc	Sinh sản khá thấp số con trên lứa 6,25 con. Tỷ lệ nuôi sống rất thấp chỉ đạt trung bình 70%.	Sinh trưởng chậm. Khối lượng 2 tháng tuổi 4-5 kg lúc 8 tháng đạt 35-40 kg.	Nuôi lấy thịt theo hướng hàng đặc sản

Ba Xuyên	Đốm lang trắng đen dạng bông điển hình.	Tầm vóc lớn, hướng mỡ	Sinh sản tốt, số con sơ sinh/ổ đạt 8-9 con. Số con cai sữa/ổ lúc 60 ngày tuổi được 7-8 con.	Khối lượng lúc 2 tháng tuổi: 6-8 kg/con, khối lượng 8 tháng tuổi: 55-65 kg/con	Chăn nuôi nái sinh sản
Bản	Lông da màu đen, thường có 6 điểm trắng ở 4 chân, trán và đuôi	Tầm vóc nhỏ, hướng nạc.	Sinh sản trung bình, số con sơ sinh sống/ổ đạt 6-6,5 con/ổ.	Tốc độ sinh trưởng chậm. Khối lượng lúc 2 tháng là 4,4 kg/con, lúc 8 tháng tuổi đạt 28-32 kg/con.	Nuôi lấy thịt theo hướng hàng đặc sản
Vân Pa	Da và lông đen toàn thân	Tầm vóc nhỏ, hướng nạc	Sinh sản trung bình, số con sơ sinh/ổ đạt 5-8 con/ổ.	Khối lượng 2 tháng tuổi đạt 3,2-4 kg/con, lúc 8 tháng tuổi đạt 20-25 kg/con.	Nuôi lấy thịt theo hướng hàng đặc sản
Chư Prông	Toàn thân trắng và có các đốm đen mờ ở mắt, trán và lưng.	Tầm vóc nhỏ, hướng nạc	Sinh sản trung bình, số con sơ sinh sống/ổ là 6-8 con.	Sinh trưởng kém, khối lượng cai sữa 56 ngày đạt 4kg/con, lúc 8 tháng đạt 25-30 kg/con.	Nuôi lấy thịt theo hướng hàng đặc sản

1.3. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC

1.3.1. Nghiên cứu trên thế giới

1.3.1.1. Nghiên cứu sử dụng các chỉ thị microsatellite để đánh giá đặc điểm di truyền ở một số giống lợn

Thuật ngữ microsatellite được Litt và Luty giới thiệu vào năm 1989 nhằm chỉ các trình tự ADN lặp lại một cách có trật tự (Tandemly repeated DNA sequence), có độ dài chỉ vài base pair (2-6 bp), có tính đa hình cao và có thể được nhân lên bằng phản ứng PCR. Các microsatellite phân bố trên toàn bộ hệ gen, tập trung thành những đoạn có kích thước khoảng < 400 bp và được tìm thấy trong tất cả cơ thể sống đặc biệt là ở những cơ thể sống có bộ gen lớn. Trước đây microsatellite được gọi bằng một số thuật ngữ như: các trình tự đơn giản lặp lại (SSRs), các chuỗi lặp lại có trật tự ngắn (STRs), các dạng chuỗi đơn giản (SSMs), hoặc các chuỗi lặp lại 2 nucleotide (di-nucleotide repeat), 3 nucleotide (tri-nucleotide repeat), 4 nucleotide (tetra-nucleotide repeat) phụ thuộc vào độ dài các đơn vị lặp lại của chúng (Andrew H. Paterson, 1996). Ngày nay, người ta thường sử dụng thuật ngữ microsatellite để thay thế cho tất cả những thuật ngữ trên. Trong hệ gen microsatellite được phân bố rất đều và ngẫu nhiên trên toàn genome, người ta thấy rằng trung bình cứ 10000 nucleotide thì gặp một trình tự microsatellite. Những đoạn lặp lại của polyA/polyT là kiểu phổ nhất trong tất cả các bộ gen nhưng tần số phân bố giữa các loài rất khác nhau ngoài ra còn có một số kiểu lặp lại phổ biến khác như kiểu lặp lại 2 nucleotide như (CA)/(GT). Số lượng đơn vị lặp của các trình tự lặp tạo nên sự đa hình độ dài microsatellite. Phân loại microsatellite thành 3 dạng chính sau: đoạn lặp lại hoàn hảo (không bị gián đoạn); đoạn lặp lại không hoàn hảo (bị gián đoạn bởi các base không lặp lại) và đoạn lặp lại hỗn hợp (kết hợp nhiều loại lặp lại)

Ví dụ:

CACACACACACA

(Hoàn hảo)

CACATTCACACATTCATT

(Gián đoạn, chèn TT)

CACACACAGAGAGA

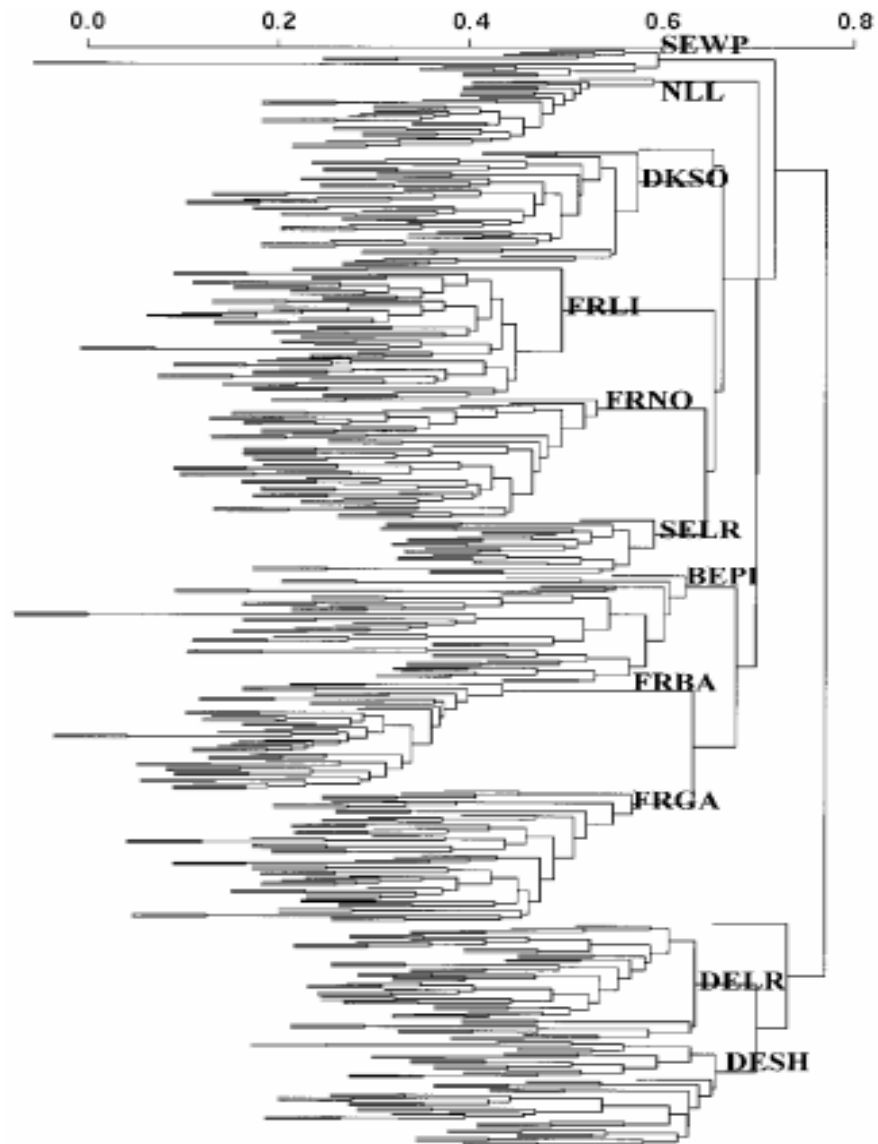
(Phối hợp giữa CA và GA)

Ngoài ra, căn cứ vào cấu tạo của đơn vị lặp lại, chúng ta có các chuỗi lặp lại 2 nucleotide (di-nucleotide repeat), chuỗi lặp lại 3 nucleotide (tri-nucleotide repeat) và chuỗi lặp lại 4 nucleotide (tetra-nucleotide repeat).

Để xác định đa hình microsatellite, cặp mồi đặc hiệu với 2 vùng sườn của trình tự lặp được sử dụng để nhân đoạn gen chứa trình tự lặp bằng PCR, chính sự khác nhau trong số lượng đơn vị lặp tạo ra sự khác nhau trong kích thước đoạn gen được nhân lên và được phát hiện bằng điện di trên gel polyacrylamide nhuộm bạc hoặc sử dụng mồi đánh dấu huỳnh quang trong điện di mao quản. Các chỉ thị phân tử này là công cụ hữu ích để đánh giá mức độ đa hình di truyền và sai khác di truyền nguồn gen trong cùng một quần thể và giữa các quần thể. Chỉ thị microsatellite, do bản chất đa hình cao, tập trung và phân bố trên toàn bộ hệ gen và dễ dàng xác định được kiểu gen, đã được ứng dụng rộng rãi trong các nghiên cứu đánh giá mức độ đa dạng di truyền nguồn gen, khác biệt di truyền giữa các giống, đặc trưng giống ở nhiều loài vật nuôi khác nhau. Một trong những kết quả đầu tiên phân tích đa dạng di truyền các giống lợn dựa trên chỉ thị microsatellite chính là một phần trong chương trình phân tích genome lợn.

Laval và cs. (2000) sử dụng 18 microsatellite để xác định đa dạng di truyền và so sánh sự sai khác di truyền của 11 giống lợn nuôi tại các nước châu Âu khác nhau. Kết quả chỉ ra rằng tần số dị hợp tử của các microsatellite trong các giống lợn nghiên cứu là từ 0,35 đến 0,65 và tần số kiểu gen đều cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg. So sánh sự khác biệt di truyền giữa các giống cho thấy sự khác biệt giữa các giống nghiên cứu là rõ rệt. Khoảng cách

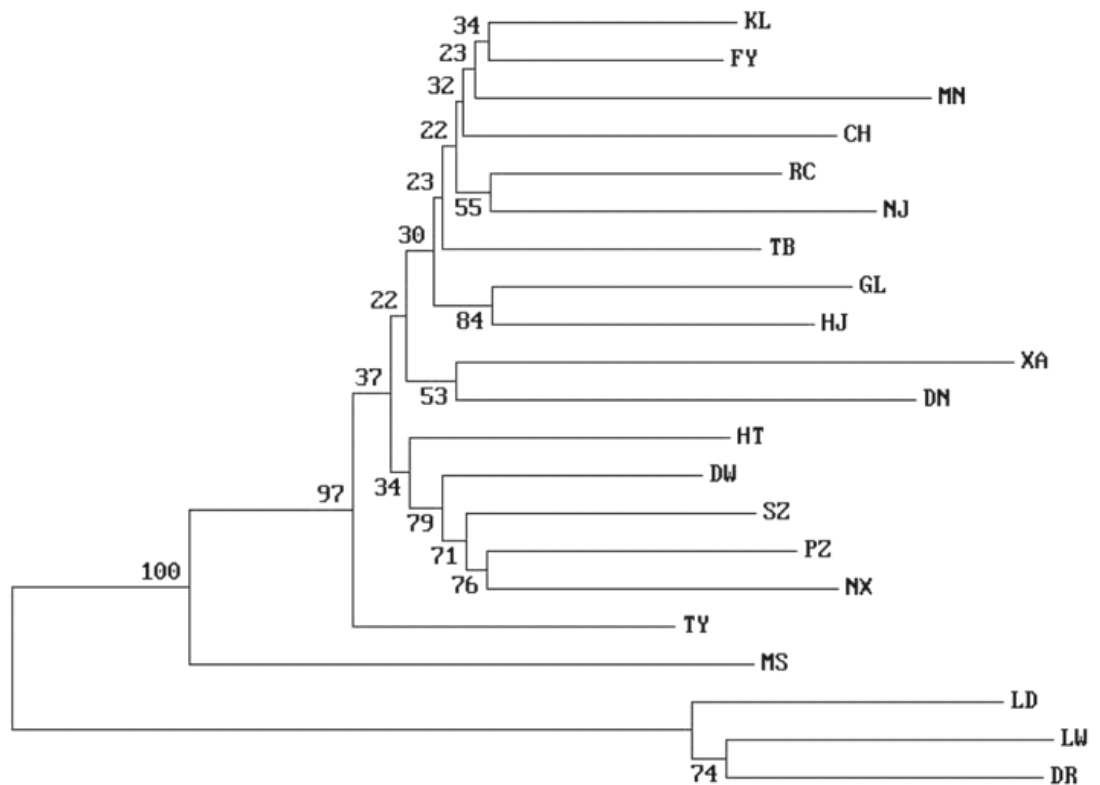
di truyền của các giống này là rất xa, dựa trên khoảng cách di truyền giữa các giống cây quan hệ di truyền được thiết lập cho thấy 11 nhánh khác nhau tương ứng 11 giống (hình 1.2).



Hình 1.2. Quan hệ di truyền giữa 11 giống lợn châu Âu dựa trên khoảng cách di truyền của từng cá thể (Laval và cs., 2000)

Yang và cs. (2003) đã sử dụng 26 microsatellite để xác định, đánh giá đa dạng di truyền của 18 giống lợn nội của Trung Quốc và 3 giống lợn ngoại. Dựa trên sự phân tích đa hình microsatellite tác giả so sánh, đánh giá sự sai

khác di truyền của từng giống lợn nghiên cứu. Tần số dị hợp tử lý thuyết của các giống này là từ 0,70 đến 0,87, điều này chứng tỏ sự đa dạng về mặt di truyền giữa các giống lợn này là lớn. Chỉ số về sai khác di truyền của các giống này (F_{st} trên/locus) biến thiên từ 0,019 đến 0,170 và trung bình trên tất cả các locus là 0,077. Dựa trên khoảng cách di truyền giữa các giống tác giả cũng chỉ ra rằng tất cả các giống lợn nội này nằm trong cùng một nhóm lớn và sau đó chia ra 4 nhóm nhỏ hơn, trong mỗi nhóm nhỏ này có từ 2 đến 4 giống (hình 1.3).



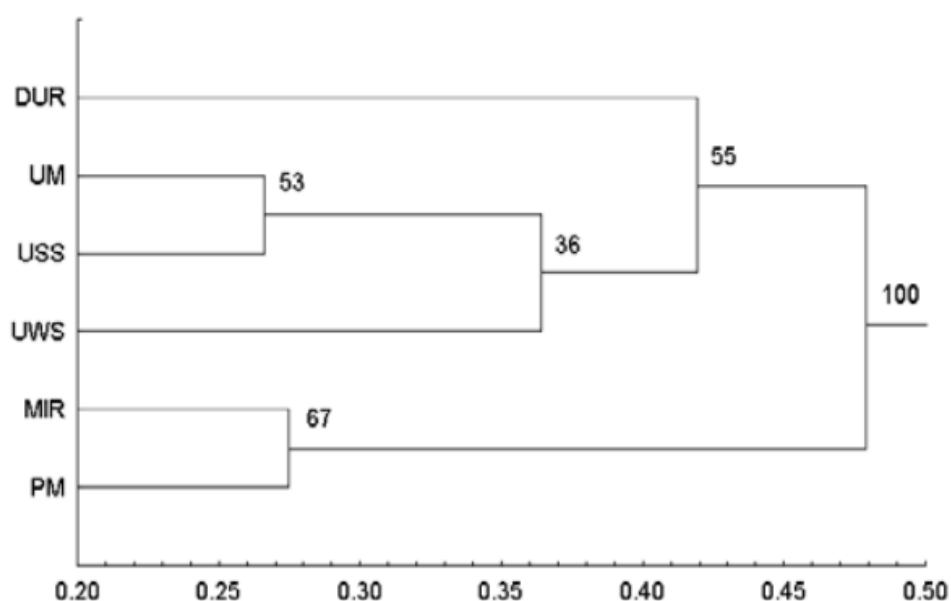
Hình 1.3. Cây quan hệ di truyền giữa 18 giống lợn bản địa Trung Quốc và 3 giống lợn ngoại (Yang và cs., 2003)

Tác giả chỉ ra rằng sự phân loại này không hoàn toàn giống như sự phân loại theo cách truyền thống trước đây dựa vào đặc điểm ngoại hình là chính và 18 giống lợn này có thể có chung một tổ tiên, mặc dù chúng có

những đặc điểm ngoại hình không thực sự giống nhau do quá trình tiến hóa, sự biến dị di truyền đã làm chúng có những thay đổi.

Li và cs. (2004) sử dụng 20 microsatellite để xác định sự đa dạng di truyền, sai khác di truyền và so sánh sự sai khác đó giữa 10 giống lợn nội của Trung Quốc. Về mặt hình thái và đặc điểm ngoại hình một số giống trong 10 giống này khó phân biệt được sự khác nhau, chúng được nuôi ở những vùng khác nhau và được gọi bằng những tên khác nhau, nhưng khi phân tích sử dụng các chỉ thị microsatellite kết quả cho thấy 10 giống này chỉ được xếp vào hai nhóm khác nhau dựa trên sự tính toán, xác định khoảng cách di truyền giữa các giống. Tác giả kết luận rằng nếu chỉ căn cứ vào đặc điểm hình thái và ngoại hình thì chúng ta khó có thể phân biệt được chính xác sự sai khác giữa các giống. Kim và cs. (2005) đã sử dụng 16 microsatellite để xác định đặc tính di truyền và so sánh sự sai khác và đa dạng di truyền của 9 giống lợn ở mức độ phân tử. Trong 9 giống lợn bao gồm 2 giống của Triều Tiên (một giống lợn nuôi đã thuần hoá và một giống hoang dã), 3 giống của Trung Quốc và 4 giống của châu Âu. Kết quả chỉ ra rằng nhóm giống lợn của Triều Tiên là ở mức trung gian về cấu trúc di truyền giữa nhóm giống lợn Châu Âu và nhóm lợn Trung Quốc. Tuy nhiên giống lợn Triều Tiên này có quan hệ di truyền gần với lợn ngoại châu Âu (Birshire và Landrace), tác giả cho rằng đây là những thông tin có giá trị về mặt di truyền để đề ra phương hướng bảo tồn và cải tiến tiến bộ di truyền của 2 giống lợn nội Triều Tiên này. Swart và cs. (2010) đã xác định đa dạng di truyền và sai khác di truyền của 3 quần thể lợn miền nam châu Phi (lợn Mozambique, lợn Namibia và lợn Nam Phi) và 3 quần thể lợn nhập ngoại (Large White, Landrace và Duroc). Tác giả đã xác định mức độ đa hình của 39 microsatellite và so sánh sự đa dạng di truyền của các giống lợn thông qua việc xác định tần số dị hợp tử của các giống này. Khi so sánh đa dạng di truyền giữa các giống nội châu Phi, kết quả chỉ ra rằng giống

lợn Mozambic có tần số di hợp tử cao nhất (0,692) sau đó là giống lợn Nam Phi (0,634) và thấp nhất là giống lợn Namibia (0,531), điều này chứng tỏ rằng ba giống lợn châu Phi này có sự đa dạng di truyền rất cao và tiềm năng nguồn di truyền là rất lớn, để chọn lọc theo các hướng chuyên dụng phục vụ sản xuất, đồng thời bảo tồn và sử dụng hợp lý nguồn tài nguyên. Wang và cs. (2011) sử dụng 26 microsatellite để đánh giá sự đa dạng di truyền 6 giống lợn nội màu đen ở tỉnh Shangdong, Trung Quốc và 3 giống lợn ngoại (Landrace, Yorkshire, Duroc). Tác giả chỉ ra rằng mức độ đa dạng di truyền ở các giống lợn nội này là cao (tần số dị hợp tử quan sát được từ 0,549 đến 0,775) và sự khác biệt trong cùng giống là lớn ($F_{st} = 0,188$). Các giống lợn nội tỏ ra có ưu thế hơn về đa dạng di truyền so với các giống ngoại. Phân tích mối quan hệ di truyền giữa các giống tác giả thấy rằng 6 giống lợn nội này nằm trong 2 nhóm. Một nhóm gồm 4 giống đã bị lai tạp với lợn ngoại mang nhiều nguồn gen từ lợn ngoại cũng như là nguồn gen giữa chúng đã bị pha tạp. Nhóm khác gồm hai giống, nhóm này vẫn còn giữ được nguồn gen thuần chưa bị lai tạp với giống ngoại cũng như các giống nội khác từ đó làm cơ sở cho các nhà bảo tồn duy trì và lai tạo theo hướng bảo tồn nguồn gen của các giống lợn nội này tránh bị lai tạo pha tạp với các giống lợn khác. Từ đó tác giả cũng đưa ra lời khuyên cáo cần bảo tồn nguồn gen của các giống lợn bản địa của tỉnh Shangdong để duy trì những nguồn gen quý của những giống này. Kramarenko và cs. (2018) đã đánh giá đa dạng di truyền một số giống lợn bản địa của Ukraina dựa trên 12 chỉ thị microsatellite. Kết quả cho thấy 5 giống bản địa của Ukraina có đa dạng khá cao. Kết quả phân tích cấu trúc di truyền giữa các giống lợn rất có ý nghĩa trong việc bảo tồn và sử dụng nguồn gen lợn bản địa của Ukraina (hình 1.4).



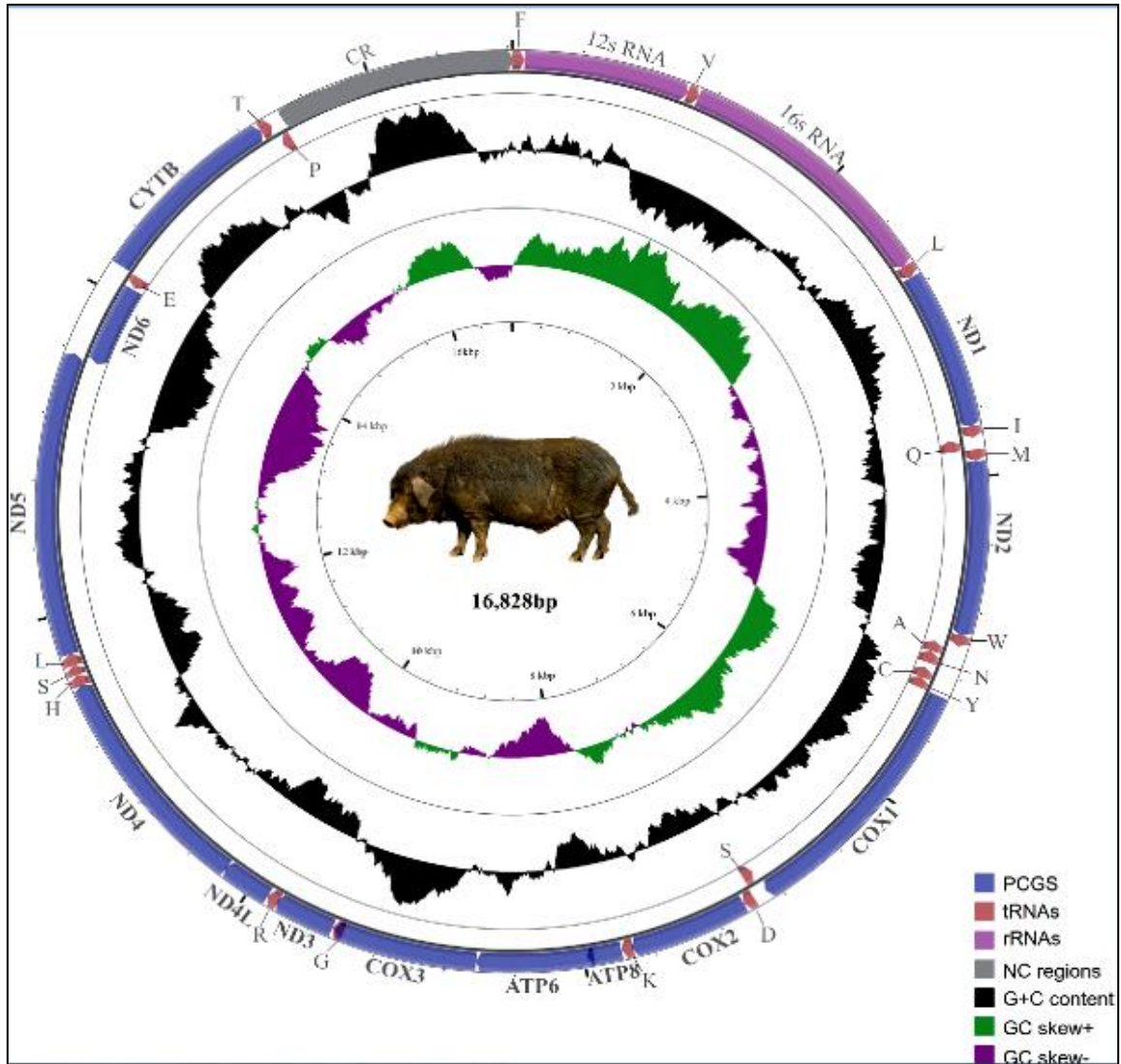
Hình 1.4. Cây quan hệ di truyền giữa 6 giống lợn bản địa Ukraina (Kramarenko và cs., 2018)

Dựa trên sự phân tích đa hình các alen của microsatellite thông qua xác định tần số alen quan sát được và alen lý thuyết, tần số dị hợp tử quan sát và lý thuyết, chỉ số đa hình nguồn gen (PIC), các hệ số F_{st} , F_{is} , khoảng cách di truyền và sự sai khác di truyền của từng quần thể và giữa các quần thể lợn với nhau, từ đó xác định được sự đa dạng di truyền của từng giống, từng quần thể nghiên cứu. Điều này giúp cho các nhà chăn nuôi hiểu rõ hơn và phân biệt được mối quan hệ về nguồn gen di truyền của các giống lợn, nó cũng giúp để xây dựng, phát triển một kế hoạch bảo tồn, duy trì và sử dụng nguồn tài nguyên di truyền của các giống lợn, đặc biệt là các giống nội địa có những nguồn gen quý cần được duy trì và bảo tồn để phát triển nền chăn nuôi lợn bền vững.

1.3.1.2. Một số nghiên cứu về gen Cytochrome B ty thể

Ty thể là bào quan nằm trong tế bào chất của sinh vật nhân chuẩn và di truyền theo dòng mẹ, độc lập với gen trong nhân tế bào. Chức năng chính của ty thể là sản sinh ra phân tử cao năng ATP thông qua quá trình hô hấp tế bào.

Hệ gen ty thể của lợn có cấu tạo ADN mạch vòng với kích thước khoảng 16,8 kb với 37 gen mã hóa 13 chuỗi polypeptide, 22 phân tử ARN vận chuyển và 2 phân tử ARN ribosome 16s và 12s (hình 1.5).



