

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NHA TRANG**

NGUYỄN HỮU HÙNG

**NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN VÀ CÁC THÔNG SỐ DI TRUYỀN
THEO TÍNH TRẠNG TĂNG TRƯỞNG PHỤC VỤ CHỌN GIỐNG TÔM SÚ
(*PENAEUS MONODON* FABRICIUS, 1798)**

**Ngành đào tạo: Nuôi trồng thủy sản
Mã số: 9620301**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

KHÁNH HÒA, 2020

Công trình được hoàn thành tại Trường Đại học Nha Trang

Người hướng dẫn khoa học:

1. TS. Nguyễn Văn Hảo
2. PGS. TS. Lại Văn Hùng

Phản biện 1: TS Nguyễn Minh Thành

Phản biện 2: TS Trần Thị Thúy Hà

Phản biện 3: TS Đặng Thúy Bình

Luận án được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp trường họp tại

Trường Đại học Nha Trang vào hồi 8 giờ ngày 19 tháng 9 năm 2020

Có thể tìm hiểu luận án tại : Thư viện Quốc gia và Thư viện Trường Đại học Nha Trang

MỞ ĐẦU

Nghề nuôi tôm nước lợ ở Việt Nam phát triển mạnh cả về quy mô và mức độ thâm canh trong những năm gần đây. Theo Tổng cục Thủy sản, năm 2017, tổng diện tích nuôi tôm nước lợ gồm tôm sú và tôm thẻ chân trắng của cả nước đạt 721.100 ha, trong đó diện tích nuôi tôm sú 595.000 ha (chiếm 82,5%) và diện tích nuôi tôm thẻ chân trắng 110.100 ha (chiếm 17,5%). Tổng sản lượng tôm nước lợ nuôi đạt 701.000 tấn, trong đó 270.500 tấn tôm sú và 430.500 tấn tôm thẻ chân trắng. Sản lượng giống tôm nước lợ cả nước đạt hơn 104,4 tỷ con, được sản xuất từ 1.863 cơ sở sản xuất giống. Nhu cầu con giống cho nuôi thương phẩm tôm sú khoảng 30 tỷ con/năm (Tổng cục thủy sản, 2017). Tuy nhiên, phần lớn tôm sú bố mẹ cung cấp cho các trại sản xuất giống đều phải nhập từ nước ngoài và khai thác tự nhiên. Thực tiễn cho thấy nhu cầu tôm sú giống hiện nay của người nuôi hoàn toàn được đáp ứng bằng sản xuất trong nước, nhưng chất lượng tôm giống luôn là vấn đề nan giải, tốc độ tăng trưởng chậm, kích cỡ không đồng đều là những trở ngại chính của nghề nuôi tôm sú trong những năm qua. Tôm sú giống không được kiểm soát chặt chẽ về các tiêu chuẩn chất lượng nguồn tôm bố mẹ cũng như mầm bệnh dẫn đến những tổn thất to lớn cho người nuôi tôm do năng suất ngày càng giảm và dịch bệnh xảy ra thường xuyên. Do vậy việc chủ động phát triển dòng tôm sú bố mẹ chất lượng cao tăng trưởng nhanh và sạch bệnh thông qua chọn giống tại Việt Nam là hết sức cần thiết.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về tôm sú trước năm 2000 tập trung vào lĩnh vực sinh học, sinh sản và sản xuất giống. Từ năm 2000 đến nay, các nghiên cứu gia hóa tôm sú đã thực hiện chủ yếu là phát triển công nghệ nuôi khép kín vòng đời (kỹ thuật ương nuôi từ giai đoạn hậu ấu trùng PL15 đến kích cỡ tôm bố mẹ không qua chọn giống). Mặc dù đã có một số chương trình chọn giống tôm sú tiến hành trên thế giới nhưng vì những lý do liên quan đến việc bảo mật công nghệ nên những công trình này không được công bố và cũng không được chuyên giao.

Từ các phân tích trên cho thấy sự cần thiết phải tiến hành một chương trình nghiên cứu về chọn giống cho đối tượng này ở Việt nam. Đề tài nghiên cứu sinh “ Nghiên cứu đa dạng di truyền và các thông số di truyền theo tính trạng tăng trưởng phục vụ chọn giống tôm sú” được thực hiện dựa trên những thành công trong thực tiễn sản xuất và các thông tin được công bố của các công trình nghiên cứu có tính cơ bản và thực nghiệm trong lĩnh vực ứng dụng di truyền số lượng và di truyền phân tử trong chọn tạo giống

của một số đối tượng thủy sản trong đó có tôm sú được công bố trong và ngoài nước. Các công trình nghiên cứu trong nước chủ yếu thuộc lĩnh vực sản xuất giống, gia hóa trên tôm sú và chọn tạo giống trên tôm càng xanh thuộc các đơn vị như trường Đại học Cần Thơ, Đại học Nha Trang và các Viện nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I, II, III thuộc Bộ NN&PTNT. Các công trình nghiên cứu ngoài nước trong lĩnh vực gia hóa trên tôm sú, di truyền số lượng và di truyền phân tử trên các đối tượng giáp xác phần lớn phần lớn do các tổ chức như CSIRO (Úc), Viện Hải Dương Hawaii thực hiện. Luận án Nghiên cứu sinh thực hiện là một trong những nội dung quan trọng của đề tài cấp nhà nước “Ứng dụng di truyền số lượng và di truyền phân tử để tạo vật liệu ban đầu cho chọn giống tôm sú theo tính trạng tăng trưởng” thuộc Đề án phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong nông nghiệp và thủy sản đến năm 2020 của Bộ NN&PTNT do Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II chủ trì thực hiện.

Mục tiêu của luận án:

Xác định được đa dạng di truyền và các thông số di truyền cơ bản làm cơ sở tạo được quần đàn tôm sú có biến dị di truyền cao làm vật liệu ban đầu phục vụ cho chọn giống tôm sú theo tính trạng tăng trưởng.

Để đạt được mục tiêu trên, luận án đã thực hiện các nội dung sau:

1. Đánh giá biến dị di truyền của các dòng tôm sú vật liệu ban đầu bằng kỹ thuật Microsatellite.
2. Đánh giá tăng trưởng các dòng tôm bằng phương pháp lai hỗn hợp làm cơ sở hình thành vật liệu ban đầu cho chương trình chọn giống.
3. Ước tính một số thông số di truyền cơ bản trên quần đàn tôm sú đã được thiết lập.

Ý nghĩa của luận án:

- Ý nghĩa khoa học:

Cung cấp cơ sở khoa học về đánh giá mức độ biến dị của các dòng tôm sú thu thập về tạo quần đàn chọn giống ban đầu có tính đa dạng di truyền cao bằng phép lai hỗn hợp, kết quả ước tính các thông số di truyền chính với bộ dữ liệu phong phú và các phương pháp ước tính có độ tin cậy cao.

Kết quả nghiên cứu đã cung cấp cơ sở khoa học về lý luận và thực tiễn của quần đàn chọn giống có nhiều triển vọng về cải thiện chất lượng di truyền trong các thế hệ kế tiếp. Đây chính là nền tảng quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo trên đối tượng này.

- Ý nghĩa thực tiễn:

Đề tài đã tạo ra sản phẩm là đàn tôm sú chọn giống thế hệ thứ nhất (G_1), sạch bệnh với các thông số di truyền khả quan. Đây là nguồn vật liệu ban đầu cho các thế hệ chọn giống tiếp theo. Tôm chọn giống sạch bệnh và tăng trưởng nhanh hơn so với tôm giống được sản xuất từ tôm bố mẹ đánh bắt tự nhiên, khi được thương mại hóa sẽ cung cấp cho thị trường con giống có tính trạng tăng trưởng nhanh, không mang mầm bệnh. Điều này giúp giải quyết hai hạn chế lớn nhất của chất lượng tôm sú giống hiện nay là nhiễm bệnh và tăng trưởng chậm đã làm ngành công nghiệp này chậm phát triển trong những năm gần đây.

Điểm mới của luận án:

Kết quả của luận án cung cấp thông tin về mức độ đa dạng di truyền của bốn dòng tôm sú vật liệu ban đầu, đồng thời xác định được các thông số di truyền liên quan đến tính trạng tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm, góp phần bổ sung vào hiểu biết về di truyền số lượng trong chọn giống thủy sản. Đây là kết quả mới góp phần định hướng cho những nghiên cứu tiếp theo và dài hơi hơn trên đối tượng này.

