

# ĐA DẠNG DI TRUYỀN MỘT SỐ GIỐNG LỢN NỘI VIỆT NAM VÀ CHÂU ÂU DỰA TRÊN CHỈ THỊ MICROSATELLITE

Nguyễn Thị Diệu Thúy

*Viện Công nghệ Sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

H Geldermann

*Trường Đại học Hohenheim, Stuttgart, Germany.*

## 1. Đặt vấn đề

Theo bản tóm tắt của FAO, 55% số lượng lợn trên thế giới thuộc về vùng châu Á Thái Bình Dương và chiếm đến 37% các giống được thống kê (Scherf, 2000). Nhiều nghiên cứu về đa dạng di truyền đã được tiến hành trên các giống lợn châu Âu (Laval et al., 2000, Lemus-Flores et al., 2001), Trung Quốc (Li et al., 2000; Fan et al., 2002, Yang et al., 2003), Hàn Quốc (Kim et al., 2002), và dự án nghiên cứu lớn đang được tiến hành để đánh giá mức độ đa dạng di truyền của 50 giống lợn Trung Quốc, so sánh với 59 giống lợn châu Âu (Blott et al., 2003). Cho đến nay, các nghiên cứu về đa dạng sinh học các giống lợn Việt Nam sử dụng các phương pháp sinh học phân tử còn rất hạn chế.

Chỉ thị di truyền (genetic marker) là phương tiện tiện lợi để đánh giá mức độ đa hình di truyền trong và giữa các giống. Chỉ thị MS, do bản chất đa hình cao, tập trung và phân bố trên toàn bộ hệ gen và dễ dàng xác định kiểu gen (genotyping), được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu về đặc trưng loài, đa dạng di truyền quần thể của động vật. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng 10 MS để đánh giá mức độ đa hình và quan hệ di truyền giữa các giống lợn: 5 giống lợn nội Việt Nam được thu thập ở các vùng địa lý khác nhau, 2 giống lợn ngoại nhập vào Việt Nam, 3 giống lợn thương mại châu Âu và giống lợn nội châu Âu.

## 2. Nguyên liệu và phương pháp

Máu và tinh trùng từ 317 con lợn thuộc 11 giống lợn được thu từ các vùng khác nhau và được tổng kết ở bảng 1.

**Bảng 1:** Các thông tin về mẫu

Giống	Vùng lấy mẫu	Loại mẫu	Số lượng		
			Đực	Cái	Tổng số
Cổ	Con Cuông, Nghệ An	Máu	13	18	31
Mèo	Quy Châu, Nghệ An	Máu	15	17	32

Móng Cái	Hải Phòng	Máu	11	21	32
Mường Khương	Mường Khương, Lào Cai	Máu	5	27	32
Tạp Ná	Thông Nông, Cao Bằng	Máu	12	13	25
Landrace (Việt Nam)	Hà Nội	Máu	5	12	17
Yorkshire (Việt Nam)	Hà Nội	Máu	2	20	22
Landrace (Đức)	Baden-Württemberg, Đức	Máu/Tinh trùng	6	26	32
Large White (Đức)	Baden-Württemberg, Đức	Máu/Tinh trùng	8	22	30
Pietrain (Đức)	Baden-Württemberg, Đức	Máu/Tinh trùng	4	28	32
European Wild Boar	Các vùng khác nhau của Đức	Máu	19	13	32
<i>Tổng số</i>			<i>100</i>	<i>217</i>	<i>317</i>

Để phân tích theo nhóm di truyền, 11 giống lợn được chia làm 3 nhóm dựa trên cách thu mẫu: nhóm lợn nội Việt Nam (VB) bao gồm Cỏ, Mẹo, Mường Khương và Tạp Ná (lợn Móng Cái không được xếp vào nhóm này vì Móng Cái được thu từ trại giống, trong khi đó các giống lợn nội khác được thu ngẫu nhiên từ các hộ gia đình); nhóm lợn ngoại nhập vào Việt Nam (XB) bao gồm Landrace và Yorkshire; nhóm lợn ngoại châu Âu (EB) gồm có Landrace, Yorkshire và Pietrain của Đức.

ADN bộ gen được tách chiết từ máu và tinh trùng theo Ausubel và cộng sự (1995).

