

Sử dụng kỹ thuật Microsatellite để đánh giá tính đa dạng di truyền và cấu trúc di truyền của quần thể bò nuôi ở tỉnh Hà Giang

Phạm Doãn Luân^{1,*}, Nguyễn Trọng Bình¹, Vũ Chí Cương¹, Jean- Charles Maillard²

¹*Viện Chăn nuôi, Thụy Phương, Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam*

²*Giám đốc CIRAD vùng Đông Nam Á, 35 Điện Biên Phủ, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 29 tháng 10 năm 2008

Tóm tắt. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá tính đa dạng và cấu trúc di truyền của quần thể bò nuôi ở tỉnh Hà Giang. Hai mươi ba (23) locút microsatellite được sử dụng để phân tích kiểu gen trên 530 cá thể bò được thu thập trên 28 xã thuộc 8 huyện ở Hà Giang. Tổng số 205 alen được xác định trong toàn bộ quần thể, trung bình số alen trên một locút là $8,9 \pm 2,05$, tần số dị hợp tử quan sát và mong đợi theo lý thuyết tương ứng là 0,67 và 0,73. Giá trị thông tin đa hình (PIC) của từng locút nằm trong khoảng từ 0,50 đến 0,84. Giá trị trung bình sai khác di truyền giữa quần thể bò ở các huyện là rất nhỏ ($F_{ST} = 0,013$). Cấu trúc di truyền quần thể được xác định bằng phần mềm STRUCTURE dựa trên sự phân tích tương đồng các alen của đồng thời trên toàn bộ các locút cho thấy quần thể bò ở Hà Giang được phân thành 2 nhóm (quần thể phụ) khác nhau về di truyền.

Keywords: Đa dạng di truyền, quần thể, cấu trúc quần thể, microsatellite.

1. Đặt vấn đề

Đa dạng di truyền trong bản thân một loài vật nuôi nào đó là sự thể hiện trạng thái cấu trúc khác nhau giữa hệ gen của các cá thể, họ hàng, các dòng và giống. Do vậy, các kỹ thuật chỉ thị phân tử ADN (DNA-based markers) là những công cụ hữu ích để đánh giá đa dạng di truyền và quan hệ họ hàng giữa và trong các quần thể động vật. Trong những năm gần đây, nhiều loại chỉ thị ADN đã được sử dụng trong các nghiên cứu đa dạng di truyền như: RFLP, RAPD, minisatellites và microsatellites. Trong đó, kỹ thuật microsatellite đã nhanh chóng trở thành

kỹ thuật hữu hiệu và được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu di truyền quần thể đặc biệt đối với các dự án bảo tồn bởi vì việc xác định tính đa dạng di truyền của một quần thể hay một giống vật nuôi là một yêu cầu trước tiên và rất cần thiết để đưa ra những quyết định bảo tồn. Sử dụng kỹ thuật microsatellites để nghiên cứu đa dạng di truyền đã được thực hiện trên nhiều loài vật nuôi khác nhau như: trâu, bò, dê, lợn gà [1-10].

Hà Giang là một tỉnh miền núi phía Bắc và là khu vực có nhiều đồi núi nhất của Việt Nam. Hà Giang có tới 24 dân tộc cùng sinh sống trong đó dân tộc H'mông chiếm chủ yếu. Trong số các loài vật nuôi thì bò là một trong những vật nuôi chủ yếu và đóng vai trò quan trọng đối với người dân ở tỉnh Hà Giang nhằm phục vụ

* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-4-22166147.
E-mail: pdlanvn@yahoo.com

canh tác nông nghiệp và sản xuất thịt Hiện tại toàn tỉnh có khoảng 80 nghìn con. Theo Lê Viết Ly và cộng sự (1999) [11], bò H'mông là một giống bò đặc trưng của tỉnh Hà Giang được nuôi giữ bởi đồng bào dân tộc H'mông ở vùng cao và được nuôi giữ theo phương thức chăn thả tự do. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào sử dụng các chỉ thị phân tử nhằm đánh giá đặc điểm di truyền và tính đa dạng di truyền của quần thể bò nuôi ở Hà Giang được thực hiện.

