

Tổng biên tập:

TS. ĐOÀN XUÂN TRÚC

Phó Tổng biên tập:

PGS.TS. NGUYỄN ĐĂNG VANG

PGS.TS. NGUYỄN VĂN ĐỨC

Thư ký tòa soạn:

PGS.TS. NGUYỄN VĂN ĐỨC

Ủy viên Ban biên tập:

TS. NGUYỄN QUỐC ĐẠT

PGS.TS. HOÀNG KIM GIAO

GS.TS. NGUYỄN DUY HOAN

GS.TS. DƯƠNG NGUYỄN KHANG

PGS.TS. NGUYỄN THỊ KIM KHANG

PGS.TS. ĐỖ VÕ ANH KHOA

PGS.TS. ĐỖ ĐỨC LỰC

GS.TS. LÊ ĐÌNH PHÙNG

Xuất bản và Phát hành:

ThS. NGUYỄN ĐÌNH MẠNH



Giấy phép: Bộ Thông tin và Truyền thông
Số 257/GP- BTTTT ngày 20/05/2016

ISSN 1859 - 476X

Xuất bản: Hàng tháng

Toà soạn:

Địa chỉ: Tầng 4, Tòa nhà 73,
Hoàng Cầu, Ô Chợ Dừa,
Đống Đa, Hà Nội.

Điện thoại: 024.36290621

Fax: 024.38691511

E - mail: tapchichannuoi@hoichannuoi.vn

Website: www.hoichannuoi.vn

Tài khoản:

Tên tài khoản: Hội Chăn nuôi Việt Nam

Số tài khoản: 1300 311 0000 40, tại Ngân hàng
Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, Chi nhánh
Thăng Long - Số 4, Phạm Ngọc Thạch, Hà Nội.

In 1.000 bản, khổ 19x27 tại Công ty CP KH&CN
Hoàng Quốc Việt. In xong và nộp lưu chiểu:
tháng 5/2021.

DI TRUYỀN - GIỐNG VẬT NUÔI

Nguyễn Văn Ba, Phạm Thị Phương Mai, Trần Thị Thu Thủy, Phạm Thu Thảo và Phạm Doãn Lâm. Đa dạng di truyền Gene D-LOOP ty thể ở một số giống vịt bản địa Việt Nam 2

Nguyễn Thị Lan Anh, Lưu Quang Minh, Nguyễn Thị Kim Ngân, Nguyễn Ngọc Tấn và Hoàng Tuấn Thành. Đa dạng di truyền giống vịt Hòa Lan 7

Trần Ngọc Tiến, Nguyễn Thị Nga, Tạ Thị Hương Giang, Nguyễn Quý Khiêm, Phạm Thùy Linh, Phạm Thị Kim Thanh, Trần Thị Hà, Lê Xuân Sơn, Đặng Thị Phương Thảo, Nguyễn Thị Tâm và Nguyễn Thị Quê. Kết quả bước đầu chọn tạo 2 dòng Ngan từ Ngan R41 nhập nội và Ngan trâu bản địa qua 3 thế hệ 13

DINH DƯỠNG VÀ THỨC ĂN CHĂN NUÔI

Lê Thị Trúc Ly, Cao Thị Ngọc Ngân, Nguyễn Thị Ngọc Tuyền, Ngô Thị Huyền Trân, Lê Hòa Hiệp, Trần Quốc Kha, Nguyễn Thảo Nguyên và Nguyễn Thị Kim Khang. Khả năng sinh trưởng của gà Nòi lai với các mức bổ sung bột Cắn tây 20

Phạm Hải Ninh, Phạm Công Thiệu, Lê Thị Thanh Huyền, Đặng Vũ Hòa, Nguyễn Quyết Thắng và Đặng Thúy Nhung. Mức năng lượng trao đổi và protein thích hợp trong khẩu phần lợn nái và lợn Hương nuôi thịt 24

Phạm Văn Quyên, Kim Huỳnh Khiêm, Nguyễn Thị Thủy, Giang Vi Sal, Nguyễn Văn Tiến, Bùi Ngọc Hùng, Hoàng Thị Ngân và Huỳnh Văn Thảo. Khả năng sinh trưởng và phát triển của giống cỏ Hamil và cỏ VA06 tại Trà Vinh 31

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT VÀ CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

Ngô Thành Trung, Trần Thị Chi, Vũ Hải Yên, Trịnh Thị Linh Chi và Sử Thanh Long. Sự khác biệt giữa tinh trùng X và Y làm cơ sở cho việc phân ly giới tính tinh trùng vật nuôi 36

Trương Văn Hiếu và Nguyễn Thị Kim Quyên. Hiện trạng nuôi bò sinh sản tại tỉnh Trà Vinh 52

Nguyễn Thị Hải, Nguyễn Hoàng Thịnh, Bùi Huy Doanh, Phạm Thị Kim Anh và Phạm Kim Đăng. Khả năng phát hiện của que thử nhanh VNUA-BQT để chẩn đoán có thai sớm ở bò sữa 58

Ngô Thành Trung, Trần Thị Chi, Vũ Hải Yên, Đỗ Hồng Quyên, Phạm Văn Tiềm và Sử Thanh Long. Nghiên cứu đông lạnh nhanh tinh của một số giống dê nuôi tại Việt Nam 63

Phạm Chúc Trinh Bạch, Phan Ngọc Quý và Võ Phong Vũ Anh Tuấn. Hiệu quả phối giống nhân tạo trên gà Tre giống 69

Đỗ Thị Vân Giang, Nguyễn Thị Bích Nga, Trương Thị Tính và Vũ Thị Ánh Huyền. Tình hình dịch lở mồm long móng ở đàn gia súc của tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2016-2020 75

Nguyễn Ngọc Hải, Bùi Thị Diệu Mai và Diệp An Thành Long. Hiệu quả điều trị *Mycoplasma Suis* của một số loại kháng sinh thông qua các chỉ tiêu sinh hóa máu và tình trạng sức khỏe trên heo con cai sữa 79

Võ Phong Vũ Anh Tuấn. Phân lập và thử kháng sinh đồ *Pasteurella Multocida* từ vịt bệnh hoặc nghi mắc bệnh tụ huyết trùng 83

Đoàn Thị Phương và Vũ Thị Ánh Huyền. Tình hình nhiễm ve ở chó nuôi tại một số xã, thị trấn thuộc huyện Đông Hy, tỉnh Thái Nguyên 88

Nguyễn Thị Hạnh Chi, Văng Khánh Ly, Đặng Nguyễn Hoàng Minh, Võ Hồng Nhịnh và Nguyễn Tuyết Giang. Phân lập, tuyển chọn các chủng *Bacillus* sp. sinh enzyme và kháng vi khuẩn *Escherichia coli* 93

THÔNG TIN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Ban Biên tập. An toàn sinh học trong trang trại

ĐA DẠNG DI TRUYỀN GENE D-LOOP TY THỂ Ở MỘT SỐ GIỐNG VỊT BẢN ĐỊA VIỆT NAM

Nguyễn Văn Ba¹, Phạm Thị Phương Mai¹, Trần Thị Thu Thủy¹, Phạm Thu Thảo¹
và Phạm Doãn Lân^{1*}

Ngày nhận bài báo: 12/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 22/03/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 14/04/2021

TÓM TẮT

Việt Nam là quốc gia có nguồn gen vịt bản địa khá đa dạng và phong phú. Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân tích tính đa dạng di truyền gen *D-loop* ty thể ở một số giống vịt nuôi tại Việt Nam, đồng thời phân tích mối quan hệ di truyền và phát sinh loài giữa vịt Việt Nam với một số giống vịt trên thế giới. Tổng số 276 mẫu máu của 15 giống vịt được thu thập và tách chiết ADN tổng số. Đoạn gen *D-loop* (481bp) ty thể được tiến hành giải trình tự trực tiếp. Kết quả nghiên cứu cho thấy: trong 15 giống vịt đã xác định được 44 haplotype với 31 điểm đa hình. Đa dạng di truyền cao được tìm thấy ở giống vịt trời Bắc Mỹ và vịt Minh Hương trong khi đó đa dạng di truyền thấp thể hiện ở giống vịt Cỏ và Huba. Cây phát sinh chủng loại dựa vào haplotype gen *D-loop* giữa vịt Việt Nam và vịt một số nước là bằng chứng phân tử cho thấy chúng đều có nguồn gốc từ vịt *Anas platyrhynchos*.

Từ khóa: Gen *D-loop* ty thể, haplotype, đa dạng di truyền.

ABSTRACT

Genetic diversity of Mitochondrial *D-loop* gene in some Vietnamese native duck breeds

Vietnam has a diverse range of indigenous duck genetic resources. The study was conducted to analyze the genetic diversity of Mitochondrial *D-loop* gene in some duck breeds and to analyze the phylogenetic relationships between Vietnamese native ducks and some duck breeds in the world. Total 276 blood samples from 15 duck breeds were collected and DNA was extracted. A fragment of Mitochondrial *D-loop* gene (481bp) was sequenced directly for 276 samples. The results showed that 44 different haplotypes of *D-loop* gene were identified based on 31 polymorphisms. The highest haplotype diversity of *D-loop* gene was found in Bắc Mỹ and Minh Hương duck breed and the lowest haplotype diversity of *D-loop* gene was found in Cỏ and Huba duck breed. The phylogenetic tree provided evidence that Vietnamese native duck breeds origin was from *Anas platyrhynchos*.

Keywords: Mitochondrial *D-loop* gene, duck, genetic diversity.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sử dụng các chỉ thị di truyền phân tử để đánh giá sự đa dạng di truyền giữa các giống và trong bản thân các giống vật nuôi ở mức độ phân tử sẽ giúp định hướng cho việc quản lý, bảo tồn và sử dụng nguồn gen động vật nuôi một cách hữu ích. ADN ty thể là một trong những chỉ thị di truyền được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu về đa dạng di truyền quần thể. Ở ADN ty thể, đặc biệt là ở một số đoạn

của vùng điều khiển (*D-loop*), cytochrome b và locus 12S rARN chúng có mức độ tiến hóa rất nhanh và đã được chứng minh là rất hiệu quả trong việc nghiên cứu về cấu trúc và đa dạng di truyền. Phân tử ADN ty thể không trải qua bất kỳ một trạng thái tái tổ hợp nào. Hơn nữa, hệ gen ty thể có đặc tính di truyền theo dòng mẹ ở hầu hết các loài và vì vậy mỗi một dòng gen ty thể có sự di truyền độc lập. Do đó, hệ gen ty thể rất phù hợp trong việc nghiên cứu về quan hệ nguồn gốc tiến hóa (Ouibhavon, 2009).

Việt Nam là một nước có mức độ đa dạng sinh học cao với nhiều loài đặc hữu. Nguồn

¹ Viện Chăn nuôi

* Tác giả liên hệ: TS. Phạm Doãn Lân, Phó Viện trưởng Viện Chăn nuôi. Điện thoại: 0914366975; Email: pdlanvn@yahoo.com

gen vẹt nội ở Việt Nam cũng khá nhiều giống như: Vẹt Kỳ Lừa, Đốm, Bạch Tuyết, Cò, Sín Chéng, Minh Hương, Bầu Bén, Bầu Quỳ, Cổ Lũng, Mốc, Ô Môn và Hòa Lan. Tuy nhiên, đa dạng sinh học tại Việt Nam trong những năm gần đây đang phải đối mặt với những mối đe dọa vô cùng nghiêm trọng từ các hoạt động của con người như khai thác quá mức, phá hủy và làm xuống cấp môi trường tự nhiên, ô nhiễm môi trường, sinh vật ngoại lai và gần đây tác động của biến đổi khí hậu. Một số giống vẹt đã biến mất hoặc nguy cấp như vẹt Bạch Tuyết, Ô Môn, Kỳ Lừa. Để đối phó với những mối đe dọa về đa dạng sinh học này, chúng ta cần có những công cụ hữu hiệu giúp cho những nhà khoa học và những nhà quản lý có thể kiểm soát tốt hơn những hoạt động gây ảnh hưởng tới các loài hiện đang nguy cấp. Một trong những công cụ đang được các nước trên thế giới phát triển là dựa trên các kỹ thuật sinh học phân tử nghiên cứu marker ADN đặc trưng cho các loài đang được quan tâm (Stolpovskiy và Zakharov, 2017). Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện để phân tích đa dạng di truyền ở một số giống vẹt bản địa và vẹt nhập nội Việt Nam dựa trên vùng gen *D-loop* ty thể nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền và mối quan hệ di truyền dòng mẹ của một số giống vẹt ở Việt Nam đồng thời xác định mối quan hệ họ hàng giữa vẹt Việt Nam với một số giống vẹt trên thế giới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Thực hiện trên 15 giống vẹt, được thu thập từ các vùng địa lý khác nhau trên lãnh thổ Việt Nam bao gồm: Hòa Bình, Hà Tây cũ, Hà Nam, Thái Bình, Tuyên Quang, Sơn La, Lào Cai, Lạng Sơn, Thanh Hóa, Nghệ An, Bình Định, Tiền Giang, Hải Phòng và Quảng Ninh (Bảng 1) với tổng cộng 276 mẫu máu được bảo quản trong dung dịch EDTA 0,5M để đảm bảo chất lượng mẫu trong quá trình vận chuyển.

Sử dụng một số trình tự trên ngân hàng gen thế giới để phân tích so sánh mối quan hệ phát sinh chủng loài giữa vẹt Việt Nam và thế giới cụ thể: 2 Haplotype vẹt Thái Lan

(EU013948, EU013952); 4 Haplotype vẹt bản địa Trung Quốc (EF126702, EF126731, EU755252.1, KJ833586.1); 2 Haplotype vẹt Indonesia (KX756168, KX712255); 2 Haplotype vẹt Hàn Quốc (KU845272, KU845299); 1 Haplotype vẹt Cộng Hòa Séc (JN811041); 1 Haplotype vẹt Viễn Đông Nga (AY506947); 1 Haplotype Ngan (vẹt Xiêm-EU755254).

Bảng 1. Địa điểm, giống vẹt và số lượng mẫu

Địa điểm	Giống vẹt	Viết tắt	Số mẫu
Hòa Bình	Bầu Bén	VBB	16
Hà Tây cũ	Biển	VB	20
	Cò	VC	20
Tuyên Quang	Minh Hương	VMH	23
Sơn La	Mường Khiên	VMK	19
Lào Cai	Sín Chéng	VSC	19
Lạng Sơn	Đốm	VD	20
Thanh Hóa	Cổ Lũng	VCL	18
Nghệ An	Bầu Quỳ	VBQ	17
Bình Định	Mốc	VM	19
Tiền Giang	Hòa Lan	VHL	17
TTNC vẹt	Huba	VHB	16
Đại Xuyên	Super Meat	VSM	20
Q.Ninh, H.Phòng	Trời Bắc Mỹ	VBM	13
H.Nam, T. Bình	Trời Châu Á	VT	19
Tổng			276

2.2. Phương pháp

Tách chiết ADN: ADN tổng số được tách chiết từ mẫu máu bằng bộ kit DNeasy Blood & Tissue Kit từ Qiagen, được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C. Để kiểm tra nồng độ và độ tinh khiết của mẫu, tiến hành điện di ADN trên gel agarose 2% và máy quang phổ hấp thụ Nanodrop 2000.

Phản ứng PCR gen *D-loop*: Toàn bộ gen *D-loop* ty thể của 276 mẫu phân tích được khuếch đại bằng phản ứng PCR với cặp môi xuôi ngược được sử dụng từ công bố của He và ctv (2008):

5'- CCTACCTATCGGACTACCCTC -3'

5'- GCAGGTGTGTCCAGGCTTAGA -3'

Sản phẩm của phản ứng PCR là một đoạn gen *D-loop* với trình tự dài 481bp. Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 25µl: 2,5µl đệm PCR 10X; 2,5µl MgCl₂, 2,5mM; 2,5µl dNTPs 2mM; 0,3µl Taq DNA Polymerase 1u/

μl; 1μl mỗi xuôi và 1μl mỗi ngược 10pM, mẫu DNA 0,1μl 50-100ng. Phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình nhiệt: 95°C trong 5 phút, 35 chu kỳ với 94°C 45 giây, 60°C 50 giây, 72°C 60 giây. Kết thúc phản ứng ở 72°C trong 10 phút.

2.4. Tinh sạch sản phẩm PCR và giải trình tự

Tinh sạch sản phẩm của phản ứng PCR được tiến hành bằng bộ kit tinh sạch của hãng Invitrogen. Quy trình được lập cho giải trình tự tự động theo module BigDye® Terminator™ sử dụng để làm sạch sau sequencing bằng kit Polymer: POP7 và Capillary loại 3130 & 3100 – Avent Capillary Array - 36cm trên hệ thống máy giải trình tự tự động AB 3130.

2.5. Phân tích kết quả

Dữ liệu thô của 276 mẫu phân tích gen *D-loop* ty thể sau khi giải trình tự được xử lý bằng phần mềm BioEdit 6.0. Phần mềm DnaSP 5.10 được sử dụng để phân tích đa dạng các nucleotide và phát hiện các haplotype gen *D-loop*. Khoảng cách di truyền được tính theo phương pháp của Tamura và Nei (1993) và cây phát sinh chủng loại xây dựng bằng phương pháp NJ (Neighbor-Joining) trong phần mềm MEGA 7.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

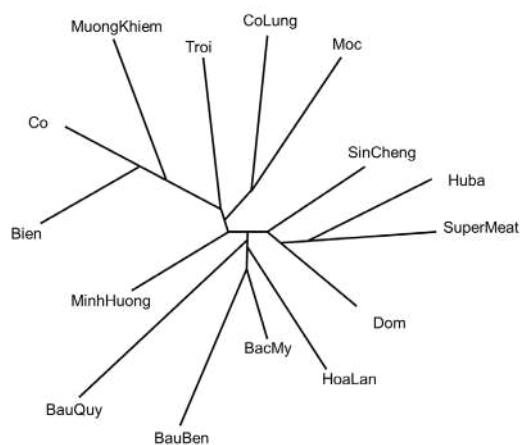
3.1. Đa dạng di truyền gen *D-loop* ty thể ở các giống vịt

Đoạn gen *D-loop* (481bp) sau khi giải trình tự được tiến hành xử lý loại bỏ đoạn đầu và đoạn cuối thu được trình tự đoạn gen *D-loop* dài 470bp của 15 giống vịt Việt Nam. Kết quả phân tích đa dạng di truyền trình tự gen *D-loop* ở các giống vịt được thể hiện ở Bảng 2. Trong 15 giống vịt được nghiên cứu, giống vịt Minh Hương (Tuyên Quang) có số haplotype nhiều nhất-phát hiện được 10 haplotype-với đa dạng haplotype $Hd=0,822$; tiếp đến là vịt Mốc và Trôi Bắc Mỹ (cổ xanh) 9 haplotype; vịt Bầu Bền, Bầu Quý và Biển có 9 haplotype; vịt Mường Khiêng, Sín Chéng và Super Meat có 7 haplotype; vịt Hòa Lan có 6 haplotype; vịt Cổ Lũng và Đốm có 5 haplotype; vịt Cỏ và Trôi Châu Á (mỏ khuyết) có 4 haplotype; thấp nhất là vịt Huba chỉ có 3 haplotype. Giống vịt Minh Hương mặc dù có số haplotype nhiều nhất

nhưng sự đa dạng haplotype lại thấp hơn so với vịt Trôi Bắc Mỹ ($Hd = 0,936$). Sự đa dạng nucleotide cao nhất ở giống vịt Super Meat (0,00618) và thấp nhất ở giống vịt Cỏ (0,00113). Kết quả phân tích cho thấy các giống vịt bản địa Việt Nam có sự đa dạng cao hơn so với vịt ngoại và vịt trời. Vịt trời Bắc Mỹ có sự đa dạng cao hơn so với vịt trời Châu Á, điều này có thể lý giải do sự phổ biến của giống vịt trời Bắc Mỹ trên toàn thế giới hơn so với giống vịt trời châu Á. Trong 2 giống vịt ngoại thì vịt Super Meat có sự đa dạng cao hơn nhiều so với giống vịt Huba. Vịt Super Meat là giống vịt đã được nhập về Việt Nam từ lâu (những năm 90) còn giống vịt Huba có nguồn gốc từ Hungari và mới được nhập về Việt Nam từ năm 2019. Tổng hợp kết quả phân tích trình tự đoạn gen *Dloop* (470bp) ở 15 giống vịt cho thấy xuất hiện 44 haplotype (Bảng 2).

Qua bảng 2 cho thấy haplotype 1 là haplotype phổ biến nhất, xuất hiện ở tất cả các giống vịt 96/276 (chiếm 34,78%). Tiếp đến là haplotype 15 xuất hiện ở 6 giống vịt với số lượng là 23/276 (8,33%), haplotype 17 cũng xuất hiện ở 6 giống vịt với số lượng 20/276 (7,25%) và 19 haplotype chỉ xuất hiện ở 1 giống.

Từ dữ liệu phân tích trình tự gene *D-loop*, chúng tôi đã tiến hành xây dựng thành công cây phát sinh chủng loại giúp minh họa mối quan hệ di truyền của 15 giống vịt nghiên cứu (Hình 1).



