

## ĐA HÌNH GEN PROLACTIN LIÊN QUAN TÍNH TRẠNG SẢN XUẤT TRỨNG Ở GIỐNG GÀ LIÊN MINH

Trần Thị Bình Nguyễn<sup>1</sup>, Nguyễn Hữu Đức<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Diệu Thuý<sup>2,✉</sup>

<sup>1</sup>Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc: E-mail: ntdthuy@ibt.ac.vn

Ngày nhận bài: 13.9.2017

Ngày nhận đăng: 02.04.2018

### TÓM TẮT

Gà Liên Minh là giống gà bản địa, mang nhiều đặc tính quý, thịt thơm ngon và gắn liền với sự phát triển kinh tế của người dân thôn Liên Minh, xã Trần Châu, huyện Cát Hải, thành phố Hải Phòng. Mục đích của nghiên cứu này là xác định mối quan hệ giữa đa hình nucleotide (SNP) gen Prolactin (*PRL*), ứng cử gen liên quan với tính trạng sản xuất trứng ở gà Liên Minh. Các chỉ tiêu được theo dõi trên 90 gà mái Liên Minh, theo hình thức cá thể, bao gồm: ngày bắt đầu đẻ trứng, số lượng trứng, khối lượng quả trứng đầu tiên, khối lượng trứng trung bình và chỉ số hình dạng trứng trung bình. DNA tổng số được tách chiết từ 90 mẫu máu và phân tích đa hình nucleotide bằng phương pháp PCR-RFLP. Đột biến chèn/xóa 24 bp thuộc vùng điều khiển (*PRL24*) và đột biến thay thế nucleotide C2402T đầu 5' gen *PRL* (*PRL5*) đã được xác định. Kết quả cho thấy vị trí đa hình *PRL24* cho tần số allele I (0,13) và allele D (0,87), tương ứng kiểu gen ID (0,27) và DD (0,73); tại vị trí đa hình *PRL5* cho tần số allele C (0,21) và T (0,79), kiểu gen CT (0,41) và TT (0,59). Mối liên quan giữa kiểu gen và tính trạng khối lượng trứng trung bình đã được tìm thấy ở mức ý nghĩa  $P < 0,05$ . Gà mang kiểu gen ID, CT thuộc *PRL24* và *PRL5* cho khối lượng trứng trung bình cao hơn, lần lượt là  $47,57 \pm 3,11$  (g) và  $46,91 \pm 4,29$  (g). Bên cạnh đó, gà mang kiểu gen ID, CT cũng cho các đặc điểm sản xuất trứng tốt hơn (số lượng trứng, khối lượng quả trứng đầu tiên). Kết quả nghiên cứu này gợi ý các kiểu gen/allele có lợi nhằm hỗ trợ cải thiện khả năng sản xuất trứng trong quá trình chọn lọc và phát triển giống gà Liên Minh.

**Từ khóa:** Đa hình gen, gà Liên Minh, gen *PRL*, PCR-RFLP, tính trạng sản xuất trứng

### MỞ ĐẦU

Prolactin là hormone polypeptide tiết ra bởi thùy trước tuyến yên có vai trò sinh học trong nhiều hoạt động của cơ thể động vật: điều hòa thâm thấu, tạo thể vàng, tác động điều khiển và duy trì chức năng đòi ấp ở gà mái. Các nghiên cứu cho thấy gen *PRL* biểu hiện ở tuyến dưới đồi, tuyến yên, ống dẫn trứng và trứng, trong đó mức biểu hiện cao nhất tìm thấy ở tuyến yên (Li *et al.*, 2009). Ở gà, prolactin là một trong những hormone đóng vai trò rất quan trọng trong sản xuất trứng. Nồng độ prolactin tăng mạnh trong huyết tương, gây ra hiện tượng đòi ấp, vì vậy dẫn đến ngừng việc đẻ trứng (Sockman *et al.*, 2000), kết quả làm giảm sản lượng trứng (Reddy *et al.*, 2002). Gen mã hóa *PRL* ở gà nằm trên NST số 2 (Miao *et al.*, 1999; Au, Leung, 2000), bao gồm 5 exon, 4 intron, với 2 vùng điều khiển gần kề và xa

