

RESEARCH ON RELATIONSHIP BETWEEN VENOM LIBERATING ABILITY OF SOME *APIS MELLIFERA* RACES IN VIETNAM AND AMINO ACID SEQUENCE POLYMORPHISM OF EXON2 ON *DEF1* GENE

Le Quang Trung^{1*}, Nguyen Quang Hung¹, Tran My Linh², Nguyen Chi Mai², Phung Duc Hoan³, Nguyen Tuong Van⁴

¹VNTEST Institute for Quality Testing and Inspection, ²Institute of Marine Biochemistry - VAST

³TNU - University of Agriculture and Forestry, ⁴Institute of Biotechnology - VAST

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 07/11/2022	Venom of <i>Apis mellifera</i> is liberated by the worker bees to attack enemies and protect their colonies. Amount of venom liberated from imported bees depends on expression level of such genes as <i>def1</i> , <i>sting</i> ... Beekeepers could collect dry venom with electric apparatus for treatment of some serious diseases. To get high yield of venom, bee races with high productivity of venom are prerequisite. In this research, relationship between ability of liberating venom of workers and polymorphism of amino acids within Exon2 fragments of their <i>def1</i> gene were investigated on 12 colonies of 2 honeybee groups with 4 races (3 hive/race). Group L-LxC included 2 races of an <i>A. m. ligustica</i> (L) and a hybrid between queens of L and drones of <i>A. m. carnica</i> (LxC), while group C-CxL were of an <i>A. m. carnica</i> (C) and a hybrid between queens of C and drones of L (CxL). On average, venom productivity of group L-LxC (22.50 - 23.05 mg/hive) was higher than that of C-CxL (18.58 - 18.83 mg/hive) with $p < 0.05$. No significant difference in venom amount between 2 races of each group indicated maternal inheritance of liberating-venom ability of <i>A. mellifera</i> workers. Bootstrap confidence interval (93%) with 4 specific point mutations (10, 16, 53 and 54) along 60 amino acids of Exon2 on <i>def1</i> gene interpreted molecular basis on higher liberating-venom ability of group L-LxC than group C-CxL. Point mutations between the 2 groups found in this research could be employed as molecular markers for selection of <i>A. mellifera</i> races with high venom productivity.
Revised: 30/01/2023	
Published: 31/01/2023	

KEYWORDS

Imported bees *Apis mellifera*
Ability of venom liberating
Exon 2 region
Def1 gene
Polymorphism of amino acid sequence

NGHIÊN CỨU MỐI LIÊN QUAN GIỮA KHẢ NĂNG TIẾT NỌC CỦA MỘT SỐ ĐỒNG ONG *APIS MELLIFERA* Ở VIỆT NAM VÀ ĐA HÌNH TRÌNH TỰ AXIT AMIN TRÊN VÙNG EXON2 CỦA GEN *DEF1*

Lê Quang Trung^{1*}, Nguyễn Quang Hưng¹, Trần Mỹ Linh²

Nguyễn Chi Mai², Phùng Đức Hoàn³, Nguyễn Tường Vân⁴

¹Viện Kiểm nghiệm và Kiểm định chất lượng VNTEST, ²Viện Hóa sinh Biển - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,

³Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên - ĐH Thái Nguyên,

⁴Viện Công nghệ Sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 07/11/2022	Khả năng tiết nọc của ong <i>Apis mellifera</i> để tấn công kẻ thù và bảo vệ tổ phụ thuộc vào mức độ biểu hiện của một số gen như <i>def1</i> , <i>sting</i> ... Để thu được nhiều nọc ong, việc xác định đồng ong cho năng suất nọc cao đóng vai trò tiên quyết. Trong nghiên cứu này, sự liên quan giữa khả năng tiết nọc với đa hình trình tự axit amin vùng mã hóa 2 trên gen <i>def1</i> được thực hiện trên nhóm L-LxC gồm dòng <i>A. m. ligustica</i> (L) và dòng lai giữa chúa L với đực <i>A. m. carnica</i> (LxC) và nhóm C-CxL gồm dòng <i>A. m. carnica</i> (C) và dòng lai giữa chúa C với đực L (CxL). Năng suất nọc trung bình của L-LxC (22,50 - 23,05 mg/đàn) cao hơn C-CxL (18,58 - 18,83 mg/đàn) với $p < 0,05$. Lượng nọc giữa 2 dòng của từng nhóm không sai khác đáng kể ($p > 0,05$), cho thấy khả năng tiết nọc của đàn ong di truyền theo dòng mẹ. Khoảng cách tin cậy về chủng loại (giá trị bootstrap 93%) với bốn điểm đột biến đặc trưng tại các vị trí 10, 16, 53 và 54 trên vùng Exon2 thuộc gen <i>def1</i> của 2 nhóm ong phản ánh cơ sở phân tử về khả năng tiết nọc cao hơn của nhóm ong L-LxC so với nhóm ong C-CxL. Các điểm đột biến này có thể sử dụng như các chỉ thị phân tử để chọn dòng ong <i>A. mellifera</i> cho năng suất nọc ong cao.
Ngày hoàn thiện: 30/01/2023	
Ngày đăng: 31/01/2023	

TỪ KHÓA

Ong ngoại *Apis mellifera*
Khả năng tiết nọc ong
Vùng Exon2
Gen *def1*
Đa hình trình tự axit amin

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6885>

* Corresponding author. Email: lqtrung2014@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Ong *Apis mellifera* cung cấp cho con người nhiều sản phẩm như mật ong, phấn hoa, sữa ong chúa, sáp ong, keo ong và nọc ong... Nọc ong trong túi nọc của ong thợ được tiết ra qua ngòi đốt để tấn công kẻ thù và bảo vệ tổ của chúng. Người nuôi ong ở nhiều nước có nghề nuôi ong *A. mellifera* phát triển đã khai thác được nọc ong khô với khối lượng lớn bằng xung điện, sau đó pha trộn, chế biến và sử dụng để chữa một số bệnh nan y cho con người như bệnh thấp khớp, bệnh gout, một số bệnh ung thư... [1], [2]. Để thu được nhiều nọc ong, việc xác định dòng ong có khả năng tiết nọc ong cao đóng vai trò tiên quyết.

Khả năng tiết nọc của ong thợ liên quan đến tính hiền hay dữ của các dòng ong khác nhau [3]. Ở mức phân tử, khả năng tiết nọc của ong thợ *A. mellifera* liên quan đến biểu hiện của một số nhóm gen như *sting* và *defencin* [4], [5]. So với nhóm gen *sting*, nhóm *defensin* đã được nghiên cứu sâu trên nhiều dòng ong *A. mellifera* nuôi ở nhiều vùng địa lý khác nhau. Nhóm *defensin* gồm 2 gen (*def1* và *def2*), trong đó, *def1* qui định tập tính vệ sinh tổ và khả năng tiết nọc tấn công kẻ thù của ong thợ, còn *def2* qui định khả năng miễn dịch của các cá thể trong đàn ong [6], [5]. Về cấu trúc, *def1* gồm 3 vùng mã hóa (exon1-3) và 2 vùng không mã hóa (intron1-2) [6]. Đa hình trình tự các vùng mã hóa, nhất là vùng Exon2, trên gen *def1* của các dòng ong khác nhau liên quan đến khả năng tiết nọc không giống nhau giữa chúng [5].