CHƯƠNG I: TỔNG QUAN

1.1. Thành tựu chương trình chọn giống các đối tượng thủy sản trong nước và trên thế giới

1.1.1. Các chương trình chọn giống trên đối tượng thủy sản

Chương trình chọn giống thủy sản đầu tiên trên thế giới được tiến hành trên cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*) bắt đầu từ năm 1971 ở Na Uy (Gjedrem và ctv., 1991; Gjedrem, 2005). Di truyền số lượng cũng như các mô hình toán, phần mềm được ứng dụng trong chọn giống trên cá Hồi Đại Tây Dương, cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*) ở Na Uy, Phần Lan và Đan Mạch (Gjedrem, 2005), cá Tuyết ở Na Uy (Kolstad và ctv., 2006), cá rô phi (Eknath và ctv., 1993), cá rô hu ở Ấn Độ, hàu Thái Bình Dương, tôm he Nhật Bản (Hetzl và ctv., 2000), tôm thẻ chân trắng (Argue và ctv., 2002; Donato và ctv., 2005; 2008), tôm vỏ cứng ở Úc (Jerry và ctv., 2005). Kết quả ban đầu cho thấy hiệu quả chọn lọc tăng trưởng của các loài tôm khá cao, tăng khoảng 4 -15% sau mỗi thế hệ chọn lọc.

Ở Việt Nam, chương trình chọn giống thủy sản được tiến hành trên một số đối tượng như cá mè trắng Trung Quốc (*Hypophthalmichthys molitrix*), cá mè trắng Việt Nam (*Hypophthalmichthys harmandi*) (Trần Mai Thiên và ctv., 1987), cá chép (*Cyprinus carpio*) (Trần Đình Trọng, 1983), cá mè vinh (*Barbonymus gonionotus*) (Nguyễn Văn Hảo và ctv., 2003), cá rô phi vằn dòng GIFT (*Oreochromis niloticus*) (Nguyễn Công Dân và ctv., 2003; Nguyễn Văn Hảo và ctv., 2005; Luan, 2008), tôm càng xanh (Thanh và ctv., 2009), tôm thẻ chân trắng (Nguyễn Hữu Ninh và ctv., 2018), tôm sú (Nguyễn Văn Hảo và ctv., 2015).

1.1.2. Tính đa dạng về mặt địa lý của thu thập vật liệu ban đầu để hình thành quần thể chọn giống

Chương trình chọn giống cá hồi Đại Tây Dương (*S. salar*) thu thập các đàn cá hoang dã từ 40 con sông khác nhau của Na Uy (Gjedrem và ctv., 1991). Quần thể cá rô phi GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) (*O. niloticus*) được tạo ra từ 8 dòng cá khác nhau (Bentsen và ctv., 1998., Eknath và ctv., 2007). Cá rô phi đỏ được thu thập từ 7 dòng cá rô phi nuôi trên khắp khu vực châu Mỹ La Tinh. Quần thể ban đầu của chương trình chọn giống tôm sú của công ty Moana được hình thành từ các quần đàn tôm tự nhiên đánh bắt từ 7 vùng khác nhau ở khu vực châu Á.

Ở Việt Nam, nghiên cứu chọn giống tôm càng xanh (*M. rosenbergii*), vật liệu

ban đầu gồm 3 dòng tôm (dòng Mê Kông, Đồng Nai, Malaysia) (Thanh và ctv., 2009). Chọn giống cá chép, quần thể ban đầu gồm 3 dòng cá chép Việt Nam, Hungary và Indônêxia (Nguyễn Hữu Ninh, 2010). Chọn giống tôm chân trắng với quần đàn vật liệu ban đầu từ 7 đàn tôm chân trắng nhập nội (Trần Thế Muru, 2015).

1.1.3. Đánh giá vật liệu ban đầu cho chương trình chọn giống

Có hai phương pháp hình thành quần thể ban đầu cho chọn giống. Phương pháp thứ nhất là thu thập tôm từ nhiều dòng khác nhau, sau đó cho phối ngẫu nhiên, không giới hạn giữa các dòng, trong thế hệ đầu tiên. Đây là phương pháp được sử dụng để hình thành quần thể chọn giống cá hồi Đại Tây Dương tại Na Uy (Gjedrem và ctv., 1991). Phương pháp thứ hai là lai hỗn hợp giữa các dòng, sau đó chọn lọc với cường độ thấp trong thế hệ chọn giống đầu tiên. Phương pháp này được sử dụng để tạo quần thể cá rô phi vằn (*O. niloticus*) thuộc chương trình GIFT (Bentsen và ctv., 1998).

1.1.4. Đảm bảo an toàn sinh học và sạch bệnh trong chọn giống tôm

Đảm bảo an toàn sinh học và sạch bệnh là điều kiện tiên quyết đối với nghiên cứu chọn giống và đã được áp dụng cho: Chương trình chọn giống của Viện Hải Dương Học Hawaii – Mỹ (OI) trên tôm thẻ chân trắng, chương trình nghiên cứu gia hóa tôm sú bố mẹ sạch bệnh tại Malaysia, chương trình gia hóa tôm sú của CSIRO – Úc, chương trình chọn giống tôm sú của công ty Moana – Hawaii.

1.1.5. Kỹ thuật đánh dấu trong chọn giống thủy sản

Phẩm màu huỳnh quang đã được ứng dụng đánh dấu thành công trên giun (Butt và ctv., 2009), lươn (Imbert và ctv., 2007), lưỡng cư (Heemeyer và ctv., 2007), giáp xác (Zeeh and Wood., 2009), cá (Astorga và ctv., 2005; Doupé và ctv., 2003; Jensen và ctv., 2008; Woods và Martin-Smith, 2004), trên một số loài tôm khác nhau (Coman và ctv., 2010; Fuller và ctv., 2009; Godin và ctv., 1996; Pillai và ctv., 2007), crayfish (Mazlum, 2007), tôm hùm (Frisch và Hobbs, 2006; Uglem và ctv., 1996; Woods và James, 2003) và tôm càng xanh (Dinh Hung và ctv., 2012).

1.1.6 Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường trong chọn giống thủy sản

Các nghiên cứu đánh giá tương tác $G \times E$ đã được công bố nhiều trên cá rô phi (Uraivan và ctv., 1995; Maluwa và ctv., 2006; Bentsen và ctv., 2012; Khaw và ctv., 2012; Trọng và ctv., 2013). Hầu hết các nghiên cứu trên cá rô phi đều cho mức độ tương tác $G \times E$ từ cao đến thấp, tương quan di truyền (r_g) từ 0,64 đến 0,89. Các loài cá hồi (cá hồi Đại Tây Dương, cá hồi vân, ..) cũng được nhiều tác giả tập trung nghiên cứu

(Winkelman và Peterson, 1994; Fishback và ctv., 2002; Kause và ctv., 2003; Kolstad và ctv., 2006; Pierce và ctv., 2008) và hầu hết tương quan di truyền (r_g) > 0,72. Ngoài ra, những nghiên cứu trên cá chép (*Cyprinus carpio*) (Wang và ctv., 2007; Ponzoni và ctv., 2008b), cá vược (*Lates calcarifer*) (Saillant và ctv., 2006; Dupont-Nivet và ctv., 2008; Domingos và ctv., 2013), hào (*Crassostrea gigas*) (Kvingedal và ctv., 2007; Swan và ctv., 2007), tương tác G × E ở các đối tượng này cũng biến đổi từ 0,70 đến 0,97. Tóm lại, tương tác G × E đã được công bố trên hầu hết các loài cá là thấp, không đáng kể. Ngược lại, với những nghiên cứu khá phong phú đã được công bố trên các loài cá, các nghiên cứu trên giáp xác nói chung và trên tôm nói riêng còn rất hạn chế.

1.1.7. Hệ số di truyền và tương quan di truyền

Hệ số di truyền đối với các tính trạng khác nhau trên tôm đã công bố bởi các tác giả: Lester (1998), Wong và McAndrew (1990), Benzie và ctv (1997), Benzie và ctv (1997), Fjalestad và ctv (1997), Hetezel và ctv (2000), Argue và ctv (2002), Goyard và ctv (2002), Perez-Rostro và Ibrara (2003a), Perez-Rostro và Ibrara (2003b), Gitterle và ctv (2005a), Gitterle và ctv (2005b). Theo đó hệ số di truyền của các loài tôm chọn lọc theo khối lượng thân dao động từ 0,10-0,47. Hệ số di truyền chọn lọc theo chiều dài tổng khá dao động trong khoảng từ 0,08-0,84 có khả năng chịu ảnh hưởng của quá trình biến thái của tôm. Các hệ số di truyền chọn lọc của các tính trạng khác thường khá thấp như: chống chịu virus đốm trắng (0,03), chống chịu ammonia (0,11).

