

PHÂN TÍCH SỰ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA 5 GIỐNG GÀ VIỆT NAM: GÀ ÁC, GÀ CHỌI, GÀ H' MÔNG, GÀ HỒ, VÀ GÀ TRE BẰNG CHỈ THỊ MICROSATELLITE

Lê Thị Thúy, Nguyễn Trọng Bình, Nguyễn Văn Ba

Viện Chăn nuôi

TÓM TẮT

Hai mươi microsatellite theo giới thiệu của FAO được sử dụng để đánh giá sự đa dạng di truyền trong quần thể 5 giống gà nội của Việt Nam. Mẫu máu không cùng huyết thống của 5 giống gà Ác, gà Chọi, gà Hồ, gà H' mông và gà Tre được thu thập từ các tỉnh Long An, Bình Định, Hà Giang, Bắc Ninh và Bến Tre. Trong 20 locus microsatellite, tổng số allele thu được là 102, 130, 124, 106 và 130; số allele trung bình/locus là 5,1; 6,5; 6,2; 5,3 ; 6,5 tương ứng với các giống gà Ác, gà Chọi, gà H' mông, gà Hồ và gà Tre. Số allele trung bình ở 20 locus microsatellite trên tổng các cá thể nghiên cứu là 8,4. Tần số dị hợp tử quan sát (Ho) và mong đợi (He) trung bình của tất cả 20 locus microsatellite tương ứng là: 0,563; 0,626; Giá trị Fis và Fst trung bình giữa các quần thể khá nhỏ: 0,01 và 0,032. Từ các kết quả thu được cho thấy các quần thể 5 giống gà có sự đa dạng cao (tần số dị hợp tử cao) và mức độ phân tán gen giữa quần thể các giống gà là rất lớn. Kết quả xác định khoảng cách di truyền, có thể chia 5 giống gà thành 3 nhóm: Nhóm 1: giống gà Tre; Nhóm 2: Giống gà Ác; Nhóm 3 gồm: Giống gà H' mông, gà Chọi và gà Hồ, trong đó gà Chọi và gà Hồ có khoảng cách di truyền gần nhau nhất.

Từ khóa: Đa dạng di truyền, gà Ác, gà Chọi, gà H' mông, gà Hồ, gà Tre, microsatellite

MỞ ĐẦU

Việt Nam có nguồn gen gà bản địa rất phong phú với nhiều tên gọi khác nhau theo sự phân bố địa lý và đặc điểm ngoại hình: Gà Ác, gà Chọi, gà Đông Tảo, gà H' mông, gà Hồ, gà Mía, gà Ri, gà Tre... Hiện nay các giống gà nội địa tuy năng suất thấp nhưng mang các gen quý, đặc thù về tính thích nghi với điều kiện sinh thái khắc nghiệt, sức chống chịu bệnh tật, chất lượng thịt, trứng thơm ngon đang bị mất dần.

Sử dụng các chỉ thị microsatellite để đánh giá sự đa dạng di truyền và các mối quan hệ di truyền của các giống gà đã được các nhà khoa học trên thế giới sử dụng nhiều (Hanotte *et al.*, 2006; Osman *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2004; Romanov, Weigend, 2001; Sartika *et al.*, 2004)

Zhang và đồng tác giả (2002) đã nghiên cứu các giống gà nội địa Trung Quốc bằng việc phân tích allozyme, RAPD và microsatellite. Kết quả cho thấy, khi phân tích bằng microsatellite thì tần số dị hợp tử quan sát được là cao nhất (75,91%), tiếp theo là phương pháp RAPD (26,32%), cuối cùng là phương pháp phân tích allozyme (22,09%). Qua đó cho thấy, sử dụng các chỉ thị microsatellite để đánh giá sự đa dạng di truyền và các mối quan hệ di truyền của các giống gà được coi là hiệu quả hữu hiệu và phù hợp nhất.

David (2004) đã có hơn 500.000 chỉ thị di

truyền phân tử gen gà đã được phân tích.

Tại Việt Nam, cho đến nay chưa có công trình nào nghiên cứu một cách hệ thống để đánh giá chính xác quan hệ di truyền giữa các giống, nguồn gốc các giống bằng sinh học phân tử. Do vậy, xác định sự đa dạng di truyền các giống gà nội trong hệ gen sẽ xác định được quan hệ di truyền giữa các giống giúp cho việc đầu tư vào công tác bảo tồn và sử dụng nguồn gen các giống gà nội có hiệu quả hơn.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích sự đa dạng di truyền giữa các giống gà Ác, gà Chọi, gà H' mông, gà Hồ và gà Tre bằng chỉ thị phân tử microsatellite và xác định cây khoảng cách di truyền giữa các giống gà.

NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Mẫu máu của 5 giống gà nội: gà Ác, gà Chọi, gà H' mông, gà Hồ và gà Tre với 40 cá thể/giống được thu thập từ Long An, Bình Định, Hà Giang, Bắc Ninh và Bến Tre. DNA trong hệ gen được tách chiết bằng kit tách DNA, mỗi giống 40 mẫu.