Hình 1. Cây phát sinh chủng loại giữa 15 giống vịt xây dựng theo phương pháp neighbor-joining

Bảng 2. Đa dạng haplotype, nucleotide và sự phân bố các haplotype gen D-loop từ giống vịt bản địa

Giống	Số mẫu (n)	Số haplotype	Đa dạng haplotype (Hd)	Đa dạng nucleotide (Pi)	Phân bố của các kiểu haplotype ở mỗi giống
VBM	13	9	0,936	0,00393	Hap1 (3); hap2 (2); hap3 (1); hap4 (1); hap5 (1); hap7 (1); hap8 (1), hap10 (1); hap 13 (2)
VBB	16	8	0,808	0,00462	Hap1 (6); hap2 (1); hap4 (2); hap5 (1); hap6 (1); hap7 (2); hap8 (1); hap11 (2)
VBQ	17	8	0,728	0,00502	Hap1 (8); hap9 (2); hap10 (1); hap11 (1); hap12 (1); hap13 (1); hap14 (1); hap26 (2)
VB	20	9	0,732	0,00217	Hap1 (6); hap15 (5); hap16 (1); hap17 (1); hap18 (1); hap19 (1); hap20 (2); hap36 (2); hap38 (1)
VCL	18	5	0,641	0,00371	Hap1 (10); hap15 (1); hap21 (5); hap22 (1); hap23 (1)
VC	20	4	0,432	0,00113	Hap1 (9); hap15 (3); hap20 (4); hap38 (4)
VD	20	5	0,505	0,00383	Hap1 (1); hap15 (10); hap17 (3); hap 18 (2); hap24 (4)
VHL	17	6	0,706	0,00340	Hap1 (9); hap9 (1); hap24 (2); hap25 (1); hap26 (3) hap27 (1)
VMH	23	10	0,822	0,00391	Hap1 (9); hap9 (1); hap10 (2); hap11 (2); hap12 (2); hap13 (1); hap29 (2); hap30 (1); hap31 (2); hap43 (1)
VM	19	9	0,731	0,00600	Hap1 (10); hap11 (2); hap17 (1); hap24 (1); hap31 (1); hap32 (1); hap33 (1); hap34 (1); hap35 (1)
VMK	19	7	0,608	0,00237	Hap1 (1); hap15 (2); hap19 (2); hap20 (2); hap36 (10); hap37 (1); hap38 (1)
VSC	19	7	0,544	0,00369	Hap1 (10); hap15 (2); hap17 (2); hap18 (1); hap24 (1); ; hap 39 (1); hap41 (2)
VSM	20	7	0,742	0,00618	Hap1 (2); hap17 (2); hap18 (7); hap24 (5); hap 40 (1); hap 41 (2); hap 42 (1)
VT	19	4	0,626	0,00207	Hap1 (8); hap9 (1); hap 43 (9), hap 44 (1)
VHB	16	3	0,857	0,00813	Hap1 (4); hap17 (11); hap28 (1)

Cây phát sinh chủng loại theo dòng mẹ giữa 15 giống vịt nghiên cứu dựa trên trình tự đoạn gen Dloop được chia thành 2 nhóm chính cụ thể như sau:

- Nhóm 1 gồm 9 giống: Sín Chéng, Huba, Super Meat, Đốm, Hòa Lan, Trôi Bắc Mỹ, Bàu Bền, Bàu Quý và Minh Hương.

- Nhóm 2 gồm 6 giống: Mùng Khiêng, Trôi Châu Á, Biển, Cỏ, Mốc và Cổ Lũng.

Qua hình 1 cho thấy trong 9 giống vịt ở nhóm 1 là những giống vịt “Cổ Xanh” tên thường gọi là vịt “Bầu” lại chia thành 2 nhóm nhỏ (nhóm phụ):

+ Nhóm phụ 1.1 gồm 4 giống: Super Meat, Huba, Sín Chéng và vịt Đốm;

+ Nhóm phụ 1.2 gồm 5 giống: Hòa Lan, Trôi Bắc Mỹ, Bàu Bền, Bàu Quý và Minh Hương.

Trong 9 giống vịt “Bầu” trừ vịt Super Meat thì 8 giống còn lại đều có con trống khoang cổ xanh rất đặc trưng của dòng vịt “Bầu”. Mặc dù giống vịt Super Meat có màu lông toàn thân trắng tuyền, nhưng có hình dáng đặc trưng của vịt “Bầu” như chân ngắn, cổ ngắn, đầu to, dáng đuôi cong, bết sệt. Hai giống vịt Đốm và Sín Chéng (phân bố ở biên giới phía Bắc giáp Trung Quốc) có quan hệ gần gũi với nhóm vịt ngoại là Super Meat và Huba.

Sáu giống vịt nằm trong nhóm 2 phân bố thành 2 nhóm phụ:

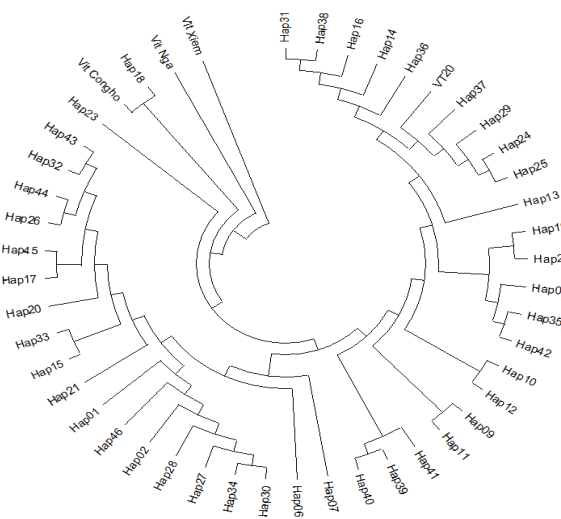
+ Nhóm phụ 2.1 là những giống vịt thuộc nhóm vịt có tên thân thuộc là vịt “Cỏ” và có quan hệ gần gũi với vịt trời châu Á.

+ Nhóm phụ 2.2 là vịt ở miền Trung (vịt Mốc và vịt Cổ Lũng). Vịt Mốc phân bố ở Bình Định còn vịt Cổ Lũng phân bố ở Thanh Hóa.

3.2. Mối quan hệ di truyền giữa 15 giống vịt nghiên cứu với một số giống vịt trên thế giới.

Kết quả phân tích cho thấy mức độ đa dạng các haplotype ở các giống vịt bản địa Việt Nam khá cao, nghiên cứu đã xác định được tổng cộng 44 haplotype khác nhau trên 15 giống vịt phân tích. Trình tự 44 haplotype của 15 giống vịt trong nghiên cứu này được so sánh với 14 trình tự trên ngân hàng gen của một số giống vịt: Trung Quốc (EF126702, EF126731, EU755252.1 và KJ833586.1); Hàn Quốc (KU845272, KU845299); Indonesia (KX756168, KX712255); Thái Lan (EU013948, EU013952); Cộng Hòa Séc (JN811041), Viễn Đông Nga (AY506947) và Ngan (vịt Xiêm *Cairina moschata* EU755254).

Kết quả phân tích đã thu được 47 haplotype trong đó vịt Xiêm, vịt Viễn Đông Nga và vịt Cộng hòa Séc tạo thành 3 haplotype mới còn vịt Indonesia, Hàn Quốc, Trung Quốc, Thái Lan có trình tự trùng với haplotype 1 (haplotype phổ biến trong 44 haplotype) và haplotype 2 của vịt Việt Nam. Mối quan hệ di truyền giữa 47 haplotype được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Cây phân loại thể hiện mối quan hệ phát sinh giữa 47 haplotype được xây dựng theo mô hình neighbor-joining bằng phần mềm MEGA 7

Theo Li và ctv (2006) cho rằng vịt nhà được thuần hóa từ vịt trời cổ xanh (wild mallard - *Anas platyrhynchos*). Sultana và ctv (2016) đã giải trình tự vùng *Dloop* ty thể để đánh giá đa dạng di truyền và phân tích mối quan hệ di truyền giữa các quần thể vịt Đông và Nam Á (Bangladesh, Trung Quốc, Hàn Quốc). Tất cả các quần thể này đều có quan hệ mật thiết với vịt trời (*Anas platyrhynchos*). Li và ctv (2010) đã phân tích vùng *Dloop* ty thể của 8 giống vịt bản địa Trung Quốc. Cây phát sinh loài NJ được xây dựng dựa trên 38 haplotypes (96 trình tự, bao gồm 12 trình tự của *Anas Platyrhynchos*, 6 trình tự của *Anas zonorhyncha* và 78 trình tự vịt bản địa Trung Quốc). Kết quả cho thấy nguồn gốc dòng mẹ của 8 giống vịt bản địa đều từ *Anas platyrhynchos*. Sultana và ctv (2016) đã giải trình tự vùng *Dloop* ty thể để đánh giá đa dạng di truyền và phân tích mối quan hệ di truyền giữa các quần thể vịt Đông và Nam Á (Bangladesh, Trung Quốc, Hàn Quốc). Tất cả các quần thể này đều có quan hệ mật thiết với vịt trời mallard (*Anas platyrhynchos*). Phân tích cây phả hệ theo phương pháp neighbor-joining cho thấy những quần thể vịt nội địa Đông Nam Á đã được thuần hóa từ vịt *Anas platyrhynchos*.

Kết quả phân tích của nghiên cứu này cho thấy bằng chứng phân tử về mối quan hệ di truyền theo dòng mẹ giữa 15 giống vịt Việt Nam với một số giống vịt thế giới: Vịt Việt Nam có mối quan hệ gần gũi với vịt Trung Quốc, Hàn Quốc, Indonesia, Thái Lan (*Anas platyrhynchos*) và khác xa so với vịt mỏ khuyết vùng Viễn Đông Nga (*Anas zonorhyncha*) và vịt Xiêm (*Cairina moschata*).

4. KẾT LUẬN

Đã thành công trong việc khuếch đại và giải trình tự gen *Dloop* ty thể của 15 giống vịt là tiền đề cho việc nghiên cứu đa dạng di truyền và nguồn gốc của các giống vịt bản địa Việt Nam.

Mức độ đa dạng haplotype gen *Dloop* ở 15 giống vịt là khá cao: trong 15 giống phân tích đã xác định được 44 haplotype với 31 điểm đa hình. Đa dạng di truyền cao ở giống vịt

trời Bắc Mỹ và vịt Minh Hương trong khi đó đa dạng di truyền thấp ở giống vịt Cỏ và vịt Huba.

Kết quả nghiên cứu là bằng chứng phân tử về mối quan hệ phát sinh chủng loại giữa vịt Việt Nam và vịt một số nước trên thế giới. Phân tích mối quan hệ phát sinh chủng loại qua so sánh 44 haplotype của 15 giống vịt cho thấy chúng đều có nguồn gốc từ vịt *Anas platyrhynchos*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. He Da-Qian, Zhu Qing, Shi-Yi Chen, Hui-Ying Wang, Yi-Ping Liu and Yong-Gang Yao (2008). A homogenous nature of native Chinese duck matrilineal pool. BMC Evolutionary Biology, 8: 298. doi: 10.1186/1471-2148-8-298.
2. Li H.-F., Li B.C., Chen K.W., Yang N., Ma Y.H., Tang Q.P. and Tu Y.J. (2006). Study on Molecular Genetic Diversity of Native Duck Breeds in China. Acta Vet. Zoo. Sinica, 11: 1107-13.
3. Li H.-F., Zhu W.-Q., Song W.-T., Shu J.-T., Han W. and Chen K.-W. (2010). Molecular genetic diversity and origin of Chinese domestic duck breeds. Archives Ani. Bre., 53(5): 609-17.
4. Outhavon K. (2009). Molecular phylogenetic relationships among Thai deer (subfamily Cervinae). A thesis for the degree of Doctor of Philosophy (Bioscience) Graduate School, Kasetsart University, Thailand.
5. Stolpovskiy Y.A. and Zakharov G.I.A. (2017). The problem of conservation of gene pools of domesticated animals. J. Gen. Bre., 21(4): 477-86.
6. Sultana H., Seo D.W., Bhuiyan M.S.A., Choi N.R., Hoque M.R., Heo K.N. and Lee J.H. (2016). Genetic diversity and phylogenetic analysis of South-East Asian duck populations based on the mtDNA D-loop sequences. Asian-Aus. J. Ani. Sci., 29(12): 1688.
7. Tamura K. and Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Mol. Bio.Evo., 10(3): 512-26.

ĐA DẠNG DI TRUYỀN GIỐNG VỊT HÒA LAN

Nguyễn Thị Lan Anh^{1*}, Lưu Quang Minh³, Nguyễn Thị Kim Ngân², Nguyễn Ngọc Tấn² và Hoàng Tuấn Thành¹

Ngày nhận bài báo: 22/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 12/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 24/04/2021

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá đa dạng di truyền giống vịt Hòa Lan (HL) và một số giống vịt khác (vịt TC - con lai giữa vịt Triết Giang và vịt Cỏ, vịt Biển - BI và vịt Cỏ - CO). Mẫu máu được thu thập ngẫu nhiên từ 199 cá thể, trong đó có 51 HL, 58 TC, 30 BI và 52 CO và 20 chỉ thị microsatellite (MS) được sử dụng để phân tích đa dạng di truyền các giống vịt trong nghiên cứu. Kết quả cho thấy trong tổng số 20 MS có 15 MS biểu hiện đa hình ở các nhóm giống vịt khảo sát. Số alen trung bình của mỗi MS có đa hình dao động từ 3,0 (AJ272582) đến 6,5 alen (AJ515883). Tính biến đổi di truyền trong cùng giống ở mức cao với hệ số di hợp mong đợi trung bình là 0,682, giá trị trung bình của hệ số di hợp tử quan sát trên mỗi locus dao động từ 0,0553 (AJ2725770) đến 0,7538 (AJ515893) với giá trị trung bình là 0,352. Trung bình giá trị ước lượng F_{is} cho tất cả các giống vịt từ 0,034 (AJ515893) đến 0,913 (AJ272577), trung bình giá trị ước lượng F_{st} ở mức thấp nhất là 0,0268 (AJ272580) và cao nhất là 0,1449 (AJ272581). Dựa vào cây phân loài cho thấy từ 4 quần thể vịt khảo sát chia thành hai nhánh chính, trong đó một nhánh là nhóm giống vịt BI, nhánh còn lại là các nhóm giống vịt CO, TC và HL. Các chỉ thị có đa hình trong nghiên cứu được xem là chỉ thị hữu ích để ứng dụng phân tích đa dạng di truyền các quần thể vịt ở Việt Nam. Từ nguồn vật liệu trong nghiên cứu này, nên tiến hành các nghiên cứu sâu hơn trên ADN ty thể để tìm hiểu sự phân nhóm một cách chính xác hơn giữa các giống vịt hiện diện ở Việt Nam.

Từ khóa: Đa dạng di truyền, khoảng cách di truyền, vịt bản địa, chỉ thị microsatellite, cây phân loài.

¹ Phân Viện Chăn nuôi Nam Bộ

² Khoa Khoa học Sinh học - Trường Đại học Nông Lâm - Tp. Hồ Chí Minh

³ Bộ Khoa học và Công nghệ

* Tác giả liên hệ: ThS. Nguyễn Thị Lan Anh, Phân Viện Chăn nuôi Nam Bộ; ĐT: 0969300386; Email: lananh303@gmail.com.

ABSTRACT

Genetic diversity of Hoa Lan duck breed by using microsatellite markers

The aim of this study was to investigate the genetic diversity of Hoa Lan duck breed (HL) and other three duck breeds such as TC, Bien (BI) and Co (CO). Blood samples were randomly collected from 199 individuals, including 51 HL, 58 TC, 30 BI and 52 CO. A set of 20 microsatellite markers was used to analyse the genetic diversity of ducks in the study. The results showed that 15 of the 20 microsatellite markers were found to be polymorphic in four duck populations. The average number of alleles of each microsatellite marker in 4 duck populations ranged from 3.0 (AJ272582) to 6.5 alleles (AJ515883). The genetic variability within the breeds was high with the expected heterozygosity was 0.682. The average observed heterozygosity across 15 microsatellite markers in all of 4 duck populations was 0.352 with the range from 0.0553 (AJ2725770) to 0.7538 (AJ515893). The estimated average F_{is} value for all duck breeds ranged from 0.034 (AJ515893) to 0.913 (AJ272577), and the estimated average F_{st} value ranged from 0.0268 (AJ272580) to 0.1449 (AJ272581). Based on the phylogenetic tree, four surveyed duck populations were separated into two main clades of which one clade was BI duck population, the other clade was CO, TC and HL duck populations. In conclusion, most of the polymorphic markers in this study can be the useful markers to apply for analysis of genetic relationship among duck populations. Further studies on mitochondrial DNA should be considered to understand more insight into the genetic diversity among present duck populations in Viet nam.

Keywords: Genetic diversity, genetic distance, indigenous duck, microsatellite markers, phylogenetic tree.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là quốc gia có ngành chăn nuôi vịt lớn thứ 2 thế giới, sau Trung Quốc. Tổng đàn vịt cả nước năm 2020 là 82,5 triệu con, trong đó tập trung chủ yếu (trên 60%) ở hai vùng đồng bằng sông Cửu Long và sông Hồng. Trong các giống vịt bản địa đang đặc biệt được quan tâm phải kể đến giống vịt Hòa Lan nuôi khá phổ biến trong các nông hộ ở vùng đồng bằng sông Cửu Long. Đây là giống vịt bản địa đã có từ lâu đời, được người dân ưa chuộng do có nhiều đặc điểm quý hiếm như sức sống tốt, chất lượng thịt và trứng thơm ngon nhưng chưa được quan tâm nghiên cứu một cách đồng bộ để sử dụng có hiệu quả nguồn gen giống vịt này.

Có nhiều loại chỉ thị ADN được sử dụng trong các nghiên cứu đa dạng di truyền nhưng phương pháp sử dụng chỉ thị phân tử microsatellite (MS) vẫn được xem là công cụ hữu hiệu cho công tác bảo tồn nguồn gen nhờ tính đa hình cao, phân bố ngẫu nhiên trên toàn hệ gen, thông tin di truyền hữu ích và có tính phân biệt di truyền rất cao (Estoup và ctv, 1993). Tuy nhiên, một số hạn chế của MS do ảnh hưởng tạo sản phẩm phụ trong quá trình nhân bản gen cũng như phương pháp phân tích cũng đã được đưa ra trong một số

nghiên cứu gần đây (Brookes và ctv, 2012; Hosseinzadeh-Colagar và ctv, 2016). Ở Việt Nam, đã có một số nghiên cứu đa dạng di truyền bằng chỉ thị MS làm cơ sở cho việc bảo tồn nguồn gen được thực hiện trên bò (Phạm Doãn Lâm, 2012); dê (Nguyễn Thị Lan Anh và ctv, 2019); vịt (Đỗ Ngọc Hà và ctv, 2018); trâu nội (Nguyễn Ngọc Tấn và ctv, 2019) nhưng chưa có nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền ở vịt Hòa Lan so với các giống vịt bản địa khác. Nghiên cứu này nhằm đánh giá khoảng cách di truyền của vịt Hòa Lan cùng với một số giống vịt khác bằng chỉ thị phân tử microsatellites, từ đó cung cấp thông tin hữu ích cho việc định hướng bảo tồn cũng như khai thác và phát triển nguồn gen vịt Hòa Lan một cách có hiệu quả.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Vật liệu**

Mẫu máu được lấy từ tĩnh mạch cánh của từng cá thể vịt, cho vào ống nghiệm có EDTA, bảo quản ở 4°C đưa về phòng thí nghiệm (TN) và được bảo quản ở -20°C để sử dụng.

Thí nghiệm được thực hiện tại phòng TN Công nghệ Sinh học - Phân Viện Chăn nuôi Nam Bộ, từ tháng 7/2018 đến tháng 12/2018.

2.2. Phương pháp

Thu nhận mẫu và ly trích ADN: Tổng số 199 mẫu máu cá thể được thu thập ngẫu nhiên từ vịt Hòa Lan (HL; 59), vịt TC (con lai giữa vịt Triết Giang và vịt Cỏ; 58), vịt Biển (BI; 30), và vịt Cỏ (CO; 52) tại các trại vịt giống thuộc Phân viện Chăn nuôi Nam Bộ. Ly trích ADN bằng kit tách chiết của hãng Qiagen (Đức) theo quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất và ADN sau tách chiết được kiểm tra chất lượng bằng phương pháp điện di và phương pháp quang phổ (UV).

Phát hiện đa hình microsatellite: sử dụng 20 chỉ thị microsatellite được chọn lọc từ nghiên cứu của Wu và ctv (2008), chi tiết về từng primer được trình bày trong Bảng 1. Tất cả các cặp môi được tối ưu với ADN được ly trích từ 2 mẫu cá thể bất kỳ của các quần thể vịt khác nhau để xác định nhiệt độ gắn mỗi phù hợp. Sau khi tối ưu được nhiệt độ gắn môi thích hợp, phản ứng PCR-SSR được thực hiện trên toàn bộ mẫu khảo sát cho từng chỉ thị. Tất cả mẫu được nhận dạng di truyền bằng 20 chỉ thị microsatellite (Bảng 1), tổng thể tích mỗi phản ứng PCR là 10 μ l, với chu trình nhiệt: (1) 94°C trong 3 phút, (2) 94°C 1 phút, (3) Ta trong 30 giây, (4) 72°C trong 30 giây, (5) Lặp lại 35 chu kỳ từ bước 2 đến bước 4, (6) 72°C trong 5 phút. (7) giữ nhiệt độ 4°C trong 10 phút. Trong đó Ta là nhiệt độ bắt cặp của từng cặp môi sau khi đã tối ưu hóa (Bảng 1).