1.1.8. Hiệu quả chọn lọc

Hiệu quả chọn lọc trên các đối tượng thủy sản thường khá cao, lên đến 10 đến 20% mỗi thế hệ như trên cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*) (Gjedrem, 2000; Quinton và ctv., 2005), cá hồi coho (*Oncorhynchus kisutch*) (Hershberger và ctv., 1990; Neira và ctv., 2004), cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) (Dunham, 2007), cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) (Bentsen và ctv., 1998; Ponzoni và ctv., 2005; Eknath và ctv., 2007; Trọng và ctv., 2013), cá chép Ấn Độ (*Labeo rohita*) (Mahapatra và ctv., 2006) và cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) (Sang và ctv., 2012). Khác với các nghiên cứu trên cá, đối với giáp xác, có rất ít chương trình chọn giống và chủ yếu tập trung vào một số loài tôm biển (Hetezel và ctv., 2000; Argue và ctv., 2002; Goyard và ctv., 2002; Preston và ctv., 2004; Donato và ctv., 2005; Gitterle và ctv., 2005a; Gitterle và ctv., 2005b; Gitterle và ctv., 2006), tôm càng nước ngọt (Jones và Ruscoe, 2000; Jerry và ctv., 2005), tôm càng xanh (*Macrobrachium rosenbergii*) (Luan và ctv., 2012; Hung và

ctv., 2013a; Hung và ctv., 2013b; Hung và Nguyen, 2014; Hung và ctv., 2014; Luan và ctv., 2014; Luan và ctv., 2015).

1.2. Gia hóa và khép kín vòng đời các đối tượng chọn giống trong điều kiện nhân tạo

Trên thế giới, gia hóa tôm bắt đầu được thực hiện từ rất sớm giữa thập niên 70, gồm: tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) và tôm thẻ thân xanh (*Litopenaeus stylirostris*) (Cuzon và ctv., 2004), tôm sú (Aquacop, 1977, 1979; Primavera và Gabasa, 1981; Primavera, 1983; Subramaniam và ctv., 2006). Ở Việt Nam, mặc dù nhiều chương trình nghiên cứu trong nước về tôm sú bố mẹ đã được công bố nhưng việc khép kín vòng đời tôm sú từ trứng đến tôm bố mẹ và tạo ra các thế hệ gia hoá ở điều kiện nuôi trong nhà lần đầu tiên đã thành công và bước đầu thương mại hóa quy mô nhỏ đó là chương trình “Gia hoá khép kín vòng đời và sản xuất tôm sú bố mẹ và tôm sú giống sạch bệnh” (Hoa, 2009).

1.3. Ứng dụng chỉ thị microsatellite để đánh giá biến dị di truyền trong chọn giống các đối tượng trồng thủy sản

Ngày nay, các marker phân tử, chủ yếu là AFLP và microsatellite đã được sử dụng rộng rãi để đánh giá đa dạng di truyền giữa quần đàn tự nhiên và quần đàn gia hóa cho một số đối tượng thủy sản có giá trị kinh tế như cá hồi (Skaala và ctv., 2004), cá chép (Kohlmann và ctv., 2005), rô phi (Romana-Eguia và ctv., 2004), và vài loài tôm biển (Moore và ctv., 1999; Xu và Thornalley, 2001; Cruz và ctv., 2004; Dixon và ctv., 2008).

1.4. Ứng dụng các phương pháp hiện đại (MAS – Marker Assisted Selection; GWS – Genome Wide Selection) trong chọn giống

Chọn giống dựa trên chỉ thị phân tử liên kết với tính trạng quan tâm gọi tắt là MAS (marker-assisted selection) là một quy trình sử dụng chỉ thị phân tử để chọn lọc gián tiếp của một hoặc nhiều yếu tố quyết định di truyền một tính trạng quan trọng, đây là phương pháp được thế giới ủng hộ mạnh mẽ bởi vì kỹ thuật này đã rút ngắn được thời gian lai tạo giống và có thể cho kết quả sau ba thế hệ chọn lọc. MAS cho phép lựa chọn kiểu gen không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố môi trường. MAS cũng làm tăng hiệu quả của các lựa chọn vì nó có thể được sử dụng trong giai đoạn cây giống, nó cũng phân biệt

các đồng hợp tử với dị hợp tử, lựa chọn cho một số đặc tính cùng lúc (Tanksley và Nelson, 1996).

Chọn lọc dựa trên việc tầm soát toàn bộ bộ gen (GWS-Genomic Wide Selection) thực chất sự ảnh hưởng khác nhau của các kiểu gen (cùng một gen) lên tính trạng quan tâm. Phương pháp này cho phép xác định tất cả các SNP (Single Nucleotide Polymorphism) có liên quan đến tính trạng quan tâm, trên toàn bộ bộ gen. Tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi đầu tư cao và chưa được ứng dụng phổ biến. Theo Meuwissen và ctv., 2001, cách tiếp cận GWS, nếu một chỉ thị mất cân bằng liên kết với locus quy định tính trạng số lượng (QTL - quantitative trait locus), một số alen của chỉ thị tương quan với các tác động tích cực của QTL trong tất cả các gia đình và do đó có thể được sử dụng mà không cần sự cần thiết phải thiết lập giai đoạn liên kết trong mỗi gia đình. Ngoài ra, dữ liệu kết hợp kiểu gen và kiểu hình có thể được sử dụng để ước tính giá trị di truyền hoặc dự đoán các giá trị kiểu hình của đặc điểm quan tâm. Chọn lọc dựa trên việc tầm soát toàn bộ bộ gen đã được nghiên cứu rộng rãi và phát triển ứng dụng trong chăn nuôi (Solberg và ctv., 2008). Trong nuôi trồng thủy sản, một đánh giá gần đây về MAS trong các chương trình chọn giống cá, Sonesson (2003) cho rằng, MAS sẽ có giá trị đối với các tính trạng khó có thể ghi lại, quan sát như kháng bệnh, chất lượng phi lê, hiệu quả thức ăn và thành thực.

CHƯƠNG II: PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian, địa điểm và phạm vi nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là tôm sú (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798).

2.1.2. Thời gian nghiên cứu

Thời gian thực hiện nghiên cứu từ năm 2013 đến 2018, trong đó thời gian thu mẫu phân tích số liệu được thực hiện từ năm 2012 đến 2015.

2.1.3. Địa điểm nghiên cứu

- Trung tâm Quốc gia giống Hải sản Nam Bộ - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Thực hiện các nội dung chủ yếu của luận án.

- Trung tâm Quốc gia giống Hải sản miền Trung – Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III. Thực hiện nội dung đánh giá tương tác kiểu gen – môi trường.

- Trại Nghiên cứu Thực nghiệm Bạc Liêu – Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Thực hiện nội dung đánh giá tương tác kiểu gen – môi trường (G x E).

- Doanh nghiệp tư nhân Đăng Lâm (Vũng Tàu). Thực hiện nội dung đánh giá tương tác kiểu gen – môi trường (G x E).

- Phòng Sinh học Thực nghiệm - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Thực hiện nội dung đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite.

- Trung tâm Quan trắc môi trường và dịch bệnh Thủy sản Nam Bộ - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Thực hiện nội dung xét nghiệm sàng lọc các tác nhân gây bệnh virus thường gặp.

2.1.4. Phạm vi nghiên cứu

Nghiên cứu được giới hạn trong nguồn vật liệu thu thập từ các vùng biển qua các nhà cung cấp. Các nghiên cứu được triển khai ở khu vực Nam Trung Bộ và Đồng bằng sông Cửu long. Việc nghiên cứu đa dạng di truyền giới hạn trong việc sử dụng công cụ microsatellite và các thông số di truyền được ước tính trong hai thế hệ G_0 và G_1 .

2.2. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là tôm sú bố mẹ được thu thập từ Thái Lan, Singapore và Việt Nam với tổng số 460 tôm cái và 376 tôm đực.

2.2.1. Vật liệu nghiên cứu cho đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite

Mẫu chân bơi được thu ngẫu nhiên từ bốn dòng tôm sú bố mẹ với tổng số mẫu phân tích là 137 mẫu.

Môi sử dụng cho nghiên cứu là của hãng Sigma, tổng số 15 cặp môi microsattlite được sử dụng để đánh giá đa dạng di truyền bốn dòng tôm sú vật liệu ban đầu.