Phương pháp

Sử dụng phương pháp PCR multiplex để phân tích 20 mẫu máu gà bằng 20 cặp mồi microsatellite.

Sản phẩm PCR được phân tích phân đoạn trên máy giải trình tự gen CEQ8000.

Xác định kích thước, tần số allele, sự đa dạng di truyền giữa các giống gà.

Hai mươi cặp môi microsatellite được giới thiệu (FAO-<http://www.fao.org/dad-is>) và từ Chicken Genome Mapping Home page (<http://www.ri.bbsr.ac.uk/chickemap>) và sử dụng phương pháp PCR-multiplex với các mix như sau:

Phần mềm phân tích sử dụng là CEQ-8000 system và Phân tích Fragment trên máy giải trình tự CEQ8000,

Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả được xử lý phần mềm FSTAT phiên bản 2,9,3 và phần mềm Genetic phiên bản 4,03 (Belkhir, 2004). Tính tần số dị hợp từ mong đợi (Nei, 1987)

$$H = \left[\frac{2n}{2n-1} \right] \left[1 - \sum_{i=1}^k (x_i^2) \right]$$

Trong đó: *n*: số lượng các cá thể; *x*: tần số allele ở locus 1; *k*: số lượng các allele ở locus 1.

Phương pháp Nei's, 1972 để vẽ cây phân loại.

$$D = -\ln \frac{\sum_m \sum_i P_{1mi} P_{2mi}}{\left[\sum_m \sum_i P_{1mi}^2 \right]^{1/2} \left[\sum_m \sum_i P_{2mi}^2 \right]^{1/2}}$$

Trong đó: *m* số allele nghiên cứu, *i* là số allele của mỗi locus; *P*_{1*mi*}: tần số allele thứ *i* ở locus thứ *m* trong giống 1; *P*_{2*mi*}: tần số allele thứ *i* ở locus thứ *m* trong giống 2.

Bảng 1. Tên môi và trình tự môi.

Tên môi	Trình tự môi	Tên môi	Trình tự môi
ADL112FD2	GGCTTAAGCTGACCCATTAT	ADL112R	ATCTCAAATGTAATGCGTGC
ADL268FD3	CTCCACCCCTCTCAGAACTA	ADL268R	CAACTTCCCATCTACCTACT
LEI094FD2	GATCTCACCAGTATGAGCTGC	LEI094R	TCTCACACTGTAACACAGTGC
LEI166FD3	CTCCTGCCCTTAGCTACGCA	LEI166R	TATCCCCTGGCTGGGAGTTT
LEI192FD4	TGCCAGAGCTTCAGTCTGT	LEI192	GTCATTACTGTTATGTTTATTGC
LEI234FD2	ATGCATCAGATTGGTATTCAA	LEI234R	CGTGGCTGTGAACAAATATG
MCW014FD3	TATTGGCTCTAGGAACTGTC	MCW014R	GAAATGAAGGTAAGACTAGC
MCW037FD2	ACCGGTGCCATCAATTACCTATTA	MCW037R	GAAAGCTCACATGACACTGCGAAA
MCW067FD3	GCACTACTGTGTGCTGCAGTTT	MCW067R	GAGATGTAGTTGCCACATCCGAC
MCW078FD2	CCACACGGAGAGGAGAAGGTCT	MCW078R	TAGCATATGAGTGTACTGAGCTTC
MCW081FD2	GTTGCTGAGAGCCTGGTGCAG	MCW081R	CCTGTATGTGGAATTACTTCTC
MCW098FD3	GGCTGCTTTGTCTCTTCTCG	MCW098R	CGATGGTCGTAATTCTCACGT
MCW111FD3	GCTCCATGTGAAGTGTTTA	MCW111R	ATGTCCACTTGTCATGATG
MCW183FD4	ATCCAGTGTGAGTATCCGA	MCW183	TGAGATTTACTGGAGCCTGCC
MCW206FD2	ACATCTAGAATTGACTGTTTAC	MCW206R	CTTGACAGTGATGCATTAATG
MCW216FD4	GGGTTTTACAGGATGGGACG	MCW216R	AGTTTCACTCCCAGGGCTCG
MCW222FD3	GCAGTTACATTGAAATGATTCC	MCW222R	TTCTCAAAACCTTAGAAGAC
MCW248FD3	GTTGTTCAAAAGAAGATGCATG	MCW248R	TTGCATTAAGTGGGCACTTTC
MCW295FD3	ATCACTACAGAACCCTCTC	MCW295R	TATGTATGCACGCAGATATCC
MCW330FD2	TGGACCTCATCAGTCTGACAG	MCW330R	AATGTTCTCATAGAGTTCCTGC

Bảng 2. Thành phần phản ứng PCR của 4 phản ứng.

