

ĐA HÌNH GEN GH, GEN POU1F1 Ở MỘT SỐ GIỐNG GÀ BẢN ĐỊA VIỆT NAM

Nguyễn Thị Quỳnh Châu¹, Phạm Thị Phương Mai¹, Nguyễn Văn Ba¹, Giang Thị Thanh Nhân¹,
Trần Thị Hậu¹, Trần Thị Thu Thủy¹, Nguyễn Khánh Vân¹ và Phạm Doãn Lân²

¹Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ tế bào động vật; ²Viện Chăn nuôi

Tác giả liên hệ: Phạm Doãn Lân. Tel: 0914366975; Email: pdlanvn@yahoo.com

TÓM TẮT

Gen hormone sinh trưởng (GH) và gen yếu tố phiên mã tuyến yên (POU1F1) là những gen ứng cử tiềm năng cho tính trạng sinh trưởng ở gà. Nghiên cứu được tiến hành nhằm xác định tính đa hình nucleotide đơn (SNPs) tại vị trí intron 1 gen GH và exon 6 gen POU1F1 bằng kỹ thuật PCR-RFLP. Tổng số 600 cá thể của 6 giống gà bản địa gồm Ri vàng rom (RVR), Móng (MHN), H'Mông (HM), Đông Tảo (ĐT), Lạc Thủy (LT) và Tiên Yên (TY) được thu thập để phân tích đa hình gen. Kết quả phân tích đa hình GH/*Msp*I thu được 3 kiểu gen: AA, AG và GG. Kiểu gen GG được xác định có mối liên quan với đặc điểm sinh trưởng ở gà được phát hiện ở 5 giống và không có ở giống RVR. Kiểu gen GG có tần số phân bố khá thấp ở gà HM (0,01), LT (0,04), ĐT (0,11), TY (0,13) và MHN (0,14). Tại đa hình POU1F1/*Bsp*HI thu được 3 kiểu gen: CC, CT và TT. Kiểu gen CC và TT được xác định có liên quan tới một số giai đoạn sinh trưởng của gà được phát hiện ở cả 6 giống. Trong đó, tần số kiểu gen CC phân bố bằng nhau ở gà RVR, MHN và ĐT (0,31) và cao hơn ở gà LT (0,37), HM (0,44) và TY (0,45). Tần số kiểu gen TT phân bố ở gà RVR là cao nhất (0,22), tiếp đến ĐT (0,19), HM và TY (0,16), LT (0,14) và thấp nhất ở MHN (0,12). Giải trình tự đã nhận diện được đột biến thay thế G/A 662 của gen GH và T/C 11041 của gen POU1F1, hoàn toàn phù hợp với phân tích PCR-RFLP. Những kết quả này là cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm xác định mối liên kết giữa kiểu gen mong muốn với tính trạng sinh trưởng nhằm chọn tạo giống gà bản địa có năng suất cao dựa vào chọn lọc chỉ thị phân tử.

Từ khóa: Gà bản địa, Gen GH, Gen POU1F1, PCR-RFLP

ĐẶT VẤN ĐỀ

Các giống gà bản địa Việt Nam chiếm từ 55% - 70% tổng sản lượng gia cầm của cả nước, đóng vai trò quan trọng là nguồn cung cấp thịt, trứng và đảm bảo sinh kế cho người nông dân (Hanh và cs., 2007; Desvaux và cs., 2008; Lan Phuong và cs., 2015). Hiện nay, nhu cầu tiêu thụ thịt gà đang chuyển hướng sang các giống bản địa bởi chất lượng thịt thơm, ngon, rất phù hợp với thị hiếu ẩm thực của người tiêu dùng. Kết quả một số nghiên cứu cho rằng năng suất của các giống gà bản địa còn thấp (Lê Thị Thu Hà và cs., 2015; Nguyễn Hoàng Thịnh và cs., 2016; Trần Thị Bình Nguyễn và cs., 2020; Nguyen Van Duy và cs., 2020). Do đó, để đảm bảo cung cấp đủ lượng thịt gà bản địa theo nhu cầu thị trường thì việc cải tiến giống để tăng năng suất chăn nuôi là rất cần thiết. Trong vài thập kỷ qua, bên cạnh phương pháp chọn lọc truyền thống dựa vào kiểu hình và lai tạo, các phương pháp di truyền phân tử hiện đại với việc xác định trực tiếp các chỉ thị phân tử có liên quan đến các tính trạng mong muốn đã được sử dụng để cải thiện năng suất ở vật nuôi (Dekkers, 2004).

Gen hormone sinh trưởng (GH) và gen yếu tố phiên mã tuyến yên POU lớp 1 (POU1F1 hay PIT-1) được đề cử là một trong những gen quan trọng chứa nhiều đa hình liên quan đến sự tăng trưởng và tính trạng năng suất ở gia cầm (Jiang và cs., 2004; Nie và cs., 2005; Kulibaba và cs., 2015; Kazemi và cs., 2018). Gen GH nằm trên nhiễm sắc thể số 27 ở gà, gồm 5 exon và 4 intron, quy định tổng hợp hormone sinh trưởng, có vai trò quan trọng trong việc kiểm soát khối lượng cơ thể, thành phần thân thịt và quá trình trao đổi chất (Vasilatos-Younken và cs., 2000; Kansaku và cs., 2008). Các nghiên cứu trước đây cho thấy, một số các đa hình đơn (SNP) trong vùng exon và intron của gen GH đã được xác nhận có mối liên quan rõ rệt với tính trạng sinh trưởng của gà (Nie và cs., 2005; Ghelghachi và cs., 2013). Gen POU1F1 nằm trên nhiễm sắc thể số 1 ở gà, gồm 7 exon và 6 intron, mã hóa protein có vai trò quan trọng trong việc điều hòa phiên mã của các gen hormone tăng trưởng (GH), prolactin (PRL),

hormone kích thích tuyến giáp β (TBSH- β) và biểu hiện nhiều hoạt tính sinh học khác (Bodner và cs., 1988). Mối tương quan giữa đa hình gen POU1F1 với tính trạng sinh trưởng đã được xác định ở gà (Jiang và cs., 2004; Nie và cs., 2008; Manjula và cs., 2018). Do đó những gen này được xem là các gen ứng viên quan trọng liên quan tới đặc điểm sinh trưởng và phát triển ở gia cầm.

