

# Xác định tần suất kiểu gen đồng hợp và dị hợp của kiểu hình xoáy lưng trên chó xoáy Phú Quốc (*Canis familiaris*) tại Việt Nam bằng kỹ thuật real-time PCR

Quan Quốc Đăng<sup>1\*</sup>, Trần Hoàng Dũng<sup>2</sup>, Chung Anh Dũng<sup>3</sup>, Phạm Công Hoạt<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Phát triển Khoa học và Công nghệ trẻ, Thành đoàn TP Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

<sup>3</sup>Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam

<sup>4</sup>Bộ Khoa học và Công nghệ

Ngày nhận bài 15/9/2017; ngày chuyển phản biện 18/9/2017; ngày nhận phản biện 20/10/2017; ngày chấp nhận đăng 27/10/2017

## Tóm tắt:

Chó Phú Quốc là một loại chó riêng của đảo Phú Quốc. Đặc điểm phân biệt với các loại chó khác là các xoáy lông ở trên sống lưng, là một trong ba dòng chó có xoáy lông trên lưng trên thế giới. Tình trạng xoáy lưng là tình trạng trội (ký hiệu R) liên quan đến triệu chứng viêm xoang thần kinh, gây thoái hóa giống và tử vong trong bầy đàn.

Trong nghiên cứu này, kỹ thuật real-time PCR với 4 cặp mồi được sử dụng nhằm đánh giá sự thay đổi số bản copy (copy number variation - CNV) của vùng DNA 133 kb trên nhiễm sắc thể (NST) số 18 quy định tình trạng trội xoáy lưng với mục đích xác định tần suất của kiểu gen đồng hợp và dị hợp của gen R trên chó Phú Quốc. Kết quả thu được có thể sử dụng nhằm kiểm tra kiểu gen của tình trạng xoáy lưng trong quá trình bảo tồn, hạn chế sự phát triển của bệnh viêm xoang thần kinh, tạo cân bằng quần thể và phát triển dòng chó đặc trưng này của Việt Nam.

**Từ khóa:** Chó xoáy lưng Phú Quốc, dị hợp, đồng hợp, real-time PCR, sao chép số biến thể, viêm xoang thần kinh.

**Chỉ số phân loại:** 1.6

## Đặt vấn đề

Chó Phú Quốc là một loại chó riêng của đảo Phú Quốc (Việt Nam). Đặc điểm phân biệt với các loại chó khác là các xoáy lông ở trên sống lưng, là một trong ba dòng chó có xoáy lông trên lưng trên thế giới (hai giống khác là giống Rhodesian châu Phi và chó xoáy Thái Lan). Chó Phú Quốc là vốn quý, với nhiều đặc tính nổi bật mà những giống chó khác không có, như thông minh, nhanh nhẹn, có khả năng đi săn và giữ nhà tốt.

Tình trạng xoáy lưng trên chó có xoáy được nghiên cứu bao gồm chó xoáy châu Phi và chó xoáy Thái Lan có nguồn gốc từ hiện tượng khiếm khuyết hay dị tật ống thần kinh (Neural tube defects - NTD) là một loạt các dị tật bẩm sinh xảy ra do việc khép ống chưa đầy đủ của ống thần kinh trong phôi sớm. NTD thường xảy ra ở tuần thứ ba trong phát triển phôi chó [1]. Hiện tượng khiếm khuyết trong khép ống thần kinh dẫn đến bệnh lý dị tật xoang thần kinh (Dermoid sinus - DS) ảnh hưởng đến cả chó xoáy châu Phi và chó xoáy Thái Lan. Chó con mang bệnh lý này dễ chết sau khi sinh và gây thoái hóa bầy đàn trong quá trình lai tạo giống.

Tình trạng xoáy lưng được quy định bởi một tập hợp gen được gọi là R (tình trạng có xoáy) với kiểu hình bình thường là r (tình trạng không có xoáy). Tình trạng xoáy lưng hoàn toàn trội so với không có xoáy. Với kiểu hình xoáy lưng,

chó Phú Quốc có thể có kiểu gen R/R hoặc R/r, trong khi đó với kiểu hình không xoáy chỉ có một kiểu gen là r/r [2, 3]. Hilbertz và cộng sự đã xác định được tình trạng xoáy lưng (R) là do một sự nhân lên một đoạn 133 kb của các gen FGF3, FGF4, FGF19 và ORAOV1 [4] trên NST số 18. Những chó không có xoáy lưng không phát hiện hiện tượng nhân lên trên vùng gen xác định này [4]. Ở những chó đồng hợp trội về tình trạng xoáy lưng cho thấy khả năng rất cao sự xuất hiện và biểu hiện các dị tật về ống thần kinh, đặc biệt là DS. Để ngăn sự biểu hiện và giảm thiểu xuất hiện DS trên chó xoáy lưng chỉ có phương pháp lai tạo lâu dài nhằm pha loãng biểu hiện của các gen thuộc phân đoạn gen 133 kb [4].