Ong ngoại *A. m. ligustica* (L) được nhập và nuôi ở Việt Nam từ Ý vào những năm 1960 và từ New Zealand năm 2000; sau đó ong *A. m. carnica* (C) được nhập từ Áo và Đức vào các năm 2002 và 2006. Hiện nay, Việt Nam có trên 1 triệu đàn ong ngoại đang được nuôi và khai thác sản phẩm, phổ biến là các dòng ong LxC lai giữa chúa L với đực C và dòng ong CxL lai giữa chúa C với đực L [7]. Các dòng ong này mới chỉ khai thác được mật ong, phấn hoa, sữa ong chúa, sáp ong và đang để lãng phí một sản phẩm có giá trị y học cao và giá trị kinh tế lớn, ước tính tới hàng triệu đô la Mỹ/năm là nọc ong. Gần đây, Viện Kiểm nghiệm và Kiểm định chất lượng VNTEST đang triển khai dự án “Phát triển và khai thác bền vững giống ong mật *A. mellifera* cho năng suất nọc ong cao ở Việt Nam”. Nghiên cứu này là một trong những hoạt động của dự án nhằm đưa ra cơ sở phân tử về khả năng tiết nọc của 4 dòng ong L, LxC, C và CxL. Nghiên cứu dựa vào phân tích, so sánh sự liên quan giữa lượng nọc thu được với đa hình trình tự axit amin đoạn Exon2 gen *def1* của ong thợ thu từ 4 dòng ong. Đây là nghiên cứu đầu tiên về mối liên quan giữa đoạn Exon2 của gen *def1* với khả năng tiết nọc của ong thợ *A. mellifera* đang nuôi và khai thác ở Việt Nam. Kết quả của nghiên cứu là cơ sở để chọn ra các đàn ong cho năng suất nọc cao phục vụ sản xuất.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Mười hai đàn ong ngoại được thu thập theo lý lịch của các dòng thuần và dòng lai từ các trại ong thuộc Dự án quốc gia về “Lưu giữ giống gốc các chủng ong nội *Apis cerana* và ong ngoại *A. mellifera*” ở nước ta. Các đàn ong sau khi thu thập, được xác định lại về đàn thuần và đàn lai dựa vào chỉ thị phân tử theo phương pháp của Lê Quang Trung và đồng tác giả [8] và được chia thành 2 nhóm, nhóm ong L-LxC, gồm 3 đàn *A. m. ligustica* (ký hiệu từ L1-L3) và 3 đàn ong lai giữa chúa L với đực *A. m. carnica* (LxC1-LxC3). Trong nhóm ong C-CxL có 3 đàn ong *A. m. carnica* (C1-C3) và 3 đàn ong lai giữa chúa C với đực L (CxL1-CxL3). Các đàn ong có thể đàn tương đương (7 cầu/đàn) được nuôi và khai thác nọc ong ở Phú Thọ và Sơn La từ tháng 6 đến tháng 10 năm 2020. Các đàn ong được chăm sóc như nhau và được đặt trong cùng một trại; khoảng cách giữa các đàn >5m theo các hướng khác nhau để tránh ong thợ về nhầm tổ khi tập bay cũng như đi thu sản phẩm trở về. Axit deoxyribonucleic tổng số (ADN tổng số) được tách chiết từ 5-10 ong thợ đang tiết nọc/đàn (ong thợ được thu thập trong mỗi lần khai thác nọc ong, ngâm trong cồn 70° và giữ trong tủ lạnh sâu ở -20°C). Nghiên cứu được tiến hành tại Viện Hoá sinh Biển, Viện Công nghệ Sinh học thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và Viện Kiểm nghiệm và Kiểm định chất lượng VNtest.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp thu nọc ong

Nọc ong được thu thập theo phương pháp của Mraz [9] dựa vào xung điện để kích thích ong thợ tiết nọc. Thiết bị khai thác nọc ong được nhập từ Hungari, bao gồm thiết bị tạo xung (Hình 1A), khung thu nọc và kính thu nọc được lồng trong khung thu nọc ong để ong thợ tiết nọc vào. Sau 30 phút bị kích thích bởi xung điện, ong thợ sẽ tiết nọc vào kính thu nọc được đặt trên mặt cầu ong (Hình 1B). Nọc ong sau mỗi lần khai thác từ mỗi đàn ong được lấy ra khỏi tấm kính (Hình 1C), xác định khối lượng bằng cân điện tử ở nhiệt độ 4-10°C và bảo quản ở -20°C để sử dụng về sau. Các đàn cùng được khai thác nọc ong trong vòng 10-15 ngày/lần. Lượng nọc ong của từng đàn ong cũng như từng nhóm ong sau các lần khai thác được phân tích thống kê bằng chương trình ANOVA phần mềm SPSS Ver. 20. Sai khác tin cậy về thống kê của lượng nọc ong thu được giữa các nhóm và các dòng ong thí nghiệm được phân tích bằng F-test [3].