(Cao *et al.*, 1987; Zhou *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2009; Yousefi *et al.*, 2012). Đột biến xảy ra trên vùng điều khiển có thể ảnh hưởng đến sự biểu hiện của gen *PRL*, vì vậy có thể ảnh hưởng đến sản lượng trứng. Đột biến chèn/xóa 24-bp ở vị trí -358 vùng điều khiển gen *PRL* có ảnh hưởng tới khả năng sản xuất trứng ở nhiều giống gà bản địa (Jiang *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2006; Begli *et al.*, 2010; Yousefi *et al.*, 2012; Lotfi E *et al.*, 2013). Mối liên quan giữa đột biến thay thế C-2402-T đầu 5'-*PRL* với tính trạng sản xuất trứng đã được tìm thấy trên một số giống gà Trung Quốc, Iran và Ukraina (Cui *et al.*, 2006; Liang *et al.*, 2006; Rashidi *et al.*, 2012; Bagheri *et al.*, 2013; và Kulibaba *et al.*, 2015). Đánh giá đa hình đột biến điểm *PRL5* trên 218 cá thể gà Nòi Việt Nam, kết quả cho thấy, tần số kiểu gen TT (0,69) xuất hiện phổ biến hơn kiểu gen CT (0,28) và CC (0,03) (Vu CT, Ngụ NT, 2016).

Gà Liên Minh là giống gà bản địa có nguồn gốc từ thôn Liên Minh, xã Trần Châu, huyện Cát Hải, Thành phố Hải Phòng. Đây là giống gà có đặc điểm đẹp về ngoại hình, màu sắc lông, da vàng, phẩm chất thịt thơm ngon, lớp mỡ dưới da mỏng, da giòn và dai, thịt có vị ngọt đậm đà, mang hương vị đặc trưng. Gà Liên Minh được phát hiện và đưa vào danh sách bảo tồn từ năm 2008. Khi mới được phát hiện, tình trạng nguồn gen gà Liên Minh theo tiêu chí đánh giá của FAO (2007a) ở mức độ đe dọa nguy hiểm. Năm 2013, Bộ Khoa học và Công nghệ cho phép Trung tâm Ứng dụng tiến bộ KH&CN thành phố Hải Phòng thực hiện nhiệm vụ “Khai thác và phát triển giống gà Liên Minh tại Hải Phòng” nhằm bảo tồn, khai thác và sử dụng có hiệu quả nguồn gen giống gà Liên Minh. Khả năng sản xuất trứng của gà Liên Minh khá thấp so với các giống gà bản địa Việt Nam, trung bình đạt 75,6 quả/mái/năm (Doan BH *et al.*, 2016). Nghiên cứu này tiến hành phân tích đa hình đột biến ở hai vị trí: *PRL24*, *PRL5* và tương quan di truyền giữa tần số allele/ kiểu gen với tính trạng sản xuất

trứng ở giống gà Liên Minh. Thông tin này nhằm góp phần bảo tồn và phát triển giống gà Liên Minh tại Hải Phòng.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

Gà Liên Minh (đạt các tiêu chuẩn đặc trưng giống) nuôi tại Trung tâm Ứng dụng tiến bộ KH&CN thành phố Hải Phòng (năm 2016). Thí nghiệm theo dõi trên 90 gà mái, được nuôi riêng trên từng lồng theo hình thức cá thể. Tất cả gà thí nghiệm đồng đều ngày tuổi, điều kiện dinh dưỡng, môi trường và chăm sóc thú y.

Các cặp mồi dùng trong PCR được tổng hợp bởi Hãng Macrogen (Cui *et al.*, 2006). Các thông tin cơ bản về trình tự mồi, nhiệt độ gắn mồi, kích thước sản phẩm PCR tính toán theo lý thuyết được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1.** Thông tin về các mồi sử dụng.

Locus	Trình tự mồi [5'-3']	Kích thước sản phẩm PCR [bp]	Nhiệt độ gắn mồi [°C]	RE	Kích thước sản phẩm cắt (bp)
<i>PRL5</i>	F: AGAGGCAGCCAGGCATTTTAC R: CCTGGGTCTGGTTGGAAATTG	Gi439	56	<i>AfuI</i>	304/81/54 160/144/81/54 304/160/144/81/54
<i>PRL24</i>	F: TTTAATATTGGTGGGTGAAGAGACA R: ATGCCACTGATCCTCGAAACTC	54/130	54	-	

Ghi chú: F: mồi xuôi, R: mồi ngược, RE: enzyme cắt giới hạn, -: Không sử dụng RE.

Phân tích kiểu gen của *PRL24*: Đột biến chèn/xóa 24 tạo ra hai băng DNA có kích thước phân tử sai khác nhau 24 bp (154/130 bp) khi điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 2,5%. Phân tích kiểu gen *PRL5* bằng enzyme cắt giới hạn (*AfuI*): Sản phẩm PCR gen *PRL5* có kích thước 439 bp được ủ với *AfuI* theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Băng điện di được kiểm tra trên gel agarose 2,5%. Thông tin chi tiết về phản ứng cắt sản phẩm PCR với enzyme cắt giới hạn (*AfuI*), kích thước sản phẩm cắt theo tính toán lý thuyết được trình bày trong bảng 1.