Hình 1.5. Cấu trúc hệ gen ty thể ở lợn (Tan và cs., 2018)

Gen *Cytochrome B* có chiều dài khoảng 1140 bp mã hóa phân tử *Cytochrome B* đảm nhận chức năng vận chuyển điện tử (proton H^+) trong chuỗi phản ứng oxy hóa khử để tổng hợp ATP. Đã có nhiều nghiên cứu về di truyền quần thể và phân loại học áp dụng thông tin trình tự gen *Cytochrome B* trong nghiên cứu. Giuffra và cs. (2000) đã giải trình tự gen *Cytochrome B* nhằm xác định những biến dị cũng như cây phát sinh loài giữa các loài lợn

bản địa trên thế giới, từ đó xác định được mức độ đa dạng cũng như nguồn gốc của loài lợn trên thế giới. Báo cáo này cũng cho thấy lợn nhà có nguồn gốc từ lợn rừng *S. Scrofa*, các bằng chứng về sự thuần hóa diễn ra độc lập từ các phụ của lợn hoang dã ở châu Âu và châu Á cũng được đưa ra. Dựa trên trình tự ADN ty thể có thể xác định được khoảng thời gian từ lúc phân rẽ thành nhánh lợn châu Âu và châu Á (Kim và cs., 2002). Sự đa dạng di truyền trong hệ gen ty thể cũng được xác định trong 17 giống lợn bản địa Trung Quốc và 3 giống phương Tây. Kết quả cho thấy có sự khác biệt di truyền lớn giữa lợn châu Âu và lợn châu Á. Alves và cs. (2003) đã sử dụng trình tự ADN gen *cytochrome b* (1140 bp và vùng kiểm soát (707 bp) để xác định mối quan hệ phát sinh loài trong số 10 giống lợn bản địa, và lợn rừng Châu Âu và Châu Á. Kết quả cho thấy có di nhập gen mtADN từ lợn rừng Châu Á vào giống lợn Iberian. Sự phân ly của các giống lợn này được ước tính cách đây khoảng 600 ngàn năm. Trong nghiên cứu của Clop và cs. (2004) đã phân tích bốn điểm SNP trên gen *Cytochrome B* ở các giống lợn Châu Á và Châu Âu. Kết quả cho thấy các giống lợn có nguồn gốc từ Châu Á có 2 haplotype (A1 và A2) và 2 haplotype ở châu Âu (E1 và E2). Tác giả đã tìm thấy sự pha trộn các haplotype châu Á và châu Âu ở lợn đen Canary (E1, A1 và A2), Đức Pietrain (E1, A1 và A2), Bỉ Pietrain (E1, A1), Large White (E1 và A1) và Lanvrace (E1 và A1). Ngược lại, giống lợn Iberia (Guarderias, Ervideira, Caldeira, Campanario, Puebla và Torbiscal) và các giống lợn đen Majorcan chỉ hiển thị các haplotype E1. Kết quả cho thấy rằng có sự di nhập gen từ giống lợn của Trung Quốc gây ảnh hưởng hầu hết các giống tiêu chuẩn của Châu Âu. Fang Meiyang và Andersson Leif (2006) nghiên cứu đa dạng gen *Cytochrome b* ty thể trên 21 giống lợn Trung Quốc và 45 giống lợn Châu Âu. Các haplotype ở giống lợn Châu Á được tìm thấy ở các giống lợn Châu Âu, có sự tương đồng và gần gũi với các giống lợn bản địa ở Đông Nam Trung Quốc. Ramayo và

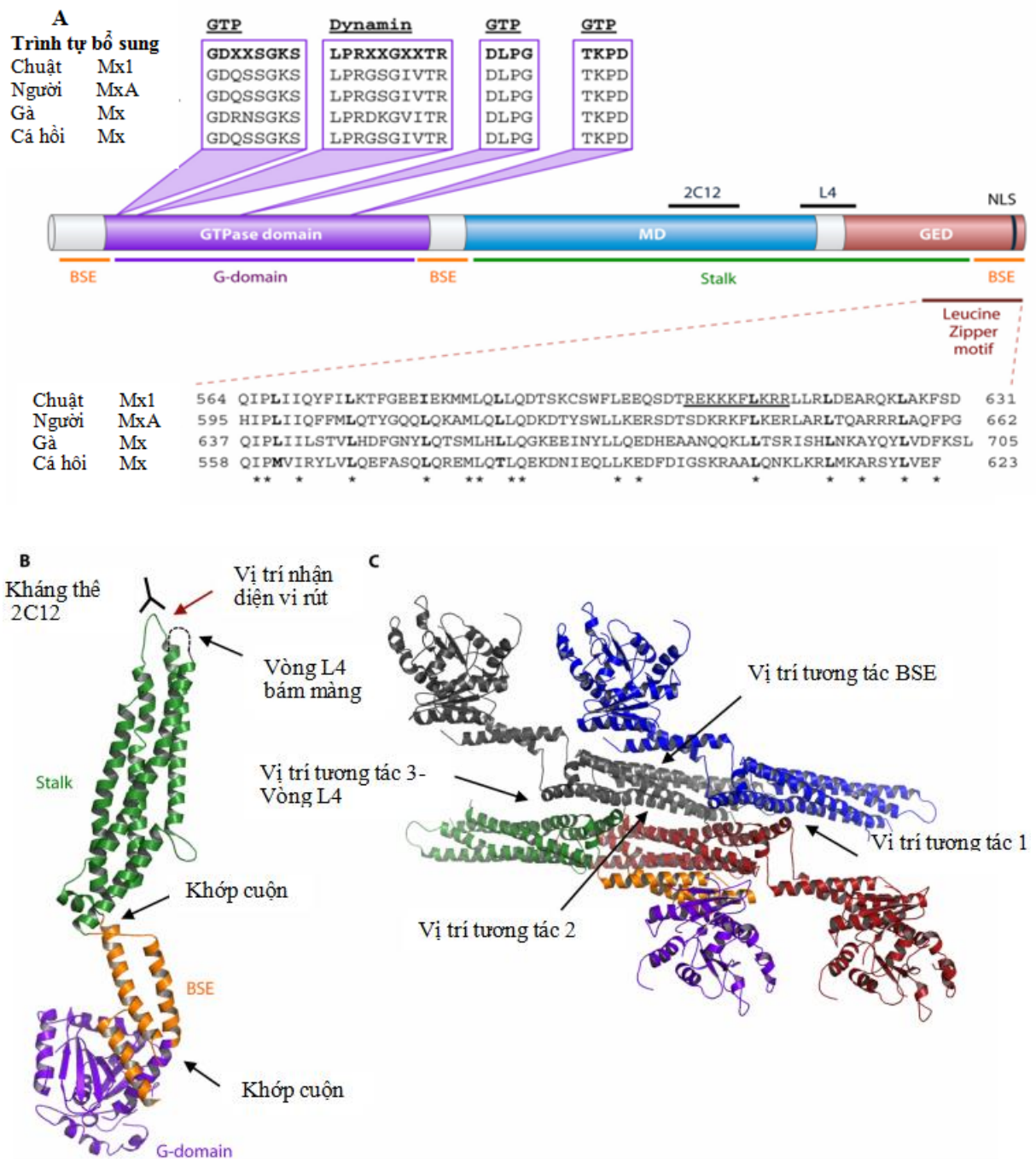
cs. (2010) đã nghiên cứu *cytochrome b* và vùng D-loop của lợn rừng ở vùng Primorsky (Nga). Những kết quả thu được từ phân tích trình tự cho thấy các loài lợn rừng ở vùng này có quan hệ gần gũi. Bảy trong số 14 loài lợn rừng ở đây có nguồn gốc từ một loài lợn rừng Trung Quốc. Tại Ấn Độ, lợn rừng là một loài được bảo vệ. Tuy nhiên, lợn rừng thường bị săn bắn trái phép và được bán ra thị trường như thịt lợn nuôi đã được đảm bảo về pháp luật. Để tránh nhầm lẫn Gupta và cs. (2013) đã phân biệt đặc điểm di truyền giữa lợn rừng và lợn nuôi bằng cách phân tích trình tự đoạn 421 bp trên gen *Cyt B* ty thể. Tính biến dị di truyền giữa lợn rừng và lợn nuôi là $> 3\%$, có 9 điểm đa hình. Kết quả nghiên cứu rất hữu ích cho việc giám định pháp y trên các mẫu sinh học. Ngoài ra kết quả cũng cho biết lợn nuôi ở Ấn Độ không phải là hậu duệ của lợn rừng Ấn Độ. Jnyanashree và cs. (2015) đã thực hiện một nghiên cứu với mục đích tìm ra các điểm đa hình trên gen *Cytochrome B* và giải mã mối quan hệ tiến hóa trong số các quần thể lợn bản địa Ấn Độ (Ghungroo, Meghalaya và Nagaland.... Phân tích trình tự cho thấy 4 điểm đa hình đơn SNPs 47(C), 49(A), 52(T) và 56(A) tương ứng với các vị trí 15036, 15038, 15041 and 15045 trên hệ gen ty thể. Kết quả chứng tỏ lợn bản địa Ấn Độ có nguồn gốc Châu Á.

1.3.1.3. Một số nghiên cứu về gen MX trên lợn

Trên thế giới hiện nay đang tập trung nghiên cứu khả năng kháng vi khuẩn và vi rút trên các giống lợn. Có thể coi các gen kháng vi khuẩn *E.coli* và virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (PRRSV) là những đại diện cho những nghiên cứu về gen kháng bệnh ở lợn hiện nay. Đối với virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (PRRSV), các gen liên quan đến miễn dịch kháng vi rút như *MX* là một trong những gen ứng cử cho khả năng kháng bệnh này. Các nghiên cứu biểu hiện của gen ứng viên, nồng độ huyết thanh của các chỉ thị cytokine... đang được tiến hành trên các giống lợn được

gây nhiễm hay tiêm vắc xin PRRS. Tại Mỹ, một mạng lưới liên kết nghiên cứu khả năng ứng dụng các yếu tố di truyền của vật chủ trong phòng chống PRRS (the PRRS Host Genetics Consortium) được thành lập với các mục tiêu (1) tìm kiếm các gen của vật chủ quyết định tính kháng hay cảm nhiễm với PRRSV, (2) xác định tính khác biệt về di truyền của vật chủ trong đáp ứng với PRRSV và (3) đánh giá đặc điểm di truyền của các tính trạng kháng hay cảm nhiễm cho thế hệ sau. Vùng NST mang các gen quyết định tính kháng/tính cảm nhiễm; các gen, nhóm gen cùng quy định một tính trạng (quantitative trait loci), các alen và tính đa hình đơn (Single Nucleotide Polymorphisms - SNPs) đang được nghiên cứu (Lunney và cs., 2011).

Gen *MX* là gen kích thích sản sinh interferon – protein có vai trò kháng vi rút. Không giống như ở gia cầm, gen *MX* ở động vật có vú tồn tại hai dạng đồng hình là *MX1* và *MX2*. Ở người hai gen *MX* được xác định là *MXA* và *MXB*. Gen *MX1* là gen mã hóa phân tử protein MX lần đầu tiên được biết đến trong các nghiên cứu về kháng bệnh cúm ở chuột, sau đó được coi là một ứng cử gen quan trọng trong kháng sự xâm nhiễm vi rút ở động vật. Cấu trúc và so sánh tương đồng phân tử protein MX giữa một số loài thể hiện ở hình 1.6.



Hình 1.6. Cấu trúc của phân tử Protein MX. A- Cấu trúc phân tử Protein MX của chuột, người, gà và cá hồi. B- Cấu trúc 3D của Protein MX. C- Cấu trúc 3D bậc 3 của protein MXA (Verhelst và cs., 2013)

Trên lợn, gen *MX1* và *MX2* cùng nằm trên nhiễm sắc thể số 13 với tổng chiều dài 23200 bp (AB164037). Trong đó gen *MX1* có chiều dài mã hóa 2545 bp với 17 exon mã hóa phân tử protein *MX1* dài 663 axit amin. Li và cs. (2007) đã tách dòng và giải trình tự các exon 9,10,11 và intron 6, 9. Kết quả cho thấy một số đột biến điểm không làm thay đổi axit amin được tìm thấy trong các exon 9,10,11 và mười một đột biến điểm trong các intron 6,9. Tuy nhiên đột biến quan trọng trong intron 6 gây biến đổi A thành G tại vị trí 371 được phát hiện bằng phương pháp PCR-RFLP với enzyme giới hạn *SnaBI* được cho là điểm đa hình có ý nghĩa ở các giống lợn khác nhau. Một số giống lợn xuất hiện đột biến xen đoạn 275 bp ở vùng promoter của gen *MX1* cũng được báo cáo bởi hai tác giả Pena và cs. (2019) và Li và cs. (2015). Kết quả nghiên cứu cho thấy những cá thể mang kiểu gen BB (chứa đoạn chèn 275 bp vào vùng promoter của gen *MX1*) có khả năng kháng vi rút gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (hay còn gọi là bệnh tai xanh) hơn so với cá thể mang gen AA hoặc AB và đề cử là một trong những marker trong chọn lọc giống lợn kháng PRRSV. Morozumi và cs. (2009) đã tách dòng và phân tích đặc điểm cấu trúc của gen *MX2*. Kết quả đã tách dòng được cADN gen *MX2* dài 2680 bp với vùng khung đọc mở (ORF) dài 2136 bp (trình tự trên ngân hàng gen NCBI là AB258432) mã hóa phân tử protein có chiều dài 711 axit amin. Gen *MX2* có 14 exon và có sự tương đồng về trình tự nucleotide với gen *MX1* là 64,3%. Sasaki và cs. (2014) đã nghiên cứu đa hình gen *MX2* của lợn cho thấy tồn tại một đột biến điểm có vai trò rất quan trọng trong khả năng kháng vi rút giống như đột biến đổi axit amin ở vị trí 631 ở trên gà. Bằng phương pháp PCR-RFLP, tác giả đã nhân thành công đoạn gen *MX2* trên lợn dài 214 bp nằm trong vùng intron 10 và exon 11 của gen *MX2*. Sử dụng enzyme *XhoI* để cắt sản phẩm PCR, kết quả cho thấy xuất hiện đột biến gây biến đổi axit amin Arg tại vị trí 514 thành Gly (AGG bị thay thế bằng GGG) tại vị trí nhận biết của enzyme nên bị cắt thành 2 phân đoạn 191 và 23

bp. Kết quả nghiên cứu cho thấy các cá thể không mang đột biến (mang alen A không bị enzyme cắt) xuất hiện trong các giống lợn bản địa của Trung Quốc có khả năng kháng vi rút viêm nhiệt miệng hơn so với các giống lợn châu Âu mang alen G.

1.3.2. Nghiên cứu về di truyền phân tử trên lợn nội Việt Nam

1.3.2.1. Một số nghiên cứu đa dạng di truyền bằng chỉ thị microsatellite

Một số nghiên cứu ban đầu ở mức phân tử để đánh giá những đặc tính di truyền và sự đa dạng di truyền của một giống lợn nội của Việt Nam đã được một số tác giả trong và ngoài nước tiến hành. Thuy và cs. (2006) đã nghiên cứu, ứng dụng chỉ thị microsatellite trong phân tích, so sánh đa dạng nguồn gen của một số giống lợn Việt Nam với một số giống lợn châu Âu. Hai mươi microsatellite đã được sử dụng để đánh giá đa dạng nguồn gen và khoảng cách di truyền của 5 giống lợn nuôi tại phía Bắc, 2 giống ngoại nhập (Landrace và Yorkshire), 3 giống ngoại châu Âu (Landrace dòng Đức, Pietrain và Large White), lợn rừng châu Âu và lợn Meishan Trung Quốc. Kết quả phân tích chỉ ra mức độ đa dạng di truyền của các giống lợn nội Việt Nam là rất khác với các giống lợn ngoại thể hiện ở số lượng cũng như khoảng phân bố các alen, độ dị hợp tử. Nguyễn Văn Ba và cs. (2008) đã nghiên cứu xác định được 4 nhóm lợn màu trắng, lang trắng đen, nâu và đen nuôi tại tỉnh Hà Giang, kết quả cho thấy có sự khác nhau rõ rệt về di truyền giữa các nhóm lợn này và chúng đều có tính đa dạng di truyền cao thông qua phân tích đa hình 19 microsatellite. Đánh giá thực trạng về tính đa dạng di truyền của lợn đen Hà Giang thông qua một số chỉ thị microsatellite cũng được báo cáo bởi Berthouly và cs. (2012). Nghiên cứu cho thấy sự suy giảm đa dạng di truyền trong một số quần thể lợn ở tỉnh Hà Giang do giao phối không kiểm soát giữa lợn bản địa với lợn ngoại và cận huyết. Pham và cs. (2014) đã sử dụng 16 chỉ thị microsatellite để đánh giá đặc điểm di truyền và cấu trúc di truyền ở mức

độ phân tử của 5 giống lợn nội phía bắc Việt Nam. Kết quả cho thấy mức độ đa dạng di truyền cao của một số giống lợn ở các tỉnh phía Bắc Việt Nam (lợn Lũng Pù ở Hà Giang, lợn Mường Tè ở Lai Châu, lợn Lũng ở Phú Thọ và lợn Ha Lang ở Cao Bằng).

1.3.2.2. Những nghiên cứu đa dạng di truyền ty thể ở các giống lợn ở Việt Nam

Nguyễn Thị Phương Mai và cs. (2012) sử dụng trình tự gene *Cytochrome B* dài 552bp (từ vị trí 14750 đến 15301 của ADN ty thể) để đánh giá tính đa hình và mối quan hệ di truyền giữa các cá thể lợn rừng Tây Nguyên, lợn rừng lai và các cá thể lợn rừng khác trên thế giới. Kết quả sắp xếp cho thấy có 9 vị trí đa hình trong các haplotype lợn rừng, trong đó 3 vị trí đa hình đặc trưng cho các haplotype lợn rừng Tây Nguyên. Các vị trí đa hình 593, 621, 804 có thể tạo thành bộ đa hình đặc trưng cho lợn rừng Tây Nguyên và giúp phân biệt với các cá thể lợn rừng khác trên thế giới. So sánh trình tự *Cytochrome B* ty thể và đánh giá mối quan hệ phát sinh loài cho thấy lợn rừng Tây Nguyên (ở Bảo Lộc, Lạc Dương, tỉnh Lâm Đồng và Tánh Linh, tỉnh Bình Thuận) là một nhóm phân biệt với các quần thể lợn rừng khác trên thế giới như Hàn Quốc, Tây Ban Nha hay Uruguay thông qua việc các haplotype lợn rừng bản địa Việt Nam chứa các đa hình nucleotide đơn đặc trưng tại các vị trí 593. Để đánh giá mối quan hệ di truyền các cá thể lợn nội Việt Nam khu vực Tây Nguyên, Lê Ngọc Châu (2012) đã so sánh trình tự *Cytochrome B* giữa các cá thể lợn rừng Việt nam và các cá thể lợn nội với các cá thể lợn rừng Châu Á và Châu Âu. Kết quả chỉ ra rằng có 2 quần thể lợn rừng Tây Nguyên (Nhóm I và II). Nhóm II và nhóm lợn nội Việt Nam có đặc điểm di truyền gần với lợn rừng Châu Á. Nhóm I có sự khác biệt về mặt di truyền với so với nhóm lợn rừng Châu Á và Châu Âu. Hoàng Nghĩa Sơn và cs. (2013) đã so sánh các trình tự lợn rừng Việt Nam và lợn rừng châu Á dựa trên đánh giá

các vị trí biến đổi trên vùng D-loop cho thấy có 2 nhóm lợn rừng Việt Nam trong nghiên cứu này. Chín trong 19 cá thể lợn rừng Việt Nam có các vị trí nucleotide biến đổi giống với lợn rừng Thái Lan và nhóm này được gọi là lợn lai (VN12-VN20). Các cá thể còn lại được gọi là nhóm lợn rừng bản địa Việt Nam (VN1-VN5, VN7-VN11). Mười tám điểm đa hình được xác định ở 10 cá thể lợn rừng bản địa Việt Nam và 3 điểm là các điểm đa hình mới. Mười trình tự của lợn rừng bản địa Việt Nam đã được công bố trên cơ sở dữ liệu của DDBJ/EMBL/Gen Bank (Accession Number JQ898530-JQ898539). Bùi Anh Tuấn và cs. (2018) đã phân tích thành phần và cấu trúc hệ gen ty thể hoàn chỉnh của 6 giống lợn bản địa gồm Ủ, Móng Cái, Mùòng Khương, Mùòng Lay, Hương và Hạ Lang có 13 gen mã protein, 22 gen ARN vận chuyển (tARN), 2 gen ARN ribosome (rARN) và các vùng không mã hóa. Toàn bộ 22 gen tARN của cả 6 giống bản địa đã được dự đoán có chung cấu trúc bậc hai (cỏ ba lá) với các gen tARN có chiều dài từ 59 đến 75 bp. Thành phần và cấu trúc hệ gen ty thể của 6 giống lợn nội: Ủ, Móng Cái, Mùòng Khương, Mùòng Lay, Hương và Hạ Lang tương tự như của các giống lợn nhà khác. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra được mối quan hệ nguồn gốc giữa lợn Hương, lợn Hạ Lang và Móng Cái với giống lợn Lantang miền nam Trung Quốc.

1.3.2.3. Một số nghiên cứu các gen kháng bệnh

Nghiên cứu đánh giá các gen kháng bệnh trên lợn ở Việt Nam mới chỉ thực hiện trong vài năm trở lại đây với những kết quả hạn chế. Đỗ Võ Anh Khoa và Klaus Wimmer (2011) sử dụng phương pháp giải trình tự và PCR-FRLP để phân tích đa hình gen *pC8B* ở một số giống lợn ngoại và lợn Mùòng Khương. Kết quả cho thấy gen *pC8B* nằm trên vùng q3,3 – 3,5 của nhiễm sắc thể số 6 mã hóa 611 amino acid. Sự đa hình được tìm thấy tại vị trí 1244 (A bị thay thế bằng G). Tần số alen G của lợn Mùòng Khương (0,92) cao vượt trội

so với lợn ngoại (0,45 và 0,5). Kết quả nghiên cứu gợi ý rằng gen *pC8B* là ứng viên tiềm năng cho hệ thống phòng vệ tự nhiên chống lại mầm bệnh xâm nhiễm trên lợn. Cuong và cs. (2012) nghiên cứu đa hình các gen *FUT1* và *BPI* được cho là có liên quan đến khả năng kháng vi khuẩn) trên một số giống lợn nội và lợn ngoại bằng PCR- RFLP. Kết quả cho thấy không có đột biến trong gen *FUT1* ở 4 giống lợn nội và xuất hiện đột biến gen *BPI* ở giống lợn Táp Ná. Tần số alen kháng vi khuẩn của các gen *FUT1* và *BPI* sai khác có ý nghĩa trên các giống lợn ngoại hơn so với lợn nội.

1.4. CÁC VẤN ĐỀ CÒN TỒN TẠI

Như đã trình bày ở trên việc ứng dụng các chỉ thị phân tử nhằm nghiên cứu sai khác di truyền, đa dạng di truyền và hỗ trợ bảo tồn, duy trì, sử dụng hợp lý nguồn tài nguyên di truyền và cho chọn lọc các giống vật nuôi có năng suất, chất lượng cao đã được tiến hành rất nhiều trên thế giới. Tuy nhiên ở Việt Nam các nghiên cứu này chưa mang tính bài bản hệ thống. Các dự án bảo tồn nguồn gen vật nuôi ở Việt Nam mặc dù cũng đã mang lại nhiều thành công và lợi ích quý báu tuy vậy vẫn còn thiếu những kết quả về đánh giá sự đa dạng và sai khác di truyền của các giống được bảo tồn ở mức độ phân tử, đây là một yêu cầu cần thiết phải tiến hành đối với những dự án và những nghiên cứu vì mục đích bảo tồn, duy trì, sử dụng hợp lý và phát huy những tính trạng quý của các giống bản địa. Chương trình quỹ gen đã phân loại các giống lợn dựa trên đặc điểm ngoại hình và đưa ra 26 giống lợn nội của Việt Nam được nuôi giữ tại các địa phương, vùng miền khác nhau trên cả nước (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013), thực tế thì còn nhiều giống nữa do cách gọi tên và đặt tên theo từng vùng của người dân địa phương nơi chúng đang được nuôi giữ, mỗi giống mang những nét đặc trưng riêng được chọn lọc theo sở thích của người dân và đáp ứng với điều kiện khí hậu ở từng vùng. Các giống này thường có khả năng tăng trọng và có năng suất cho thịt thấp nhưng khả

năng kháng bệnh và thích nghi tốt với các điều kiện chăn nuôi của các nông hộ và khí hậu tại địa phương. Đây cũng là những ưu thế về những đặc tính di truyền của các giống lợn nội của Việt Nam. Tuy nhiên với sự phát triển của nền kinh tế thị trường và nhu cầu về việc cung cấp lương thực, thực phẩm cho con người đã và đang đánh mất dần các nguồn gen quý có khả năng thích nghi cao với điều kiện sinh sống của chúng.

Việt Nam những năm gần đây các nhà nghiên cứu về sinh học chăn nuôi cũng đã bước đầu áp dụng các kỹ thuật này vào nghiên cứu nhằm xác định đa dạng di truyền và sai khác di truyền bằng các chỉ thị phân tử như microsatellite, đa hình mtADN trong ty thể và một số gen liên quan tới các tính trạng kinh tế và khả năng chống chịu với bệnh tật của vật nuôi. Điều này sẽ góp phần tích cực vào việc xác định nguồn tài nguyên di truyền, giúp rút ngắn thời gian chọn lọc, lai tạo và chọn giống vật nuôi theo hướng chuyên dụng có năng suất, chất lượng, và có khả năng kháng bệnh cao. Xác định được sự đa dạng di truyền của vật nuôi còn giúp cho các nhà chăn nuôi có chính sách bảo tồn, duy trì và phát triển nguồn gen quý của các giống lợn nội ở Việt Nam và sử dụng hợp lý bền vững nguồn tài nguyên di truyền của vật nuôi. Đã có một số kết quả nghiên cứu về di truyền phân tử ở một số giống lợn bản địa. Tuy nhiên các nghiên cứu vẫn chỉ khảo sát đánh giá được một vài giống nên chưa thể có cái nhìn toàn cảnh về các giống bản địa Việt Nam.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu của luận án là 15 giống lợn nội phân bố trên toàn quốc (chi tiết trong bảng 2.1). Ngoài ra một giống lợn ngoại (Landrace thu thập tại Trung tâm Nghiên cứu Lợn Thụy Phương) và các mẫu lợn rừng Việt Nam và Thái Lan (thu thập tại trang trại chăn nuôi ở Ba Vì) cũng được sử dụng cho một số nội dung nghiên cứu của luận án.

