

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**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Chuyên ngành: Di truyền và Chọn giống vật nuôi

Mã Số: 9. 62. 01. 08

HÀ NỘI - 2021

Công trình hoàn thành tại:

VIỆN CHĂN NUÔI

Người hướng dẫn khoa học:

1. TS. Phạm Doãn Lân
2. TS. Nguyễn Văn Hậu

Phản biện 1: PGS. TS. Phan Xuân Hảo

Phản biện 2: PGS. TS. Đồng Văn Quyền

Phản biện 3: PGS. TS. Nguyễn Thị Hồng Vân

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

Vào hồi giờ, ngày tháng năm 2021

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

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

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

1. Phạm Doãn Lâm, Nguyễn Văn Ba, Phạm Thu Thảo và Lê Quang Nam. Đa dạng di truyền gen Cytochrome B ty thể ở một số giống lợn bản địa Việt Nam. Tạp chí Khoa học kỹ thuật chăn nuôi số 229, tháng 2 năm 2018: 2 - 7.
2. Nguyễn Văn Ba, Trần Thị Thu Thủy, Lê Quang Nam, Nguyễn Văn Hậu và Phạm Doãn Lâm. Đa hình di truyền gen MX1 và MX2 ở 15 giống lợn bản địa Việt Nam. Tạp chí Khoa học công nghệ chăn nuôi số 90, tháng 8 năm 2018: 59 - 66.
3. Nguyen Van Ba, Le Quang Nam, Do Ngoc Duy, Nguyen Van Hau and Pham Doan Lan. An assessment of genetic diversity and population structures of fifteen Vietnamese indigenous pig breeds for supporting the decision making on conservation strategies. *Tropical Animal Health and Production* (2020) 52: 1033 - 1041.

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. 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. Kết quả là, nhiều giống bản địa đã bị tuyệt chủng dẫn đến sự suy giảm đáng kể về đa dạng sinh học. 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 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 như phân tích các chỉ thị microsatellite, giải trình tự và phân tích hệ gen ty thể, phân tích đa hình SNP....

Theo FAO (2018), nguồn gen lợn bản địa Việt Nam có 16 giống được nuôi giữ bởi đồng bào vùng sâu vùng xa. Các giống lợn địa phương có vai trò quan trọng về mặt kinh tế và đời sống đối với bà con vùng sâu xa ở Việt Nam bởi chúng thích nghi tốt với môi trường sống khắc nghiệt, phù hợp với tập quán chăn nuôi của vùng. 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. 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

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 gây 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 tư 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

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. 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, 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.

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 có độ dài chỉ vài base pair (2-6 bp), có tính đa hình cao. 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.

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. 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 nguồn gốc và mối quan hệ họ hàng theo dòng mẹ giữa các loài, giống vật nuôi.

Gen *MX* là gen kích thích sản sinh interferol – 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*. Gen *MX1* là gen mã hóa phân tử protein *MX1* 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.

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: Móng Cái, Hạ Lang, Hương, Táp Ná, Hung, Lũng Pù, Mường Khương, Lũng, Bản, Mẹo, Vân Pa, Cỏ, Chư Prông, Sóc và Ba Xuyên. Ngoài ra một giống lợn ngoại (Landrace) và các mẫu lợn rừng Việt Nam và Thái Lan cũng được sử dụng cho một số nội dung nghiên cứu của luận án.

2.2. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

Mẫu mô tai của 15 giống lợn nội 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.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Phương pháp thu mẫu và bảo quản mẫu

Sử dụng kim lấy mẫu chuyên dụng cắt một miếng mô tai khoảng 0,5 g, sau đó để trong ống eppendorf 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

Mẫu ADN được tách chiết từ mô tai thực hiện theo quy trình của bộ kit Bioneer K-3032 (Hàn Quốc).

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.