Hình 1. Thu nọc ong từ đàn ong ngoại *A. mellifera* bằng xung điện. A) Thiết bị tạo xung; B) Khung và kính thu nọc trên mặt cầu ong; C) nọc ong được lấy ra khỏi tấm kính

2.2.2. Tách chiết ADN tổng số và phân tích đa hình trình tự axit amin

ADN tổng số được tách từ phần đầu ong thợ sử dụng Chelex 5% [10] và kit tách ADN của hãng Fermentas (Đức). Đoạn ADN đích trên gen *def1* của các mẫu có chiều dài khoảng 200bp được nhân bản bằng kit PCR của hãng Fermentas (Đức) với cặp mồi AmDEF1F: 5'-GAGGATGAAT TCGAGCCAC-3'; AmDEF1R: 5'-TTTCGACAAA TACAACCTCC-3' thiết kế từ 2 đầu của vùng Exon2 trên gen *def1* có mã số AMU15955, NM 001011616, AY333923, FJ546136, AY496432, FJ546136, AJ308527 trên phần mềm DNAMAN 4.15. Chu trình PCR gồm 1 chu kỳ biến tính ban đầu 96°C trong 5 phút, tiếp tục 30 chu kỳ: 95°C-0,5 phút, 50°C-1 phút, 72°C-1 phút; kết thúc chu kỳ cuối ở 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được chạy trên gel Agarose 1%, nhuộm bằng ethidium bromide (0,5µg/ml), quan sát và chụp ảnh dưới đèn UV và so sánh kích thước với thang ADN chuẩn 1kb (*Thermo Fisher Scientific*). Sản phẩm PCR sau khi thôi ra từ agarose-gel sử dụng GeneJET PCR Purification kit (Thermo Fisher Scientific, USA), được gắn vào vector pTZ57R/T (Fermentas, Đức), nhân dòng trong vi khuẩn *E. coli* DH5α. ADN plasmid được tách bằng kit Gene JET™ Plasmid Miniprep Kit và giải trình tự nucleotide 2 chiều sử dụng cặp mồi M13 tại Macrogen (Korea). Các đoạn ADN sau khi giải trình tự được so sánh với các đoạn ADN vùng Exon2 của gen *def1* trên Ngân hàng gen dựa vào công cụ BLAST

(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Các trình tự ADN của các mẫu sau khi chuyển sang trình tự axit amin sử dụng phần mềm DNAMAN 4.15 và các đột biến điểm được xác định dựa vào phần mềm MEGA X [11]. Theo đó, trình tự axit amin được đưa vào với nhóm mã lệnh “Xác định các đột biến điểm trên trình tự protein” và “Tính toán”, các axit amin theo từng vị trí giữa các trình tự sẽ được tự động xếp theo cột dọc. Các axit amin/vị trí, nếu giống nhau sẽ được chuyển thành dấu “.”, và nếu khác nhau sẽ được giữ nguyên theo ký hiệu của axit amin. Đột biến điểm đặc trưng là sự khác biệt về axit amin tại vị trí cụ thể trên trình tự khi so sánh với các trình tự protein của dòng/giống khác và phải có mặt ở tất cả các trình tự của từng dòng/giống trong nghiên cứu (Hình 5). Khoảng cách chủng loại tin cậy với giá trị bootstrap $\geq 70\%$ giữa các nhóm và dòng ong cho năng suất nọc ong khác nhau được xác định dựa vào đa hình trình tự axit amin giữa các đoạn đích Exon2 của gen *def1* của chúng theo phương pháp Neighbour Joining với 5000 lần nhắc lại trên phần mềm MEGA X [11].