Bảng 1. Thông tin 20 chỉ thị microsatellite sử dụng

Markers	Trình tự primer (5'-3')	Ta (°C)	KT (bp)
AJ272577	CACTTGCTCTTCACTTTCTTT GTATGACAGCAGACACGGTAA	53	192-212
AJ272578	AACCAAGACAGAATAATCCTTA GAACACAACCTGCTTTGCTA	54	198-218
AJ272579	ACATCTTTGGCATTITGAA CATCCACTAGAACACAGACATT	56	204-278
AJ272580	GGATGTTGCCACATATTT TTGCCTTGTTATGAGCCATTA	56	82-138
AJ272581	ATTAGAGCAGGAGTTAGGAGAC GCAAGAAGTGGCTTTTTTC	57	120-168
AJ272582	GGACCTCAGGAAAATCAGTGTA GCAGCAGAGCAGGAAATA	57	192-230
AJ272583	GAATAAAGTAACGGCTTCTCT CTGCTGGTTTTGGAAAGT	57	154-182

Markers	Trình tự primer (5'-3')	Ta (°C)	KT (bp)
AJ515883	CACACGCGCAGCAGAGGA GTCGTCAGCCAGGGGTTTGAG	61	86-130
AJ515884	CCTCGGTATTGTTTTCCAT GCTCTGAAGGGCATTATTTAG	55	152-230
AJ515887	AAAGCCCTGTGAAGCGAGCTA TGTGTGTGCATCTGGGTGTGT	61	78-124
AJ515889	CAACGAGTGACAATGATAAAA CAATGATCTCACTCCAATAG	55	174-212
AJ515890	TGAATATGCGTGGCTGAA CAGTGAGGAATGTGTTTGAGTT	53	178-198
AJ515891	CCTTCTGAACCTTCCTAG AAATATAGACTTTTGTCTGAA	54	132-180
AJ515893	TTCTGGCCTGATAGGTATGAG GAATTGGGTGGTTCATACTGT	56	216-272
AJ515895	ACCAGCCTAGCAAGCACTGT GAGGCTTTAGGAGAGATTGAAAAA	62	124-156
AJ515896	CTTAAAGCAAAGCGCACGTC AGATGCCCAAAGTCTGTGCT	64	118-158
AJ515897	GTTATCTCCACTGCACACG CGACAGGAGCAAGCTGGAG	64	114-198
AJ515898	TCCTCTGCTCTAGTTGTGATGG CCTCAGCAGTCTTCTCAGTG	61	160-212
AJ515899	TCAACCAAGTGGTCAGAGAAAAA AGGTCAGCCCCATTITTAGT	57	118-184
AJ515900	CCGTCAGACTGTAGGGAAGG AAAGCTCCACAGAGGCAAAG	62	146-202

Ghi chú: Ta: nhiệt độ gắn môi được chọn sau khi tối ưu hóa điều kiện nhiệt độ gắn môi

Các sản phẩm PCR khuếch đại được điện di trên gel agarose 3% và chụp hình ảnh điện di bằng máy GelDoc It2 (UVP, USA) để phân tích kết quả. Xác định kích thước alen theo phương pháp của Barker và ctv (1997) có sự điều chỉnh là so sánh với thang ADN chuẩn HyperLadderTM (50bp) của Bioline (Anh).

2.3. Xử lý số liệu

Sau khi điện di sản phẩm PCR, đọc kết quả và mã hóa dữ liệu theo hình thức nhị phân, có đa hình ghi "1" và đồng hình ghi "0". Dữ liệu kiểu gen được phân tích sử dụng phiên bản Popgene 1.32 để tính toán tần số alen tại mỗi locus cho mỗi quần thể, số lượng alen trung bình trên quần thể và độ dị hợp tử (mong đợi và quan sát). Các thông số khác biệt di truyền (Fst), hệ số di truyền nội loài (Fis) và

trong toàn bộ quần thể (Fit) được phân tích theo phương pháp của Wright (1965). Sử dụng phương pháp Neighbor Joining (Saitou và Nei, 1987) để tính khoảng cách di truyền, xây dựng cây phân loài (phylogenetic tree) bằng phần mềm NTSyspc phiên bản 2.1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhận biết đa dạng di truyền các giống vịt bằng chỉ thị microsatellite

Thực hiện phản ứng PCR cho tất cả mẫu cá thể trong nghiên cứu theo từng primer. Kết quả phân tích 20 chỉ thị microsatellite với 199 mẫu cá thể, tính toán số lượng alen của mỗi microsatellite có đa hình trong từng nhóm giống được tổng hợp ở Bảng 2.

Bảng 2. Số alen của mỗi microsatellite đa hình

Markers	CO	TC	HL	BI	Trung bình
AJ272577	5	5	5	2	4,3
AJ272578	5	6	6	6	5,8
AJ272580	5	4	5	5	4,8
AJ272582	3	4	4	1	3,0
AJ515883	7	7	7	5	6,5
AJ515884	6	5	5	5	5,3
AJ515887	5	5	4	3	4,3
AJ515889	6	6	5	6	5,6
AJ515890	6	7	6	5	6,0
AJ515891	5	6	6	5	5,5
AJ515893	6	6	6	5	5,8
AJ515895	5	5	5	4	4,8
AJ515896	5	5	5	5	5,0
AJ515898	4	5	5	4	4,5
AJ515899	6	6	6	5	5,8
Tổng	79	82	80	66	

Với 20 chỉ thị đã sử dụng thì có 15 chỉ thị có đa hình trong các quần thể vịt nghiên cứu, trong đó chỉ thị AJ272581 cho kết quả đơn hình ở quần thể vịt Biên. Số lượng alen trung bình của từng chỉ thị MS có đa hình tính trên 4 quần thể vịt khảo sát dao động từ 3,0 alen ở locus AJ272582 đến 6,5 alen ở locus AJ515883. Kết quả cho thấy mức đa dạng ở tất cả các quần thể khá cao với tổng số alen cao nhất ở quần thể vịt TC (82 alen) và thấp nhất là ở quần thể vịt BI (66 alen). Nghiên cứu của Wu và ctv (2008) trên 6 giống vịt được nuôi

ở Trung Quốc (Peking Z4, Aobaixing, Cherry Valley, Muscovy, Shaoxing và Peking Z1) cho thấy tất cả 20 MS trên đều cho kết quả đa hình ngoại trừ AJ515896 ở quần thể Muscovy và số alen lần lượt là 151, 156, 163, 171, 175 và 176 alen. Sự khác nhau này có thể do sự khác biệt nguồn vật liệu di truyền giữa hai nghiên cứu.

Bảng 3. Dị hợp tử mong đợi, quan sát và thông tin đa hình cho 15 chỉ thị microsatellite

Quần thể vịt	Số mẫu	H _{exp}	H _{obs}	PIC
CO	52	0,658	0,313	0,651
TC	58	0,701	0,361	0,695
HL	59	0,728	0,358	0,722
BI	30	0,641	0,391	0,631
Trung bình		0,682	0,356	0,675

Kết quả ở bảng 3 cho thấy giá trị Hexp ở các quần thể vịt CO, TC, HL và BI lần lượt là 0,658; 0,701; 0,728 và 0,641. Giá trị Hobs ở quần thể vịt là tương đương nhau và dao động từ 0,313 (CO) đến 0,391 (BI). Giá trị thông tin đa hình (PIC) ở các quần thể vịt cao nhất là 0,722 (HL) và thấp nhất là 0,631 (BI). Giá trị trung bình của Hexp, Hobs và PIC cho tổng các chỉ thị có đa hình và tính cho toàn bộ các quần thể vịt trong nghiên cứu lần lượt là 0,682; 0,356 và 0,675. 20 MS được sử dụng trên các quần thể vịt tại Trung Quốc cho thấy Hexp (0,7843) và PIC (0,762) cao hơn kết quả nghiên cứu này (Wu và ctv, 2008). Giá trị PIC của tất cả 15 MS đa hình đều cho giá trị cao hơn 0,5. Điều này chứng tỏ bộ MS sử dụng có độ đa dạng cao và có thể ứng dụng để phân tích đánh giá mối quan hệ di truyền ở mức độ phân tử giữa các quần thể vịt khác nhau tại Việt Nam.

Số lượng alen là tương đối cao ở tất cả các MS đa hình, cao nhất tại 2 locus AJ515883 và AJ515890 (7 alen), tiếp theo sau đó là 6 alen ở 6 locus (AJ272578, AJ515884, AJ515889, AJ515891, AJ515893, AJ51589902), kế tiếp là 5 alen tại 06 locus khác (AJ272577, AJ272580, AJ515887, AJ515895, AJ515896 và AJ515898) và thấp nhất ở locus AJ272581 (4 alen). Số lượng alen, Hexp, Hobs và PIC là các hệ số đo lường cơ bản, cung cấp thông tin quan trọng cho sự phân biệt giữa các cá thể và quần thể (Seo và ctv, 2016). Số lượng alen của một locus

càng lớn thì mức độ mang thông tin của chỉ thị càng cao và quần thể nào có tần số xuất hiện các alen càng đều nhau thì mức độ đa hình của quần thể đó cũng cao hơn (Nguyễn Thị Diệu Thúy và Geldermann, 2004). Kết quả từ nghiên cứu này cho thấy có 08 locus có từ

6 alen trở lên có thể ứng dụng cho các nghiên cứu sâu hơn trên các giống vịt được nuôi ở Việt Nam và có thể là cơ sở dữ liệu để xây dựng nên các giải pháp để tác động lên các chương trình lai tạo giống vịt trong tương lai.

Bảng 4. Dị hợp tử mong đợi, quan sát, thông tin đa hình và phân tích F-statistics 15 chỉ thị microsatellite

Chỉ thị	Na	H _{exp}	H _{obs}	PIC	Fst(θ)	Fit(F)	Fis(f)
AJ272577	5	0,6555	0,0553	0,6538	0,1306	0,9244	0,9130
AJ272578	6	0,7673	0,2814	0,7654	0,0449	0,6218	0,6041
AJ272580	5	0,7537	0,6935	0,7518	0,0268	0,1079	0,0834
AJ272581	4	0,4189	0,0603	0,4178	0,1449	0,8627	0,8394
AJ515883	7	0,8446	0,5829	0,8425	0,0305	0,2809	0,2582
AJ515884	6	0,7294	0,4271	0,7276	0,0639	0,4161	0,3762
AJ515887	5	0,7517	0,2714	0,7498	0,0745	0,6784	0,6525
AJ515889	6	0,7665	0,1055	0,7646	0,0412	0,8580	0,8519
AJ515890	7	0,7929	0,3518	0,7909	0,0590	0,5762	0,5496
AJ515891	6	0,7351	0,1508	0,7333	0,0431	0,7746	0,7645
AJ515893	6	0,7663	0,7538	0,7644	0,0379	0,0053	-0,0340
AJ515895	5	0,7572	0,3065	0,7553	0,0608	0,5608	0,5324
AJ515896	5	0,6843	0,3116	0,6826	0,0316	0,5219	0,5063
AJ515898	5	0,6110	0,3819	0,6095	0,0278	0,3243	0,3050
AJ515899	6	0,7380	0,5477	0,7361	0,0373	0,2302	0,2004
TB	5,6	0,7182	0,3521	0,7164	0,0539	0,5026	0,4743

Ghi chú: Na: Số lượng alen; H_{exp}: hệ số dị hợp mong đợi; H_{obs}: hệ số dị hợp quan sát; PIC: thông tin đa hình; Fst(θ): Khoảng cách di truyền, Fit(F): Tổng cận huyết, Fis(f): Lai cận huyết giữa các giống.

Giá trị PIC trung bình của 15 chỉ thị microsatellite là 0,7164 (0,6095 AJ515898-0,8425 AJ515883), trừ AJ272581 có giá trị 0,4178. Độ dị hợp tử quan sát (Hobs) trên mỗi locus trung bình là 0,3521 (0,0553 AJ2725770-0,7538 AJ515893). Độ dị hợp mong đợi (Hexp) trung bình là 0,7182, thấp nhất tại locus AJ272581 (0,4189) và cao nhất ở locus AJ515883 (0,8446). Như vậy, giá trị Hobs ở tất cả các locus khảo sát đều thấp hơn Hexp, chỉ ra sự suy giảm dị hợp tử trong các quần thể vịt nghiên cứu. Theo Botstein và ctv (1980), PIC và He là các chỉ số đáng tin cậy được sử dụng để đánh giá về đa dạng di truyền, đánh giá mức biến đổi gen: khi PIC>0,5 và He>0,6 locus có sự đa dạng cao; khi PIC<0,25 locus có sự đa dạng thấp và khi 0,25<PIC<0,5 locus có sự đa dạng trung bình. Trong nghiên cứu này, hệ số PIC của các chỉ thị đều cho giá trị >0,5 (ngoại trừ locus AJ272581),

cho thấy độ đa dạng di truyền dựa trên các chỉ thị MS cho các nhóm vịt khảo sát trong nghiên cứu ở mức cao.

Thống kê F được sử dụng để kiểm tra sự khác biệt di truyền giữa các quần thể. Khi không có sự khác biệt, giá trị của Fst bằng 0; khi các alen giữa các quần thể khá khác biệt, giá trị của Fst bằng 1 (Wu và ctv, 2008). Số liệu Bảng 4 cho thấy hầu hết các locus đều có giá trị Fis dương, với giá trị trung bình là 0,4743 (trừ locus AJ515893 có giá trị -0,0340). Giá trị Fis lớn thể hiện sự suy giảm dị hợp tử và ngược lại. Sự suy giảm dị hợp tử có thể do mức độ giao phối cận huyết cao và nguyên nhân có thể là (i) các cá thể giao phối tự nhiên; (ii) kích thước quần thể nhỏ, số lượng đực giống ít hay là sự phân tán địa lý còn giới hạn do giao thương con giống giữa các vùng (Taberlet và ctv, 2008).

Sự khác biệt di truyền trung bình giữa các nhóm giống (Fst) đạt 0,0539 là khá thấp và giá trị tổng cận huyết (Fit) đạt ở mức cao 0,5026. Điều này có thể do hạn chế của kỹ thuật điện di agarose so với điện di trên acrylamide (Đỗ Ngọc Hà và ctv, 2018) hay điện di mao quản (Phạm Doãn Lâm, 2012) và những ảnh hưởng phụ xảy ra trong quá trình khuếch đại sản phẩm cùng với phương thức điện di trên gel agarose khi ứng dụng chỉ thị MS (Harr và ctv, 2000; Brookes và ctv, 2012; Hosseinzadeh-Colagar và ctv, 2016).

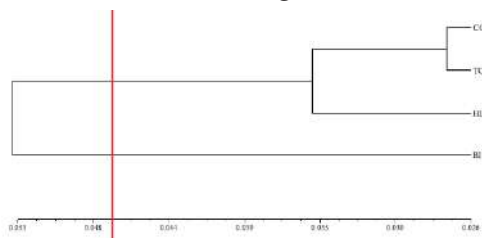
3.2. Khoảng cách di truyền và cây phân loài

Kết quả Bảng 5 cho thấy khoảng cách di truyền giữa các nhóm giống vịt là nhỏ, và giá trị nhỏ nhất được tìm thấy là giữa các cặp nhóm giống TC và CO (0,0269), tiếp theo là giữa HL và TC (0,0336); HL và CO (0,0363), cao nhất là HL và BI (0,0639).

Bảng 5. Ma trận khoảng cách di truyền giữa các quần thể vịt

Quần thể	CO	TC	HL	BI
CO	0			
TC	0,0269	0		
HL	0,0363	0,0336	0	
BI	0,0406	0,0538	0,0639	0

Kết quả ở Hình 1 cho thấy, 4 quần thể vịt đang khảo sát đều xuất phát cùng nguồn gốc và chia thành 2 nhánh, trong đó: 1 nhánh là vịt BI, nhánh còn lại là vịt CO, TC và HL. Điều này cũng phù hợp với thực tế khi vịt Biển được chọn tạo nhằm thích nghi với điều kiện chăn nuôi ở vùng nước mặn. Ở nhánh còn lại, vịt HL tách thành 1 nhóm, vịt CO và TC 1 nhóm và giữa hai giống vịt này tách thành 2 nhóm phụ. Tuy nhiên, mối quan hệ giữa vịt HL với CO và TC cần được tìm hiểu và nghiên cứu thêm.



Hình 1. Cây phân loài các giống vịt nghiên cứu

4. KẾT LUẬN

Có thể ứng dụng bộ 15 chỉ thị cho kết quả đa hình trong đánh giá đa dạng di truyền các giống vịt được nuôi ở Việt Nam. Có sự suy giảm dị hợp tử cao giữa các quần thể vịt khảo sát. Quan hệ di truyền giữa ba giống vịt HL, CO và TC gần gũi nhau hơn so với vịt BI. Các quần thể vịt trong nghiên cứu đều xuất phát cùng nguồn gốc và chia thành hai nhánh: một nhánh là giống vịt BI, nhánh còn lại là vịt CO, TC và HL. Vịt HL tách thành một nhóm, vịt CO và TC một nhóm, và sau đó giữa hai giống vịt CO và TC tách thành hai phân nhóm phụ.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ kinh phí trong khuôn khổ nhiệm vụ Khoa học và Công nghệ quỹ gen cấp quốc gia “Nghiên cứu nâng cao năng suất và sử dụng có hiệu quả nguồn gen vịt Hòa Lan tại Đồng bằng sông Cửu Long” thuộc Chương trình bảo tồn và sử dụng bền vững nguồn gen đến năm 2025, định hướng đến năm 2030.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Ngọc Phúc, Nguyễn Thị Kim Ngân, Nguyễn Ngọc Tấn, Lê Văn Kính và Hoàng Tuấn Thành (2019). Đa dạng di truyền các giống dê nội và nhập ngoại tại Ninh Thuận dựa trên chỉ thị Microsatellite. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 242: 9-14.
2. Barker J.S.F., Moore S.S., Hetzel D.J.S., Evans D., Tan S.G. and Byrne K. (1997). Genetic diversity of Asian water buffalo (*Bubalus bubalis*): microsatellite variation and a comparison with protein-coding loci. Ani. Gen., 28: 103-15.
3. Botstein D., White R.L., Skolnik M. and Davis R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32: 314-31.
4. Brookes C., Bright J.A., Harbison S. and Buckleton J. (2012). Characterising stutter in forensic STR multiplexes. Forensic Sci. Int. Genet., 6: 58-63.
5. Estoup A., Presa P., Krieg F., Vaiman D. and Guyomard R. (1993). (CT)_n and (GT)_n microsatellites: a new class of genetic markers for *Salmo trutta* L. (*brown trout*). Heredity, 71: 488-96.
6. Đỗ Ngọc Hà, Nguyễn Văn Duy, Nguyễn Bá Mùi, Hoàng Văn Chính, Lê Thị Hà và Lê Văn Sơn (2018). Phân tích sự sai khác di truyền của vịt Cổ Lũng với một số giống vịt Nội bằng chỉ thị phân tử SSR. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 233(6): 2-8.
7. Harr B, Zangerl B, Schlötterer C. 2000. Removal of microsatellite interruptions by DNA replication

- slippage: phylogenetic evidence from *Drosophila*. *Mol. Bio. Evo.*, **17**: 1001-09.
8. Hosseinzadeh-Colagar A., Haghghatnia M.J., Amiri Z., Mohadjerani M. and Tafrihi M. (2016). Microsatellite (SSR) amplification by PCR usually led to polymorphic bands: Evidence which shows replication slippage occurs in extend or nascent DNA strands. *Mol. Bio. Res. Commun.* **5**(3): 167-74.
 9. Phạm Doãn Lâm (2012). Nghiên cứu sự khác biệt di truyền của các nhóm bò Vàng địa phương bằng chỉ thị phân tử. Báo cáo tổng hợp kết quả khoa học công nghệ đề tài.
 10. Nei M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics.* **89**(3): 583-90.
 11. Saitou N. and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Bio. Evo.* **4**: 406-25.
 12. Seo D., Bhuiyan M.S.A., Sultana H., Heo J.M. and Lee J.H. (2016). Genetic diversity analysis of South and East Asian duck populations using highly polymorphic microsatellite markers. *Asian Aust J. Ani. Sci.*, **29**: 471-78.
 13. Taberlet P., Vallentini A., Rezaei H.R., Naderi S., Pompanon F., Negrini, R. and Ajmone-Marsan P. (2008). Are cattle, sheep, and goat endangered species? *Mol. Ecol.*, **17**(1): 275-84.
 14. Nguyễn Ngọc Tấn, Nguyễn Thị Kim Ngân, Hoàng Tuấn Thành, Võ Phạm Kha Bích Ngân, Phan Hữu Hương Trinh, Nguyễn Thị Lan Anh và Phạm Công Thiếu (2019). Đa dạng di truyền một số quần thể trâu nội Việt Nam. *Tạp chí KHKT Chăn nuôi*, **242**: 2-8.
 15. Nguyễn Thị Diệu Thúy và Geldermann H. (2004). Đa dạng di truyền một số giống lợn nội Việt Nam và Châu Âu dựa trên chỉ thị microsatellite. *Tạp chí khoa học ĐHQGHN, KHTN & CN*, **XX**(4).
 16. Wu F., Yinghua H., Ying M., Shengqiang H., Jinping H. and Ning L. (2009). Evaluation of genetic diversity and relationships within and between two breeds of duck based on microsatellite markers. *Pro. Nat. Sci.*, **19**: 1581-86.
 17. Wu Y., Liu X.L., Hou S.S. and Huang W. (2008). Study on genetic diversity of six duck populations with microsatellite DNA. *Asian-Aust J. Ani. Sci.*, **21**: 776-83.

KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU CHỌN TẠO 2 DÒNG NGAN TỪ NGAN R41 NHẬP NỘI VÀ NGAN TRÂU BẢN ĐỊA QUA 3 THẾ HỆ

Trần Ngọc Tiến^{1*}, Nguyễn Thị Nga¹, Tạ Thị Hương Giang¹, Nguyễn Quý Khiêm¹, Phạm Thùy Linh¹, Phạm Thị Kim Thanh¹, Trần Thị Hà¹, Lê Xuân Sơn¹, Đặng Thị Phương Thảo¹, Nguyễn Thị Tâm¹ và Nguyễn Thị Quê¹

Ngày nhận bài báo: 22/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 12/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 24/04/2021

TÓM TẮT

Đề tài được triển khai tại Trung tâm nghiên cứu gia cầm Thụy Phương trong 3 năm 2018-2020. Từ nguồn gen ngan Trâu bản địa và ngan R41 nhập nội, sử dụng phương pháp lai cấp tiến $\frac{3}{4}$ R41 tạo hai dòng ngan RT1 và RT2 thế hệ xuất phát trong đó: dòng trống RT1 chọn lọc định hướng nâng cao khối lượng cơ thể và dòng mái RT2 nâng cao năng suất trứng. Kết quả chọn lọc qua 3 thế hệ ngan RT1 có khối lượng cơ thể lúc 8 tuần tuổi thế hệ 2 đạt 3126,63g cao hơn thế hệ xuất phát 203,16g; hệ số di truyền về khối lượng cơ thể là 0,38±0,02, tiến bộ di truyền đạt 95,38g/thế hệ. Ngan RT2 có năng suất trứng/38 tuần tuổi thế hệ 2 là 36,26 quả cao hơn thế hệ xuất phát 1,87 quả. Hệ số di truyền về năng suất trứng là 0,35±0,01 và tiến bộ di truyền đạt 1,43 quả/thế hệ.

Từ khóa: Chọn tạo dòng ngan, ngan RT nhập nội và ngan Trâu bản địa, khối lượng cơ thể, năng suất trứng.

ABSTRACT

Creating two Muscovy duck lines from R41 imported muscovy duck and Trau native muscovy duck through three generations

The topic was carried out at Thụy Phương poultry research center from 2018 to 2020. From Trau native muscovy duck and R41 imported muscovy duck, creating two hybrid RT1 and RT2 lines, in that the male RT1 line for improving body weight and the female RT2 line for egg production. After three generations, body weight at 8 weeks old of RT1 reached 3,126.63g, higher 203.16g than

¹ Trung tâm nghiên cứu Gia cầm Thụy Phương, Viện Chăn nuôi

* Tác giả liên hệ: TS. Trần Ngọc Tiến, TTNC Gia cầm Thụy Phương, Viện Chăn nuôi, P. Thụy Phương, Q. Bắc Từ Liêm, Hà Nội. Điện thoại: 0978729345; Email: trantienfeed@gmail.com.

the beginning generation. The $h^2 \pm SE$ of body weight was 0.38 ± 0.02 and the Re reached 95.38g per generation. The egg production above 38 weeks old in RT2 line in the second generation were 36.26 eggs, higher 1.87 eggs at the beginning generation. The $h^2 \pm SE$ of egg production was 0.35 ± 0.01 and the genetic progress reached 1.43 eggs per generation.

Keywords: *Creating muscovy duck lines, RT imported and Trau native muscovy duck, body weight, egg production.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngan Trâu là giống ngan bản địa có màu lông đen tuyền, khối lượng (KL) lúc 8 tuần tuổi ngan trống đạt 2.030-2.075g, mái đạt 1.262-1.267g, năng suất trứng (NST) 85,39 quả/mái/năm (Nguyễn Quý Khiêm và ctv, 2020), chất lượng thịt thơm ngon, khả năng kháng bệnh tốt, chịu đựng được mọi điều kiện chăn nuôi, bản năng tự ấp nở và nuôi con tốt. Ngan R41 (Heavy Black Muscovy–canedins R41) của Hãng Grimaud Frères có màu lông đen ánh xanh, cổ loang trắng, chân và mỏ xám đen có NST/mái/2 chu kỳ đạt 191,6 quả, KL lúc 77 ngày tuổi con trống đạt 4,8kg, tiêu tốn thức ăn (TTTA)/kg TKL 2,64kg và con mái KL đạt 2,8kg, TTTA là 2,75kg đều có ưu điểm hơn so với các dòng ngan hiện tại.

Để đáp ứng được nhu cầu của sản xuất và thị hiếu của người tiêu dùng về giống ngan có màu lông đen, loang đen, năng suất trứng, thịt được cải thiện so với các giống ngan bản địa có chất lượng thịt thơm ngon, khả năng thích nghi tốt với điều kiện chăn nuôi nông hộ. Nhằm nâng cao hiệu quả kinh tế cho người chăn nuôi, đề tài “Nghiên cứu chọn tạo 2 dòng ngan từ ngan R41 nhập nội và ngan Trâu

Việt Nam” với mục tiêu tạo được 2 dòng ngan loang đen trong đó: dòng trống (RT1) có KL 8 tuần tuổi con trống đạt 3,0-3,2kg và con mái đạt 1,8-2,1kg và dòng mái (RT2): năng suất trứng đạt >110 quả/mái/năm đẻ.

2.VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Trên 2 đàn ngan RT1 và RT2 thế hệ xuất phát (THXP), thế hệ 1 (TH1) và thế hệ 2 (TH2) tại Trung tâm nghiên cứu gia cầm Thụy Phương, từ năm 2018 đến năm 2020.

2.2. Phương pháp

Các bước tạo dòng:

Bước 1: Lai ngan trống R41 với ngan mái Trâu, ngan trống Trâu với ngan mái R41 tạo ngan F_1 .

Bước 2: Sử dụng ngan F_1 lai cấp tiến với ngan R41 tạo tổ hợp lai (3/4R41 1/4Trâu) làm THXP.

Bước 3: Phân tích di truyền các tính trạng qua các TH, chọn lọc định hướng theo tính trạng khối lượng cơ thể tạo dòng trống và năng suất trứng tạo dòng mái.

Sơ đồ tạo dòng:

Nguyên liệu (ngan)	♂(R41)	x	♀ Trâu	♂Trâu	x	♀ (R41)
	♂(R41)	x	♀F1		♂ F1	x
THXP	♂,♀ 3/4 (R41)				♂,♀ 3/4 (R41)	
TH1	Phân tích di truyền các tính trạng, chọn lọc định hướng những cá thể tương đồng, xây dựng dòng trống và dòng mái mới đặc trưng					
TH2, TH3	Chọn lọc định hướng theo khối lượng cơ thể			Chọn lọc định hướng theo năng suất trứng		
Dòng	(dòng trống) RT1			(dòng mái) RT2		

* *Đặc điểm ngoại hình:* Chọn lọc màu sắc lông điển hình trong đàn tại các thời điểm: 1 ngày tuổi, lúc 8 và 24 tuần tuổi bằng phương pháp quan sát bằng mắt thường.

* *Khả năng sinh trưởng (chọn lọc lúc 8 tuần tuổi):* Đối với dòng trống, KL 8 tuần tuổi cân từng cá thể, chọn các cá thể có KL từ trên cao xuống. Đối với dòng mái: chọn lọc bình ổn, khoảng chọn lọc $X_{tb} \pm 230g$. Ưu tiên cá thể có NST mái mẹ cao.

* *Năng suất sinh sản:* theo dõi cá thể về NST từ đẻ 5% đến 38 tuần tuổi. Dòng trống chọn lọc bình ổn $X_{tb} \pm 5$ quả, đủ 200 mái. Dòng mái chọn lọc những cá thể có NST từ cao xuống đến đủ 200 mái. Mỗi dòng xây dựng 40 gia đình (1 trống 5 mái/gia đình) lấy trứng thay đàn cho thế hệ sau.

* *Chế độ chăm sóc nuôi dưỡng, chế độ dinh dưỡng:* Ngan sinh sản được nuôi theo quy trình chăm sóc, nuôi dưỡng, thú y vệ sinh phòng bệnh của Trung tâm nghiên cứu gia cầm Thụy Phương, có tham khảo thêm quy trình chăm sóc nuôi dưỡng ngan R41 của Hãng Grimaud Frères.

Bảng 1. Chế độ dinh dưỡng nuôi ngan sinh sản

Chi tiêu \ Tuần tuổi	1-3	4-10	11-20	21-26	27-kết thúc
ME (kcal/kg TA)	2.900	2.850	2.800	2.700	2.850
Protein thô (%)	20	18,5	14,5	16	18
Canxi (%)	1,2	1,0	0,9	0,1	3,2
Phospho (%)	0,6	0,5	0,45	0,5	0,7
Methionine (%)	0,5	0,5	0,4	0,4	1
Lyzin (%)	1,0	1,0	0,8	0,7	0,5

Các chi tiêu về ngoại hình, tỷ lệ (TL) nuôi sống (%), KL (g), TTTA (kg), tuổi thành thực sinh dục (ngày), tỷ lệ đẻ (TLĐ, %), NST (quả), TTTA/10 trứng (kg) và các chi tiêu ấp nở... được xác định bằng phương pháp thường quy trong chăn nuôi gia cầm của Bùi Hữu Đoàn và ctv (2011).

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và tổng hợp trên chương trình Excel 2010. So sánh các chỉ tiêu sinh trưởng và sinh sản áp dụng mô hình tuyến tính tổng quát GLM trên phần mềm Minitab 16 (2011). Hiệu quả chọn lọc (Re)

được tính theo công thức: $Re = i \cdot d_p \cdot h^2$, trong đó: i là cường độ chọn lọc, d_p là độ lệch chuẩn và h^2 là hệ số di truyền. Tham số di truyền được ước tính bằng phương pháp REML sử dụng phần mềm thống kê VCE6 (Groeneveld, 2010). Đánh giá các dòng theo kiểu hình thông qua giá trị kiểu hình của các tính trạng năng suất, hiệu quả chọn lọc mong đợi.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Dòng ngan RT1

Đặc điểm ngoại hình ngan RT1 lúc 01 ngày tuổi toàn thân đen, cổ vàng chiếm tỷ lệ 95,59%. Lúc trưởng thành toàn thân màu lông đen có đốm trắng, loang trắng ở cổ và đầu.

Tỷ lệ nuôi sống ngan RT1 qua 3 thế hệ đạt cao, kết thúc 8 tuần tuổi có tỷ lệ nuôi sống đạt 96,56-97,38%. Nguyễn Quý Khiêm và ctv (2017) báo cáo kết quả nuôi khảo nghiệm ngan R41 cho biết TLNS của ngan Pháp R41 lúc 8 tuần tuổi đạt 97,5%. Giai đoạn 9-24 tuần tuổi tỷ lệ nuôi sống cũng đạt cao, trên 95%.

Tiêu tốn thức ăn giai đoạn 1-8 tuần tuổi của ngan trống RT1 là 7,02-7,15kg và ngan mái 5,02-5,14kg. Ở những nghiên cứu khác, Hoàng Văn Tiệu và ctv (2007) nghiên cứu chọn tạo một số dòng ngan giá trị kinh tế cao cho biết TTTA 1-8 tuần tuổi ngan V71 và V72 trống 6,15-6,75kg; mái 4,18-4,82kg. Như vậy, TTTA giai đoạn này ngan RT1 cao hơn từ 50-58g. Phùng Đức Tiến và ctv (2011) cho biết TTTA của ngan V71 và VS1 ở thế hệ 5 giai đoạn 1-8 tuần tuổi, ngan trống 7,08-7,32kg và mái đạt 5,97-6,02kg. Như vậy, TTTA ngan trống RT1 giai đoạn này đạt tương đương với ngan trống V71 và VS1 thế hệ 5; ngan mái tiêu tốn thấp hơn 0,83-0,88kg.

Khối lượng ngan trống lúc 8 tuần tuổi thế hệ 2 đạt 3.126,63g, cao hơn so với THXP 203,76g; ngan mái đạt 2.129,11g, cao hơn THXP 191,5g ($P < 0,05$). Ở nghiên cứu khác, Hoàng Văn Tiệu và ctv (2007) cho biết ngan V71 ở TH2 ngan trống có khối lượng cơ thể đạt 2.878,9g; mái đạt 1.865,6kg. Như vậy, ở TH2 ngan trống RT1 hơn ngan V71 247,7g và ngan mái hơn 263,51g. Nguyễn Đức Trọng và

ctv (2008) cho biết ở TH1, lúc 8 tuần tuổi ngan RT11 trống đạt 2.871,6g và mái đạt 1.623,3g; ngan RT9 trống đạt 3.260,9g, mái đạt 2.005,7g.

Như vậy, đến TH2, ngan RT1 thấp hơn ngan RT9 con trống 134g và ngan mái 71g.

Bảng 2. Tỷ lệ nuôi sống và tiêu tốn thức ăn theo giai đoạn 1-8 và 9-24 tuần tuổi

Giai đoạn	Chỉ tiêu	THXP		TH1		TH2	
		Trống	Mái	Trống	Mái	Trống	Mái
1-8 tuần tuổi	Số lượng (con)	850	900	700	800	600	700
	Tỷ lệ nuôi sống (%)	97,06	96,56	97,29	97,38	96,67	97,14
	Tiêu tốn thức ăn/con (kg)	7,12	5,02	7,02	5,11	7,15	5,14
9-24 tuần tuổi	Số lượng (con)	80	270	85	285	85	250
	Tỷ lệ nuôi sống (%)	96,77	95,99	96,52	97,71	96,55	96,41
	Tiêu tốn thức ăn/con (kg)	20,02	11,25	20,13	11,44	20,16	11,46

Bảng 3. Khối lượng cơ thể chọn lọc 8 tuần tuổi

Tính biệt	Chỉ tiêu	THXP	TH1	TH2
Trống	n (con)	825	681	580
	KL (g)	2.922,87 ^a	3.015,49 ^b	3.126,63 ^c
	CV (%)	11,94	9,17	9,03
	S (g)	484	407	333
	h ² ±SE		0,45±0,03	0,38±0,02
	Re (g)		183,15	126,54
Mái	n (con)	869	779	680
	KL (g)	1.937,57 ^a	2.024,13 ^b	2.129,11 ^c
	CV (%)	12,13	11,57	10,61
	S (g)	30,71	33,86	29,55
	h ² ±SE		0,45±0,03	0,38±0,02
	Re (g)		15,24	11,23

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo hàng ngang mang các chữ cái khác nhau thì sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Hệ số di truyền (HSDT-h²±SE) về KL ngan RT1 ở TH1 là 0,45±0,03. Như vậy, phần ảnh

hưởng về di truyền của tính trạng này khá cao, khoảng 45%, nếu tiến hành chọn lọc nâng cao KL trong đàn ngan này có thể thu được hiệu quả cao. Ở TH2, h²±SE về KL là 0,38±0,02. Như vậy, HSDT về KL ngan RT1 trong nghiên cứu này có xu hướng giảm dần qua các TH. Đặc biệt, HSDT có mức độ ổn định cao thể hiện ở sai số chuẩn của HSDT thấp (±0,02). Ở nghiên cứu khác, Hoàng Văn Tiệu và ctv (2008) cho biết HSDT về KL 8 tuần tuổi ngan V51 và V71 TH2 lần lượt đạt 0,52 và 0,50. Tác giả cũng cho biết hiệu quả chọn lọc mong đợi (Re) của ngan V51 trống đạt 80,69g, mái đạt 41,74g; ngan V71 trống đạt 86,14g, mái đạt 44,8g.

Đánh giá về chỉ tiêu sinh sản (Bảng 4) cho thấy, tuổi đẻ ngan RT1 tương đương với ngan V51 và V71 là 197-198 ngày (Hoàng Văn Tiệu và ctv 2010). Đàn ngan vào đẻ có độ đồng đều cao với khối lượng trung bình đạt 2.726,67-2.738,33g.

Bảng 4. Một số chỉ tiêu sinh sản

Chỉ tiêu	THXP		TH1		TH2	
	TB	CV(%)	TB	CV(%)	TB	CV(%)
Tuổi vào đẻ (ngày)	198		197		198	
KL lúc đẻ 5% (g)	2.726,67	6,11	2.738,33	6,26	2.785,33	6,31
KL lúc đẻ 5% (g)	69,08	8,92	69,80	8,52	69,82	8,68
KL lúc 38 tuần tuổi (g)	2.908,33	6,73	2.926,67	6,21	2.979,67	6,55
KLT lúc 38 tuần tuổi (g)	80,72	7,10	80,88	6,19	80,86	6,85

Ở thời điểm 38 tuần tuổi, KL ngan mái RT1 đạt 2.908,33-2.926,67g và KLT 80,72-80,88g. Phùng Đức Tiến và ctv (2008) cho biết ở thời điểm 38 tuần tuổi KLT ngan ông bà R71Sl nhập nội đạt 81,4-81,49g. Như vậy, trứng ngan RT1 đạt tương đương với trứng

ngan nhập nội R71SL.

Kết thúc 38 tuần tuổi (Bảng 5) cho thấy NST đạt 30,84-31,26 quả. Kết thúc 52 tuần đẻ ở TH1, NST đạt 100,34-101,48 quả và TTTA/10 quả trứng là 6,92-7,04kg.

Bảng 5. Năng suất sinh sản

Thời điểm	Chỉ tiêu	THXP	TH1	TH2
Kết thúc 38 tuần tuổi	Tỷ lệ đẻ, %	44,06	44,66	44,27
	NST, quả	30,84	31,26	30,99
	TTTA/10 trứng,kg	4,72	4,49	4,62
Kết thúc 52 tuần đẻ	Tỷ lệ đẻ, %	28,17	28,18	
	NST, quả	100,34	101,48	
	TTTA/10 trứng,kg	7,04	6,92	

3.2. Dòng ngan RT2

Ngan RT2 ngoại hình lúc 01 ngày tuổi toàn thân đen, cổ vàng chiếm tỷ lệ 92,97%. Lúc

trưởng thành toàn thân màu lông đen, đốm trắng ở cổ và đầu.

Kết quả theo dõi tại bảng 6 cho thấy tỷ lệ nuôi sống ngan RT2 các giai đoạn đều đạt cao, từ 97,14-98,47%. TTTA giai đoạn 1-8 tuần tuổi ngan trống 6,22-6,27kg và ngan mái 4,24-4,28kg. Hoàng Văn Tiệu và ctv (2007) cho biết TTTA giai đoạn 1-8 tuần tuổi ngan V71 và V72 ngan trống đạt lần lượt 6,85 và 6,39kg; ngan mái 4,80 và 4,24kg. Như vậy, TTTA giai đoạn này ngan RT2 tương đương với ngan V72; thấp hơn ngan V71 0,52-,058kg.

Bảng 6. Tỷ lệ nuôi sống và tiêu tốn thức ăn theo giai đoạn 1-8 và 9-24 tuần tuổi

Giai đoạn	Chỉ tiêu	THXP		TH1		TH2	
		Trống	Mái	Trống	Mái	Trống	Mái
1-8 tuần tuổi	Số lượng (con)	800	1.400	850	1.400	900	1.450
	Tỷ lệ nuôi sống (%)	98,25	97,21	98,47	97,14	97,22	97,24
	Tiêu tốn thức ăn/con (kg)	6,27	4,28	6,22	4,24	6,24	4,24
9-24 tuần tuổi	Số lượng (con)	100	470	120	500	155	515
	Tỷ lệ nuôi sống (%)	95,24	96,56	96,97	97,55	96,33	97,16
	Tiêu tốn thức ăn/con (kg)	19,20	11,25	19,57	11,39	19,54	11,40

TTTA giai đoạn 9-24 tuần tuổi giữa các thế hệ không có khác biệt lớn do giai đoạn này đàn ngan được ăn hạn chế để đảm bảo đàn ngan phát triển thành thực về tính biệt tốt.

Bảng 7. Khối lượng ngan chọn lọc lúc 8 tuần tuổi

Tính biệt	Chỉ tiêu	THXP	TH1	TH2
Trống	n (con)	764	837	875
	KL (g)	2.610,22	2.619,30	2.622,09
	CV (%)	10,83	9,69	9,68
	S (g)	39,25	35,75	33,48
Mái	n (con)	1349	1360	1407
	KL (g)	1.612,34	1.614,15	1.614,80
	CV (%)	14,16	14,95	14,91
	S (g)	45,35	42,23	40,5

Khối lượng ngan lúc 8 tuần tuổi: con trống 2.610,22-2.622,09g và con mái 1.612,34-1.614,80g. Đàn ngan ổn định và đồng đều thể hiện qua hệ số biến dị khá thấp và có xu hướng giảm dần qua các thế hệ, ly sai chọn lọc và hiệu quả chọn lọc cũng có xu hướng giảm dần.

Kết quả theo dõi tại bảng 8 cho thấy ngan RT2 có tuổi đẻ 5% từ 183-187 ngày, so với dòng trống RT1 sớm hơn 10-15 ngày, KLT ở thời

điểm này đạt 67,22-67,86g. Phùng Đức Tiến và ctv (2009) cho biết KLT ngan V52, V72 và VS2 lúc đẻ 5% đạt lần lượt 69,36; 69,99 và 70,02g. Tác giả cũng cho biết tuổi đẻ 5% ngan V52 từ 202-205 ngày; ngan V72 203-206 ngày và ngan VS2 từ 199-202 ngày. Như vậy, ngan RT2 có tuổi đẻ 5% sớm hơn ngan V52, V72 và VS2 từ 12-16 ngày, khối lượng trứng thời điểm này thấp hơn 2,14-2,16g. Hoàng Văn Tiệu và ctv (2010) cho biết ngan RT5 và RT6 ở TH2 có tuổi đẻ 5% 172-175 ngày, KL ngan mái lúc vào đẻ đạt lần lượt 2.914,3 và 2.960,1g. Như vậy, ngan RT2 có tuổi vào đẻ muộn hơn ngan RT5, RT6 từ 10-13 ngày, KL lúc đẻ 5% thấp hơn 500-535,6g.

Lúc 38 tuần tuổi, KLCT ngan mái đạt 2.740,00-2.723,33g; KLT đạt 78,40-78,53g. Hoàng Văn Tiệu và ctv (2007) cho biết ngan V51 và V52 có KL lúc 38 tuần tuổi đạt 3.073,33g và 2.986,67g. Như vậy, ngan RT2 thấp hơn ngan V51 và V52 255-340g ở cùng thời điểm.