Thành phần	Mix 1		Mix 2		Mix 3		Mix 4	
	Môi	Thể tích (µl)	Môi	Thể tích (µl)	Môi	Thể tích (µl)	Môi	Thể tích (µl)
PCR-Mas		12,5		12,5		12,5		12,5
	ADL112	1	LEI094	0,75	ADL268	0,75	LEI166	1,0
	LEI234	0,7	MCW078	1,25	LEI192	1,0	MCW081	1,0
	MCW014	0,8	MCW111	1,0	MCW037	1,0	MCW248	0,8
	MCW098	0,95	MCW183	1,0	MCW067	1,25	MCW330	1,2
	MCW216	1,25	MCW222	1,0	MCW206	1,0	-	-
	MCW295	1,0	-	-	-	-	-	-
DNA		1		1		1		1
H ₂ O		0,1		2,5		2,5		2,5
Thể tích phản ứng		25		25		25		25
Chu trình nhiệt	94°C/5'; 35x(94°C/45", 55°C/1', 72°C/1'); 72°C/10'	94°C/15'; 35x(94°C/45", 57°C/1', 72°C/1'); 72°C/10'	95°C/15'; 35x(94°C/1', 58°C/1', 72°C/1'); 72°C/10'	95°C/5'; 35x(94°C/1', 60°C/1'30", 72°C/1'); 72°C/10'				

Khoảng cách di truyền được tính theo công thức (Cavalli-Storza, Edwards, 1967):

$$D^2 = \sum_m \left[\frac{1 - \sum_i P_{1mi}^{1/2} P_{2mi}^{1/2}}{\sum_m (a_m - 1)} \right]$$

Trong đó: *m* là locus, *i* là số allele của locus thứ *m*; *a* là số lượng allele tại locus thứ *m*; *P_{1mi}*: tần số allele thứ *i* ở locus thứ *m* trong giống 1; *P_{2mi}*: tần số allele thứ *i* ở locus thứ *m* trong giống 2.

Một số công thức liên quan đến cấu trúc quần thể.

Một số cách tính tiện lợi cho cấu trúc quần thể là giá trị thống kê *F* được Wright phát triển (1965). Giá trị *F* được tính theo công thức:

Trong quần thể:

$$F = F_{is} = (H_e - H_o) / H_e$$

H_o là tần số dị hợp tử quan sát = *f*(*Aa*);

H_e là tần số dị hợp tử lý thuyết = 2*pq*.

F_{is} thể hiện sự biến thiên tần số allele [1; -1], đánh giá mức độ cận huyết của các cá thể trong quần thể.

Giữa các quần thể với nhau:

$$F = F_{st} = (H_t - H_s) / H_t$$

H_t là tần số dị hợp tử lý thuyết của các quần thể tạo thành 1 quần thể duy nhất;

H_s là trung bình tần số dị hợp tử lý thuyết của các quần thể.

F_{st} đánh giá quan hệ di truyền giữa các quần thể hay hệ số cận huyết giữa các quần thể.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kích thước các allele của 20 locus

Qua các kết quả kiểm tra trên gel agarose 3% cho thấy, các cặp môi được nhân lên. Để đánh giá chính xác kích thước các allele chúng tôi đã chạy fragment trên máy giải trình tự CEQ8000.

Đối với mẫu gà Ác: Locus MCW295: Dị hợp tử; Locus ADL112: Đồng hợp tử; Locus MCW216: Đồng hợp tử; Locus MCW014: Dị hợp tử; Locus Lei234: Dị hợp tử và Locus MCW098: Đồng hợp tử.

Đối với mẫu gà Chọi: Locus MCW295: Dị hợp tử; Locus ADL112: Dị hợp tử; Locus MCW216: Dị hợp tử; Locus MCW014: Dị hợp tử; Locus Lei234: Dị hợp tử và Locus MCW098: Đồng hợp tử.

Bảng 3. Kích thước các allele của 20 locus.

Locus	Gà Ác	Gà Chọi	Gà H'mông	Gà Hồ	Gà Tre
ADL112	124-128	124-130	124-130	124-128	120-130
ADL268	102-114	102-116	108-114	102-116	102-114
LEI094	249-185	243-283	249-283	249-283	249-285
LEI166	344-360	344-360	344-354	344-354	344-360
LEI192	255-379	247-363	255-371	255-339	255-371
LEI234	217-365	217-377	213-357	217-369	219-365
MCW014	163-189	163-187	163-185	163-187	163-185
MCW037	151-155	151-161	151-157	151-157	151-157
MCW067	173-179	173-181	173-179	173-179	173-179
MCW078	140-144	140-144	140-144	140-144	140-144
MCW081	110-132	112-132	110-132	112-136	112-132
MCW098	255-259	255-259	255-259	255-259	255-259
MCW111	97-111	97-111	97-111	97-115	97-111
MCW183	293-325	293-317	295-321	293-313	289-325
MCW206	220-242	222-248	220-242	222-242	218-246
MCW216	139-149	139-145	141-145	139-145	141-147
MCW222	218-224	218-224	218-224	218-224	218-224
MCW248	214-222	214-222	214-222	214-222	214-226
MCW295	87-105	87-103	87-105	87-103	87-103
MCW330	268-288	266-288	256-288	266-288	248-288

Số allele trên mỗi locus, các giá trị Ho, He, Fis và Fst

Tần số dị hợp tử mong đợi (He) và quan sát (Ho) trung bình của tất cả các cá thể nghiên cứu lần lượt là 0,626 và 0,563. Hệ số cận huyết (Fis) là 0,010; Fst là 0,032 và số allele trung bình/locus là 8,4.