Tại Việt Nam, đa hình gen GH và gen POU1F1 bước đầu đã được thực hiện trên một số giống như gà Tàu Vàng, gà Nòi, gà Cobb, gà Móng Tiên Phong, gà Mía, gà Liên Minh và gà Ri lai (Khoa và cs., 2013; Lưu Quang Minh và cs., 2016; Nguyễn Trọng Tuyên và cs., 2017; Trần Thị Bình Nguyễn và cs., 2020; Thịnh và cs., 2020; Thu Hương và cs., 2020; Thu và cs., 2021; Hoàng Anh Tuấn và cs., 2022; Nguyễn Thanh Thủy và cs., 2022; Đỗ Thị Thu Hương và cs., 2023). Tuy nhiên, thông tin đa hình hai gen này trên nhiều giống gà bản địa khác còn hạn chế. Do đó để khai thác hiệu quả nguồn gen gà bản địa, nghiên cứu này đã được thực hiện để phân tích mức độ đa hình tại vị trí G662A của gen GH và T11041C của gen POU1F1 trên giống gà Ri vàng rom, gà H'Mông, gà Móng, gà Đông Tảo, gà Lạc Thủy và gà Tiên Yên, từ đó cung cấp thông tin khoa học hỗ trợ trong công tác chọn tạo dòng, giống gà có khả năng sinh trưởng tốt nhằm nâng cao hiệu quả chăn nuôi của những giống gà này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên 6 giống gà bản địa gồm gà Ri vàng rom, gà H'Mông, gà Móng, gà Đông Tảo, gà Lạc Thủy, gà Tiên Yên. Các thông tin cơ bản về giống, địa điểm thu mẫu được trình bày ở Bảng 1. Các cá thể gà được lựa chọn để thu mẫu máu dựa vào đặc điểm hình thái đặc trưng cho giống đã được công bố trong cuốn Át lát các giống vật nuôi. Các cá thể đã được lấy mẫu đảm bảo hạn chế tối đa về mối quan hệ huyết thống thông qua phỏng vấn tại các trang trại, trung tâm giống và viện nghiên cứu nơi thu mẫu.

Bảng 1. Giống gà, địa điểm và số lượng mẫu

STT	Giống gà	Địa điểm	Viết tắt	Số mẫu
1	Ri vàng rom	Trung tâm nghiên cứu Ong và chuyển giao công nghệ chăn nuôi, Viện Chăn nuôi	RVR	100
2	Móng	Duy Tiên, Hà Nam	MHN	100
3	H'Mông	Mai Sơn, Sơn La	HM	100
4	Đông Tảo	Khoái Châu, Hưng Yên	ĐT	100
5	Lạc Thủy	Lạc Thủy, Hòa Bình	LT	100
6	Tiên Yên	Tiên Yên, Quảng Ninh	TY	100
Tổng				600

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ tế bào động vật, Viện Chăn nuôi.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 01/2023 đến tháng 11/2023.

Phương pháp nghiên cứu

Thu thập mẫu: Mỗi giống gà thu thập 100 mẫu. Gà được nuôi tập trung tại các trang trại và trung tâm giống. Máu được lấy từ tĩnh mạch cánh của gà khoảng 1ml và bảo quản trong ống

có chứa chất chống đông máu EDTA 0,5M ở 4°C và sau đó được chuyển về Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ tế bào động vật, Viện Chăn nuôi để tiến hành tách chiết ADN tổng số.

Tách chiết ADN hệ gen: Các mẫu máu được tách chiết ADN theo quy trình bộ kit Dnease Blood & Tissue Kit của hãng Quiagen và được bảo quản ở nhiệt độ -20°C. Các mẫu ADN tổng số sau tách chiết được đánh giá chất lượng bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1% và định lượng nồng độ trên máy Quibit 3.0 (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Mỹ).

Khuếch đại đoạn gen GH và POU1F1: ADN hệ gen đảm bảo chất lượng và đạt yêu cầu được sử dụng để thực hiện phản ứng PCR. Tiến hành khuếch đại đoạn gen GH (intron 1) và POU1F1 (exon 6) với cặp mồi đặc hiệu tương ứng theo nghiên cứu của Nie và cs. (2005) và Manjula và cs. (2018). Các thông tin cơ bản về trình tự mồi, enzym giới hạn sử dụng trong nghiên cứu được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Thông tin về cặp mồi và các enzym giới hạn

Gen	Trình tự mồi (5' – 3')	Vị trí	Genbank	Enzym	Nhiệt độ ủ (°C)	Nguồn tham khảo
GH (intron 1)	F: AACATCCTCCCCAACCTTTC R: CCCTGTCAAGGTTAGGCTCA	G662A	AY461843	<i>MspI</i>	37	Nie và cs. (2005)
POU1F1 (exon 6)	F: GGGGTACCACTCAACTTCAG R: TAGGGTACCTGCAATGGGGG	T11041C	rs13687128	<i>BspHI</i>	37	Manjula và cs. (2018)

Thành phần phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 25µl gồm 2,5µl đệm PCR 10X; 2,5µl dNTPs 2mM; 2,5µl MgCl₂; 1µl mồi xuôi và 1µl mồi ngược với nồng độ 10pM; 0,3µl Taq polymerase (1u/µl), 1µl ADN 50-100ng. Chu trình nhiệt nhân đoạn gen GH: 94°C/3 phút, tiếp theo 35 chu kỳ ở 94°C/30 giây, 60°C/45 giây, 72°C/1 phút và 72°C/5 phút. Chu trình nhiệt nhân đoạn gen POU1F1: 94°C/10 phút, tiếp theo 35 chu kỳ ở 94°C/30 giây, 60°C/30 giây, 72°C/30 giây và 72°C/10 phút.