Bảng 2.1. Danh sách 15 giống lợn nội được sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên giống lợn	Viết tắt	Địa điểm thu mẫu	Thời gian
1	Móng Cái	MCA	Đông Triều – Quảng Ninh	2012
2	Hạ Lang	HLA	Hạ Lang – Cao Bằng	2012
3	Hương	HUO	Hòa An – Cao Bằng	2012
4	Táp Ná	TNA	Thông Nông – Cao Bằng	2012
5	Hung	HUN	Hoàng Su Phì – Hà Giang	2012
6	Lũng Pù	LPU	Mèo Vạc – Hà Giang	2012
7	Mường Khương	MKH	Mường Khương – Lào Cai	2012
8	Lũng	LUN	Thanh Sơn – Phú Thọ	2012
9	Bản	BAN	Mai Sơn – Sơn La	2013
10	Mẹo	MEO	Kỳ Sơn – Nghệ An	2013
11	Vân Pa	VPA	Gio Linh – Quảng Trị	2013
12	Cỏ	CAL	A Lưới – Thừa Thiên Huế	2013
13	Chư Prông	CPR	Chư Prông – Gia Lai	2013
14	Sóc	SOC	Buôn Ma Thuột – Đắk Lắk	2013
15	Ba Xuyên	BAX	Kế Sách – Sóc Trăng	2013

2.2. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

Mẫu mô tai của 15 giống lợn nội (danh sách chi tiết trong bảng 2.1) được thu thập từ năm 2012 -2013. Các thí nghiệm phân tích đa hình các chỉ thị được tiến hành tại Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Tế bào Động vật - Viện Chăn nuôi trong 4 năm từ 2014 đến 2018. Trong đó nội dung Nghiên cứu đa dạng di truyền, khoảng cách di truyền và cấu trúc di truyền của 15 giống lợn nội bằng 19 chỉ thị microsatellite tiến hành năm 2014-2015. Nội dung nghiên cứu đa dạng di truyền gen *Cytocrome B* ở 15 giống lợn nội và mối quan hệ phát sinh loài với một số giống lợn trên thế giới tiến hành từ năm 2017-2018. Nội dung nghiên cứu đa hình di truyền gen *MX1* và *MX2* ở 15 giống lợn nội tiến hành năm 2015-2016.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Phương pháp thu mẫu và bảo quản mẫu

Các cá thể lợn của mỗi giống được tiến hành lựa chọn để thu mẫu dựa trên đặc điểm hình thái đặc trưng cho giống đã được công bố từ chương trình bảo tồn quỹ gen. Các cá thể lựa chọn lấy mẫu trong mỗi giống không cùng huyết thống (thông qua phỏng vấn trực tiếp) tại nơi chúng đang được nuôi giữ. Sử dụng kim lấy mẫu chuyên dụng cắt một miếng mô tai khoảng 0,5 g, sau đó để trong ống eppendofit có chứa sẵn 1,5 ml cồn (99%). Mẫu được vận chuyển về phòng thí nghiệm và bảo quản trong tủ lạnh sâu (-20°C) đến khi tiến hành tách chiết ADN.

2.3.2. Phương pháp tách chiết và xác định nồng độ ADN

Trước khi tách chiết ADN, mẫu mô tai của các cá thể lợn được rửa lại bằng dung dịch muối 1X PBS (Phosphate Buffered Saline) từ 3 đến 4 lần cho sạch. Sau đó thực hiện theo quy trình tách chiết ADN của bộ kit Bioneer K-3032 (Hàn Quốc). Các bước tiến hành cụ thể như sau:

1. Lấy khoảng 25 mg mẫu mô tai cắt nhỏ rồi cho vào ống eppendorf 1.5ml. Thêm 200 μ l đệm TL (Tissue Lysis buffer).
2. Thêm 20 μ l Proteinase K, mix đều bằng vortex, ủ ở 60⁰ C trong 3h hoặc qua đêm.
3. Lấy ra vortex rồi cho thêm 200 μ l đệm GC (Binding buffer), ủ tiếp ở 60⁰ C trong 10 phút.
4. Thêm 100 μ l Isopropanol, trộn đều bằng vortex. Sau đó ly tâm nhẹ 3000 vòng trong 1 phút.
5. Hút toàn bộ phần dịch cho sang ống cột lọc 2ml. Ly tâm 8000 vòng trong 1 phút.
6. Chuyển cột lọc sang ống 2 ml khác rồi cho thêm 500 μ l đệm rửa W1 (Washing buffer 1), ly tâm 8000 vòng trong 1 phút.
7. Tiếp tục chuyển cột lọc sang ống 2 ml khác rồi cho thêm 500 μ l đệm rửa W2 (Washing buffer 2), ly tâm 12000 vòng trong 3 phút.
8. Lấy cột lọc cho sang ống 1.5 ml rồi cho thêm 200-300 μ l đệm EL (Elution buffer) để hòa tan ADN. Để ở nhiệt độ phòng khoảng 5-10 phút rồi ly tâm 8000 vòng trong 1 phút để thu lấy ADN hòa tan. Loại bỏ cột lọc và bảo quản ADN lâu dài trong tủ lạnh sâu -20⁰ C

Xác định nồng độ và độ sạch của ADN tách chiết được

Sử dụng phương pháp điện di trên gel Agarose 1% để xác định định tính kết quả tách chiết ADN. Tiếp theo sẽ dùng máy Nanodrop 2000 để định lượng độ sạch và nồng độ các mẫu ADN thu được. Để xác định nồng độ của ADN, dựa trên nguyên tắc sự hấp phụ mạnh ánh sáng tử ngoại của ADN ở bước sóng 260 nanô mét (nm). Giá trị mật độ quang (OD) ở bước sóng

260nm của mẫu đo cho phép xác định nồng độ ADN Một đơn vị (1.0) giá trị hấp thụ bước sóng 260 nm (A_{260}) tương đương với nồng độ ADN là 50mg/ml. Để kiểm tra độ sạch của dung dịch ADN tách chiết được, người ta đo thêm giá trị OD ở bước sóng 280 nm (bước sóng hấp thụ cao nhất của protein). Tỷ lệ A_{260}/A_{280} là chỉ số để xác định độ tinh sạch của mẫu ADN tách chiết được. Nếu tỷ lệ A_{260}/A_{280} từ 1.8 - 2.0 thì chất lượng ADN tách được đủ độ tinh khiết.

2.3.3. Phương pháp nghiên cứu đa dạng di truyền, khoảng cách di truyền và cấu trúc di truyền bằng các chỉ thị microsatellite

Mẫu sử dụng phân tích:

Sáu trăm linh tám (608) mẫu thuộc 15 giống lợn nội: Móng Cái (48 mẫu), Hạ Lang (47 mẫu), Hương (40 mẫu), Táp Ná (48 mẫu), Hung (35 mẫu), Lũng Pù (48 mẫu), Mường Khương (48 mẫu), Lũng (42 mẫu), Bản (48 mẫu), Mẹo (42 mẫu), Vân Pa (33 mẫu), Cỏ (34 mẫu), Chư Prông (24 mẫu), Sóc (39 mẫu) và Ba Xuyên (32 mẫu). Giống lợn ngoại Landrace (15 mẫu) và hai giống lợn rừng (Việt Nam-6 mẫu và Thái Lan-9 mẫu) được sử dụng để so sánh đối chiếu (đối chứng).

Các chỉ thị microsatellite:

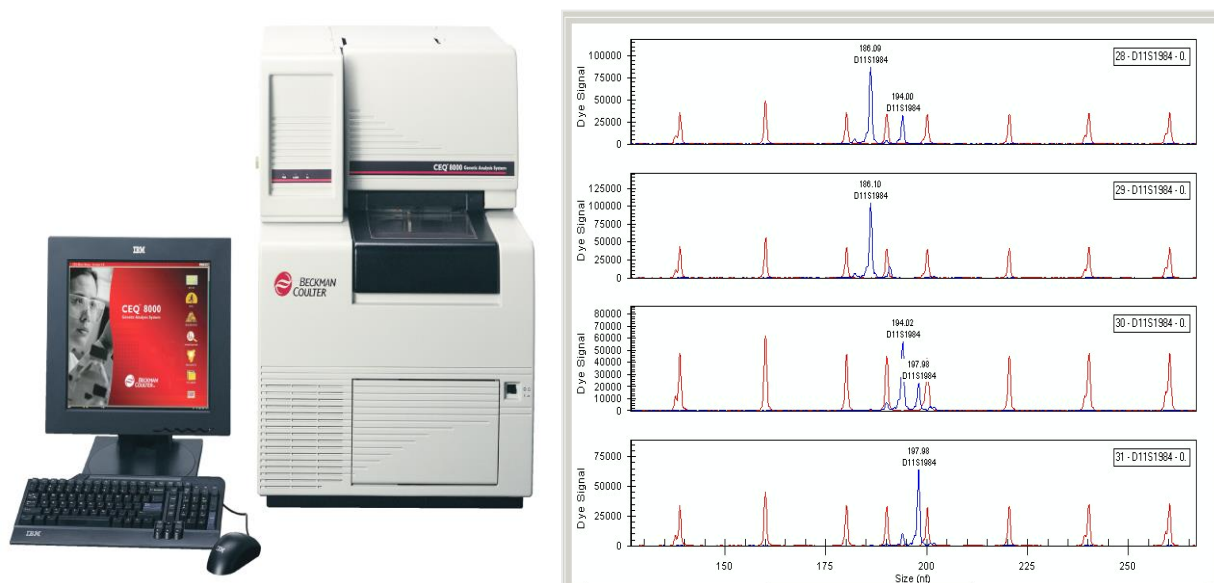
Trong nghiên cứu này, 19 chỉ thị microsatellite có đa hình cao được sử dụng và lựa chọn theo khuyến cáo của FAO/ISAG (2011) sẽ được chuẩn hoá trong 4 tổ hợp phản ứng PCR đa môi (bảng 2.2). Mỗi phản ứng PCR đa môi được thực hiện với thành phần phản ứng: Đệm PCR 10X: 2,0 μ l, dNTP mix (2mM mỗi loại) 2,5 μ l, Mg^{2+} (25mM) 2,0-2,5 μ l, môi (môi xuôi và môi ngược 10 pM mỗi loại) 0,1-1 μ l, ADN Taq polymerase 0,3 μ l, mẫu ADN lợn 1,0 μ l, H_2O vô trùng được thêm vào sao cho tổng thể tích cuối cùng là 20 μ l.

Bảng 2.2. Thông tin 19 chỉ thị microsatellite được sử dụng

Chỉ thị	Trình tự	Nhiễm sắc thể	Mã ngân hàng gen	Tm (độ C)
Sw2410	ATTTGCCCCCAAGGTATTTTC CAGGGTGTGGAGGGTAGAAG	8	AF207836	50
S0226	GCACTTTTAACTTTTCATGATACTCC GGTTAAACTTTTNCCCCAATACA	2	L29230	55
Sw2008	CAGGCCAGAGTAGCGTGC CAGTCCTCCCAAAAATAACATG	11	AF253773	55
Sw911	CTCAGTTCTTTGGGACTGAACC CATCTGTGGAAAAAAAAAAGCC	9	AF225106	60
Sw1067	TGCTGGCCAGTGACTCTG CCGGGGGATTAAACAAAAAG	6	AF235183	55
S0215	TAGGCTCAGACCCTGCTGCAT TGGGAGGCTGAAGGATTGGGT	13	L31358	55
S0355	CTCTGGCTCCTACACTCCTTCTTGATG TTGGGTGGGTGCTGAAAAATAGGA	15	L29049	50
S0225	GCTAATGCCAGAGAAATGCAGA CAGGTGGAAAGAATGGAATGAA	8	L29000.1	55
S0227	GATCCATTTATAATTTTAGCACAAAGT GCATGGTGTGATGCTATGTCAAGC	4	L29196.2	55
S0026	AACCTTCCCTTCCCAATCAC CACAGACTGCTTTTTACTCC	16	L30152	55
S0155	TGTTCTCTGTTTCTCCTCTGTTTG AAAGTGGAAGAGTCAATGGCTAT	1	JQ342091.1	55
Sw632	TGGGTTGAAAGATTTCCTCAA	7	AF225099	55

Sw936	GGAGTCAGTACTTTGGCTTGA	15	AF225107	55
	TCTGGAGCTAGCATAAGTGCC			
	GTGCAAGTACACATGCAGGG			
S0068	CCTTCAACCTTTGAGCAAGAAC	13	Không có	55
	AGTGGTCTCTCTCCCTCTTGCT			
Sw122	CAAAAAAGGCCAAAAGATTGACA	6	AF235206	55
	TTGTCTTTTTATTTTGCTTTTGG			
Sw857	TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC	14	AF225105	55
	GATCCTCCTCCAAATCCCAT			
S0097	GACCTATCTAATGTCATTATAGT	4	M95020	55
	TTCCTCCTAGAGTTGACAAACTT			
Sw240	AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG	2	AF235246	55
	AAACCATTAAGTCCCTAGCAAA			
Sw72	ATCAGAACAGTGCGCCGT	3	AF235346	55
	TTTGAAAATGGGGTCTTTCC			

Phân tích đa hình các chỉ thị microsatellite: 1µl của tất cả các sản phẩm multiplex-PCR sau khi bổ sung 25µl đệm SLS (Sample Loading Solution Beckman Coulter) và 0,15µl thang ADN chuẩn (ADN Size standard 400 - Beckman Coulter) được tiến hành phân tách bằng hệ thống điện di mao quản trên máy giải trình tự tự động CEQ8000 của hãng Beckman Coulter. Kích thước các alen được phân tích tự động bằng phần mềm Genetics analysis system cho máy CEQ 8000 (phiên bản 9.0) được minh họa trên hình 2.1.



Hình 2.1. Hệ thống máy CEQ 8000

Ước lượng một số chỉ số liên quan đến đa dạng di truyền

Số lượng alen của mỗi chỉ thị, trung bình số alen trên mỗi chỉ thị của toàn bộ quần thể và độ phong phú alen (Alenlic Richness - R_s) được ước lượng bằng phần mềm FSTAT phiên bản 2.9.3.2 (Goudet J. 2002)

Tần số dị hợp tử lý thuyết (H_e), dị hợp tử quan sát (H_o) được ước lượng bằng phần mềm Genetix phiên bản 4.0.5.2 (Belkhir và cs., 2004).

Hệ số F (F_{is} , F_{st}) của từng chỉ thị và trung bình của toàn bộ các chỉ thị trên quần thể được ước lượng bằng phần mềm Genetix (phiên bản 4.0.5.2).

Giá trị thông tin đa hình (PIC) của mỗi chỉ thị được tính theo Botstein và cs. (1980).

Bảng 2.3. Công thức tính một số giá trị thống kê của quần thể

Chỉ số	Công thức tính
Độ phong phú alen (Rs)	$R_s = \sum_{i=1}^{n_s} \left[1 - \frac{\binom{2N - N_i}{2n}}{\binom{2N}{2n}} \right]$ Trong đó N_i là số alen thứ i của $2N$ gen
Tần số alen của chỉ thị	$p_i = \frac{2A_iA_i + \sum_{j=1}^k A_iA_j}{2N}$ Trong đó: p_i là tần số của alen i; A_iA_i, A_iA_j tương ứng là số cá thể mang đồng hợp tử và dị hợp tử với alen i; k là số lượng alen của chỉ thị; N là số lượng cá thể
Tần số dị hợp tử lý thuyết (mong đợi)	$H_{ep} = \frac{2N \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)}{2N - 1}$ Trong đó: H_{ep} là tần số dị hợp tử lý thuyết của một chỉ thị; p_i là tần số của alen i; k là số lượng alen của chỉ thị; N là số lượng cá thể.
Giá trị thông tin đa hình (PIC) của mỗi chỉ thị	$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2p_i^2 p_j^2$ Trong đó: p_i, p_j là tần số của alen i và j; k là số lượng alen của mỗi chỉ thị
Hệ số cận huyết	$Fis = \frac{H_{ep} - H_{ob}}{H_{ep}}$ Trong đó: H_{ep} là tần số di hợp tử lý thuyết; H_{ob} là tần số di hợp tử quan sát.

Kiểm tra tính cân bằng di truyền Hardy-Weinberg

Độ phù hợp với cân bằng di truyền theo Hardy-Weinberg trong từng giống được kiểm tra bằng phép thử “khi bình phương” (χ^2). Phép kiểm tra này được thực hiện bằng phần mềm Genpop 1.2 (Raymond và Rousset, 1995).

Xác định khoảng cách di truyền giữa các quần thể

Khoảng cách di truyền được tính theo phương pháp của Nei (1978):

$$Ds = -\ln \frac{\sum_{i=1}^L \sum_{j=1}^K P_{ijx} P_{ijy}}{\sqrt{\sum_{i=1}^L \sum_{j=1}^K P_{ijx}^2 \sum_{i=1}^L \sum_{j=1}^K P_{ijy}^2}}$$

Trong đó: P_{ijx} , P_{ijy} là tần số alen j tại chỉ thị i ở giống x và y tương ứng; K là số alen tại chỉ thị i ; L là số chỉ thị.

Xác định cấu trúc di truyền

Cấu trúc di truyền của 15 giống lợn được thực hiện dựa trên phương pháp đa biến – phân tích biệt thức các thành phần chính (Discriminant Analysis of Principal Components - DAPC) theo Jombart và cs. (2008) bằng gói phần mềm “adeget” trong môi trường ngôn ngữ thống kê R phiên bản 2.0 (Team, 2013). Phương pháp này không cần giả định quần thể phải tuân theo cân bằng Hardy-Weinberg hay trạng thái liên kết cân bằng và cho phép xử lý được cả những quần thể có cấu trúc di truyền phức tạp. DAPC tối đa hóa phương sai giữa các nhóm và tối thiểu hóa phương sai bên trong nhóm rồi đưa ra xác suất các cá thể thuộc nhóm nào. Số lượng trục tối ưu của các thành phần chính (Principal Component) được lựa chọn dựa vào các giá trị phương sai với tỷ lệ phương sai duy trì tối thiểu đạt 95%.

2.3.4. Phương pháp nghiên cứu đa dạng di truyền gen *Cytochrome B* và mối quan hệ phát sinh loài

Mẫu sử dụng phân tích

Nghiên cứu này được thực hiện trên 284 mẫu thuộc 15 giống lợn nội: Móng Cái (19 mẫu), Hạ Lang (19 mẫu), Hương (19 mẫu), Táp Ná (19 mẫu), Hung (20 mẫu), Lũng Pù (20 mẫu), Mường Khương (20 mẫu), Lũng (19 mẫu), Bản (19 mẫu), Mẹo (16 mẫu), Vân Pa (19 mẫu), Cỏ (19 mẫu), Chư Prông (19 mẫu), Sóc (19 mẫu), Ba Xuyên (18 mẫu); và 1 mẫu lợn rừng.

Ngoài ra các trình tự của các giống đã công bố trên ngân hàng gen (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>): 2 haplotype lợn Nhật bản (AB015077 Japan, AB015078 Japan); 3 haplotype lợn Trung Quốc (KR049170 China, KR049162 China); 1 haplotype lợn nuôi Duroc Châu Âu (AB015080 Duroc); 2 haplotype lợn rừng Châu Á (AF136550 AWB1, AF136551 AWB1); 4 haplotype lợn rừng Châu Âu (AF136541 EWB1, AF136542 EWB2, AF136549 EWB3, AB015083 EWB4) được sử dụng để đối chiếu.

Phản ứng nhân gen *Cytochrome B*

Toàn bộ gen *Cytochrome B* ty thể với trình tự dài 1140 bp được khuếch đại thông qua phản ứng PCR với cặp mồi được ký hiệu H6 và L7 tự thiết kế (H6-TCTCCATTTCTGGTTTACAAGA; L7 - ACCAATCACATGAAAAATCAT).

Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích là 25µl bao gồm 2,5µl đệm PCR 10X; 2,5µl MgCl₂ 2.5mM; 2,5µl dNTPs 2mM; 0.3µl Taq DNA Polymerase 1u/µl; 1µl mồi xuôi và 1µl mồi ngược 10pM, mẫu DNA 2 µl 50 ng, nước tinh sạch vô trùng thêm vào cho đủ 25µl . Chu trình nhiệt: 95°C

trong 2 phút, 35 chu kỳ với: 94°C trong 45 giây, 50°C trong 45 giây, 72°C trong 90 giây. Kết thúc phản ứng ở 72°C trong 10 phút.

Tinh sạch sản phẩm PCR và giải trình tự

Sản phẩm của phản ứng PCR được tiến hành tinh sạch bằng bộ kit tinh sạch của hãng Invitrogen.

Quá trình giải trình tự được tiến hành tuần tự theo 3 bước: thứ nhất thực hiện phản ứng PCR giải trình tự, tiếp theo là làm sạch sau phản ứng PCR giải trình tự và cuối cùng là tiến hành giải trình tự trên máy AB-3130 của hãng AB (Applied Biosystem). Quy trình được lập cho giải trình tự tự động theo module BigDye® Terminator™- sử dụng để làm sạch sau giải PCR giải trình tự bằng kit Polymer POP7 và Capillary loại 3130 & 3100-Avent Capillary Array-36cm.

Phân tích kết quả

Trong nghiên cứu này, dữ liệu thô của 285 mẫu phân tích gen *cytochrome b* ty thể được xử lý bằng phần mềm BioEdit 6.0 (Bioedit Ltd, Rutherford House, Manchester Science Parks, Pencroft Way, Manchester M15 6SE, United Kingdom). Phần mềm DnaSP 5.10 được sử dụng phân tích đa dạng các nucleotide và phát hiện các haplotype. Công thức tính đa dạng nucleotide:

$$\pi = \sum_{ij} x_i x_j \pi_{ij} = 2 * \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^{i-1} x_i x_j \pi_{ij}$$

trong đó x_i và x_j là tần số tương ứng của trình tự thứ i và j , π_{ij} là số điểm khác biệt nucleotide trên mỗi vùng nucleotide giữa các chuỗi thứ i và j .

Một haplotype trong di truyền học là sự tổ hợp của các alen (trình tự DNA) ở các vị trí cụ thể (locus) trên một nhiễm sắc thể được di truyền cùng với nhau. Đa dạng haplotype được đánh giá dựa trên tính duy nhất của một haplotype cụ thể trong một quần thể nhất định. Đa dạng haplotype của quần thể được tính bằng công thức:

$$H = \frac{N}{N-1} (1 - \sum_i x_i^2)$$

trong đó x_i là tần số haplotype của mỗi haplotype trong mẫu và N là kích thước mẫu.

Phần mềm MEGA 7.0 được sử dụng giúp xây dựng cây phát sinh chủng loại theo phương pháp NJ (Neighbor-Joining). Với phương pháp Neighbor-Joining, các khoảng cách được tính toán theo mô hình của Tamura và Nei, (1993). Phương pháp này sử dụng tham số α của phân phối gamma. Thông số bootstrap được tính toán với số lần lặp lại khoảng 100 lần để có được những tính toán chính xác cho mỗi nhánh của cây phát sinh chủng loại.

2.3.5. Phương pháp nghiên cứu đa hình di truyền locus gen *MX1* và *MX2*

Mẫu sử dụng phân tích: Sáu trăm linh tám mẫu thuộc 15 giống lợn nội: Móng Cái (48 mẫu), Hạ Lang (47 mẫu), Hương (40 mẫu), Táp Ná (48 mẫu), Hung (35 mẫu), Lũng Pù (48 mẫu), Mường Khương (48 mẫu), Lũng (42 mẫu), Bản (48 mẫu), Mẹo (42 mẫu), Vân Pa (33 mẫu), Cỏ (34 mẫu), Chư Prông (24 mẫu), Sóc (39 mẫu) và Ba Xuyên (32 mẫu).

Trình tự mẫu: Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 25 μ l với các cặp mồi đặc hiệu cho từng gen theo các công bố trước đây. Chi tiết trình tự mồi của từng gen được thể hiện qua bảng sau (bảng 2.4):

Bảng 2.4. Trình tự mồi và enzyme được sử dụng trong nghiên cứu

Gen	Mồi xuôi (5' -3')	Mồi ngược (5' - 3')	Enzyme
<i>MX1</i> - Intron 6 (theo Li và cs., 2007)	TAGGCAATCAGCCA TACG	GGTCCTGTCTCCT TCGG	<i>SnaBI</i>
<i>MX1</i> - Promoter (Li và cs., 2015)	ACTGAGGTCCAC TGAGGTTGTG	CGTTGTAGGAG AAAGGTGATTT	Không dùng enzyme
<i>MX2</i> (theo Sasaki và cs., 2014)	AAAGGCCTGTGACA TGGTTC	ACCAACGACCGT CTGCAGCATCT	<i>XhoI</i>

Thành phần phản ứng: Phản ứng PCR được thực hiện trong thành phần như sau: Đệm PCR 10X: 2,5 µl, dNTP (2mM mỗi loại) 2,5 µl, Mg²⁺(25mM) 2,5 µl, mồi (mồi xuôi và mồi ngược 10 pM mỗi loại) 1µl, enzyme ADN Taq polymerase 0,3 µl, ADN 2,0 µl, H₂O vô trùng thêm vào sao cho tổng thể tích cuối cùng là 25 µl.

Chu trình nhiệt: Phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình nhiệt cơ bản (nhiệt độ gắn mồi sẽ thay đổi tùy theo từng gen): Giai đoạn biến tính ở 95 °C trong 5 phút, tiếp theo 35 chu kỳ với: 94°C trong 45 giây, 58⁰ (gen *MX2*) - 60°C (gen *MX1*) trong 50 giây, 72°C trong 50 giây. Giai đoạn kết thúc ở 72°C trong 10 phút.

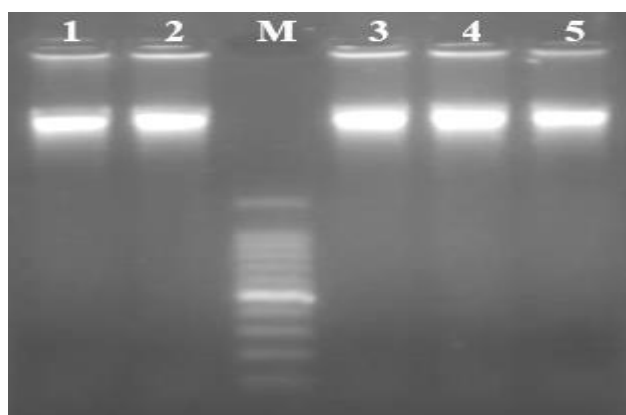
Cắt enzyme giới hạn và điện di: Sản phẩm của phản ứng PCR được cắt bằng enzyme giới hạn theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Đa hình gen được kiểm tra thông qua phương pháp điện di trên gel agarose với nồng độ 2,0%.