Nhằm cung cấp những thông tin hữu ích cho việc bảo tồn và phát triển quần thể bò nơi đây, trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng 23 locút microsatellites để đánh giá tính đa dạng và cấu trúc di truyền của quần thể bò nuôi ở tỉnh Hà Giang.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Thu thập mẫu

Tổng số 530 mẫu máu và mô tai bò được thu thập trên 28 xã thuộc 8 huyện của tỉnh Hà Giang bao gồm: Đồng Văn, Mèo Vạc, Yên Minh, Quản Bạ, Hoàng Su Phì, Xín Mần, Bắc Mê và Quang Bình.

2.2. Tách chiết ADN

Quy trình tách chiết ADN từ các mẫu máu và mô được thực hiện theo bộ kit tách ADN của hãng Qiagen (Đức). Nồng độ và độ sạch của các mẫu ADN sau khi tách chiết được điện di kiểm tra trên gel agarose 1% và trên máy đo quang phổ.

2.3. Nhân ADN đặc hiệu (PCR)

Hai mươi ba locút microsatellites sử dụng trong nghiên cứu này được thực hiện theo khuyến cáo của tổ chức Nông lương Thế giới (FAO) dùng để đánh giá các đặc điểm di truyền các quần thể động vật nuôi (http://www.fao.org/dat_is). Một mỗi xuôi hoặc mỗi ngược trong mỗi cặp mồi này được đánh dấu

huỳnh quang theo các nhóm D2, D3 và D4 ở đầu 5' dùng cho máy giải trình tự của hãng Beckman Coulter - Mỹ. Các cặp mồi này được chuẩn hóa trong 6 multiplex PCR.

Phản ứng nhân gen PCR đối với mỗi multiplex được thực hiện trong tổng thể tích 25 μ l gồm có: đệm PCR 1x (200mM Tris-HCl pH 8,3, 200mM KCl, 50mM (NH₄)₂SO₄), 200 μ M mỗi loại dNTP (A,T,G,C), 10 pM mồi không đánh dấu và đánh dấu huỳnh quang, 1,5 unit enzyme Hot Sart Taq DNA Polymerase (Fermentas). Phản ứng multiplex-PCR được thực hiện theo điều kiện sau: giai đoạn tiền biến tính ở 95⁰C trong 4 phút, 35 chu kỳ tiếp theo (biến tính 95⁰C trong 1 phút, gắn mồi 55⁰C trong 1 phút, tổng hợp kéo dài chuỗi 68 – 72⁰C trong 1 phút 20 giây), cuối cùng kết thúc ở 72⁰C trong 10 phút.

2.4. Phân tích đa hình alen các locút microsatellites

Một microlite của tất cả các sản phẩm multiplex-PCR dương tính sau khi bổ sung 25 μ l đệm SLS (Sample Loading Solution Beckman Coulter) và 0,15 μ l thang ADN chuẩn (DNA Size standard Beckman Coulter) được tiến hành phân tách bằng hệ thống điện di mao quản trên máy giải trình tự CEQ8000 của hãng Beckman Coulter. Kích thước các alen được phân tích bằng phần mềm Genetics analysis system cho máy CEQ8000 (phiên bản 9.0).

2.5. Phân tích thống kê

Một số các chỉ tiêu như: số lượng alen, trung bình số lượng alen trên mỗi locút, dị hợp tử mong đợi (He), dị hợp tử quan sát (Ho), các giá trị thống kê F theo Wright [12] (chỉ số sai khác di truyền F_{ST}, hệ số cận huyết Fis) được ước lượng bằng phần mềm Genetix (phiên bản 4.0.5.2). Giá trị thông tin đa hình (PIC) của mỗi locút được tính theo [13].

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2 p_i^2 p_j^2$$

Trong đó: p_i, p_j là tần số của alen i và j, k là số lượng alen của mỗi locút.

Sự cân bằng di truyền theo định luật Hardy-Weinberg của từng locút được kiểm tra bằng phần mềm GENEPOP phiên bản 3.4 [14]. Khoảng cách di truyền và cây phân loại di truyền được thực hiện bởi phần mềm POPULATION và Treeview.