**Bảng 1.** Xác suất xuất hiện kiểu hình xoáy lưng và nguy cơ của dị tật ống thần kinh DS trong quần thể chó xoáy trong quá trình lai giống [5].

Bố mẹ (Đực x Cái)	Chó con		
	Xoáy	Không xoáy	Nguy cơ dị tật DS
RR x RR	100%	0%	Rất cao
RR x Rr hay Rr x RR	>90%	<10%	Bình thường
Rr x Rr	>75%	<25%	Bình thường/thấp
RR x rr hoặc rr x RR	>90%	<10%	Thấp
rr x rr	0%	100%	Rất thấp

RR: Trội hoàn toàn, chó con mang kiểu gen RR sẽ có 100% xoáy; Rr: Dị hợp, trội, chó con 90% có xoáy, 10% không xoáy do gen R bị ức chế bởi các tương tác khác và điều kiện môi trường; rr: Chó hoàn toàn không có xoáy.

\*Tác giả liên hệ: dangquan3580@gmail.com

# The method to identify the genetic frequency of ridgeback mutation on Phu Quoc ridgeback dog (*Canis familiaris*) in Vietnam

Quoc Dang Quan<sup>1\*</sup>, Hoang Dung Tran<sup>2</sup>, Anh Dung Chung<sup>3</sup>, Cong Hoat Pham<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Center of Science and Technology Development, Ho Chi Minh city

<sup>2</sup>Nguyen Tat Thanh University

<sup>3</sup>Institute of Agricultural Science for Southern Vietnam

<sup>4</sup>Ministry of Science and Technology

Received 15 September 2017; accepted 27 October 2017

## Abstract:

Phu Quoc dog is one of typical species of Phu Quoc Island, Vietnam. The distinguishing feature of this dog is the ridgeback on the spine. The ridge mutation is an autosomal dominant trait associated with dermoid sinus symptom which causes degeneration and puppies death. The dominant allele causing the ridge is denoted as R whereas the recessive wild type-allele is denoted as r. This means that a ridged dog may either be homozygous (R/R) or heterozygous (R/r) for the Ridge allele whereas all ridgeless dogs should be homozygous r/r for the normal allele. In this study, real-time PCR with 4 primer pairs was used to evaluate the copy number variation (CNV) of the 133 kb region on chromosome 18 to identify the genetic frequency for this dominant mutation. The results could be used to test the genotype of dominant mutation for conservation programs, restrict the development of dermoid sinus symptom, an make balance in population growth of this endemic species.

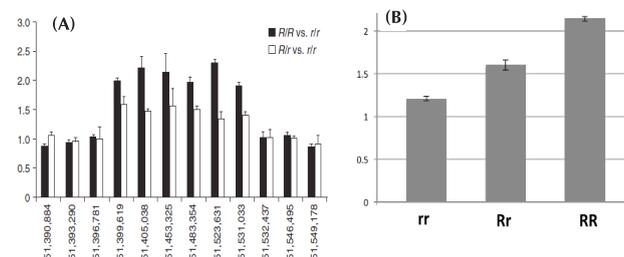
**Keywords:** Copy number variation, dermoid sinus, heterozygous, homozygous, Phu Quoc Ridgeback dog, real-time PCR.

**Classification number:** 1.6

Dựa vào lý thuyết trên, Waldo và cộng sự đã đề xuất một phương pháp xác định kiểu gen đồng hợp hoặc dị hợp của kiểu hình xoáy lưng trên chó xoáy châu Phi dựa trên việc định lượng các sao chép số biến thể (CNVs) của vùng gen R bằng phương pháp định lượng chu kỳ ngưỡng (Ct) của các vùng trên gen này thông qua phương pháp real-time PCR [6].

Các kết quả cho thấy, qua phương pháp real-time PCR, có thể xác định tỷ lệ giữa các vùng lặp trên khu vực 133 kb chứa nhóm gen quy định cho tính trạng lông xoáy, từ đó có

thể xác định được kiểu gen đồng hợp (R/R hoặc r/r) hay dị hợp (R/r) trên hai dòng chó xoáy lưng châu Phi và Thái Lan (hình 1).