### Phương pháp

Các chỉ tiêu theo dõi khả năng đẻ trứng ở gà Liên Minh bao gồm: (i) ngày bắt đầu đẻ trứng (ngày); (ii) khối lượng quả trứng đầu tiên (g); (iii) số lượng trứng (tổng số lượng trứng/mái/20 tuần); (iv) khối lượng trứng (g); (v) chỉ số hình dạng trứng

(kích thước đường kính lớn/đường kính nhỏ (D/d). Các chỉ tiêu này được theo dõi trong thời gian 20 tuần đẻ trứng, theo phương pháp mô tả của Bùi Hữu Đoàn *et al.*, (2011).

Mẫu máu được lấy bằng xylanh từ tĩnh mạch cánh của từng cá thể, rồi nhanh chóng chuyển sang ống đựng máu chống đông chứa EDTA-K và được bảo quản ở 4°C.

DNA hệ gen được tách chiết từ các mẫu máu theo phương pháp cơ bản của Ausubel *et al.*, (1995). DNA hệ gen sau khi tách chiết được điện di kiểm tra trên gel agarose 1% và đo quang phổ ở bước sóng 260/280 nm để đánh giá nồng độ và độ tinh sạch.

Khuếch đại đoạn gen bằng PCR với thể tích 25 µL bao gồm: 10x PCR buffer; 20 mM dNTP; 10 ng mồi xuôi và ngược; 1 U Dream *Taq-polymerase*; 100

ng DNA hệ gen. Chu trình nhiệt bắt đầu bằng biến tính toàn bộ ở 94°C trong 3 min, tiếp theo là 35 chu kỳ ở 94°C trong 45 s, gắn mỗi trong 45 s, kéo dài mạch 72°C trong 45 s, hoàn tất kéo dài mạch 72°C trong 7 min.

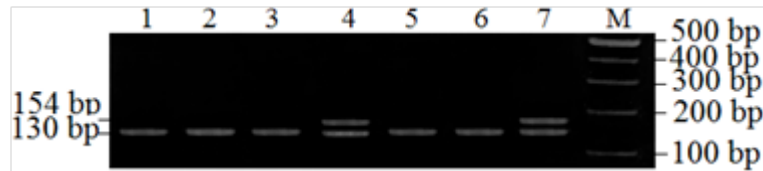
**Xử lý số liệu**

Các số liệu được ghi lại bằng phần mềm Excel và xử lý theo phương pháp thống kê sinh học. Tần số allele được tính theo công thức:  $p = (2AA + AB) / 2N$  và  $q = (2BB + AB) / 2N$ , trong đó p là tần số allele A, q là tần số allele B, còn N là tổng số mẫu nghiên cứu. Cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) được ước lượng bằng phương pháp của Rodriguez *et al.*, (2009). Mọi liên quan giữa kiểu gen và các tính trạng sản xuất trứng được phân tích dựa vào mô hình tuyến tính tổng quát (General Linear Model) của phần mềm Minitab

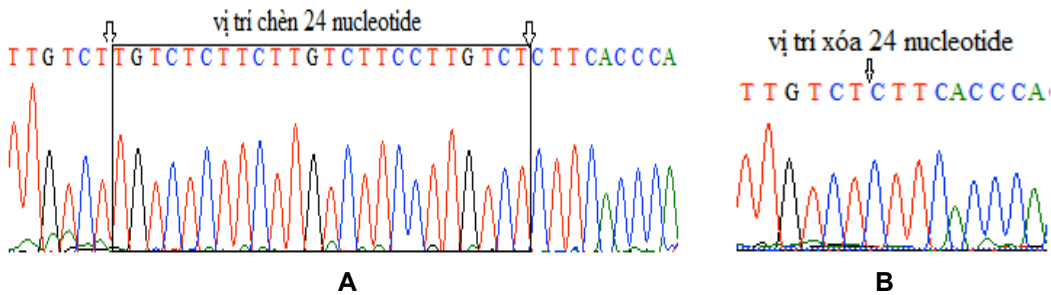
version 16.0:  $Y_{ij} = \mu + G_i + \xi_{ij}$  (trong đó  $Y_{ij}$ : Tính trạng quan sát;  $\mu$ : Trung bình chung,  $G_i$ : Ảnh hưởng của kiểu gen;  $\xi_{ij}$ : Sai số ngẫu nhiên).