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 mẫu thuộc 15 giống lợn nội được phân tích kiểu gen cùng với 15 mẫu lợn ngoại Landrace và

hai giống lợn rừng (Việt Nam-6 mẫu và Thái Lan-9 mẫu) được sử dụng để so sánh đối chiếu.

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 mồi.

Phân tích đa hình các chỉ thị microsatellite: Kiểu gen của các cá thể lợn được tiến hành phân tách bằng hệ thống điện di mao quản trên máy giải trình tự tự động CEQ8000 của hãng Beckman Coulter.

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 - Rs) được ước lượng bằng phần mềm FSTAT phiên bản 2.9.3.2 (Goudet J. 2002). Tần số dị hợp tử lý thuyết (He), dị hợp tử quan sát (Ho), hệ số F (Fis, Fst) 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).

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).

Xác định khoảng cách di truyền giữa các quần thể: Khoảng cách di truyền được tính theo phương pháp của Nei (1978):

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 “adegenet” trong môi trường ngôn ngữ thống kê R phiên bản 2.0 (Team, 2013).

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 và 1 mẫu lợn rừng. Ngoài ra các trình tự của các giống đã công bố trên ngân hàng gen với 2 haplotype lợn Nhật bản; 3 haplotype lợn Trung Quốc; 1 haplotype lợn nuôi Duroc Châu Âu; 2 haplotype lợn rừng Châu Á; 4 haplotype lợn rừng Châu Âu 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

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 sequencing, tiếp theo là làm sạch sau sequencing và cuối cùng là tiến hành giải trình tự trên máy AB-3130 của hãng AB (Applied Biosystem).

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. Phần mềm DnaSP 5.10 được sử dụng phân tích đa dạng các nucleotit và phát hiện các haplotype. Phần mềm MEGA 7.0 được sử dụng giúp xây dựng cây phát sinh chủng loại theo phương pháp NJ (Neighbor-Joining).

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

Mẫu sử dụng phân tích: Sáu trăm linh tám mẫu thuộc 15 giống lợn nội được sử dụng để phân tích kiểu gen *MX1* và *MX2*.

Phản ứng nhân gen PCR: 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 (*MX1* intron 6 theo Li và cs.,2007; *MX1* promoter theo

Li và cs., 2015; MX2 theo Sasaki và cs., 2014).

Cắt enzym giới hạn và điện di: Sản phẩm của phản ứng PCR được cắt bằng enzym 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. 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.

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

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. Đã chuẩn hóa ghép cặp thành công 19 cặp môi microsatellite trong 4 phản ứng multiplex PCR. 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.

3.2.2. Đa hình di truyền 19 chỉ thị microsatellite

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. 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 (Ho) 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 (He) 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 Fst (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.

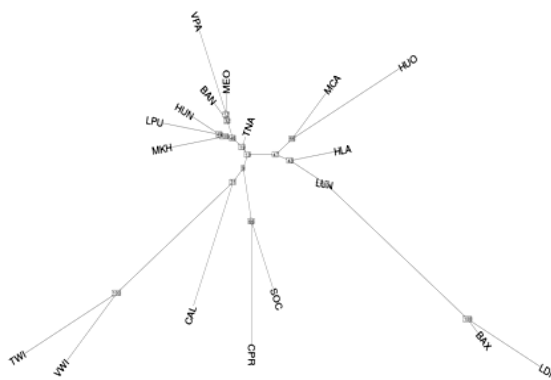
3.2.3. Đa dạng di truyền của các giống lợn nghiên cứu

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 Ladrace là 3,59 và ở lợn rừng là 4,55-5,64. 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. 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. Hệ số cận huyết ở lợn rừng Việt Nam khá cao (0,142) so với lợn rừng Thái Lan (0,032). 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.

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, 1972. 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 Nả 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. 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. 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 18 giống lợn

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 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 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.