2.2.2. Vật liệu nghiên cứu cho đánh giá dòng bằng phép lai hỗn hợp và ước tính một số thông số di truyền cơ bản

- Tổng số 69 gia đình tôm sú từ 16 tổ hợp lai hình thành thế hệ G_0 với số lượng 200 con/gia đình, kích cỡ trung bình 2g/con tạo ra từ bốn dòng tôm vật liệu ban đầu có nguồn gốc khác nhau.

- Tổng số 76 gia đình thế hệ thứ nhất (G_1) với 7.412 tôm kích cỡ từ 2 - 3g/con.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite

Phương pháp nghiên cứu gồm các bước: chuẩn bị mẫu, tách chiết ADN tổng số, khuếch đại microsatellite bằng kỹ thuật PCR, chạy điện di trên Gel Agarose kiểm tra sản phẩm PCR, phân tích allel.

2.3.2. Phương pháp đánh giá tăng trưởng các dòng tôm bằng phương pháp lai hỗn hợp

2.3.2.1. Phương pháp nuôi thành thực, cho sinh sản tôm bố mẹ và ương nuôi ấu trùng

Phương pháp sử dụng gồm: phương pháp nuôi cách ly, phương pháp nuôi vỗ thành thực tôm bố mẹ, phương pháp cấy tinh, phương pháp cắt mắt tôm mẹ, phương pháp kiểm tra tôm thành thực, phương pháp cho sinh sản, phương pháp thu trứng, rửa trứng và ấp trứng, phương pháp ương nuôi ấu trùng từ Nauplius đến hậu ấu trùng PL15, phương pháp ương từ giai đoạn hậu ấu trùng PL15 đến kích cỡ đánh dấu, phương pháp nuôi tăng trưởng trong bể an toàn sinh học, phương pháp nuôi tăng trưởng trong ao đất ở các vùng địa lý khác nhau.

2.3.2.2. Phương pháp nuôi tăng trưởng các gia đình tôm thế hệ G_0 và G_1

* *Thế hệ G_0* : Thực hiện tại bốn địa điểm gồm Trung tâm Quốc gia giống Hải sản Nam Bộ (nuôi trong bể ATSH), Trung tâm Quốc gia giống Hải sản miền Trung – Khánh Hòa (nuôi ao đất), Trại Nghiên cứu Thực nghiệm Bạc Liêu (nuôi ao đất), Doanh nghiệp tư nhân Đặng Lâm – Vũng Tàu (nuôi ao đất).

* *Thế hệ G_1* : Thực hiện tại hai địa điểm gồm nuôi trong bể ATSH tại Trung tâm Quốc gia giống Hải sản Nam Bộ và nuôi trong ao đất tại Trung tâm Quốc gia giống Hải sản miền Trung – Khánh Hòa.

Quy trình sinh sản nhân tạo và nuôi tăng trưởng áp dụng quy trình đã được công bố và hiện đang được ứng dụng tại các địa phương mà đề tài lựa chọn để nuôi đánh giá tăng trưởng gồm: Khánh Hòa, Bạc Liêu và Vũng Tàu.

2.3.2.2. Phương pháp đánh dấu cá thể

Phẩm màu huỳnh quang (VIE) được sử dụng để đánh dấu các cá thể tôm theo hướng dẫn của nhà sản xuất (công ty Northwest Marine Technology).

2.4. Bố trí thí nghiệm

2.4.1. Bố trí thí nghiệm chọn lọc cặp môi sử dụng để đánh giá biến dị di truyền bằng microsatellite

Khảo sát 29 cặp môi trên 28 mẫu ADN tôm ngẫu nhiên để chọn được 15 cặp môi cho hiệu suất PCR cao nhất, đồng thời có số allel cao sử dụng phân tích đa dạng di truyền bốn đàn tôm sú bố mẹ ban đầu.

2.4.2. Bố trí các tổ hợp lai toàn phần của 4 dòng tôm sú

Các gia đình thế hệ G_0 được tạo ra từ 16 tổ hợp lai toàn phần của 4 dòng tôm ($4 \times 4 = 16$ tổ hợp lai) gồm 4 tổ hợp lai nội dòng (AA, TT, NN và GG) và 12 tổ hợp lai khác dòng gồm (AT, AN, AG, TA, TN, TG, NA, NT, NG, GA, GT, GN).

2.4.3. Bố trí lai tạo các gia đình thế hệ G_0 tạo thế hệ G_1

Các gia đình thế hệ G_1 được lai tạo dựa trên giá trị Index và truy xuất nguồn gốc phả hệ đảm bảo tránh cận huyết và có sự hiện diện của ba nhóm Index với các tỷ lệ khác nhau.

2.4.4. Nuôi tăng trưởng đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường

Nuôi tăng trưởng đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường được tiến hành trong ao đất ở Nam Trung Bộ (Khánh Hòa), Tây Nam Bộ (Bạc Liêu), Đông Nam Bộ (Vũng Tàu) và bể an toàn sinh học (Trung tâm Quốc gia giống Hải sản nam Bộ).

2.5. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

2.5.1. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu đánh giá đa dạng di truyền

Sử dụng phần mềm GenAlEx (Peakall và Smouse, 2006), Genepop 4.2 để tính toán tần số allel, mức dị hợp tử quan sát (H_0), mức dị hợp tử mong đợi (H_e), hệ số sai khác di truyền (F_{st}), hệ số cận huyết (F_{IS}), kiểm định độ lệch so với cân bằng Hardy-Weinberg.

2.5.2. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu phục vụ đánh giá tăng trưởng các dòng tôm khác nhau bằng phép lai hỗn hợp

Trước khi thả nuôi chung mỗi gia đình được cân khối lượng ngẫu nhiên 30 cá thể

để ghi nhận khối lượng khi bắt đầu thả vào bể an toàn sinh học và ao nuôi. Sau thời gian nuôi khoảng 80 ngày tiến hành thu hoạch toàn bộ số tôm trong các bể và ao. Số liệu thu thập gồm khối lượng thân (g, sai số 0,1 g), giới tính (đực/cái), bể nuôi và tổ hợp dẫu (để truy xuất các gia đình).

- Ước tính trung bình bình phương tối thiểu (Least square mean, LSM)

Mô hình tuyến tính được chọn sau khi sàng lọc tất cả các ảnh hưởng cố định và hiệp biến là:

$$\begin{aligned} \text{Khối lượng}_{ijkl} = & \mu + \text{tổ hợp lai}_i + \text{giới tính}_j + \text{tuổi} + \text{khối lượng đánh dấu} \\ & + \text{bể nuôi}_k + (\text{tổ hợp lai} \times \text{bể nuôi})_l + \text{số dư}_{ijkl} \text{ (Mô hình 1)} \end{aligned}$$

Trong đó ‘*khối lượng_{ijkl}*’ là khối lượng cá thể tôm *l* khi thu hoạch, μ là trung bình khối lượng của quần thể, ‘*tổ hợp lai_i*’ là ảnh hưởng cố định của 16 phép lai, ‘*giới tính_j*’ là ảnh hưởng cố định của hai giới tính (đực, cái), ‘*tuổi*’ là ảnh hưởng của hiệp biến số ngày nuôi (ngày) tính từ giai đoạn hậu ấu trùng 15 đến khi đạt kích cỡ thu hoạch, ‘*khối lượng đánh dấu*’ là ảnh hưởng của hiệp biến khối lượng (g) trung bình của các gia đình tại thời điểm đánh dấu với các cá thể trong cùng một gia đình được coi là có cùng một khối lượng khi đánh dấu, ‘*bể nuôi_k*’ là ảnh hưởng cố định của các bể nuôi khác nhau, ‘(*tổ hợp lai* × *bể nuôi*)_{*l*}’ là ảnh hưởng cố định của tương quan kép giữa 16 tổ hợp lai khác nhau được nuôi trong 4 bể nuôi khác nhau, và ‘*số dư_{ijkl}*’ là ảnh hưởng của phần dư.

2.5.3. Phương pháp thu thập, phân tích và xử lý số liệu phục vụ tính toán các thông số di truyền cơ bản

Thông kê mô tả ảnh hưởng của giới tính (tức là sự khác biệt về khối lượng của tôm cái và tôm đực) và ảnh hưởng của tôm bố (hoặc tôm mẹ) được phân tích sử dụng phần mềm R 3.2.1 (R Core Team, 2015). Các thành phần phương sai được ước tính bằng phần mềm ASReml 3.0 (Gilmour và ctv., 2009).