Sự khác biệt giữa các giống và các quần thể được tạo ra do quá trình đột biến, tái tổ hợp, lạc dòng gen, chọn lọc tự nhiên và nhân tạo và quá trình di nhập gen (Eding, Laval, 1999).

Giá trị Fst trung bình của tất cả các mẫu nghiên cứu trên 20 locus microsatellite là 0,032 cho thấy sự sai khác di truyền giữa các giống là rất nhỏ. Khoảng 3,2% sự sai khác di truyền tạo nên sự đa dạng giữa các giống là do pha trộn giữa các giống trong khi tới 96,2% sự đa dạng này là do sai khác trong chính các giống.

Tần số allele/locus/giống gà

Kết quả cho thấy, tại locus MCW078, số allele thu được ở cả 5 giống là thấp nhất (2,3,3,3,3) và cao

nhất là locus LEI234 (12,15,15,13,16) tương ứng với các giống gà Ác, gà Chọi, gà H'mông, gà Hồ và gà Tre.

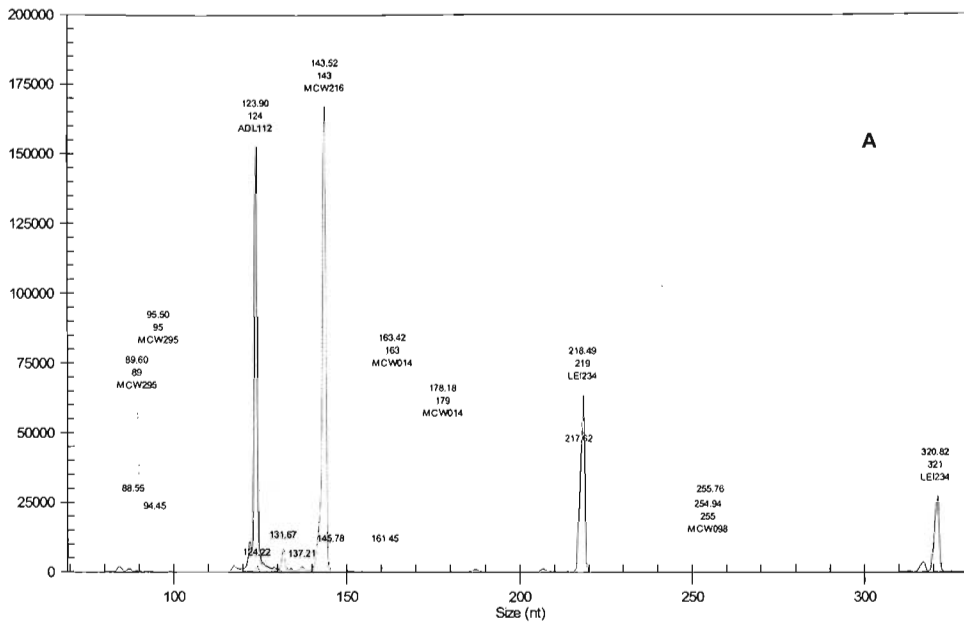
Số lượng các allele trung bình trong mỗi locus của các giống gà Ác, gà Chọi, gà H'mông, gà Hồ và gà Tre lần lượt là 5,1; 6,5; 6,2; 5,3 và 6,5, trong đó cao nhất là gà Tre (6,5) và thấp nhất là gà Ác (5,1).

So với nghiên cứu của Muchadeyi và đồng tác giả (2007) khi đánh giá trên các quần thể gà Zimbabwe, Sudan, Malawi và 6 dòng gà thuần cho thấy số allele trung bình/locus là 9,7.