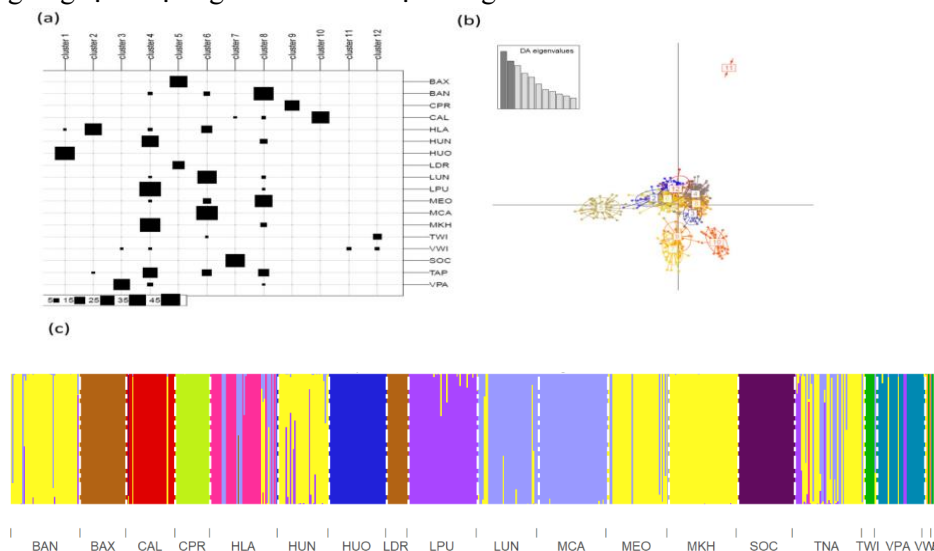
- Nhánh 2 gồm 5 giống lợn: Cỏ, Sóc, Chư Prông và 2 giống lợn rừng (Việt Nam và Thái Lan). Tuy nhiên 5 giống lợn trong nhánh này hình thành 3 nhánh nhỏ hơn. Trong đó lợn Sóc và Chư Prông (có phân bố ở Tây Nguyên) nằm cùng nhánh nhưng lợn Chư Prông có xu hướng phân ly xa so với lợn Sóc. Hai giống lợn rừng 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. 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).

3.2.5. Cấu trúc di truyền

Kết quả phân tích DAPC chỉ ra rằng số nhóm được xác định ứng với giá trị BIC nhỏ nhất là $K = 12$. 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. Qua hình ảnh 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 Prong 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 phức tạp như Hạ Lang, 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. 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 phần 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, Mẹo, 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 Prong 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 MƯỜI LĂM 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 tương ứng với mong đợi

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

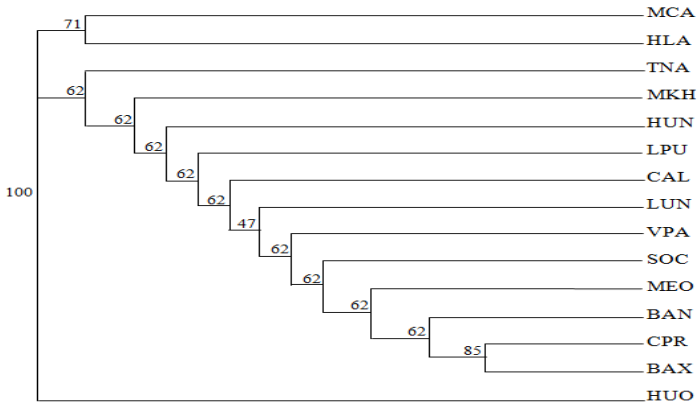
Săm phẩm giải trình tự trên mỗi chiều cho kết quả đọc chính xác tới 700 nucleotit. Toàn bộ gen *Cytochrome B* (1140 bp) sau khi giải trình tự theo hai chiều xuôi và ngược được tiến hành xử lý loại bỏ đoạn đầu và đoạn cuối sau đó ghép nối thu được đoạn trình tự dài 975 bp của 285 mẫu lợn (284 mẫu lợn nội và 1 mẫu lợn rừng Việt Nam)