- *Tương tác kiểu gen – môi trường (G × E) đối với hai môi trường nuôi*

Tương quan di truyền (r_g) của tính trạng khối lượng thu hoạch giữa hai môi trường nuôi được ước tính theo công thức $r_g = \frac{\sigma_{12}}{\sqrt{\sigma_1^2} \times \sqrt{\sigma_2^2}}$, trong đó σ_{12} là hiệp phương sai của ảnh hưởng di truyền cộng gộp của khối lượng thu hoạch giữa hai môi trường, σ_1^2 và σ_2^2 lần lượt là phương sai của ảnh hưởng di truyền cộng gộp của tính trạng khối lượng thu hoạch trong môi trường 1 và 2 (Falconer và Mackay, 1996).

- *Phương pháp ước tính hệ số di truyền*

Hệ số di truyền (h^2) cho tính trạng khối lượng được ước tính là $h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_A^2 + \sigma_C^2 + \sigma_{TN}^2 + \sigma_E^2}$ và ảnh hưởng của môi trường được ước tính là $c^2 = \frac{\sigma_C^2}{\sigma_A^2 + \sigma_C^2 + \sigma_{TN}^2 + \sigma_E^2}$.

Hệ số di truyền cho tính trạng tỉ lệ sống cá thể (sống = 1, chết = 0), được ước tính là $h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_A^2 + \sigma_E^2 \times \frac{\pi^2}{3}}$ (Gilmour và ctv, 2009), với σ_E^2 được cố định bằng 1 (Gilmour và ctv., 2009).

- Hiệu quả chọn lọc ngắt đoạn: $R_1 = i \times h^2 \times \sigma_P$

- Hiệu quả chọn lọc gia đình: $R_2 = i \times r \times \sigma_P$

CHƯƠNG III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá biến dị di truyền tôm sú bằng chỉ thị microsatellite

3.1.1. Kết quả chọn microsatellite đánh giá biến dị di truyền

Tiến hành khảo sát 29 cặp mồi microsatellite trên 28 mẫu ADN tách chiết ngẫu nhiên từ đàn tôm nghiên cứu. Đánh giá hiệu suất PCR và số alen của từng cặp mồi để sàng lọc, chọn ra các cặp mồi cho kết quả tốt nhất. Kết quả xác định được tổng số 15 microsatellite được sử dụng để phân tích, đánh giá biến dị di truyền của bốn dòng tôm sú Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương, Gia Hóa và Nội Địa gồm: W2, W3, W4, W9, W10, P1, P2, P4, P5, P7, L1, L3, L4, N1, N2.

3.1.2. Các thông số đa dạng di truyền dựa trên 15 microsatellite của bốn dòng tôm sú bố mẹ vật liệu ban đầu

Các microsatellite trên các dòng tôm nghiên cứu có số lượng alen (A) tương đối thấp so với các công bố từ 2 - 4 alen, kích thước của alen (S) tập trung chủ yếu ở kích thước từ 200 - 400 bp, chỉ có hai microsatellite có kích thước alen lớn từ 400 - 600 bp là W3 và W4. Số lượng kiểu gen (G) trong khoảng trung bình là 6 kiểu gen, cao nhất là 8 kiểu gen ở hai microsatellite P1 và W10.

Cân bằng Hardy-Weinberg: Chỉ có ba microsatellite (P2, P4 và P5) là phân phối tuân theo cân bằng HWE, các microsatellite còn lại lệch khỏi cân bằng HWE. Điều này tương thích với kết quả dị hợp tử quan sát được xác định trong nghiên cứu từ 0,176 đến 0,557, trung bình 0,407 thấp hơn dị hợp tử mong đợi (0,490 – 0,738), trung bình 0,633. Giá trị cận huyết (F_{IS}) tương đối cao, trung bình là $0,357 \pm 0,19$. Giá trị F_{IS} khi vượt quá 0,125 là có thể biểu hiện trạng thái suy thoái di truyền do cận huyết trong quần thể. Các thông số vừa nêu cho thấy một số hạn chế về tính đa dạng di truyền chung của 4 đàn tôm sú bố mẹ được sử dụng làm vật liệu ban đầu.

3.1.3. Đa dạng di truyền của từng dòng tôm sú vật liệu ban đầu

Kết quả khảo sát đa dạng di truyền bên trong từng dòng tôm cho thấy chỉ số kiểu gen dị hợp quan sát (H_o) trong nghiên cứu này có giá trị trung bình trên tất cả các microsatellite là 0,41 thấp hơn so với hệ số dị hợp tử mong đợi (H_e) là 0,63. Trong bốn nhóm mẫu phân tích, chỉ số PIC (thông tin đa hình) trung bình của dòng Gia hóa là thấp nhất 0,515; ba dòng tôm còn lại tương đương 0,554. Các microsatellite phân tích trên dòng tôm Nội địa có phân phối tuân theo cân bằng Hardy-Weinberg. Giá trị cận huyết F_{IS} của dòng tôm Nội địa là thấp nhất (0,316) so với ba dòng tôm còn lại có xuất xứ Ấn

Độ Dương, Thái Bình Dương và Gia hóa (lần lượt là 0,374; 0,398; 0,338). Giá trị đa dạng gen của ba dòng tôm Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương và Nội địa tương đối đều nhau và ở mức cao, tương đương 0,645. Dòng tôm Gia hóa có chỉ số đa dạng gen thấp nhất là 0,599 và có sự biến động lớn trong quần thể (0,398 – 0,710). Dòng tôm Gia hóa có sự sai khác di truyền có ý nghĩa với các dòng tôm còn lại.

Kết quả phân tích ANOVA và Post Hoc test cho thấy các thông số đa dạng di truyền gồm: số kiểu gen (G), kiểu gen dị hợp tử mong đợi (H_e), dị hợp tử quan sát (H_o), đa hình (PIC) và giá trị cận huyết (F_{IS}) giữa 04 dòng tôm không có sự sai khác có ý nghĩa ($P > 0,05$).

3.2. Đánh giá tăng trưởng các dòng tôm sú

3.2.1. Sàng lọc bệnh trên các đàn tôm bố mẹ vật liệu ban đầu

Kết quả sàng lọc bằng các kỹ thuật PCR khác nhau đối với 4 loại virus nguy hiểm thường gặp cho thấy tỷ lệ tôm sạch bệnh là 48,0% đối với tôm cái và 54,5% đối với tôm đực.

3.2.2. Tạo các gia đình và tổ hợp lai

Kết quả ghép 4 dòng tôm đã tạo ra được 69 gia đình trong tổng số 16 tổ hợp lai.

Tỷ lệ đóng góp di truyền của dòng Nội địa (N) là cao nhất và thấp nhất là dòng Gia hóa (lần lượt là 28,7% và 20,4%), kết quả được trình bày trong Bảng 3.1. Về lý thuyết, tỷ lệ đóng góp vật liệu di truyền của từng dòng tôm cân bằng, tương ứng 25% là tốt nhất.

Bảng 3.1. Tỷ lệ tham gia của các dòng tôm vật liệu ban đầu vào 16 phép lai để tạo thế hệ G_0

Dòng tôm	Ấn Độ Dương (A)		Gia hóa (G)		Nội địa (N)		Thái Bình Dương (T)	
	Cái	Đực	Cái	Đực	Cái	Đực	Cái	Đực
Số lượng	19	10	6	16	17	14	13	13
Tỷ lệ tham gia vào các tổ hợp lai (%)	34,5	18,9	10,9	30,2	30,9	26,4	23,6	24,5
Tổng số (đực + cái)	29 (26,9 %)		22 (20,4 %)		31 (28,7 %)		26 (24,1%)	

3.2.3. Ương nuôi các gia đình tôm của 16 tổ hợp lai (thế hệ G₀)

3.2.3.1. Ương nuôi từ nauplius đến hậu ấu trùng 15 (PL15)

Kết quả ương nuôi từ nauplius đến PL 15 được trình bày ở Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả ương nuôi 69 gia đình của 16 tổ hợp lai (thế hệ G₀) từ nauplius đến hậu ấu trùng 15

STT	Tổ hợp lai	Số lượng gia đình	Tỷ lệ sống (%)
1	T × T	6	63,3 ± 6,3 ^a
2	T × N	4	57 ± 10,9 ^a
3	T × G	4	59 ± 6,6 ^a
4	T × A	4	60,5 ± 13,9 ^a
5	N × N	6	51 ± 4,3 ^a
6	N × G	6	49 ± 13,3 ^a
7	N × T	5	55,6 ± 8,3 ^a
8	N × A	4	52,5 ± 10,3 ^a
9	G × G	1	50 ^a
10	G × N	2	60 ± 8,49 ^a
11	G × T	2	49 ± 1,41 ^a
12	G × A	2	44 ± 2,83 ^b
13	A × A	7	49,1 ± 23,8 ^a
14	A × T	6	46,7 ± 22,97 ^a
15	A × N	5	60 ± 3,16 ^a
16	A × G	5	54,4 ± 5,6 ^a

Ghi chú: Giá trị trong cùng một cột có ký hiệu chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa (P<0,05). A: Tôm Ấn Độ Dương; T: Tôm Thái Bình Dương; G: Tôm Gia hóa; N: Tôm Nội địa.