**Hình 1. (A)** Tỷ lệ biểu hiện giữa gen đồng hợp R/R và dị hợp R/r với gen đồng hợp lặn r/r ở chó xoáy châu Phi bằng phương pháp MLGA (multiplex ligation-dependent genome amplification) trên vùng lặp lại hay nhân lên ở phân đoạn 133 kb trên NST 18 [4]. **(B)** Tỷ lệ chu kỳ ngưỡng Ct giữa vùng nhân lên hay lặp lại của khu vực 133 kb với các vùng bình thường trên NST 18 khi sử dụng các set môi 1, 2, 3, 4 định lượng gen xoáy trên chó xoáy châu Phi bằng phương pháp real-time PCR [6].

Cho đến nay, chưa có các nghiên cứu trên vùng gen 133 kb thuộc NST 18 nhằm xác định kiểu gen của tính trạng xoáy lưng trên chó xoáy Phú Quốc, Việt Nam. Việc xác định kiểu gen xoáy lưng có thể hỗ trợ các nhà lai tạo giống chó hạn chế khả năng biểu hiện dị tật DS, tránh hiện tượng đồng huyết và tiên lượng xác suất kiểu gen R cũng như chọn con chó đầu dòng nhằm giữ giống cho thế hệ sau.

## Phương pháp nghiên cứu

### Thu nhận, tách DNA và bảo quản mẫu

Máu của 3 cá thể chó nhà nuôi tại TP Hồ Chí Minh và 15 cá thể chó Phú Quốc được nuôi trong các trại chó ở Phú Quốc được sử dụng làm nguyên liệu tách chiết DNA. Máu được thu theo tĩnh mạch chi và bảo quản trong dung dịch citrate phosphate dextrose adenine - CPDA ở 4°C. Thời gian bảo quản tối đa 42 ngày sau thu nhận.

DNA tổng số từ máu được tách bằng bộ kit “DNA Blood Mini Kit”.

### Kỹ thuật real-time PCR

Kỹ thuật real-time PCR được tiến hành dựa theo phương pháp của Waldo và cộng sự [6]. Mỗi cá thể chó được kiểm tra bằng phương pháp real-time PCR với 4 cặp môi và tính số biến thể bản sao ước lượng (relative copy number - RCN) giá trị Ct của các cặp 3/1, 3/2, 4/1, 4/2. Môi  $\beta$ -actin được sử dụng khuếch đại vùng gen đối chứng. Trên các cá thể vùng  $\beta$ -actin biểu hiện là như nhau, vì đây là vùng gen có tính bảo tồn rất cao ở động vật hữu nhũ nói chung, bao gồm cả người [7].

**Bảng 2. Các cặp mồi được sử dụng nhằm định lượng cho Ct của các gen quan tâm thông qua phương pháp real-time PCR [6].**

	Mồi xuôi	Mồi ngược
Cặp 1	TGCCGCTCAGATGATCAAC	TCTGCTTTTCTCTGCTCCC3
Cặp 2	ATTGGCAGTGTCCGTGTGAG	AAGCCCCGCAGACAATGAAC
Cặp 3	GCATCCACCTAAGCAATCTG	CCCTATTCTCTCCACCCATC
Cặp 4	GCTTCTGCTTTGATACCCTTC	GTTCTGCAACAGCATCTCC
$\beta$ -actin	CATGGATGCCGCAGGATT	GTTCCGCTGCCCAGAGG

Chu trình nhiệt của kỹ thuật real-time PCR bao gồm: (a) Giai đoạn ủ: 95°C (2 phút), (b) Giai đoạn bắt cặp: 95°C trong 5 giây, 60°C trong 10 giây, 72°C trong 15 giây (40 chu kỳ).

**Thống kê và xử lý số liệu**

Để tính toán hiệu quả mồi, sử dụng phương trình:

$$E = (2^{-1 / \text{độ dốc}}) * 2$$

Tất cả các cặp mồi phải dao động hiệu quả từ 97-100%, khi đó có thể loại bỏ sự kiểm tra mồi trong các tính toán tiếp theo.