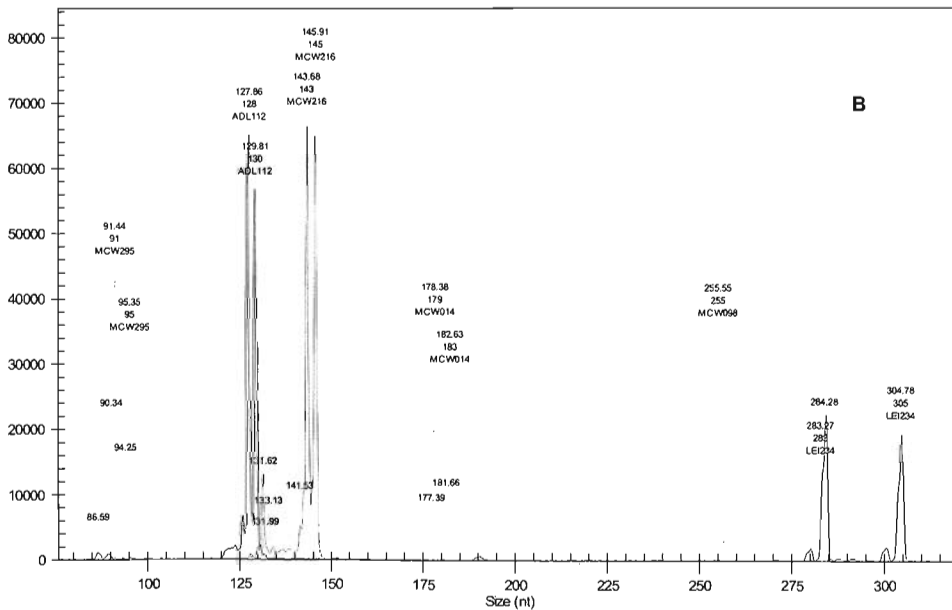
Và theo nghiên cứu của Nguyễn Trọng Bình và đồng tác giả (2008) số lượng allele trung bình/locus của giống gà Hà Giang là 8,48 thì kết quả của 5 giống gà chúng tôi nghiên cứu là thấp hơn.

Tần số allele/locus ở từng giống là khác nhau và tổng số allele thu được của các giống trên 20 locus nghiên cứu: là 102 allele đối với gà Ác, 130 allele đối với gà Chọi, 124 allele đối với gà H'mông, 106 allele với gà Hồ và 130 allele với gà Tre.

Ac228.D01_08070109TW



Gc802.G02_08070109WI



Hình 2. Tín hiệu đồ của một số locus đối với gà Ấc (A) và gà Chọi (B).

Bảng 4. Số allele, tần số dị hợp tử quan sát và mong đợi, giá trị Fis của mỗi locus microsatellite trên tổng số các cá thể nghiên cứu.

Tên locus	Số allele	Ho	He	Fis	Fst
ADL112	4	0,51	0,509	-0,002	0,019
ADL268	7	0,64	0,592	-0,081	0,024
LEI094	18	0,682	0,795	0,142	0,036
LEI166	7	0,581	0,617	0,058	0,033
LEI192	17	0,606	0,841	0,28	0,027
LEI234	20	0,822	0,91	0,097	0,025
MCW014	10	0,604	0,636	0,05	0,073
MCW037	4	0,546	0,63	0,132	0,041
MCW067	7	0,627	0,648	0,033	0,044
MCW078	3	0,45	0,512	0,121	0,044
MCW081	6	0,317	0,36	0,121	0,051
MCW098	3	0,168	0,212	0,208	0,011
MCW111	6	0,73	0,756	0,034	0,024
MCW183	11	0,5	0,525	0,047	0,019
MCW206	11	0,689	0,782	0,119	0,042
MCW216	6	0,465	0,574	0,19	0,017
MCW222	3	0,402	0,504	0,203	0,005
MCW248	5	0,608	0,648	0,061	0,042
MCW295	11	0,658	0,75	0,122	0,012
MCW330	9	0,658	0,72	0,086	0,042
TB	8,4	0,563	0,626	0,010	0,032

Bảng 5. Số lượng các allele trong mỗi locus microsatellite của 5 giống nghiên cứu.

Tên locus	Số allele				
	Gà Ác	Gà chọi	Gà H'mông	Gà Hồ	Gà Tre
ADL112	4	3	3	3	3
ADL268	4	6	3	6	6
LEI094	8	12	11	7	13
LEI166	6	4	5	4	5
LEI192	10	14	14	11	12
LEI234	12	15	15	13	16
MCW014	3	8	9	6	8
MCW037	3	3	3	3	4
MCW067	4	5	5	4	5
MCW078	2	3	3	3	3
MCW081	3	5	3	4	5
MCW098	3	3	3	2	3
MCW111	4	6	6	5	5
MCW183	5	7	8	6	6
MCW206	8	10	8	7	9
MCW216	3	5	4	4	3
MCW222	3	3	3	2	3
MCW248	4	4	4	5	4
MCW295	7	8	7	5	8
MCW330	6	6	7	6	9
Tổng số allele	102	130	124	106	130
Số allele TB	5,1	6,5	6,2	5,3	6,5

Bảng 6. Kích thước và tần số xuất hiện của các allele (trong các locus) ở các giống nghiên cứu.

Kích thước của allele (bp)	Locus MCW295				
	Gà Ác	Gà Chọi	Gà H'mông	Gà Hồ	Gà Tre
87	0,063	0,025	0,025	0,1	0,026
89	0,463	0,3	0,4	0,388	0,231
91	0,063	0,063	0	0	0,077
93	0	0	0,013	0	0
95	0,263	0,325	0,313	0,288	0,333
97	0,025	0,138	0,15	0,088	0,038
99	0	0	0	0	0,013
101	0,013	0,063	0	0,138	0,128
103	0,113	0,075	0,088	0	0,154
105	0	0	0,013	0	0
107	0	0,013	0	0	0

Bảng 7. Sự đa dạng gen (tần số dị hợp tử mong đợi- He) trên các locus.