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

Trong 15 giống lợn nội Việt Nam, giống lợn Ba Xuyên (Kế Sách - Sóc Trăng) và giống lợn Mèo (Kỳ Sơn - Nghệ An) có sự đa dạng haplotype cao, mỗi giống phát hiện được 7 haplotype khác nhau với đa dạng haplotype (Hd) là 0,634; đa dạng nucleotit (Pi) là 0,00124 ở lợn Ba Xuyên và đa dạng haplotype (Hd)=0,792; đa dạng nucleotit (Pi)= 0,00183 ở lợn Mèo. Ngược lại, giống lợn Hương (Hoà An - Cao Bằng) chỉ phát hiện được duy nhất 1 haplotype.

Với 28 haplotype đã phát hiện được, haplotype 1 và haplotype 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. 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 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 Nà, Mường Khương, Hung, Lũng Pù, Cỏ, Lũng, Vân Pa, Sóc, Mèo, Bản, Chư Prong và Ba Xuyên
- Nhóm 3 là giống lợn Hương.



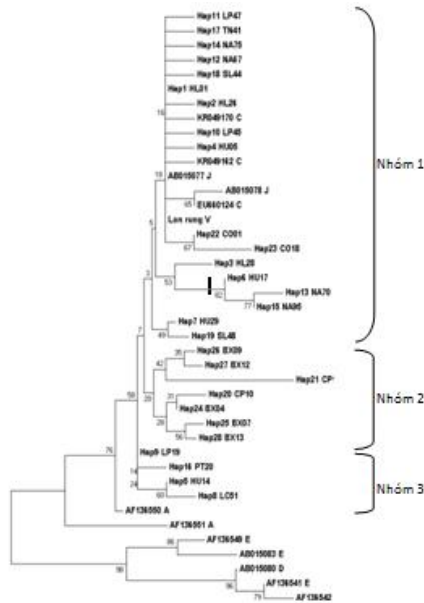
Hình 3.8. Cây phân loại thể hiện mối quan hệ theo dòng mẹ giữa 15 giống lợn nội Việt Nam xây dựng theo mô hình neighbor-joining

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. 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 này 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 (kết quả này cũng tương đồng với phân tích 19 microsatellite). Lợn Chư Prong 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. Môi 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 với các mẫu haplotype gen *Cytochrome B* từ ngân hàng gen (GenBank). 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 nucleotit (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 3.9. Cây phân loại thể hiện mối quan hệ di truyền giữa 39 haplotype được xây dựng theo mô hình neighbor-joining bằng phần mềm MEGA7

Qua hình 3.9 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.

Các haplotype được xác định ở các giống lợn nội, kể cả những giống được thu thập tại Gia Lai và Đắk Lắk (lợn Chư-Prông, lợn Sóc), đều gần về mặt di truyền với lợn rừng Châu Á. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Lê Thành 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.

Kết quả nghiên cứu 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 DẠNG 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).

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 mồi 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.

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).

3.4.2. Đa dạng 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 emzym 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). 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 *MxI*- 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 Prong	52,6	31,6	15,8	68,4	31,6	2,75
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 Khương	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 *MxI*- 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 thấp (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%. 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 Prong, 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 Cò, 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.

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 *MxI*-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 Prong	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
Lùng	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 Prong, Lũng, Móng Cái, Mèo, 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 PRRSV.

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 emzym 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). Tuy nhiên kết quả cắt emzym chỉ thu được 100% kiểu gen AA trên toàn bộ 15 giống lợn nội. 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 Prong.

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 cho thấy 18 giống lợn phân bố trong 3 nhánh lớn.

Cấu trúc di truyền của 18 giống lợn phân thành 12 cụm. Trong đó các giống lợn có cấu trúc thuần như: Ba Xuyên, Landrace, Hương, Móng Cái, Chư Prong 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, Cò, Chur Prông, Hung, Hương, Lũng Pù, Móng Cái, Meo, 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.