3. Kết quả và thảo luận

3.1. So sánh lượng nọc ong thu được giữa hai nhóm ong thí nghiệm

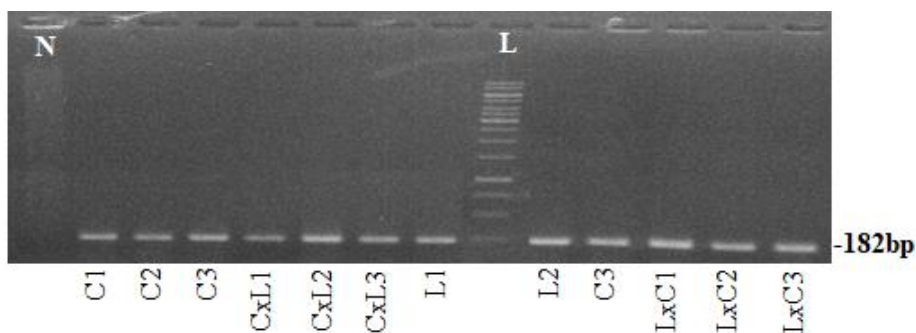
Lượng nọc trung bình khai thác/đàn thuộc nhóm ong L-LxC (22,50 - 23,05 mg/đàn) cao hơn của nhóm ong C-CxL (18,58 - 18,83 mg/đàn) với sai khác tin cậy về thống kê ($p < 0,05$) (Bảng 1). Lượng nọc trung bình giữa 2 dòng ong L và LxC (22,50 mg/đàn so với 23,05 mg/đàn) thuộc nhóm L-LxC và giữa 2 dòng ong C và CxL (18,58 mg/đàn so với 18,83 mg/đàn) thuộc nhóm C-CxL dù có khác nhau nhưng không sai khác tin cậy về thống kê ($p > 0,05$). Về mặt tập tính, trong các dòng ong *A. mellifera*, dòng càng hiền thì khả năng tiết nọc càng thấp [3]. Trong nghiên cứu này, hai dòng trong nhóm ong C-CxL cho lượng nọc thấp hơn nhóm ong L-LxC vì mức độ hung dữ của giống ong L-LxC cao hơn ong C-CxL [11]. Nghiên cứu của Funari và cộng sự (2001) đã cho thấy trong đàn ong, khả năng tiết nọc của ong thợ di truyền theo ong chúa và ong châu Phi là dòng dữ nhất, đồng thời có khả năng tiết nọc cao nhất trong số các dòng ong *A. mellifera* [3]. Theo các tác giả này, ong thợ các đàn lai giữa ong chúa *A. m. ligustica* hoặc ong chúa *A. m. carnica* với ong đực Châu Phi, thì lượng nọc thu được của 2 dòng lai này đều thấp hơn với mức tin cậy về thống kê so với ong thợ của đàn mẹ Châu Phi. Như vậy, nội bộ giữa các dòng ong C và CxL trong nhóm ong C-CxL hoặc nội bộ giữa các đàn L và LxC trong nhóm ong L-LxC của nghiên cứu này không có sự sai khác thống kê tin cậy về lượng nọc thu được, vì các đàn trong mỗi nhóm đều có cùng nguồn gốc ong chúa C hoặc L.

Bảng 1. Lượng nọc ong của 4 dòng ong nghiên cứu

Lượng nọc ong khai thác	Nhóm ong chúa C-CxL		Nhóm ong chúa L-LxC	
	C1-C3	CxL1-CxL3	L1-L3	LxC1-LxC3
Khối lượng cao nhất	19,67	19,67	24,33	23,67
Khối lượng thấp nhất	17,33	17,67	21,33	21,00
$\bar{X} \pm SD$	18,56 \pm 0,91 ^a	18,83 \pm 0,65 ^a	23,05 \pm 1,25 ^b	22,50 \pm 1,02 ^b

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên hàng giá trị trung bình là sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