Phân tích đa hình: Đa hình của các gen GH và POU1F1 được xác định bằng kỹ thuật PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism). Sản phẩm PCR nhân đoạn gen GH và POU1F1 được ủ với 5U enzym tương ứng *MspI* và *BspHI*, dung dịch đệm và nước khử ion trong thời gian 8-10 tiếng ở 37°C. Kết quả RFLP được xác định bằng phương pháp điện di trên gel agarose nồng độ 2,5% đối với gen POU1F1 và 3% đối với gen GH qua hệ thống chụp ảnh GelDoc (Bio-rad).

Giải trình tự: Để xác nhận điểm đột biến C/A tại vị trí 662 của gen GH và T/C tại vị trí 11041 của gen POU1F1, các sản phẩm PCR được tinh sạch bằng kit PureLink™PCR Purification Kit (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Mỹ). Quy trình được lập cho giải trình tự tự động hai chiều trên hệ thống máy giải trình tự ABI 3130 (Applied Biosystems, Foster, CA, Mỹ).

Xử lý số liệu

Tần số các alen và kiểu gen được tính toán bằng phần mềm thống kê Mimitab 16 và cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) được kiểm định bằng phương pháp Chi-square test (χ^2). Tần số alen được tính theo công thức: $p = (2AA + AB)/2N$ và $q = (2BB + AB)/2N$, trong đó p là tần số

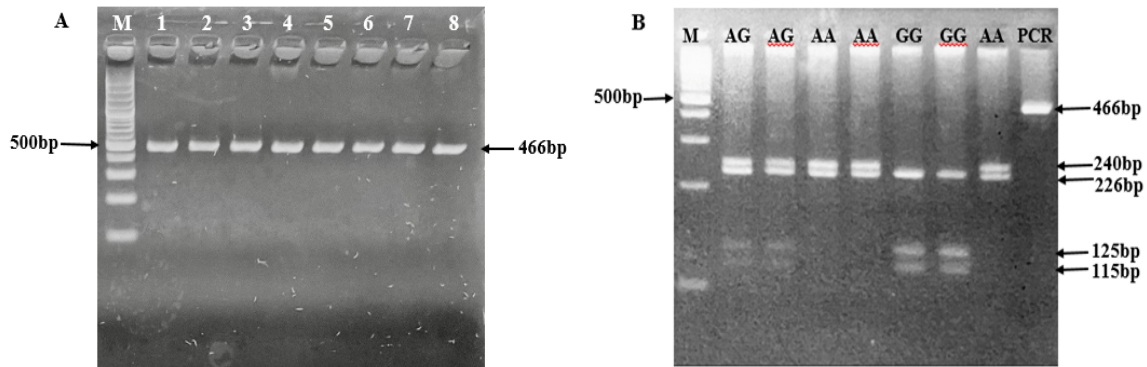
alen A, q là tần số alen B, N là tổng số mẫu nghiên cứu. Kết quả giải trình tự được phân tích bằng phần mềm BioEdit version 7.2.5 để xác định điểm đột biến.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Xác định đa hình và tần số kiểu gen/alen của gen GH

Đa hình gen GH (G662A)

Sản phẩm PCR trên hình ảnh điện di đồ cho thấy một băng ADN sáng rõ, không có băng phụ, có kích thước tương ứng 466bp, tương tự với nghiên cứu của Nie và cs. (2005), như vậy đoạn gen GH intron 1 đã được nhân lên thành công (Hình 1A).

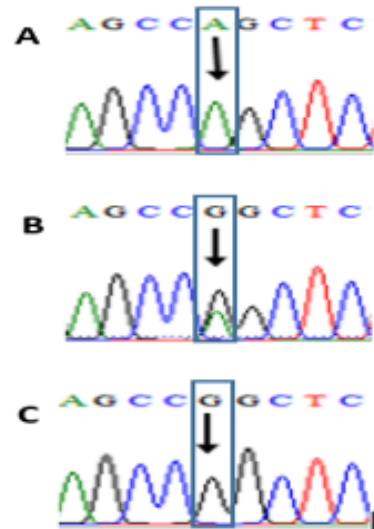


Hình 1. Phổ điện di đa hình PCR-RFLP gen GH (G662A)

1A: M: Thang ADN chuẩn 100bp (Thermo); 1-8: Sản phẩm PCR gen GH trên gel agarose 1%; 1B: M: Thang ADN chuẩn 100bp (Thermo); Sản phẩm cắt của enzym *MspI* với gen GH trên gel agarose 3%, kiểu gen: AA (240/226bp), AG (240/226/125/115bp), GG (226/125/115bp)

Theo lý thuyết vùng intron 1 của gen GH có chứa hai điểm cắt của enzym *MspI*, vì vậy cho hai alen A (240/226bp) và alen G (226/125/115bp), sự tổ hợp của hai alen có thể cho ba kiểu gen tương ứng với các kích thước AA (240/226bp), AG (240/226/125/115bp) và GG (226/125/115bp). Phân tích đa hình *MspI*-RFLP trên 600 cá thể gà nghiên cứu, kết quả điện di trên gel agarose chúng tôi thu được ba kiểu gen AA, AG và GG ở 5 giống MHN, HM, ĐT, LT và TY (Hình 1B). Duy nhất ở giống gà RVR trong nghiên cứu chỉ thu được hai kiểu gen AA, AG và không xuất hiện kiểu gen GG.