3.2.3.2. Nuôi từ hậu ấu trùng 15 đến kích cỡ đánh dấu

Tôm sau 30 ngày nuôi từ PL15, trung bình các gia đình tôm đạt khối lượng và chiều dài tương ứng 0,4 g và 2,8 cm. Tôm 60 ngày tuổi, trung bình khối lượng đạt 2,0 ± 0,5 g và chiều dài 4,5 ± 0,4 cm.

3.2.4. Tăng trưởng của tôm nuôi trong bể an toàn sinh học

3.2.4.1. Thống kê mô tả và các yếu tố ảnh hưởng đến tăng trưởng của tôm

Sau khi được đánh dấu và thả nuôi chung 80 ngày trong bể an toàn sinh học, tiến hành thu hoạch và thu thập số liệu khối lượng thân của 1.803 cá thể có nguồn gốc từ đầy đủ 69 gia đình với khối lượng trung bình đạt 26,1g. Tỷ lệ tôm cái (52,6%) cao hơn so với tôm đực (47,4%). Tôm cái có khối lượng khi thu hoạch cao hơn (P<0,05) so với tôm đực.

Bảng 3.3. Thống kê mô tả tình trạng khối lượng của tôm thẻ hệ G₀

Nhóm tôm	Số cá thể (N)	Khối lượng trung	Hệ số biến thiên
		bình \pm SD (g)	(CV - %)
Cả quần đàn	1.803	26,1 \pm 0,14	22,2
Tôm cái	949	27,8 \pm 0,19 ^a	21,4
Tôm đực	854	24,2 \pm 0,17 ^b	20,5

Xác định các yếu tố cố định và hiệp biến trong mô hình tuyến tính, kết quả có 5 yếu tố đơn và một tương quan hai chiều có ảnh hưởng ý nghĩa.

3.2.4.2. Tăng trưởng của tôm giữa các tổ hợp lai

Kết quả so sánh tăng trưởng giữa các tổ hợp lai nội dòng và các tổ hợp lai khác dòng cho thấy có sự khác nhau khá rõ rệt. Tổ hợp lai khác dòng cho kết quả tăng trưởng cao hơn.

Bảng 3.4 Kết quả phân tích số liệu tăng trưởng (khối lượng thân tính theo LSM) của tôm thẻ hệ G₀ ở các tổ hợp lai

TT	Tổ hợp lai	SL. gia đình	Số cá thể (n)	Khối lượng thân (g)	Tỷ lệ sống (%)
1	T \times G	4	123	31,6 ^e \pm 0,43	87,85 ^c \pm 1,42
2	G \times G	1	54	30,1 ^{de} \pm 0,77	77,14 ^{bc} \pm 8,08
3	G \times N	2	103	28,4 ^{cde} \pm 0,46	85,71 ^{bc} \pm 24,74
4	N \times G	6	157	27,5 ^{bcd} \pm 0,41	74,76 ^{bc} \pm 14,27
5	G \times A	2	55	27,1 ^{abcd} \pm 0,66	78,57 ^{bc} \pm 22,22
6	A \times G	5	139	26,9 ^{abcd} \pm 0,40	78,28 ^{bc} \pm 20,36
7	G \times T	2	46	26,7 ^{abcd} \pm 0,77	43,80 ^a \pm 8,08
8	N \times N	6	147	25,4 ^{abc} \pm 0,41	70,00 ^{abc} \pm 16,92
9	T \times N	4	88	25,2 ^{abc} \pm 0,54	62,85 ^{abc} \pm 14,19
10	A \times T	6	155	25,0 ^{abc} \pm 0,40	88,57 ^c \pm 5,34
11	A \times A	7	172	24,9 ^{abc} \pm 0,37	81,90 ^{bc} \pm 24,08
12	T \times A	4	110	24,8 ^{abc} \pm 0,45	78,57 ^{bc} \pm 9,75
13	N \times T	5	117	24,8 ^{abc} \pm 0,43	66,85 ^{abc} \pm 9,16
14	T \times T	6	122	24,6 ^{abc} \pm 0,50	58,09 ^{ab} \pm 18,57
15	A \times N	5	139	23,9 ^{ab} \pm 0,42	75,42 ^{bc} \pm 24,71
16	N \times A	4	89	23,3 ^a \pm 0,51	63,57 ^{abc} \pm 14,63

Ghi chú: A: Ấn Độ Dương, T: Thái Bình Dương, N: Nội địa, G: Gia Hóa. Số liệu được trình bày theo dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn. Các số có ký tự khác nhau thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Trong nghiên cứu này tác động đến tăng trưởng của thế hệ con lai là do nguồn gốc tôm bố mẹ. Ảnh hưởng của yếu tố tôm mẹ và/hoặc tôm bố là không rõ ràng.

3.3. Ước tính một số thông số di truyền cơ bản trên quần đàn được thiết lập

3.3.1. Đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường ($G \times E$)

3.3.1.1. Thống kê mô tả tăng trưởng của tôm

Số liệu thu hoạch tôm nuôi tại bốn địa điểm nuôi khác nhau thể hiện trong Bảng 3.5

Bảng 3. 5 Kết quả tăng trưởng của tôm thế hệ G_0 ở các môi trường nuôi khác nhau

Địa điểm nuôi	Chỉ tiêu đánh giá	Số cá thể (con)	Khối lượng TB \pm SD	Hệ số biến thiên (CV-%)
Bể ATSH	Số ngày nuôi (80 ngày)			
	KL. cả quần đàn (g)	1.816	26,1 \pm 0,14 ^(b)	22,1
	KL. tôm cái (g)	957	27,8 \pm 0,19 ^(a)	21,4
	KL. tôm đực (g)	859	24,2 \pm 0,17 ^(b)	20,5
Khánh Hòa	Số ngày nuôi (94 ngày)			
	KL. cả quần đàn (g)	4.316	29,3 \pm 0,08 ^(c)	17,4
	KL. tôm cái (g)	2.229	30,8 \pm 0,11 ^(a)	17,0
	KL. tôm đực (g)	2.087	27,8 \pm 0,10 ^(b)	16,0
Bạc Liêu	Số ngày nuôi (95 ngày)			
	KL. cả quần đàn (g)	4.979	25,0 \pm 0,08 ^(a)	23,2
	KL. tôm cái (g)	2.531	26,2 \pm 0,12 ^(a)	23,2
	KL. tôm đực (g)	2.448	23,8 \pm 0,10 ^(b)	21,9
Vũng Tàu	Số ngày nuôi (100 ngày)			
	KL. cả quần đàn (g)	3.458	26,1 \pm 0,13 ^(b)	28,7
	KL. tôm cái (g)	1.697	27,4 \pm 0,20 ^(a)	29,5
	KL. tôm đực (g)	1.761	24,8 \pm 0,16 ^(b)	26,7

Ghi chú: Bể ATSH: Bể an toàn sinh học; KL: Khối lượng. Số liệu được trình bày theo dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn. Các số có ký tự khác nhau thì sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Xác định các yếu tố cố định và hiệp biến trong mô hình tuyến tính, kết quả có 5 yếu tố đơn và một tương quan hai chiều có ảnh hưởng ý nghĩa và được đưa vào mô hình toán.