NST thế hệ 2 đạt 36,26 quả tăng 1,87 quả so với THXP ($P < 0,05$). Hệ số biến dị (CV) về NST, ly sai chọn lọc (S) và hiệu quả chọn lọc (Re) có xu hướng giảm qua các thế hệ. Tuy

nhiên, CV về NST vẫn còn khá cao (20,79%). Cần thiết chọn lọc với cường độ chọn lọc cao

ở thế hệ tiếp theo để tạo ra đàn ngan có NST cao và đồng đều.

Bảng 8. Một số chỉ tiêu sinh sản

Chỉ tiêu	THXP		TH1		TH2	
	TB	CV (%)	TB	CV (%)	TB	CV (%)
Tuổi vào đẻ	183		187		185	
KLCT lúc đẻ 5%	2.450,00	6,32	2.483,33	6,22	2.460,67	6,45
KLT lúc đẻ 5%	67,22	9,07	67,86	7,75	67,35	7,66
KL lúc 38 tuần tuổi	2.740,00	6,80	2.723,33	6,90	2.732,00	6,86
KLT lúc 38 tuần tuổi	78,40	7,07	78,53	7,40	78,50	7,38

Bảng 9. Kết quả chọn lọc năng suất trứng

Chỉ tiêu	THXP	TH1	TH2
n (con)	460	486	500
NST (quả)	34,39 ^a	34,99 ^a	36,26 ^b
CV (%)	23,02	22,55	20,79
P (%)	43,48	41,15	40,00
S (quả)	7,34	7,07	6,83
h ² ±SE		0,38±0,01	0,35±0,01
Re (quả)		2,69	2,39

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo hàng ngang mang các chữ cái khác nhau thì sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P<0,05).

Hệ số di truyền về NST ở thế hệ 1 là 0,38 và thế hệ 2 là 0,35 với sai số chuẩn (±0,01) tương đương nghiên cứu của Hoàng Văn Tiệu và ctv (2008) cho biết hệ số di truyền về năng suất trứng/mái/10 tuần đẻ của ngan V52; V72 và VS2 thế hệ 2 đạt lần lượt 0,36; 0,39 và 0,36.

Kết quả chọn lọc NST qua 3 thế hệ cho thấy TLĐ trung bình đến 38 tuần tuổi tăng 2,23% và đến hết 52 tuần đẻ, NST/mái TH1 đạt 108,38 quả, cao hơn THXP 2,17 quả. TTTA/10 trứng 6,11kg.

Bảng 10. Năng suất sinh sản, TTTA/10 trứng

Thời điểm	Chỉ tiêu	THXP	TH1	TH2
Đến 38 tuần tuổi	Tỷ lệ đẻ, %	40,93	41,65	43,16
	NST, quả	34,39	34,99	36,26
	TTTA/10 quả, kg	4,32	4,27	4,02
Đến 52 tuần đẻ	Tỷ lệ đẻ, %	29,51	29,90	
	NST, quả	106,21	108,38	
	TTTA/10 quả, kg	6,31	6,11	

Hai dòng ngan chọn tạo ra có TL phôi cao (95,5-97,01%). Hoàng Văn Tiệu và ctv (2008) cho biết ngan dòng V52 và VS2 ở thế hệ 2 có

TL phôi đạt 93,25-95,38% và TL nò/phôi 85,37-85,94%. Như vậy, TL phôi của 2 dòng ngan RT trong nghiên cứu này đạt tương đương với ngan V52 và VS2.

Bảng 13. Một số chỉ tiêu ấp nở của 2 dòng

Các chỉ tiêu	RT1		RT2	
	THXP	TH1	THXP	TH2
Trứng ấp, quả	22.639	24.775	43.241	47.707
Tỷ lệ phôi, %	95,50	94,81	96,92	97,01
Số ngan nở, con	18.066	19.899	34.874	38.767
Ngan loại 1, con	17.069	18.816	33.134	36.774
TL nò/trứng ấp, %	79,80	80,32	80,65	81,26
Tỷ lệ nò/phôi, %	83,56	84,72	83,21	83,76

4. KẾT LUẬN

Qua 3 thế hệ chọn tạo bước đầu cho kết quả:

Dòng ngan RT1: Lúc 01 ngày tuổi toàn thân đen, cổ vàng chiếm 95,59%, trưởng thành toàn thân đen có đốm trắng, loang trắng ở cổ và đầu; KL 8 tuần tuổi ngan trống đạt 3.126,63g; ngan mái đạt 2.129,11g.

Dòng ngan RT2: Lúc 01 ngày tuổi toàn thân đen, cổ vàng (92,97%), trưởng thành toàn thân đen, đốm trắng ở cổ và đầu. NST/mái/38 tuần tuổi đạt 36,26 quả, tăng 1,87 quả so với THXP tương ứng tăng 5,44%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Hữu Đoàn, Nguyễn Thị Mai, Nguyễn Thanh Sơn và Nguyễn Huy Đạt (2011). Các chỉ tiêu nghiên cứu dùng trong chăn nuôi gia cầm. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
2. Groeneveld E., Kovac M. and Mielenz N (2010). VCE User Guide and Reference Manual, version 6.0 IFAG. Neustadt Germany.

3. **Grimaud frères sélection** (1995). La corbière 49450 Roussay. Rearing guide muscovy ducks young breeders.
4. **Nguyễn Quý Khiêm, Phạm Thùy Linh, Trần Thị Hà, Phạm Thị Kim Thanh, Tạ Thị Hương Giang, Đặng Thị Phương Thảo, Đỗ Thị Nhung và Nguyễn Thị Tâm** (2020). Kết quả chọn lọc đàn hạt nhân ngan Trâu qua 2 thế hệ. Báo cáo khoa học Trung tâm NCGC Thụy Phương năm 2020. Trang 99-07.
5. **Phùng Đức Tiến, Phạm Đức Hồng, Trần Thị Cương, Vũ Thị Thảo, Lê Thị Nga, Nguyễn Mạnh Hùng và Nguyễn Liên Hương** (2008). Nghiên cứu khả năng sản xuất của ngan Pháp ông bà R71SL nhập nội. BCKH-Phần Di truyền-Giống vật nuôi. Trang: 211-19.
6. **Phùng Đức Tiến, Trần Thị Cương, Vũ Thị Thảo, Tạ Thị Hương Giang, Trần Thị Hà, Nguyễn Thị Kim Cúc và Nguyễn Quyết Thắng** (2011). Kết quả chọn lọc một số dòng ngan giá trị kinh tế cao TH 4 và 5. BCKH-Phần Di truyền-Giống vật nuôi. Trang: 209-21.
7. **Hoàng Văn Tiệu, Phùng Đức Tiến, Trần Thị Cương, Lê Thị Nga, Vũ Thị Thảo, Nguyễn Ngọc Dung, Nguyễn Thị Lành, Nguyễn Mạnh Hùng, Phạm Đức Hồng, Nguyễn Thị Nga, Nguyễn Liên Hương** (2007). Nghiên cứu chọn lọc tạo một số dòng ngan giá trị kinh tế cao. Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học công nghệ chăn nuôi gia cầm an toàn thực phẩm và môi trường. NXB Nông nghiệp. Trang: 270-79
8. **Hoàng Văn Tiệu, Phùng Đức Tiến, Trần Thị Cương, Vũ Thị Thảo, Lê Thị Nga, Tạ Thị Hương Giang và Phạm Đức Hồng** (2008). Kết quả chọn tạo một số dòng ngan giá trị kinh tế cao. BCKH-Phần Di truyền-Giống vật nuôi. Trang: 220-29.
9. **Hoàng Văn Tiệu, Nguyễn Đức Trọng, Nguyễn Văn Duy, Vương Thị Lan Anh, Lương Thị Bột, Phạm Văn Chung, Nguyễn Thị Thúy Nghĩa và Đồng Thị Quyên** (2010). Chọn tạo dòng ngan tại Trung tâm nghiên cứu vịt Đại Xuyên. BCKH, Phần Di truyền-Giống vật nuôi. Trang: 326-36.
10. **Nguyễn Đức Trọng, Lương Thị Bột, Phạm Văn Chung, Hoàng Văn Tiệu, Nguyễn Thị Thúy Nghĩa và Đồng Thị Quyên** (2008). Khả năng sản xuất của hai dòng ngan CR50 và WA nuôi tại Trung tâm nghiên cứu vịt Đại Xuyên. BCKH-Phần Di truyền-Giống vật nuôi. Trang: 195-01.

KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA GÀ NÒI LAI VỚI CÁC MỨC BỔ SUNG BỘT CẦN TÂY

Lê Thị Trúc Ly¹, Cao Thị Ngọc Ngân¹, Nguyễn Thị Ngọc Tuyên¹, Ngô Thị Huyền Trân¹, Lê Hòa Hiệp¹, Trần Quốc Kha¹, Nguyễn Thảo Nguyên¹ và Nguyễn Thị Kim Khang^{1*}

Ngày nhận bài báo: 30/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 22/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 24/04/2021

TÓM TẮT

Thí nghiệm được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của bổ sung bột Cần tây ở các mức khác nhau lên năng suất sinh trưởng của gà Nòi lai trong giai đoạn 7-84 ngày tuổi. Tổng 240 con gà bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức (6 con /NT) và được lặp lại 10 lần. Các NT thí nghiệm lần lượt là đối chứng (ĐC) chỉ gồm khẩu phần cơ sở (KPCS), NT1 KPCS bổ sung bột Cần tây 0,5g/kg thức ăn ($C_{0,5}$), NT2 KPCS bổ sung bột Cần tây 1 g/kg thức ăn ($C_{1,0}$), NT3 KPCS bổ sung bột Cần tây 1,5 g/kg thức ăn ($C_{1,5}$). Kết quả ghi nhận cho thấy tỷ lệ nuôi sống của gà Nòi lai giai đoạn 7-28 ở các NT có bổ sung bột Cần tây đều cao hơn so với ĐC, tuy nhiên ở 29-84 ngày tuổi chỉ duy nhất $C_{0,5}$ (88,33%) có tỉ lệ sống cao hơn ĐC (79,57%). Khối lượng, TKL, TTTA và HSCHTA của gà thí nghiệm giữa các NT khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua các giai đoạn tuổi ($P < 0,05$). Bổ sung bột Cần tây giúp cải thiện hiệu quả kinh tế, trong đó $C_{0,5}$ và $C_{1,5}$ cao hơn so với ĐC là 95-69%.

Từ khóa: Bột Cần tây, khối lượng, tiêu tốn thức ăn, tỷ lệ sống, gà Nòi lai.

ABSTRACT

Growth performance of Noi crossbred chickens to different levels of Celery seed powders

This study was done to evaluate the effects of different levels of Celery seed powder (CSP) supplement on growth performance of Noi crossbred chicks at 7-84 days old. A total of 240 chicks at 7 days of age was completely randomized design into 4 dietary treatments and ten replicates with each six chicks per replicate. The experimental diets were as follows: (1) control was a basic diet (KPCS); (2) $C_{0,5}$ consisted of KPCS plus 0.5g CSP per kg feed; (3) $C_{1,0}$ consisted of KPCS added 1g CSP per kg feed, and (4) $C_{1,5}$ consisted of KPCS added 1.5 g CSP per kg feed, respectively. Results showed that viability rate of chicks at 7-28 days old supplemented CSP was higher than control, however at 29-84 days old, there only $C_{0,5}$ (88.33%) was higher compared to control (79.57%). Live weight, ADG, FI and FCR among treatments were not significant differences ($P > 0.05$). Dietary supplemented CSP given higher economical benefits, especially $C_{0,5}$ and $C_{1,5}$ were 95-69% higher compared control.

Keywords: Celery seed powder, liveweight, feed consumption, viability, Noi chicks.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay khuynh hướng sử dụng các kháng sinh thảo dược (Phytocide) thay thế kháng sinh tân dược đã và đang được mở rộng nghiên cứu và là biện pháp phòng bệnh tốt nhất nhằm nâng cao năng suất, chất lượng và sức khỏe vật nuôi, đồng thời hướng tới tạo ra sản phẩm sạch và an toàn cho người tiêu dùng. Một số nghiên cứu tập trung chủ yếu

vào các nhóm thảo dược do chúng có hoạt tính kháng oxi hóa có thể làm giảm các gốc tự do (Nagano và ctv, 1997; Pendry và ctv, 2005; Popovic và ctv, 2006).

Cần tây (*Kelussia odoratissima*) là một nguồn giàu polyphenol và flavonoid, với các đặc tính kháng mỡ máu và chống oxy hóa (Pirbalouti và ctv, 2013), trong đó các flavonoid và polyphenol là chất kháng oxi hóa tự nhiên mạnh có khả năng làm giảm lipid máu (Surai, 2014; Shahidi và Ambigaipalan, 2015). Hiệu lực chống oxy hóa của Cần tây trước đây đã được mô tả là tương đương với alpha-tocopherol và butylated hydroxytoluene

¹ Trường Đại học Cần Thơ

* Tác giả liên hệ: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Khang, Bộ môn Chăn nuôi, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. TP Cần Thơ. Điện thoại: 0939.205.355. Email: ntkkhang@ctu.edu.vn

(BHT) (Momin và Nair, 2002; Popovic và ctv, 2006; Ahmadi và ctv, 2007). Bên cạnh đó, Cần tây chứa 2,5-3% dầu dễ bay hơi chủ yếu chứa 60-70% d-limonene và 10-20% selinene. Tinh dầu thiết yếu từ hạt phổ biến nhất được chiết xuất là từ olelesin nhờ vào hương thơm của nó. Sản phẩm này chứa 12-16% dầu dễ bay hơi (Wolski và ctv, 2001), không chỉ sesquiterpen được phát hiện mà còn có kessane với 2,2-7,6% (Phillipe và ctv, 2002). Ngoài ra, Cần tây chứa 17,6g protein; 22,1% béo, khoáng chiếm 10,6 g và vitamin A (Saed và ctv, 2018).

Kết quả nghiên cứu của Ahmadipour và ctv (2015) cho thấy bổ sung 5 và 7,5g bột Cần tây/kg thức ăn của gà thịt cải thiện đáng kể hiệu suất tăng trưởng và giảm tỷ lệ chết ở gà do phi đại tâm thất phải. Saed và ctv (2018) cũng cho thấy bổ sung 2,5 và 5g bột Cần tây/kg thức ăn giúp cải thiện chất lượng tinh của gà Ross308 giống. Ahmadipour và ctv (2018) đề nghị bổ sung 5g bột Cần tây/kg vào thức ăn của gà trống Ross308 làm giảm sự oxi hóa lipid, cải thiện tình trạng kháng oxi hóa cũng như tăng trọng và HSCHTA ở gà thịt.

Đề tài “Đánh giá năng suất sinh trưởng của gà Nòi lai với các mức bổ sung bột Cần tây” được thực hiện với mục tiêu nhằm đánh giá và lựa chọn mức bổ sung bột Cần tây tốt nhất lên năng suất sinh trưởng của gà Nòi lai giai đoạn 7-84 ngày tuổi.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Thí nghiệm (TN) được tiến hành trên 240 con gà Nòi lai 1-12 tuần tuổi, từ tháng 1/2021 đến tháng 3/2021, tại ấp Thuận Tiến B, xã Thuận An, thị xã Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long.

Gà con được chuyển từ phòng ấp về lúc 1 ngày tuổi đều được tiêm phòng Newcastle, Gumbogo, Đậu,... theo quy trình phòng bệnh của trại. Tất cả gà trong quá trình TN đều được chăm sóc và được nuôi dưỡng trong điều kiện như nhau chỉ khác về khẩu phần ăn bổ sung, thời gian cho gà ăn chia làm 2 lần/ngày.

Thức ăn cung cấp cho gà TN là thức ăn hỗn hợp dạng cám với nguyên liệu chính gồm

bắp, tấm, bột cá, đạm đậu nành, cám lúa mì, cám gạo, acid amin, các chất bổ sung vitamin và khoáng,...có giá trị năng lượng trao đổi là 3.050 kcal/kg TA, protein thô là 19%, calci là 0,7-1,6%, phospho là 0,6-1,1%. Cần tây có dạng bột, mịn, có màu xanh, có mùi thơm được mua từ Công Ty TNHH Dala Group.

Gà con được nuôi thành 2 giai đoạn, úm (0-28 ngày tuổi) có kích thước 1 m² và nền lồng (29-84 ngày tuổi) có kích thước 1,2 m². Chuồng được thiết kế với hệ thống chuồng hở gồm hai mái lợp tole, nằm theo hướng Đông Bắc. Nền chuồng được tráng xi măng có độ dốc hơi nghiêng, nền chuồng được phủ một lớp trấu (8-10cm) làm chất độn chuồng trước khi bắt đầu TN. Hai bên vách xây tường cao 0.4m, phía trên vách được bao lưới kẽm và có hệ thống bạt che mưa gió. Hai đầu chuồng được xây dựng tường và có gắn bạt cản ánh sáng mạnh chiếu trực tiếp vào chuồng cùng với hệ thống đèn chiếu sáng đảm bảo gà luôn nhận được ánh sáng tốt nhất. Gà được uống nước tự do với hệ thống nước bằng núm uống tự động.

2.2. Phương pháp

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức (NT) tương ứng với khẩu phần lần lượt là:

Đối chứng (ĐC): khẩu phần cơ sở (KPCS),

C_{0,5}: KPCS bổ sung 0,5g bột Cần tây/kg TA

C_{1,0}: KPCS bổ sung 1,0g bột Cần tây/kg TA

C_{1,5}: KPCS bổ sung 1,5g bột Cần tây/kg TA

Thí nghiệm được lặp lại 10 lần, mỗi lần lặp lại là 6 gà ở 7 ngày tuổi với tổng số 60 đơn vị TN. Tổng số gà TN là 240 con ở giai đoạn từ 7 đến 84 ngày tuổi để xác định:

Khối lượng (KL) của gà TN được cân lúc bắt đầu TN và mỗi 7 ngày cho đến kết thúc TN.

Tiêu tốn TA, hiệu quả sử dụng TA được ghi nhận hàng ngày dựa trên lượng TA ăn vào và lượng TA thừa.

Nhiệt độ (°C) và độ ẩm (%) trong chuồng nuôi được ghi nhận vào lúc 6h30 sáng và 13h30 chiều, tại 2 vị trí đo là đầu và cuối chuồng, sau đó được tính giá trị trung bình của 2 vị trí đo trong chuồng nuôi.

Tỷ lệ sống (%) là số con gà không bị chết được ghi nhận trong quá trình từ đầu đến hết giai đoạn TN.

Hiệu quả kinh tế: do gà TN được nuôi trong cùng điều kiện nên chi phí nhân công, điện và nước là như nhau, nên hiệu quả kinh tế được tính dựa vào tổng tiền bán gà và chi phí thức ăn trong suốt thời gian TN.

Chuồng trại, máng ăn, máng uống được vệ sinh dọn dẹp hàng ngày ở tất cả các ô TN.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập trong suốt quá trình TN được xử lý sơ bộ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab Version 16 qua phân tích ANOVA-1 way để so sánh các giá trị trung bình (Mean) và Fisher's exact test cho tỉ lệ nuôi sống. Phương pháp Tukey được sử dụng với khoảng tin cậy 95% để so sánh giá trị Mean giữa các cặp NT.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của bổ sung bột Cấn tây lên khả năng sinh trưởng của gà Nòi lai

Bảng 1. Khả năng sinh trưởng của gà Nòi lai

Chỉ tiêu	Nghiệm thức				SEM	P
	ĐC	C _{0.5}	C _{1.0}	C _{1.5}		
KL ₇ ngày, g	42,14	43,19	44,65	46,05	2,771	0,769
KL ₂₈ ngày, g	214,9	202,1	203,4	211,7	10,11	0,776
KL ₅₆ ngày, g	598,6	603,3	563,8	595,9	26,16	0,703
KL ₈₄ ngày, g	1092	1123	1027	1022	38,12	0,184
TTĐ ₇₋₂₈ ,g	8,225	7,566	7,559	7,887	0,4308	0,658
TTĐ ₂₉₋₅₆ ,g	13,70	14,33	12,87	13,72	0,8158	0,659
TTĐ ₅₇₋₈₄ , g	17,62	18,56	16,53	15,22	1,006	0,124
TTTK ₇₋₈₄ ,g	13,63	14,02	12,75	12,68	0,4922	0,161
HSCHTA ₇₋₂₈	3,225	3,104	3,445	3,233	0,3740	0,934
HSCHTA ₂₉₋₅₆	5,666	4,120	4,868	4,494	0,7149	0,474
HSCHTA ₅₇₋₈₄	4,471	4,102	4,413	4,692	0,3713	0,733
HSCHTA ₇₋₈₄	4,454	3,776	4,242	4,140	0,3059	0,471
TTTA ₇₋₂₈ ,g/ngày	25,92	21,99	24,82	24,82	2,081	0,588
TTTA ₂₉₋₅₆ ,g/ngày	71,29	59,12	60,60	57,13	6,315	0,402
TTTA ₅₆₋₈₄ ,g/ngày	76,27	72,76	71,35	69,63	4,327	0,736
TTTA ₇₋₈₄ ,g/ngày	55,90	50,02	50,04	48,25	2,951	0,295

Ghi chú: các giá trị mang các chữ cái khác nhau trên cùng dòng thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức P<0,05.

Kết quả bảng 1 cho thấy khối lượng (KL) đầu kì, cuối kì, tăng khối lượng (TKL), hệ số chuyển hóa thức ăn (HSCHTA) và tiêu tốn thức ăn (TTTA) giữa các NT qua các giai đoạn 7-84 ngày tuổi khác biệt không có ý nghĩa thống kê (P>0,05). Tuy nhiên, KL, TKL khi bổ sung bột Cấn tây ở C_{0.5} cao hơn so với ĐC, ngược lại HSCHTA ở C_{0.5} thấp hơn ĐC giai đoạn 7-84 ngày tuổi.