2.6. Xác định cấu trúc quần thể

Phần mềm SRTUCTURE phiên bản 2.2 [15] được sử dụng để xác định sự phân nhóm các cá thể có sự tương đồng về mặt di truyền thành các nhóm (quần thể phụ). Thuật toán của phần mềm này dựa trên phân tích kiểu gen đồng thời của nhiều locút. Thuật toán bắt đầu bằng giả thiết rằng các nhóm quan sát được lấy ra một cách ngẫu nhiên từ một mô hình thông số. Mô hình giả thiết rằng các cá thể có thể được chỉ định vào một nhóm dựa trên cơ sở kiểu gen của

nhiều locus và tần số alen được ước lượng của mỗi nhóm. Số lượng các nhóm (K) được xác định bằng cách sử dụng xác suất tiên nghiệm (*a priori*), và các nhóm cá thể được suy ra qua quá trình chạy lặp lại tại mỗi giá trị K.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tính đa dạng di truyền của quần thể bò ở Hà Giang

Tính đa dạng di truyền được đánh giá qua các chỉ số như: sự đa hình các alen của từng locút, trung bình số lượng alen trên một locút, tần số dị hợp tử và lượng thông tin đa hình (Polymorphic Information Content - PIC). Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Số lượng alen, tần số dị hợp tử mong đợi theo lý thuyết, tần số dị hợp tử quan sát, giá trị thông tin đa hình (PIC), hệ số cận huyết và kết quả kiểm định từng locút microsatellite với giả thiết không cân bằng di truyền Hardy-Weinberg *

Locút microsatellite	Số lượng alen	Tần số dị hợp tử mong đợi (He.exp)	Tần số dị hợp tử quan sát (He.ob)	Lượng thông tin đa hình (PIC)	Hệ số cận huyết (Fis)
CSSM66	8	0,683	0,659	0.638	0,035 NS
INRA63	8	0,717	0,689	0.672	0,039 *
INRA037	10	0,597	0,556	0.567	0,070 *
INRA05	7	0,798	0,752	0.769	0,058 *
HAUT27	10	0,858	0,817	0.842	0,049 NS
TGL227	10	0,643	0,609	0.618	0,052 NS
BM1824	7	0,685	0,667	0.628	0,026 NS
ETH3	7	0,535	0,481	0.509	0,102 *
ILSTS006	12	0,795	0,759	0.769	0,054 NS
BM1818	8	0,770	0,725	0.742	0,058 *
ETH152	8	0,550	0,510	0.532	0,071 *
HEL9	14	0,856	0,854	0.841	0,003 NS
HEL13	8	0,688	0,591	0.633	0,142 *
SPS115	10	0,818	0,743	0.794	0,092 *
TGL126	7	0,711	0,663	0.673	0,067 *
INRA032	9	0,804	0,713	0.781	0,113 *
INRA035	6	0,775	0,689	0.740	0,111 *
ILSTS005	7	0,531	0,456	0.500	0,141 *
BM2113	8	0,698	0,645	0.655	0,075 *
ETH10	7	0,764	0,732	0.724	0,042 *
ETH225	14	0,841	0,804	0.822	0,044 NS
TGL122	12	0,811	0,787	0.786	0,030 *
INRA023	9	0,755	0,731	0.722	0,032 *
Trung bình	8,9 ± 2,05	0,725 ± 0,1	0,675 ± 0,10	0.693	0,063 ± 0,036

*: Không cân bằng di truyền Hardy-Weinberg với ý nghĩa $p < 0.01$, NS: không có ý nghĩa

Toàn bộ 23 locút microsatellites đều thể hiện tính đa hình cao. Tổng số 205 alen được xác định và kích thước của các alen này nằm trong phạm vi theo thông báo của FAO. Trung bình số lượng alen trên một locút là $8,9 \pm 2,05$. Trong đó tính đa hình cao nhất được thể hiện ở locút HEL9 và ETH225 với 13 alen, ngược lại thấp nhất ở locút INRA035 với 6 alen. Tần số dị hợp tử mong đợi đối với mỗi locút phân bố trong khoảng từ giá trị thấp nhất là 0,53 ở locút ILSTS005 tới giá trị cao nhất là 0,85 ở locút HAUT27. Trung bình tần số dị hợp tử mong đợi (He.exp) và quan sát (He.ob) trên toàn bộ 26 locút tương ứng là $0,7255 \pm 0,1$ và $0,6755 \pm 0,106$. Giá trị thông tin đa hình (PIC) của mỗi locút dao động từ 0,50 đến 0,84.