Giải trình tự xác nhận điểm đột biến: Từ kết quả phân tích PCR-RFLP, chúng tôi tiến hành giải trình tự một số cá thể mang kiểu gen AA, AG, GG để xác nhận điểm đột biến G/A tại vị trí 662. Các trình tự sau khi được xử lý và phân tích bằng phần mềm Bioedit version 7.2.5, kết quả cho thấy vùng intron 1 của gen GH đã được khuếch đại đặc hiệu, đã xác nhận điểm đa hình với sự thay thế nucleotide G/A tại vị trí 662, hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích PCR-RFLP cắt bởi enzym *MspI* (Hình 2).



Hình 2. Trình tự vùng intron 1 gen GH xác nhận điểm đa hình G662A

A: Kiểu gen AA; B: Kiểu gen AG; C: Kiểu gen GG. Phần đóng khung là vị trí đột biến

Tần số kiểu gen/alen của đa hình gen GH

Sự phân bố tần số kiểu gen và alen của gen GH tương ứng trên 6 giống gà nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Tần số kiểu gen/alen của gen GH ở 6 giống gà nghiên cứu

	Số cá thể (n)	Tần số quan sát					Tần số mong đợi			HWE
		Kiểu gen			Alen		Kiểu gen			$\chi^2 (1; 0,05) = 3,841$
GH/MspI		AA	AG	GG	A	G	AA	AG	GG	
RVR	100	0,91	0,09	0	0,95	0,05	0,9	0,08	0,02	0,2220
MHN	100	0,48	0,38	0,14	0,67	0,33	0,45	0,44	0,11	1,9785
HM	100	0,75	0,24	0,01	0,87	0,13	0,76	0,22	0,02	0,3722
ĐT	100	0,47	0,42	0,11	0,68	0,32	0,46	0,44	0,10	0,1220
LT	100	0,76	0,20	0,04	0,86	0,14	0,74	0,24	0,02	2,8708
TY	100	0,42	0,45	0,13	0,65	0,35	0,42	0,46	0,12	0,0301

Ghi chú: Giá trị χ^2 bảng ($df=1, P=0,05$)

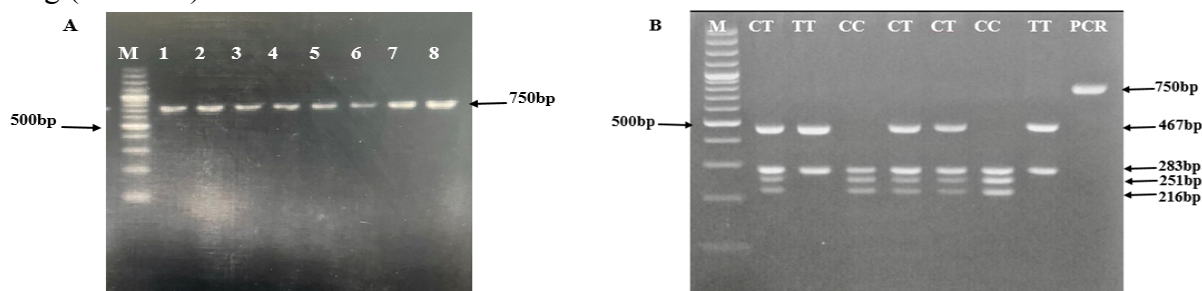
Kết quả Bảng 3 cho thấy, các kiểu gen ở locus GH/MspI đều phân bố tuân theo định luật Hardy-Weinberg. Trong 6 quần thể nghiên cứu, quần thể gà TY có tần số quan sát của các kiểu gen tiệm cận gần nhất với tần số mong đợi, điều này cho thấy định hướng chọn lọc các tính trạng kinh tế hiện tại của gà TY có ảnh hưởng thấp nhất đến sự phân bố các kiểu gen trong locus GH/MspI ($\chi^2 = 0,0301$). Kiểu gen AA có tần số cao nhất ở giống gà RVR (0,91), tiếp đến là LT (0,76), HM (0,75), MHN (0,48), ĐT (0,47) và thấp nhất ở gà TY (0,42); Kiểu gen AG có tần số cao nhất ở giống gà TY (0,45), tiếp đến là ĐT (0,42), MHN (0,38), HM (0,24), LT (0,2) và thấp nhất ở RVR (0,09). Kiểu gen GG có tần số thấp nhất trong ba kiểu gen, phân bố lần lượt ở giống gà MHN (0,14), TY (0,13), ĐT (0,11), LT (0,04), HM (0,01) và không xuất hiện ở RVR. Lý do kiểu gen GG không xuất hiện ở gà RVR có thể do số lượng mẫu trong quần thể chưa đủ lớn (tần số mong đợi kiểu gen GG dưới điều kiện cân bằng HWE rất thấp chỉ là 0,02). Các kết quả này tương tự với công bố của một số nghiên cứu trước đây cho thấy tần số kiểu gen AA cao hơn GG như ở gà Tàu Vàng (0,44 AA, 0,11 GG), gà Cobb (0,56 AA, 0,13 GG) (Khoa và cs., 2013), gà Mía (0,51 AA, 0,09 GG) (Hoàng Anh Tuấn và cs., 2022) và gà Liên Minh (0,87 AA, 0,05 GG) (Đỗ Thị Thu Hương và cs., 2023). Phân tích tần số hai alen A và alen G cho thấy có sự khác nhau đáng kể, trong đó alen G có tần số thấp hơn so với alen A lần lượt ở giống RVR (0,05 G, 0,95 A), MHN (0,33 G, 0,67 A), HM (0,13 G, 0,87 A), ĐT (0,32 G, 0,68 A), LT (0,14 G, 0,86 A) và TY (0,35 G, 0,65 A), kết quả này tương tự như trên gà Mía (0,26 G, 0,74 A) (Hoàng Anh Tuấn và cs., 2022), gà Liên Minh (0,09 G, 0,91 A) (Đỗ Thị Thu Hương và cs., 2023) và gà Iran (Mehdi và Reza, 2012). Tác giả Mehdi và Reza (2012) cũng cho biết đa hình này ảnh hưởng đến khối lượng của gà Iran lúc 1 và 8 tuần tuổi. Theo tác giả Thịnh và cs. (2020), Hoàng Anh Tuấn và cs. (2022) và Đỗ Thị Thu Hương và cs. (2023) thì các cá thể gà mang kiểu gen GG có khối lượng cơ thể cao hơn so với hai kiểu gen còn lại ở 7 - 16 tuần tuổi đối với gà Mía, 11 - 20 tuần tuổi đối với gà Liên Minh. Trong nghiên cứu của chúng tôi, kiểu gen GG được cho là có liên quan tới khả năng sinh trưởng tốt ở một số giai đoạn phát triển ở gà xuất hiện ở 5 giống nghiên cứu, với tần số phân bố ở các giống từ 0,01 đến 0,14, đây được xem là lợi thế về tiềm năng di truyền của các