Số biến thể bản sao ước lượng (relative copy number - RCN) được tính toán theo phương pháp Livak [8] có cải tiến bởi Pfaffl dùng để xác định chu kỳ ngưỡng Ct bằng phương pháp real-time PCR sử dụng SYBR Green Master Mix làm chất phát huỳnh quang với nhiệt độ nóng chảy quan sát phù hợp [9]:

$$R = 2^{\Delta C_t(C/Tg-T/Ref)} / 2^{\Delta C_t(C/Ref-T/Ref)}$$

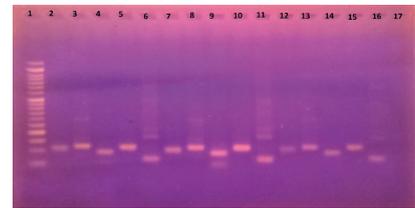
trong đó: Ct(T/Tg) và Ct(T/Ref) là chu kỳ ngưỡng của gen đích (Tg) và gen tham chiếu trong mẫu thử (T); Ct(C/Tg) và Ct(C/Ref) là chu kỳ ngưỡng của gen đích (Tg) và gen tham chiếu trong mẫu chứng (C).

**Kết quả**

**Đánh giá hiệu quả các cặp mồi 1, 2, 3, 4 và  $\beta$ -actin**

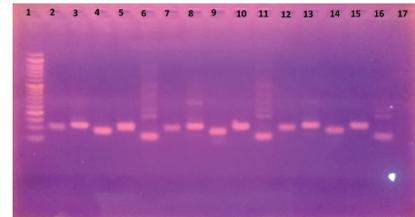
Tổng cộng 18 cá thể chó bao gồm chó nhà và chó Phú Quốc được đánh số từ 1 đến 3 cho cá thể chó nhà (control dog - CD), 4 đến 18 cho cá thể chó Phú Quốc (cả xoáy và không xoáy) (Phu Quoc dogs - PQ). Do tính trạng xoáy lưng là đột biến trội trên NST thường nên không phân biệt giới tính chó nghiên cứu và kiểm tra đánh giá. Mỗi bể chạy điện di bao gồm 3 mẫu với một thang đo và một giếng trống cuối cùng. Mỗi cá thể chạy trên 5 cặp mồi gồm 4 set mồi từ 1 đến 4 vào các giếng theo thứ tự, cặp cuối cùng là cặp mồi  $\beta$ -actin.

Giếng 1: Thang đo 100 bp; giếng 2-16: Các cặp mồi từ set 1 đến set 4 và mồi  $\beta$ -actin cho 3 cá thể chó nhà (1, 2, 3); giếng 17: Giếng trống.



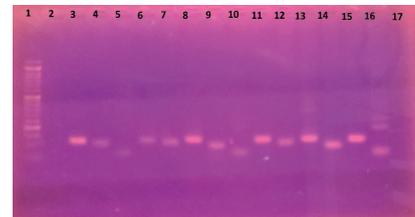
**Hình 2A. Kiểm tra mồi cá thể CD1, CD2, CD3.**

Giếng 1: Thang đo 100 bp; giếng 2-16: Các cặp mồi từ set 1 đến set 4 và mồi  $\beta$ -actin cho 3 cá thể chó Phú Quốc (4, 11, 12); giếng 17: Giếng trống.



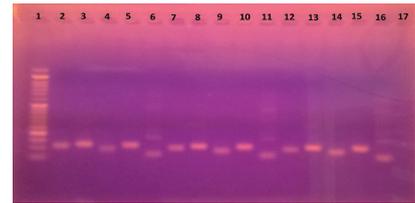
**Hình 2B. Kiểm tra mồi cá thể PQ4, PQ11, PQ12.**

Giếng 1: Thang đo 100 bp; giếng 2-16: Các cặp mồi từ set 1 đến set 4 và mồi  $\beta$ -actin cho 3 cá thể chó Phú Quốc (5, 6, 13); giếng 17: Giếng trống.



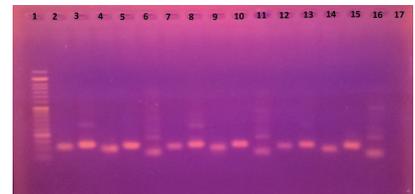
**Hình 2C. Kiểm tra mồi cá thể PQ5, PQ6, PQ13.**

Giếng 1: Thang đo 100 bp; giếng 2-16: Các cặp mồi từ set 1 đến set 4 và mồi  $\beta$ -actin cho 3 cá thể chó Phú Quốc (7, 8, 9); giếng 17: Giếng trống.