So sánh với một số kết quả nghiên cứu đã công bố trên một số giống bò Châu Âu, Châu Phi, vùng Cận Đông, Hàn Quốc, Nhật Bản và Trung Quốc, Ấn Độ [16-20] cho thấy tính đa dạng di truyền của quần thể bò ở Hà Giang tương đương với bò Trung Quốc, Châu Phi và vùng Cận Đông, cao hơn các giống bò của Châu Âu. Điều này có thể lý giải do tập quán chăn nuôi thả tự do, không có sự chọn lọc và sự trao đổi mua bán bò giữa người dân xảy ra thường xuyên ở Hà Giang giống với Trung Quốc và vùng Cận Đông. Trong khi đó các giống bò ở Châu Âu được chọn lọc lâu dài, nuôi tập trung trong trang trại và thường sử dụng phương pháp thụ tinh nhân tạo trong nhân

giống vì vậy đã làm giảm tính đa dạng di truyền.

Kết quả phép kiểm định sự cân bằng di truyền của từng locút microsatellite đã cho thấy hầu hết các locút đều không ở trạng thái cân bằng ($p < 0,01$), trong đó chỉ có 7 locút (CSSM66, INRA63, BM1824, ILSTS006, HEL9, ETH225, TGL227) ở trạng thái cân bằng ($p > 0,01$). Do đó xét trên phương diện tổng thể thì quần thể bò ở Hà Giang không cân bằng di truyền. Theo Nei (1978) [21], lạc dòng di truyền, giao phối cận huyết, chọn lọc các tính trạng kinh tế liên kết với locút nghiên cứu, cách ly địa lý (isolate by distance) có thể là một trong những nguyên nhân dẫn đến không cân bằng di truyền của một quần thể.

3.2. Tính đa dạng và sự sai khác di truyền giữa các quần thể bò ở các huyện

Bảng 2 trình bày một số kết quả đánh giá tính đa dạng di truyền của mỗi quần thể bò phân bố ở 8 huyện thuộc tỉnh Hà Giang (Đồng Văn, Mèo Vạc, Yên Minh, Quản Bạ, Hoàng Su Phì, Xín Mần, Bắc Mê và Quang Bình). Nhìn chung các quần thể bò phân bố ở mỗi huyện đều thể hiện tính đa dạng cao và đồng đều nhau, hệ số cận huyết thấp, thấp nhất ở huyện Bắc Mê (Fis = 0,021) và cao nhất là ở huyện Quản Bạ (Fis = 0,13). Ngoại trừ ở huyện Bắc Mê, các huyện còn lại đều không ở trạng thái cân bằng di truyền.

Bảng 2. Tần số dị hợp tử quan sát (He.ob), dị hợp tử mong đợi (He.exp), trung bình số alen trên một locút (K), hệ số đồng huyết (Fis), kiểm định với giả thiết không tuân theo định luật di truyền Hardy-Weinberg ở các quần thể bò của 8 huyện

	N	He.exp	He.ob	K	Fis	HWE test
Quang Bình	17	0,719	0,678	6,478	0,059	**
Bắc Mê	50	0,703	0,688	7,739	0,021	NS
Hoàng Su Phì	42	0,721	0,701	7,435	0,029	*
Xín Mần	68	0,726	0,680	7,913	0,064	**
Quản Bạ	74	0,730	0,636	7,957	0,130	**
Yên Minh	75	0,732	0,699	8,087	0,046	**
Đồng Văn	124	0,718	0,683	8,609	0,049	**
Mèo Vạc	110	0,707	0,678	8,478	0,041	**