3.2. Mối liên quan giữa đa hình trình tự axit amin vùng Exon2 trên gen *def1* với khả năng tiết nọc của ong thợ



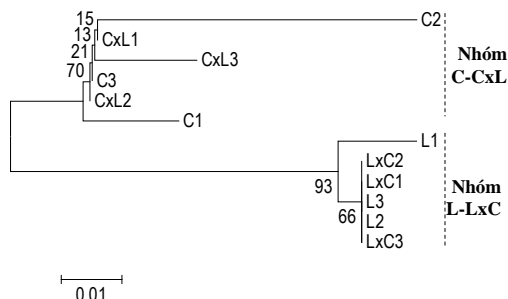
Hình 2. Kết quả nhân bản đoạn Exon2 của gen *def1* C1 đến LxC3; mẫu nghiên cứu; L: thang ADN 1 kb; N: đối chứng âm

Kết quả nhân bản đoạn Exon2 của gen *def1* được thể hiện trên hình 2. Sau khi giải trình tự, đoạn Exon2 có chiều dài 182bp (Hình 2) được so sánh bằng công cụ Blast với các đoạn *def1* đã công bố trên ngân hàng gen có mức tương đồng 97,25 - 100,00% và được chuyển sang trình tự của protein (Hình 3) để phân tích đa hình trình tự các a xít amin.

C1	EDEFEPLEHPENEERTDRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCFSLGKAGGHCKNGVCICR	60
C2	EDEFEPLEHPENEERTDRHRRVTDLLSFKGQVNSACAATCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60
C3	EDEFEPLEHPENEERTDRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60
CxL1	EDEFEPLEHPENEERTDRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60
CxL2	EDEFEPLEHPENEERTDRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60
CxL3	EDEFEPPEHPENEERTDRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60
L1	EDEFEPLEHFENEERADRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCHSLGKAGGHCKNGVCICR	60
L2	EDEFEPLEHFENEERADRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60
L3	EDEFEPLEHFENEERADRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60
LxC1	EDEFEPLEHFENEERADRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60
LxC2	EDEFEPLEHFENEERADRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60
LxC3	EDEFEPLEHFENEERADRHRRVTCDLLSFKGQVNSACAANCLSLGKAGGHCKNGVCICR	60

Hình 3. Trình tự axit amin đoạn Exon2 của gen *def1* của 12 mẫu ong

Kết quả phân tích khoảng cách chủng loại dựa vào đa hình trình tự axit amin của 2 nhóm ong phù hợp với sai khác thống kê tin cậy về lượng nọc khai thác được giữa chúng (Hình 4, Bảng 1). Các đàn ong trong nhóm ong L-LxC (gồm các đàn L1-3 và LxC1-3) và nhóm ong C-CxL (gồm các đàn C1-3 và CxL1-3) tách biệt thành 2 nhánh trên biểu đồ hình cây với khoảng cách di truyền tin cậy (giá trị Bootstrap 93%). Trong khi đó, khoảng cách về chủng loại giữa các cặp đồng trong cùng một nhóm (L1-3 và LxC1-3 của nhóm L-LxC hoặc C1-3 và CxL1-3 của nhóm C-CxL) là thấp, lần lượt là 0-66% và 13-70%. Điều đó phản ánh mức tương đương về khả năng tiết nọc của các đồng ong trong từng nhóm.



Hình 4. Kết quả phân tích khoảng cách chủng loại giữa 2 nhóm ong dựa vào đa hình trình tự axit amin đoạn Exon2 trên gen *def1* của ong thợ thu từ 12 đàn ong. Các số ở gốc nhánh cây: giá trị Bootstrap (%) thể hiện khoảng cách về chủng loại giữa các nhánh