Các locus nghiên cứu	Giống gà				
	Gà Ác	Gà Chọi	Gà H'mông	Gà Hồ	Gà Tre
ADL112	0,5	0,504	0,516	0,469	0,557
ADL268	0,617	0,608	0,574	0,639	0,521
LEI094	0,749	0,809	0,793	0,848	0,777
LEI166	0,694	0,543	0,667	0,575	0,604
LEI192	0,8	0,789	0,906	0,853	0,861
LEI234	0,903	0,907	0,918	0,882	0,941
MCW014	0,523	0,575	0,744	0,668	0,669
MCW037	0,58	0,63	0,64	0,641	0,656
MCW067	0,689	0,66	0,663	0,607	0,623
MCW078	0,464	0,521	0,507	0,539	0,532
MCW081	0,076	0,42	0,287	0,511	0,506
MCW098	0,246	0,225	0,289	0,096	0,203
MCW111	0,748	0,77	0,751	0,732	0,779
MCW183	0,457	0,619	0,6	0,428	0,52
MCW206	0,84	0,807	0,701	0,749	0,813
MCW216	0,599	0,602	0,616	0,456	0,597
MCW222	0,544	0,476	0,486	0,479	0,535
MCW248	0,702	0,683	0,674	0,567	0,615
MCW295	0,704	0,782	0,722	0,742	0,799
MCW330	0,669	0,733	0,772	0,752	0,673
Trung bình	0,605	0,633	0,641	0,612	0,639

Bảng 8. Tần số dị hợp mong đợi He /locus của năm giống gà.

Giống	Tần số allele/locus	
	Cao nhất	Thấp nhất
Gà Ác	LEI234 (0,903)	MCW098 (0,246)
Gà Chọi	LEI234 (0,907)	MCW098 (0,225)
Gà H'mông	LEI234 (0,918)	MCW098 (0,289)
Gà Hồ	LEI234 (0,882)	MCW098 (0,096)
Gà Tre	LEI234 (0,941)	MCW098 (0,203)

Bảng 9. Hệ số cận huyết của gà Ác, gà Chọi, gà H'mông, gà Hồ và gà Tre.

Tên các locus	Hệ số Fis				
	Gà Ác	Gà Chọi	Gà H'mông	Gà Hồ	Gà Tre
ADL112	0,049	-0,14	0,079	-0,066	0,054
ADL268	-0,206	-0,012	0,018	-0,017	-0,199
LEI094	0,062	0,047	0,159	0,259	0,173
LEI166	-0,009	0,08	0,132	-0,044	0,129
LEI192	0,181	0,143	0,448	0,206	0,396
LEI234	0,077	0,028	0,081	0,033	0,261
MCW014	-0,242	-0,174	0,193	-0,011	0,37
MCW037	0,293	0,104	0,159	0,072	0,048
MCW067	0,007	-0,116	0,057	0,053	0,177
MCW078	-0,326	0,28	0,467	0,165	-0,017
MCW081	-0,018	0,107	0,374	-0,108	0,241
MCW098	0,086	0,222	0,203	-0,04	0,467
MCW111	-0,103	-0,007	0,168	0,01	0,101
MCW183	-0,01	-0,015	0,027	0,102	0,152
MCW206	0,008	0,196	0,287	0,161	-0,025
MCW216	0,04	0,003	0,31	0,287	0,33
MCW222	0,173	0,16	0,383	0,065	0,233
MCW248	-0,068	0,048	0,011	0,206	0,146
MCW295	-0,029	0,105	0,169	0,191	0,166
MCW330	0,071	-0,057	-0,056	0,247	0,238
Trung Bình	0,008	0,045	0,174	0,101	0,169

Kích thước và tần số xuất hiện của các allele (trong các locus) ở các giống nghiên cứu (ví dụ như một locus MCW295) được thể hiện trên bảng 6.

Bảng 5 là biểu thị tần số xuất hiện của các allele theo kích thước của chúng ở locus MCW295. Kết quả cho thấy, tần số xuất hiện allele nhiều nhất ở kích thước 89 và 95 (cả 5 giống gà) và thấp nhất ở kích thước 93, 99, 105, 107 (chỉ xuất hiện trên 1 giống).

Sự đa dạng di truyền, mức độ cận huyết Fis

Tần số dị hợp tử mong đợi trung bình của các giống gà nghiên cứu là: 0,605 của gà Ác, 0,633 của gà Chọi, 0,641 của gà H'mông, 0,612 của gà Hồ và 0,639 của gà Tre.

Theo kết quả của Nguyễn Trọng Bình và đồng tác giả (2008) tần số dị hợp tử mong đợi của 22 microsatellite trên 11 quần thể gà ở Hà Giang là 0,636 thì kết quả này là tương đương.