giống gà bản địa Việt Nam, đồng thời cũng là cơ sở khoa học cho việc chọn lọc giống gà bản địa theo hướng sinh trưởng tốt.

Xác định đa hình và tần số kiểu gen/alen của gen POU1F1

Đa hình gen POU1F1 (T11041C)

Sau khi tiến hành tối ưu quy trình phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu để nhân đoạn gen POU1F1, sản phẩm PCR thu được là một băng ADN rõ nét, có kích thước 750bp phù hợp với kết quả của Manjula và cs. (2018), như vậy đoạn gen POU1F1 exon 6 đã được nhân lên thành công (Hình 3A).



Hình 3. Phổ điện di đa hình PCR-RFLP gen POU1F1 (T11041C)

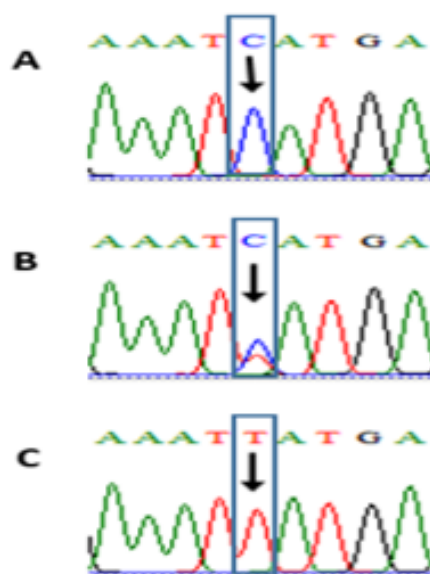
3A: M: Thang ADN chuẩn 100bp (Thermo); 1-8: Sản phẩm PCR gen POU1F1 trên gel agarose 1%; 3B: M: Thang ADN chuẩn 100bp (Thermo); Sản phẩm cắt của enzym BspHI với gen POU1F1 trên gel agarose 2,5%, kiểu gen: TT (467/283bp), CT (467/283/251/216bp), CC (283/251/216bp)

Theo lý thuyết enzym BspHI có hai điểm cắt trên vùng exon 6 gen POU1F1, tạo thành hai alen T (467/283bp) và alen C (283/251/216bp) và có thể cho ba kiểu gen tương ứng với các kích thước: TT (467/283bp), CT (467/283/251/216bp) và CC (283/251/216bp). Phân tích đa hình BspHI-RFLP trên tổng số 600 mẫu nghiên cứu, kết quả điện di trên gel agarose thu được ba kiểu gen TT, CT, CC tương ứng (Hình 3B).

Giải trình tự xác nhận điểm đột biến: Từ kết quả phân tích PCR-RFLP, chúng tôi tiến hành giải trình tự một số cá thể mang các kiểu gen tương ứng CC, CT, TT để xác nhận điểm đột biến T/C tại vị trí 11041 của gen POU1F1. Các trình tự sau khi được xử lý và phân tích bằng phần mềm Bioedit version 7.2.5, kết quả cho thấy vùng exon 6 của gen POU1F1 đã được khuếch đại đặc hiệu, đã nhận diện điểm đa hình với sự thay thế nucleotide T/C tại vị trí 11041, hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích PCR-RFLP cắt bởi enzym BspHI (Hình 4).

Tần số kiểu gen/alen của đa hình gen POU1F1

Kết quả Bảng 4 cho thấy tần số các kiểu gen và alen của đa hình gen POU1F1 đều tuân theo định luật Hardy-Weinberg. Trong đó, quần thể gà ĐT có tần số quan sát



Hình 4. Trình tự vùng exon 6 gen POU1F1 xác nhận điểm đa hình T11041C

A: Kiểu gen CC; B: Kiểu gen CT; C: Kiểu gen TT. Phần đóng khung là vị trí đột biến

của các kiểu gen tiệm cận gần nhất với tần số mong đợi, điều này cho thấy định hướng chọn lọc các tính trạng kinh tế của gà ĐT có ảnh hưởng nhỏ nhất tới sự phân bố tần số các kiểu gen tại locus POU1F1/BspHI ($\chi^2 = 0,0213$).