Trình tự mỗi của 10 MS và điều kiện phản ứng PCR được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2 :** Trình tự mỗi và điều kiện phản ứng PCR của 10 MS

Locus	MgCl <sub>2</sub> [mM] <sup>1)</sup>	T <sub>A</sub> [°C] <sup>2)</sup>	Mỗi xuôi	Mỗi ngược
SWR345	3,0	60	AACAGCTCCGATTCAACCC	TACTCAGCCTTAAAAGGAAGGG
SW489	3,0	55	CAAGTGTGAAATTTGTGCGG	CGAAGTGCTAACTATAAGCAGCA
IFNG	2,1	58	ATTAGACCCCTAGCCTGGGA	GTTGGTCCTGTTCTCCAATAGG
SW2019	1,9	60	ATGATGCGAACCTGGAACTC	TATGTGTAACCTGGTCCCATGC
TNFB	2,1	60	CTGGTCAGCCACCAAGATTT	GGAAATGAGAAGTGTGGAGACC
SW1083	3,0	50	CCTTGCTGGCCTCCTAAC	CATACTCCAAAATTTCTATGTTGA
SW2410	3,0	56	ATTTGCCCCCAAGGTATTTTC	CAGGGTGTGGAGGGTAGAAG
SW957	3,0	54	AGGAAGTGAGCTCAGAAAGTGC	ATGGACAAGCTTGGTTTTCC
S0215	2,5	58	TAGGCTCAGACCCTGCTGCAT	TGGGAGGCTGAAGGATTGGGT
SW2427	3,0	60	GCATGTTATTGAGTTGATGTGTAGG	TCGGAATTCCAGAAAATTGG

<sup>1)</sup>: Nồng độ MgCl<sub>2</sub>; <sup>2)</sup>: Nhiệt độ bám

- Phản ứng PCR được tiến hành trên máy chu trình nhiệt PTC-200 (MJ-Research, Watertown, USA) với chu trình nhiệt bao gồm các bước: 92°C - 2 phút 15 giây, 54-60°C-40 giây; 72°C - 45 giây; 92°C -15 giây; 54-60°C - 40 giây; 72°C- 45 giây; lặp lại 32 chu kỳ từ bước 4 đến bước 6; 92°C - 15 giây; 54-60°C - 40 giây; 72°C - 5 phút, giữ ở 10°C.

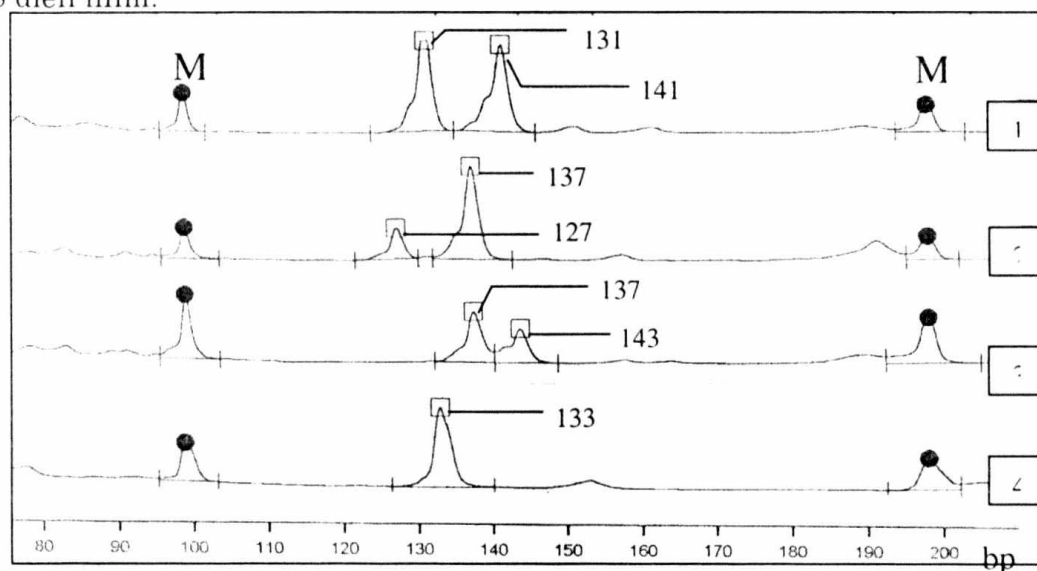
- Phân tích độ dài MS được tiến hành trên máy đọc trình tự huỳnh quang laser tự động (Automated Laser Fluorescent DNA-Sequencer, Pharmacia, Freiburg) sử dụng điện di biến tính trên Hydrolink gel 5% với hệ đệm 0,6x TBE. Điện di được tiến hành trong 150 phút ở 1500 V, 50°C. Độ dài allele được xác định dựa trên chỉ thị độ dài trong và ngoài (internal and external length marker).