Năm giống gà có giá trị dị hợp tử khá cao nên sự đa dạng di truyền khá lớn so với một số nghiên cứu khác.

Mức độ cận huyết trong mỗi quần thể hoặc trong các giống là mức độ giao phối của các cá thể trong các giống có quan hệ gần gũi với nhau và được đánh giá qua giá trị Fis.

Sự sai khác di truyền trong các giống gà và các quần thể phụ thuộc vào mức độ đột biến, sự di cư và chọn lọc cũng như là sự lạc dòng di truyền.

Giá trị trung bình Fis của các giống gà Ấc, gà Chọi, gà H'mông, gà Hồ và gà Tre lần lượt là 0,008; 0,045; 0,174; 0,101 và 0,169.

Với các kết quả thu được cho thấy hệ số cận huyết của các cá thể trong mỗi giống rất nhỏ chứng tỏ, không có sự giao phối đồng huyết và không có quan hệ họ hàng gần gũi nhau.

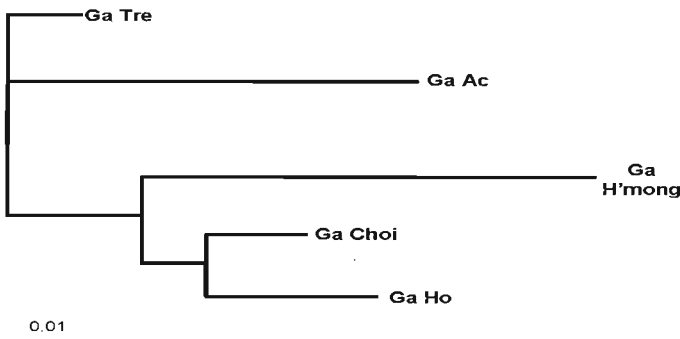
Mối quan hệ di truyền của các giống gà nghiên cứu

Từ kết quả khoảng cách di truyền ở bảng 10, cây phân loại di truyền của 5 giống gà được xây dựng ở hình 3

Kết quả cho thấy có thể chia 5 giống thành 3 nhóm: Nhóm 1: Gà Tre; Nhóm 2: Gà Ấc; Nhóm 3 gồm 3 giống: Gà H'mông, gà Chọi và gà Hồ, trong đó gà Chọi và gà Hồ có khoảng cách di truyền gần nhau nhất.

Bảng 10. Giá trị Fst khi so sánh giữa các cặp giống.

Giống	Gà Ấc	Gà Chọi	Gà H'mông	Gà Hồ	Gà Tre
Gà Ấc	0	-	-	-	-
Gà Chọi	0,089	0	-	-	-
Gà H'mông	0,106	0,093	0	-	-
Gà Hồ	0,108	0,037	0,081	0	-
Gà Tre	0,057	0,033	0,091	0,055	0



Hình 3. Cây khoảng cách di truyền của 5 giống gà nghiên cứu.

KẾT LUẬN

Xác định được 20 cặp mồi microsatellite đặc hiệu và chuẩn hóa được phương pháp phân tích PCR-multiplex, phân tích fragment trên máy giải trình tự gen CEQ-8000.

Trong 20 locus, số allele trung bình/locus là 8,4, tổng số allele cao nhất là gà Tre, gà Chọi: 130 allele tương ứng với số allele/locus là 6,5, tiếp theo là gà

H'mông: 124 allele (6,2) và thấp nhất là gà Ấc 102 (5,1).

Hệ số cận huyết của các cá thể trong mỗi giống rất nhỏ thể hiện qua giá trị Fis của các giống gà (0,008; 0,045; 0,174; 0,101 và 0,169) tương ứng với các giống gà Ấc, gà Chọi, gà H'mông, gà Hồ và gà Tre. Điều này chứng tỏ không có sự giao phối đồng huyết giữa các giống và không có quan hệ họ hàng gần gũi nhau.

Khoảng cách di truyền giữa các giống gà là rất

khác nhau: Giữa gà Ác với gà Chọi, gà H'mông, gà Hồ và gà Tre là 0,089; 0,106; 0,108; 0,057; giữa gà Chọi với gà H'mông, gà Hồ và gà Tre là 0,093; 0,037; 0,033; giữa gà H'mông với gà Hồ và gà Tre là 0,081 và 0,091; giữa gà Hồ và gà Tre là 0,055.