NS: không có ý nghĩa, *: Với ý nghĩa $P < 0,05$, **: Với mức ý nghĩa $P < 0,01$, N: số lượng cá thể trên mỗi quần thể

Sự sai khác di truyền giữa các quần thể bò của 8 huyện ước lượng theo giá trị F_{ST} [22] được thể hiện ở bảng 3. Kết quả cho thấy sự sai khác di truyền giữa các nhóm bò ở các huyện là

rất nhỏ (giá trị trung bình $F_{ST} = 0.013$). Theo Nei (1978) [21] nếu $F_{ST} < 0,05$ được cho là sai khác nhỏ, $0,5 < F_{ST} < 0,15$ là trung bình, $F_{ST} > 0,15$ là cao.

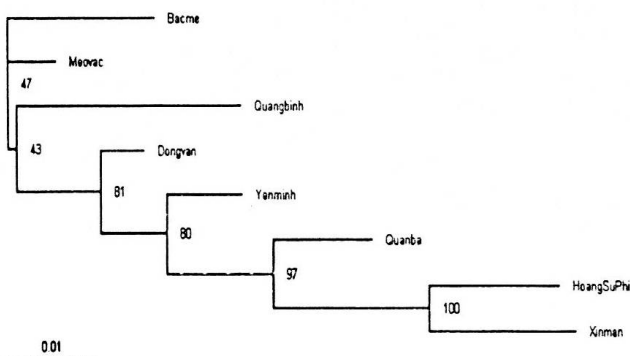
Bảng 3. Ma trận giá trị sai khác di truyền (F_{ST}) giữa các quần thể phân bố ở 8 huyện

	Quang Bình	Bắc Mê	Hoàng Su Phi	Xín Mần	Quản Bạ	Yên Minh	Đồng Văn	Mèo Vạc
Quang Bình		0,002	0,011	0,013	0,005	0,001	0,001	0,004
Bắc Mê			0,021	0,026	0,017	0,008	0,006	0,002
Hoàng Su Phi				0,002	0,008	0,011	0,011	0,019
Xín Mần					0,007	0,014	0,014	0,022
Quản Bạ						0,003	0,007	0,011
Yên Minh							0,004	0,006
Đồng Văn								0,004
Mèo Vạc								

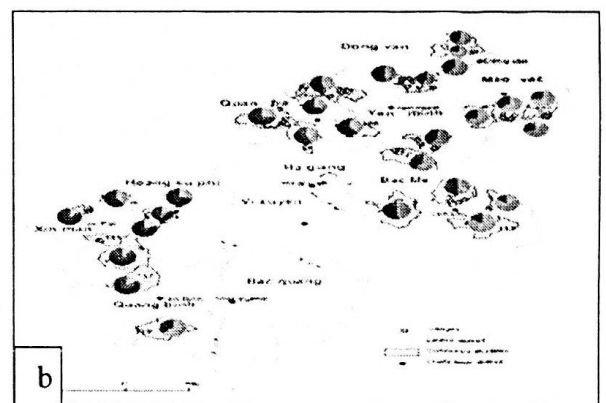
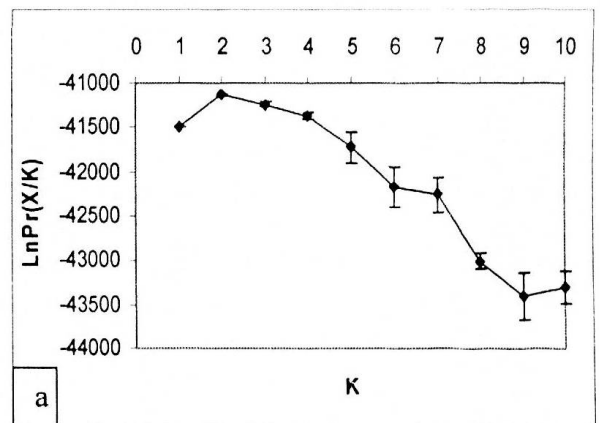
Cây phân loài di truyền của các quần thể bò ở 8 huyện được xây dựng dựa trên khoảng cách di truyền chuẩn của Nei (1972) [23] được trình bày ở hình 1. Kết quả cho thấy mối quan hệ di truyền giữa các quần thể bò ở 8 huyện có sự tương quan với khoảng cách địa lý (các quần thể càng gần nhau về địa lý thì chúng có mối quan hệ di truyền gần nhau và ngược lại). Trong đó quần thể bò thuộc 2 huyện Hoàng Su Phi và Xín Mần gần nhau nhất về khoảng cách địa lý tạo thành một nhóm gần nhau về mặt di truyền, tiếp đến lần lượt là các huyện Quản Bạ, Yên Minh, Đồng Văn, Mèo Vạc, Bắc Mê. Trong khi đó, quần thể bò ở huyện Quang Bình, mặc dù có khoảng cách địa lý rất xa so với Đồng Văn và Mèo Vạc nhưng lại có mối quan hệ di truyền gần nhau. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả phỏng vấn về nguồn gốc của bò ở huyện Quang Bình là do được chuyển từ các huyện Đồng Văn và Mèo Vạc thuộc một trường trình hỗ trợ của Nhà Nước.