- Phân tích số liệu: số lượng allele hiệu quả (Effective Number of Alleles: ENA) được tính toán theo Kimura và Crow (1964), hàm lượng thông tin đa hình (Polymorphism Information Content: PIC) theo Botstein (1980), chương trình phần mềm BIOSYS-2 (Sherf 2000) được sử dụng để xác định độ dị hợp tử (Heterozygosity), độ lệch so với cân bằng Hardy-Weinberg, giá trị F theo Wright (1978) và khoảng cách di truyền chuẩn theo Nei's (1972). Khoảng cách di truyền chuẩn được sử dụng để xây dựng cây phả hệ (phylogenetic tree) bằng phương pháp UPGMA (Unweighted Pair Group Measure using Arithmetic Averages), giá trị bootstrap với 1000 lần lấy mẫu (resampling) được tính toán theo BOOTDIST routine.

### 3. Kết quả thảo luận

#### 3.1. Mức độ đa hình của MS và của các nhóm lợn

Phân tích kiểu allele (gen) của toàn bộ 317 mẫu với 10 MS đều cho kết quả tin cậy. Các hiệu ứng ảnh hưởng đến kết quả kiểu gen như hiệu ứng trượt (slipped effect), hiệu ứng cấu hình (conformation effect), khuếch đại trội (preferred amplification), khuếch đại vai (shoulder amplification) trong toàn bộ nghiên cứu này dễ dàng được nhận ra, vì thế không ảnh hưởng kết quả phân tích. Hình 1 là kết quả phân tích kiểu gen trên điện di Hydrolink của 1 MS điển hình.



Hình 1: Kết quả phân tích kiểu gen của locus SW2019

M: Chỉ thị độ dài (length marker)

Kết quả về các thông số đánh giá mức độ đa hình được trình bày ở bảng 3. Theo kết quả bảng 3, số lượng allele của từng locus tính trên toàn bộ quần thể là dao động từ locus *IFNG* có số lượng allele thấp nhất (9) đến số lượng allele cao nhất là 18 ở locus *TNFB*. Số lượng allele trung bình tính trên toàn bộ quần thể đạt 14,4. Ở hầu hết các locus, số lượng allele phát hiện được ở nhóm lợn nội Việt Nam đều cao hơn ở 2 nhóm lợn còn lại. Chỉ có nhóm lợn nội Việt Nam mang tất cả các allele phát hiện được ở 4 locus (*SW489*, *SW1083*, *SW2410* và *SW957*).

**Bảng 3:** Đa dạng di truyền theo locus và theo nhóm lợn

Các thông số		Nhóm			
		VB	XB	EB	Tổng số allele
Locus	<i>SWR345</i>	8	8	8	11
	<i>SW489</i>	14	3	5	14
	<i>IFNG</i>	6	4	5	9
	<i>SW2019</i>	8	8	7	10
	<i>TNFB</i>	14	9	13	18
	<i>SW1083</i>	17	3	3	17
	<i>SW2410</i>	17	5	5	17
	<i>SW957</i>	17	6	6	17
	<i>S0215</i>	15	1	4	16
	<i>SW2427</i>	12	7	8	15
Số lượng allele trung bình		12,8	5,4	6,4	14,4
ENA		6,17	2,77	3,31	
PIC		0,78	0,50	0,55	
$H_o$		0,69	0,51	0,53	
$H_e$		0,80	0,54	0,58	
NLE		7,00	9,00	8,00	
$F_{IS}$		0,089	0,022	0,005	
$F_{ST}$		0,050	0,028	0,097	
% locus đa hình		100	90	100	

VB: Nhóm lợn Việt Nam; XB: Nhóm lợn ngoại nhập vào Việt nam; EB: Nhóm lợn ngoại châu Âu; ENA: Số lượng allele hiệu quả (Effected number of alleles), PIC: Giá trị mang thông tin đa hình (Polymorphism Information Content);  $H_o$ : Độ dị hợp tử theo thực tế (Observed heterozygosity);  $H_e$ : Độ dị hợp tử theo lý thuyết (expected heterozygosity); NLE: Số lượng locus thuộc cân bằng Hardy-Weinberg.  $F_{IS}$ : hệ số di truyền nội loài (inbreeding coefficient) ;  $F_{ST}$ : Khác biệt di truyền giữa các giống (genetic differentiation).