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

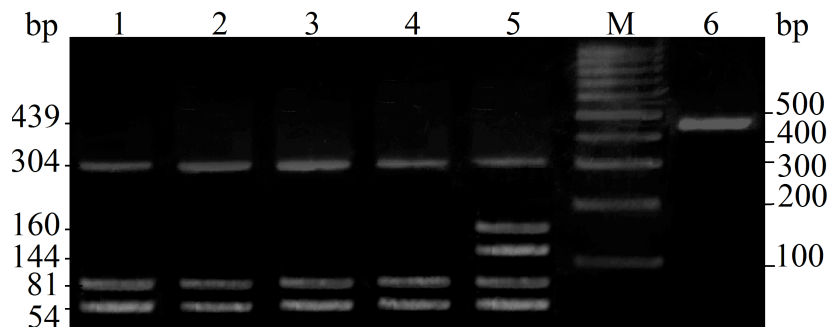
Vị trí -358 vùng điều khiển gen *PRL* xuất hiện đa hình đột biến chèn/xóa 24 nucleotide ở rất nhiều giống gà bản địa. Kết quả sản phẩm PCR có thể cho hai băng DNA với kích thước phân tử là 154 bp (chèn) hoặc 130 bp (xóa), tương ứng với hai allele I và D. Kết quả điện di sản phẩm PCR gen *PRL24* cho thấy, các băng 130 bp (giống 1 - 3, 5, 6) và 154/130 bp (giống 4, 7), tương ứng với kiểu gen DD và ID, trong nghiên cứu này không thấy xuất hiện kiểu gen II (Hình 1).



Hình 1. Sản phẩm PCR *PRL24* trên gel agarose 2,5%. 1-3,5,6- kiểu gen DD; 4,7- kiểu gen ID; M: 100 bp DNA ladder.



Hình 2. Giải trình tự chèn/xóa nucleotide tại vị trí (-358) của gen *PRL24*.



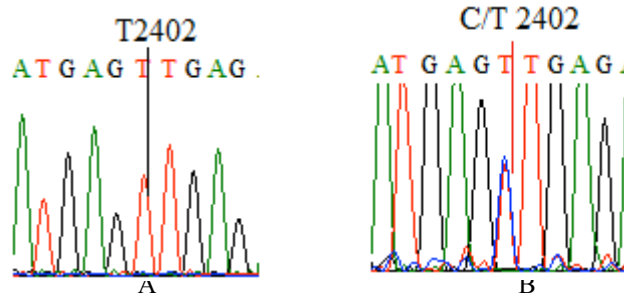
Hình 3. Sản phẩm PCR và sản phẩm cắt *PRL5* với *AluI* trên gel agarose 2,5%. 1 - 4: kiểu gen TT; 5: kiểu gen CT; 6: sản phẩm PCR (439 bp); M: 100 bp DNA ladder

Kết quả giải trình tự gen *PRL24* tại vị trí (-358) được chèn 24 nucleotide (Hình 2A), tương ứng với allele I kích thước 154 bp, xóa 24 nucleotide (Hình 2B) tương ứng với allele D kích thước 130 bp.

Kết quả khuếch đại gen *PRL5* có kích thước phân tử 439 bp được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 2,5%. Hình 3 cho thấy, sản phẩm PCR là một băng DNA sáng, gọn, rõ nét và có kích thước phân tử tương ứng với tính toán lý thuyết (439 bp). Như vậy, gen *PRL5* đã được nhân lên đặc hiệu và sản phẩm PCR sẽ được phân tích bằng phản ứng cắt với RE tiếp theo.

Đoạn gen *PRL5* được nghiên cứu chứa 3 điểm cắt với *AluI*, nhưng chỉ có một vị trí cắt đa hình (Bảng 1). Cụ thể là, khi điện di sản phẩm cắt trên agarose 2,5% cho 3 kiểu cắt với kích thước:

**304/81/54 bp**; **160/144/81/54 bp**; và **304/160/144/81/54 bp**, tương ứng với ba kiểu gen TT, CC và CT. Sản phẩm cắt đoạn gen *PRL5* với *AluI* trên gel agarose 2,5% (Hình 3) cho thấy, các băng DNA sáng, rõ và có kích thước tương ứng với tính toán lý thuyết (giếng 1 - 4: các băng với kích thước phân tử **304/81/54 bp**, giếng 5 gồm các băng với kích thước **304/160/144/81/54 bp**). Trong 90 mẫu nghiên cứu xuất hiện hai kiểu cắt tương ứng với hai kiểu gen TT (giếng 1 - 4), CT (giếng 5) và không xuất hiện kiểu gen CC. Trình tự nucleotide tại vị trí 2402 được thể hiện trong hình 4. Hình 4A cho thấy, nucleotide xuất hiện tại vị trí 2402 gen *PRL5* là T, không tạo điểm cắt với *AluI* (TTGA), tương ứng với kiểu gen TT, hình 4B xuất hiện nucleotide C/T tại vị trí 2402, tạo ra điểm cắt *AluI* trên một sợi nhiễm sắc thể (CTGA), tương ứng với kiểu gen dị hợp tử CT.



Hình 4. Giải trình tự nucleotide tại vị trí 2402 gen *PRL5*.