Bảng 4. Tần số kiểu gen/alen của gen POU1F1 ở 6 giống gà nghiên cứu

	Số cá thể (n)	Tần số quan sát			Tần số mong đợi			HWE		
		Kiểu gen			Kiểu gen			$\chi^2 (1; 0,05) = 3,841$		
POU1F1/BspHI		CC	CT	TT	C	T	CC	CT	TT	
RVR	100	0,31	0,47	0,22	0,55	0,45	0,29	0,5	0,21	0,2738
MHN	100	0,31	0,57	0,12	0,59	0,41	0,38	0,47	0,15	3,3378
HM	100	0,44	0,40	0,16	0,64	0,36	0,41	0,46	0,13	1,7409
ĐT	100	0,31	0,50	0,19	0,56	0,44	0,31	0,49	0,19	0,0213
LT	100	0,37	0,49	0,14	0,62	0,38	0,38	0,47	0,15	0,1207
TY	100	0,45	0,39	0,16	0,65	0,35	0,41	0,46	0,13	2,2016

Ghi chú: Giá trị χ^2 bảng ($df=1, P=0,05$)

Vị trí POU1F1/BspHI có tính đa hình cao với tần số kiểu gen CT và CC là tương đương ở các giống, còn kiểu gen TT có tần số thấp nhất. Trong đó, kiểu gen CT chiếm ưu thế hơn CC ở 4 giống gà RVR (0,47 CT, 0,31 CC), MHN (0,57 CT, 0,31 CC), ĐT (0,5 CT, 0,31 CC) và LT (0,49 CT, 0,37 CC). Tuy nhiên xu hướng tần số kiểu gen CT thấp hơn CC lại được tìm thấy ở giống gà HM (0,4 CT, 0,44 CC) và TY (0,39 CT, 0,45 CC). Kiểu gen TT có tần số thấp nhất ở 6 giống gà RVR (0,22), ĐT (0,19), HM và TY (0,16), LT (0,14), MHN (0,12). Kết quả về tần số kiểu gen trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả của một số tác giả đã công bố như trên giống gà Nòi, tỷ lệ kiểu gen CT (0,43) cao hơn CC (0,4) và TT thấp nhất (0,17) (Thu và cs., 2021), trên gà bản địa Hàn Quốc cũng chỉ ra tần số kiểu gen CT (0,13) thấp hơn CC (0,844) và thấp nhất là TT (0,026) (Manjula và cs., 2018). Phân tích tần số hai alen cho thấy, alen C xuất hiện với tần số cao hơn alen T ở cả 6 giống gà nghiên cứu, phân bố lần lượt ở các giống là RVR (0,55 C, 0,45 T), MHN (0,59 C, 0,41 T), HM (0,64 C, 0,36 T), ĐT (0,56 C, 0,44 T), LT (0,62 C, 0,38 T) và TY (0,65 C, 0,35 T). Sự chênh lệch về tần số alen tại điểm đa hình này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Thu và cs. (2021) trên gà Nòi (0,61 C, 0,39 T). Tuy nhiên trên gà bản địa Hàn Quốc thì sự chênh lệch tần số giữa hai alen lại rất lớn 0,901 C, 0,091 T (Manjula và cs., 2018). Sự khác biệt về tần số alen và kiểu gen giữa gà bản địa Hàn Quốc và Việt Nam cho thấy sự khác biệt về di truyền giữa các giống, mang những đặc điểm đặc trưng riêng của quần thể ban đầu. Theo công bố của Manjula và cs. (2018), các cá thể gà mang kiểu gen CC có trọng lượng cao hơn gà mang kiểu gen TT ở giai đoạn 14 - 16 tuần tuổi và 16 - 18 tuần tuổi ($P < 0,05$). Tuy nhiên, nhóm tác giả Thu và cs. (2021) khi nghiên cứu trên gà Nòi cho thấy gà mang kiểu gen TT lại có trọng lượng cơ thể cao hơn gà mang hai kiểu gen còn lại ở thời điểm 91 ngày tuổi. Chính vì vậy, kiểu gen CC và TT xuất hiện đồng thời ở cả 6 giống gà bản địa nghiên cứu cũng được xem là lợi thế di truyền của các gà bản địa Việt Nam về khả năng cải thiện tính trạng năng suất trong tương lai.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đánh giá được đa hình nucleotide đơn (SNP)G662A tại locus gen *GH/MspI* và SNP T11041C tại locus gen *POU1F1/BspHI* ở 6 giống gà bản địa Ri vàng rom, gà Móng, gà H'Mông, gà Đông Tảo, gà Lạc Thủy và gà Tiên Yên. Kết quả này là cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo, đồng thời hỗ trợ công tác cải tiến di truyền nâng cao năng suất dòng, giống gà bản địa dựa vào chọn lọc chỉ thị phân tử.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này từ Bộ Khoa học và Công nghệ cho các hoạt động hàng năm của Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ tế bào động vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