3.2 Ảnh hưởng của bổ sung bột Cấn tây và nhiệt độ chuồng nuôi lên tỷ lệ sống của gà Nòi lai

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy nhiệt độ và độ ẩm vào buổi sáng (6h30) cao nhất lần lượt là 33,4°C và 99,3% thấp nhất là 19,3°C và 73,2%, vào buổi chiều (13h30) nhiệt độ có phần nóng hơn và độ ẩm thấp hơn so với buổi sáng, cao nhất là 34,3°C và 90,1%.

Bảng 2. Nhiệt độ (°C), độ ẩm (%) chuồng nuôi

Yếu tố	Cao nhất		Thấp nhất		Trung bình	
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều
Nhiệt độ	33,4	34,3	19,3	22	25,8	30,1
Độ ẩm	99,3	90,1	73,2	60,4	88,2	71,1

Qua kết quả ở bảng 3 cho thấy tỉ lệ nuôi sống giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, ở giai đoạn 7-28 ngày tuổi tỉ lệ nuôi sống ở các NT có bổ sung bột Cấn tây đều cao hơn đối chứng.

Bảng 3. Tỷ lệ sống khi bổ sung bột Cấn tây

Giai đoạn (ngày)	Nghiệm thức				X ²	P
	ĐC	C _{0.5}	C _{1.0}	C _{1.5}		
7-28	87,5	91,5	94,33	96,33	0,185	0,980
29-84	79,57	88,33	74,55	81,07	0,701	0,873

3.3. Hiệu quả kinh tế

Bảng 4. Hiệu quả kinh tế khi bổ sung bột Cấn tây

Chỉ tiêu	Nghiệm thức			
	ĐC	C _{0.5}	C _{1.0}	C _{1.5}
Gà cuối TN (con)	45	51	45	49
KL TA (kg)	258,258	231,092	231,185	222,915
Giá TA (1.000đ)	11,6	11,6	11,6	11,6
Chi phí TA (1.000đ)	2.996	2.949	2.949	2.587
KLcuối TN (g/con)	1.092	1.123	1.027	1.022
Giá gà (1.000đ/kg)	75	75	75	75
Bán gà (1.000đ)	3.686	4.295	3.466	3.756
Thu nhập (1.000đ)	690	1.346	517	1.169
Lợi nhuận (%)	100	195	75	169

Ghi chú: Giá bột Cấn là 280.000 đồng/150g

Kết quả Bảng 4 về hiệu quả kinh tế cho thấy lợi nhuận thu được ở các NT bổ sung bột Cần tây cao hơn (69-95%) và cao nhất ở C_{0,5} với mức tăng 95% so với ĐC.

4. THẢO LUẬN

Kết quả ghi nhận về KL và TKL của gà Nòi lai ở các NT có bổ sung bột Cần tây trong TN này đều thấp hơn so với ĐC, ngoại trừ C_{0,5} là cao hơn và khác với các công bố khác cho rằng có sự cải thiện đáng kể về TKL và HSCHTA của gà Ross308 khi cùng bổ sung bột Cần tây vào khẩu phần (Ahmadipour và ctv, 2015; 2018) chủ yếu là sự đóng góp của hợp chất tự nhiên polyphenol ở Cần tây trong đó bao gồm flavonoid và non-flavonoid phổ rộng của các đặc tính sinh học có lợi như chất kích thích tăng trưởng, chất chống oxy hóa và chức năng miễn dịch (Kossmider và Osiecka, 2004; Surai, 2014). Mặc dù, bổ sung bột Cần tây vào khẩu phần thức ăn của gà Nòi lai không thấy rõ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giảm TTTA và HSCHTA của gà thấp qua các giai đoạn tuổi, nhưng lượng ăn giảm 5,88-7,65g và HSCHTA thấp hơn 0,314-0,678 so với ĐC. Kết quả này có thể là do thành phần dưỡng chất có trong bột Cần tây với thành phần chính là carbohydrate, chất béo, protein, các khoáng vi lượng Ca, P, N, K và Fe và các vitamin A, C, thiamin, riboflavin, niacin (Krishnamurthy, 2008) có thể đã cung cấp đủ về lượng cho gà TN. Mặc khác, cũng có thể do hoạt động kháng oxy hóa của Cần tây (Momin và Nair, 2002; Han và ctv, 2004; Fachriya và ctv, 2007; Shalaby và Zorba, 2010), có tác dụng ngăn ngừa sự stress oxy hóa (Peng và ctv, 2007), giảm stress oxy hóa từ các mô mỡ ở các gà ăn Cần tây (Khajali và ctv, 2008). Các nghiên cứu này cho thấy bổ sung bột Cần tây có thể làm giảm sự sản sinh ROS và giảm sự stress oxy hóa ở gà, và trong điều kiện nhiệt độ (25,8-31,9°C) cao ghi nhận trong TN tính kháng oxy hóa của bột Cần tây lại phát huy hiệu suất tối đa ở gà Nòi.

Mặc dù việc bổ sung bột Cần tây trong khẩu phần của gà trong nghiên cứu này chưa có ảnh hưởng có lợi rõ rệt lên năng suất sinh

trưởng của gà Nòi lai, nhưng kết quả phân tích lợi nhuận về kinh tế khá cao (69-95%) cho người chăn nuôi, đặc biệt là trong điều kiện nhiệt độ cao bất lợi cho việc nuôi gà.

5. KẾT LUẬN

Bổ sung bột Cần tây vào khẩu phần không ảnh hưởng đến năng suất sinh trưởng cũng như tỷ lệ sống của gà Nòi lai. Tuy nhiên, bổ sung ở các mức độ C_{0,5} và C_{1,5} giúp cải thiện hiệu quả kinh tế cho nhà chăn nuôi.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này (TSV2021-111) được tài trợ một phần từ Dự án “Nâng cấp Trường đại học Cần Thơ” VN14-P6 được hỗ trợ bởi ODA, Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Ahmadi F., Kadivar M. and Shahedi M.** (2007). Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozzaf. In model and food systems. *Food Che.*, **105**: 57-64.
2. **Ahmadipour B., Hassanpour H., Asadi E., Khajali F., Rafiei F. and Khajali F.** (2015). *Kelussia odoratissima* Mozzaf- a promising medicinal herb to prevent pulmonary hypertension in broiler chickens reared at high altitude. *J. Ethnopharmacol.*, **159**: 49-54.
3. **Ahmadipour B., Hassanpour H. and Khajali F.** (2018). Evaluation of hepatic lipogenesis and antioxidant status of broiler chickens fed mountain celery. *J. Ethnopharmacol.*, **14**: 234.
4. **Fachriya E.A., Meiny K. and dan Gunardi.** (2007). *Zingiber cassumunar* protect cells suffering from oxidative stress: a flow-cytometric study using rat thymocytes and H₂O₂. *Japanese J. Pharmacol.*, **75**: 363-70.
5. **Han A.R., Min H.Y., Windone T., Jeohn G.H., Jang D.S., Lee S.K. and Seo E.K.** (2004). A new cytotoxic phenylbutenoids dimer from rhizomes of *Zingiber cassumunar*. *Planta Med.*, **70**: 1095-97.
6. **Khajali F., Karimi S. and Qujeq D.** (2008). Probiotics in the drinking water alleviate stress of induced molting in feed-deprived laying hens. *Asia Aust J. Ani. Sci.*, **21**: 1196-200.
7. **Kossmider B. and Osiecka O.** (2004). Flavonoid compounds: a review of anticancer properties and interactions with cis-Diamminedichloroplatinum (II). *Drug Dev. Res.*, **63**: 200-11.
8. **Krishnamurthy K.S.** (2008). Celery. In: *Chemistry of spices*. Ed. Parthasarathy và ctv, Chương 22: 401-12.
9. **Momin R.A. and Nair M.G.** (2002). Antioxidant, cyclooxygenase and topoisomerase inhibitory compounds from *Apium graveolens* Linn. seeds. *Phytomedicine.*, **9**: 312-18.
10. **Nagano T., Oyama Y., Kajita N., Chikahisa L., Nakata M., Ikazaki E. and Musada T.** (1997). New curcuminoids isolated from *Zingiber cassumunar* protect cells suffering

- from oxidative stress: a flow-cytometric study using rat thymocytes and H₂O₂. *Jap. J. Pharmacol.*, **75**: 363-70.
11. Peng H.Y., Du J.R., Zhang G.Y., Kuang X., Liu X.Y., Qian Z.M. and Wang C.Y. (2007). Neuroprotective effect of Z-ligustilide against permanent focal ischemic damage in rats. *Bio. Pha. Bull.*, **30**: 309-12.
 12. Pendry, B., Busia, K. and Bell C.M. (2005). Phytochemical Evaluation of Selected Antioxidant-Containing Medicinal Plants for Use in the Preparation of a Herbal Formula-A Preliminary Study. *Che. Biodiversity*, **2**: 917-22.
 13. Philippe J., Suvarnalatha G., Sankar R. and Suresh S. (2002). Kessane in the Indian celery seed oils. *J. Essential Oil Res.*, **14**: 276-77.
 14. Pirbalouti A., Setayesh M., Siahpoosh A. and Mashayekhi H. (2013). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoids contents of three herbs used as condiments and additives in pickles products. *Her. Polon.*, **59**: 51-61.
 15. Popovic M., Kaurinovic B., Trivic S., Mimica-Dukic N. and Bursac M. (2006). Effect of celery (*Apium graveolens*) extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with carbon tetrachloride. *Phy. Res.*, **20**: 531-37.
 16. Saed Z.J.M., Mohammed T.T. and Farhan S.M. (2018). Effect of ginger and celery seeds as feed additives on reproductive performance of broiler breeder males, *Plant Archives*, **18**: 1823-29.
 17. Shalaby M.A. and El-Zobra H.Y. (2010). Protective effect of celery oil, vitamin E and their combination against testicular toxicity in male rats. *Glo. Vet.*, **5**: 122-28.
 18. Shahidi F. and Ambigaipalan P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – a review. *J. Fun. Food.*, **18**: 820-97.
 19. Surai P.F. (2014). Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *J. Ani. Phy. Ani. Nut.*, **98**: 19-31.
 20. Wolski T., Najda A. and Mardarowicz M. (2001). GC/MS analysis of essential oil of the fruits of three varieties of *Apium graveolens* L. var dulce mill. *Pers. Annales Universitatis Mariae Curie Skodowska Sectio EEE. Horticultura* **2**(Sup): 203-11.

MỨC NĂNG LƯỢNG TRAO ĐỔI VÀ PROTEIN THÍCH HỢP TRONG KHẨU PHẦN LỢN NÁI VÀ LỢN HƯƠNG NUÔI THỊT

Phạm Hải Ninh^{1*}, Phạm Công Thiều¹, Lê Thị Thanh Huyền¹, Đặng Vũ Hòa¹, Nguyễn Quyết Thắng¹ và Đặng Thủy Nhung²

Ngày nhận bài báo: 30/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 12/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 24/04/2021

TÓM TẮT

Thí nghiệm được tiến hành nhằm xác định mức năng lượng và protein thích hợp trong khẩu phần nuôi lợn nái và lợn Hương nuôi thịt. Đối với lợn nái, lựa chọn 45 lợn nái Hương đồng đều về khối lượng, sức khỏe phân ngẫu nhiên vào 9 lô. Giai đoạn có chửa, lợn nái ăn theo 3 mức năng lượng trao đổi 2.700, 2.800, 2.900 kcal, với mỗi mức năng lượng là 3 mức protein thô 12, 13, 14%. Giai đoạn nuôi con, lợn nái ăn theo 3 mức năng lượng trao đổi 2.900, 3.000, 3.100 kcal, với mỗi mức năng lượng là 3 mức protein thô 14, 15, 16%. Đối với lợn thương phẩm, lựa chọn 45 cá thể lợn cai sữa đồng đều về khối lượng, sức khỏe phân ngẫu nhiên vào 9 lô. Lợn cai sữa tới 5 tháng tuổi ăn theo 3 mức năng lượng trao đổi 2.800, 2.900, 3.000 kcal, với mỗi mức năng lượng là 3 mức protein thô 13, 14, 15%. Lợn 6 tháng tuổi tới giết thịt theo 3 mức năng lượng trao đổi 2.800, 2.900, 3.000 kcal, với mỗi mức năng lượng là 3 mức protein thô 12, 13, 14%. Kết quả cho thấy: Mức protein và năng lượng trao đổi cao cải thiện được khả năng sinh sản và sinh trưởng của lợn Hương. Mức 2.900 kcal ME và 14% protein đối với lợn nái chửa cho khối lượng sơ sinh cao nhất. Mức 3.100 kcal ME và 16% protein đối với lợn nái nuôi con cho khối lượng cai sữa cao nhất. Mức 3.000 kcal ME và 15% protein đối với lợn cai sữa tới 5 tháng tuổi; 3.000 kcal ME và 14% protein đối với lợn 6 tháng tuổi tới giết thịt cho khả năng sinh trưởng cao nhất.

Từ khóa: Lợn Hương, lợn nái, lợn thịt, năng lượng, protein.

¹ Viện Chăn nuôi;

² Học Viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: ThS. Phạm Hải Ninh, Bộ môn Động vật quý hiếm và Đa dạng sinh học, Viện Chăn nuôi; ĐT: 0988 397 223; Email: phamhaininh_vcn@yahoo.com

ABSTRACT

The suitable energy and protein levels in the diets for Huong sows and meat pigs

The experiment was conducted to determine the suitable energy and protein levels in the diets of Huong sows and meat pigs. For sows, 45 Huong sows with uniform body weight and health status were selected and randomly assigned to 9 lots. During gestation period, sows were feeding the diets with 3 different energy levels 2,700; 2,800 and 2,900 kcal ME, each energy level had 3 crude protein levels 12, 13 and 14%. During lactation period, 3 energy levels were 2,900; 3,000; 3,100 kcal ME and 3 crude protein levels were 14, 15, 16%. For meat pigs 45 uniform individual weaned pigs in weight and health were selected and randomly assigned to 9 lots. From weaning to 5 months old the pigs were feeding the diets with 3 different energy levels were 2,800; 2,900; 3,000 kcal ME, each energy level had 3 crude protein levels: 12, 13, 14%. In 6-month-old to slaughter phase 3 energy levels were 2,800; 2,900; 3,000 kcal ME and 3 crude protein levels were 12, 13, 14%. The results showed that High levels of protein and energy improved reproduction and production performances of Huong pigs. The levels of 2,900 kcal ME and 14% protein for gestation reached the highest birth weight. The level of 3,100 kcal ME and 16% protein for lactating sows gave the highest weaning weight. The levels of 3,000 kcal ME and 15% protein for weaned pigs up to 5 months old; 3,000 kcal ME and 14% protein for 6-month-old pigs to slaughter gave the highest growth potentials.

Keywords: *Huong pig, sow, meat pig, energy, protein.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lợn Hương là một giống lợn được nuôi phổ biến ở vùng biên giới Việt Nam-Trung Quốc, nhiều nhất là Bảo Lạc, Bảo Lâm, Hạ Lang, tỉnh Cao Bằng... Lợn Hương là một nguồn gen quý, được bảo tồn từ năm 2008 và ngày càng phát triển. Về ngoại hình, lợn Hương gần giống với lợn Móng Cái như thân ngắn, tròn, lông dài, đuôi nhỏ, da dày, thịt chắc. Lợn Hương được đánh giá là giống dễ nuôi, ít bệnh tật, thích nghi tốt với điều kiện khí hậu vùng núi và tập quán chăn nuôi của đồng bào dân tộc. Bên cạnh đó, lợn Hương có chất lượng thịt gần giống với lợn rừng: thịt mềm, ngọt, đặc biệt là có mùi thơm rất riêng biệt do có lớp mỡ mang mùi thơm. Do có chất lượng thịt rất thơm ngon nên lợn Hương được bán với giá cao và những năm gần đây, chăn nuôi lợn Hương là một trong những hướng phát triển kinh tế của vùng miền núi phía Bắc Việt Nam.

Cho tới nay, đã có nhiều nghiên cứu về nhu cầu protein và năng lượng cho lợn ngoại, tuy nhiên nghiên cứu đối với lợn bản địa nói chung và Hương hầu như chưa được quan tâm. Vì vậy, trong khuôn khổ nhiệm vụ “*Khai thác và phát triển nguồn gen lợn Hương*”, xác định mức protein, năng lượng trao đổi cho lợn nái và lợn Hương nuôi thịt là cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, địa điểm và thời gian

Lợn nái Hương trong giai đoạn từ mang thai đến cai sữa lợn con và lợn Hương thương phẩm trong giai đoạn từ sau cai sữa đến 8 tháng tuổi được thực hiện tại Trung tâm Giống cây trồng vật nuôi thủy sản Cao Bằng, trong thời gian từ 1/1/2017 đến 30/09/2018.

2.2. Phương pháp

Phân tích một số nguyên liệu sẵn có tại vùng triển khai đề tài (ngô, cám gạo, khô đậu tương, v.v.). Kết quả phân tích thành phần và giá trị dinh dưỡng nguyên liệu thức ăn làm căn cứ phối trộn khẩu phần thức ăn tinh hỗn hợp đảm bảo giá trị dinh dưỡng với các mức protein, năng lượng trao đổi và một số chỉ tiêu khác (Ca, P, ...) dựa trên TCVN 1547-2007.

2.2.1. Đối với lợn nái

Lợn thí nghiệm (TN) đã được kiểm tra năng suất cá thể có lý lịch rõ ràng, bố mẹ đạt tiêu chuẩn giống, khoẻ mạnh, không có bệnh tật, có khối lượng (KL) trung bình trở lên so với bình quân toàn đàn và chênh lệch giữa các cá thể không quá 10%. Tổng số 45 lợn nái được phân ngẫu nhiên vào 9 lô, mỗi lô 5 con. Sơ đồ bố trí TN theo 2 yếu tố như sau:

DINH DƯỠNG VÀ THỨC ĂN CHĂN NUÔI

Bảng 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đối với lợn nái

Thời kỳ	Chỉ tiêu	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5	Lô 6	Lô 7	Lô 8	Lô 9
Nái chửa	ME (kcal/kg)		2.700			2.800			2.900	
	Protein (%)	12	13	14	12	13	14	12	13	14
Nuôi con	ME (kcal/kg)		2.900			3.000			3.100	
	Protein (%)	14	15	16	14	15	16	14	15	16

Công thức phối trộn thức ăn cho lợn nái được nêu trong bảng 2.

Bảng 2. Công thức phối trộn thức ăn cho lợn nái

Thời kỳ	Thành phần	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5	Lô 6	Lô 7	Lô 8	Lô 9
Nái chửa	Cám gạo (%)	18	17	17	15	20	17	21	22	19
	Bột đậu tương (%)	10	12	15	10	12	15	10	13	15
	Thức ăn đậm đặc (%)	8	9	10	8	10	10	8	9	10
	Bột sắn (%)	22	21	18	20	15	13	18	14	13
	Bột ngô (%)	42	41	40	47	43	45	43	42	43
Nuôi con	Cám gạo (%)	15	16	15	15	17	16	15	14	12
	Bột đậu tương (%)	16	18	20	16	19	20	16	17	18
	Thức ăn đậm đặc (%)	10	11	13	10	10	14	10	11	13
	Bột sắn (%)	14	12	10	13	10	9	12	11	9
	Bột đậu tương (%)	45	43	42	46	44	41	47	47	48

Mức cho ăn: Chửa kỳ I (phối-chửa 90 ngày): 1,8 kg/ngày; chửa kỳ II (chửa 91-110 ngày): 2,2 kg/ngày và trước khi đẻ 3-5 ngày: 1,2 kg/ngày.

Các chỉ tiêu theo dõi: số con sơ sinh/ổ (SCSS), số con sơ sinh sống/ổ (SCSSS), khối lượng sơ sinh/con (KLSS/con), khối lượng sơ sinh/ổ (KLSS/ổ), số con cai sữa/ổ (SCCS), khối lượng cai sữa/con (KLCS/con), khối lượng cai

sữa/ổ (KLCS/ổ).

2.2.2. Đối với lợn thương phẩm

Lợn TN có lý lịch rõ ràng, bố mẹ đạt tiêu chuẩn giống, khoẻ mạnh, không có bệnh tật, có KL trung bình trở lên so với bình quân toàn đàn và chênh lệch giữa các cá thể không quá 10%. Tổng số 45 lợn được phân ngẫu nhiên vào 9 lô, mỗi lô 5 con. Sơ đồ bố trí TN theo 2 yếu tố như sau:

Bảng 3. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đối với lợn Hương thương phẩm

Giai đoạn	Chỉ tiêu	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5	Lô 6	Lô 7	Lô 8	Lô 9
Lợn chọi	ME (kcal/kg)		2.800			2.900			3.000	
	Protein (%)	13	14	15	13	14	15	13	14	15
Vỗ béo	ME (kcal/kg)		2.800			2.900			3.000	
	Protein (%)	12	13	14	12	13	14	12	13	14

Công thức phối trộn thức ăn cho lợn Hương thương phẩm được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Công thức phối trộn thức ăn cho lợn Hương thương phẩm

Giai đoạn	Nguyên liệu	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5	Lô 6	Lô 7	Lô 8	Lô 9
Lợn chọi	Cám gạo (%)	23	21	19	22	19	19	21	19	16
	Bột đậu tương (%)	12	14	17	12	14	18	11	13	15
	Đậm đặc (%)	8	9	10	8	9	9	9	9	10
	Bột ngô (%)	57	56	54	58	58	54	59	59	59
	Tổng cộng		100	100	100	100	100	100	100	100
Vỗ béo	Cám gạo (%)	24	23	21	23	22	19	21	21	19
	Bột đậu tương (%)	10	12	14	10	12	18	10	11	13
	Đậm đặc (%)	7	8	9	10	8	9	7	9	9
	Bột ngô (%)	59	57	56	60	58	54	62	59	59
	Tổng cộng		100	100	100	100	100	100	100	100

Các chỉ tiêu theo dõi: KL qua các tháng tuổi, tăng khối lượng/ngày (TKL), sinh trưởng tương đối về KL và tiêu tốn thức ăn (TTTA)/kg TKL.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai 2 yếu tố: mức năng lượng và mức protein bằng phần mềm Excel 2010.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Năng suất sinh sản của lợn nái Hương

Số con sơ sinh/ổ ở lô 8 cao nhất (10,2 con) và thấp nhất là lô 6 (6,7 con) ($P>0,05$). Kết quả nghiên cứu của Phạm Hải Ninh và ctv (2015) cho thấy lợn Hạ Lang có SCSS là 10,45 con, cao hơn kết quả này. Lợn Bản Hòa Bình (Vũ Đình Tôn và Phan Văn Thắng, 2009) có SCSS là 7,33 con, tương đương với kết quả này.

