

ĐA HÌNH GEN HORMONE SINH TRƯỞNG, THỤ THỂ HORMONE SINH TRƯỞNG VÀ MỐI LIÊN KẾT VỚI KHỐI LƯỢNG CƠ THỂ CỦA GÀ LIÊN MINH

Đỗ Thị Thu Hường¹, Nguyễn Thái Anh²,
Nguyễn Thị Vinh², Đỗ Đức Lực², Bùi Hữu Đoàn², Nguyễn Hoàng Thịnh^{2*}

¹Khoa Chăn nuôi thú y, Đại học Nông - Lâm Bắc Giang

²Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: nhthinh@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 29.03.2023

Ngày chấp nhận đăng: 29.06.2023

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện để xác định đa hình và mối liên kết giữa đa hình của gen hormone sinh trưởng (GH), thụ thể hormone sinh trưởng (GHR) với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh. Tổng số 835 cá thể (329 trống, 506 mái) được theo dõi khối lượng từ lúc mới nở đến 20TT. ADN hệ gen được tách chiết từ máu và phân tích đa hình nucleotide đơn bằng phương pháp PCR-RFLP. Kết quả phân tích cho thấy đa hình G662A/GH xuất hiện ba kiểu gen AA, AG và GG, tần số alen A và G lần lượt là 0,91 và 0,09. Đa hình G1705A/GH có ba kiểu gen AA, AG và GG, tần số alen A là 0,18 và alen G là 0,82. Đa hình C571T/GHR có ba kiểu gen là CC, CT và TT, tần số alen C và T tương ứng là 0,74 và 0,26. Gà mang kiểu gen GG của đa hình G662A/GH có khối lượng cao hơn so với gà mang kiểu gen AA trong giai đoạn từ 11TT đến 20TT ($P < 0,05$). Đối với đa hình G1705A/GH, gà mang kiểu gen AA có khối lượng lớn hơn so với gà mang kiểu gen AG trong giai đoạn từ 12TT đến 17TT ($P < 0,05$), lớn hơn gà mang kiểu gen GG trong giai đoạn từ 8TT đến 20TT ($P < 0,05$). Trong nghiên cứu này không tìm thấy mối liên kết giữa đa hình C571T/GHR với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh ($P > 0,05$).

Từ khóa: Gà Liên Minh, khối lượng cơ thể, gen GH, gen GHR.

Polymorphisms of Growth Hormone, Growth Hormone Receptor Genes and Their Association with Body Weight of Lien Minh Chicken

ABSTRACT

This study was carried out to determine the polymorphism of growth hormone (GH), growth hormone receptor (GHR) genes and the association of the polymorphisms with body weight in Lien Minh chicken. Total 835 birds (329 males, 506 females) with body weight from 1 day old to 20 weeks of age were observed. Genomic DNA was extracted from blood and analyzed for single nucleotide polymorphisms (SNPs) by PCR-RFLP. For G662A/GH, three genotypes, AA, AG and GG were found with the frequency of allele A was 0.91 and allele G was 0.09; for G1705A/GH, also 3 genotypes: AA, AG and GG with allele A frequency of 0.18 and allele G of 0.82 were identified; for C571T/GHR polymorphism, 3 genotypes: CC, CT and TT with frequency of allele C was 0.74 and allele T was 0.26. Chickens with the GG genotype of G662A/GH polymorphism had a significantly higher body weight than the individuals with the AA genotypes from 11 to 20 weeks of age ($P < 0.05$). For the G1705A/GH polymorphism, chickens with AA genotype had a significantly higher weight than chickens with AG genotype from 12 to 17 weeks of age ($P < 0.05$), and significantly higher than chickens with GG genotype from 8 to 20 weeks of age ($P < 0.05$). No association between C571T/GHR polymorphism with body weight trait in Lien Minh chickens ($P > 0.05$) was detected in this study.

Keywords: Lien Minh chicken, body weight, GH gene, GHR gene.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hormone sinh trưởng (Growth Hormone - GH) và thụ thể của nó (Growth Hormone

Receptor - GHR) nằm trên trục sinh trưởng (somatotrophic axis) có vai trò quan trọng trong sự phát triển của cơ thể (Al-Khatib & Al-Hassani, 2016). Ở gà, gen GH nằm ở phần

cuối trên cánh dài của nhiễm sắc thể số 1, có chiều dài 4,1kb gồm 5 exon và 4 intron và có kích thước gen lớn hơn kích thước của gen động vật có vú (Kansaku & cs., 2008; Tanaka & cs., 1992). Nhiều nghiên cứu đã cho thấy gen GH là một trong những gen chính ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng, tốc độ trao đổi chất ở gà. Nie & cs. (2005) đã tìm thấy 46 SNPs của gen GH trên 4 giống gà Leghorn, WRR, Taihe Silkies, X và con lai F₂ (WRR và X). Trong đó đa hình G1705A có ảnh hưởng tới khối lượng từ 14 đến 84 ngày tuổi, chiều dài cẳng chân từ 49 đến 84 ngày tuổi và lượng thức ăn thu nhận trung bình từ 1 ngày tuổi đến 4TT. Nghiên cứu của Mu'in & Lumatauw (2013) cho thấy đa hình intron 4 có liên kết đến khối lượng cơ thể tại 4 tháng tuổi và mức tăng khối lượng trung bình hàng ngày từ 2 đến 4 tháng tuổi của gà bản địa Indonesia. Hai đa hình G662A và C762A ở intron 1 cũng liên kết đến khối lượng cơ thể tại 1 ngày tuổi, 8, 12TT và tuổi thành thực sinh dục của gà bản địa Iran (Fars) (Mehdi & Reza, 2012). Thụ thể hormone tăng trưởng (GHR) là một thành viên thuộc siêu họ thụ thể cytokine, nằm trên nhiễm sắc thể Z, có chiều dài 4,0kb, bao gồm 10 exon và 9 intron. Gen GHR là một trong các gen ứng cử viên cho các tính trạng sinh sản và khối lượng cơ thể. Đa hình G565A/GHR có ảnh hưởng đáng kể đến các thành phần thân thịt, bao gồm khối lượng cơ thể, khối lượng thân thịt, khối lượng thịt ức và khối lượng thịt đùi (Khaerunnisa & cs., 2017). Đa hình gen GHR/Hind III có liên kết đến khối lượng cơ thể lúc 140 ngày tuổi và tổng số trứng từ lúc bắt đầu đẻ đến 273 ngày đẻ (Feng & cs., 1997).