Bảng 2. Tần số phân bố kiểu gen/allele ở hai locus *PRL24* và *PRL5*.

Gen	Kiểu gen quan sát					Allele	Kiểu gen kỳ vọng			Hardy-Weinberg	
	II	ID	DD	I	D		II	ID	DD	$\chi^2$	P
<i>PRL24</i> (n=90)	0,00	0,27	0,73	0,13	0,87	II	ID	DD	2,63	0,1	
<i>PRL5</i> (n=90)	0,00	0,41	0,59	0,21	0,79	CC	CT	TT	6,03	<b>0,025</b>	

Kết quả phân tích tần số kiểu gen/allele tại hai vị trí đa hình gen *PRL24* và *PRL5* ở giống gà Liên Minh được trình bày ở bảng 2.

Kết quả bảng 2 cho thấy, tần số xuất hiện allele I - allele D của gà Liên Minh tương ứng là 0,13 và 0,87. Đột biến *PRL24* có tần số kiểu gen tuân theo Định luật Hardy-Weinberg ( $P > 0,05$ ). Tần số allele I - D xuất hiện khá khác nhau ở các giống gà, cụ thể là: Khi nghiên cứu trên sáu giống gà Trung Quốc, tần số allele I xuất hiện dao động từ 0,02 (Taihe Silkies thế hệ F0), 0,05 (Yangshan), 0,17

(Nongdahe), 0,2 (Taihe Silkies thế hệ F1), 0,22 (White Rock) và đến 1,00 ở giống gà White Leghorn, đây là giống gà cho sản lượng trứng rất cao, đạt 300 quả/ mái/ năm (Cui *et al.*, 2006). Tần số allele I xuất hiện ở gà bản địa Iran (0,72), ở gà vùng Mazandaran (0,59), gà vùng Poltava clay (0,00) (Begli *et al.*, 2010; Rashidi *et al.*, 2012; Kulibaba *et al.*, 2015). Phân tích hai dòng gà hướng thịt (dòng G-2) và hướng trứng (dòng A) của Ukrainian, kết quả cho thấy rằng tần số allele I ở dòng G-2 là 0,14 còn ở dòng hướng trứng (dòng A) là 0,73 (Kulibaba *et al.*, 2012). Điều này cho thấy tần số allele I - D khá

dao động ở các giống gà và ở các giống gà cho năng suất trứng cao thường xuất hiện tần số allele I trội hơn, nhất là với các dòng gà hướng trứng đã được chọn lọc.

Phân tích tần số kiểu gen của SNP *PRL5* ở gà Liên Minh, kết quả cho thấy tần số allele T (0,79) xuất hiện nhiều hơn allele C, tần số đột biến này không tuân theo định luật Hardy-Weinberg ( $P < 0,05$ ) (Bảng 2). Tần số phân bố allele C (0,21) ở gà Liên Minh khá tương đồng với giống gà Taihe

Silkies Trung Quốc (0,23) và ở gà Nòi Việt Nam (0,17). Tần số allele T xuất hiện cao ở các giống gà Liên Minh, gà Nòi, gà Yangshan, gà Taihe Silkies và dòng gà hướng thịt Ukrainian. Còn gà dòng A - nuôi hướng trứng (Ukrainian), gà vùng Mzandaran, gà vùng Azarbaijan xuất hiện tần số allele C cao, đặc biệt giống gà Leghorn trắng chỉ xuất hiện allele C (1,00), đây là giống gà cho năng suất trứng đạt 300 quả/ mái/ năm. Tần số xuất hiện kiểu gen/allele *PRL5* của gà Liên Minh và một số giống gà bản địa khác được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3.** Tần số allele/ kiểu gen của gà Liên Minh và một số giống gà bản địa.

Giống	Tần số allele (%)		Tần số kiểu gen (%)			Tác giả
	C	T	CC	CT	TT	
Gà Liên Minh (70-80 quả/mái/năm)	0,21	0,79	0,00	0,41	0,59	Nghiên cứu này
Gà Nòi (40-50 quả/mái/năm)	0,17	0,83	0,03	0,28	0,69	Vu CT and Ngu NT 2016
Yangshan (70 quả/mái/năm)	0,05	0,95	-	-	-	Cui <i>et al.</i> , 2006
Taihe Silkies 1 (90 quả/mái/năm)	0,23	0,77	-	-	-	Cui <i>et al.</i> , 2006
Dòng G - gà nuôi lấy thịt	0,15	0,85	0,02	0,27	0,71	Kulibaba <i>et al.</i> , 2012
Poltavaskaya Glinistaya (khoảng 200 quả/mái/năm)	0,37	0,63	0,11	0,52	0,37	Kulibaba <i>et al.</i> , 2015
Gà bản địa Zabol	0,33	0,67	0,20	0,27	0,53	Masoud <i>et al.</i> , 2011
Dòng A-gà nuôi lấy trứng	0,74	0,26	0,52	0,45	0,03	Kulibaba <i>et al.</i> , 2012
Gà vùng Mazandaran	0,52	0,48	0,10	0,84	0,06	Rashidi <i>et al.</i> , 2012
Gà vùng Azarbaijan	0,88	0,22	0,56	0,44	0,00	Abadi <i>et al.</i> , 2014
White Leghorn (300 quả/mái/năm)	1,00	0,00	-	-	-	Cui <i>et al.</i> , 2006

