

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

HÀ VĂN LƯƠNG

**NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG SINH SẢN VÀ
MỐI TƯƠNG QUAN VỚI CÁC ĐA HÌNH GEN THỤ THỂ
PROLACTIN VÀ PROPERDINE CỦA LỢN NÁI LAI F1
(♂ RỪNG THÁI LAN X ♀ ĐỊA PHƯƠNG PÁC NẶM)**

Chuyên ngành: CHĂN NUÔI
Mã số: 60 62 40

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS TRẦN VĂN PHÙNG

THÁI NGUYÊN - 2011

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan rằng, số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận văn này là hoàn toàn mới và chưa hề được sử dụng để bảo vệ một học vị nào.

Mọi sự giúp đỡ cho việc hoàn thành luận văn đều đã được cảm ơn. Các thông tin, tài liệu trình bày trong luận văn này đã được chỉ rõ nguồn gốc.

Thái Nguyên, tháng 10 năm 2011

Tác giả luận văn

Hà Văn Lương

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận văn, trong quá trình thực hiện đề tài, tôi luôn nhận được sự quan tâm giúp đỡ của các cơ quan, các cấp lãnh đạo của trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban giám hiệu trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, Ban chủ nhiệm khoa Sau Đại học và các thầy, cô giáo trong khoa Chăn nuôi thú y, quan tâm tạo điều kiện giúp đỡ về mọi phương diện trong quá trình thực hiện luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới thầy hướng dẫn: PGS.TS. Trần Văn Phùng đã không quản thời gian tận tình giúp đỡ về phương hướng và phương pháp nghiên cứu cũng như hoàn thiện luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ nhiệt tình của các anh chị cán bộ khoa Sau Đại học, các cán bộ Viện Khoa Học Sự Sống - Đại học Thái Nguyên, các cán bộ phòng Công Nghệ gen động vật - Viện Công nghệ sinh học Việt Nam và các anh chị công nhân trại Chăn nuôi xã Tứ Tranh - huyện Phú Lương - Thái Nguyên đã tạo điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện luận văn.

Cuối cùng, tôi xin cảm ơn gia đình và bạn bè đã động viên và tạo điều kiện thuận lợi để tôi hoàn thành luận văn này.

Xin trân trọng cảm ơn tất cả sự giúp đỡ đó!

Thái Nguyên, tháng 10 năm 2011

Tác giả luận văn

Hà Văn Lương

MỤC LỤC

Trang phụ bìa	
Lời cam đoan.....	i
Lời cảm ơn	ii
Mục lục.....	iii
Các ký hiệu và chữ viết tắt.....	vi
Danh mục các bảng.....	vii
Danh mục các hình	viii
MỞ ĐẦU	1
1. Đặt vấn đề.....	1
2. Mục tiêu của đề tài	2
3. Ý nghĩa của đề tài.....	2
3.1. Ý nghĩa khoa học	2
3.2. Ý nghĩa thực tiễn.....	3
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Cơ sở khoa học về di truyền trong chăn nuôi lợn	4
1.1.1. Cơ sở khoa học của việc cho lai tạo giữa lợn đực rừng và lợn nái lai	4
1.1.2. Đặc điểm sinh lý sinh dục của lợn nái	5
1.1.2.1. Đặc điểm sinh lý của lợn nái hậu bị.....	5
1.1.2.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự phát dục của lợn cái.....	6
1.1.3. Khả năng sinh sản của lợn nái và các yếu tố ảnh hưởng.....	7
1.1.4. Đặc điểm và khả năng sản xuất của lợn địa phương Pác Nặm.....	9
1.2. Cơ sở khoa học và lý luận về di truyền	11
1.2.1. Cấu trúc của nucleic acid - DNA	11
1.2.2. Tổng hợp DNA in vitro	12
1.2.3. Gen và những quan niệm về gen	13
1.2.4. Các chỉ thị di truyền	14
1.2.5. Một số phương pháp sử dụng trong nghiên cứu gen lợn và ứng dụng.....	15
1.2.6. Ứng dụng của các chỉ thị di truyền đến tính trạng số lượng ở lợn	17