3.3.1.2. Tương quan giữa kiểu gen và môi trường ($G \times E$)

Đối với thể hệ G_0 , kết quả phân tích cho thấy tương quan $G \times E$ đều là tương quan thuận (> 0) và nằm ở mức từ thấp đến cao từ 0,29 đến 0,85. Có tương quan di truyền cao giữa nuôi trong bể an toàn sinh học và địa điểm nuôi Khánh Hòa (0,70), Khánh Hòa và Bạc Liêu (0,74); tương quan với hai điểm nuôi Bạc Liêu và Vũng Tàu ở mức thấp lần lượt là 0,42 và 0,29. Đối với thể hệ G_1 , tương quan di truyền (r_g) của khối lượng tôm khi thu hoạch giữa 2 môi trường nuôi ở Khánh Hòa và bể ATSH được ước tính là $0,75 \pm 0,09$ cho thấy nguồn vật liệu này có thể phát huy hiệu quả trong môi trường nuôi tại đây.

Bảng 3. 6 Tương quan kiểu gen (r_g) của tính trạng khối lượng thân ở các môi trường nuôi khác nhau thể hệ G_0 và G_1

Địa điểm nuôi	Thể hệ G_0				Thể hệ G_1
	Bể ATSH	Khánh Hòa	Bạc Liêu	Vũng Tàu	Khánh Hòa
Bể ATSH		$0,70 \pm 0,09$	$0,42 \pm 0,13$	$0,29 \pm 0,15$	$0,75 \pm 0,09$
Khánh Hòa			$0,74 \pm 0,08$	$0,51 \pm 0,12$	
Bạc Liêu				$0,85 \pm 0,05$	

3.3.2. Hệ số di truyền

Kết quả phối ghép tạo các gia đình, nuôi đánh giá sinh trưởng các gia đình tôm thể hệ G_1 được trình bày trong Bảng 3.7 và 3.8.

Bảng 3.7. Số lượng các gia đình cùng cha khác mẹ và các gia đình cùng cha mẹ tôm sú chọn giống G_1

Kiểu gia đình	Gia đình	Số lượng tôm con	Tôm bố \times tôm mẹ	Số lượng nhóm gia đình cùng cha khác mẹ	Số lượng gia đình cùng cha mẹ	Tổng
Cùng cha khác mẹ	50	5.155	1×2	6	12	50
			1×3	3	9	
			1×4	3	12	
			1×5	2	10	
			1×7	1	7	
Cùng cha mẹ	26	2.257	1×1			26
Tổng		7.412				76

Bảng 3.8. Số lượng và khối lượng tôm khi thu hoạch (g) ở hai môi trường nuôi trong ao tại Khánh Hòa và trong bể ATSH

Môi trường nuôi	Đợt	Giới tính	Số lượng	Khối lượng thu hoạch (g)				
				Trung bình (g/con)	Độ lệch chuẩn	Hệ số biến thiên (%)	Nhỏ nhất (g/con)	Lớn nhất (g/con)
Khánh Hòa (nuôi ao)	1	Cái	303	23,26	7,90	33,97	5,77	53,59
		Đực	256	20,94	7,10	33,93	7,52	50,34
	2	Cái	938	20,99	6,24	29,72	5,72	42,65
		Đực	794	19,51	5,13	26,28	5,88	37,33
	3	Cái	559	29,81	7,66	25,70	9,03	58,71
		Đực	451	26,53	7,18	27,08	8,04	54,41
Tổng số tôm thu hoạch nuôi trong ao tại Khánh Hòa: 3.301 con								
Bể ATSH	1	Cái	672	22,70	7,17	31,82	6,25	49,60
		Đực	646	20,53	6,24	30,41	6,55	42,55
	2	Cái	1009	24,26	8,24	33,96	7,06	56,40
		Đực	914	21,64	6,50	30,06	7,16	42,83
	3	Cái	461	24,13	7,29	30,20	7,20	46,60
		Đực	409	21,95	6,78	30,88	5,90	42,60
Tổng số tôm thu hoạch nuôi trong bể ATSH: 4.111 con								

Tổng số tôm thu hoạch 7.412 con, trong đó có 3.301 con từ nuôi ao và 4.111 con từ nuôi bể. Khối lượng trung bình của tôm nuôi ở ao dao động từ $19,51 \pm 5,13$ g/con đến $29,81 \pm 7,66$ g/con, tôm nuôi ở bể có khối lượng từ $20,53 \pm 6,24$ g/con đến $24,26 \pm 8,24$ g/con. Hệ số biến thiên khối lượng tôm nuôi cao, từ 25,70 - 33,97% đối với tôm nuôi ở ao và 30,06 - 33,96 g/con đối với tôm nuôi ở bể.

- Ước tính hệ số di truyền

Đối với tính trạng khối lượng tôm thế hệ G_1 khi thu hoạch, ước tính của các thành phần phương sai (σ_A^2 , σ_C^2 và σ_P^2), hệ số di truyền (h^2) và ảnh hưởng của môi trường (c^2) cho hai môi trường nuôi tại Khánh Hòa và bể ATSH được trình bày trong Bảng 3.9.

Bảng 3.9. Các thành phần phương sai (σ_A^2 , σ_C^2 , σ_{TN}^2 , σ_E^2 , và σ_P^2) hệ số di truyền (h^2) và ảnh hưởng của môi trường (c^2) đến khối lượng tôm chọn giống thế hệ G_1 nuôi

Môi trường nuôi	σ_A^2	σ_C^2	σ_{TN}^2	σ_E^2	σ_P^2	h^2	c^2
Khánh Hòa	37,47	12,11	4,68	8,47	62,73	$0,60 \pm 0,17$	$0,19 \pm 0,09$
Bể ATSH	35,54	10,64	2,76	14,53	63,47	$0,56 \pm 0,15$	$0,17 \pm 0,09$

Hệ số di truyền đối với tính trạng khối lượng được ước tính ở mức cao, tôm nuôi trong ao là $0,60 \pm 0,17$ và trong bể là $0,56 \pm 0,15$. Ảnh hưởng của môi trường cũng ở mức lớn, tôm nuôi ao tại Khánh Hòa là $0,19 \pm 0,09$ và nuôi trong bể ATSH là $0,17 \pm 0,09$. Tương quan di truyền của khối lượng tôm khi thu hoạch giữa hai môi trường nuôi ao và bể được ước tính $0,75 \pm 0,09$, cho thấy có tương tác kiểu gen – môi trường ở mức nhẹ.

Đối với tính trạng tỉ lệ sống, ước tính của hệ số di truyền cho hai môi trường nuôi tại Khánh Hòa và bể ATSH được trình bày trong Bảng 3.10. Hệ số di truyền được ước tính ở mức khá và tương đương giữa hai môi trường, cho tôm nuôi tại Khánh Hòa là $0,18 \pm 0,02$ và trong bể ATSH là $0,19 \pm 0,02$. Cho cả hai môi trường, tương quan di truyền giữa tỉ lệ sống và khối lượng thu hoạch là dương và ở mức khá thấp, ở Khánh Hòa là $0,40 \pm 0,08$ và ở bể ATSH là $0,29 \pm 0,08$.

Bảng 3.10. Hệ số di truyền (h^2) của tỉ lệ sống và tương quan di truyền (r_g) giữa tỉ lệ sống cá thể và khối lượng tôm thu hoạch nuôi tại Khánh Hòa và bể ATSH

Tính trạng	h^2	r_g	
		Khối lượng Khánh Hòa	Khối lượng bể ATSH
TL. sống Khánh Hòa (%)	$0,18 \pm 0,02$	$0,40 \pm 0,08$	
TL. sống bể ATSH (%)	$0,19 \pm 0,02$		$0,29 \pm 0,08$

Tương quan giữa tỉ lệ sống và giá trị giống ước tính (EBV) của tỉ lệ sống trong từng môi trường và giữa hai môi trường Khánh Hòa và bể ATSH được trình bày trong Bảng 3.11. Tương quan giữa tỉ lệ sống và EBV của tỉ lệ sống là cao, cho Khánh Hòa là 0,80 và cho Vũng Tàu là 0,89. Giữa hai môi trường, tương quan giữa tỉ lệ sống và EBV tỉ lệ sống là tương quan dương, dao động từ 0,37 đến 0,55.

Bảng 3.11. Tương quan giữa tỉ lệ sống và giá trị giống ước tính (EBV) của tỉ lệ sống tại hai môi trường Khánh Hòa và bể ATSH

Tính trạng	Tỷ lệ sống bể ATSH	EBV tỷ lệ sống Khánh Hòa	EBV tỷ lệ sống bể ATSH
TL. sống Khánh Hòa (%)	0,46	0,80	0,37
TL. sống bể ATSH (%)		0,43	0,89
EBV tỷ lệ sống Khánh Hòa			0,55

3.3.3. Hiệu quả chọn lọc sau một thế hệ của tính trạng tăng trưởng

Đối với quần thể G_0 , hiệu quả chọn lọc trong trường hợp chọn lọc ngắt đoạn (R_I) là 0,9 g, tương ứng với 3,3%. Đối với quần thể G_1 , hiệu quả chọn lọc R_I là 4,3 g (19,2%). Khi chọn lọc gia đình thì hiệu quả chọn lọc R_2 cũng tương tự như R_I , cho G_0 là 0,9 g (3,3%) và cho G_1 là 4,1 g (18,1%).