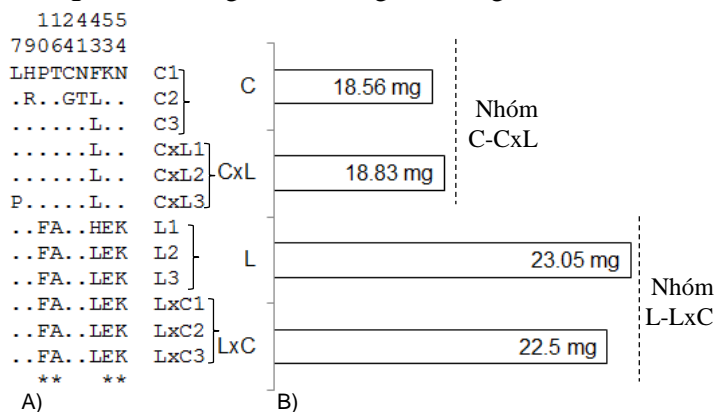
Kết quả so sánh trình tự axit amin các đoạn Exon2 trên gen *def1* của nhóm ong C-CxL và nhóm ong L-LxC cho thấy giữa chúng có 4 điểm đột biến đặc trưng tại vị trí 10, 16, 53 và 54. Các vị trí này của nhóm ong C-CxL là proline (P), threonine (T), lysine (K) và asparagine (N); còn nhóm L-LxC lại là phenylalanine (F), alanine (A), glutamate (E) và lysine (K) (Hình 5).

```

#MEGA X.
!Title specific mutation points of amino acid;
!Format
  DataType=Protein
  NSeqs=12 NSites=60
  Identical=. Missing=? Indel=-;
!Domain=Data;
[
  1 1111111112 222222223 333333334 444444445 555555556 ]
  1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
#C1 EDEFEPLEHP ENEERTDRHR RVTCDLLSFK GQVNSACAA NCFSLGKAGG HCKNGVCICR
#C2 .....R. .... T.L.....
#C3 ..... L.....
#CxL1 ..... L.....
#CxL2 ..... L.....
#CxL3 ..... P... L.....
#L1 .....F. ....A... ..H... ..EK...
#L2 .....F. ....A... ..L... ..EK...
#L3 .....F. ....A... ..L... ..EK...
#LxC1 .....F. ....A... ..L... ..EK...
#LxC2 .....F. ....A... ..L... ..EK...
#LxC3 .....F. ....A... ..L... ..EK...
          *          *          **
  
```

Hình 5. Kết quả phân tích đột biến điểm đặc trưng trên đoạn Exon2 của gen *def1* của 4 dòng ong

Kết quả cho thấy sự liên quan giữa các điểm đột biến đặc trưng đoạn exon 2 trong gen *def1* với khả năng tiết nọc giữa 2 nhóm ong nghiên cứu (Hình 6). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với một số công trình đã công bố trên thế giới [5], [6]. Theo nghiên cứu này, gen *def1* có chức năng qui định khả năng tiết nọc của ong thợ *A. mellifera* để chống lại kẻ thù và bảo vệ đàn ong. Việc ong thợ của các dòng ong khác nhau có mức độ hiện dữ khác nhau [12] và có khả năng tiết nọc không giống nhau [3] có thể là kết quả của các đột biến điểm trên gen *def1*. Đột biến điểm là cơ sở phân tử phản ánh mức độ biểu hiện của gen *def1* không giống nhau giữa nhóm ong C-CxL và ong L-LxC cũng như năng suất nọc ong khác nhau giữa chúng.



Hình 6. Mối liên quan giữa các đột biến trình tự axit amin (A) với lượng nọc ong trung bình của từng nhóm ong nghiên cứu (B)