3.3. Cấu trúc di truyền quần thể

Kết quả phân tích về khả năng phân nhóm các cá thể có sự tương đồng về di truyền (cluster) bằng phần mềm STRUCTURE được thể hiện hình 2 (a,b).



Hình 1. Cây phân loài di truyền của các quần thể bò ở 8 huyện.



Hình 2. a) Kết quả về khả năng phân chia thành các nhóm của quần thể bò ở Hà Giang. b) Tỷ lệ xác suất bò thuộc nhóm 1 và 2 tại các địa điểm nghiên cứu.

Hình 2a cho biết giá trị xác suất ($\text{LnPr}(X/K)$) quần thể được phân thành các nhóm (cluster) khác nhau về di truyền đối với mỗi giá trị K (số nhóm). Tại giá trị giả thiết $K=1$ (một nhóm) thì giá trị $\text{LnPr}(X/K)$ nhỏ, với $K=2$ (hai nhóm) giá trị $\text{LnPr}(X/K)$ đạt lớn nhất, với $K=3$ thì giá trị này lại giảm đi. Khi giả thiết số nhóm K càng tăng thì giá trị $\text{LnPr}(X/K)$ càng giảm và không đồng nhất giữa các lần chạy lặp lại với mỗi giá trị K. Như vậy, hình 2a cho thấy khả năng quần thể phân thành 2 nhóm bò khác nhau về di truyền là cao nhất. Hình 2b thể hiện tỷ lệ xác suất cá thể bò tại mỗi địa điểm nghiên cứu được chỉ định thuộc mỗi nhóm tương ứng. Tỷ lệ xác suất thuộc nhóm thứ nhất tập trung ở các xã của huyện Hoàng Su Phì, Xín Mần và xã Tân Nam của Quang Bình. Tỷ lệ bò thuộc nhóm thứ 2 tập trung chủ yếu ở các huyện phía Bắc như Đồng Văn và Mèo Vạc. Ở các huyện Quản Bạ, Yên Minh và Bắc Mê tỷ lệ bò thuộc nhóm một và nhóm thứ hai là ngang nhau. Trong đó đáng chú ý là hai xã Yên Phong và Yên Cường thuộc huyện Bắc Mê có tỷ lệ bò thuộc nhóm 2 cao, điều này hoàn toàn phù hợp do sự di chuyển của một số hộ dân sống giáp biên giới khi xảy ra giao tranh vào năm 1979. Qua kết quả hình 2b một lần nữa cho thấy rằng tỷ lệ bò ở xã Xuân Giang của huyện Quang Bình chủ yếu thuộc nhóm 2 giống với bò ở các huyện Đồng Văn, Mèo Vạc như đã thảo luận ở trên.