Đánh giá cân bằng Hardy-Weinberg: Đánh giá cân bằng Hardy-Weinberg giữa các giống lợn sẽ được đánh giá bằng phương pháp thống kê khi bình phương (χ^2 test) bằng phần mềm R.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. NỒNG ĐỘ VÀ ĐỘ TINH SẠCH CỦA MẪU ADN

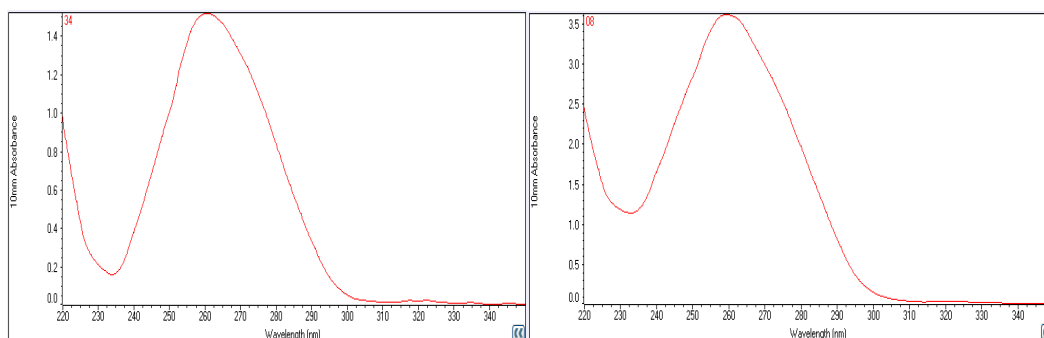
Đã tách chiết thành công 608 mẫu ADN tổng số từ 608 mẫu mô tai của 15 giống lợn nội. Kiểm tra kết quả tách chiết ADN bằng điện di trên gel agarose 1% (hình 3.1) và đo nồng độ trên máy quang phổ Nanodrop 2000 (hình 3.2). Hình ảnh điện di cho thấy ADN tập trung thành băng đậm nét sáng rõ không bị đứt gãy. Sau khi tiến hành đo trên máy Nano drop 2000, các mẫu ADN có độ tinh sạch cao với tỷ lệ A260/280 trong khoảng 1,79 - 2,03 và nồng độ DNA tổng số dao động trong khoảng 70-150 μ g/ μ 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 là Marker 100 bp.

1,2,3,4,5 là mẫu ADN tổng số tách chiết từ mô tai lợn Bản

Hình 3.1. Kết quả điện di kiểm tra ADN trên gel agarose 1%



Hình 3.2. Kiểm tra nồng độ DNA trên máy Nanodrop

3.2 ĐA DẠNG DI TRUYỀN, CẤU TRÚC DI TRUYỀN CỦA 15 GIỐNG LỢN NỘI DỰA TRÊN 19 CHỈ THỊ MICROSATELLITE

3.2.1. Kết quả chuẩn hóa 4 tổ hợp phản ứng PCR đa môi (multiplex PCR)

Sử dụng kit multiplex PCR của hãng Qiagen để thực hiện chuẩn hóa các tổ hợp phản ứng PCR đa môi với các cặp môi được đánh dấu huỳnh quang D2, D3 và D4. Chúng tôi đã chuẩn hóa ghép cặp thành công 19 cặp môi microsatellite trong 4 phản ứng multiplex PCR. Kết quả chuẩn hóa cho thấy các cặp môi được ghép trong tổ hợp phản ứng PCR đa môi đều cho sản phẩm rõ ràng, chính xác. Tổng hợp kết quả nghiên cứu trên lợn Việt Nam chỉ ra rằng có 14/20 chỉ thị có khoảng alen khác với công bố của FAO/ISAG (2004) trên lợn thế giới. Đó là các chỉ thị Sw122, Sw857, S0097, Sw72, S0026, S0155, Sw936, S0215, S0225, Sw2410, S0226, Sw2008 và Sw911. Qua đó cho thấy lợn Việt Nam có những alen khác với những giống lợn được nghiên cứu được công bố bởi FAO/ISAG (2004). Danh sách các cặp môi trong mỗi tổ hợp phản ứng được thể hiện chi tiết qua bảng 3.1 như sau:

Bảng 3.1. Kết quả chuẩn hóa 4 tổ hợp phản ứng PCR đa môi

Tổ hợp	Tên môi	Màu đánh dấu	Nhiệt độ gắn môi (°C)	Khoảng alen (bp) – FAO/ISAG	Khoảng alen (bp) –Nghiên cứu này
Mix 1	Sw2410	D2	55	90-131	103-141
	S0226	D2	55	180-210	181-215
	Sw2008	D3	55	95-108	88-104
	Sw911	D4	55	149-173	147-177
Mix 2	Sw1067	D2	55	136-176	137-177
	S0215	D3	55	135-169	127-193
	S0355	D3	55	244-271	244-274
	S0225	D4	55	170-196	177-205
	S0227	D4	55	231-256	229-257
Mix 3	S0026	D2	55	87-105	89-109
	S0155	D2	55	142-162	142-168
	Sw632	D3	55	148-178	146-172
	Sw936	D4	55	90-116	86-142
	S0068	D4	55	211-262	210-260
Mix 4	Sw122	D2	55	106-128	100-130
	Sw857	D2	55	141-159	137-165
	S0097	D2	55	209-250	205-243
	Sw240	D3	55	92-124	90-122
	Sw72	D4	55	97-114	96-120

3.2.2. Đa hình di truyền 19 chỉ thị microsatellite

Số alen trên từng chỉ thị microsatellite của 638 mẫu lợn được nghiên cứu thuộc 15 giống lợn nội, 2 giống lợn rừng và lợn ngoại Landrace được thể hiện trong bảng 3.2. Tổng số 280 alen được xác định trên 19 chỉ thị microsatellite của 638 cá thể lợn. Số alen trên một chỉ thị dao động từ 9 đến 19 alen và trung bình số alen trên một chỉ thị của toàn bộ số mẫu phân tích là 14,74. Hầu hết các chỉ thị đều có độ đa hình cao. Độ phong phú alen dao động từ 4,18 đến 7,10. Giá trị thông tin đa hình của 19 chỉ thị trung bình là 0,81 với sự dao động từ 0,68 đến 0,90. Tần số dị hợp tử quan sát (H_o) của các chỉ thị dao động từ 0,56 đến 0,76 và trung bình là 0,67. Tần số dị hợp tử mong đợi (H_e) của các chỉ thị dao động từ 0,61 đến 0,81 và trung bình là 0,73. Trong đó chỉ thị Sw2410 có sự đa dạng cao nhất (19 alen) và độ phong phú alen cũng lớn nhất (7,10). Hệ số cận huyết trung bình của 19 chỉ thị là 0,13. Hệ số khác biệt di truyền F_{st} (khoảng cách di truyền) trung bình toàn đàn là 0,15 biểu thị rằng sự khác biệt di truyền giữa các giống là khoảng 15% trong khi đó 85% sự khác biệt di truyền do sự đóng góp của các cá thể trong mỗi giống.

Bảng 3.2. Số mẫu (N), số alen (Na), độ phong phú alen (Rs), hệ số thông tin đa hình (PIC), tần số dị hợp tử quan sát (Ho), dị hợp tử lý thuyết (He), hệ số cận huyết (Fis) và hệ số khác biệt di truyền (Fst)

Chỉ thị	N	Na	Rs	PIC	Ho	He	Fis	Fst
Sw122	638	12	4,96	0,72	0,60	0,67	0,13	0,15
Sw857	638	14	6,12	0,86	0,74	0,79	0,06	0,11
S0097	638	17	5,83	0,80	0,72	0,76	0,05	0,11
Sw240	638	15	6,15	0,85	0,70	0,77	0,09	0,13
Sw72	612	13	5,22	0,76	0,68	0,73	0,07	0,10
S0026	638	11	4,18	0,68	0,56	0,61	0,05	0,18
S0155	638	14	5,15	0,77	0,70	0,71	0,03	0,14
Sw632	628	10	4,56	0,69	0,59	0,64	0,08	0,13
Sw936	637	18	6,52	0,88	0,76	0,81	0,06	0,08
S0068	638	18	6,32	0,87	0,65	0,75	0,13	0,16
Sw1067	637	18	6,45	0,87	0,73	0,77	0,05	0,14
S0215	638	18	6,48	0,88	0,70	0,73	0,05	0,18
S0355	638	13	6,49	0,88	0,75	0,76	0,02	0,15
S0225	633	15	5,65	0,81	0,67	0,72	0,06	0,15
S0227	638	13	5,20	0,80	0,61	0,68	0,10	0,18
Sw2410	638	19	7,10	0,90	0,62	0,78	0,19	0,15
S0226	638	18	5,33	0,74	0,70	0,73	0,05	0,08
Sw2008	638	9	5,21	0,78	0,64	0,69	0,08	0,17
Sw911	637	15	5,59	0,8	0,68	0,72	0,05	0,15
Trung bình	635,68	14,74	5,71	0,81	0,67	0,73	0,13	0,15

Theo Barker (1994) thì chỉ những chỉ thị có số alen từ 4 trở lên mới phù hợp để nghiên cứu đa dạng di truyền quần thể. Qua các kết quả phân tích ở bảng 3.2, toàn bộ 19 chỉ thị microsatellite được sử dụng trong nghiên cứu này có tính đa hình cao (trung bình số alen được xác định ở mỗi chỉ thị trong từng giống đều nhiều hơn 5) phù hợp cho nghiên cứu đa dạng di truyền trên các giống lợn nội Việt Nam.

3.2.3. Đa dạng di truyền của các giống lợn nghiên cứu

Tính đa dạng di truyền của 15 giống lợn nội được so sánh với lợn Landrace (lợn ngoại) và lợn rừng (rừng Việt Nam và Thái Lan) được thể hiện ở bảng 3.3. Số alen trung bình trong 15 giống lợn nội dao động từ 5,68 (lợn Hương) đến 10,68 (lợn Táp Ná), trong khi đó ở lợn Landrace là 4,84 và lợn rừng là 5,47-6,00. Độ phong phú alen thấp nhất ở lợn Cỏ (3,38), và cao nhất ở lợn Táp Ná (5,09), ở lợn Landrace là 3,59 và ở lợn rừng là 4,55-5,64. Mặc dù số alen trung bình của 15 giống lợn nội (8,15) khá cao so với lợn rừng nhưng độ phong phú alen của lợn rừng lại cao hơn trung bình lợn nội (4,45). Sự khác biệt này là do sự đa dạng nguồn gen của lợn rừng rất cao nhưng số mẫu thu thập được rất hạn chế (6-9 mẫu) nên số alen trung bình nhỏ hơn. Tần số dị hợp tử lý thuyết (He) dao động từ 0,59 (lợn Cỏ) đến 0,78 (lợn Hạ Lang). Tần số dị hợp tử quan sát (Ho) dao động từ 0,58 đến 0,78. Lợn rừng Việt Nam có tần số dị hợp tử lý thuyết cao hơn trung bình các giống lợn nội và lợn rừng Thái Lan. Các giá trị về số alen trung bình, độ phong phú alen, tần số dị hợp tử của lợn Landrace nhập nội đều thấp hơn các giống lợn nội và lợn rừng. Các giá trị này cho thấy lợn nội Việt Nam và lợn rừng có sự đa dạng nguồn gen cao hơn nhiều so với lợn Landrace ngoại nhập. Hệ số cận huyết trung bình trên 15 giống lợn nội là 0,08 (dao động từ -0,002 ở lợn Vân Pa đến 0,180 ở lợn Móng Cái) trong đó những giống lợn nội có hệ số cận huyết cao là Hạ Lang, Hung, Móng Cái và Sóc.

Bảng 3.3. Số alen, trung bình số alen/chỉ thị (Na) và độ phong phú alen (Rs), tần số dị hợp tử quan sát (Ho), dị hợp tử lý thuyết (He), giá trị hệ số cận huyết (Fis), ở các giống lợn nghiên cứu.

Giống	Miền	Số mẫu	Na	Rs	He	Ho	F_{IS}
Hạ Lang	Bắc	47	8,32	4,90	0,78	0,69	0,147
Hương*	Bắc	40	5,68	3,80	0,65	0,64	0,024
Táp Ná	Bắc	48	10,68	5,09	0,77	0,67	0,082
Hung	Bắc	35	9,11	4,98	0,78	0,68	0,123
Lũng*	Bắc	42	9,63	4,98	0,77	0,78	0,020
Mường Khương	Bắc	48	8,32	4,57	0,75	0,71	0,069
Mẹo	Bắc	42	9,84	4,67	0,72	0,60	0,055
Lũng Pù	Bắc	48	7,26	4,06	0,69	0,63	0,004
Móng Cái*	Bắc	48	8,37	4,38	0,72	0,71	0,180
Bản	Bắc	48	10,05	4,97	0,75	0,70	0,073
Chư Prông	Trung	34	6,11	3,38	0,59	0,58	0,105
Vân Pa	Trung	33	6,79	4,18	0,69	0,65	-0.002
Sóc	Nam	39	7,89	4,42	0,72	0,68	0,146
Cỏ	Nam	24	6,05	3,98	0,68	0,62	0,037
Ba Xuyên*	Nam	32	7,16	4,14	0,68	0,69	0,012
Trung bình miền Bắc		44,6	8,73	4,64	0,74	0,68	0,08
Trung bình miền Trung		28,5	6,42	4,08	0,69	0,64	0,05
Trung bình miền Nam		35,5	7,05	3,98	0,66	0,65	0,07
Trung bình lợn nội		41,1	8,15	4,45	0,72	0,67	0,08
Landrace*		15	4,84	3,59	0,59	0,59	0,100
Rừng Thái Lan		9	5,47	4,55	0,70	0,75	0,032
Rừng Việt Nam		6	6,00	5,64	0,77	0,73	0,142

*Dấu * biểu thị cân bằng Hardy- Weinberg*

Hệ số cận huyết ở lợn rừng Việt Nam khá cao (0,142) so với lợn rừng Thái Lan (0,032). Điều này có thể là do lợn rừng Việt Nam được thu giữ và nuôi nhốt với số lượng ít từ lợn rừng hoang dã còn lợn rừng Thái Lan đã được nhập bởi các trang trại chăn nuôi Việt Nam nên có sự quản lý giống chặt chẽ hơn. Hệ số cận huyết của lợn Landrace trong nghiên cứu này cũng cao hơn trung bình các giống lợn nội Việt Nam. Trong 15 giống lợn nội được sử dụng trong nghiên cứu thì miền Bắc chiếm phần lớn với 10 giống, miền Trung chỉ có 2 giống và còn lại 3 giống ở miền Nam. Trung bình các giống lợn miền Bắc có sự đa dạng nguồn gen cao hơn so với miền Nam và miền Trung.

Kiểm tra trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg cho thấy 6 giống lợn đang ở trạng thái cân bằng là lợn Hương, Lũng Pù, Móng Cái, Cỏ, Ba Xuyên, Landrace.

Laval và cs. (2000) sử dụng 18 microsatellite để xác định đa dạng di truyền và so sánh sự sai khác di truyền của 11 giống lợn nuôi tại các nước châu Âu nhưng số alen trung bình chỉ dao động từ 3,2 đến 5,2. So với kết quả nghiên cứu của Laval và cs. (2000) trên các giống lợn của Châu Âu thì ở các giống lợn nuôi của Việt Nam có số lượng alen trung bình trên một chỉ thị cao hơn. Đây cũng là điều dễ hiểu bởi vì phần lớn các giống vật nuôi ở các nước phát triển đã được chọn lọc kỹ theo các dòng để phục vụ mục đích thương mại nên có độ thuần chủng rất cao, alen đồng hợp tăng, giảm tỷ lệ dị hợp. Điều này đồng nghĩa với việc giảm sự đa dạng di truyền.

Trung bình số alen trên một chỉ thị ở mỗi giống lợn nghiên cứu thể hiện tương đối cao so với các quả nghiên cứu trên các giống lợn khác nhau của một số tác giả trên thế giới. Tần số dị hợp tử lý thuyết (H_e) trung bình là 0,72 đã chỉ ra rằng tính đa dạng di truyền cao ở các giống lợn Việt Nam, kết quả này tương đương với kết quả nghiên cứu của một số tác giả trên các giống lợn ở các nước như Trung Quốc, Hàn Quốc, Tiệp Khắc và Brazil (bảng 3.4).

Bảng 3.4. So sánh tính đa dạng di truyền của lợn bản địa Việt Nam với một số kết quả nghiên cứu trên các giống lợn thế giới

Giống	Số chỉ thị sử dụng	Na	He	Fis
Châu Âu				
Lợn bản địa (Laval và cs., 2000)	18	4,59	0,51	0,052
Lợn thương phẩm (Lemus và cs., 2001)	10	7,80	0,66	0,350
Lợn Bỉ (Van và cs., 1995)	7	2,95	0,59	0,045
Lợn Iberian (Matinez và cs., 2000)	25	4,37	0,57	0,059
Lợn Bồ Đào Nha (Vicente và cs., 2008)	22	4,33	0,67	0,067
Lợn Tiệp Khắc (Zidek và cs., 2011)	10	8,77	0,71	0,021
Lợn Ukraina (Kramarenko và cs., 2018)	12	11	0,58	0,092
Châu Mỹ				
Lợn Brazil (Sollero và cs., 2008)	28	8,96	0,69	0,019
Lợn Mexico (Lemus và cs., 2001)	10	6,80	0,67	0,250
Lợn Colombia (Pado và cs., 2014)	20	5,20	0,54	0,010
Lợn Uruguay (Montenegro và cs., 2015)	25	5,72	0,60	0,048
Châu Phi				
Lợn thương phẩm (Swart và cs., 2010)	40	4,49	0,58	0,082
Lợn bản địa (Swart và cs., 2010)	40	6,11	0,62	0,101
Châu Á				
Lợn Trung Quốc (Li và cs., 2000)	27	4,1	0,72	0,210
Lợn rừng Hàn Quốc (Kim và cs., 2005)	16	5,81	0,70	0,133
Lợn Đài Loan (Chang và cs., 2009)	19	2,39	0,56	0,332
Lợn Iriomote (Murakami và cs., 2014)	23	4,57	0,36	0,059
Lợn Taoyuan (Li và cs., 2015)	18	3,44	0,52	0,096
Lợn nội Việt Nam (nghiên cứu này)	19	8,15	0,72	0,080

Số alen trung bình của lợn nội Việt Nam ở mức cao so với lợn bản địa thế giới. Trong nghiên cứu này, số alen trung bình/giống cao hơn so với một số giống lợn nội đã được báo cáo bởi Thúy và cs. (2006). Kết quả của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Wang và cs. (2011) trên một số giống lợn bản địa Trung Quốc. Hệ số cận huyết của lợn nội Việt Nam ở mức trung bình so với lợn bản địa thế giới. Các giống lợn thương mại do có sự quản lý giống tốt nên có hệ số cận huyết thấp. Các giống lợn bản địa thường có hệ số cận huyết cao do gắn liền với nuôi thả tự do không được kiểm soát giao phối chặt chẽ. Trong báo cáo trước đây của Pham và cs. (2014) cho thấy lợn Lũng Pù có hệ số cận huyết rất cao (0,220) sau một thời gian được bảo tồn insitu, giống lợn này hiện đã giảm được mức cận huyết xuống thấp (0,020) (bảng 3.3). Trong các giống lợn nội của Việt Nam, lợn Cỏ có đa dạng di truyền thấp nhất. Đây là giống lợn được nuôi bởi đồng bào vùng sâu ở A Lưới -Thừa Thiên Huế có tỷ lệ nạc cao nhưng tầm vóc nhỏ (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013). Tuy nhiên giai đoạn những năm 60 của thế kỷ 20, giống lợn này bị áp lực cạnh tranh mạnh mẽ bởi lợn Móng Cái được đưa từ miền Bắc vào đã làm giảm nhanh số lượng. Mặc dù đã được bảo tồn từ một số cá thể ban đầu, lợn Cỏ hiện vẫn chỉ được nuôi tại một số xã ở A Lưới-Thừa Thiên Huế. Trong báo cáo của Ishihara và cs. (2018) lợn Cỏ có tần số dị hợp tử quan sát Ho thấp thứ 2 sau lợn Sóc khi phân tích SNP.

3.2.4. Khoảng cách di truyền

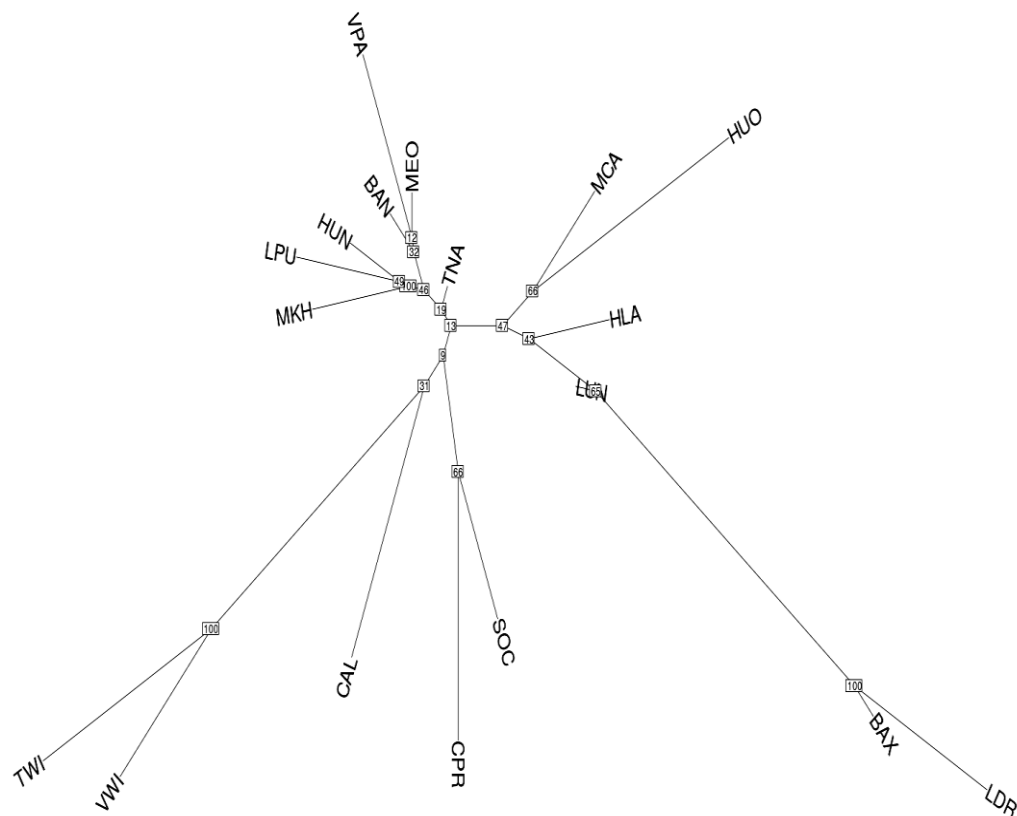
Khoảng cách di truyền giữa 15 giống lợn nội với lợn rừng và lợn Landrace được ước lượng theo Nei, 1978 thể hiện trên bảng 3.5 cho thấy khoảng cách di truyền giữa các giống có sự khác nhau rất lớn với mức ý nghĩa $P < 0,05$. Khoảng cách di truyền thấp nhất giữa lợn Mẹo-lợn Bản (0,101) và lớn nhất giữa lợn Hương-lợn rừng Thái Lan (1,498). Trong 15 giống lợn nội thì lợn Ba Xuyên có khoảng cách di truyền xa so với các giống lợn nội khác

(0,56-1,29). Các giống lợn ở phía bắc như Móng Cái, Hương, Hạ Lang, Lũng Pù, Mường Khương, Hung, Lũng, Bản, Táp Ná đều có khoảng cách di truyền gần nhau (trong khoảng từ 0,2-0,7). Theo Lê Viết Ly và cs. (1999) thì giống lợn Ba Xuyên được hình thành từ việc lai tạo giữa lợn địa phương ở miền Nam với lợn châu Âu. Trong nghiên cứu này cũng chỉ ra khoảng cách di truyền của lợn Ba Xuyên với lợn Landrace là gần nhất. Một số nghiên cứu về đa dạng di truyền các quần thể vật nuôi sử dụng chỉ thị microsatellite (Cúc và cs., 2019; Ba và cs., 2008), sai khác di truyền giữa các giống có sự tương đương với khoảng cách địa lý. Các giống gần nhau về khoảng cách địa lý có khoảng cách di truyền gần nhau. Ishihara và cs. (2018) cho rằng phần lớn các giống lợn nội Việt Nam phân bố trong những nhóm tương đồng với khoảng cách địa lý trừ lợn Ba Xuyên. Tuy nhiên ở nghiên cứu này một số giống có khoảng cách di truyền không tuân theo khoảng cách địa lý. Như giống lợn Mẹo ở Nghệ An khá xa Sơn La nhưng lại có khoảng cách di truyền rất gần với lợn Bản, lợn Ba Xuyên (miền Nam) có khoảng cách di truyền gần với lợn Lũng và lợn Hạ Lang (miền Bắc) khi so sánh với các giống nội khác mặc dù chúng cách xa về địa lý. Trong số các giống lợn có ngoại hình tương đồng về màu lông và da đen thì các giống lợn đen miền Bắc có khoảng cách di truyền gần nhau (Hung, Mường Khương, Lũng Pù, Táp Ná). Giống lợn Cỏ ở miền Trung và 2 giống lợn ở Tây Nguyên (Sóc, Chư Prông) có khoảng cách di truyền khá xa so với các giống miền Bắc và miền Nam (Ba Xuyên).

Bảng 3.5. Ma trận khoảng cách di truyền ước lượng theo Nei, (1978)

	BAX	BAN	CPR	CAL	HLA	HUN	HUO	LDR	LUN	LPU	MEO	MCA	MKH	TWI	VWI	SOC	TNA	VPA
BAX	0	0,852	1,086	1,301	0,669	0,941	0,965	0,263	0,571	1,112	0,95	1,009	1,168	1,268	1,146	0,804	0,928	1,041
BAN	*	0	0,559	0,511	0,437	0,22	0,575	1,064	0,304	0,291	0,101	0,426	0,228	0,921	0,85	0,456	0,172	0,292
CPR	*	*	0	0,845	0,694	0,604	0,809	1,255	0,55	0,885	0,512	0,758	0,665	1,048	0,937	0,453	0,476	0,686
CAL	*	*	*	0	0,681	0,6	0,851	1,386	0,6	0,655	0,435	0,694	0,546	1,102	0,803	0,641	0,456	0,585
HLA	*	*	*	*	0	0,335	0,546	0,836	0,295	0,428	0,458	0,282	0,515	0,792	0,881	0,581	0,272	0,603
HUN	*	*	*	*	*	0	0,538	1,182	0,342	0,234	0,239	0,354	0,246	0,82	0,791	0,504	0,156	0,416
HUO	*	*	*	*	*	*	0	1,38	0,572	0,751	0,558	0,466	0,661	1,498	1,305	0,755	0,559	0,706
LDR	*	*	*	*	*	*	*	0	0,61	1,314	1,126	1,117	1,385	1,237	1,184	1,131	1,077	1,392
LUN	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0,458	0,342	0,281	0,431	0,926	0,86	0,529	0,197	0,555
LPU	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0,317	0,501	0,299	0,83	1	0,639	0,22	0,459
MEO	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0,414	0,244	1,14	0,906	0,416	0,183	0,256
MCA	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0,491	1,105	1,185	0,61	0,288	0,595
MKH	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0,974	0,919	0,644	0,245	0,424
TWI	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0,486	1,073	0,725	1,062
VWI	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0,937	0,713	0,882
SOC	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0,382	0,411
TNA	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0	0,375
VPA	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	0

Cây phát sinh chủng loại thể hiện mối quan hệ di truyền giữa các giống lợn xây dựng dựa trên khoảng cách di truyền được trình bày ở hình 3.3.