Tất cả các MS sử dụng đều đa hình (trừ locus *S0215* đơn hình ở 2 giống lợn ngoại nhập). Số lượng allele trung bình tính trên toàn bộ 10 MS của nhóm lợn nội Việt Nam (12,8) cao gấp 2 lần so với nhóm lợn châu Âu (6,4) và hơn 2 lần so với nhóm lợn ngoại nhập (5,4). Số lượng allele trung bình của các giống lợn châu Âu chúng tôi thu được ở nghiên cứu này cũng tương ứng với kết quả về số allele trung bình của giống lợn Mexico (6,8) và lợn thương

mại (6,7) theo phân tích của Lemus-Flores và cộng sự (2001). Theo Fan và cộng sự (2002), số lượng allele trung bình của giống lợn nội Trung Quốc thu mẫu tại các trang trại là thấp hơn (3,7-5,8). Điều này phù hợp với kết quả phân tích giống lợn Móng Cái trong nghiên cứu này, số allele trung bình của giống lợn Móng Cái (5,7) thấp hơn hẳn so với giống lợn nội khác. Kết quả này có thể được giải thích là: giống lợn Móng Cái được thu ở trại giống, nơi có sự can thiệp của chương trình chọn giống theo những tính trạng mong muốn (khả năng sinh sản, tăng trọng) vì thế mức độ đa dạng sẽ thấp hơn các giống nội được thu mẫu ngẫu nhiên từ các hộ gia đình.

Giá trị PIC đánh giá mức độ mang thông tin của chỉ thị. Nếu số lượng allele của một locus càng lớn (tức là khoảng phân bố của tần số xuất hiện các allele càng rộng) thì mức độ mang thông tin của chỉ thị càng cao. Cũng như vậy, nếu so sánh 2 quần thể, quần thể nào có tần số xuất hiện các allele càng đều nhau thì giá trị ENA ở quần thể đó càng cao, và như vậy mức độ đa hình của quần thể đó cũng cao hơn. Giá trị ENA và PIC của bộ 10 MS ở các giống lợn nội Việt Nam cũng cao hơn hẳn so với giống lợn Châu Âu và lợn ngoại nhập. Kết quả thu được này cũng phù hợp với kết quả của Li và cộng sự (2000): các giống lợn nội Trung Quốc có số lượng allele trung bình, giá trị ENA, PIC cao hơn hẳn so với giống lợn Úc. Các kết quả trên phần nào cho thấy mức độ đa dạng di truyền cao hơn của nhóm lợn nội.

Theo bảng 3, độ dị hợp tử theo phân tích ở cả 3 nhóm đều thấp hơn so với độ dị hợp tử theo tính toán lý thuyết. Tuy nhiên, sự khác biệt đó là nhỏ đối với nhóm lợn nhập ngoại và lợn Châu Âu, và ở giống lợn nội Việt Nam sự khác biệt đó tương đối lớn và thể hiện ở số lượng locus tuân theo quy luật Hardy-Weinberg là thấp nhất (7). Điều này có thể là kết quả của sự giao phối cận huyết xảy ra ở nhóm lợn này. Quy luật Hardy-Weinberg thể hiện mức đồng nhất, ngẫu nhiên, độc lập và quan trọng nhất là sự phù hợp giữa tần suất thực tiễn thu được từ thực nghiệm so với tần suất lý thuyết tính được từ các quy luật sinh học. Kết quả trên cũng ủng hộ giả thuyết rằng sự suy giảm độ dị hợp tử có thể là kết quả của tính đồng dạng kích cỡ allele mà không phát hiện được bằng phân tích độ dài đoạn ADN trên điện di (Makova et al., 2000). Một ví dụ minh họa cho điều này thể hiện ở kết quả đọc trình tự allele của locus *SW489* (không trình bày ở đây). Allele có tần số xuất hiện cao 158bp của giống lợn Wild Boar mặc dù có cùng kích thước nhưng lại có số lượng đơn vị lặp lại (di repeat unit) là 16 cao hơn 1 đơn vị lặp lại. Đây là kết quả của việc xóa đi 2 bp ở vùng sườn 5'. Nếu so sánh giữa 3 nhóm, độ dị hợp tử của giống lợn Việt Nam cao hơn 2 nhóm còn lại. Điều này gợi ý rằng biến đổi di truyền ở nhóm lợn nội Việt Nam phong phú hơn 2 nhóm lợn còn lại.