**Bảng 4.** Mối tương quan giữa kiểu gen và tính trạng sản xuất trứng ở giống gà Liên Minh.

Vị Trí	Kiểu gen	Ngày bắt đầu đẻ trứng (ngày)	Khối lượng quả trứng đầu tiên (g)	Số lượng trứng trung bình	Khối lượng trứng trung bình (g)	Kích thước trứng (D/d)
<i>PRL24</i>	ID	185,33 ± 8,21 <sup>a</sup>	42,16 ± 4,57 <sup>a</sup>	45,29 ± 5,77 <sup>a</sup>	47,57 ± 3,11 <sup>a</sup>	1,28 ± 0,03 <sup>a</sup>
	DD	187,12 ± 8,25 <sup>a</sup>	39,96 ± 4,98 <sup>a</sup>	43,14 ± 4,73 <sup>a</sup>	45,05 ± 4,33 <sup>b</sup>	1,28 ± 0,03 <sup>a</sup>
<i>PRL5</i>	CT	185,84 ± 7,99 <sup>a</sup>	41,17 ± 4,44 <sup>a</sup>	44,95 ± 5,63 <sup>a</sup>	46,91 ± 4,29 <sup>a</sup>	1,28 ± 0,03 <sup>a</sup>
	TT	187,21 ± 8,42 <sup>a</sup>	40,11 ± 5,27 <sup>a</sup>	42,85 ± 4,53 <sup>a</sup>	44,89 ± 3,93 <sup>b</sup>	1,28 ± 0,03 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau trên cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).

Kết quả phân tích tương quan đa hình gen *PRL* với tính trạng sản lượng trứng ở giống gà Liên Minh (Bảng 4).

Phân tích mối tương quan đa hình đột biến *PRL24* cho thấy hai tính trạng (khối lượng trứng trung bình và số lượng trứng trung bình) ở các cá thể mang kiểu gen ID lớn hơn so với kiểu gen DD, tuy nhiên chỉ khối lượng trứng trung bình gà mang kiểu gen ID ( $47,57 \pm 3,11$  g) lớn hơn gà mang kiểu gen DD ( $45,05 \pm 4,33$  g), có ý nghĩa thống kê với  $P < 0,05$ . Kết quả này đồng thuận với nghiên cứu của Xu *et al.*, (2011a), khi nghiên cứu đa hình này cho thấy, gà Ningdu Sanhuang mang kiểu gen ID cho sản lượng trứng cao hơn gà mang kiểu gen DD, với số trứng tương ứng là 97,29 quả và 93,99 quả. Kết quả thể hiện ở bảng 4 cũng cho thấy rằng tuổi đẻ quả trứng đầu tiên ở gà mang gen ID ( $185,33 \pm 8,21$  ngày) sớm hơn gà mang kiểu gen DD ( $187,12 \pm 8,25$  ngày). Kết quả tương tự cũng được báo cáo bởi Xu *et al.*, (2011b), tuổi đẻ quả trứng đầu tiên ở giống gà Ningdu Sanhuang mang kiểu gen ID (121,4 ngày) sớm hơn gà mang kiểu gen DD (123,7 ngày). Ngoài ra, khối lượng quả trứng đầu tiên của gà mang kiểu gen ID cũng cao hơn gà mang kiểu gen DD. Điều này gợi ý allele I dường như là allele có lợi cho tính trạng sinh sản ở gà Liên Minh.