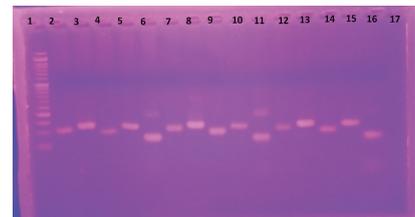
**Hình 2D. Kiểm tra mồi cá thể PQ7, PQ8, PQ9.**

Giếng 1: Thang đo 100 bp; giếng 2-16: Các cặp mồi từ set 1 đến set 4 và mồi  $\beta$ -actin cho 3 cá thể chó Phú Quốc (10, 17, 18); giếng 17: Giếng trống.



**Hình 2E. Kiểm tra mồi cá thể PQ10, PQ17, PQ18.**

Giếng 1: Thang đo 100 bp; giếng 2-16: Các cặp mồi từ set 1 đến set 4 và mồi  $\beta$ -actin cho 3 cá thể chó Phú Quốc (14, 15, 16); giếng 17: Giếng trống.



**Hình 2F. Kiểm tra mồi cá thể PQ14, PQ15, PQ16.**

Kết quả từ điện di các cặp mồi (hình 2) cho thấy, mỗi rât đặc hiệu trên tất cả các cá thể quan sát khi bắt cặp và cho các vạch khá rõ ràng. Không có tính trạng nhiễu vạch trên cùng một giếng. Kết quả điện di cũng cho thấy độ khá tương đồng của các mồi thiết kế từ set 1-4 về kích thước ban đầu bắt cặp. Kết quả ban đầu khi điện di cho thấy các đoạn gen được thiết kế mồi đều xuất hiện trên chó nhà, chó Phú Quốc (cả xoáy và không xoáy).

**Đánh giá tần suất gen R và r trong quần thể chó quan sát bằng phương pháp Livak cải tiến Pfaffl (bảng 2 và 3)**

Mỗi cá thể quan sát hay kiểm tra (chó Phú Quốc) sẽ có 4 kết quả RCN (set1/set 3, set1/set4, set2/set3 và set2/set4), tính trung bình cộng ta sẽ có được RCN trung bình của mỗi cá thể [6].

**Bảng 2. Số liệu chu kỳ ngưỡng Ct và số biến thể bản sao ước lượng RCN của các cá thể chó quan sát, bao gồm 3 chó nhà và 15 chó Phú Quốc.**

STT/cặp mồi	set1	set2	set3	set4	RCN
<b>Chó nhà (đối chứng)</b>					
DC1	24,772	24,0187	25,2165	26,6140	
DC2	22,894	22,1978	23,3048	24,5964	
DC3	25,690	24,9096	26,1519	27,6012	
Trung bình	24,45192	23,7087	24,89108	26,27054	
<b>Chó Phú Quốc (quan sát)</b>					
PQ4	23,749	24,878	25,85	25,951	1,422299
PQ5	21,072	21,935	23,126	22,809	1,331038
PQ6	27,365	28,215	29,223	29,265	1,242135
PQ7	21,026	21,626	22,105	22,799	0,880758
PQ8	(âm tính)	24,616	23,721	25,488	(âm tính)
PQ9	24,794	25,032	27,542	27,034	2,370577
PQ10	23,586	23,786	26,36	25,865	2,440037
PQ11	22,189	22,837	24,68	24,868	2,058692
PQ12	20,118	20,818	22,682	22,544	2,012307
PQ13	22,301	23,173	24,539	24,63	1,626127
PQ14	21,931	22,447	23,792	23,465	1,240628
PQ15	19,891	21,336	22,063	21,852	1,349758
PQ16	20,89	21,276	23,19	23,075	1,792784
PQ17	21,938	22,932	24,152	24,024	1,503264
PQ18	22,73	23,887	23,964	24,661	0,892569

Tất cả 18 mẫu điện di của từng set mồi được thực hiện phản ứng real-time PCR. Ba mẫu chứng từ chó nhà được lấy trung bình cho từng set mồi và sử dụng như một vật đối chứng trong công thức Livak. Các mẫu chó Phú Quốc đều có chu kỳ ngưỡng cho từng set mồi, trong đó trừ mẫu PQ8 không xuất hiện chu kỳ ngưỡng (âm tính) với set mồi thứ nhất.