Điều đáng chú ý là hai nhóm bò này chủ yếu phân bố ở hai vùng tiểu sinh thái khác nhau, Hoàng Su Phì và Xín Mần thuộc vùng cao núi đất, Đồng Văn và Mèo Vạc thuộc vùng cao núi đá. Hơn nữa, ở các huyện Hoàng Su Phì và Xín Mần chủ yếu tập trung sinh sống bởi người dân tộc Nùng và Dao còn ở các huyện Đồng Văn và Mèo Vạc chủ yếu là người H'mông sinh sống. Như vậy bên cạnh khả năng do cách xa nhau về mặt địa lý thì phong tục tập quán của từng dân tộc có thể là một trong những nguyên nhân làm cho có sự khác nhau giữa hai nhóm bò. Mặt khác, ngoài giống bò H'mông có từ lâu đời được nuôi giữ bởi người dân tộc H'mông thì quần thể bò ở Hà Giang còn

có thể có các giống bò khác, như bò vàng, bò lai sind cũng là những nguyên nhân dẫn đến sự đa dạng di truyền và cấu trúc di truyền của quần thể bò ở Hà Giang.

4. Kết luận

Quần thể bò ở tỉnh Hà Giang có tính đa dạng di truyền cao được thể hiện qua các giá trị đa hình các alen và tần số di hợp tử cao, tương ứng là 8.9 và 0.73. Mức độ phát tán gen cao do sự trao đổi, mua bán bò giữa người dân ở các vùng trên toàn tỉnh Hà Giang.

Cấu trúc di truyền quần thể bò ở Hà Giang được phân thành hai nhóm chính (quần thể phụ) khác nhau về mặt di truyền, phân bố chủ yếu ở hai tiểu vùng sinh thái khác nhau: vùng cao núi đá (Đồng Văn, Mèo Vạc) và vùng cao núi đất (Hoàng Su Phì, Xín Mần).

Bảo tồn quần thể bò ở Hà Giang nên tập trung vào hai nhóm bò có sự khác nhau nhiều về di truyền ở các huyện Hoàng Su Phì, Xín Mần và Đồng Văn, Mèo Vạc.

Lời cảm ơn

Tập thể tác giả xin gửi lời cảm ơn tới toàn thể các cán bộ thuộc hợp phần phòng thí nghiệm và thực địa của dự án Biodiva-hợp tác giữa Viện Chăn Nuôi và trung tâm CIRAD Cộng hòa Pháp. Đặc biệt là các cán bộ thuộc hợp phần thực địa đã thu thập và cung cấp các mẫu sinh học, các chuyên gia đã hướng dẫn sử dụng các phần mềm thống kê trong việc phân tích di truyền.

Tài liệu tham khảo

- [1] J.S.C. Barker, S.S. Moore, D.J.S. Hetzel, D. Evans, S.G. Tan, K. Byrne, Genetic diversity of Asian water buffalo (*Bubalus bubalis*): microsatellites variation and a comparison with protein coding loci, *Animal genetics* 28 (1997)103.