Kết quả có thể chia 5 giống thành 3 nhóm: Nhóm 1: Gà Tre; Nhóm 2: Gà Ác; Nhóm 3 gồm 3 giống: Gà H'mông, gà Chọi và gà Hồ, trong đó gà Chọi và gà Hồ có khoảng cách di truyền gần nhau nhất.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài thuộc Chương trình Công nghệ sinh học - Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn giai đoạn 2007 - 2010: "Xác định sự sai khác di truyền của các giống gà nội" tại Viện Chăn nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cavalli-Storza LL, Edwards KJ (1967) Phylogenetic analysis. Models and estimation procedure. *A J Human Genet* 19: 233-257.
- Chen CF, Cecile B, Xavier R, Yen P (2004) Characterisation of six Asian local chicken breeds performance and polymorphisms from microsatellite markers. *29th International Conference on Animal Genetics, ISAG, Tokyo, Japan*.
- David WB (2004) Chicken genome sequence and the Avian NET Research Community *29th International Conference on Animal Genetics, ISAG, Tokyo, Japan*.
- Eding H, Laval G (1999) Measuring the genetic uniqueness in Livestock, In Genenbanks and the conservation of farm animal genetic resources, Oldenbroek JK (editor), *DLO Institute of Animal Science and Health The Netherlands*: 33-58.
- FAO-2002 Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Recourse Management Plans, Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers, Food DNA Agriculture Organization of the United Nation.
- Goudet, J (2001) FSTAT, a program to estimate DNA test gene diversitiesDNA fixation indices (version 2.9.3). <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Nguyễn Trọng Bình, Phạm Doãn Lân, Đỗ Ngọc Duy, Nguyễn Văn Ba, Hoàng Thanh Hải, Nhữ Văn Thụ, Vũ Chí Cường, Lê Thị Thúy (2007) Đánh giá đa dạng di truyền các quần thể gà nuôi tại Hà Giang bằng chỉ thị Microsatellite. *Tạp chí Khoa học Công nghệ chăn nuôi* 2(3): 127-136.
- Muchadeyi FC, Eding H, Wollny CBA, Groeneveld E, Makuza SM, Shamseldin R, Simianer H, Weigend S (2007) Absence of population substructuring in Zimbabwe chicken ecotypes inferred using microsatellite analysis. *Anim Genet* 38(4) : 332-339.
- Hanotte O, Bjimstad G, Jianlin H, Mobegi V, Kierstein G, Tadelle D, Abebe G, Hirbo J (ILRI) Thuy LT (NIAH, Vietnam), Zhao Shengguo (ILRI-CAAS, joint laboratory, China), Khumnirdpetch V (DLD, Thailand), Naqvi A (PARC, Pakistan), Weigend S (Institute of Animal Breeding Mariensee, Germany) (2006) Chicken genomics and development. *Origin and Diversity of domestic chicken: a worldwide perspective, Braril, 7- 10/5/ 2006*.
- Osman SAM, Sekino M, Nishibori M, Yamamoto Y, Tsudzuki M (2005) Genetic Variability and relationships of Japanese native chickens based on microsatellite DNA polymorphisms- Focusing on the breeds established in Kochi Prefecture, Japan. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18(6) :755-761
- Romanov MN, Weigend S (2001) Analysis of genetic relationships between various population of domestic and jungle fowl using microsatellite markers. *Pult Sci* 80: 1057-1063.
- Sartika T, Minezawa M, Hihara H, Takahashi H (2004) Genetic relationship among Japanese and Indonesian native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms. *29th International Conference on Animal Genetics, ISAG, Tokyo, Japan*.
- Zhang SH, Li YJ, Li MH, (2002) The research of Random amplified polymorphic DNA (RAPD) of Liaoning cashmere goat. *J Huazhong Agr Univ* 4: 303-305.

GENETIC POLYMORPHISM ANALYSIS OF FIVE VIETNAM NATIVE AC, CHOI, HO, H'MONG AND TRE CHICKEN BREEDS USING MICROSATELLITES

Le Thi Thuy*, Nguyen Trong Binh, Nguyen Van Ba

National Institute of Animal Husbandry

SUMMARY

Twenty microsatellite loci were used for genetic polymorphism analysis of five Vietnam native chicken populations. Blood unrelated samples of five native chicken breeds: Ac, Choi, H'mong, Ho and Tre (each with 40) were collected from Long An, Binh Dinh, Ha Giang, Bac Ninh and Ben Tre. For 20 microsatellites, total alleles in each breed was 102; 130; 124; 106, 130 and the mean number of alleles per locus was 5.1; 6.5; 6.2; 5.3; 6.5 for Ac, Choi, H'mong, Ho and Tre breeds respectively. The average number of allele/locus of total research individuals breeds was very high 8.4. The mean observed (Ho) and expected heterozygosity (He), were: 0.563 and 0.626 respectively. The average of inbreeding coefficient (Fis) and the average genetic variation (Fst) between breeds were 0.010; 0.032 respectively, Small Nei's (1972) standard genetic distances ranging 0.033 to 0.108 were observed between 5 breeds. The results showed that genetic diversity of five chicken breed populations was high and five breeds belonged to three different groups, one including Tre, one including Ac and one including H'mong, Choi, and Ho chicken in which Choi chicken had a closer relationship to Ho than to the Hmong chicken.

Keywords: *Ac, Choi, genetic diversity, H'mong, Ho, microsatellites, Tre chicken*

* Author for correspondence: Tel: 84-4-38389775; Fax: 84-4-38389775; E-mail: thuyniah@vnn.vn