**Bảng 3. Tổng hợp chu kỳ ngưỡng và kiểu hình nhằm đánh giá ước lượng kiểu gen của quần thể quan sát.**

STT	RCN	Kiểu hình	Kiểu gen	Tần suất quan sát		
PQ4	1,422299	Chó cái, có xoáy	R/r	R/R	5/15	33%
PQ5	1,331038	Chó cái, có xoáy	R/r	R/r	7/15	47%
PQ6	1,242135	Chó đực, có xoáy	R/r	r/r	2/15	13%
PQ7	0,880758	Chó đực, không xoáy	r/r	NA	1/15	7%
PQ8	(âm tính)	Chó đực, có xoáy	NA	Sai biệt quan sát		
PQ9	2,370577	Chó đực, có xoáy	R/R	R/R	R/r	r/r
PQ10	2,440037	Chó đực, có xoáy	R/R	33%	47%	13%
PQ11	2,058692	Chó đực, có xoáy	R/R	25%	50%	25%
PQ12	2,012307	Chó cái, có xoáy	R/R	+7%	-3%	-12%
PQ13	1,626127	Chó đực, có xoáy	R/r			
PQ14	1,240628	Chó cái, có xoáy	R/r			
PQ15	1,349758	Chó đực, có xoáy	R/r			
PQ16	1,792784	Chó cái, có xoáy	R/R			
PQ17	1,503264	Chó đực, có xoáy	R/r			
PQ18	0,892569	Chó đực, không xoáy	r/r			

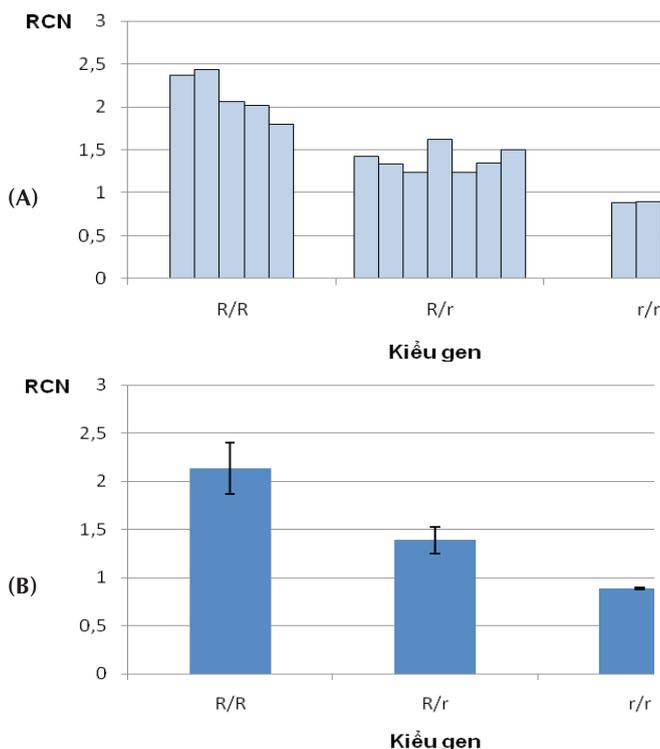
**Thảo luận**

Nghiên cứu dựa trên các công bố của Hillbertz và cộng sự [4], Waldo và cộng sự [6] cũng như của Drazovska và cộng sự [5] khi nghiên cứu về kiểu gen xoáy lưng trên chó xoáy châu Phi và Thái Lan. Hiện nay trên thế giới đã nhận diện 3 dòng chó xoáy lưng, trong đó chó xoáy châu Phi và Thái lan đã được công nhận và nghiên cứu rất nhiều. Chó xoáy Phú Quốc của Việt Nam hiện nay vẫn chưa được công bố và công nhận về các dòng chó trên thế giới và do đó chúng được xếp vào nhóm chó lưng xoáy Thái Lan. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây của Tran Hoang Dung và cộng sự [10], Quan Ke Thai và cộng sự [11], Quan Quoc Dang và cộng sự [12] cho thấy các điểm khác biệt trong hình thái và di truyền của dòng chó xoáy Phú Quốc, Việt Nam so với chó xoáy Thái Lan cũng như về tập tính và thói quen.

Việc bảo tồn và phát triển dòng chó này là nhu cầu thiết yếu, đặc biệt khi tính trạng xoáy lưng có liên quan đến nguyên nhân gây thoái hóa và tử vong trong quần thể. Quá trình lai tạo và lây lan nguồn gen từ giống chó khác, nhất là dòng chó xoáy Thái Lan có thể làm gia tăng triệu chứng bệnh di truyền DS trên chó xoáy Phú Quốc, gây thoái hóa giống và suy yếu quần thể do bệnh phát tán.