Hình 3.3. Cây phát sinh chủng loại của 15 giống lợn nội, lợn Landrace và lợn rừng

Kết quả hình 3.3 cho thấy 15 giống lợn phân thành 3 nhánh lớn trong khi đó thì giống lợn ngoại và lợn rừng có phân bố trên các nhánh tách biệt và vưon xa. Cụ thể như sau:

- Nhánh 1 gồm 7 giống lợn: Mường Khương, Lũng Pù, Táp Ná, Hung, Mẹo, Bản và Vân Pa. Các giống này phần lớn đều là lợn đen, trừ lợn Hung (có

thể xuất phát từ một đột biến màu lông từ lợn đen Hà Giang) và có khoảng cách địa lý gần nhau, hầu hết tập trung ở Bắc Việt Nam. Các giống phân bố gần nhau thì khoảng cách di truyền cũng gần nhau như lợn Lũng Pù, Mường Khương và lợn Hung. Ba giống này có xu hướng tạo thành một nhánh phụ. Cũng trong nhánh 1 này, mặc dù cách xa nhau về khoảng cách địa lý nhưng lợn Bản - Sơn La và lợn Mẹo - Nghệ An lại có đặc điểm ngoại hình rất giống nhau và khoảng cách di truyền rất gần nhau. Kết quả này có thể là do quá trình di cư của đồng bào dân tộc thiểu số (H'Mông, Thái...) ở phía Bắc xuống phía Nam đã mang theo giống lợn Bản từ Sơn La vào Nghệ An trải qua một thời gian dài đã hình thành nên giống lợn Mẹo ngày nay. Giống lợn Vân Pa cùng với lợn Bản và lợn Mẹo tạo thành một nhánh phụ nhưng lợn Vân Pa có xu hướng tách ra xa hơn so với lợn Bản và lợn Mẹo.

- Nhánh 2 gồm 5 giống lợn: Cỏ, Sóc, Chur Prông và 2 giống lợn rừng (Việt Nam và Thái Lan). Tuy nhiên 5 giống lợn trong nhánh này hình thành 3 nhánh nhỏ hơn. Trong đó lợn Sóc và Chur Prông (có phân bố ở Tây Nguyên) nằm cùng nhánh nhưng lợn Chur Prông có xu hướng phân ly xa lợn Sóc. Hai giống lợn này được nuôi giữ bởi các đồng bào dân tộc thiểu số ở Tây Nguyên, có tầm vóc và hình thái giống nhau và chỉ khác nhau màu sắc lông. Lợn Sóc màu lông đen, còn lợn Chur Prông màu lông trắng tuyền. Qua đây có thể nhận định rằng lợn Chur Prông là một biến chủng màu sắc lông từ lợn đen thành trắng sau đó được chọn lọc nuôi giữ và hình thành nên quần thể lợn trắng hiện nay. Một bằng chứng là nhóm lợn trắng này chỉ có duy nhất tại xã Ia Kly ở huyện Chư Prông mà chưa thấy xuất hiện ở đâu nữa và cũng trong xã này vẫn có một số hộ nuôi lợn đen giống với lợn Sóc. Cũng tại đây có thể bắt gặp một số cá thể là kết quả tạp giao giữa lợn đen với lợn trắng Chư Prông nhưng với tần số thấp tạo ra con lai có màu lông trắng đốm đen. Hai giống lợn rừng tạo thành 1 nhánh phụ và lợn Cỏ nằm riêng một nhánh trong nhóm này.

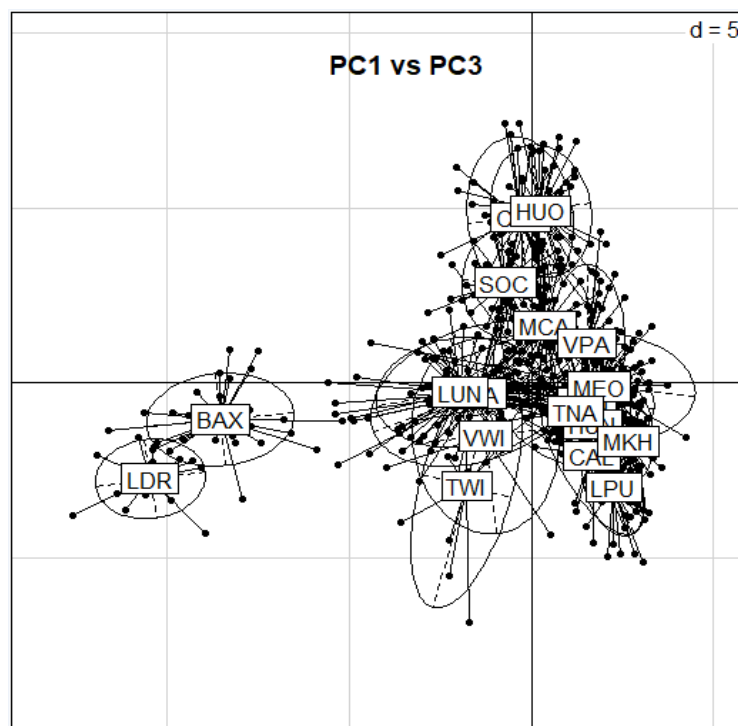
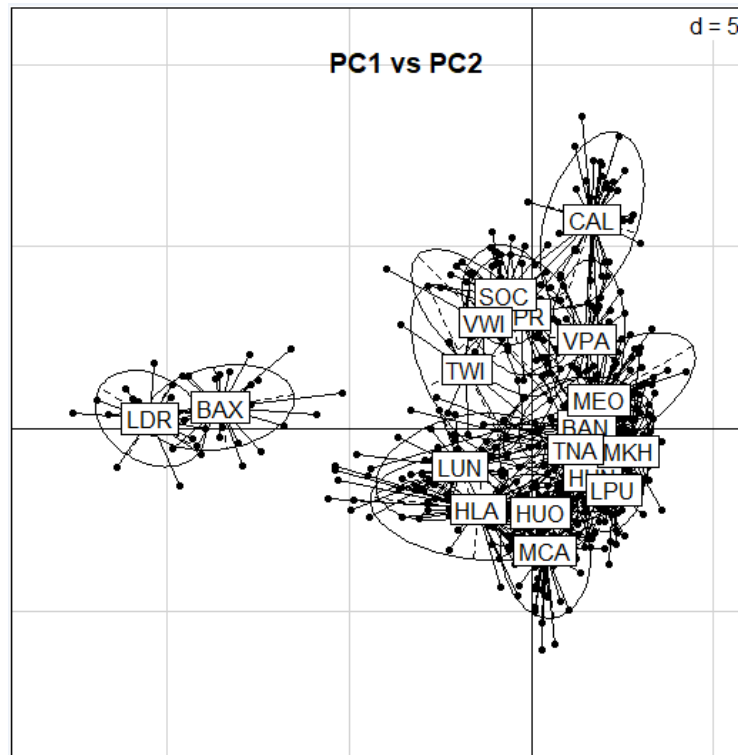
- Nhánh 3 gồm 6 giống lợn: Móng Cái, Hương, Hạ Lang, Lũng, Ba Xuyên và Landrace. Các giống lợn Móng Cái, Hương, Hạ Lang, Ba Xuyên đều có lông, da lang trắng đen. Lợn Móng Cái, Hương và Hạ Lang là những giống lợn phân bố ở vùng biên giới Trung Quốc. Những giống lợn này có đặc điểm ngoại hình cũng như khả năng sản xuất khác hẳn với các giống lợn đen bản địa khác của Việt Nam. Riêng giống lợn Lũng Phú Thọ, theo thông tin điều tra thu thập mẫu cho thấy có khả năng giống lợn này hiện nay đã bị trao đổi nguồn gen giữa đực Móng Cái với lợn nái đen bản địa từ những năm 1990 do thương lái Hà Tây mang lợn đực Móng Cái lên trao đổi buôn bán. Hiện tại trong quần thể lợn Lũng đang được bảo tồn lưu giữ giống gốc vẫn có cá thể khi sinh ra đàn lợn con xuất hiện cá thể lang trắng đen nhưng với tần số thấp. Giống lợn Ba Xuyên có phân bố địa lý ở Sóc Trăng (Tây Nam Bộ) - là giống lợn tạp giao với giống lợn có nguồn gốc châu Âu (Lê Viết Ly và cs., 1999) - nằm cùng nhánh và khá gần với lợn Landrace nhưng tách xa so với lợn Lũng và nhóm lợn lang phía Bắc (Móng Cái, Hạ Lang và Hương). Kết quả phân tích trên 5 giống bản địa Việt Nam của tác giả Thuy và cs. (2006) cho thấy 2 giống lợn Mường Khương, Táp Ná cùng một nhánh; lợn Cỏ với lợn Mẹo cùng một nhánh và lợn Móng Cái nằm riêng một nhánh.

3.2.5. Cấu trúc di truyền

3.2.5.1. Kết quả phân tích PCA

Kết quả phân tích PCA đối với 18 giống lợn dựa trên thông tin di truyền của 19 chỉ thị microsatellite thể hiện trên hình 3.4.

Từ hình 3.4 có thể nhận thấy giống lợn Ba Xuyên là lợn Landrace tách biệt rất rõ ràng. Trong 14 giống lợn nội còn lại và lợn rừng thì lợn Cỏ và lợn rừng Thái Lan cũng tách biệt rõ so với các giống lợn còn lại trong nhóm. Có thể nhận thấy rằng nếu chỉ sử dụng phân tích PCA khó có thể phân biệt sự phân bố của các giống lợn trong trường hợp này.

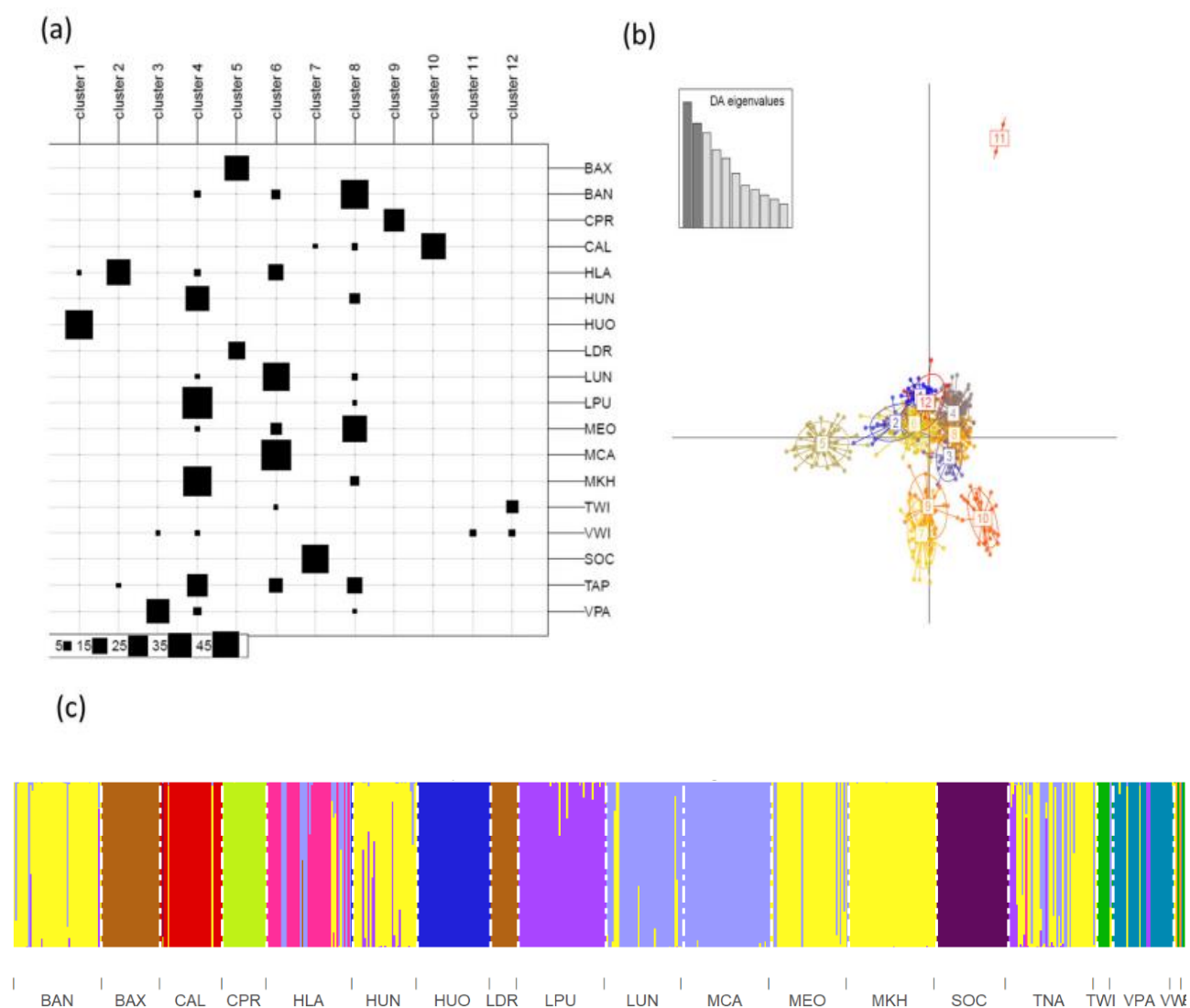


Hình 3.4. PCA của 18 giống lộn được thể hiện trên 3 trục

(a) trục 1 và 2; (b) trục 1 và 3

3.2.5.2. Kết quả phân tích DAPC

Thông qua phân tích DAPC để xác định khả năng 18 giống lợn có bao nhiêu nhóm (cụm) di truyền, dựa trên dữ liệu 19 chỉ thị microsatellite với giả lập số nhóm (K) từ 1 đến 30. Chi tiết cấu trúc di truyền của 18 giống lợn được nghiên cứu thể hiện trong hình 3.5.



Hình 3.5. Kết quả phân tích cấu trúc di truyền của 18 giống lợn bằng DAPC.

(a) Thành phần 12 cụm di truyền; (b) Hình ảnh phân bố của 12 cụm thu được từ DAPC; (c) Cấu trúc 12 cụm của 18 giống lợn.

Cấu trúc di truyền của 18 giống lợn phân bố trong 12 cụm di truyền được thể hiện ở hình 3.5, trong đó cụm số 4, 6 và 8 khá phức tạp. Cụ thể 12 cụm di truyền như sau:

Cụm số 1: Gồm toàn bộ giống lợn Hương và một phần nhỏ lợn Hạ Lang

Cụm số 2: Gồm phần lớn giống lợn Hạ Lang và phần rất nhỏ lợn Táp Ná.

Cụm số 3: Gồm lợn Vân Pa và một phần nhỏ lợn rừng Việt Nam.

Cụm số 4: Bao gồm phần lớn lợn Hung, Lũng Pù, Mường Khương và Táp Ná cùng một phần nhỏ lợn Hạ Lang, Lũng, Mèo, Vân Pa và lợn rừng Việt Nam.

Cụm số 5: Bao gồm hai giống lợn Ba Xuyên và Landrace.

Cụm số 6: Bao gồm phần lớn là giống lợn Lũng, Móng Cái, một phần lợn Hạ Lang, Mèo, Táp Ná và số ít lợn Bản, rừng Thái Lan.

Cụm số 7: Bao gồm toàn bộ lợn Sóc và một phần nhỏ lợn Cỏ.

Cụm số 8: Bao gồm phần lớn lợn Bản, lợn Mèo và một phần nhỏ lợn Cỏ, Hung, Lũng Pù, Lũng, Mường Khương, Táp Ná và Vân Pa.

Cụm số 9 : Chỉ gồm lợn toàn bộ giống lợn Chư Prông.

Cụm số 10: Gồm phần lớn giống lợn Cỏ.

Cụm số 11: Gồm một phần lợn Rừng Việt Nam.

Cụm số 12: Gồm phần lớn lợn rừng Thái Lan và một phần nhỏ lợn rừng Việt Nam.

Qua chi tiết 12 cụm di truyền cho thấy một số giống lợn có cấu trúc thuần, một số giống tương đối thuần và một số giống có cấu trúc pha tạp. Trong đó các giống lợn có cấu trúc thuần như: Ba Xuyên, Landrace, Hương, Móng Cái, Chư Prông và Sóc. Một số giống lợn có cấu trúc tương đối thuần như: Bản, Cỏ, Lũng, Lũng Pù, Mường Khương, Vân Pa và rừng Thái Lan.

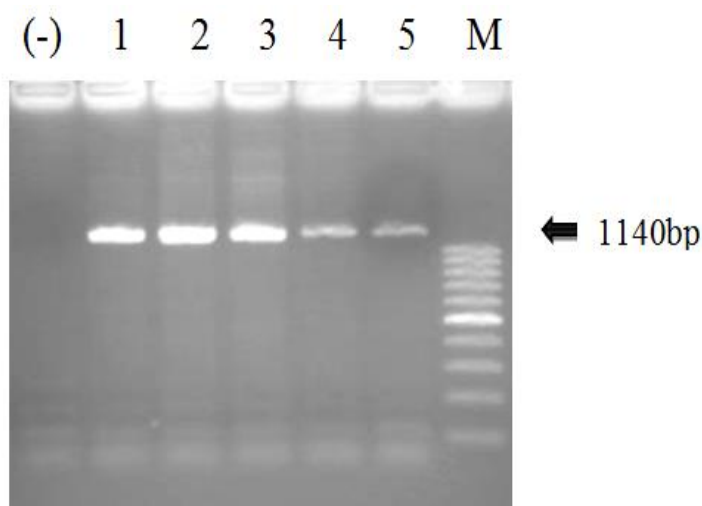
Một số giống có cấu trúc phức tạp như Hạ Lang, Hung, Mèo, Táp Ná và lợn rừng Việt Nam.

Kết quả phân tích DAPC cũng chỉ ra rằng lợn Ba Xuyên cùng nằm trong một nhóm với lợn Landrace, điều này cũng tương đồng với báo cáo của Ishihara và cs. (2018). Sự pha trộn giữa một số giống lợn bản địa với lợn phương Tây cũng được báo cáo bởi Yang và cs. (2017). Ba giống lợn lang trắng đen ở gần biên giới phía Bắc (Hạ Lang, Hương, Móng Cái) nằm trong 3 cụm khác nhau. Trong đó lợn Hương và Móng Cái nằm trong 2 nhóm riêng còn lợn Hạ Lang có sự pha trộn gen di truyền với 4 cụm khác nhau. Ngoài phân di truyền đặc trưng ở cụm số 2 thì lợn Hạ Lang có sự pha trộn nhiều nhất với lợn Móng Cái, tiếp đến là nhóm lợn đen vùng Cao Bằng, Hà Giang và Lào Cai. Trong 15 giống lợn nội, ngoài lợn Ba Xuyên và 3 giống lợn Lang trắng đen thì có 9 giống màu lợn đen, còn lại 1 giống màu hung và 1 giống màu trắng. Các giống lợn đen phía Bắc tạo thành hai cụm (số 4 và số 8) điển hình. Cụm số 4 là lợn đen biên giới phía Bắc (Cao Bằng, Hà Giang, Lào Cai), cụm số 8 là lợn đen phía Tây Bắc (Sơn La). Phân tích cấu trúc di truyền của cụm số 6 cho thấy được sự phát tán nguồn gen lợn Móng Cái pha trộn trong các giống lợn Bản, Mèo, Hạ Lang, Táp Ná, Lũng. Sự ảnh hưởng rộng rãi của nguồn gen lợn Móng Cái tới một số giống lợn nội khác là kết quả của quá trình cải tạo nâng cao năng suất những năm 1980 do giống lợn Móng Cái có những đặc điểm ưu việt hơn về tầm vóc lớn, đẻ nhiều, nuôi con khéo. Bốn giống lợn Vân Pa, lợn Cỏ, lợn Sóc và lợn Chư Prông phân bố trong 4 cụm di truyền riêng tạo thành những giống đặc hữu của miền Trung và Tây Nguyên mặc dù lợn Cỏ và lợn Vân Pa vẫn còn bị pha tạp một phần.

3.3. ĐA DẠNG DI TRUYỀN GEN *CYTOCHROME B* Ở MUỖI LẮM GIỐNG LỢN NỘI

3.3.1. Kết quả phản ứng PCR

Gen *Cytochrome B* được khuếch đại thành công bằng phản ứng PCR với cặp mồi H6 và L7 có kích thước 1140 bp. Kết quả trên hình 3.6 cho thấy sản phẩm PCR gen *Cytochrome B* sáng rõ nét và có kích thước tương ứng với lý thuyết (1140 bp). Kết quả PCR đạt yêu cầu về nồng độ và chất lượng cho các phân tích tiếp theo.



Hình 3.6. Ảnh điện di sản phẩm PCR gen *Cytochrome B* trên gel agarose 2%

(mẫu số 1, 2, 3, 4, 5); (-): đối chứng âm; M: marker 100 bp.

3.3.2. Kết quả giải trình tự gen *Cytochrome B*

Kết quả giải trình tự các mẫu đều cho kết quả chính xác, các đỉnh tương ứng với mỗi nucleotide đều rõ ràng. Mỗi chiều của phản ứng cho kết quả đọc chính xác tới 700 nucleotide (hình 3.7).



Hình 3.7. Một đoạn kết quả giải trình tự gen *Cytochrome B*

3.3.3. Đa dạng nucleotide và đa hình trình tự gen *Cytochrome B* ở từng giống lợn nội Việt Nam

Toàn bộ gen *Cytochrome B* (1140 bp) sau khi giải trình tự theo hai chiều xuôi và ngược được tiến hành xử lý loại bỏ đoạn đầu và đoạn cuối sau đó ghép nối thu được trình tự đoạn gen *Cytochrome B* dài 975 bp của 285 mẫu lợn (284 mẫu lợn nội và 1 mẫu lợn rừng Việt Nam). Kết quả phân tích đa dạng di truyền trình tự gen *Cytochrome B* ở các giống lợn được thể hiện ở bảng 3.6. Trong 15 giống lợn nội Việt Nam, giống lợn Ba Xuyên (Kế Sách - Sóc Trăng) và giống lợn Mẹo (Kỳ Sơn - Nghệ An) có sự đa dạng haplotype cao nhất, mỗi giống phát hiện được 7 haplotype khác nhau với đa dạng haplotype (Hd) là 0,634; đa dạng nucleotide (Pi) là 0,00124 ở lợn Ba Xuyên và đa dạng haplotype (Hd)=0,792; đa dạng nucleotide (Pi)= 0,00183 ở lợn Mẹo. Ngược lại, giống lợn Hương (Hoà An - Cao Bằng) chỉ phát hiện được duy nhất 1 haplotype. Giống lợn Ba Xuyên được tiến hành thu thập mẫu năm 2012 khi đó số lượng còn tương đối nhiều tại vùng Kế Sách- Sóc Trăng, tuy nhiên hiện tại giống lợn này được cho là còn lại với số lượng rất ít. Điều đặc biệt là sự đa dạng haplotype gen *Cytochrome B* ở giống lợn này lại cao hơn so với một số giống khác.

Với 28 haplotype đã phát hiện được, haplotype 1 và halotype 9 là 2 haplotype xuất hiện nhiều nhất ở 16 giống lợn với tỷ lệ lần lượt là 166/285 và 60/285 (bảng 3.8). Đặc biệt là mẫu lợn rừng đã thu thập được có trình tự trùng với haplotype 1-haplotype xuất hiện phổ biến trong 15 giống lợn nội Việt Nam.