Phân tích đa hình gen *PRL5* với khả năng sản xuất trứng ở gà Liên Minh, cho thấy gà mang kiểu gen CT có nhiều đặc điểm liên quan đến khả năng sản xuất trứng tốt hơn so với kiểu gen TT (như khối lượng quả trứng đầu tiên, khối lượng trứng trung bình và số lượng trứng). Trong đó, khối lượng trứng trung bình ở gà Liên Minh mang kiểu gen CT ( $46,91 \pm 4,29$  g) cao hơn kiểu gen TT ( $44,89 \pm 3,93$  g), với mức ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). Số lượng trứng là một trong các giá trị quan trọng để đánh giá năng suất trứng. Ở gà Liên Minh, số lượng trứng trung bình của gà mang kiểu gen CT ( $44,95 \pm 5,63$  quả), TT ( $42,85 \pm 4,53$  quả). Kết quả này đồng thuận với các nghiên cứu trước đây: nghiên cứu đa hình đoạn gen *PRL5* trên giống gà Trung Quốc, kết quả cho thấy rằng, các giống gà có tần số allele C cao sẽ cho khả năng sản xuất trứng tốt hơn. Cụ thể như: giống gà Leghorn trắng là một giống không có đặc tính đòi ấp và sản xuất hơn 300 quả trứng mỗi năm, giống gà này mang 100% allele C. Gà Nongdahe, gà White Rock, gà Taihe Silkies và gà Yangshan cho sản lượng trứng lần lượt là 190 quả, 160 quả, 90 quả và 70 quả mỗi năm, với tần số allele C theo thứ tự tương ứng là 42%, 35%, 23% và 5% (Cui *et al.*, 2006). Nghiên cứu trên các giống gà bản địa: gà

Zabol Iran, gà Mazandaran (Iran), gà Azabaijan, cũng cho thấy rằng những cá thể gà với kiểu gen CC có khả năng sản xuất trứng tốt hơn cá thể mang gen CT/ TT (Masound *et al.*, 2011; Rashidi *et al.*, 2012; Abadi *et al.*, 2014).

## KẾT LUẬN

Hai đa hình SNPs thuộc gen *PRL24* và *PRL5* đã được phân tích ở giống gà Liên Minh. Kết quả cho thấy allele I và allele C là hai allele có lợi đối với tính trạng sản xuất trứng, trong đó kiểu gen ID và CT thể hiện tương quan với khối lượng trứng trung bình với mức ý nghĩa thống kê  $P < 0,05$ . Đây được xem là các kiểu gen/allele có lợi nhằm góp phần cải thiện khả năng sản xuất trứng ở giống gà Liên Minh.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này nhận được sự tài trợ kinh phí từ đề tài hợp tác KHCN với địa phương mã số VAST.NĐP.01/15-16 -Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdi M, Seyedabadi H, Gorbani A (2014) Prolactin and NPY gene polymorphism and its associations with production and reproductive traits in West-Azerbaijan native chicken. *Bull Env Pharmacol Life Sci* 3(6): 39-45.
- Au WL, Leung FCC (2002) Rapid communication: complete nucleotide sequence of the chicken prolactin gene. *J Anim Sci* 80: 138.
- Ausubel F.M., R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith and K. Struhl (1995) *Short Protocols in Molecular Biology*, 3<sup>rd</sup>, ed. John Wiley & Sons, Inc.
- Bagheri SAS, Niazi A, Zamiri MJ, Dadpasand TM (2013) Polymorphisms of prolactin gene in a native chicken population and its association with egg production. *Iran J Vet Res* 14(2): 113-119.
- Begli HE, S Zerehdaran, S Hassani, MA Abbasi, AK Ahmadi (2010) Polymorphism in prolactin and PEPCK-C genes and its association with economic traits in native fowl of Yazd province. *Iran J Biotechnol* 8: 172-177.
- Bùi Hữu Đoàn, Nguyễn Thị Mai, Nguyễn Thanh Sơn (2011) *Một số chỉ tiêu nghiên cứu trong chăn nuôi gia cầm*. NXB Nông nghiệp Hà Nội.
- Cao Z, Barron EA, Carrillo AJ, Sharp ZD (1987) Reconstitution of cell-type-specific transcription of the rat prolactin gene in vitro. *Mol Cell Biol* 7: 3402-3408.
- Cui JX, Du HL, Liang Y, Deng XM, Li N, Zhang XQ (2006) Association of polymorphisms in the promoter