Gà Liên Minh là một giống gà bản địa nổi tiếng của nước ta, có xuất xứ ở thôn Liên Minh, xã Trân Châu, huyện Cát Hải, thành phố Hải Phòng. Theo Doan & cs. (2015), gà Liên Minh được nuôi chủ yếu theo hình thức chăn thả quy mô nhỏ trong nông hộ với số lượng ít và năng suất thấp.

Ở Việt Nam trong một số năm gần đây, đa hình gen GH và mối liên kết giữa gen này với tính trạng tăng khối lượng trên một số giống gà bản địa đã được nghiên cứu. Ở giống gà Tàu Vàng đa hình G662A gen GH có tỷ lệ hai kiểu gen AA và AG là tương đương nhau (0,44 và 0,45), trong khi tỷ lệ kiểu gen GG chỉ đạt 0,11, nhưng ở gà Nòi thì lại tìm thấy xu hướng ngược lại, tỷ lệ các kiểu gen này tương ứng là 0,24; 0,42 và 0,34 (Khoa & cs., 2013). Ở gà Mía, các cá thể có kiểu gen GG có khối lượng cao hơn rõ rệt so với các cá thể có kiểu gen AA và AG từ 7TT đến 16TT (P <0,05) (Thinh & cs., 2019); khi nghiên cứu đa hình G1705A gen GH đã tìm thấy ba kiểu gen trong quần thể là AA, AG và GG với tần số tương ứng là 0,014; 0,139 và 0,847; tần số hai alen A và G là 0,08 và 0,92. (Nguyễn Trọng Tuyển & cs., 2017). Trên giống gà Liên Minh, tác giả Trần Thị Bình Nguyễn (2020) đã nghiên cứu đa hình hai gen GH, GHR và sự liên kết đến tính trạng sản xuất trứng. Kết quả cho thấy đa hình C571T/GHRi5 trên đàn gà Liên Minh sinh sản, kiểu gen CC xuất hiện với tần số cao (0,82), còn kiểu gen TT thấp hơn (0,18). Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định đa hình và đánh giá mối liên kết giữa đa hình của gen GH, GHR với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh, từ đó làm cơ sở khoa học để chọn lọc gà Liên Minh có tốc độ sinh trưởng nhanh.

Bảng 1. Giá trị dinh dưỡng trong khẩu phần nuôi gà thí nghiệm

Thành phần dinh dưỡng	Giai đoạn (tuần tuổi)		
	0-4	5-8	9-20
Năng lượng (Kcal/kg)	2.900	2.850	2.700
Protein thô (%)	21,0	19,0	15,5
Can xi (%)	1,0	0,95	0,9
Phốt pho (%)	0,5	0,45	0,45
Lyzine (%)	1,1	1,0	0,75
Methionine (%)	0,54	0,45	0,35
NaCl (%)	0,15	0,15	0,15

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Tổng số 835 cá thể (329 trống, 506 mái) được sử dụng để đánh giá mối liên kết giữa một số đa hình gen với khối lượng cơ thể gà từ mới nở đến 20 tuần tuổi (TT). Gà được chăm sóc theo quy trình chăn nuôi gà lông màu của Trung tâm nghiên cứu gia cầm Thụy Phương, Viện Chăn nuôi (Trung tâm nghiên cứu gia cầm Thụy Phương, 2022). Giá trị dinh dưỡng của khẩu phần ăn cho gà nuôi thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định một số đa hình của gen GH và GHR

Thu thập mẫu: Mẫu máu được lấy từ tĩnh mạch cánh của gà ở giai đoạn 8TT và đựng trong ống có chứa chất chống đông EDTA-K. Các cá thể được lấy mẫu đảm bảo để không có quan hệ huyết thống. Mẫu được bảo quản ở 4°C và chuyển về phòng thí nghiệm Bộ môn Di truyền giống vật nuôi, Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam để bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho đến khi phân tích.

Tách chiết ADN: ADN được tách chiết theo phương pháp của Albariño & Romanowski (1994) có cải tiến để phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. ADN tổng số được đánh giá chất lượng và định lượng bằng máy đo quang phổ Nano Drop One C, USA ở bước sóng 260nm và 280nm. ADN sau đó được pha loãng ở nồng độ ADN trong mỗi microlit là 50ng và được bảo quản ở -20°C.