**Bảng 3.6. Đa dạng nucleotide và đa hình trình tự gen *Cytochrome B*
ở từng giống lợn**

Giống lợn	Số mẫu (n)	Số haplotype	Đa dạng haplotype (Hd)	Đa dạng nucleotide (Pi)
Hạ Lang	19	3	0,205	0,00031
Hung	20	5	0,616	0,00112
Mường Khương	20	2	0,189	0,00058
Hương	19	1	0,000	0,00000
Lũng Pù	20	5	0,511	0,00074
Móng Cái	19	2	0,199	0,00041
Mẹo	16	7	0,792	0,00183
Lũng	19	6	0,602	0,00148
Vân Pa	19	5	0,579	0,00118
Táp Ná	19	4	0,298	0,00043
Sóc	19	2	0,505	0,00052
Bản	19	6	0,721	0,00119
Chư Prông	19	4	0,574	0,00117
Ba Xuyên	18	7	0,634	0,00124
Cỏ	19	4	0,614	0,00114
Lợn rừng	1	1	0,000	0,00000

Bảng 3.7. Đa dạng trình tự nucleotide của 28 haplotype gen *Cytochrome B* ở các giống lợn nghiên cứu

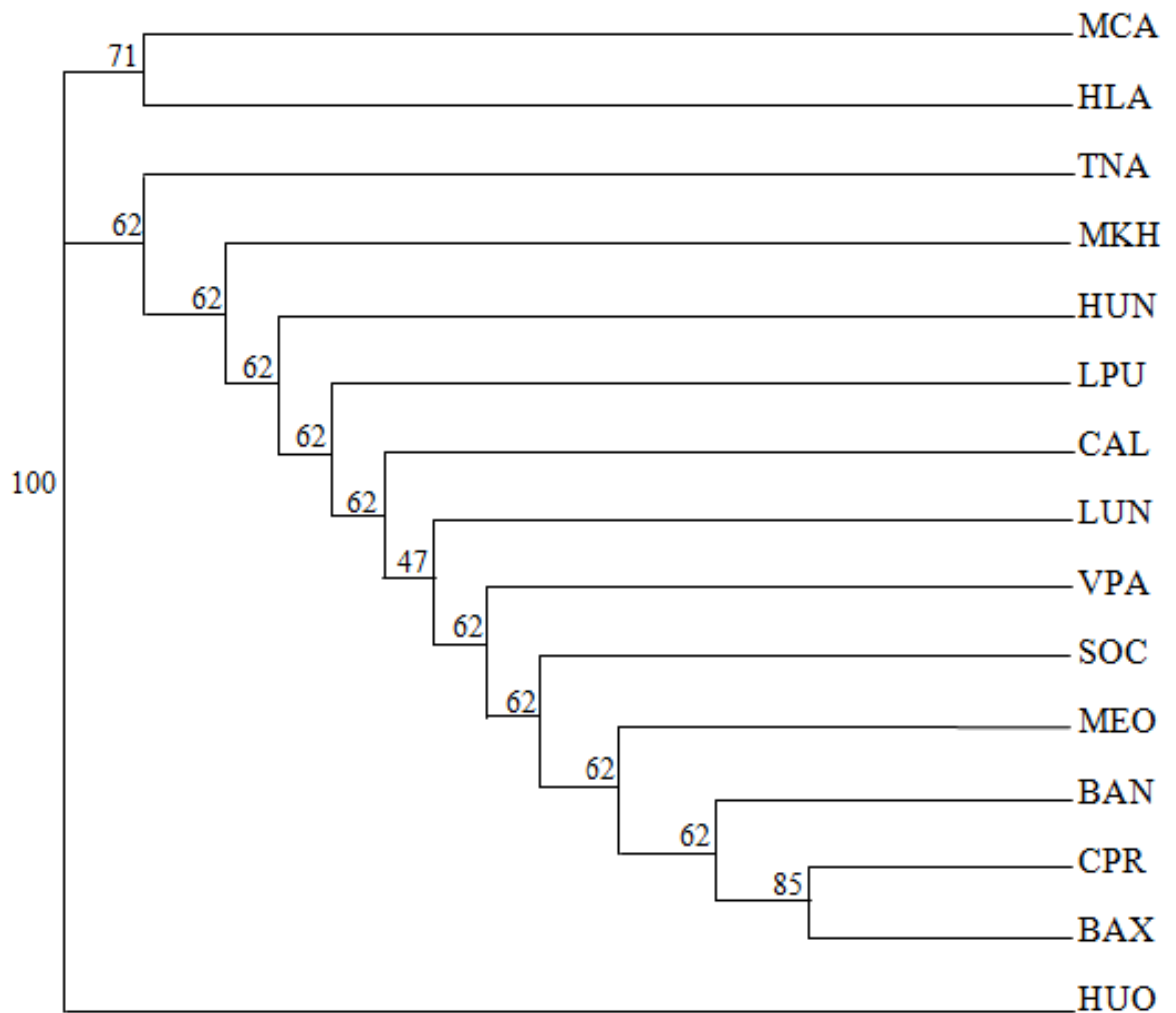
Vị trí	43	48	52	53	62	63	169	210	220	386	416	460	501	502	555	613	625	661	665	673	744	829	861	877	904	946	960
Hap1	G	T	G	A	T	C	G	T	C	A	A	G	G	G	C	G	G	C	G	G	C	G	C	G	T	C	T
Hap2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.
Hap3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap5	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.
Hap6	A	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.
Hap8	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.
Hap9	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap11	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap12	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap13	A	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	T	A	.	.	.
Hap14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap15	A	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.
Hap16	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
Hap17	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap18	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap19	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.
Hap20	.	.	.	.	G	G	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap21	.	.	.	C	.	.	.	C	.	.	.	A	T	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap22	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap23	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.
Hap24	.	.	.	.	G	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap25	.	.	T	.	G	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap26	.	.	.	C	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap27	.	.	.	C	G	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap28	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Bảng 3.8. Số lượng và phân bố của các haplotype gen *Cytochrome B* ở 285 mẫu lợn nghiên cứu

Haplotype	Số lượng	Phân bố ở các giống lợn
Hap 1	166	HLA (17), HUN (12), MKH (18), LPU (14), MCA (17), MEO (5), LUN (12), HUO (19), TNA (16), VPA (12), SOC(11), BAN (3), CPR (5), BAX (2), CAL(2), VWI (1)
Hap 2	2	HLA (1), LUN (1)
Hap 3	5	HLA (1), MCA (2), VPA(1), BAN(1)
Hap 4	4	HUN(4)
Hap 5	6	HUN (2), LPU (2), TNA (1), BAN (1)
Hap 6	3	HUN (1), MEO (1), VPA (1)
Hap 7	2	HUN (1), TNA (1)
Hap 8	2	MKH(2)
Hap 9	60	LPU (2), MEO (6), LUN (2), VPA (4), SOC (5), BAN (10), CPR (12), CAL (5) BAX (11)
Hap 10	1	LPU (1)
Hap 11	1	LPU (1)
Hap 12	2	MEO (1), LUN (1)
Hap 13	2	MEO (1), LUN (1)
Hap 14	1	MEO (1)
Hap15	2	MEO (1), VPA (1)
Hap16	2	LUN (2)
Hap17	1	TNA (1)
Hap18	2	BAN (2)
Hap19	2	BAN (2)

Hap20	1	CPR (1)
Hap21	1	CPR (1)
Hap22	11	CAL (11)
Hap23	1	CAL (1)
Hap24	1	BAX (1)
Hap25	1	BAX (1)
Hap26	1	BAX (1)
Hap27	1	BAX (1)
Hap28	1	BAX (1)

Kết quả phân tích mức đa dạng các haplotype của gen *Cytochrome B* ở các giống lợn Việt Nam không cao, chỉ xác định được 28 haplotype khác nhau trên 16 giống phân tích. So sánh sự sai khác di truyền giữa 28 haplotype cho thấy có sự khác nhau đáng kể. Trong đó lợn rừng chỉ có 1 mẫu với 1 haplotype 1 nằm trong haplotype phổ biến. Do vậy khi tiến hành xây dựng cây phát sinh chủng loại giữa các giống đã loại bỏ dữ liệu trình tự của mẫu lợn rừng. Cây quan hệ di truyền của 15 giống lợn được thể hiện trên hình 3.8.



Hình 3.8. Cây phân loại thể hiện mối quan hệ theo dòng mẹ giữa 15 giống lợn nội Việt Nam xây dựng theo mô hình neighbor-joining

Cây phát sinh chủng loại theo dòng mẹ giữa 15 giống lợn nội Việt Nam được chia thành 3 nhóm chính cụ thể như sau:

Nhóm 1 gồm 2 giống lợn: Móng Cái và Hạ Lang

Nhóm 2 gồm 12 giống lợn: Táp Ná, Mường Khương, Hung, Lũng Pù, Cỏ, Lũng, Vân Pa, Sóc, Mẹo, Bản, Chư Prông và Ba Xuyên

Nhóm 3 là giống lợn Hương.

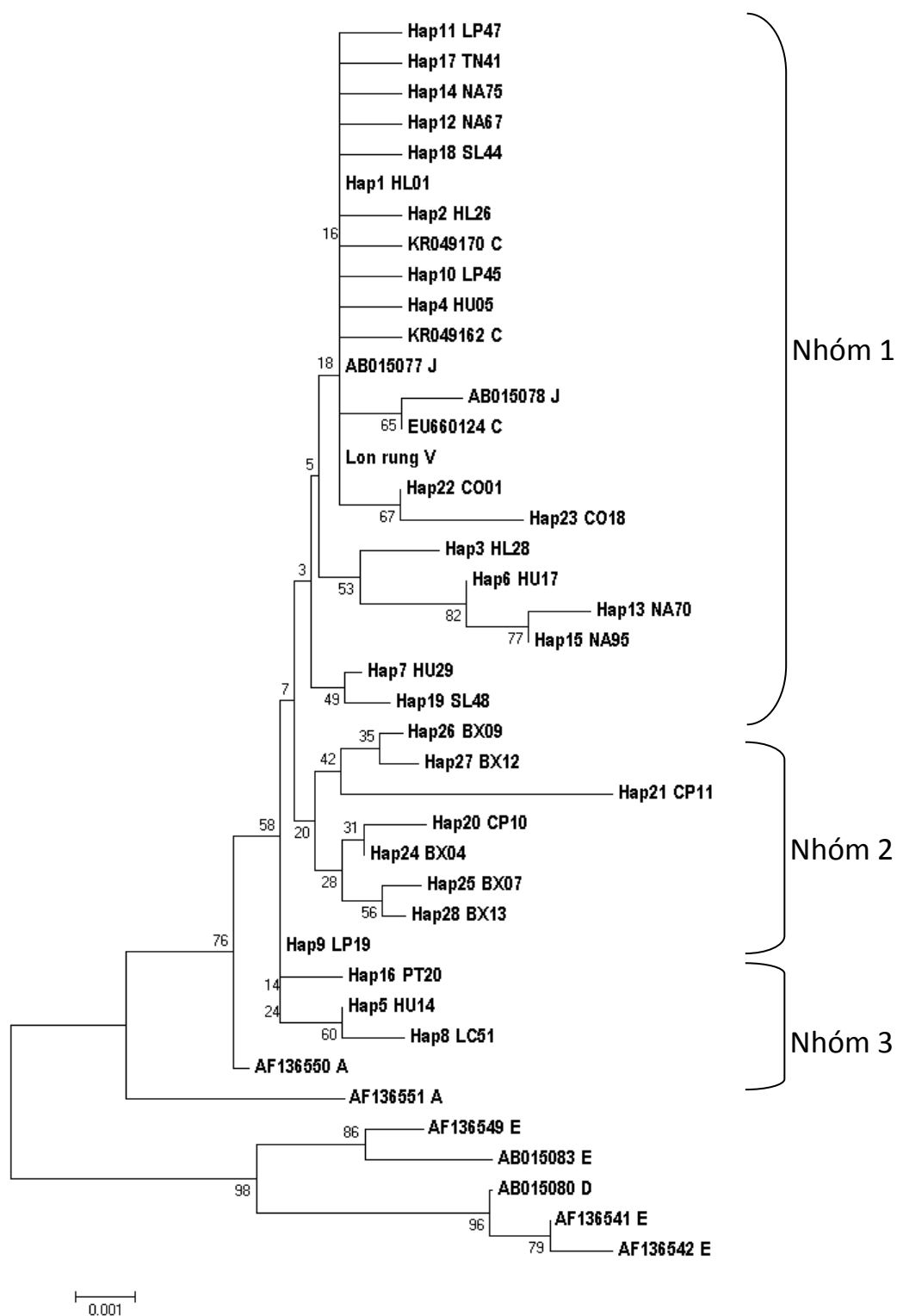
Qua hình 3.8 cho thấy lợn Móng Cái và lợn Hạ Lang có mối quan hệ di truyền gần gũi. Điều này phù hợp với kết quả phân tích cấu trúc di truyền dựa trên 19 chỉ thị microsatellite ở phần trước (lợn Hạ Lang có một phần cấu trúc

lai với lợn Móng Cái). Trong phân tích này lợn Hương có khoảng cách di truyền xa và nằm tách biệt một nhánh so với những giống còn lại. Kết quả phân tích cấu trúc di truyền và đa dạng di truyền dựa trên 19 chỉ thị microsatellite ở lợn Hương có cấu trúc di truyền thuần và riêng rẽ và độ đa dạng ở mức thấp. Theo kết quả phân tích của Bùi Anh Tuấn và cs. (2018) dựa trên trình tự vùng Dloop cho thấy lợn Móng Cái có quan hệ gần gũi với lợn Lantang ở miền Nam Trung Quốc và hai giống lợn Hạ Lang, Hương cũng nằm trong nhóm này nhưng ở 2 nhánh riêng biệt. Cũng theo tác giả này khi sử dụng dữ liệu hoàn chỉnh toàn bộ vùng mã hóa của hệ gen ty thể để xây dựng cây phân loại lại cho thấy lợn Hạ Lang và lợn Hương nằm trong cùng một phụ nhóm và cùng nhóm với lợn Móng Cái và lợn Lantang (Trung Quốc). Tuy nhiên kết quả của Bùi Anh Tuấn chỉ dựa trên dữ liệu phân tích của 6 mẫu trong mỗi giống. Kết quả này có sự khác biệt một chút so với kết quả của chúng tôi có thể là do sử dụng mẫu nghiên cứu khác nhau và dữ liệu trình tự vùng gen ty thể được nghiên cứu khác nhau. Bốn giống lợn miền núi biên giới phía Bắc tập hợp trong nhóm 2 (Táp Ná, Mường Khương, Hung, Lũng Pù) có quan hệ gần gũi với nhau (hình 3.8). Cũng trong nhóm 2, bốn giống lợn “đen” có quan hệ gần gũi với nhau là lợn Lũng, Vân Pa, Cỏ và Sóc. Đây là những giống lợn có màu sắc da và lông đen, tầm vóc nhỏ và tỷ lệ nạc cao (Tạ Thị Bích Duyên và cs., 2013). Lợn Bản và lợn Mẹo cũng có quan hệ gần nhau (tương đồng với phân tích 19 microsatellite). Lợn Chư Prông và lợn Ba Xuyên nằm gần nhau trong nhóm 2. Đây là bằng chứng phân tử khẳng định nguồn gốc của lợn Ba Xuyên là con lai giữa lợn đực Châu Âu với lợn cái bản địa miền Nam.

3.3.4. Mối quan hệ phát sinh giữa lợn Việt Nam với lợn nuôi, lợn rừng Châu Á và Châu Âu

Mối quan hệ phát sinh giữa 28 haplotype của 16 giống lợn Việt Nam (15 giống lợn nội và 1 giống lợn rừng) với các mẫu haplotype gen *Cytochrome B* từ ngân hàng gen (GenBank) của 2 haplotype lợn Nhật Bản (AB015077 Japan, AB015078 Japan); 3 haplotype lợn Trung Quốc (KR049170 China, KR049162 China, EU660124 China); 1 haplotype lợn Duroc Châu Âu (AB015080 Duroc); 2 haplotype lợn rừng Châu Á (AF136550 AWB1, AF136551 AWB1); 4 haplotype lợn rừng Châu Âu (AF136541 EWB1, AF136542 EWB2, AF136549 EWB3, AB015083 EWB4). Tổng số 40 haplotype gen cytochrome b được phân tích so sánh trình tự. Kết quả cho thấy 1 haplotype của lợn nuôi Nhật Bản (AB015078) trùng với haplotype số 1 trong 28 haplotype ở 16 giống lợn Việt Nam. Do vậy chỉ còn 39 haplotype được tổng hợp để phân tích. Kết quả đánh giá đa dạng di truyền dựa trên trình tự 39 haplotype khác nhau đã xác định được 51 điểm đa hình và đa dạng trình tự nucleotide (Pi) giữa các haplotype là 0.00157.

Cây phân loại về mối quan hệ di truyền của 39 mẫu haplotype được xây dựng theo mô hình neighbor-joining (hình 3.9). Hình ảnh ở cây phân loại cho thấy các mẫu haplotype của lợn Việt Nam có mối quan hệ di truyền gần gũi với lợn rừng Châu Á, tách biệt hoàn toàn so với lợn nuôi và lợn rừng Châu Âu. Đặc biệt các mẫu lợn nuôi của Việt Nam được chia thành 3 nhánh chính. Một nhánh gần với các mẫu lợn Trung Quốc và Nhật Bản. Một nhánh trung gian và nhánh còn lại gần với các mẫu lợn rừng Châu Á.



Hình 3.9. Cây phân loại thể hiện mối quan hệ phát sinh giữa 39 haplotype được xây dựng theo mô hình Neighbor-joining

Theo nghiên cứu của Lê Thành Long và cs. (2014) khi phân tích trình tự gen Cytochrome b của một số mẫu lợn nuôi và lợn rừng ở khu vực Tây Nguyên đã chỉ ra rằng có ít nhất 2 nhóm lợn rừng tương đối tách biệt nhau về mặt di truyền. Trong đó nhóm thứ nhất tách biệt so với nhóm thứ hai và với lợn rừng Châu Á. Trong nhóm lợn rừng thứ hai và các mẫu lợn nuôi có khoảng cách di truyền gần nhau và gần với lợn rừng Châu Á. Các tác giả cho rằng nhóm lợn rừng thứ nhất được lấy mẫu tại rừng nguyên sinh quốc gia Bidoup- Núi Bà, đây là một quần thể tự nhiên do vậy nhóm lợn rừng này không có sự lai với các nhóm lợn rừng khác vì vậy chúng hoàn toàn riêng biệt. Nhóm lợn rừng thứ hai được thu thập tại các trang trại khác nhau ở Tây Nguyên và chúng được sử dụng để lai phục vụ sản xuất. Tác giả cũng cho rằng lợn rừng bản địa Việt Nam thì khác biệt về mặt di truyền so với lợn rừng Thái Lan. Trong nghiên cứu này do điều kiện hạn chế nên chúng tôi chỉ thu thập được 1 mẫu lợn rừng được nuôi tại trang trại ở Ba Vì năm 2018. Tuy nhiên khi phân tích chỉ xác định được một haplotype duy nhất và đặc biệt là haplotype này lại trùng với haplotype phổ biến của lợn nhà nuôi.

Các haplotype được xác định ở các giống lợn nội, kể cả những giống được thu thập tại Gia Lai và Đắk Lắk (lợn Chur-Prông, lợn Sóc), đều gần về mặt di truyền với lợn rừng Châu Á. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Long và cs. (2014) cũng cho rằng các mẫu lợn nuôi bản địa khu vực Tây Nguyên có khoảng cách di truyền gần với lợn rừng Châu Á.

Thời gian phân ly trong quá trình tiến hóa giữa lợn rừng Châu Á và Châu Âu đã được ước tính vào khoảng 500000 năm trước Công nguyên (Giufra và cs., 2000) hoặc 746000 năm trước Công nguyên (Fernandez và cs., 2008). Vì vậy ở cây phân loại di truyền trên hình 3.9 cho thấy sự tách biệt giữa lợn rừng Châu Á và lợn rừng Châu Âu. Kết quả nghiên cứu này đã không phát hiện được kiểu haplotype của lợn Châu Âu trong các mẫu lợn bản

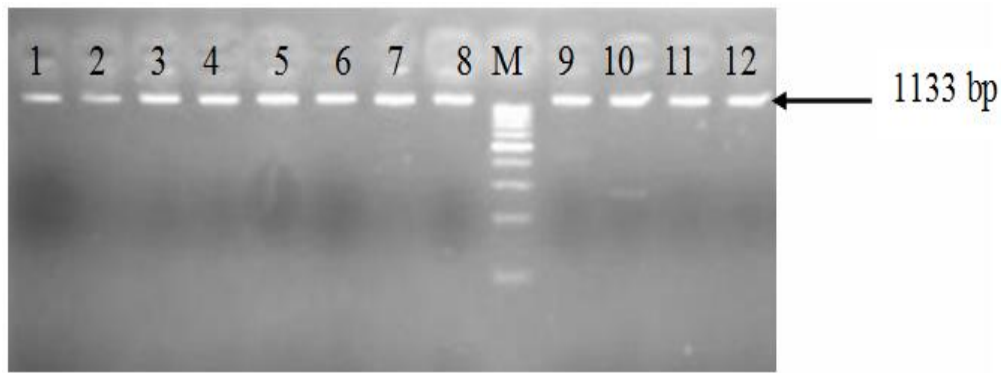
địa Việt Nam. Trong khi đó, Clop và cs. (2004) đã tìm thấy sự có mặt của cả hai kiểu haplotype của lợn Châu Á và Châu Âu khi phân tích trên các giống lợn Châu Âu (lợn đen Canarian, lợn Pietrain Đức, lợn Pietrain Bỉ và lợn Landrace). Theo kết quả phần nội dung 3.1 (nghiên cứu mối quan hệ di truyền dựa trên chỉ thị microsatellite) chỉ ra rằng lợn Ba Xuyên có quan hệ gần gũi với lợn Landrace. Tuy nhiên phân tích mối quan hệ di truyền dựa trên trình tự gen *Cytochrome B* cho thấy không có haplotype nào của lợn Việt Nam nằm trong nhánh lợn châu Âu, kể cả lợn Ba Xuyên. Điều này có thể giả thiết rằng lợn Ba Xuyên được hình thành do quá trình dài lai tạo giữa lợn mẹ bản địa Việt Nam với lợn châu Âu nên phần di truyền dòng mẹ (ADN ty thể) của lợn Việt Nam vẫn được bảo tồn trong giống lợn này. Kết quả phân tích đa hình trình tự gen *Cytochrome B* khẳng định 15 giống lợn nội Việt Nam không cùng nguồn gốc dòng mẹ với lợn châu Âu.

3.4. ĐA HÌNH DI TRUYỀN GEN MX1 VÀ MX2 Ở MƯỜI LĂM GIỐNG LỢN NỘI

3.4.1. Kết quả phản ứng nhân gen PCR

3.4.1.1. Gen *MX1* intron 6

Sau khi chạy phản ứng PCR đoạn gen *MX1* intron 6 với trình tự mồi theo Li và cs. (2007), đã nhân được đoạn gen *MX1* có kích thước khoảng 1133 bp, phù hợp với kích thước công bố trên ngân hàng gen (AH015318.2). Kết quả phản ứng PCR đoạn gen *MX1* trên các giống lợn nội của Việt Nam có kích thước cao hơn so với kết quả của Li và cs. (2007); Feng và cs. (2012) trên lợn bản địa Trung Quốc (911 bp). Hình ảnh điện di kết quả chạy PCR đoạn gen *MX1* trên lợn nội Việt Nam được minh họa trên hình 3.10.

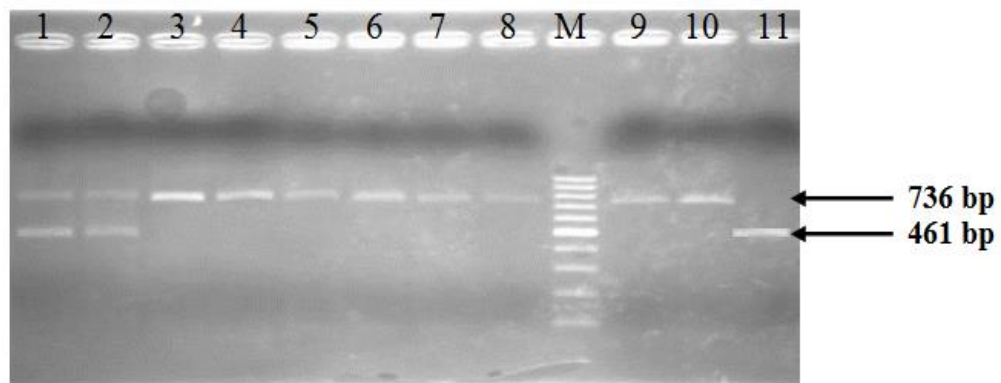


Hình 3.10. Kết quả PCR nhân đoạn gen *MX1* intron 6

*M: Marker 100 bp; 1-12: Sản phẩm PCR đoạn gen *MX1* intron 6*

3.4.1.2. Gen *MX1* promoter

Đa hình gen *MX1*- Promoter: Đã nhân thành công đoạn gen *MX1* promoter và xác định được đa hình 3 kiểu gen bằng mỗi đặc hiệu tương ứng với 2 alen A (461 bp) và B (736 bp). Kiểu gen AA có kích thước 461 bp, kiểu gen AB có kích thước 736 và 461, kiểu gen BB có kích thước 736 bp (hình 3.11). Kết quả này tương đương với báo cáo của Li và cs. (2015).

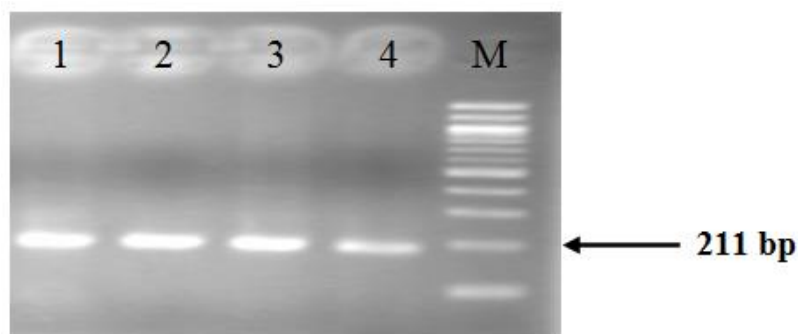


Hình 3.11. Kết quả PCR nhân đoạn gen *MX1* Promoter

*M: Marker 100 bp; 1-11: Sản phẩm PCR đoạn gen *MX1* Promoter*

3.4.1.3. Gen *MX2*

Đã nhân thành công đoạn gen *MX2* có kích thước khoảng 211 bp (hình 3.12) bằng cặp mồi theo Sasaki và cs. (2014). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của nhóm tác giả trên 3 giống lợn Duroc, Landrace và Large White.



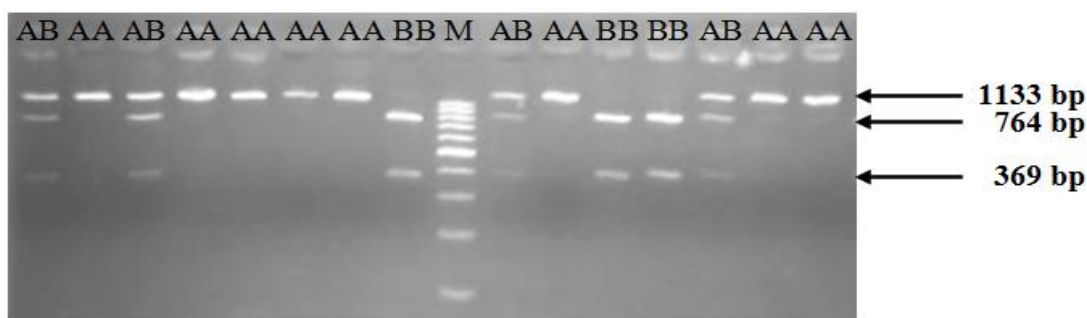
Hình 3.12. Kết quả PCR nhân đoạn gen *MX2*

*M: Marker 100 bp; 1-4: Sản phẩm PCR đoạn gen *MX2**

3.4.2. Đa hình di truyền gen *MX1* và *MX2*

3.4.2.1. Gen *MX1* - intron 6

Sau khi nhân thành công đoạn gen *MX1*-intron 6 có kích thước khoảng 1133 bp. Sản phẩm phản ứng PCR đoạn gen *MX1* - intron 6 được cắt bằng enzyme giới hạn *Sna*BI để xác định đa hình kiểu gen. Kết quả đã thu được 3 kiểu gen: AA, AB và BB với 2 alen A (1133 bp) và B (764 và 369 bp) được minh họa trên hình 3.13 và hình 3.14.