1.3. Cơ sở lý luận về phương pháp nghiên cứu.....	18
1.3.1. Phương pháp tách DNA.....	18
1.3.2. Phương pháp nhân đoạn DNA đặc hiệu	18
1.3.2.1. Phản ứng PCR cho phép nhân các đoạn DNA định trước	18
1.3.2.2. Cách tiến hành phản ứng PCR chuỗi trùng hợp.....	19
1.3.3. Enzym giới hạn.....	20
1.3.4. Phương pháp RFLP.....	20
1.3.5. Điện di trên gel agarose	21
1.4. Các gene liên quan đến tính trạng sinh sản của lợn	22
1.4.1. Gen thụ thể prolactin	22
1.4.2. Gen Properdine	24
1.4.3. Các gen sinh sản khác	25
1.5. Tình hình nghiên cứu gen lợn trong và ngoài nước	26
1.5.1. Nghiên cứu gen lợn ở nước ngoài	26
1.5.2. Nghiên cứu gen lợn ở Việt Nam.....	27
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	31
2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu	31
2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu	31
2.2.1. Thời gian nghiên cứu.....	31
2.2.2. Địa điểm nghiên cứu.....	31
2.3. Nội dung nghiên cứu	31
2.4. Phương pháp nghiên cứu.....	31
2.4.1. Phương pháp nghiên cứu khả năng sinh sản của lợn nái rưng lại	31
2.4.2. Phương pháp nghiên cứu đa hình gen PRLR và gen Properdine	33
2.4.2.1. Hóa chất và thiết bị	33
2.4.2.2. Phương pháp tách chiết DNA	34
2.4.2.3. Phương pháp quang phổ kế để xác định hàm lượng DNA	36
2.4.2.4. Phản ứng chuỗi trùng hợp - PCR	36

2.5. Phương pháp theo dõi các chỉ tiêu	38
2.5.1. Phương pháp theo dõi các chỉ tiêu về khả năng sinh sản	38
2.5.2. Phương pháp theo dõi các chỉ tiêu về đa hình gene	40
2.6. Xử lý số liệu	41
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	43
3.1. Kết quả nghiên cứu về khả năng sinh sản của lợn nái lai F1	43
3.1.1. Đặc điểm sinh lý sinh dục của lợn nái lai	43
3.1.2. Khả năng sinh sản của lợn nái lai F1	44
3.1.3. Sinh trưởng tích lũy của lợn con.....	46
3.1.4. Sinh trưởng tương đối và sinh trưởng tuyệt đối	47
3.1.5. Tiêu tốn thức ăn/kg lợn con giống.....	49
3.1.6. Chi phí thức ăn/ kg lợn con giống	50
3.2. Kết quả phân tích đa hình gen PRLR và gen Properdine.....	51
3.2.1. Kết quả tách DNA	51
3.2.2. Kết quả nhân đoạn gen PRLR và Properdine	52
3.2.3. Phân tích đa hình gen PRLR bằng enzym giới hạn Alu I.....	54
3.2.4. Phân tích đa hình gen Properdine bằng enzyme giới hạn SmaI	58
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	63
1. Kết luận	63
2. Tồn tại.....	63
3. Đề nghị	64
TÀI LIỆU THAM KHẢO	65
PHỤ LỤC.....	71

CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu, chữ	Tên tiếng Anh	Tên tiếng Việt
bp	Base paire	Cặp Bazơ
DNA	Deoxyribonucleic acid	Axit Deoxyribonucleic
dNTP	Deoxynucleoside triphosphate	Deoxynucleosit triphosphát
EDTA	Ethylene diamine tetracetic acid	Axit êthylen điamin têtραπεetic
EtBt	Ethidium bromid	Ethidium brômít
PRLR	Prolactin receptor	Thụ thể Prolactin
kb	Kilobase	Kilô bazơ
μg	Microgram	Micrô gram
μl	Microlitre	Micrô lít
TBE	Tris boric acid - EDTA	Đệm TBE
TE	Tris - EDTA	Đệm TE
RNase	Ribonuclease	Ribônucleaza
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism	Đa hình độ dài các đoạn cắt giới hạn
RADP	Random Amplified polymorphic DNA	Đa hình DNA được khuếch đại ngẫu nhiên
QTL	Quantitative trait loci	Vị trí tính trạng số lượng
PCR	Polymerase chain reaction	Phản ứng chuỗi Polymerase
MS	Microsatellite	DNA vệ tinh
OD	Optical density	Mật độ quang học
AFLP	Amplified Fragment length Polymorphism	Đa hình chiều dài các đoạn DNA được khuếch đại