Nhân đoạn ADN: Các gen GH, GHR được khuếch đại bằng các cặp mồi đặc hiệu (Bảng 2). Phản ứng PCR (thể tích 25 μ l) gồm ADN genome 50ng; 0,5 μ M mồi mỗi loại; 0,2mM dNTPs; 2,0 đơn vị Taq polymerase và dung dịch đệm. Chương trình nhân đoạn gen GH/G662A: 94°C trong vòng 4 phút, 94°C trong 45 giây, 60°C trong 45 giây, 72°C trong 2 phút lặp lại 35 chu kỳ, bước extension ở 72°C trong 10 phút. Chương trình nhân đoạn gen GH/G1705A: 95°C trong vòng 3 phút, 95°C trong 30 giây, 62°C trong 45

giây, 72°C trong 45 giây lặp lại 35 chu kỳ, bước extension ở 72°C trong 5 phút. Chương trình nhân đoạn gen GHR/C571T: 95°C trong vòng 2 phút, 95°C trong vòng 20 giây, 60°C trong 30 giây, 72°C trong 60 giây lặp lại 35 chu kỳ, bước extension ở 72°C trong 7 phút. Kết quả khuếch đại gen được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1,5%.

Phân tích đa hình gen: Đa hình của các gen GH và GHR được xác định bằng kỹ thuật Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) với enzyme cắt đặc hiệu lần lượt cho từng gen (Bảng 2). Sản phẩm khuếch đại (8 μ l) được ủ với 5U enzyme giới hạn, dung dịch đệm và nước khử ion (tổng 20 μ l) trong thời gian 1-2 giờ ở 37°C. Kết quả cắt enzyme được đọc bằng phương pháp điện di trên gel agarose 2,5%.

2.2.2. Xác định mối liên kết giữa một số đa hình gen GH và GHR với khối lượng cơ thể gà

Khối lượng của từng cá thể từ mới nở đến 20TT được xác định bằng cách cân gà vào buổi sáng trước khi cho ăn khi gà đủ TT. Giai đoạn mới nở đến 4 TT, gà được cân bằng cân điện tử 3kg \pm 0,5g (FEH - Taiwan); các TT tiếp theo cân bằng cân đồng hồ 5kg \pm 1g (Nhơn Hòa, Việt Nam). Từ khối lượng gà thu được từng tuần và kiểu gen của chúng, xác định mối liên kết giữa kiểu gen và khối lượng cơ thể.

2.3. Xử lý số liệu

Tần số alen và kiểu gen được tính bằng phần mềm Excel 2013. Các tham số thống kê bao gồm: dung lượng mẫu, tần số quan sát, tần số ước tính lý thuyết. Phép thử khi bình phương (χ^2) được sử dụng nhằm kiểm định mức độ phù hợp của tần số kiểu gen, tần số alen quan sát so với lý thuyết theo định luật Hardy - Weinberg.

Mô hình tuyến tính tổng quát (GLM) được sử dụng để phân tích ảnh hưởng của đa hình gen GH và GHR, tính biệt đến chỉ tiêu khối lượng cơ thể (phân tích riêng cho từng đa hình gen) theo mô hình thống kê:

$$y_{ijk} = \mu + G_i + S_j + G_i \times S_j + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

Trong đó: Y_{ijk} : Chỉ tiêu khối lượng cơ thể; μ : Trung bình quần thể; G_i : Ảnh hưởng của kiểu gen (của từng đa hình gen); G662A/GH ($i = AA, AG, GG$); G1705A/GH ($i = AA, AG, GG$) hoặc C571T/GHR ($i = CC, CT, TT$); S_j : ảnh hưởng của giới tính ($j = trống, mái$), $G_i \times S_j$: ảnh hưởng tương tác giữa kiểu gen và tính biệt và e_{ijk} : Sai số ngẫu nhiên. Đối với đa hình GHR, mô hình thống kê (1) vẫn được sử dụng nhưng không có tương tác giữa đa hình và tính biệt.

Số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm SAS 9.0 (2002). Các tham số bao gồm: dung lượng mẫu (n), trung bình bình phương nhỏ nhất (LSM) và sai số tiêu chuẩn (SE). So sánh các giá trị LSM theo cặp bằng phép thử Tukey. Sai khác có ý nghĩa thống kê khi $P < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tần số kiểu gen và alen của đa hình gen GH và GHR ở gà Liên Minh

Tần số các kiểu gen và alen của đa hình gen GH và GHR ở gà Liên Minh được thể hiện trong hình 1 và bảng 3.