- [2] D.E. MacHugh, R.T. Loftus, D.G. Bradley, P. Sharp, P. Cunningham, Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds, *Proceeding of Royal Society of London B* (1994) 25.
- [3] D.E. MacHugh, R.T. Loftus, P. Cunningham, D.G. Bradley, Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers, *Animal Genet.* 29(1998) 333.
- [4] K. Moaza-Goudarzi, D.Vai man, D. Mercier, Emploi de microsatellite pour l'analyse de la diversite' geneticque des races vovinces francaise: premiers resultas, *Genetics Selection and Evolution.* 26 (suppl1) (1994) 155.
- [5] K. Moazami-Goudarzi, D. Laloe, J.P. Furet, F. Grosclaude, Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites, *Anim. Genet.* 28 (1997) 338.
- [6] R. Ciampolini, K. Moazami-Goudarzi, D. Vaiman, C. Dillman, E. Mazzanti, J.L Foulley, H. Leveziel, D.Cianci (1995), Individual multilocus genotypes using microsatellite polymorphisms to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle breeds, *J. Animal Sci.* 73(1995) 3259.
- [7] J.J. Arranz, Y. Bayon, F. San Primitivo, Comparision of protein markers and microsatellites in differentiation of cattle popultion, *Animal Genetics* 27 (1996) 415.
- [8] L.Yang, S.H. Zhao, K. Li, Z.Z. Peng and G.W. Montgomery, Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers, *Animal Genetics* 30 (1999) 452.
- [9] S.J. Li, S.H. Yang, S.H. Zhao, B. Fan, M. Yu, H.S. Wang, M.H. L, B. Liu, T.A. Xiong and K. Li, Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites, *J. Anim. Sci.* 82 (2004), 368.
- [10] T.Vanhala, M. Tuiskula-Haavisto, K. Elo, J.Vilkki, and A. Maki-Tanila, Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers, *Poultry Science* 77 (1998) 783.
- [11] Lê Việt Ly Hoàng Kim Giao, Mai Văn Sánh, Võ Văn Sữ, *Chuyên khảo bảo tồn nguồn gen vật nuôi ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 1999.
- [12] S. Wright, The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating, *Evolution* 19 (1965) 395.
- [13] D. Botstein, R.L. White, M. Skolnick and R.W. Davis, Contruction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, *Am. J. Hum. Genet.* 32(3) (1980) 314.
- [14] S.W. Guo, E.A. Thomson, Performing the exact test of Hardy Weinberg proportions for multiple alleles, *Biometrics* 48 (1992) 361.
- [15] J.K. Pritchard, M. Stemphens, P. Donnelly, Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics* 155 (2000) 945.
- [16] I. Martin-Burriel, E. Garcia-Muro, P. Zaragoza, Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites, *Anim. Genet.* 30 (1999) 177.
- [17] R.A. Brenneman, C.C. Chase, T.A.. Olson, D.G. Riley, S.W. Coleman, Genetic diversity among Angus, American Brahman, Senepol and Romosinuano cattle breeds, *Animal Genetics* 38 (2006) 50.
- [18] R.T. Loftus, O. Ertugruk, A.H. Harba, M.A.A. El-barody, D.E. Machugh, S.D.F. Park, D.G. Bradley, A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East, *Molecular Ecology* 8 (1999) 2015.
- [19] M. Mukesh, D. Sodhi, S. Bhatia, B.P. Mishra, Genetic diversity of Indian native cattle breeds as analysed with 20 microsatellite loci, *J. Anim. Breed. Genet.* 121 (2004) 416.
- [20] K.S. Kim, J.S. Yeo, C.B. Choi, Genetic diversity of north-east Asian cattle based on microsatellite data, *Animal Genetics* 33 (2001) 201.
- [21] M. Nei, Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals, *Genetics* 89 (1978) 283.
- [22] B.S. Wei, C.C. Cockerham, Estimating F-statistics for the analysis of population structure, *Evolution* 38 (1984) 1358.
- [23] M. Nei, Genetic distance between populations, *Am. Na* 106 (1972) 283.

Using microsatellite technique to assess the genetic diversity and genetic structure of cattle population in Ha Giang province

Pham Doan Lan¹, Nguyen Trong Binh¹, Vu Chi Cuong¹, Jean- Charles Maillard²

¹National Institute of Animal Husbandry, Thuy Phuong, Tu Liem, Hanoi, Vietnam

²CIRAD Regional Director for Continental South East Asia, 35 Dien Bien Phu, Hanoi, Vietnam

The objective of this study was to assess the genetic diversity and genetic structure of cattle population in Ha Giang province. Twenty-three microsatellites were used to genotype of 530 cattle individuals, which were randomly selected from 28 communes of 8 districts. A total of 205 alleles were observed in total population. The allelic diversity (average number (\pm SD) of alleles per locus) was 8.9 ± 2.05 . The average observed and expected heterozygosity for the population was 0.67 and 0.73, respectively. The polymorphic information content (PIC) value of each locus ranged from 0.50 to 0.84. The average genetic variation between district cattle populations was very low with F_{ST} value of 0.013. The STRUCTURE software program was used for cluster (subpopulation) analysis. The algorithm of this software attempts to identify genetically distinct subpopulations on the basis of patterns of allele frequencies and the result showed that two subpopulations of cattle in Ha Giang province were observed.

Keywords: Genetic diversity, population, genetic structure, microsatellite.