Từ kết quả của nghiên cứu này, người nuôi ong ngoại *A. mellifera* để khai thác nọc có thể chọn các giống ong có nguồn gốc ong chúa *A. mellifera ligustica* (L-LxC) để tạo giống ong cho năng suất nọc ong cao. Đồng thời, các nhà chọn giống ong thương mại có thể dựa vào các chỉ thị với 4 đột biến điểm là axit amin (F, A, E, K) trên đoạn exon 2 của gen *def1* để xác định các giống ong *A. mellifera* cho năng suất nọc ong cao trước khi đưa ra thị trường.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, dựa vào phân tích trình tự axit amin trên Exon 2 của gen *def1* cho thấy mối liên quan giữa năng suất tiết nọc và đa hình về axit amin tại vị trí 10, 16, 53 và 54 của đoạn

gen này. Nhóm ong L-LxC gồm các đàn ong *A. m. ligustica* (L) và ong lai giữa ong chúa L với ong đực *A. m. carnica* (LxC) cho năng suất nọc cao có các axit amin là P, T, K và N. Trong khi đó, nhóm ong C-CxL gồm các đàn ong *A. m. carnica* (C) và ong lai giữa ong chúa C với ong đực L (CxL) cho năng suất nọc thấp hơn lại có các axit amin là F, A, E và K. Kết quả của nghiên cứu này có thể ứng dụng để chọn lọc các dòng ong mật cho năng suất nọc ong cao sử dụng chỉ thị phân tử.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] D. C. de Graaf, M. R. Brochetto Braga, R. M. M. de Abreu *et al.*, "Standard methods for *Apis mellifera* venom research," *Journal of Apicultural Research*, vol. 60, no. 4, pp. 1-31, 2021.
- [2] R. Wehbe, J. Frangieh, M. Rima *et al.*, "Bee Venom: Overview of main compounds and bioactivities for therapeutic interests," *Molecules* (Basel, Switzerland), vol. 24, no. 16, pp. 1-13, 2019.
- [3] S. Funari, P. Zeidler, H. Rocha, and J. Sforcin, "Venom production by Africanized honeybees (*Apis mellifera*) and Africanized-European hybrids," *Journal of Venomous Animals and Toxins*, vol. 7, Online Ver, pp. 190-198, 2001.
- [4] N. F. Lobo, L. Q. Ton, C. A. Hill *et al.*, "Genomic analysis in the sting-2 quantitative trait locus for defensive behavior in the honey bee, *Apis mellifera*," *Genome research*, vol. 13, no. 12, pp. 2588-2593, 2003.
- [5] M. S. Modanesi, S. M. Kadri, P. P. E. M. Ribolla *et al.*, "Period and time of harvest affects the apitoxin production in *Apis mellifera* Lineu (Hymenoptera, Apidae) Bees and Expression of Defensin Stress Related Gene," *Sociobiology*, vol. 62, no. 1, pp. 52-55, 2015.
- [6] J. Klauđiny, S. Albert, K. Bachanová *et al.*, "Two structurally different defensin genes, one of them encoding a novel defensin isoform, are expressed in honeybee *Apis mellifera*," *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 35, no. 1, pp. 11-22, 2005.
- [7] P. D. Hanh, T. A. Tuan, N. N. Vung *et al.*, "Research on selection and beekeeping techniques of imported bees (*Apis mellifera*) for high quality and productivity of honey," Project final report, Applied research and Technological development Program, Ministry of Agriculture and Rural Development, 2020.
- [8] L. Q. Trung, N. N. Vung, N. T. Tham *et al.*, "Distinguishing *Apis mellifera* ligustica and *A. m. carnica* using PCR-RFLPs on HD5 gene of mtDNA," *Journal of Biotechnology*, vol. 9, no. 4B, pp. 753-758, 2011.
- [9] C. Mraz, "Methods of collecting bee venom and its utilization," *Apiacta*, vol. 18, pp. 33-34, 1983.
- [10] P. S. Walsh, D. A. Metzger, and R. Higuchi, "Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material," *BioTechniques*, vol. 10, no. 4, pp. 506-513, 1991.
- [11] S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, and K. Tamura, "MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms," *Molecular Biology of Evolution*, vol. 35, no. 6, pp. 1547-1549, 2018.
- [12] L. L. C. PerfectBee, "The Common Races of Honey Bees," *The Science of Bees*, 2019. [Online]. Available: <https://www.perfectbee.com/learn-about-bees/the-science-of-bees/common-races-of-honey-bee>. [Accessed Oct. 15, 2022].