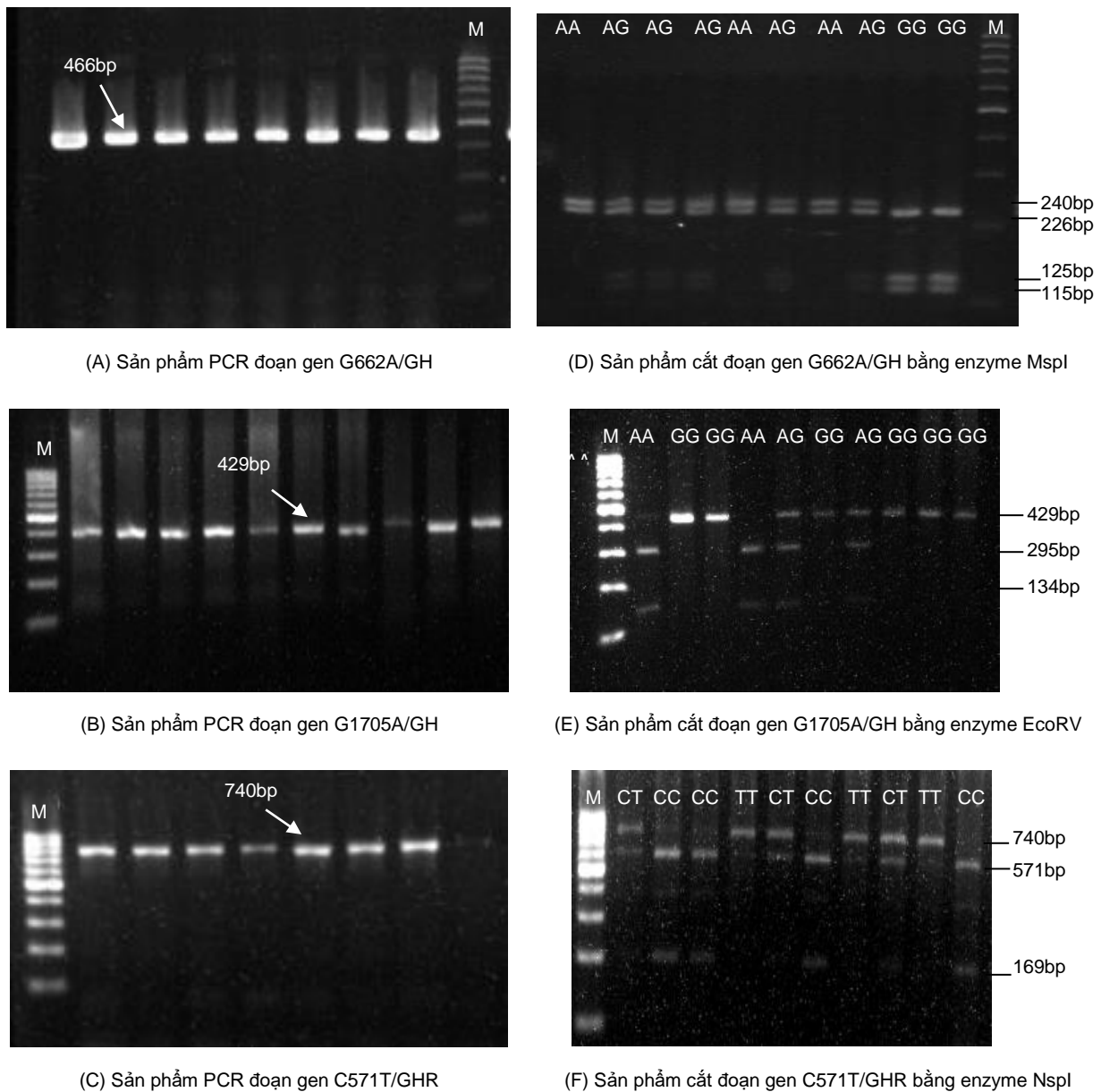
Đa hình G662A của gen GH: Đoạn ADN có chứa đa hình G662A/GH đã được nhân lên với một băng ADN có kích thước tương ứng với lý thuyết là 466bp (Hình 1A) và đã xác định được ba kiểu gen của đa hình này (Hình 1D) trong quần thể gà Liên Minh nghiên cứu. Kiểu gen AA là kiểu gen có tần số cao nhất (0,87), kiểu gen AG và GG có tần số rất thấp, đạt tương ứng 0,08 và 0,05. Tần số alen A xuất hiện với tần số cao là 0,91, trong khi đó alen G xuất hiện với tần số thấp là 0,09. Kết quả về tần số kiểu gen và alen trong nghiên cứu này tương tự so với kết

quả của Thịnh & cs. (2019) và Khoa & cs. (2013). Thịnh & cs. (2019) nghiên cứu trên giống gà Mía, đa hình G662A/GH xuất hiện ba kiểu gen AA, AG và GG với tần số tương ứng là 0,54; 0,39 và 0,07; Tần số các alen A và G tương ứng là 0,74 và 0,26. Trong nghiên cứu của Khoa & cs. (2013), tỷ lệ hai kiểu gen AA và AG ở giống gà Tàu Vàng là tương đương nhau (0,44 và 0,45), tỷ lệ kiểu gen GG chỉ đạt 0,11; Tương tự với giống gà Cobb, tỷ lệ các kiểu gen AA, AG và GG tương ứng là 0,56; 0,31 và 0,13; Tuy nhiên xu hướng ngược lại được tìm thấy ở giống gà Nòi, tỷ lệ các kiểu gen này tương ứng là 0,24; 0,42 và 0,34.

Đa hình G1705A của gen GH: Đoạn ADN đặc hiệu có chứa đa hình G1705A/GH với kích thước 429bp đã được nhân lên thành công (Hình 1B), đã xác định được ba kiểu gen (Hình 1E) trong quần thể gà nghiên cứu, kiểu gen GG có tần số cao nhất (0,73), sau đó là AG (0,17), trong khi đó kiểu gen AA có tần số rất thấp (0,1). Alen G xuất hiện với tần số cao (0,82), còn alen A chỉ chiếm 0,18 (Bảng 3). Kết quả này cũng phù hợp với công bố của Nguyễn Trọng Tuyển & cs. (2017) khi nghiên cứu đa hình G1705A/GH đã tìm thấy ba kiểu gen là AA, AG và GG với tần số tương ứng là 0,014; 0,139 và 0,847; tần số hai alen A và G là 0,08 và 0,92 ở gà Móng. Al-Khatib & Al-Hassani (2016) cũng cho biết tần số ba kiểu gen AA, AG và GG tương ứng thuộc đa hình G1705A/GH trên giống gà Cobb 500 là 7,06%; 45,88%; 47,06%; tần số alen A và G lần lượt là 0,3 và 0,7; trên giống gà Hubbard F15 tương ứng là 2,11%; 36,84% và 61,05%; 0,21 và 0,79. Các kết quả này đều phù hợp với công bố trước đó của Lei & cs. (2007) khi cho biết tần số alen G của đa hình GH/G1705A là 0,67.