- Lê Thị Thu Hà, Nguyễn Thị Lê Hằng, Lê Thị Thanh Tâm, Nguyễn Thị Diệu Thúy và Nguyễn Thị Thu. 2015. Ảnh hưởng của đa hình gen *PIT1* đến tính trạng năng suất của giống gà Tàu Vàng. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam. Số 02 (56), tr. 114-120
- Đỗ Thị Thu Hương, Nguyễn Thái Anh, Nguyễn Thị Vinh, Đỗ Đức Lực, Bùi Hữu Đoàn và Nguyễn Hoàng Thịnh. 2023. Đa hình gen hormone sinh trưởng, thụ thể hormone sinh trưởng và mối liên kết với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam 21(6), tr. 858-867
- Lưu Quang Minh, Phạm Thị Phương Mai, Giang Thị Thanh Nhân và Trần Xuân Toàn. 2016. Tính đa hình SNPs trong 2 gen *GH* và *GHR* trên một số giống gà nuôi tại Việt Nam. Tạp chí Khoa học Công nghệ chăn nuôi. Số 63, tr. 14-19
- Trần Thị Bình Nguyên, Nguyễn Thị Thanh Trà, Phạm Thu Giang, Lê Công Toán, Nguyễn Hữu Đức, Nguyễn Thị Diệu Thúy, Nguyễn Mạnh Linh, Hoàng Thị Yên, Vũ Công Quý, Vũ Đức Quý và Nguyễn Thanh Huyền. 2020. Đa hình gen *GH*, *IGFBP*, *PIT1* ở giống gà Liên Minh. KHKT Chăn nuôi, Số 255, tr. 8-13
- Nguyễn Hoàng Thịnh, Phạm Kim Đăng, Vũ Thị Thúy Hằng, Hoàng Anh Tuấn và Bùi Hữu Đoàn. 2016. Một số đặc điểm ngoại hình, khả năng sản xuất của gà nhiều ngón nuôi tại rừng quốc gia Xuân Sơn, huyện Tân Sơn, tỉnh Phú Thọ. Tạp chí Khoa học và Phát triển, Tập 14, số 1, tr. 9-20
- Nguyễn Thanh Thủy, Lê Việt Quân, Hồ Lê Quỳnh Châu, Dương Thanh Hải, Dương Thị Hương và Phan Thị Duy Thuận. 2022. Đa hình exon 5 của gen thụ thể Prolactin và intron 1 của gen hormone sinh trưởng ở gà Ri Lai được nuôi tại Thừa Thiên Huế. Tạp chí Khoa học và công nghệ nông nghiệp Trường Đại học Nông Lâm Huế, Số 6(2), pp. 2944-2949
- Hoàng Anh Tuấn, Nguyễn Hoàng Thịnh, Phạm Kim Đăng và Bùi Hữu Đoàn. 2022. Khả năng sinh trưởng của gà Mía mang đa hình của gen *Insulin* và *Growth Hormone*. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, Số 20(1), tr. 56-64
- Nguyễn Trọng Tuyên, Phùng Đức Tiến, Ngô Thị Kim Cúc và Lưu Quang Minh. 2017. Đánh giá tính đa hình các kiểu gen *cGH* và *cGHR* trên giống gà Móng Tiên Phong. Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Số 59(2)

Tiếng nước ngoài

- Nguyen Van Duy, Moula, N., Moyses, E., Do Duc, L., Vu Dinh, T. and Farnir, F. 2020. Productive performance and egg and meat quality of two indigenous poultry breeds in Vietnam, Ho and Dong Tao, fed on commercial feed. *Animals*, 10(3): 408.
- Bodner, M., Castrillo, J.L., Theill, L.E., Deerinck, T., Ellisman, M. and Karin, M. 1988. The pituitary-specific transcription factor *GHF-1* is a homeobox-containing protein. *Cell*, 55: 505-518
- Dekkers, J.C. 2004. Commercial application of marker and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of animal science*. 82(suppl_13): E313-E328.