- region of chicken prolactin with egg production. *Poult Sci* 85: 26-31.
- Vu CT, Ngu NT (2016) Single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with egg production traits in native noi chicken of Vietnam. *Anim Environ Sci* 6: 162-169.
- Doan BH, Dang PK, Tuan HA, Thinh NH (2016) Lien Minh chicken breed and live hood of people on Cat Hai Island district, Hai Phong city, Vietnam: Characterization and prospects. *Anim Genet Breed* 209: 26-31.
- Jiang RS, Xu GY, Zhang XQ, Yang N (2005) Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. *Poult Sci* 84: 839-845.
- Kulibaba RA (2015) Polymorphism of growth hormone, growth hormone receptor, prolactin and prolactin receptor genes in connection with egg production in Poltava Clay chicken. *Agric Biol* 50: 198-207.
- Kulibaba RA, Podstreshnyi AP (2012) Prolactin and growth hormone gene polymorphisms in chicken lines of Ukrainian selection. *Cytol Genet* 46: 390-395.
- Li HF, Zhu WQ, Chen KW, Zhang TJ, Song WT (2009) Association of polymorphisms in the intron 1 of duck prolactin with egg performance. *Turk J Vet Anim Sci*. 33: 193-197.
- Liang Y, Cui J, Yang G, Leung FCC, Zhang X (2006) Polymorphism of 5'flanking region of chicken prolactin gene. *Domes Anim Endocrinol* 30: 1-16.
- Lotfi E, S Zerehdaran, M Ahani, E Dehnavi (2013) Genetic polymorphism in prolactin gene and its association with reproductive traits in Japanese quail. *Poult Sci J* 1(1): 29-35.
- Masoud A, Kamal S, Hussein KB (2011) The polymorphism of prolactin gene in native chicken Zabol region. *J Anim Vet Adv* 10(5): 619- 621.
- Miao Y, DW Burt IR Paton, PJ Sharp and IC Dunn (1999) Mapping of the prolactin gene to chicken chromosome 2. *Anim Genet* 30: 473.
- Rashidi H, Rahimi-Mianji G, Farhadi A Gholizadeh M. (2012) Association of prolactin and prolactin receptor gene polymorphism with economic traits in breeder hens of indigenous chickens of Mazandaran province. *Iran J Biotechnol* 10: 129-135.
- Reddy IJ, David CG Sarma, PV, Singh K (2002) The possible role of prolactin in laying performance and steroid hormone secretion in domestic hen (*Gallus domesticus*). *Gen Comp Endocr* 127: 249-255.
- Rodriguez S, Gaunt TR, Day INM (2009) Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol* 169: 505.
- Sockman KW, Schwabl H, Sharp PJ (2000) The role of prolactin in the regulation of clutch size and onset of incubation behavior in the American kestrel. *Horm Behav* 38: 168-176.
- Xu H, Zeng H, Zhang D, Jia X, Luo C, Fang M, Nie Q, Zhang X (2011a) Polymorphisms associated with egg number at 300 days of age in chickens. *Genet Mol Res* 10: 2279-2289.
- Xu H, Zeng H, Luo C, Zhang D, Wang Q, Sun L, Yang L, Zhou M, Nie Q, Zhang X (2011b). Genetic effects of polymorphisms in candidate genes and the QTL region on chicken age at first egg. *BMC Genet* 12: 33-42.
- Yousefi S, Raoufi Z, Rasouli Z, Zerehdaran S (2012) Investigation of prolactin gene polymorphism in Japanese Quail. *Anim Sci Biotechnol* 45: 289-292.
- Zhou M, Zhang X, Shi Z, Cao Y (2001) Cloning and sequencing of prolactin gene cDNA in three chicken breeds. *Acta Genet Sinica* 28: 614-20.

## **ASSOCIATION OF PROLACTIN GENE POLYMORPHISM WITH EGG PRODUCTION TRAIT IN LIEN MINH CHICKEN**

**Tran Thi Binh Nguyen<sup>1</sup>, Nguyen Huu Duc<sup>1</sup>, Nguyen Thi Dieu Thuy<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Vietnam National University of Agriculture*

<sup>2</sup>*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology*

### **SUMMARY**

Lien Minh chicken is an indigenous breed with several favorable properties, such as good meat quality and associated with the economic development of the people in the Lien Minh village, Cat Hai, Hai Phong. Chicken prolactin is a candidate gene involved in egg production trait. The aim of this study was to investigate the association of single nucleotide polymorphism (SNP) of Prolactin gene (*PRL*) concerning with reproductive trait in Lien Minh chicken. All hens were kept in individual laying cage and phenotypic data for total 90 hens were recorded as following: age at first egg, first egg's weight, number of eggs, eggs' weight, and eggs' shape index. Blood samples were used for DNA extraction and then genotyping by PCR-RFLP method.

Two SNPs of *PRL* gene were analyzed including: 24 bp indel in promoter (*PRL24*) and C2402T in 5' flanking region (*PRL5*). The polymorphic sites at *PRL24* and *PRL5* showed two genotypes with the frequency of ID (0.27), DD (0.73) and CT (0.41), TT (0.59), respectively. Allele frequencies of *PRL24* and *PRL5* were: I (0.13), D (0.87) and C (0.21), T (0.79), respectively. Genotypes ID *PRL24* and CT at *PRL5* showed the highest values of mean weight of eggs  $47.57 \pm 3.11$  g and  $46.91 \pm 4.29$  g, respectively ( $P < 0.05$ ). In addition, the individual with genotype ID, CT also gave better reproductive characteristics such as number of eggs, first egg's weight. These results suggested that the beneficial alleles/genotypes could be used to support the improvement of the egg production capacity in the breeding of Lien Minh chicken.

**Keywords:** *Egg production traits, Lien Minh chicken, PCR-RFLP, PRL gene, single nucleotide polymorphisms*