Bảng 2. Thông tin các môi được sử dụng trong nghiên cứu

Gen	Đa hình	Môi xuôi (F) và môi ngược (R) (5'-3')	Nhiệt độ gắn môi (°C)	Kích thước (bp)	Enzyme cắt giới hạn	Nguồn tham khảo
GH	G662A	F: AACATCCTCCCAACCTTTC R: CCCTGTCAAGGTTAGGCTCA	60	466	<i>MspI</i>	Nie & cs. (2005)
	G1705A	F: TCCAGGCTGCGTTTTGTTACTC R: ACGGGGGTGAGCCAGGACTG	62	429	<i>EcoRV</i>	Nie & cs. (2005)
GHR	C571T	F: ACGAAAAGTGTTCAGTGTGGA R: TTTATCCCGTGTCTCTTGACA	60	740	<i>NspI</i>	Li & cs. (2008)



Ghi chú: M: thang chuẩn AND 100bp.

Hình 1. Sản phẩm PCR và ủ cắt gen GH và GHR

Đa hình C571T của gen GHR: Đa hình C571T đã được nhân lên thành công với đoạn ADN có kích thước 740bp đặc trưng (Hình 1C). Các kiểu gen được xác định sau khi cắt sản phẩm PCR bởi enzyme giới hạn *NspI*, trong quần thể gà nghiên cứu cũng đã tìm thấy 3 kiểu gen là TT (740bp), CT (740/571/169bp) và CC (571/169bp) ở con trống và hai kiểu gen đồng hợp là TT và CC ở con mái (Hình 1F). Kết quả cho thấy kiểu gen CC có tần số cao nhất (0,66),

CT và TT có tần số thấp hơn (0,17 đối với từng kiểu gen); tương ứng tần số alen C (0,74) cao hơn so với alen T (0,26). Kết quả nghiên cứu có xu hướng tương tự với kết quả của Trần Thị Bình Nguyên (2020), Li & cs. (2008) và Kazemi & cs. (2018). Trần Thị Bình Nguyên (2020) khi nghiên cứu đa hình C571T/GHRi5 trên đàn gà Liên Minh sinh sản, kiểu gen CC xuất hiện với tần số cao (0,82), còn kiểu gen TT thấp hơn nhiều (0,18). Li & cs. (2008) khi nghiên cứu đa

hình này cho biết tần số hai kiểu gen xuất hiện là B_2B_2 và B_1B_1 lần lượt là 0,80 và 0,20. Nghiên cứu trên gà mái bản địa của Mazandaran về đa hình gen này cho thấy hai kiểu gen đồng hợp tử là B^+B^+ và B^-B^- với tần số của alen B^+ và B^- tương ứng là 0,72 và 0,28 (Kazemi & cs., 2018).

Bảng 3 cho thấy tần số các kiểu gen và alen của hai đa hình gen GH và GHR không tuân theo định luật cân bằng HWE ($P < 0,01$). Điều đó có thể là do giống gà Liên Minh tồn tại trên một địa bàn tương đối hẹp, chỉ ở thôn Liên Minh trên đảo Cát Bà, với chỉ có gần 20 hộ dân; người nuôi gà trên đảo lại luôn chọn lọc định hướng theo chỉ tiêu ngoại hình đặc trưng ưa thích và ưu tiên vẫn là sử dụng gà theo hướng kiêm dụng, bên cạnh đó do chọn lọc theo kinh nghiệm và truyền thống trong thời gian dài nên gây ra sự cận huyết cao, đây cũng là những nguyên nhân làm cho tần số kiểu gen và alen của các đa hình trong quần thể không tuân theo định luật cân bằng HWE.

3.2. Mối liên kết giữa đa hình gen GH và GHR với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh

Mối liên kết giữa đa hình G662A và G1705A của gen GH, đa hình C571T của gen

GHR với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh được trình bày ở bảng 4, bảng 5 và bảng 6.

Đa hình G662A của gen GH:

Kết quả nghiên cứu thể hiện ở bảng 4 cho thấy có mối liên kết rõ rệt giữa đa hình G662A tới khối lượng cơ thể của gà Liên Minh giai đoạn từ 11 đến 20TT ($P < 0,05$). Gà Liên Minh mang kiểu gen GG có khối lượng cao hơn so với gà mang kiểu gen AA.

Xu hướng tương tự cũng được tìm thấy trong nghiên cứu của Thinh & cs. (2019) trên gà Mía, các cá thể có kiểu gen GG có khối lượng cao hơn rõ rệt so với các cá thể có kiểu gen AA và AG từ 7TT đến 16TT. Mehdi & Reza (2012) nghiên cứu trên gà bản địa của Iran cũng cho biết đa hình G662A ảnh hưởng đến khối lượng của gà lúc 1 và 8TT.

Đa hình G1705A của gen GH

Kết quả nghiên cứu thể hiện ở bảng 5 cho thấy đa hình G1705A có mối liên kết rõ rệt tới khối lượng cơ thể trong giai đoạn từ 8 đến 20TT ($P < 0,05$). Gà Liên Minh mang kiểu gen AA có khối lượng lớn hơn so với gà mang kiểu gen AG từ 12TT đến 17TT ($P < 0,05$), đồng thời lớn hơn gà mang kiểu gen GG từ 8TT đến 20TT ($P < 0,05$).