- Desvaux, S., Vu, D.T., Phan, D.T. and Pham, T.T.H. 2008. A general review and a description of the poultry production in Vietnam. Hanoi: Agricultural Publishing House
- Ghelghachi, A.A., Seyedabadi, H. R. and Lak, A. 2013. Association of growth hormone gene polymorphism with growth and fatness traits in Arian broilers. *International Journal of Biosciences*, 3(12), pp. 216-220. DOI:10.12692/ijb/3.12.216-220
- Hanh, P.T.H., Burgos, S. and Roland, H.D. 2007. The poultry sector in Vietnam: prospects for smallholder producers in the aftermath of the HPAI crisis. Pro-Poor Livestock Policy Initiative (PPLPI) [research Report]. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations
- Jiang, R., Li, J., Qu, L., Li, H. and Yang, N. 2004. A new single nucleotide polymorphism in the chicken pituitary-specific transcription factor (POU1F1) gene associated with growth rate. *Animal Genetics*. 35(4), pp. 344-346
- Kansaku, N., Hiyama, G., Sasanami, T., and Zadworny, D. 2008. Prolactin and growth hormone in birds: protein structure, gene structure and genetic variation. *The journal of poultry science*, 45(1), pp. 1-6.
- Kazemi, H., Rezaei, M., Hafezian, H., Mianji, G. R. and Najafi, M. 2018. Genetic analysis of SNPs in GH, GHR, IGF-I and IGFBP II genes and their association with some productive and reproductive traits in native breeder hens. *Gene Technol*, 7(1): 145. DOI:10.4172/2329-6682.1000145
- Khoa, D.V.A., Khang, N.T.K., Ngu, N.T., Matey, J., Loan, H.T.P. and Thuy, N.T.D. 2013. Single nucleotide polymorphisms in GH, GHR, GHSR and insulin candidate genes in chicken breeds of Vietnam. *Greener Journal of Agricultural Science*, 3(10), pp. 16-24
- Kulibaba, R.A. and Tereshchenko. 2015. Polymorphism of growth hormone, growth hormone receptor, prolactin and prolactin receptor genes in connection with egg production in Poltava clay chicken. *Sci. 62*, pp. 1584-1595
- Lan Phuong, T.N., Dong Xuan, K.D.T. and Szalay, I. 2015. Traditions and local use of native Vietnamese chicken breeds in sustainable rural farming. *World's Poultry Science Journal*, 71(2), pp. 385-396. DOI:10.1017/s0043933915000380
- Manjula, P., Choi, N., Seo, D. and Lee, J.H. 2018. POU class 1 homeobox 1 gene polymorphisms associated with growth traits in Korean native chicken. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 31(5): 643. DOI:10.5713/ajas.17.0354
- Mehdi, A. and Reza, F.A. 2012. Single nucleotide polymorphisms in intron 1 of growth hormone gene and its association with economic important traits in Iranian Fars native fowl. *Annals of biological research*, 3(8), pp. 4028-4032
- Nie, Q., Sun, B., Zhang, D., Luo, C., Ishag, N. A., Lei, M., Yang, G. and Zhang, X. 2005. High diversity of the chicken growth hormone gene and effects on growth and carcass traits. *Journal of heredity* 96, no. 6 (2005), pp. 698-703. DOI: 10.1051/gse:2005005
- Nie, Q., Fang, M., Xie, L., Zhou, M., Liang, Z., Luo, Z., ... and Zhang, X. 2008. The PIT1 gene polymorphisms were associated with chicken growth traits. *BMC genetics*, 9: 1-5. DOI:10.1186/1471-2156-9-20
- Thinh, Nguyen Hoang, Hoang Anh Tuan, Nguyen Thi Vinh, Bui Huu Doan, Nguyen Thi Phuong Giang, Farnir Frederic, Moula Nassim, Nguyen Viet Linh and Pham Kim Dang. 2020. Association of single nucleotide polymorphisms in the insulin and growth hormone gene with growth traits of Mia Chicken. *Indian Journal of Animal Research* 54, no. 6: 661-666. DOI: 10.18805/ijar.B-955
- Thu Huong, D.T., Binh, N.T.T., Do Duc, Luc, Huu, D.B., Nhung, D.T., Xuan, C.N., Viet, L.N., Thai, A.N., Quang, M.L., Pham, D.K. and Nguyen, H.T. 2020. Indigenous Lien Minh chicken of Vietnam: Phenotypic characteristics and single nucleotide polymorphisms of GH, IGFBP and PIT candidate genes related to growth traits. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(11). DOI:10.13057/biodiv/d211140
- Thu, N.T.A., Hung, L.T., Lan, L.T.T., Phong, N.H., Loc, H.T., Anh, L.H. and Ngu, N.T. 2021. The Association between POU1F1 Gene Polymorphisms and Growth as well as Carcass Traits of Noi Native Chickens. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 11(1), pp. 36-40

Vasilatos-Younken, R., Y. Zhou, Xiaochuan Wang, J. P. McMurtry, R. W. Rosebrough, Eddy Decuypere, Nadine Buys, V. M. Darras, Serge Van der Geyten, and F. Tomas. 2000. Altered chicken thyroid hormone metabolism with chronic GH enhancement in vivo: consequences for skeletal muscle growth. *Journal of Endocrinology* 166, no. 3, pp. 609-620.

ABSTRACT

Genetic polymorphism of GH gene, POU1F1 gene in some Vietnamese native chicken breeds

Growth hormone gene (GH) and pituitary transcription factor gene (POU1F1) are potential candidate genes associated with growth traits in chickens. The objective of this study was to identify single nucleotide polymorphism (SNP) in intron 1 of the GH gene and exon 6 of the POU1F1 gene by the PCR-RFLP method. A total of 600 individuals from 6 native Vietnamese native chicken breeds including Ri vang rom (RVR), Mong (MHN), H'Mong (HM), Dong Tao (DT), Lac Thuy (LT), and Tien Yen (TY) chicken breeds were collected to analyse the genetic polymorphism. At GH/*MspI* locus (G662A), three genotypes AA, AG and GG were obtained, in which the GG genotype was found to be associated with the growth traits in chicken that were detected in 5 chicken breeds and was absent in RVR breed. The low-frequency distribution of the GG genotype was obtained in HM (0.01), LT (0.04), DT (0.11), TY (0.13), and MHN (0.14). At POU1F1/*BspHI* locus (T11041C), the results obtained three genotypes: CC, CT and TT. At the POU1F1/*BspHI* polymorphism, three genotypes: CC, CT and TT were detected. The CC and TT genotypes were significantly associated with certain growth stages of chickens that were found in all 6 breeds. In particular, the CC genotype had the equivalent frequency in RVR, MHN, and DT breeds (0.31), and higher in LT (0.7), HM (0.44), and TY (0.45) breeds. The TT genotype distribution was the highest in RVR (0.22), then DT (0.19), as similar in HM and TY (0.6), LT (0.14), and lowest in MHN (0.12). DNA sequencing identified nucleotide polymorphisms: one nucleotide substitution (G/A) at position 662 in the intron 1 of GH gene, and one nucleotide substitution (T/C) at position 11041 of the POU1F1 gene that the results were entirely consistent our PCR-RFLP method. These findings are basic background for further research to elucidate the relationship between the desired genotype and growth traits in order to select the high yielding native chicken breeds based on marker-assisted selection.

Keywords: *Native chicken breeds, GH gene, POU1F1 gene, PCR-RFLP*

Ngày nhận bài: 04/12/2023

Ngày phản biện đánh giá: 15/12/2023

Ngày chấp nhận đăng: 28/12/2023

Người phản biện: PGS.TS. Hoàng Văn Thịnh