Giá trị  $F_{IS}$  đánh giá mức độ dị hợp tử và dao động từ -1 đến +1. Giá trị  $F_{IS}$  dương tính thể hiện sự suy giảm dị hợp tử (nội phối - inbreeding) và giá trị âm thể hiện dị hợp tử tăng (ngoại phối - outbreeding). Hệ số nội loài  $F_{IS}$  của giống lợn nội Việt Nam cao nhất (0,089), và

thấp nhất là giống lợn châu Âu (-0,005). Giống lợn nội Việt Nam có mức độ nội phối cao do vẫn còn chăn nuôi ở dạng tự do, quá trình phối giống hầu như là tự nhiên, chưa có sự can thiệp của con người. Ngược lại, giá trị  $F_{IS}$  âm của giống lợn châu Âu thể hiện tình trạng ngoại phối, xu hướng tăng của độ dị hợp tử. Giá trị  $F_{ST}$  ở cả 3 nhóm thu được nằm trong khoảng 0,05-0,15 thể hiện mức độ khác biệt di truyền tương đối giữa các giống. Điều thú vị là giống lợn châu Âu có giá trị  $F_{ST}$  cao nhất, tức là khác biệt di truyền giữa các giống là tương đối rõ. Đây dường như là kết quả của quá trình chọn lọc giống trong đó ảnh hưởng của xu thế di truyền (genetic drift) và dịch chuyển gen (gene flow) là nhỏ, còn ảnh hưởng của các yếu tố khác lên quỹ gen như đột biến và chọn lọc là lớn hơn. Kết quả thu được về giá trị  $F$  trên phù hợp với thực tế: giống lợn nội Việt Nam do thiếu chọn lọc nên sự khác nhau giữa các cá thể là lớn nhưng sự khác biệt giữa các giống lại nhỏ, ngược lại giống lợn châu Âu do có quá trình chọn lọc giống theo những tính trạng nhất định nên sự khác biệt giữa các cá thể là nhỏ và giữa các giống lại có sự phân biệt rõ ràng.

### 3.2. Khoảng cách di truyền và cây phả hệ

Khoảng cách di truyền tính theo Nei's (1972) giữa các giống lợn được xác định dựa trên tần số xuất hiện các allele, số lượng locus và số lượng allele ở mỗi locus. Khoảng cách di truyền là nhỏ nhất giữa các cặp giống lợn LV và YV (0,06), CO và ME (0,10), LV và PI (0,07), và lớn nhất là giữa WB và MC (1,98) và giữa WB và TN hay MK (1,89). Khi so sánh giữa các nhóm thì khoảng cách di truyền nhỏ nhất là giữa 2 nhóm lợn có nguồn gốc ngoại (XB và EB), khoảng cách di truyền lớn nhất (1,96 và 1,52) phát hiện thấy giữa lợn WB và VB hay MC.