Bảng 3. Tần số phân bố kiểu gen và alen tại các đa hình gen GH và GHR

Gen	Chỉ tiêu	Kiểu gen			Alen		P (Hardy - Weinberg)
GH (G662A)		AA	AG	GG	A	G	<0,01
	n	729	68	38			
	Tần số quan sát	0,87	0,08	0,05	0,91	0,09	
	Tần số lý thuyết	0,83	0,16	0,01			
GH (G1705A)		AA	AG	GG	A	G	<0,01
	n	81	140	614			
	Tần số quan sát	0,1	0,17	0,73	0,18	0,82	
	Tần số lý thuyết	0,03	0,3	0,67			
GHR (C571T)		CC	CT	TT	C	T	<0,01
	n	548	140	147			
	Tần số quan sát	0,66	0,17	0,17	0,74	0,26	
	Tần số lý thuyết	0,55	0,38	0,07			

Ghi chú: HWE: Hardy Weinberg Equilibrium (Cân bằng Hardy - Weinberg); P: Xác suất sai khác về tần số kiểu gen của quần thể quan sát và tần số kiểu gen mong đợi; $P > 0,05$ thì tần số kiểu gen và alen của quần thể tuân theo định luật cân bằng Hardy - Weinberg.

Bảng 4. Mối liên kết đa hình G662A/GH với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh (g)

Tuần tuổi	Kiểu gen (LSM ± SE)		
	AA (n = 729)	AG (n = 68)	GG (n = 38)
Mới nở	32,50 ± 0,11	32,59 ± 0,38	31,90 ± 0,58
1	57,48 ± 0,28	57,18 ± 0,95	57,57 ± 1,46
2	99,45 ± 0,52	97,99 ± 1,81	101,16 ± 2,77
3	158,12 ± 0,86	158,47 ± 2,99	164,90 ± 4,59
4	235,06 ± 1,28	229,36 ± 4,39	239,34 ± 6,74
5	318,53 ± 1,70	311,04 ± 5,84	321,79 ± 8,96
6	409,24 ± 2,08	410,62 ± 7,15	417,30 ± 10,97
7	512,11 ± 2,63	511,64 ± 9,03	524,21 ± 13,86
8	624,27 ± 3,16	638,48 ± 10,87	645,20 ± 16,69
9	757,37 ± 4,29	788,10 ± 14,77	791,60 ± 22,68
10	908,22 ± 4,85	948,90 ± 16,69	965,25 ± 25,63
11	1049,06 ^b ± 5,24	1093,68 ^a ± 18,05	1120,43 ^a ± 27,70
12	1180,88 ^b ± 6,34	1217,06 ^{ab} ± 21,83	1286,00 ^a ± 33,51
13	1296,28 ^b ± 6,80	1340,89 ^{ab} ± 23,37	1411,15 ^a ± 35,88
14	1393,91 ^b ± 6,96	1436,80 ^{ab} ± 23,95	1517,90 ^a ± 36,77
15	1479,38 ^b ± 7,09	1528,94 ^{ab} ± 24,41	1605,98 ^a ± 37,47
16	1555,22 ^b ± 7,33	1600,88 ^{ab} ± 25,24	1684,36 ^a ± 38,74
17	1621,83 ^b ± 7,44	1665,85 ^{ab} ± 25,60	1758,51 ^a ± 39,30
18	1674,71 ^b ± 7,52	1725,17 ^{ab} ± 25,90	1822,60 ^a ± 39,76
19	1723,36 ^b ± 7,57	1775,19 ^{ab} ± 26,07	1867,93 ^a ± 40,03
20	1761,30 ^b ± 7,64	1815,97 ^{ab} ± 26,33	1906,57 ^a ± 40,42

Ghi chú: Các giá trị LSM có các chữ cái khác nhau trong cùng hàng thì sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Nie & cs. (2005) khi nghiên cứu trên các giống gà của Trung Quốc. Gà có kiểu gen AA có khối lượng lớn hơn so với gà có kiểu gen AG và GG từ 14 ngày tuổi đến 84 ngày tuổi ($P < 0,05$); chiều dài cẳng chân lúc 49, 56, 84 ngày tuổi và tăng khối lượng trung bình từ mới nở đến 4TT gà có kiểu gen AA cũng cao hơn rõ rệt so với gà có các kiểu gen còn lại ($P < 0,05$). Ở gà Móng Tiên Phong từ 01 ngày tuổi đến 20 TT, Nguyễn Trọng Tuyển (2017) cho biết không có sự sai khác về khối lượng giữa các nhóm gà có các kiểu gen GG, AA và AG. Tương tự Al-Khatib & Al-Hassani (2016) cũng cho biết các kiểu gen trong đa hình G1705A/GH không ảnh hưởng đến khối lượng cơ thể và tăng khối lượng trung bình của hai giống gà Coob 500 và Hubbard F15. Sự khác biệt về mối liên kết giữa các kiểu

gen của đa hình G1705A/GH với khối lượng cơ thể của gà trong nghiên cứu này với các nghiên cứu trên có thể là do các nghiên cứu tiến hành trên các giống gà khác nhau.

Đa hình C571T của gen GHR:

Kết quả ở bảng 6 cho thấy không có sự khác biệt về khối lượng giữa gà mang 3 kiểu gen CC, CT và TT ($P > 0,05$). Như vậy, không tìm thấy mối liên kết giữa đa hình này với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh. Nghiên cứu trên gen GHR ở các đa hình khác nhau của Seyyedbabayi & cs. (2014) và Ouyang & cs. (2008) cũng có xu hướng tương tự. Seyyedbabayi & cs. (2014) nghiên cứu đa hình gen GHR intron 2 trên gà bản địa của Azerbaijan cũng xác định được hai kiểu gen AA và BB, và không có mối liên kết giữa kiểu gen và khối lượng cơ thể sau 12TT.

Một nghiên cứu khác của Ouyang & cs. (2008) trên gà F₂ là con lai giữa 4 giống gà Leghorn layer, White Recessive Rock broiler, Taihe Silkies và Xinghua cho thấy hai đa hình C6542011T và C6540334T không ảnh hưởng đến khối lượng từ lúc mới nở đến 84 ngày tuổi ở cả con trống và con mái, chỉ có đa hình G6631778A ảnh hưởng đến khối lượng cơ thể gà ở một số thời điểm trên con trống.