Hình 3.13. Kết quả cắt đoạn gen *MX1* intron 6 bằng *Sna*BI

M: Marker 100 bp; AA, AB, BB: Kiểu gen

Mỗi xuôi

```

1 TAGGCAATCAGCCATACGACATCGAATACCAGGTGAGACCTCGGGCTCCATCCTGGCGGG
61 GGCCTTGCGGGGCGGGGCTGCGTTACAGCAGGACTGTGAGTTCAGGACTGTGTCTGAAG
121 AATGGGTGCTAGGAGGTGTGAGTGGGGATTTGGAGAACACAGAGGTTGAAATCGGCTCCA
181 CCAATGTGGACAGAGGCAAATCGAAGAAGTTGGCAATGCCTTTTATTTGTGTTTTAGGTA
241 GTGACTCATTTTGTGCCATATCTAAGGTGGTATGTATCAGGGGAGAGGTTTTATGGGGGA
301 AGAGAGAGCATTAGAAGCAAGTATAGTGATATTTCTGAATCAGTGAATCTCACCATATGG
Điểm cắt enzyme SnaBI
361 GAATATACGTATAATTATTATTGTGATTGCGGGAATATACAAGCAATTATTTCAACGTCT
421 TGTTTTTTCGTTGTGACCATCAGATTTGAGGTCTTAGGAGAGAGTGATATCACTTCTGTCT
481 GGAATCTAATATATGGCACAAAGGAACCTTTCCACAGAAAAGAAAATCATGGACTTGCAG
541 AATAGACCTGTGGTTGCCAAGGGGAAGGGGGAGGGAGTGGGGTGGTTGGGGAGCTTGGGG
601 TTAATAGATGCAAATATTGCCTTTGGAATGGATGAGCAATGAGATCCTGCTGTGCAGTC
661 CTGGGAACGTGTGTGCAGTCACTTACGATGGAGCATGATTATATGCGAAAATAGAATGTGT
721 ACGTGCATGTGTAACCTGGGTCACCATGCTGTACAGTAGAAGAAAATATTGTATCGGGGAG
781 AAAACTATTAAAAAATAATAATTACAAAAAGAAATCTCATGGTTTTCCCTGATCCCAGAG
841 TTAGTTTCTCCGGCTCCGAAAGTGCTGCCAGGCTTGTATTGCGAGCTCATTTCTCCGTTG
901 CTGCTTCTTTGGAGAGACTCCTCTGGGACTTGGAGGGTCTGAAGCCAGTACAAGGTCAGG
961 ACCCGTCTCAGTTCTCACGCCCTCTTTTCTTCTAACAGATCAAGTCTCTGATCAAGAAGT
1021 ACATCTGTAAGCAGGAGACCATCAACTTGGTGGTGGTCCCCTGCAACGTGGACATTGCCA
1081 CCACGGAGGCGCTGCGCATGGCCCAGGAGGTGGACCCCGAAGGAGACAGGACC

```

Mỗi ngược

Hình 3.14. Trình tự đoạn 1133 bp gen *MX1* từ điểm mỗi xuôi và mỗi ngược và điểm cắt của enzyme *Sna*BI ở lợn nội Việt Nam

Kết quả hình ảnh điện di cắt enzyme cũng khẳng định là kích thước alen A và B thu được trên lợn nội Việt Nam lớn hơn so với kết quả của 2 tác giả Li và cs. (2007) và Feng và cs. (2012) trên lợn Trung Quốc. Kết quả phân tích đa hình đoạn gen *MX1*- intron 6 trên 15 giống lợn nội Việt Nam được thể hiện ở bảng 3.9.

Bảng 3.9. Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen gen *MX1*- intron 6

Giống	Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen (%)					χ^2
	AA	AB	BB	Alen A	Alen B	
Bản	41,7	37,5	20,8	60,4	39,6	2,24
Ba Xuyên	96,8	3,2	0,0	98,4	1,6	0,01
Cỏ	53,6	21,4	25,0	64,3	35,7	7,96
Chư Prông	52,6	31,6	15,8	68,4	31,6	1,38
Hung	37,1	20,0	42,9	47,1	52,9	12,54
Hạ Lang	65,2	28,3	6,5	79,4	20,7	0,87
Hương	28,2	43,6	28,2	50,0	50,0	0,64
Lũng Pù	19,2	27,7	53,2	33,0	67,0	6,59
Lũng	63,6	27,3	9,1	77,3	22,7	1,65
Móng Cái	52,1	33,3	14,6	68,8	31,3	2,41
Mẹo	53,9	28,2	18,0	68,0	32,1	4,85
Mường						
Khuông	29,8	21,3	48,9	40,4	59,6	14,65
Sóc	84,6	10,3	5,1	89,7	10,3	7,65
Táp Ná	34,1	36,4	29,6	52,3	47,7	3,24
Vân Pa	84,9	9,1	6,1	89,4	10,6	8,94
Trung bình	53,2	25,3	21,6	65,8	34,2	5,00

Kết quả phân tích đa hình đoạn gen *MX1*- intron 6 ở các 15 giống lợn nội cho thấy có sự khác biệt giữa các giống. Những giống lợn có tỷ lệ kiểu

gen AA cao và BB (tần số alen A cao, alen B thấp) là Ba Xuyên, Sóc, Vân Pa. Trong đó giống lợn Ba Xuyên có tần số alen A rất cao (98,4%) và 96,8% số mẫu mang kiểu gen đồng hợp AA. Giống lợn này có tần số alen A cao gần tương đương với giống lợn Landrace (Li và cs., 2007; Ze và cs., 2012) và cũng là giống lợn nội Việt Nam có nguồn gốc được lai tạo với lợn châu Âu. Ngược lại, những giống có tần số alen A thấp, alen B cao là Lũng Pù, Mường Khương. Một số giống có tần số alen A và B ở mức trung bình như Móng Cái, Bản, Mẹo, Táp Ná. Trung bình tổng đàn tỷ lệ kiểu gen AA là 53,2%, AB là 25,3%, BB là 21,5%. Tần số alen A và B trung bình lần lượt là 65,8% và 34,2%. So sánh với kết quả của Li và cs. (2007), tần số alen A là 100% ở lợn Landrace (không có alen B) trong khi đó giống lợn Meishan tần số alen A chỉ là 55,5% và alen B là 44,5% (bảng 3.10). Theo tác giả này những cá thể mang gen BB có số tế bào bạch cầu cao hơn nhóm mang gen AB và AA, có nghĩa rằng với những cá thể mang kiểu gen BB sẽ có khả năng miễn dịch tốt nhất. Kết quả của Ze và cs. (2012) ở lợn Landrace chỉ có alen A (tần số 100%) và tần số alen B cũng có sự biến động rất lớn trong các giống lợn bản địa của Trung Quốc tương tự như kết quả thu được trong nghiên cứu này. Kết quả kiểm định tính cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg của tần số alen gen *MX1* – intron 6 ở các giống lợn cho thấy: các giống lợn Bản, Ba Xuyên, Chư Prông, Hạ Lang, Hương, Lũng, Móng Cái và Táp Ná cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg ($\chi^2 < \chi^2(1;0,05) = 3,81$). Các giống còn lại như lợn Cỏ, Hung, Lũng Pù, Mẹo, Mường Khương, Sóc và Vân Pa không cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg. Nguyên nhân có thể do ở các giống này chịu áp lực chọn lọc theo những xu hướng riêng hoặc giao phối cận huyết.

Bảng 3.10. Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen gen *MX1*-intron 6 trên một số giống lợn ngoại

Giống	Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen (%)				
	AA	AB	BB	Alen A	Alen B
Ze và cs. (2012)					
Bama mini	63,64	27,27	9,09	77,27	22,73
Huanjiang	70,37	18,52	11,11	79,63	20,37
Langtang	73,91	26,09	0	86,96	13,04
Ningxiang	11,54	53,85	34,61	38,46	61,54
Daheping	25	62,5	12,5	56,25	43,75
Pushi	66,67	22,22	11,11	77,78	22,22
Xiangtan	47,62	38,10	14,28	66,67	33,33
Xiangxi	66,67	33,33	0	83,33	16,67
Landrace	100	0	0	100	0
Li và cs. (2007)					
Large White	100	100	0	100	0
Landrace	100	100	0	100	0
Meishan	37	37	26	55,5	44,5

3.4.2.2. Gen *MX1*- promoter

Đã nhân thành công đoạn gen *MX1*- promoter và xác định được đa hình 3 kiểu gen tương ứng với 2 alen A (461 bp) và B (736 bp) bằng phương pháp PCR với cặp mồi đặc hiệu theo Li và cs. (2015). Kiểu gen AA có kích thước 461 bp, kiểu gen AB có kích thước 736 và 461, kiểu gen BB có kích thước 736 bp. Sự khác nhau về kích thước giữa alen A và B là do xuất hiện đa hình đoạn trình tự lặp ngắn chèn vào vùng promoter gen *MX1* (trình tự SINE) có kích thước 275 bp tại vị trí - 547 của gen *MX1*. Kết quả về đa hình gen *MX1* – promoter giữa các giống lợn nội Việt Nam được minh họa qua bảng 3.11.

Bảng 3.11. Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen gen *MX1*-promoter của 15 giống lợn nội

Giống	Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen (%)					χ^2
	Kiểu gen AA	Kiểu gen AB	Kiểu gen BB	Alen A	Alen B	
Bản	0,0	4,7	95,3	2,3	97,7	0,024
Ba Xuyên	81,0	14,2	4,8	88,1	11,9	4,272
Cỏ	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0	N
Chư Prông	0,0	11,1	88,9	5,6	94,4	0,125
Hung	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0	N
Hạ Lang	8,9	17,8	73,3	17,8	82,2	6,911
Hương	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0	N
Lũng Pù	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0	N
Lũng	4,8	52,3	42,9	31,0	69,0	2,135
Móng Cái	0,0	5,3	94,7	2,6	97,4	0,028
Mẹo	0,0	16,7	83,3	8,3	91,7	0,397
Mường						
Khương	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0	N
Sóc	0,0	13,0	87,0	6,5	93,5	0,224
Táp Ná	2,5	10,0	87,5	7,5	92,5	3,12
Vân Pa	0,0	27,3	72,7	13,6	86,4	1,097
Trung bình	6,5	11,5	82,0	12,2	87,8	

N: Không xác định

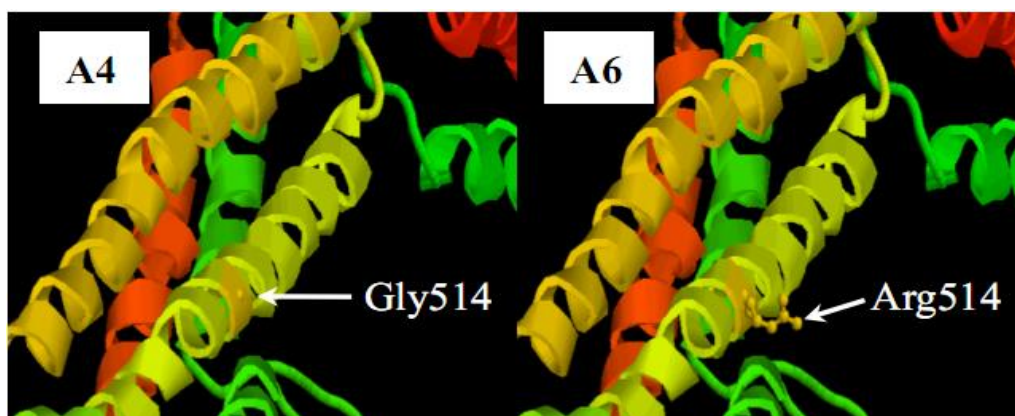
Kết quả phân tích đa hình đoạn gen *MX1*-promoter trên 15 giống lợn nội Việt Nam cho thấy tần số alen A và B giữa các giống có sự khác nhau khá lớn. Tỷ lệ alen B trung bình toàn đàn rất cao (87,8%) và alen A thấp (12,2%). Tuy nhiên giống lợn Ba Xuyên (có nguồn gốc lai tạo từ lợn Châu Âu với lợn nội) lại có tần số alen A cao nhất (88,1%) với phần lớn các cá thể mang kiểu gen AA (81,0%), còn tỷ lệ nhỏ mang kiểu gen AB và BB (14,2% và 4,8%). Các giống lợn nội còn lại đều có tỷ lệ alen A thấp, alen B rất cao (trên 90 % trừ lợn Lũng, Vân Pa và Hạ Lang). Tỷ lệ kiểu gen đồng hợp BB trong toàn

đàn khá cao, và nếu loại trừ giống Ba Xuyên thì có thể nói kiểu gen BB là đặc trưng cho lợn bản nội Việt Nam. Kiểm định tính cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg của tần số alen gen *MX1*-promoter ở các giống lợn cho thấy: các giống lợn Bản, Chư Prông, Lũng, Móng Cái, Mẹo, Sóc, Táp Ná và Vân Pa cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg ($\chi^2 < \chi^2(1;0,05) = 3,81$). Hai giống lợn Ba Xuyên và Hạ Lang không cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg. Theo Li và cs. (2015), alen B được coi là alen đặc trưng cho giống lợn bản địa Trung Quốc và có tần số rất cao (0,88 – 0,92). Trong khi đó alen A là alen đặc trưng cho lợn châu Âu với tần số cao (trên 0,90). Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả thấy rằng alen B (chứa vùng trình tự xen SINE)-có liên quan đến khả năng kháng vi rút tai xanh và đề cử đoạn gen này là một marker tiềm năng quan trọng liên quan đến kháng vi rút PRRS. Pena và cs. (2019) nghiên cứu mối tương quan giữa đa hình kiểu gen của gen *MX1* (liên quan đến đột biến chèn đoạn 275 bp ở vùng promoter) với tỷ lệ sảy thai do mắc bệnh tai xanh. Kết quả nghiên cứu cho thấy những cá thể mang gen AA và AB có tỷ lệ sảy thai do mắc bệnh tai xanh cao gấp 8,6 - 9,3 lần so với những cá thể mang kiểu gen BB.

Kết quả thu được trong nghiên cứu này cho thấy những cá thể đã từng nuôi chung với lợn ngoại bị bệnh tai xanh nhưng vẫn không bị lây nhiễm cũng có kiểu gen BB. Tuy nhiên để có thể khẳng định mối liên quan giữa kiểu gen BB tới khả năng kháng bệnh tai xanh của lợn nội hay không thì vẫn cần phải có nghiên cứu sâu hơn.

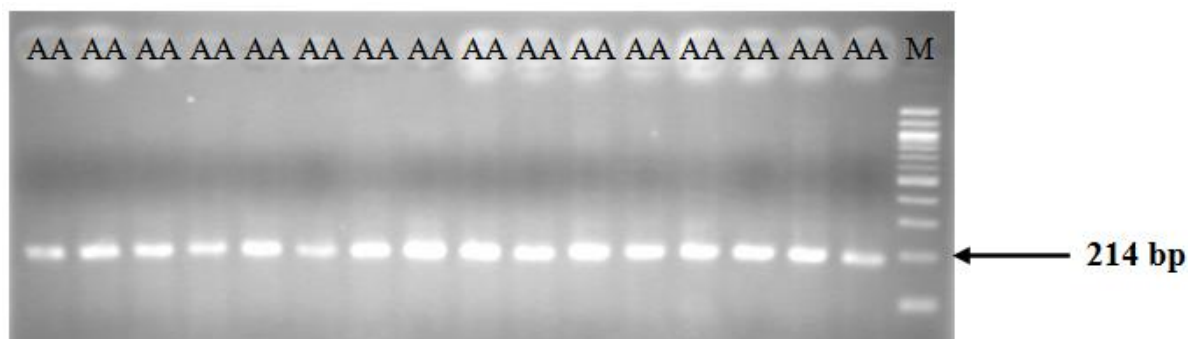
3.4.2.3. Gen *MX2*

Đoạn gen *MX2* được khuếch đại bằng phản ứng PCR với cặp mồi theo Sasaki và cs. (2014), có kích thước 214 bp. Sau khi cắt bằng enzyme giới hạn *XhoI* thì sẽ thu được 3 kiểu gen là AA (214 bp), AB (214, 191 và 23 bp) và BB (191 và 23 bp). Nếu cá thể nào mang alen B sẽ có trình tự là GGG mã hóa axit amin Gly tại vị trí 514 (bị cắt bởi *XhoI*). Ngược lại cá thể mang alen A sẽ có trình tự là AGG mã hóa axit amin Arg tại vị trí 514-hình 3.15 (không bị cắt bởi *XhoI*).



Hình 3.15. Vị trí của axit amin 514 (A4 là Gly và A6 là Arg) trong protein MX2 (theo Sasaki và cs., 2014)

Tuy nhiên kết quả cắt enzyme chỉ thu được 100% kiểu gen AA trên toàn bộ 15 giống lợn nội (minh họa trên hình 3.16). Như vậy đoạn gen *MX2* ở lợn nội Việt Nam không đa hình và không chứa điểm cắt của enzyme *XhoI*. Trình tự nucleotide tại vị trí nhận biết của enzyme giới hạn *XhoI* trong đoạn gen *MX2* ở lợn nội Việt Nam là A (điểm mã hóa Arg tại vị trí 514).



Hình 3.16. Kết quả cắt đoạn gen *MX2* bằng enzyme *XhoI*
(M: Marker 100 bp; AA: Kiểu gen)

Theo kết quả của Sasaki và cs., 2014 thì alen A có liên quan đến khả năng kháng vi rút viêm nhiệt miệng VSV và vai trò của alen đa hình axit amin 514 trong gen *MX2* của lợn tới khả năng kháng vi rút giống tương tự như đa hình axit amin 631 trong gen *Mx* của gà.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

KẾT LUẬN

1. Đa dạng di truyền, cấu trúc di truyền của 15 giống lợn dựa trên các chỉ thị microsatellite

Mười lăm giống lợn nội Việt Nam được nghiên cứu đều thể hiện tính đa dạng di truyền cao. Trong đó giống lợn Bản, lợn Mẹo và lợn Táp Ná có đa dạng di truyền cao sau đó đến lợn Ba Xuyên, Hung, Hạ Lang, Mường Khương, Móng Cái, Lũng, Lũng Pù, Sóc và Vân Pa; những giống có đa dạng di truyền thấp hơn là lợn Hương, lợn Cỏ và lợn Chư Prông.

Khoảng cách di truyền giữa 15 giống lợn nội với lợn rừng và lợn ngoại phần lớn có sự tương đồng theo phân bố địa lý. Mỗi quan hệ di truyền giữa 15 giống lợn nội với 2 giống lợn rừng và lợn Landrace trên cây phát sinh chủng loài phân bố trong 3 nhánh lớn.

Cấu trúc di truyền của 15 giống lợn nội với lợn rừng và lợn ngoại phân thành 12 cụm. Trong đó các giống lợn có cấu trúc thuần như: Ba Xuyên, Landrace, Hương, Móng Cái, Chư Prông và Sóc. Một số giống lợn có cấu trúc tương đối thuần như: Bản, Cỏ, Hung, Lũng, Lũng Pù, Mẹo, Mường Khương, Vân Pa và rừng Thái Lan. Một số giống có cấu trúc pha tạp như Hạ Lang, Táp Ná và lợn rừng Việt Nam

2. Đa dạng di truyền gen *Cytochrome b* ty thể

Đã xác định được 28 haplotype gen *Cytochrome b* trên tổng số 285 mẫu lợn của 15 giống lợn nội và 1 mẫu lợn rừng Việt Nam. Mức độ đa dạng các haplotype gen *cytochrome b* ở 15 giống lợn nội thấp, tuy nhiên mức sai khác di truyền giữa các haplotype lại tương đối cao và được phân thành 3 nhóm. Kết quả nghiên cứu là bằng chứng phân tử về mối quan hệ phát sinh chủng loại giữa lợn nội Việt Nam với lợn nuôi và lợn rừng châu Á, châu Âu chứng minh lợn nội Việt Nam có cùng nguồn gốc từ lợn rừng châu Á.

3. Đa hình di truyền gen *MX1* và *MX2*

Gen *MX1* – intron 6 có đa hình cao ở 15 giống lợn nội, trong đó tần số alen A (65,8%) chiếm ưu thế hơn so với alen B (34,2%). Những giống lợn có alen B thấp là Ba Xuyên, Sóc, Vân Pa. Những giống có tần số alen B cao là Lũng Pù, Mường Khương, Hung, Hương, Táp Ná và Bản.

Tần số alen gen *MX1* –promoter của 15 giống lợn nội có sự khác nhau giữa các giống. Tần số alen A trung bình toàn đàn thấp (12,2 %) và alen B có tần số rất cao (87,8 %). Những giống có tần số alen B cao là lợn Bản, Cỏ, Chư Prông, Hung, Hương, Lũng Pù, Móng Cái, Mẹo, Mường Khương, Sóc, Táp Ná. Tần số alen B thấp nhất ở lợn Ba Xuyên.

Gen *MX2* không có sự đa hình ở 15 giống lợn nội Việt Nam, toàn bộ các giống lợn nghiên cứu đều chỉ xuất hiện kiểu gen AA với tần số alen A là 100%.

ĐỀ NGHỊ

Từ kết quả nghiên cứu trên chúng tôi đưa ra một số đề nghị sau:

1. Một số giống lợn có hệ số cận huyết cao (Hung, Hạ Lang, Móng Cái và Sóc) cần có chính sách quản lý giống chặt chẽ nhằm tránh các tác hại do giao phối cận huyết .

2. Một số giống lợn có cấu trúc di truyền pha tạp như lợn Hung, Hạ Lang, Táp Ná cần được chọn lọc và nhân thuần.

3. Cần có các nghiên cứu tiến hành giải và phân tích trình tự toàn bộ hệ gen để khai thác những đặc điểm di truyền đặc trưng của các giống lợn nội Việt Nam

4. Cần có một chương trình nghiên cứu sâu hơn nhằm tìm kiếm, đánh giá, chọn tạo giống lợn nội có khả năng kháng bệnh dựa trên các chỉ thị phân tử.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

- Nguyễn Văn Ba, Phạm Doãn Lân, Đỗ Ngọc Duy, Nguyễn Trọng Bình, Lê Thị Thúy, Nhữ Văn Thụ, Hoàng Thanh Hải, Vũ Chí Cương và Jean Charles Maillard. 2008. Sử dụng kỹ thuật Microsatellite đánh giá đa dạng di truyền quần thể lợn ở Hà Giang. Tạp chí Khoa Học Công nghệ Chăn nuôi. Số đặc biệt: 151-159.
- Lê Ngọc Châu. 2012. Phân tích tính đa hình của trình tự 16S RNA, Cytochrome b ty thể và mối quan hệ phát sinh loài của lợn rừng Việt Nam. Luận văn Thạc sỹ.
- Ngô Thị Kim Cúc và Nguyễn Văn Ba. 2019. Đánh giá đa dạng di truyền của quần thể gà Lạc Sơn bằng chỉ thị microsatellite. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. Số 17(2): 117-125.
- Tạ Thị Bích Duyên, Đặng Hoàng Biên, Nguyễn Văn Trung, Ngô Thị Kim Cúc, Phạm Văn Sơn, Nguyễn Hữu Cường, Nguyễn Trọng Ngữ. 2013. Một số giống lợn bản địa Việt Nam. Chuyên khảo bảo tồn và khai thác nguồn gen vật nuôi Việt Nam. Nxb Khoa học tự nhiên và công nghệ: 52-93.
- Nguyễn Văn Đức, Tạ Thị Bích Duyên, Giang Hồng Tuyến và Nguyễn Văn Hà. 2004. Kết quả chọn lọc 2 nhóm MC MC3000 về khả năng sinh sản tốt và MC15 có khả năng TT và TLN cao. Hội nghị khoa học Bộ NN &PTNT (2004) Chăn Nuôi Gia súc. Nxb Nông Nghiệp: 124-127.
- Nguyễn Văn Đức. 2012. Giống lợn nội Việt Nam. Tạp chí KHKT Chăn nuôi. Số 11: 19-30.

- Phạm Đức Hồng và Phạm Hải Ninh. 2013. Bảo tồn và phát triển nguồn gen lợn Hạ Lang. Chuyên khảo bảo tồn và khai thác nguồn gen vật nuôi Việt Nam. Nxb Khoa học tự nhiên và công nghệ: 106-113.
- Trương Tấn Khanh. 2013. Bảo tồn và khai thác nguồn gen lợn Sóc Tây Nguyên. Chuyên khảo bảo tồn và khai thác nguồn gen vật nuôi Việt Nam. Nxb Khoa học tự nhiên và công nghệ: 134-138.
- Đỗ Võ Anh Khoa và Klaus Wimmer. 2011. Nghiên cứu đặc điểm, sự khác biệt di truyền phân tử bộ thể pC8B và tiềm năng cải tiến sức kháng bệnh ở heo. Tạp chí Công nghệ Sinh học. Số 9 (1): 55-60.
- Lê Viết Ly, Hoàng Kim Giao, Mai Văn Sánh, Võ Văn Sự và Lê Minh Sắt. 1999. Chuyên khảo bảo tồn nguồn gen vật nuôi ở Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Tập 1: Phần gia súc.
- Nguyễn Thị Phương Mai, Lê Ngọc Châu, Nguyễn Khắc Duy, Lê Thành Long và Hoàng Nghĩa Sơn. 2012. Phân tích một số đặc điểm đa hình và mối quan hệ phát sinh loài của lợn rừng Việt Nam khu vực Tây Nguyên dựa trên trình tự gen Cytochrome ty thể. Tạp chí sinh học. Số 34 (3se): 285-291.
- Nguyễn Văn Mão. 2013. Xác định một số đặc điểm ngoại hình, khả năng sản xuất của lợn Hưng – Hà Giang. Luận văn thạc sỹ khoa học Nông nghiệp, trường đại học Nông Lâm Thái Nguyên.
- Trịnh Quang Phong. 2012. Nghiên cứu phát triển giống lợn đen Lũng Pù địa phương tại huyện Vĩnh Xuyên, Hà Giang. Báo cáo tổng kết đề tài ADB.
- Hoàng Thị Phi Phượng, Phạm Sỹ Tiệp, Phạm Duy Phẩm, Nguyễn Văn Trung, Phạm Hải Ninh, Phùng Thăng Long, Ngô Mậu Dũng và Nguyễn Khắc Thanh. 2020. Báo cáo tổng hợp Kết quả Khoa học công nghệ nhiệm vụ

Quỹ gen cấp Quốc gia “Nghiên cứu nâng cao năng suất và sử dụng có hiệu quả nguồn gen lợn Cỏ và lợn Mẹo”, Hà Nội, 2020.

Hoàng Nghĩa Sơn, Nguyễn Thị Phương Mai, Hà Thanh Tùng, Lê Thị Châu, Nguyễn Hữu Duân, Nguyễn Khắc Duy, Đoàn Chính Chung, Đỗ Minh Sĩ và Lê Thành Long. 2013. Đánh giá mối quan hệ di truyền của heo rừng Việt Nam dựa trên vùng Dloop ty thể. Tạp chí sinh học. Số 35 (3se): 200-206.

Võ Văn Sự. 2009. Báo cáo kết quả bảo tồn nguồn gen vật nuôi Việt Nam. Bộ NN& PTNT- Bộ KH&CN. Viện Chăn Nuôi 2009.

Đặng Đình Trung, Nguyễn Văn Trung, Nguyễn Văn Đức và Nguyễn Thị Viễn. 2007. Hiện trạng chăn nuôi lợn tại một số tỉnh phía bắc Việt Nam. Tạp chí KH&CN Chăn nuôi. Số 6: 1-6.

Bùi Anh Tuấn, Nguyễn Đức Hiếu, Nghiêm Ngọc Minh, Võ Thị Bích Thủy. 2018. Phân tích đa dạng di truyền hệ gen ty thể và nguồn gốc tiến hóa của sáu giống lợn bản địa Việt Nam. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Số 60 (7): 53-59.