Nghiên cứu bước đầu cho thấy, tần suất của kiểu gen

đồng hợp trội R/R gia tăng trong quần thể so với định luật Hardy-Weinberg về tính trạng di truyền trên NST thường (33% quan sát so với 25% lý thuyết), đồng thời quá trình chọn tạo giống xoáy làm mất đi hoặc sụt giảm kiểu hình không có xoáy trên chó Phú Quốc (r/r). Đây là kiểu hình quan trọng trong quá trình lai tạo và giữ giống, vì sẽ tạo ra cá thể mang kiểu lông xoáy có gen dị hợp (R/r) - kiểu gen cân bằng và ổn định nhất trong quần thể, hạn chế tối đa biểu hiện và lây lan bệnh DS trong quần thể chó Phú Quốc lai tạo. Kết quả này tương tự như các nghiên cứu trên chó xoáy châu Phi và Thái Lan trước đây về tần suất gen xoáy lưng trong quá trình nuôi nhốt và lai tạo giống chó [5].



**Hình 3. Số biến thể gen (RCN) của các cá thể quan sát (A) và số biến thể gen trung bình của kiểu gen đồng hợp trội (R/R), dị hợp (R/r), đồng hợp lặn (r/r) của gen xoáy lưng trên chó Phú Quốc (B).**

Theo kết quả quan sát và thực nghiệm áp dụng từ quy trình của Waldo và cộng sự trên chó xoáy châu Phi và kết hợp kiểu hình cho thấy, bước đầu có thể xác định được kiểu gen của kiểu hình xoáy lưng trên chó xoáy Phú Quốc.

Với những cá thể chó Phú Quốc không xoáy lưng, RCN có giá trị tương đương giá trị RCN chuẩn là 1, tương tự như mẫu đối chứng trên các cá thể chó nhà không phải chó xoáy lưng Phú Quốc. Với những chó Phú Quốc mang tính trạng xoáy lưng, RCN sẽ có hai khoảng giá trị, gần giá trị RCN

chuẩn 1,5 hoặc 2. Nếu giá trị RCN gần giá trị RCN chuẩn là 1,5 thì chó sẽ có kiểu gen dị hợp (R/r). Nếu giá trị RCN gần giá trị RCN chuẩn là 2 thì chó sẽ có kiểu gen đồng hợp (R/R) (hình 3).

Đột biến xoáy lưng của chó xoáy châu Phi và Thái Lan nằm trong khu vực 133 kb trên NST số 18 [4], dựa trên phương pháp của Waldo và cộng sự, đã xác định ở chó Phú Quốc, Việt Nam cũng có những đoạn tương tự hai dòng chó đã nghiên cứu [6]. Theo các nghiên cứu gần đây của Drazovska và cộng sự thì 10% số lượng cá thể chó xoáy châu Phi mang kiểu gen đồng hợp và dị hợp trội (R/R và R/r) không thể biểu hiện ra kiểu hình xoáy lưng, giả thiết có thể là do môi trường và dinh dưỡng cũng như khả năng thích nghi với bệnh tật nhằm tồn tại và phát triển trên động vật hữu nhũ [5]. Do đó, cần mở rộng thêm số lượng cá thể nghiên cứu nhằm đánh giá chính xác tần suất của kiểu gen trên kiểu hình xoáy lưng và chế độ dinh dưỡng cung cấp cho quá trình nuôi tại Việt Nam nhằm đánh giá chính xác và tiên lượng kiểu gen có khả năng xuất hiện trong quá trình lai tạo.

Nghiên cứu cũng cho thấy sự sụt giảm các kiểu gen đồng hợp lặn của kiểu hình xoáy lưng, đây là cảnh báo cần chú ý vì các cá thể đồng hợp lặn có vai trò quan trọng trong việc lai tạo thành các cá thể dị hợp, đảm bảo tính cân bằng về kiểu gen của quần thể. Sự cân bằng có vai trò rất quan trọng trong quá trình bảo tồn và phát triển dòng chó xoáy lưng đặc trưng của Việt Nam.