4. KẾT LUẬN

- Ở gà Liên Minh, đa hình G662A/GH xác định được ba kiểu gen AA, AG, GG với tần số xuất hiện tương ứng: 0,87; 0,08 và 0,05; đa hình

G1705A/GH xác định được ba kiểu gen với tần số xuất hiện là: AA (0,1), AG (0,17) và GG (0,73); ở C571T/GH xác định được 3 kiểu gen là CC, CT và TT với tần số xuất hiện tương ứng là 0,66; 0,17 và 0,17.

- Gà Liên Minh mang kiểu gen GG thuộc đa hình G662A/GH có khối lượng cao hơn so với gà mang kiểu gen AA từ 11TT đến 20TT (P < 0,05). Đối với đa hình G1705A/GH, gà mang kiểu gen AA có khối lượng lớn hơn so với gà mang kiểu gen AG từ 12TT đến 17TT (P < 0,05), lớn hơn gà mang kiểu gen GG từ 8TT đến 20TT (P < 0,05). Không tìm thấy mối liên kết giữa đa hình C571T/GHR với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh.

Bảng 5. Mối liên kết đa hình G1705A/GH với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh (g)

Tuần tuổi	Kiểu gen (LSM ± SE)		
	AA (n = 81)	AG (n = 140)	GG (n = 614)
Mới nở	32,55 ± 0,33	32,79 ± 0,25	32,40 ± 0,12
1	58,15 ± 0,85	57,28 ± 0,63	57,38 ± 0,30
2	102,37 ± 1,61	97,90 ± 1,19	99,34 ± 0,57
3	162,50 ± 2,67	159,88 ± 1,97	157,61 ± 0,95
4	236,49 ± 3,93	237,27 ± 2,90	234,13 ± 1,40
5	318,90 ± 5,23	317,18 ± 3,86	318,14 ± 1,86
6	418,60 ± 6,38	411,03 ± 3,84	408,06 ± 2,28
7	524,81 ± 8,07	514,62 ± 5,96	510,47 ± 2,88
8	654,64 ^a ± 9,65	633,32 ^{ab} ± 7,13	620,19 ^b ± 3,44
9	796,50 ^a ± 13,13	781,93 ^a ± 9,70	751,80 ^b ± 4,68
10	961,12 ^a ± 14,84	934,21 ^a ± 10,96	901,96 ^b ± 5,29
11	1113,66 ^a ± 15,99	1081,16 ^a ± 11,81	1040,95 ^b ± 5,70
12	1277,11 ^a ± 19,23	1220,90 ^b ± 14,20	1167,29 ^c ± 6,86
13	1406,74 ^a ± 20,57	1337,00 ^b ± 15,19	1282,01 ^c ± 7,34
14	1502,88 ^a ± 21,13	1436,42 ^b ± 15,60	1379,85 ^c ± 7,53
15	1589,52 ^a ± 21,54	1524,74 ^b ± 15,91	1465,49 ^c ± 7,68
16	1668,45 ^a ± 22,26	1600,61 ^b ± 16,44	1540,79 ^c ± 7,94
17	1736,19 ^a ± 22,59	1670,12 ^b ± 16,68	1606,82 ^c ± 8,05
18	1787,79 ^a ± 22,90	1725,15 ^a ± 16,91	1660,55 ^b ± 8,17
19	1837,50 ^a ± 23,03	1775,82 ^a ± 17,01	1708,60 ^b ± 8,21
20	1875,63 ^a ± 23,24	1818,49 ^a ± 17,16	1745,89 ^b ± 8,29

Ghi chú: Các giá trị LSM có các chữ cái khác nhau trong cùng hàng thì sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P < 0,05).

Bảng 6. Mối liên kết đa hình C571T/GHR với khối lượng cơ thể của gà Liên Minh (g)

Tuần tuổi	Kiểu gen (LSM ± SE)		
	CC (n = 548)	CT (n = 140)	TT (n = 147)
Mới nở	32,47 ± 0,14	32,45 ± 0,28	32,55 ± 0,24
1	57,61 ± 0,35	56,95 ± 0,69	57,47 ± 0,61
2	99,19 ± 0,66	99,71 ± 1,32	99,65 ± 1,16
3	159,07 ± 1,10	157,42 ± 2,19	157,40 ± 1,92
4	235,11 ± 1,62	232,78 ± 3,21	236,63 ± 2,83
5	317,40 ± 2,15	318,46 ± 4,27	319,73 ± 3,76
6	410,03 ± 2,63	407,58 ± 5,22	409,89 ± 4,60
7	513,21 ± 3,33	513,49 ± 6,61	509,19 ± 5,82
8	631,15 ± 4,00	613,81 ± 7,94	621,56 ± 6,99
9	768,36 ± 5,45	742,64 ± 10,81	759,06 ± 9,51
10	917,89 ± 6,18	905,16 ± 12,26	906,66 ± 10,79
11	1060,06 ± 6,69	1042,85 ± 13,26	1051,50 ± 11,67
12	1191,14 ± 8,09	1173,03 ± 16,04	1189,18 ± 14,13
13	1306,94 ± 8,67	1291,25 ± 17,19	1305,27 ± 15,14
14	1404,08 ± 8,89	1378,59 ± 17,63	1407,86 ± 15,52
15	1489,43 ± 9,06	1473,17 ± 17,96	1497,69 ± 15,82
16	1565,21 ± 9,36	1548,26 ± 18,57	1574,24 ± 16,35
17	1630,92 ± 9,50	1617,70 ± 18,85	1641,77 ± 16,59
18	1684,91 ± 9,63	1672,22 ± 19,09	1693,68 ± 16,81
19	1733,45 ± 9,69	1720,72 ± 19,21	1742,92 ± 16,92
20	1772,00 ± 9,79	1757,94 ± 19,41	1781,70 ± 17,09