Nguyễn Thị Tường Vi. 2014. Một số chỉ tiêu sinh lý sinh sản của giống lợn Cỏ địa phương miền núi tỉnh Thừa Thiên Huế. Tạp Chí Khoa Học, Đại Học Sư Phạm TPHCM, số 58: 74 – 79.

TÀI LIỆU TIẾNG ANH

Alves, E., Ovilo, C., Rodriguez, M. C., Silio, L. 2003. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogenetic relationships among Iberian pigs and other domestic and wild pig populations. Anim Genet . 34 (5): 319-324.

Andrew, H. Paterson. 1996. Genome Mapping in Plants.

- Barker, J., S., F. 1994. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Guelph and Ontario, Canada. 21: 501-508.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. and Bonhomme, F. 1996. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la genetique des populations. Laboratoire genome, populations, interactions, CNRS UMR. 5000. This article is available from: <http://kimura.univ-montp2.fr/genetix/>.
- Berthouly, C., Thevenon, S., Van, T. N., Nguyen, B. T., Pham, L. D., Chi, C. V., Maillard, J. C. 2012. Uncontrolled admixture and loss of genetic diversity in a local Vietnamese pig breed. Ecol. Evol. 2: 962-975.
- Bosse, M. 2018. A genomics Perspective on pig domestication, Animal domestication. Fabrice Teletchea, Intech Open: 21-34
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32: 314-331.
- Chang, W. H., Chu, H. P., Jiang, Y. N., Li, S. H., Wang, Y., Chen, C. H., Chen, K. J., Lin, C. Y. and Ju, Y. T. 2009. Genetic variation and phylogenetics of Lanyu and exotic pig breeds in Taiwan analyzed by nineteen microsatellite makers. J. Anim. Sci. 87: 1-8.
- Clop, A., Amills, M., Noguera, J. L., Fernandez, A., Capote, J. 2004. Estimating the frequency of Asian cytochrome b haplotypes in standard European and local Spanish pig breeds. Genet. Sel. Evol. 36: 97-104.
- Cuong, N. V., Thu, N. T., Thoa, T. T., Hoan, T. X., Thuy, N. T., Thuy, N. T. D. 2012. Polymorphisms of candidate genes associated with meat

- quality and disease resistance in indigenous and exotic pig breeds of Vietnam. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 42 (3): 221-231
- Fang, M. and Andersson, L. 2006. Mitochondrial diversity in European and Chinese pigs is consistent with population expansions that occurred prior to domestication. *Proc. R. Soc. B.* 273: 1803-1810.
- FAO. 2009. The State of Food and Agriculture – Livestock in the Balance. Rome. Available online at:
<http://www.fao.org/docrep/012/i0680e/i0680e.pdf>.
- FAO. 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. Rome. Available online at:
<http://www.fao.org/docrep/014/i2413e/i2413e00.pdf>.
- Feng, Z. M., Zhou, X., Shao, H., Kong, X. F., Yin, Y. L. and Huang. R. 2012. Genotyping of five Chinese local pig breeds focused on meat quality by using PCR-RFLP based on halothane and MX1. *J. Food Agric. Environ.* 10(3&4): 840-845.
- Fernandez, A. I., Alves, E., Fernandez, A., Pedro, E., Lopez, M. A., Ovilo, C., Rodriguez, M. C. and Sileo, L. 2008. Mitochondrial genome polymorphisms associated with longissimus muscle composition in Iberian pig. *J. Anim. Sci.* 86: 1283-1290.
- Giuffra, E., Kijas, J. M. H., Amarger, V., Carlborg, O., Jeon, J. T. and Andersson, L. 2000. The origin of the domestic pig: Independent domestication and subsequent introgression. *Genetics.* 154: 1785-1791.
- Goldstein, D. B., Linares, A. R., Cavalli-Sforza, L. L., Feldman, M. W. 1995. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics.* 139: 463-471.

- Goudet, J. 2002. FSTAT version 2.9.3.2, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Retrieved from <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.html>.
- Groenen, M. A., Archibald, A. L., Uenishi, H., Tuggle, C. K., Takeuchi, Y., Rothschild, M. F., Rogel-Gaillard, C., Park, C., Milan, D. & Megens, H. J. 2012. Analyses of pig genomes provide insight into porcine emography and evolution. *Nature*. 491: 393-398.
- Groeneveld, L., Lenstra, J., Eding, H., Toro, M., Scherf, B., Pilling, D., Negrini, R., Finlay, E., Jianlin, H. & Groeneveld, E. J. A. G. 2010. Genetic diversity in farm animals—a review. 41: 6-31.
- Gupta, S. K., Kumar, A., Hussain, S. A., Vipin, Singh, L. 2013. Cytochrome b based genetic differentiation of Indian wild pig (*Sus scrofa cristatus*) and domestic pig (*Sus scrofa domestica*) and its use in wildlife forensics. *Sci. Justice*. 53(2): 220-222.
- Hongo, H., Naotaka, I., Takuma, W., Nobuo, S., Tomoko, A., Dang, V. B, Nguyen, T. T., & Nguyen, H. N. 2002. Variation in mitochondrial DNA of Vietnamese pigs: relationships with Asian domestic pigs and Ryukyu wild boars. *Zoological Science*. 19: 1329-1335.
- Ibeagha Awemu, E. M., Peters, S. O., Bemji, M. N., Adeleke, M. A. & Do, D. N. 2019. Leveraging available resources and stakeholder involvement for improved productivity of African livestock in the era of genomic breeding. *Frontier in Genetics* 10.
- Ishihara, S., Arakawa, A., Taniguchi, M., Luu, Q., Pham, D., Nguyen, B., Mikawa, S. and Kikuchi, K. 2018. Genetic relationships among Vietnamese local pigs investigated using genome - wide SNP markers. *Anim. Genet*. 49: 86-89.

- Jnyanashree, S., Roy, T. C., Naskar, S., Dasand, B. and Ferdoci, A. M. 2015. Molecular characterization of Cytochrome b gene in indigenous pig. *Indian J. Anim. Res.* 49 (2): 196-198.
- Jombart, T. 2008. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics.* 24: 1403-1405.
- Kijas, J. M. H. and Andersson, L. 2001. A phylogenetic study of the origin of the domestic pig estimated from the near-complete mtDNA genome. *J Mol. Evol.* 52(3): 302-308.
- Kim, K. I., Lee, J. H., Li, K., Zhang, Y. P., Lee, S. S., Gongora, J. and Moran, C. 2002. Phylogenetic relationships of Asian and European pig breeds determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. *Anim. Genet.* 33 (1): 19-25
- Kim, T., Kim, K., Choi, B., Yoon, D., Jang, G., Lee, K., Chung, H., Lee, H., Park, H. and Lee, J. 2005. Genetic structure of pig breeds from Korea and China using microsatellite loci analysis. *J. Anim. Sci.* 83(10): 2255-2263.
- Kramarenko, S. S., Lugovoy, S. I., Kharzinova, V. R., Lykhach, V. Y., Kramarenko, A. S. and Lykhach, A. V. 2018. Genetic diversity of Ukrainian local pig breeds based on microsatellite markers . *Regul. Mech. Biosyst.* 9(2): 177-182.
- Larson, G., Albarella, U., Dobney, K., Conwy, P. R., Schibler, J., Tresset, A., Vigne, J. D., Edwards, C. J., Schlumbaum, A., Dinu, A., Balacescu, A., Dolman, G., Tagliacozzo, A., Manaseryan, N., Miracle, P., Bakker, L. V. W., Masseti, M., Bradley, D. G. and Cooper, A. 2007. Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the

- Neolithic into Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104 (39): 15276-15281.
- Larson, G., Dobney, K., Albarella, U., Fang, M., Smith, E. M., Robins, J., Lowden, S., Finlayson, H., Brand, T., Willerslev, E., Conwy, P. R., Andersson, L. and Cooper, A. 2005. Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication. *Science*. 307 (5715):1618-1621.
- Laval, G., Iannuccelli, N., Legault, C., Milan, D., Martien, A. M. G., Giuffra, E., Andersson, L., Nissen, P. H., Claus, B. J., Beeckmann, P., Geldermann, H., Foulley, J.L., Chevalet, C. and Ollivier, L. 2000. Genetic diversity of eleven European pig breeds. *Genet. Sel.* 32: 187-203.
- Lemke, U, Huyen, L.T.T., Roessler, R., Thuy, L.T & Zarate, A.V. 2005. Impact Of the Use of Exotic Compared to Local Pig Breeds on Socio-economic Development and Biodiversity in Vietnam. *Tropentag 2005 Stuttgart-Hohenheim*, October 11-13, 2005 (<http://www.tropentag.de/2005/abstracts/full/251.pdf>).
- Lemus, F. C., Ulloa, A. R, Ramos, K. M., Estrada, F. J. and Alonso, R. A. 2001. Genetic analysis os Mexican hairless pig population. *J. Anim. Sci.* 79: 3021-3026.
- Li, K. Y., Li, K. T., Cheng, C. C., Chen, C. H., Hung, C. Y. and Ju, Y. T. 2015. A genetic analysis of Taoyuan pig and its phylogenetic relationship to Eurasian pig breeds. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 28 (4): 457-466.
- Li, K., Fan, B., Zhao, S., Peng, Z., Li, K., Chen, Y. and Moran, C. 2000. Analysis of divesity and genetic relationships between four Chinese

- indigenous pig breeds and one Australian commercial pig breed. *Anim. Genet.* 31 (5): 322-325.
- Li, S. J., Yang, S. H., Zhao, S. H., Fan, B., Yu, M., Wang, H. S., Li, M. H., Liu, B., Xiong, T. A. and Li, K. 2004. Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites. *J. Anim. Sci.* 82: 368-374.
- Li, X. L., He, W. L., Deng, C. Y. and Xiong, Y. Z. 2007. Associations of Polymorphisms in the MX1 Gene with Immunity Traits in Large White×Meishan F2 Offspring. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 20 (11): 1651-1654.
- Li, Y., Liang, S., Liu, H., Sun, Y., Kang, L. and Jiang, Y. 2015. Identification of a short interspersed repetitive element insertion polymorphism in the porcine MX1 promoter associated with resistance to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. 2015. *Anim. Genet.* 46: 437-440.
- Litt, M. and Luty, J. A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by invitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American J. Human Genetics.* 44: 397-401.
- Long, L. T., Mai, N. T. P., Chung, D. C., Si, D. M., Chi, H. N. Q and Son, H. N. 2014. The genetic relationship of Vietnamese pigs in Central Highlands assessed by Cytochrome B. *O. J. Gen.* 4: 362-369.
- Lunney, J. K., Steibei, J. P., Reecy, J. M., Fritz, E., Rothschild, M. F., Kerrigan, M., Tribble, B. and Rowland, R. R. R. 2011. Probing genetic control of swine responses to PRRSV infection: current progress of the PRRS host genetics consortium. Symposium on Animal Genomics for Animal Health, Paris. *BMC Proceedings* 5 (Suppl 4):S30

- Martinez, A. M., Delgado, J. V., Rodero, A. and Vega, P. J. L. 2000. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Anim. Genet.* 31 (5): 295-301.
- Montenegro, M., Llambi, S., Castro, G., Barlocco, N., Vadell, A., Landi, V., Delgado, J. V. and Martinez, A. 2015. Genetic characterization of Uruguayan Pampa Rocha pigs with microsatellite markers. *Genet. Mol. Biol.* 38(1): 48-54.
- Morozumi, T., Naito, T., Lan, P. D., Nakajima, E., Mitsuhashi, T., Mikawa, S., Hayashi, T., Awata, T., Uenishi, H., Nagata, K., Watanabe, T. and Hamasima, N. 2009. Molecular cloning and characterization of porcine MX2 gene. *Mol. Immunol.* 46: 858-865
- Murakami, K., Yoshikawa, S., Konishi, S., Ueno, Y., Watanabe, S. and Mizoguchi, Y. 2014. Evaluation of genetic introgression from domesticated pigs into the Ryukyu wild boar population on Iriomote Island in Japan. *Anim. Genet.* 45: 517-523.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283-292.
- Pado, P. E., Cavadia, T. and Melendez, I. 2014. Microsatellites characterization of the Mocordoba (Colombia) domestic pig. *Arch. Zootec.* 63 (241): 215-218.
- Pena, R. N., Fernandez, C., Blasco, F. M., Fraile, L. J. and Estany, J. 2019. Genetic Markers Associated with Field PRRSV-Induced Abortion Rates. *Viruse*. Doi:10.3390/v11080706.
- Pham, D. L., Do, D. N., Nam, L., Ba, N.V, Minh, L., Hoan, T., Cuong, V. and Kadarmideen, H. 2014. Molecular genetic diversity and genetic structure of Vietnamese indigenous pig populations. *J. Anim. Breed. Genet.* 131: 379-386.

- Ramayo, Y., Shemereteva, I. N. and Perez, E. M. 2010. Mitochondrial DNA diversity in wild boar from the Primorsky Krai Region (East Russia). *Anim. Genet.* 42(1): 96-99.
- Raymond, M. & Rousset, F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity.* 86: 248-259.
- Reed, C. A. 1969. The pattern of animal domestication in the prehistoric Near East. In: (ed.) Ucko PJ, Dimbleby GW. *The Domestication and Exploitation of Plants and Animals*. London. UK. Duckworth: 361-380.
- Rege, J. E. O. & Gibson, J. P. 2003. Animal genetic resources and economic development: issues in relation to economic valuation. *Ecological Economics.* 45: 319-330.
- Sasaki, K., Tungtrakoolsub, P., Morozumi, T., Uenishi, H., Kawahara, M., Watanabe, T. 2014. A single nucleotide polymorphism of porcine MX2 gene provides antiviral activity against vesicular stomatitis virus. *Immunogenetics.* 66 (1): 25-32.
- Scherf, B. D. (Ed.). 2000. *World Watch List for Domestic Animal Diversity*. 3rd ed., FAO, Rome, Italy.
- Sollero, B. P., Paiva, S. R., Faria, D. A., Guimaraes, S. E. F., Castro, S.T.R., Egito, A.A., Albuquerque, M.S.M., Piovezan, U., Bertani, G. R. and Mariante, S. 2008. Genetic diversity of Brazilian pig breeds evidenced by microsatellite markers. *Liv. Sci.* Doi:10.1016/j.livsci.2008.09.025.
- Stolpovskiy, Y. A. and Zakharov, G. I. A. 2017. The problem of conservation of gene pools of domesticated animals. *J. Genet. Breed.* 21(4): 477-486.

- Swart, H., Kotze, A., Olivier, P. A. S. and Grobler, J. P. 2010. Microsatellites based characterization of Southern African domestic pigs (*Sus scrofa domestica*). South African Journal of Animal Science. 40 (2): 121-132.
- Tamura, K., and Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Mol. Biol. Evol. 10 (3): 512-526
- Tan, Y., Kai, Z. S., Wang, J., Du, C. L., Zhao, C. P., Zhang, X., Zhu, L., and Shang, Y. S. 2018. The complete mitochondrial genome of Kele pig (*Sus scrofa*) using next-generation deep sequencing. Conservation Genetics Resources. 10: 195-199.
- Team, R. C. 2013. R: A language and environment for statistical computing.
- Thuy, N. T. D, Melchinger, W. E., Kuss, A., Cuong, N., Bartenschlager, H. and Geldermann, H. 2006. Comparison of Vietnamese and European pig breeds using microsatellites. J. Anim. Sci. 84: 2601-2608.
- Van, Z. A., Peelman L., Van, D. W. A. And Bouquet Y. 1995. A genetic study of four Belgian pig populations by means of seven microsatellite loci. J. Anim. Breed. Genet.. 112: 191-204.
- Verhelst, J., Hulpiau, P. and Saelens, X. 2013. Mx proteins: antiviral gatekeepers that restrain the uninvited. Microbiol Mol. Biol. Rev. 77: 551-566.
- Vicente, A. A., Carolino, M. I., Sousa, M. C. O., Ginja, C., Silva, F. S., Martinez, A. M., Vega, P. J. L., Carolino, N. and Gama, L. T. 2008. Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal asseessed by microsatellites. J. Anim. Sci. 86: 2496-2507.

- Wang, J.Y., Guo, J. F., Zhang, Q., Hu, H. M., Lin, H. C., Wang, C., Zhang, Y. and Wu, Y. 2011. Genetic Diversity of Chinese Indigenous Pig Breeds in Shandong Province Using Microsatellite Markers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24 (1): 28-36.
- Yang, B., Cui, L., Perez, E. M., Traspov, A., Crooijmans, R. P. M. A., Zinovieva, N., Schook, L. B., Archibald, A., Gatphayak, K., Knorr, C., Triantafyllidis, A., Alexandri, P., Semiadi, G., Hanotte, O., Dias, D., Dove, P., Uimari, P., Iacolina, L., Scandura, M., Groenen, M. A. M., Huang, L. and Megens, H. J. 2017. Genome-wide SNP data unveilsthe globalization of domesticated pigs. *Genet. Sel. Evol.* 49. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0345-y>
- Yang, S. L., Wang, Z. G., Liu, B., Zhang, G. X., Zhao, S. H., Yu, M., Fan, B., Li, M.H., Xiong, T.A. and Li, K. 2003. Genetic variation and relationships of eighteen Chinese indigenous pig breeds. *Genet. Sel. Evol.* 35: 657-671
- Zidek, R., Jakabova, D., Trandzik, J., Buleca, J. J., Takacova, D. and Zitnan, R. 2011. Genetic admixture in pig population observed by microsatellite markers. *Archiv Tierzucht.* 54 (1): 51-60.

PHỤ LỤC

1. Hình ảnh minh họa 15 giống lợn nội



Lợn nái Móng Cái



Lợn đực Móng Cái



Lợn đực Mường Khương



Lợn nái Mường Khương



Lợn đực Táp Ná



Lợn cái Táp Ná



Lợn nái Lũng Pù



Lợn đực Lũng Pù



Lợn đực Cỗ



Lợn cái Cỗ



Lợn đực Mẹo



Lợn cái Mẹo



Lợn đực Vân Pa



Lợn cái Vân Pa



Lợn đực Sóc



Lợn cái Sóc



Lợn nái Ba Xuyên



Lợn đực Ba Xuyên



Lợn Hung cái



Lợn Hung đực



Lợn Hương cái



Lợn Hương đực



Lợn đực Hạ Lang



Lợn cái Hạ Lang



Lợn Chur Prông đực



Lợn Chur Prông cái



Lợn Bân đực



Lợn Bân cái

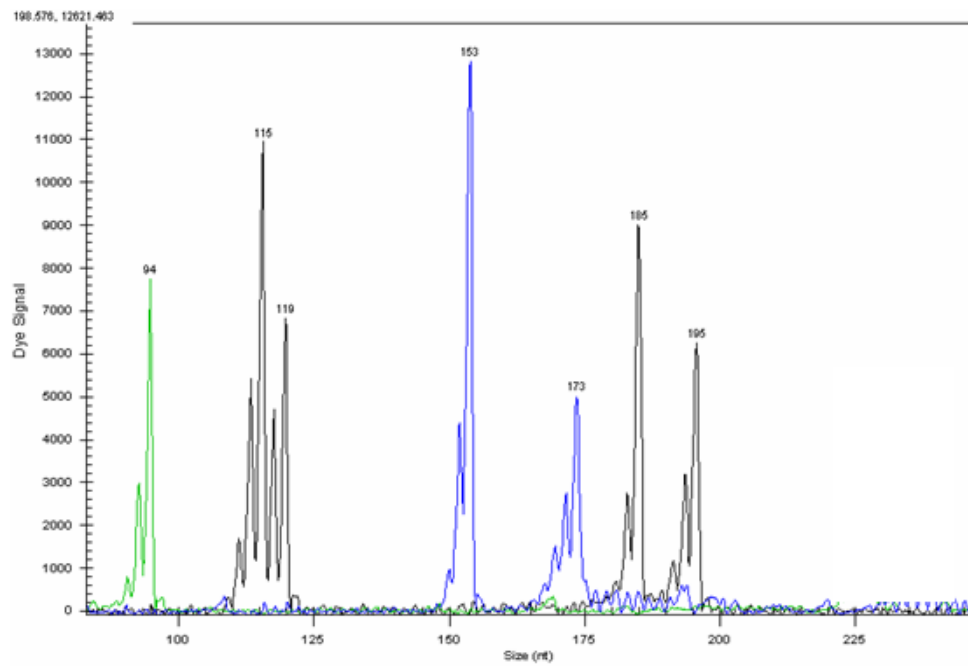


Lợn Lùng đực

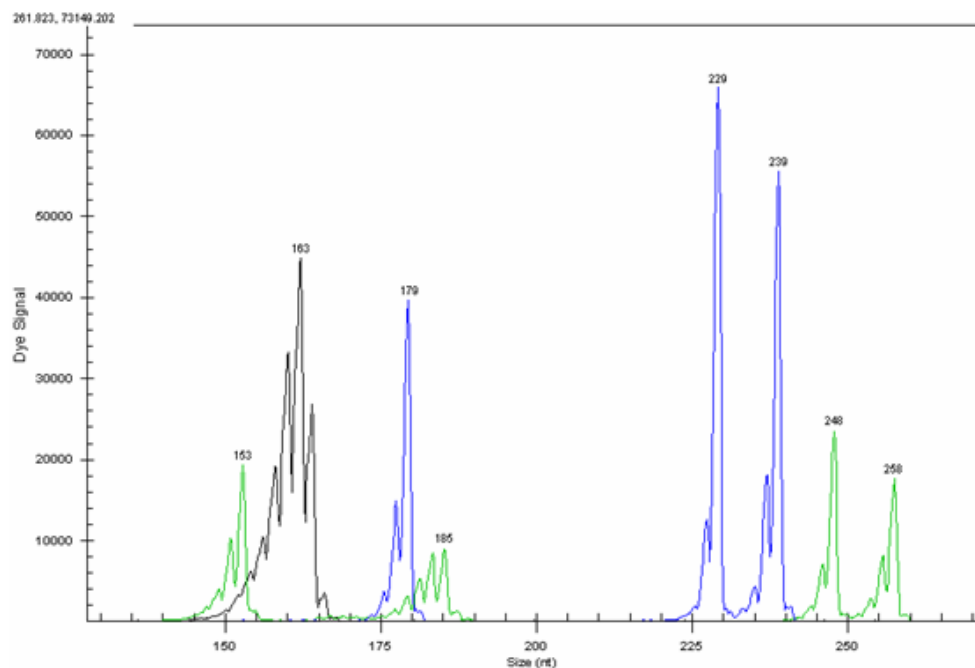


Lợn Lùng cái

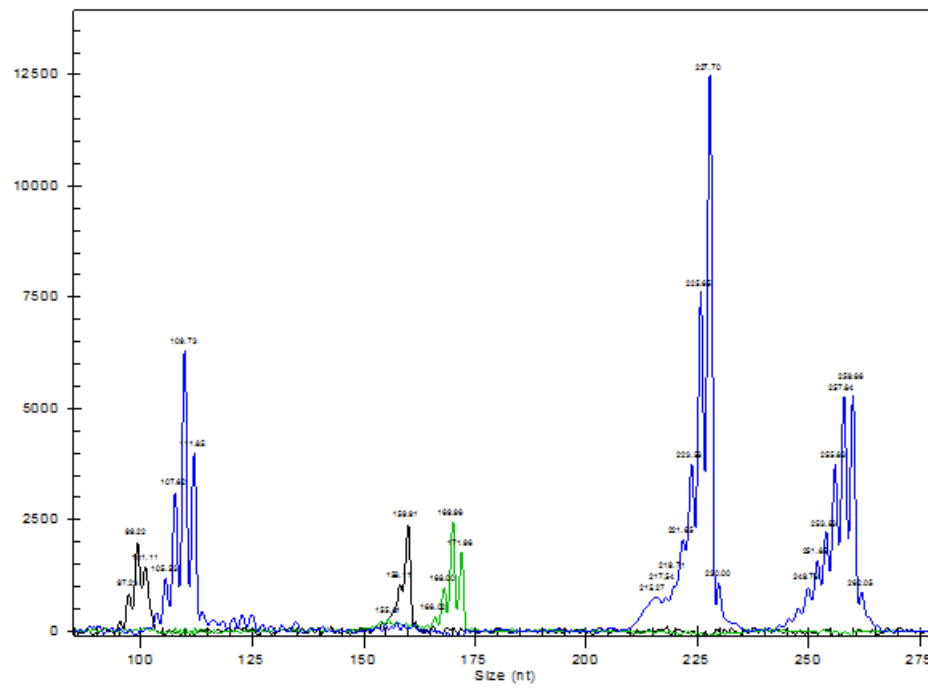
2. Minh họa kết quả 4 tổ hợp phản ứng đa môi



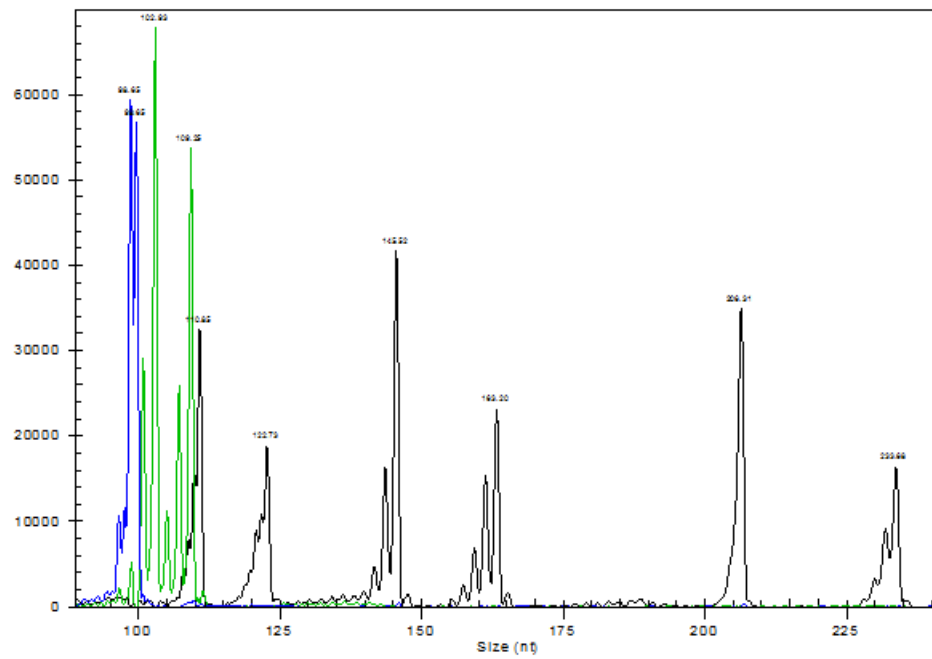
Mix 1



Mix 2



Mix 3



Mix 4