**Bảng 4:** Ma trận khoảng cách di truyền chuẩn theo Nei (1972) giữa các giống

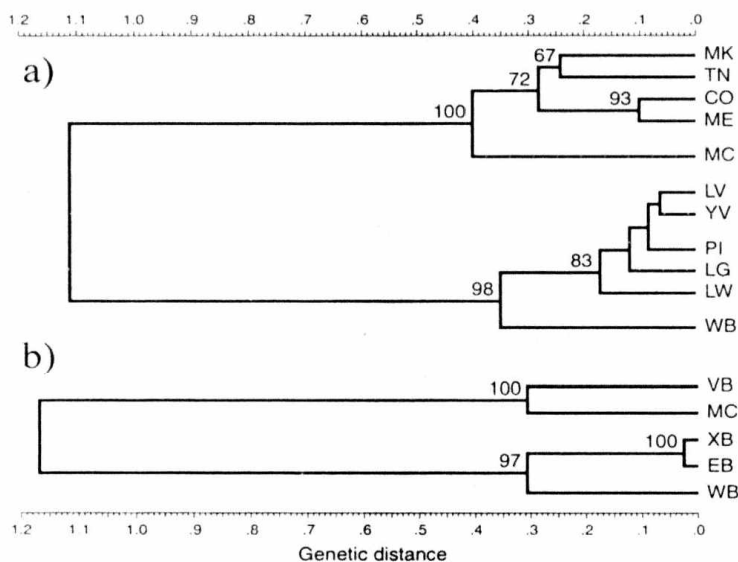
Giống	Khoảng cách di truyền										
	CO	ME	MK	TN	MC	LV	YV	LG	PI	LW	WB
CO	xxx										
ME	0,10	xxx									
MK	0,28	0,30	xxx								
TN	0,27	0,27	0,24	xxx							
MC	0,36	0,28	0,53	0,44	xxx						
LV	0,94	0,62	0,96	0,92	0,88	xxx					
YV	1,06	0,70	1,18	1,21	1,10	0,06	xxx				
LG	1,20	0,84	1,41	1,37	1,08	0,11	0,11	xxx			
PI	0,95	0,63	1,03	0,95	0,80	0,07	0,11	0,14	xxx		
LW	1,02	0,70	1,20	1,01	1,03	0,14	0,11	0,25	0,18	xxx	
WB	1,58	1,25	1,89	1,89	<b>1,97</b>	0,36	0,30	0,30	0,45	0,35	xxx

**Bảng 5:** Ma trận khoảng cách di truyền chuẩn theo Nei (1972) giữa các nhóm

Nhóm	Khoảng cách di truyền				
	VB	MC	XB	EB	WB
VB	xxx				
MC	0,31	xxx			
XB	0,81	0,96	xxx		
EB	0,85	0,90	0,03	xxx	
WB	1,52	1,96	0,32	0,30	xxx

CO: Cỏ; ME: Mẹo; MK: Mường Khương; TN: Táp Ná; MC: Móng Cái; LV: Landrace (VietNam); YV: Yorkshire (VietNam); LG: Landrace (Đức); PI: Pietrain (Đức); LW: Large White (Đức); WB: Wild Boar; VB: nhóm lợn nội Việt Nam; XB: nhóm lợn ngoại nhập vào Việt Nam; EB: nhóm lợn ngoại châu Âu.

Sử dụng khoảng cách di truyền chuẩn (standard genetic distance) theo Nei's (1972) và phương pháp UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages), cây phả hệ cho 11 giống lợn và các nhóm di truyền đã được xây dựng và có dạng hình học (topology tree) biểu hiện ở hình 2. Nguyên lý của phương pháp là khoảng cách di truyền giữa các nhóm được so sánh theo cặp, các nhóm có khoảng cách di truyền nhỏ nhất lần lượt được nhóm lại (cluster). Chỉ những giá trị bootstrap (đánh giá mức độ tin cậy của phân tích) lớn hơn 60% được trình bày. Kết quả hình 2 cho thấy 11 giống lợn nghiên cứu phân thành 2 nhánh, một nhánh bao gồm các giống lợn nội Việt Nam và nhánh kia là các giống lợn Châu Âu và lợn ngoại nhập. Các giống lợn nội Việt Nam có mức độ đồng hợp tử kém hơn so với các giống lợn ngoại vì thế tất cả chúng có giá trị bootstrap tương đối cao (>67%).



**Hình 2:** Cây phả hệ các giống lợn nghiên cứu

a) Cây phả hệ các giống lợn

b) Cây phả hệ các nhóm lợn

CO: Cỏ; ME: Mẹo; MK: Mường Khương; TN: Táp Ná; MC: Móng Cái; LV: Landrace (VietNam); YV: Yorkshire (VietNam); LG: Landrace (Đức); PI: Pietrain (Đức); LW: Large White (Đức); WB: Wild Boar; VB: nhóm lợn nội Việt Nam (CO, ME, MK, TN); XB: nhóm lợn ngoại nhập vào Việt Nam (LV, YV); EB: nhóm lợn ngoại Châu Âu (LG, PI, LW)