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Vị trí cắt của enzyme giới hạn ALuI và SmaI	21
Bảng 1.2. Các gen khác liên quan đến tính trạng sinh sản của lợn.....	25
Bảng 2.1. Danh mục các hoá chất sử dụng trong phân tích gene	33
Bảng 2.2. Các trang thiết bị và dụng cụ thí nghiệm.....	33
Bảng 2.3. Các thành phần phản ứng PCR để nhân đoạn gen.....	36
Bảng 2.4. Các chu trình nhiệt trong phản ứng PCR sử dụng cặp mồi Leptin và PIT1	37
Bảng 2.5. Sản phẩm PCR của gen PRLR và Properdine được xử lý bởi các enzyme giới hạn ALuI và SmaI.....	38
Bảng 3.1. Chỉ tiêu sinh lý sinh dục của lợn nái lai F1	43
Bảng 3.2. Chỉ tiêu về khả năng sinh sản của lợn nái lai	45
Bảng 3.3. Khối lượng lợn con qua các kỳ cân	46
Bảng 3.4. Sinh trưởng tuyệt đối của lợn con qua các kỳ cân.....	47
Hình 3.2. Biểu đồ sinh trưởng tuyệt đối của lợn con qua các thời kỳ cân	48
Bảng 3.5. Sinh trưởng tương đối của lợn con qua các kỳ cân	49
Bảng 3.6. Tiêu tốn thức ăn/kg lợn con giống.....	50
Bảng 3.7. Chi phí thức ăn/ kg lợn con giống	50
Bảng 3.8. Tỷ số OD _{260nm} /OD _{280nm} và nồng độ của DNA.....	52
Bảng 3.9. Tần số kiểu gen và tần số alen của đoạn gen PRLR.....	55
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của PRLR đến số lượng lợn con sinh ra còn sống/lứa	57
Bảng 3.11. Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen của gene Properdine.....	59
Bảng 3.12. Ảnh hưởng của Properdine đến số lượng lợn con sinh ra còn sống/lứa.....	61

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 3.1. Đồ thị sinh trưởng tích lũy của lợn con theo mẹ qua các thời kỳ cân.....	47
Hình 3.2. Biểu đồ sinh trưởng tuyệt đối của lợn con qua các thời kỳ cân.....	48
Hình 3.3. Điện di sản phẩm PCR được nhân lên từ cặp mồi PRLR	53
Hình 3.4. Điện di sản phẩm PCR được nhân lên từ cặp mồi Properdine.....	53
Hình 3.5. Gen PRLR được cắt bởi enzyme giới hạn ALuI.....	55
Hình 3.6. Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen của gen PRLR	56
Hình 3.7 Gen Properdin được cắt bởi enzyme giới hạn SmaI	58
Hình 3.8. Tỷ lệ kiểu gen và tần số alen của gen Properdine.....	60

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Ở Việt Nam cũng như nhiều nước trên thế giới, lợn là giống vật nuôi lâu đời và có ý nghĩa rất quan trọng trong sản xuất nông nghiệp. Từ nhiều năm qua, sự phát triển của ngành chăn nuôi lợn đã góp phần đáng kể trong việc nâng cao chất lượng cuộc sống, nó đã cung cấp khoảng 75% tổng lượng thịt cho xã hội.

Theo thông báo của FAO, 55% số lượng lợn trên thế giới thuộc về vùng châu Á - Thái Bình Dương, trong đó Việt Nam là nước có số đầu lợn tương đối lớn. Tổng đàn lợn ở Việt Nam tính đến tháng 6/2005 là 28 triệu con [30]. Theo số liệu thống kê tại thời điểm 01/04/2010, cả nước có 27,3 triệu con, trong đó số đầu lợn nái là 4,18 triệu con) [9]. Bên cạnh việc nhập khẩu và chăn nuôi các giống lợn hướng nạc, lợn lai giữa lợn nội và lợn ngoại, thì các giống lợn địa phương vẫn được sử dụng rất phổ biến đặc biệt khu vực miền núi trung du bởi khả năng thích nghi cao với điều kiện khí hậu cũng như điều kiện chăn nuôi của vùng nông thôn nghèo Việt Nam. Mặc dù các giống lợn nội có nhược điểm là số con/lứa đẻ thấp, tăng trưởng chậm, tỷ lệ mỡ và tiêu tốn thức ăn cao, nhưng thịt mỡ thơm ngon rất được người dân ưa chuộng.

Lợn địa phương Pác Nặm được nuôi phổ biến ở trong các nông hộ theo hình thức bán hoang dã quanh nhà và vườn rừng, nguồn thức ăn chủ yếu là ngô, sắn, cám gạo và rau cỏ tự nhiên. Cũng như các giống lợn địa phương khác, lợn địa phương Pác Nặm có đặc điểm nổi trội như khả năng thích nghi cao, thịt thơm và ngon. Đặc biệt nhóm lợn đen tuyền, thường được coi là đặc sản bởi nuôi tự nhiên, không có tồn dư thuốc tăng trọng cũng như kháng sinh và bị săn mua ráo riết dẫn đến nguy cơ tuyệt chủng cao. Trong những năm qua, các nhà khoa học trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên đã phối hợp với Phòng Nông nghiệp và PTNT huyện Pác Nặm tiến hành chọn lọc, lai tạo giống lợn địa phương Pác Nặm với lợn rừng Thái Lan tạo ra nhóm lợn lai mang các đặc điểm có giá trị của cả hai giống lợn bố và mẹ. Tuy nhiên, một hạn chế đặt ra là khả năng sinh sản của cả hai nhóm lợn rừng và lợn địa