Bảng 3.12. Tỉ lệ chọn lọc, cường độ chọn lọc, hệ số di truyền, độ lệch chuẩn của tính trạng khối lượng và hiệu quả chọn lọc của hai quần thể tôm sú G_0 và G_1

Thế hệ	R	p (%)	i	h^2	σ_p	R (g)	Khối lượng (g)	Tăng (%)
G_0	R_I	80,4	0,35	0,43	5,7	0,9	26,1	3,3
	R_2	80,4	0,35	0,43	5,7	0,9	26,1	3,3
G_1	R_I	34,1	1,06	0,56	7,3	4,3	22,6	19,2
	R_2	34,1	1,06	0,53	7,3	4,1	22,6	18,1

Ghi chú: p = tỉ lệ chọn lọc, i = cường độ chọn lọc (Falconer và Mackay, 1996), h^2 = hệ số di truyền, r = độ chính xác chọn lọc = $\sqrt{\frac{1}{2}h^2}$, σ_p = độ lệch chuẩn của khối lượng tôm khi thu hoạch, R_I = hiệu quả chọn lọc ngắt đoạn và R_2 = hiệu quả chọn lọc gia đình.

CHƯƠNG IV: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT Ý KIẾN

4.1. Kết luận

1. Có một số hạn chế về tính đa dạng di truyền chung của 4 đàn tôm sú bố mẹ được sử dụng làm vật liệu ban đầu thông qua kết quả phân tích dị hợp tử quan sát (0,407) thấp hơn dị hợp tử mong đợi (0,633) và chỉ số cận huyết (F_{IS}) tương đối cao, trung bình là $0,357 \pm 0,19$.

2. Nhóm mẫu của dòng tôm Nội địa có phân phối tuân theo cân bằng HWE so với các dòng tôm còn lại. Giá trị cận huyết F_{IS} của dòng Nội địa là thấp nhất (0,316) so với ba dòng tôm có xuất xứ Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương và Gia hóa (lần lượt là 0,374; 0,398; 0,338). Giá trị đa dạng gen của ba dòng tôm Ấn Độ Dương, Thái Bình Dương và Nội địa tương đối đều nhau và ở mức cao $\sim 0,645$.

3. Chỉ số PIC (thông tin đa hình) của dòng tôm Gia hóa là thấp nhất (0,515) so với ba dòng tôm còn lại (0,554). Kết quả cho thấy, sai khác di truyền giữa các dòng tôm có nguồn gốc tự nhiên là thấp. Trong khi đó sai khác di truyền giữa dòng tôm gia hóa (G) và các dòng tôm tự nhiên ở mức trung bình (Nei, 1974).

4. Mức độ biến dị khá cao về kiểu hình tính trạng khối lượng thân ở cả tôm đực và tôm cái (khoảng 21%) cho phép dự đoán quần đàn tôm sú trong nghiên cứu này có tiềm năng để cải thiện chất lượng di truyền trong các thế hệ chọn giống tiếp theo.

5. Trong tất cả các phép lai, đối với các phép lai nội dòng thì phép lai của dòng tôm Gia hóa (GG) cho kết quả tăng trưởng tốt nhất. Trong các dòng tôm có nguồn gốc thu thập từ tự nhiên dòng nội địa (NN) thể hiện sự trội hơn về kiểu hình của tính trạng tăng trưởng của so với 2 dòng tôm còn lại (AA và TT).

6. Trong số sáu phép lai cho kết quả tốt nhất (trừ phép lai nội dòng GG) thì đều là phép lai của dòng tôm Gia hóa (G) với ba dòng tôm còn lại. Những phép lai khác dòng giữa những dòng tôm thu thập từ tự nhiên (ví dụ: NA, NT, TA,...) cho kết quả tăng trưởng thấp hơn.

7. Tương quan di truyền của tính trạng khối lượng thân thu hoạch ở những môi trường nuôi khác nhau đều là tương quan thuận, nằm ở mức từ thấp đến cao (r_g từ 0,29 đến 0,85) (> 0), cho phép dự đoán có tương tác GxE ở mức độ nhẹ.

8. Tương quan di truyền (r_g) của khối lượng tôm khi thu hoạch giữa 2 môi trường nuôi ở Khánh Hòa và bể ATSH (cho thế hệ G_1) được ước tính là $0,75 \pm 0,09$ cho thấy nguồn vật liệu này có thể phát huy hiệu quả trong môi trường nuôi tại đây. Tương tác G

x E (cho thể hệ G_0) ở mức thấp ($rg = 0,42$) của tính trạng khối lượng giữa nuôi trong bể ATSH với ao nuôi tại Bạc Liêu (vùng nuôi chính của cả nước) đặt ra yêu cầu cần tăng cường hơn tính đa dạng về kiểu gen của nguồn vật liệu này.

9. Tương quan di truyền giữa tính trạng tỉ lệ sống và khối lượng thu hoạch dao động từ $0,29 \pm 0,08$ (bể ATSH) đến $0,40 \pm 0,08$ (Khánh Hòa) cho thấy việc chọn lọc cải thiện tăng trưởng sẽ không ảnh hưởng tiêu cực đến tỉ lệ sống của tôm nuôi. Tương quan di truyền giữa EBV tỉ lệ sống và tỉ lệ sống trong từng môi trường là cao ($0,80$ cho Khánh Hòa và $0,89$ cho bể ATSH). Giữa hai môi trường, tương quan giữa tỉ lệ sống và EBV tỉ lệ sống là tương quan dương và tương đối thấp dao động từ $0,37$ đến $0,55$ do bản chất của hai môi trường nuôi và chế độ chăm sóc là rất khác nhau.

10. Hệ số di truyền về tính trạng khối lượng tôm được ước tính ở mức cao, cho tôm nuôi tại Khánh Hòa là $0,60 \pm 0,17$ và cho tôm nuôi trong bể ATSH là $0,56 \pm 0,15$. Ảnh hưởng của môi trường cũng ở mức khá, cho Khánh Hòa là $0,19 \pm 0,09$ và cho bể ATSH là $0,17 \pm 0,09$. Đối với tính trạng tỉ lệ sống cá thể, ước tính của hệ số di truyền cho tôm nuôi tại Khánh Hòa là $0,18 \pm 0,02$ và bể ATSH là $0,19 \pm 0,02$.

11. Hiệu quả chọn lọc đối với quần thể G_0 trong trường hợp chọn lọc ngắt đoạn (R_1) là $0,9$ g, tương ứng với $3,3\%$. Đối với quần thể G_1 , hiệu quả chọn lọc R_1 là $4,3$ g ($19,2\%$). Khi chọn lọc gia đình thì hiệu quả chọn lọc R_2 cũng tương tự như R_1 , cho G_0 là $0,9$ g ($3,3\%$) và cho G_1 là $4,1$ g ($18,1\%$).

4.2. Đề xuất ý kiến

1. Kết quả đánh giá đa dạng di truyền trên toàn bộ và từng dòng tôm sú bố mẹ làm vật liệu ban đầu cho quá trình chọn giống cho thấy cần thiết phải thu thập, bổ sung các dòng tôm vật liệu có tính đa dạng di truyền cao, trong đó chú ý đến các dòng tôm có nguồn gốc tự nhiên.

2. Cần tiếp tục nghiên cứu làm giảm ảnh hưởng của yếu tố môi trường (c^2) như thực hiện tốt cấu trúc ghép phối hoàn toàn là ghép phối thứ bậc, giảm thời gian sản xuất các gia đình, giảm kích cỡ đánh dấu tôm (tức là giảm thời gian ương gia đình riêng rẽ). Hoàn toàn thiện kỹ thuật về chăm sóc, dinh dưỡng giai đoạn tiền và thành thực, cải tiến hệ thống nuôi, nuôi đánh giá ở các môi trường nuôi khác nhau nhằm góp phần làm tăng độ chính xác của việc ước tính hệ số di truyền và giá trị chọn giống.

3. Tiếp tục sử dụng di truyền phân tử hỗ trợ di truyền số lượng trong chọn giống nhằm đẩy nhanh hiệu quả chọn lọc.