Kết quả trên phản ánh sự khác biệt về phân bố địa lý. Ví dụ như giống lợn CO và ME có nguồn gốc từ vùng địa lý cách xa nhau khoảng 200km thuộc tỉnh Nghệ An, vì thế có quan hệ gần gũi với nhau, giống lợn MK và TN cũng nhóm vào một nhánh do cùng có nguồn gốc từ 2 tỉnh tương đối gần nhau ở phía Bắc của Việt Nam là Lào Cai và Cao Bằng. Giống lợn Móng Cái thu mẫu ở Trại giống Hải Phòng, vì thế nằm trên 1 nhánh nhỏ tách biệt với các giống lợn nội khác. Sơ đồ phả hệ giữa các nhóm lợn với giá trị bootstrap cao (97% trở lên) thể hiện rõ ràng sự phân hóa di truyền giữa các giống nội Việt Nam và giống lợn ngoại. Điều này cho thấy kết quả phân tích quan hệ di truyền giữa các giống lợn nội Việt Nam và giữa các nhóm lợn sử dụng 10 MS này đạt độ tin cậy cao. Giá trị bootstrap của các giống lợn ngoại và Châu Âu thấp hơn 60% vì thế cây phân loại dạng hình học được thiết lập sẽ chưa hoàn toàn chính xác. Do BOOTDIST sử dụng 1000 lần lấy mẫu thử khoảng cách di truyền đặc hiệu locus nên có thể xem đó là kết quả của số lượng hạn chế các marker (10 MS). Để có kết quả chính xác đối với các giống lợn ngoại này, theo chúng tôi cần bổ sung thêm số lượng MS. Nghiên cứu này giúp chúng ta hiểu hơn về sự phân biệt tương đối của đa dạng di truyền nguồn gen lợn và điều này sẽ góp phần hỗ trợ trong việc hoạch định các kế hoạch quốc gia cho bảo tồn và sử dụng các giống lợn nội Việt Nam.

#### 4. Kết luận

Các kết quả phân tích đa hình độ dài 10 MS cho thấy các giống lợn nội Việt Nam (CO, ME, MK, MC và TN) có mức độ đa hình cao hơn hẳn so với giống lợn ngoại nhập vào Việt Nam (LV và YV) và các giống lợn Châu Âu (LG, LW, PI và WB) thể hiện ở số lượng allele, khoảng phân bố allele, độ dị hợp tử, điều này thể hiện các giống lợn nội Việt Nam có nguồn gen phong phú.

Các giống lợn nội Việt Nam có hệ số nội loài cao hơn các giống lợn ngoại do thiếu sự quản lý giống, ngược lại sự khác biệt di truyền giữa các giống lợn ngoại cao hơn hẳn do mỗi giống có chương trình chọn lọc giống theo các tính trạng kinh tế nhất định.

Cây phả hệ bộc lộ 2 nhánh phân biệt có liên quan đến sự khác biệt về mặt địa lý: các giống lợn nội Việt Nam nhóm lại thành 1 nhánh và nhánh kia là các giống lợn nhập ngoại và các giống lợn châu Âu.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ausubel, FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K. *Shrort Protocols in Molecular Biology*. Third Edition, 1995, JohnWiley & Sons, Inc, pp2-7.
2. Bennett P. Demystified ... microsatellites. *Mol. Pathol.* 53(2000), pp177-183.
3. Botstein D., White R.L., Skolnick M., and Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32 (1980), pp 314-331.