### Kết luận

Trong nghiên cứu này, sử dụng 4 cặp môi theo Waldo và cộng sự khi nghiên cứu trên chó xoáy châu Phi cho thấy phù hợp với chó xoáy Phú Quốc tại Việt Nam. Kết quả cho thấy, tần suất kiểu gen đồng hợp và dị hợp của kiểu hình xoáy lưng trên chó xoáy Phú Quốc (*Canis familiaris*) tại Việt Nam trong nghiên cứu này là khá cân bằng, trong đó kiểu gen đồng hợp trội (R/R) chiếm 33%, kiểu gen đồng hợp lặn (r/r) chiếm 13% và kiểu gen dị hợp (R/r) chiếm 47%. Tuy nhiên, kết quả cũng cho thấy có xu thế gia tăng kiểu gen đồng hợp trội của kiểu hình xoáy lưng, và có xu hướng giảm kiểu gen đồng hợp lặn, gây nên sự mất cân bằng trong quần thể chó Phú Quốc. Kết quả nghiên cứu cũng mở ra hướng mới trong bảo tồn và lai tạo chó Phú Quốc nhằm hạn chế sự phát tán bệnh viêm xoang thần kinh (DS), thường có tỷ lệ rất cao trong các cá thể chó có kiểu gen đồng hợp trội của tính trạng xoáy lưng; đồng thời cần tiếp tục nghiên cứu nhằm xác định các chỉ thị sinh học đặc trưng của dòng chó quý hiếm này.

## LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi chân thành cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã tài trợ cho đề tài cấp nhà nước thuộc Chương trình Quỹ gen để thực hiện nghiên cứu này (Hợp đồng số 01/2015-HĐ-NVQG).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] J.M. Evans, K. White (1997), *Book of the Bitch A Complete Guide to Understanding and Caring for Bitches*, Ringpress Books Ltd, Gloucestershire, England, pp.71-75.

[2] N.H. Hillbertz (2005), "Inheritance of dermoid sinus in the Rhodesian ridgeback", *J. Small Anim. Pract.*, **46(2)**, pp.71-74.

[3] N.H. Hillbertz, G. Andersson (2006), "Autosomal dominant mutation causing the dorsal ridge predisposes for dermoid sinus in Rhodesian ridgeback dogs", *J. Small Anim. Pract.*, **47(4)**, pp.184-188.

[4] N.H. Salmon Hillbertz, M. Isaksson, E.K. Karlsson, E. Hellmén, G.R. Pielberg, P. Savolainen, C.M. Wade, H. von Euler, U. Gustafson, A. Hedhammar, M. Nilsson, K. Lindblad-Toh, L. Andersson, G. Andersson (2007), "Duplication of FGF3, FGF4, FGF19 and ORAOV1 causes hair ridge and predisposition to dermoid sinus in Ridgeback dogs", *Nature Genetics*, **39(11)**, pp.1318-1320.

[5] M. Drazovska, K. Sivikova, J. Dianovsky, M. Hornak (2016),

"Comparative genomic hybridization in detection of DNA changes in canine lymphomas", *Anim. Sci. J.*, **88(1)**, pp.27-32.

[6] J.T. Waldo, K.S. Diaz (2015), "Development and validation of a diagnostic test for Ridge allele copy number in Rhodesian Ridgeback dogs", *Canine Genet. Epidemiol.*, **2**, p.2.

[7] P.W. Gunning, U. Ghoshdastider, S. Whitaker, D. Popp, R.C. Robinson (2015), "The evolution of compositionally and functionally distinct actin filaments", *J. Cell Sci.*, **128(11)**, pp.2009-2019.

[8] K.J. Livak, T.D. Schmittgen (2001), "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-Delta Delta C(T)</sup> Method", *Methods*, **25(4)**, pp.402-408.

[9] Michael W. Pfaffl (2004), *A-Z of quantitative PCR* (Editor: S.A. Bustin), International University Line (IUL) La Jolla, CA, USA, Chapter 3, pp.87-112.

[10] Tran Hoang Dung, Thai Ke Quan, Nguyen Thanh Cong, Chung Anh Dung, Tran Van Hieu (2016), "Origin of Phu Quoc ridgeback dog by using mitochondrial d-loop sequences", *Journal of Biology*, **38(2)**, pp.269-278.

[11] Quan Ke Thai, Van Hieu Huynh, Anh Dung Chung, Hoang Dung Tran (2016), "Evaluation of genetic diversity of Phu Quoc ridgeback dogs based on mitochondrial DNA Hypervariable-1 region", *Research Result. Physiology*, **3(9)**, pp.45-49.

[12] Quan Quoc Dang, et al. (2016), "Initially Observed Some Important Morphological Characteristics on Phu Quoc Ridgeback Dogs (*Canis familiaris*) in Vietnam", *International Journal of Science and Research (IJSR)*, **5(7)**, pp.719-725.