Kết quả này là một gợi ý có thể sử dụng các đa hình G662A và G1705A của gen GH làm gen ứng viên để chọn lọc gà Liên Minh theo định hướng tăng khối lượng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu khoa học và phát triển cấp Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn “Chọn tạo hai dòng gà Liên Minh có năng suất cao”. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Công ty Cổ phần Khai thác khoáng sản Thiên Thuận Tường Quảng Ninh đã giúp đỡ chúng tôi trong quá trình thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Al-Khatib B.G. & Al-Hassani D.H. (2016). Effect of G1705A SNP in growth hormone gene on the

productive and physiological performance in broiler chicken. *Iraqi Journal of Biotechnology*. 15(1).

Albariño C.G. & Romanowski V. (1994). Phenol extraction revisited: a rapid method for the isolation and preservation of human genomic DNA from whole blood. *Mol Cell Probes*. 8(5): 423-7.

Doan B.H., Dang P.K., Tuan H.A. & Thinh N.H. (2015). Lienminh Chicken Breed: Native Breed and Livelihood of People on District-Island Cat Hai of Hai Phong City, Vietnam. *International Seminar Improving tropical animal production for food security*. 73.

Feng X.P., Kuhnlein U., Aggrey S.E., Gavora J.S. & Zadworny D. (1997). Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor gene in a White Leghorn strain. *Poult Sci*. 76(12): 1770-5.

Khaerunnisa I., Jakaria I.I., Arief C., Budiman C. & Sumantri C. (2017). The Associations of GH and GHR Genes with Carcass Components in Indonesian Kampung and Broiler Chicken Cross. *Journal of Animal Science and Technology*. 40(2): 78-87.

- Kansaku N., Hiyama G., Sasanami T. & Zadworny D. (2008). Prolactin and Growth Hormone in Birds: Protein Structure, Gene Structure and Genetic Variation. *Journal of Poultry Science - J Poult Sci.* 45: 1-6.
- Kazemi H., Rezaei M., Hafezian H., Mianji G. & 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.
- Khoa D., Khang N., Ngu N.T., Matey J., Loan H.T.P. & 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): 716-724.
- Lei M., Luo C., Peng X., Fang M., Nie Q., Zhang D., Yang G. & Zhang X. (2007). Polymorphism of growth-correlated genes associated with fatness and muscle fiber traits in chickens. *Poult Sci.* 86(5): 835-42.
- Li H.F., Zhu W.Q., Chen K.W., Wu X., Tang Q.P. & Gao Y.S. (2008). Associations between GHR and IGF-1 gene polymorphisms, and reproductive traits in Wenchang chickens. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences.* 32(4): 281-285.
- Mehdi A. & 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): 4028-4032.
- Mu'in M.A. & Lumatauw S. (2013). Identification of MspI Polymorphism in the Forth Intron of Chicken Growth Hormone Gene and Their Associations with Growth Traits in Indonesia Native Chickens. *Animal Production.* 15(1).
- Nguyễn Trọng Tuyển (2017). Nghiên cứu các đặc điểm kiểu hình, kiểu gen phục vụ cho khai thác và phát triển nguồn gen giống gà Móng Tiên Phong. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. tr. 118-122.
- Nguyễn Trọng Tuyển, Phùng Đức Tiến, Ngô Thị Kim Cúc & Lưu Quang Minh (2017). đánh giá tính đa hình các kiểu gen cGH và cGHR trên giống gà Móng Tiên Phong. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam.* 13(2): 18-22.
- Nie Q., Sun B., Zhang D., Luo C., Ishag N. A., Lei M., Yang G. & Zhang X. (2005). High Diversity of the Chicken Growth Hormone Gene and Effects on Growth and Carcass Traits. *The Journal of heredity.* 96: 698-703.
- Ouyang J. H., Xie L., Nie Q., Luo C., Liang Y., Zeng H. & Zhang X. (2008). Single nucleotide polymorphism (SNP) at the GHR gene and its associations with chicken growth and fat deposition traits. *Br Poult Sci.* 49(2): 87-95.
- Seyyedbabayi M., Seyedabadi H., Gorbani A. & Zarghami N. (2014). Growth hormone receptor gene polymorphism and its associations with some growth traits in West-Azarbaijan native chicken. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.* 3: 140-143.
- Tanaka M., Hosokawa Y., Watahiki M. & Nakashima K. (1992). Structure of the chicken growth hormone-encoding gene and its promoter region. *Gene.* 112(2): 235-9.
- Thinh N., Tuan H., Vinh N., Doan B., Giang P., Frédéric F., Moula N., Nguyen V.L. & Dang P. (2019). Association of single nucleotide polymorphisms in the insulin and growth hormone gene with growth traits of Mia Chicken. *Indian Journal of Animal Research.* doi: 10.18805/ijar.B-955.
- Trần Thị Bình Nguyên (2020). Đánh giá nguồn gen và phân tích chỉ thị phân tử liên quan tính trạng năng suất trứng ở giống gà Liên Minh. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 177tr.
- Trung tâm nghiên cứu gia cầm Thụy Phương, Viện Chăn nuôi (2022). Quy trình chăn nuôi gà Mía, Đông Tảo, Chọi, Ri sinh sản. Quyết định Ban hành quy trình kỹ thuật chăn nuôi gia cầm, số 03/QĐ-GCTP-KHCNCG ngày 10/01/2022.