4. Blott S., Andersson L., Groenen M.A., SanCristoba M., Chevalet C., Cardellino R., Li H., Li K., Plastow G., and Haley C. Characterization of genetic variation in the pig breeds of China and Europe - The PIGBIODIV2 Project. *Arch. Zootec.* 52 (2003), pp 207-213.
5. Fan B., Wang ZG., Li YJ., Zhao XL., Liu B., Zhao SH., Yu M., Li MH., Chan SL, Xiong TA., and Li K. Genetic variation analysis within and among Chinese indigenous swine populations using microsatellite markers. *Anim. Genet.* 33(2002), pp 422-427.
6. Kim KS. Yeo JS., Kim JW. Assessment of genetic diversity of Korean native pig (*Sus scrofa*) using AFLP markers. *Genes. Genet. Syst.* 77(2002), pp 361-368.
7. Kimura M. and Crow J.F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49(1964), pp 725-738.
8. Laval G., Iannuccelli N, Legault L, Milan D., Groenen M.A., Giuffra E., Andersson L., Nissen P.H., Jorgensen C.B., Beeckmann P., Geldermann H., Foulley J.-L., Chevalet C. and Ollivier L. Genetic diversity of eleven European pig breeds. *Genet. Sel. Evol.* 32(2000), pp 187-203.
9. Lemus-Flores, C., Ulloa-Arvizu R., Ramos-Kuri M., Estrada FJ., and Alonso RA. Genetic analysis of mexica hairless pig populations. *J. Anim. Sci.* 79(2001), pp 3021-3026.
10. Li K., Chen Y., Moran C, Fan B., Zhao S., and Peng Z., Analysis of diversity and genetic relationships between four Chinese indigenous pig breeds and one Australian commercial pig breed. *Anim. Genet.* 31(2000), pp 322-325.
11. Makova. KD. Nekrutenko A., and Baker RJ. Evolution of microsatellite alleles in four species of mice (genus *Apodemus*). *J. Mol. Evol.* 51(2000), pp 166-172.
12. Nei M. Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106(1972), pp 283-292
13. Scherf B.D. *World watch list for domestic animal diversity*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, 2000.
14. Schlötterer C. The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations. *EXS* 69(1994), pp 203-214.
15. Swofford DL and Selander RB. *BIOSYS-2, Version 1.7* (1989), modified by Black, 1997.
16. Yang SL., Wang ZG, Liu B., Zhang GX., Zhao SH., Yu M., Fan B., Li MH., Xiong TA., Li K. Genetic variation and relationships of eighteen Chinese indigenous pig breeds. *Genet. Sel. Evol.* 35(2003), pp 657-671.
17. Wright S. The genetic structure of populations. *Ann. Eugen.* 15(1951), pp 323-354.

**Lời cảm ơn:** Tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ của Quỹ Nghiên cứu Đức (DFG, Ge 291/21-1 và Ge 291/21-3) và Bộ Nghiên cứu và Nghệ Thuật Liên bang (BMBF, VN01/0091), xin cảm ơn sự ủng hộ và giúp đỡ quý báu của các bạn đồng nghiệp tại Bộ môn Chọn Giống động vật và Công nghệ Sinh học, trường ĐH Hohenheim, Stuttgart, xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của TS Nguyễn Văn Đức, Viện Chăn nuôi Quốc gia và các bạn đồng nghiệp Phòng Công nghệ Gen động vật, Viện Công nghệ Sinh học trong quá trình thu mẫu tại các tỉnh miền núi Việt Nam.

## GENETIC DIERSITY OF VIETNAMESE AND EUROPEAN PIG BREEDS BASED ON MICROSATELLITE MARKERS

Nguyen Thi Dieu Thuy

*Institute of Biotechnology, Vietnamese Academy of Science and Technology*

H Geldermann

*University of Hohenheim, Stuttgart (D-70599), Germany*

Indigenous resources of the Asian pig population are less defined and only rarely compared with European breeds. In this study, five indigenous pig breeds from Vietnam (Co, Meo, Muong Khuong, Mong Cai, Tap Na), two exotic breeds kept in Vietnam (Large White, Landrace), three European commercial breeds (Pietrain, Landrace, Large White) and European Wild Boar were chosen for evaluation of genetic diversity. Samples and data from 317 animals were collected and ten polymorphic microsatellite loci were selected according to FAO recommendation and our laboratory experience. Effective Number of Alleles, Polymorphism Information Content, within-breed diversity, heterozygosities and test for Hardy-Weinberg equilibrium were determined. Genetic distances between breeds as well as genetic group were estimated according to Nei (1972) and used for the construction of UPGMA dendrograms which were evaluated by bootstrapping. Heterozygosity was higher in indigenous Vietnamese breeds than in the other breeds. According to phylogenetic tree, the Vietnamese indigenous pig breeds which clustered in one branch, showed higher genetic diversity than the European breeds and all genetic distances had a strong bootstrap values (>67%). The European commercial breeds and European Wild Boar were in close relation and clustered in other branch. They displayed the lower bootstrap values compared to that of Vietnamese indigenous breeds. This study is the first contributions to a genetic characterization of autochthonous Vietnamese breeds and it clearly demonstrates that these breeds harbour a rich reservoir of genetic diversity. It helps us to better understand the relative distinctiveness of pig genetic resources, and will assist in developing a national plan for conservation and utilization of Vietnamese indigenous pig breeds.

**Keywords:** genetic diversity, polymorphism, microsatellite, Vietnamese indigenous pigs, European pigs, phylogenetic tree.