Tỷ lệ sơ sinh sống trong các lô là 81,9-96,0% ($P>0,05$), thấp hơn 11,16 con của lợn 14 vú (Trịnh Phú Cừ, 2011), tương đương 6,67 con của lợn Bản (Vũ Đình Tôn và Phan Đăng Thắng, 2009).

Số con sống đến cai sữa lô 8 cao nhất (7,6 con) và thấp nhất ở lô 6 (5 con). Tuy nhiên, tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa của lô 1 cao nhất (97,5%), thấp nhất lô 6 (81,1%) ($P>0,05$). Kết quả phù hợp với nghiên cứu lợn Lũng Pù là 6,05-6,75 con/ổ (Nguyễn Văn Đức và ctv, 2008). Theo Nguyễn Hữu Cường và Phạm Sỹ Tiếp (2016), mức protein thô 16-17% và năng lượng trao đổi 2.800 kcal, SCSS là 12,40-12,80 con, mức protein 15-17% và mức năng lượng trao đổi cao (2.900), SCSS là 11,33-11,50 con, cao hơn so với kết quả này.

Mức năng lượng và protein trong khẩu phần đã ảnh hưởng đến khả năng phát triển của bào thai lợn, các lô 1, 2 và 3 với mức năng lượng 2.700 kcal và mức protein thô là 12, 13, 14% cho KLSS/con ở lô 3 cao nhất (0,43kg), thấp nhất ở lô 1 (0,39kg). Trong khi đó, ở lô 6 và lô 9 với mức năng lượng 2.800 kcal và 29.00 kcal và mức protein đều là 14%, KLSS đạt cao nhất (0,45 và 0,44kg). Đối với lô 4 và 7, cũng với các mức năng lượng này, nhưng

mức protein chỉ là 12%, KLSS đạt thấp nhất (0,31 và 0,28kg) ($P<0,05$). Kết quả này cao hơn lợn Vân Pa (0,28kg/con), tương đương lợn Cỏ Miền Trung (0,4kg/con) Nguyễn Thiện (2006), lợn Sóc là 0,40- 0,45kg của Lê Thị Biên và ctv (2006), lợn Bản Hoà Bình là 0,43 kg/con của Vũ Đình Tôn và Phan Đăng Thắng (2009).

Khối lượng sơ sinh/ổ cao nhất ở lô 8 (3,6kg), thấp nhất lô 1 và lô 6 (2,7kg) ($P>0,05$). Các chỉ tiêu này thấp hơn lợn 14 vú nuôi tại Mường Lay (Trịnh Phú Cừ, 2011) là 5,80kg. Theo Nguyễn Hữu Cường và Phạm Sỹ Tiếp (2016), KLSS/con của lợn Móng Cái trong 9 lô là 0,50-0,55kg, KLSS/ổ là 6,12-7,34 kg, cao hơn so với kết quả nghiên cứu này của chúng tôi.

So sánh về KLCS (30 ngày tuổi) nhận thấy: cao nhất ở lô 9 (4,92 kg/con) và thấp nhất ở lô 1 (4,02 kg/con) ($P<0,05$). Kết quả nghiên cứu lợn 14 vú nuôi tại Mường Lay (Trịnh Phú Cừ, 2011) cho thấy: KLCS lúc 155 ngày trung bình là 7,58kg (5,0-10,6kg), tuy KL cao hơn nhưng thời gian cai sữa cũng lớn hơn so với nghiên cứu của chúng tôi.

Không có sự khác biệt về số ngày động dục lại sau cai sữa giữa các lô (7,4-9,8 ngày) ($P>0,05$).

Kết quả phân tích phương sai 2 yếu tố mức năng lượng và protein trong khẩu phần lợn Hương sinh sản cho thấy: Trong giai đoạn chửa, các chỉ tiêu SCSS, SCSSS và KLSS/ổ của lợn nái đạt cao nhất ở khẩu phần ăn có mức năng lượng 2.900 kcal/kg, khác biệt là có ý nghĩa thống kê so với các khẩu phần có mức năng lượng 2.700 và 2.800 kcal/kg ($P<0,05$); giai đoạn nuôi con, các chỉ tiêu SCCS, KLCS/ổ và KLCS/con đạt cao nhất ở khẩu phần có mức năng lượng 3.100 kcal/kg; giai đoạn chửa, mức protein trong khẩu phần không ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến các chỉ tiêu SCSS, SCSSS, nhưng ảnh hưởng rõ rệt tới KLSS/ổ, đạt cao nhất ở mức protein 14% và giai đoạn nuôi con, SCCS không chịu ảnh hưởng bởi protein ($P>0,05$), nhưng KLCS/ổ và KLCS/con chịu ảnh hưởng rõ rệt bởi mức protein ($P<0,05$) và đạt cao nhất ở mức protein 16%.

Bảng 5. Ảnh hưởng các mức năng lượng và protein trong khẩu phần đến năng suất sinh sản

Chỉ tiêu	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5	Lô 6	Lô 7	Lô 8	Lô 9	SEM	P
Số con sơ sinh/ổ (con)	7,6	7,2	7,8	7,2	9,0	6,7	8,3	10,2	8,0	1,656	0,091
Số con sơ sinh sống (con)	7,0	6,8	7,2	6,8	7,4	6,0	7,7	8,4	7,4	1,683	0,744
Số con cai sữa (nái/con)	6,8	5,6	6,6	6,0	6,4	5,0	6,3	7,6	6,4	1,672	0,601
Tỷ lệ sơ sinh sống (%)	92,8	95,6	92,4	96,0	82,8	90,5	92,5	81,9	92,8	13,2	0,704
Tỷ lệ cai sữa sống (%)	97,5	82,2	93,1	87,7	87,6	81,1	83,0	91,3	94,3	13,15	0,622
Khối lượng sơ sinh/con (kg)	0,39 ^b	0,42 ^{ab}	0,43 ^{ab}	0,41 ^{ab}	0,42 ^{ab}	0,45 ^a	0,38 ^b	0,43 ^{ab}	0,44 ^{ab}	0,017	0,023
Khối lượng sơ sinh/ổ (kg)	2,7	2,9	3,1	2,8	3,1	2,7	2,9	3,6	3,3	0,607	0,445
Khối lượng cai sữa/con (kg)	4,02 ^c	4,5 ^{abc}	4,49 ^{abc}	4,52 ^{abc}	4,48 ^{abc}	4,65 ^b	4,65 ^b	4,68 ^b	4,92 ^a	0,479	0,028
Khối lượng cai sữa/ổ/nái (kg)	28,0	25,8	30,3	27,5	29,6	23,8	29,9	36,3	32,1	7,104	0,509
Thời gian động dục lại (ngày)	9,8	7,7	7,8	7,4	8,5	8,7	8,0	8,4	8,2	1,386	0,31

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng, có mang chữ cái khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

3.2. Sinh trưởng của lợn Hương thương phẩm

Kết quả theo dõi khả năng sinh trưởng của lợn Hương nuôi thịt (Bảng 6) cho thấy: Kết thúc nuôi thịt lúc 8 tháng tuổi, lợn Hương đạt KL 39-42kg. Nghiên cứu về khả năng sinh trưởng của lợn Hạ Lang thương phẩm cho thấy đến 8 tháng tuổi là 60,48 kg/con (Phạm

Đức Hồng và ctv, 2016), cao hơn nhiều so với kết quả nghiên cứu của chúng tôi trên đàn lợn Hương thương phẩm. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu trên lợn Hương này lại cao hơn kết quả theo dõi trên lợn Vân Pa tại Quảng trị có KL 23,5kg khi đạt 12 tháng (Trần Văn Do, 2004) và lợn Khùa đạt KL 35,9kg ở 12 tháng tuổi (Nguyễn Ngọc Phục, 2010).

Bảng 6. Ảnh hưởng các mức protein và năng lượng đến khối lượng của lợn Hương (n=5)

Tháng tuổi	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5	Lô 6	Lô 7	Lô 8	Lô 9	SEM	P
Cai sữa	4,02	4,5	4,49	4,52	4,48	4,65	4,65	4,68	4,92	0,479	0,128
2	6,08 ^b	6,54 ^{ab}	6,6 ^{ab}	6,12 ^b	6,44 ^{ab}	6,7 ^{ab}	6,3 ^{ab}	6,66 ^{ab}	7,04 ^a	0,485	0,006
3	7,84	8,48	8,48	8,14	8,64	8,7	8,47	8,62	8,98	0,576	0,074
4	13,08	13,84	14,02	13,96	14,16	14,43	13,97	14,44	14,52	0,861	0,336
5	20,88	21,22	21,7	21,2	21,96	22,47	20,93	21,54	22,64	0,943	0,088
6	26,16 ^b	26,56 ^b	27,64 ^{ab}	26,74 ^b	27,04 ^{ab}	27,37 ^{ab}	26,53 ^{ab}	27,06 ^{ab}	28,02 ^a	0,653	0,004
7	32,74 ^c	34,4 ^{ab}	34,88 ^{ab}	33,92 ^{bc}	34,6 ^{ab}	35,07 ^{ab}	34,43 ^{ab}	35,1 ^{ab}	35,72 ^a	0,649	0,001
8	38,86 ^c	39,88 ^{bc}	40,52 ^{abc}	39,7 ^{bc}	41,04 ^{abc}	41,62 ^{ab}	41,53 ^{ab}	41,92 ^{ab}	42,38 ^a	1,097	0,002

Kết quả phân tích phương sai 2 yếu tố cho thấy mức protein và năng lượng đều ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng sinh trưởng của lợn Hương từ sau cai sữa đến giết thịt.

Từ cai sữa đến 2 tháng tuổi, lợn được ăn khẩu phần có năng lượng và protein cao đạt sinh trưởng cao. Tuy nhiên, trong cả giai đoạn lợn choai (cai sữa-5 tháng tuổi) các mức protein và năng lượng khác nhau gây ảnh hưởng không rõ rệt đến khả năng sinh trưởng ($P > 0,05$).

Từ 6 tới 8 tháng tuổi, khả năng sinh trưởng của lợn Hương nuôi thịt phụ thuộc vào mức protein và năng lượng trong khẩu

phần. Với mức năng lượng 2.800 hoặc 2.900 kcal/kg, các lô nhận được khẩu phần có mức protein 12% đều cho khả năng sinh trưởng thấp nhất. Tuy nhiên, khả năng sinh trưởng của lợn không bị giảm sút nhiều khi ăn khẩu phần 12% protein nhưng với mức năng lượng là 3.000 kcal/kg. Nguyên nhân có thể là do mặc dù việc cung cấp protein chỉ ở mức thấp, nhưng lợn Hương vốn có khả năng tích mỡ lớn đã chuyển hoá mạnh nguồn năng lượng cao sang tích mỡ, do đó khả năng sinh trưởng đã không bị giảm sút.

Kết quả cho thấy TKL giai đoạn 4-5 tháng cao nhất, ảnh hưởng của protein và năng

DINH DƯỠNG VÀ THỨC ĂN CHĂN NUÔI

lượng trong khẩu phần có tác động đến sinh trưởng lợn nuôi trong từng lô TN. Cao nhất giai đoạn này ở lô 9 với khẩu phần có mức protein và năng lượng cao nhất (15% và 3.000 kcal) đạt 270,67 g/con/ngày. Tiếp đến, lô 4 với

mức protein 15% và năng lượng 2.900 kcal đạt 256 g/con/ngày. Mức TKL thấp nhất là lô 7 với năng lượng 2.800 kcal và protein là 13% đạt 232 g/con/ngày.

Bảng 7. Ảnh hưởng mức protein và năng lượng đến TKL tuyệt đối của lợn Hương thương phẩm (g/con/ngày)

Tháng	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5	Lô 6	Lô 7	Lô 8	Lô 9
Cai sữa-2	68,67	68,00	70,33	53,33	65,33	68,33	55,00	66,00	70,67
2-3	58,67	64,67	62,67	67,33	73,33	66,67	72,33	65,33	64,67
3-4	174,67	178,67	184,67	194,00	184,00	191,00	183,33	194,00	184,67
4-5	260,00	246,00	256,00	241,33	260,00	268,00	232,00	236,67	270,67
5-6	176,00	178,00	198,00	184,67	169,33	163,33	186,67	184,00	179,33
6-7	219,33	261,33	241,33	239,33	252,00	256,67	263,33	268,00	256,67
7-8	204,00	182,67	188,00	192,67	214,67	218,33	236,67	227,33	222,00

Giai đoạn 5-6 tháng tuổi, TKL của lợn Hương bị giảm có thể do nhu cầu protein đòi hỏi cao như giai đoạn sau cai sữa đến 5 tháng tuổi hoặc chưa thích nghi với khẩu phần thức ăn mới. Khả năng sinh trưởng giai đoạn này là 176-189 g/con/ngày. Từ 5 đến 6 tháng tuổi, TKL của lợn Hương cao, mức protein và năng lượng cao trong khẩu phần ảnh hưởng tốt đến TKL. Với mức protein 14%, năng lượng 3.000 kcal trong khẩu phần, lợn Hương ở lô 9 có TKL cao nhất (312 g/con/ngày), thấp nhất là lợn ăn khẩu phần mức protein và năng lượng thấp nhất (12%; 2.800 kcal) đạt 226 g/con/ngày. Đến giai đoạn 7-8 tháng tuổi, TKL của lợn Hương tại các lô TN có mức năng lượng cao (3.000 kcal) và mức protein cao

(13-14%) đều cao hơn rõ rệt mức năng lượng thấp (2.800 kcal) và mức protein thấp. Ở lô 8 và 9, TKL đạt 236,67 và 227,33 g/con/ngày. Ở lô 1, 2, 3 với mức năng lượng thấp (2.800 kcal) cho TKL thấp nhất (188-204 g/con/ngày). Kết quả này thấp hơn so với lợn Hạ Lang (Phạm Đức Hồng và ctv, 2016) cho thấy ở giai đoạn 5-6 tháng tuổi là 345,43 g/ngày bằng phương thức nuôi nhốt và 387,10 g/ngày bằng phương thức nuôi nhốt có sân chơi, nhưng cao hơn giai đoạn 7-8 tháng tuổi là 190 g/ngày và 219 g/ngày bằng 2 phương thức nuôi. Tuy nhiên, kết quả này thấp hơn so với 258,33-283,33 g/ngày ở giai đoạn 6-7 tháng tuổi của lợn Táp Ná (Nguyễn Thị Thủy Tiên và ctv, 2013).

Bảng 8. Sinh trưởng tương đối về tăng khối lượng của lợn Hương thương phẩm (%)

Tháng	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5	Lô 6	Lô 7	Lô 8	Lô 9
Cai sữa-2	16,81	14,88	16,97	13,49	14,92	13,33	12,45	15,29	15,43
2-3	21,48	20,57	19,73	21,59	22,15	22,00	22,08	21,39	21,17
3-4	6,85	7,53	6,47	6,66	5,92	7,62	6,03	6,33	6,07
4-5	5,34	4,87	4,27	4,57	4,71	2,41	4,17	4,17	3,23
5-6	5,44	5,47	5,47	5,93	6,11	6,03	6,67	6,90	6,68
6-7	4,93	5,68	5,77	5,74	6,00	5,94	5,24	5,72	6,21
7-8	1,62	2,18	2,14	1,91	1,87	2,05	2,15	2,06	2,04

Hầu hết các lô TN có sinh trưởng tương đối cao ở giai đoạn 2-3 tháng tuổi (21-22%), ảnh hưởng protein và năng lượng trong khẩu phần không đáng kể. Đến 5 tháng tuổi, sinh trưởng tương đối giảm (3,2-5,3%), tăng nhẹ ở giai đoạn 6 tháng tuổi (5,4-6,6%). Đến 8 tháng

tuổi, sinh trưởng tương đối giảm thấp nhất: mức protein 12% và năng lượng 2.800 kcal trong khẩu phần ở lô 2 cao nhất (2,18%), thấp nhất ở lô 1 (1,62%) với mức protein và năng lượng 12% và 2.800 kcal.

Bảng 9. Ảnh hưởng của protein và năng lượng trong khẩu phần đến TTTA/kg TKL lợn Hương thương phẩm

Tháng	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 4	Lô 5	Lô 6	Lô 7	Lô 8	Lô 9
Cai sữa-2	11,65	11,76	11,37	15,00	12,24	11,71	14,55	12,12	11,32
2-3	2,86	2,80	2,71	2,58	2,72	2,62	2,73	2,58	2,71
3-4	4,01	3,92	3,79	3,61	3,80	3,66	3,82	3,61	3,79
4-5	3,85	4,07	3,91	4,14	3,85	3,73	4,31	4,23	5,42
5-6	6,82	6,74	6,06	6,50	7,09	7,35	6,43	6,52	6,69
6-7	5,93	4,97	5,39	5,43	5,16	5,06	4,94	4,85	5,06
7-8	7,35	8,21	7,98	7,79	6,99	6,87	6,34	6,60	6,76
Cai sữa-8	5,60	5,51	5,41	5,54	5,33	5,27	5,29	5,24	5,21

Mức TTTA/kg TKL phụ thuộc vào tốc độ sinh trưởng của lợn. Đối với lợn nội nói chung và lợn Hương nói riêng, do khả năng sinh trưởng thấp dẫn đến TTTA cao hơn so với các giống lợn ngoại. Kết quả Bảng 10 cho thấy giai đoạn 7-8 tháng tuổi, TTTA của 9 lô là 6,76kg. Giai đoạn lợn từ cai sữa đến 8 tháng tuổi, lô 9 có TTTA thấp nhất (5,21kg), cao nhất lô 1 đạt 5,60kg. Kết quả nghiên cứu về TTTA của lợn Hạ Lang giai đoạn 7-8 tháng tuổi của Phạm Đức Hồng và ctv (2016) cho biết nuôi nhốt là 4,51kg, nuôi nhốt có sân chơi là 4,29kg, thấp hơn kết quả này của chúng tôi. Tuy nhiên, kết quả của chúng tôi tương tự lợn Táp Ná (Nguyễn Thị Thủy Tiên, 2013) với TTTA là 4,47-4,78kg.

4. KẾT LUẬN

Protein và năng lượng trao đổi cao cải thiện được sinh sản và sinh trưởng của lợn Hương.

Giai đoạn nái chửa, khẩu phần 14% protein và 2.900 kcal năng lượng cho KLSS cao nhất

Giai đoạn nái nuôi con, khẩu phần 16% protein và 3.100 kcal cho KLCS cao nhất

Lợn từ cai sữa tới 5 tháng tuổi có khả năng sinh trưởng nhanh nhất với mức protein 15% và năng lượng trao đổi 3.000 kcal/kg TA. Lợn từ 6 tháng tuổi tới giết thịt có khả năng sinh trưởng nhanh nhất với mức protein 14% và năng lượng trao đổi 3.000 kcal/kg TA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thị Biên, Võ Văn Sự và Phạm Sỹ Tiệp (2006). Nuôi lợn Sóc, Kỹ thuật chăn nuôi một số động vật quý hiếm, Nhà xuất bản lao động xã hội, trang 36-39.
2. Trịnh Phú Cử (2011). Đặc điểm ngoại hình, khả năng sinh sản, sinh trưởng và cho thịt của giống lợn 14 vú nuôi tại Mường Lay, tỉnh Điện Biên. Luận văn thạc sĩ nông nghiệp.
3. Nguyễn Hữu Cường và Phạm Sỹ Tiệp (2016). Xác định mức năng lượng trao đổi và protein phù hợp trong khẩu phần ăn cho lợn Móng cái hậu bị và chửa dựa trên các nguyên liệu sẵn có ở miền Bắc Việt Nam. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 212(10.16): 47-53.
4. Trần Văn Do (2004). Báo cáo tóm tắt khả năng sinh trưởng phát triển của giống lợn Vân Pa ở tỉnh Quảng Trị, Hội nghị bảo tồn quỹ gen vật nuôi 1990-2004, Trang: 230-33.
5. Nguyễn Văn Đức, Đặng Đình Trung, Nguyễn Văn Trung, Vũ Chi Cương và J.C. Maillard (2008). Đặc điểm ngoại hình, sinh sản, sinh trưởng, chất lượng thịt của giống lợn đen Lũng Pù Hà Giang. Tạp chí KHCN Chăn nuôi, Số đặc biệt: 90-99.
6. Phạm Đức Hồng, Phạm Hải Ninh, Vũ Ngọc Sơn, Nguyễn Khắc Khánh, Đặng Hoàng Biên, Hoàng Thanh Hải, Nguyễn Sinh Huỳnh, Đàm Đức Phúc, Nông Văn Căn và Lê Thao Giang (2016). Báo cáo tổng hợp Kết quả Khoa học Công nghệ nhiệm vụ Quỹ gen cấp Nhà nước Khai thác và phát triển sản xuất giống lợn Hạ Lang và Táp Ná Cao Bằng.
7. Phạm Hải Ninh, Phạm Đức Hồng, Vũ Ngọc Sơn, Hoàng Thanh Hải và Nông Văn Căn (2015). Đặc điểm ngoại hình và khả năng sản xuất của lợn Hạ Lang nuôi thâm canh. Tạp chí KHCN Chăn nuôi, 56: 24-34.
8. Nguyễn Ngọc Phục (2010). Hiện trạng, đặc điểm sinh trưởng và năng suất sinh sản của lợn Khùa tại miền núi Quảng Bình. Tạp chí KHCN Chăn Nuôi, 26: 1-8.
9. Nguyễn Thiện (2006). Giống lợn và các công thức lai mới ở Việt Nam, NXB Nông Nghiệp Hà Nội.
10. Nguyễn Thị Thủy Tiên, Phạm Đức Hồng, Hồ Lam Sơn và Hà Văn Doanh (2013). Đặc điểm ngoại hình và khả năng sản xuất của giống lợn nội Táp Ná nuôi tại Cao Bằng. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 8: 58-64.
11. Vũ Đình Tôn và Phan Đăng Thăng (2009). Phân bố, đặc điểm và năng suất sinh sản của lợn Bàn nuôi tại tỉnh Hoà Bình. Tạp chí KHPT, 7(2): 10-17.

KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA GIỐNG CỎ HAMIL VÀ CỎ VA06 TẠI TRÀ VINH

Phạm Văn Quyển^{1*}, Kim Huỳnh Khiêm², Nguyễn Thị Thủy¹, Giang Vi Sal¹, Nguyễn Văn Tiến¹, Bùi Ngọc Hùng¹, Hoàng Thị Ngân¹ và Huỳnh Văn Thảo³

Ngày nhận bài báo: 22/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 12/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 24/04/2021

TÓM TẮT

Thí nghiệm được tiến hành nhằm đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển, năng suất, chất lượng và khả năng lưu gốc qua mùa khô của hai giống cỏ Hamil (*Panicum maximum* cv. Hamil) và VA06 (*Pennisetum americanum* x *P. Purpureum*) tại Trà Vinh. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, tại các nông hộ thuộc 3 huyện: Trà Cú, Châu Thành, Cầu Ngang, tỉnh Trà Vinh từ tháng 11/2016 đến tháng 10/2020. Kết quả cho thấy, cỏ Hamil và cỏ VA06 có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt tại Trà Vinh. Cỏ Hamil và cỏ VA06 cho năng suất chất xanh cao, tương ứng đạt 229,68 và 362,93 tấn/ha/năm, năng suất chất khô tương ứng đạt 49,38 và 57,78 tấn/ha/năm, năng suất protein tương ứng đạt 5,98-5,14 tấn/ha/năm. Khả năng lưu gốc qua mùa khô không tưới của giống cỏ Hamil cao hơn giống cỏ VA06 (65,94% so với 59,86%).

Từ khóa: Cỏ Hamil, cỏ VA06, sinh trưởng, phát triển.

ABSTRACT

The study on growth and development of *Panicum maximum* cv. Hamil and *Pennisetum americanum* x *P. Purpureum* in Tra Vinh province

The experiment was implemented in order to assess the growth, performance and the root survival through dry season of two grasses Hamil (*Panicum maximum* cv. Hamil) and VA06 (*Pennisetum americanum* X *P. Purpureum*) in Tra Vinh province. The experiment was completely randomized design at farmers in 3 districts: Tra Cu, Chau Thanh, Cau Ngang, Tra Vinh province from November 2016 to October 2020. The results showed that, Hamil grass and VA06 grass well growth and development in Tra Vinh province. The fresh yield of Hamil grass and VA06 grass was 229.68 and 362.93 tons/ha/year, and dry matter yield was 49.38 and 57.78 tons/ha/year; and the crude protein yield was from 5.98 to 5.14 tons/ha/year, respectively. The root survival through dry season of Hamil grass was higher than that of VA06 grass (65.94% compared with 59.86%).

Keywords: Hamil grass, VA06 grass, growth, development.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trà Vinh là tỉnh thuộc vùng Đồng bằng sông Cửu Long, nằm giữa sông Tiền và sông Hậu khí hậu nhiệt đới ôn hòa, ít chịu tác động của bão, lũ. Cùng với vị trí địa lý, đất đai, nguồn nhân lực, tỉnh có nhiều thuận lợi trong phát triển chăn nuôi nói chung và chăn nuôi bò nói riêng. Theo số liệu của Cục Thống kê

Trà Vinh (thời điểm 01/10/2017) đàn bò của tỉnh có 208.723 con, tăng 2.558 con so cùng kỳ năm 2016 (1,24%). Phần lớn bò được nuôi nhiều tại huyện Cầu Ngang 45.138 con chiếm 21,63%, Châu Thành 40.531 con chiếm 19,42%, Trà Cú 35.487 con chiếm 17,00%.

Tuy tổng đàn lớn nhưng chăn nuôi bò của tỉnh vẫn còn có những hạn chế như: Hạn chế trong việc áp dụng khoa học kỹ thuật, năng suất (NS) chưa cao, thiếu tính cạnh tranh trên thị trường. Một trong những nguyên nhân dẫn đến tình trạng trên là do hầu hết bò nuôi chủ yếu phân tán, nhỏ lẻ (chiếm 80% tổng đàn), chất lượng và sức cạnh tranh không cao. Ngoài ra, tác động của quá trình đô thị hóa, cơ sở chăn

¹ Phân viện Chăn nuôi Nam Bộ

² Trung tâm Khuyến nông Trà Vinh

³ Phòng Nông nghiệp và PTNT huyện Trà Cú, Trà Vinh

*Tác giả liên hệ: TS. Phạm Văn Quyển, GD Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Chăn nuôi Gia súc lớn - Phân Viện Chăn nuôi Nam Bộ. Điện thoại: 0913951554; Email: phamvanquyen52018@gmail.com

nuôi vùng nội thị giảm dần. Kết hợp, mùa khô kéo dài, gây tình trạng khô hạn, đồng cỏ chậm phát triển dẫn đến không đủ thức ăn cung cấp cho gia súc, ảnh hưởng xấu đến lĩnh vực chăn nuôi bò ở nhiều nơi trong tỉnh.

Mặt khác, ngày 08/12/2016 Hội đồng nhân dân tỉnh Trà Vinh đã thông qua Nghị quyết số 14/2016/NQ-HĐND quy hoạch chuyển đổi cơ cấu sản xuất nông, lâm, diêm nghiệp và thủy sản tỉnh Trà Vinh đến năm 2020, định hướng đến năm 2030. Mục tiêu phát triển về đàn bò đến năm 2020 là 244.500 con và đến năm 2030 là 350.000 ngàn con.

Để khắc phục những tồn tại và phát triển phong trào cải tạo đàn bò mà đặc biệt là chú trọng đến phát triển đàn bò thịt chất lượng cao tại Trà Vinh nên việc xây dựng dự án “*Ứng dụng tiến bộ khoa học và công nghệ trong chăn nuôi bò thịt chất lượng cao tại tỉnh Trà Vinh*” được thực hiện và ngoài việc chú trọng phát triển đàn bò chất lượng cao, đi kèm với nó là dự án còn giúp các địa phương lựa chọn được các giống cỏ phù hợp với điều kiện đất đai và đặc biệt chịu được tình trạng nắng nóng kéo dài nhằm đảm bảo cung ứng đủ nguồn thức ăn cả năm cho gia súc.

Các giống cỏ sử dụng trong chăn nuôi hiện nay khá đa dạng về chủng loại và hầu hết đều đã được các nhà nghiên cứu tuyển chọn và đánh giá. Trong đó, giống cỏ *Panicum maximum* cv. Hamil (Hamil) và giống cỏ *Pennisetum americanum* x *P. purpureum* (VA06) đều là những giống cỏ đã được rất nhiều nghiên cứu lựa chọn và được đánh giá là giống cỏ cho NS, chất lượng tốt ở nhiều nền sinh thái khác nhau. Do vậy, từ những kết quả đạt được, trong quy mô dự án này sẽ lựa chọn 2 giống cỏ VA06 và cỏ Hamil để triển khai cho nông dân.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, địa điểm và thời gian

Giống cỏ Hamil và cỏ VA06 do Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Chăn nuôi Gia súc lớn nhân giống và sản xuất, được thí nghiệm tại 3 huyện: Trà Cú, Châu Thành, Cầu Ngang, tỉnh Trà Vinh, từ tháng 11/2016 đến tháng 10/2020.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), mỗi huyện tương ứng với 1 lần nhắc lại (Bảng 1).

Bảng 1. Số hộ, diện tích trồng cỏ trong dự án

Địa điểm	Số hộ trồng	Diện tích trồng (ha)		Tổng
		Hamil	VA06	
Trà Cú	10	3	1	4
Châu Thành	9	3	1	4
Cầu Ngang	9	3	1	4
Tổng	28	9	3	12

2.2.2. Chế độ canh tác

Gieo trồng: Cỏ Hamil được gieo bằng hạt. Số lượng 8-10 kg/ha, gieo theo hàng, hàng cách hàng 60cm. Cỏ VA06 được trồng bằng hom, hom được cắt dài 20-30cm, có 2-3 đốt. Hom được trồng theo hàng, hàng cách hàng 60cm, hom cách hom 25cm. Số lượng sử dụng 8-10 tấn/ha.

Phân bón: Lượng phân bón sử dụng giống nhau cho cả 2 giống cỏ. Lượng phân bón lót/ha gồm 40 tấn phân chuồng, 1 tấn vôi bột, 500kg lân, bón 1 lần. Phân bón thúc 75kg ure/lần bón, lần 1 sau gieo 30 ngày, các lần tiếp theo sau khi thu cắt 20 ngày (nền phân bón và phương pháp bón được áp dụng theo quy trình sản xuất của TT Nghiên cứu và Phát triển Chăn nuôi Gia súc lớn).

Thu hoạch: Cỏ được thu hoạch lúa đầu 60 ngày, các lứa tái sinh 40 ngày, cắt cách gốc 8-15cm.

2.2.3. Chỉ tiêu theo dõi

Chiều cao cây và khả năng phân nhánh của cây: Chiều cao cây và khả năng phân nhánh của cây được xác định vào thời điểm trước khi thu hoạch (60 ngày lúa đầu). Tiến hành đo, đếm cây trong 3 điểm, mỗi điểm 1 bụi và lặp lại 3 lần. Xác định chiều cao cây (cm) bằng cách đo từ gốc đến mút lá dài nhất của cây. Khả năng phân nhánh là tổng số nhánh có trong mỗi bụi.

Tốc độ tái sinh trưởng (cm/ngày): Sau khi cắt lần 1, cứ 10 ngày đo để xác định độ cao của cây cho đến khi cắt lúa tiếp theo. Tốc độ tái sinh được xác định bằng cách lấy chiều cao đo

được chia cho 10 được tốc độ tái sinh của cỏ trong 1 ngày đêm.

NS chất xanh (tấn/ha): Cỏ được xác định NS 1 lần vào 60 ngày sau gieo. Cỏ cắt lúc 9h sáng khi cây đã khô ráo, cắt cách mặt đất 8-15cm. Xác định lượng cỏ xanh của mỗi giống tại 3 điểm, mỗi điểm 1m², lặp lại 3 lần để lấy giá trị trung bình, sau đó quy đổi ra tấn/ha/lúa.

Chất lượng cỏ xanh: Lấy mẫu được thực hiện theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4325:2007 vào thời điểm thu hoạch cho giống cỏ. Phân tích hàm lượng vật chất khô (VCK) theo TCVN 4326-2007, protein thô theo TCVN 4328-2001, xơ thô theo TCVN 4329-2007, béo thô theo TCVN 4331-2001 và khoáng tổng số theo TCVN 10916-2015.

Xác định tỷ lệ lưu gốc qua mùa khô của các giống cỏ thí nghiệm: Tỷ lệ lưu gốc qua mùa khô (%) = (Số gốc còn lại qua mùa khô/số cây sống cuối mùa mưa) x 100.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê theo phương pháp ANOVA trên phần mềm Minitab 16.0. Phương pháp Tukey được sử dụng để so sánh sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị trung bình. Ý nghĩa thống kê được xác định khi P<0,05.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng sinh trưởng, phát triển của giống cỏ Hamil và cỏ VA06 tại Trà Vinh

Chiều cao cây và số nhánh trên một đơn vị diện tích là 2 yếu tố chính cấu thành NS chất xanh của cỏ. Các giống cỏ có chiều cao khi thu hoạch càng lớn thì NS càng cao và ngược lại.

Kết quả tại Bảng 2 cho thấy, chiều cao cây của giống cỏ Hamil ở các thời điểm đo đều thấp hơn cỏ VA06 (P<0,05). Cùng thu hoạch ở thời điểm 60 ngày, chiều cao cây của cỏ Hamil đạt 120,5cm, cỏ VA06 đạt 179,4cm. Chiều cao cây của cỏ Hamil ở thí nghiệm này cao hơn nghiên cứu của Nguyễn Thị Thủy và ctv (2018), theo tác giả cỏ Hamil trồng tại Bình Dương khi thu hoạch ở thời điểm 60 ngày có chiều cao cây là 109,4cm. Nguyễn Thị

Thủy Hằng và ctv (2013) cỏ Hamil trồng tại Thái Nguyên có chiều cao cây khi thu hoạch là 98,7cm (60 ngày tuổi). Theo kết quả nghiên cứu của Phạm Thế Huệ (2017), chiều cao cây khi thu hoạch của cỏ VA06 trồng tại huyện Eakar, Đắk Lắk là 190cm, cỏ VA06 trồng tại Hà Nội có chiều cao cây khi thu hoạch là 135,4cm (Nguyễn Thị Hòa Bình và ctv, 2017). Như vậy, ở các vùng sinh thái khác nhau, chiều cao cây của các giống cỏ khi thu hoạch đều khác nhau, tuy nhiên, xét về chiều cao cây của hai giống cỏ thì giống cỏ VA06 ở các vùng sinh thái đều cao hơn cỏ Hamil.

Bảng 2. Chiều cao cây của cỏ (cm)

Thời gian sau khi gieo (ngày)	Cỏ Hamil Mean±SE	Cỏ VA06 Mean±SE
10	18,3 ^b ±1,09	21,9 ^a ±1,23
20	38,2 ^b ±1,06	52,4 ^a ±1,26
30	68,3 ^b ±2,03	81,9 ^a ±1,67
40	88,5 ^b ±1,09	105,0 ^a ±1,96
50	102,3 ^b ±2,00	139,9 ^a ±2,33
60	120,5 ^b ±2,06	179,4 ^a ±1,46

Ghi chú: Trong cùng hàng các số trung bình có chữ cái a,b... khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (p<0,05).

Số liệu bảng 3 cho thấy, số nhánh/bụi có xu hướng tỷ lệ nghịch với chiều cao cây ở giống cỏ Hamil so với cỏ VA06. Trung bình số nhánh cây/bụi ở 3 lứa cắt của giống cỏ Hamil đạt 32,37 nhánh, cao hơn cỏ VA06 đạt 11,3 nhánh (P<0,05). Như vậy, so với giống cỏ VA06, khả năng đẻ nhánh của cỏ Hamil gấp khoảng 3 lần. Điều này là do, cỏ VA06 là giống cỏ phát triển thiên về chiều cao nên khả năng đẻ nhánh sẽ bị hạn chế trong quá trình sinh trưởng. Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Hòa Bình và ctv (2017), cỏ VA06 có số nhánh/bụi trung bình 3 lứa là 10,8 nhánh, cỏ Hamil có 34,67 nhánh/bụi (Nguyễn Thị Thủy và ctv, 2018).

Bảng 3. Khả năng phân nhánh (nhánh/bụi)

Lứa	Cỏ Hamil Mean±SE	Cỏ VA06 Mean±SE
Lứa 1	23,3±2,36	3,8±1,59
Lứa 2	33,5±1,94	11,3±1,76
Lứa 3	40,3±1,88	18,3±1,60
Trung bình	32,37±2,67	11,13±2,32

Số liệu bảng 4 cho thấy, tốc độ tái sinh trưởng chậm nhất ở giai đoạn 1-10 ngày ở cả hai giống cỏ. Tốc độ tái sinh trưởng của cỏ bắt đầu tăng lên ở giai đoạn 10-20 ngày, đạt ngưỡng cao nhất ở 20-30 ngày và có xu hướng giảm dần ở giai đoạn 30-40 ngày. Trung bình tốc độ tái sinh trưởng của cỏ Hamil ở tất cả các giai đoạn đạt 2,22cm, thấp hơn cỏ VA06 đạt 3,48cm ($P<0,05$). Nhìn chung, tốc độ tái sinh trưởng của hai giống cỏ đều tuân theo quy luật sinh trưởng chung. Theo Nguyễn Thị Thúy Hằng và ctv (2013), tốc độ sinh trưởng của cỏ Hamil ở lứa cắt tái sinh trung bình là 2,50cm và của cỏ VA06 đạt 4,14cm (Nguyễn Thị Hòa Bình và ctv, 2017).

Bảng 4. Tốc độ tái sinh của cỏ (cm/ngày)

Giai đoạn (ngày)	Cỏ Hamil Mean±SE	Cỏ VA06 Mean±SE
1-10	1,26±0,09	1,90±0,01
10-20	2,63±0,07	3,49±0,04
20-30	2,96±0,03	4,91±0,05
30-40	2,02±0,04	3,62±0,02
Trung bình	2,22±0,08	3,48±0,06

Tóm lại, tốc độ tái sinh trưởng của cỏ không chỉ ảnh hưởng bởi giống mà còn ảnh hưởng bởi rất nhiều các yếu tố khác như thổ nhưỡng, nhiệt độ, độ ẩm tại thời điểm thí nghiệm.

3.2. Năng suất chất xanh, chất lượng của giống cỏ Hamil và cỏ VA06 tại Trà Vinh

Số liệu ở Bảng 5 cho thấy, số lứa cắt ở giống cỏ Hamil và VA06 khi gieo trồng tại Trà Vinh trung bình đạt 9 lứa/năm. Năng suất chất xanh của giống cỏ Hamil đạt 229,68 tấn/ha/năm, NS chất khô đạt 49,38 tấn/ha/năm và NS protein đạt 5,98 tấn/ha/năm. Tương tự, giống cỏ VA06 có NS chất xanh là 362,93 tấn/ha/năm, NS chất khô là 57,78 tấn/ha/năm và NS protein là 5,14 tấn/ha/năm. Như vậy, cỏ Hamil tuy có NS chất khô thấp hơn so với cỏ VA06 (49,38 tấn so với 57,78 tấn) ($P<0,05$), NS protein lại cao hơn cỏ VA06 (5,98 tấn so với 5,14 tấn) ($P<0,05$). Có thể thấy, cỏ Hamil tuy NS chất xanh thấp, nhưng có thành phần dinh dưỡng cao hơn, đặc biệt là hàm lượng protein, nên khi quy về NS protein cho NS cao hơn.

Kết quả nghiên cứu này cao hơn so với kết quả của Nguyễn Thị Thúy Hằng và ctv

(2013), NS chất xanh cỏ Hamil khi trồng tại Thái Nguyên chỉ đạt 14,02 tấn/ha/lúa. Trương La và ctv (2011), khi đánh giá NS cỏ TD58 tại Đắk Lắk cho thấy, NS chất xanh cỏ đạt 13,89 tấn/ha/lúa, NS chất khô đạt 21 tấn/ha/năm. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi lại thấp hơn nghiên cứu của Phạm Thế Huệ (2017), khi đánh giá NS cỏ TD58 tại huyện Eakar, Đắk Lắk, cỏ cho NS chất xanh trung bình 45,00 tấn/ha/lúa, cỏ VA06 đạt 64,4 tấn. Nguyễn Thị Hòa Bình và ctv (2017), cỏ VA06 trồng tại Hà Nội cho NS chất xanh là 73,94 tấn/ha/lúa. Theo nghiên cứu của Mai Hoàng Đạt (2009) cỏ VA06 trồng tại Thái Nguyên cho NS chất xanh 418-637,5 tấn/ha/năm với lứa cắt 50 ngày. Nguyễn Thị Mùi và ctv (2012) cho thấy giống VA06 cho NS vật chất khô 66,69-68,28 tấn/ha/năm và cỏ TD58 là 34,68-48,76 tấn/ha/năm. Theo nghiên cứu của Cook và ctv (2005), VCK cỏ Hamil trung bình là 30 tấn/ha/năm, phụ thuộc chủ yếu vào phân bón. Trong điều kiện không được chăm sóc, NS cỏ Hamil đạt khoảng 7 tấn VCK/ha/năm, khi được chăm sóc tốt, sản lượng VCK lên đến 52 tấn/ha/năm (Hongthong, 2005).

Như vậy, tiềm năng cho NS của giống cỏ Hamil và cỏ VA06 là rất cao, tuy nhiên ở các vùng sinh thái cũng như chế độ canh tác khác nhau mà chúng ta có thể khai thác được NS chất xanh của hai giống cỏ ở mức độ nào là tối ưu.

Bảng 5. Năng suất chất xanh của cỏ (tấn/ha)

Giống cỏ	Cỏ Hamil (Mean±SE)	Cỏ VA06 (Mean±SE)
Diện tích (ha)	9	3
Số lứa cắt (lúa)	9	9
NS chất xanh/lúa	25,52±2,01	40,32±2,65
NS chất xanh/năm	229,68±2,34	362,93±3,09
NS chất khô	49,38±1,09	57,78±1,23
NS protein	5,98±0,89	5,14±1,02

Thành phần hóa học là chỉ tiêu quan trọng giúp đánh giá đúng nhất về chất lượng của cỏ. Số liệu Bảng 6 cho thấy, thành phần dinh dưỡng của cỏ Hamil cao hơn cỏ VA06 trong điều kiện trồng tại Trà Vinh. Cỏ Hamil có hàm lượng VCK đạt 21,50%, protein đạt 12,10%, xơ thô đạt 34,23%, béo thô đạt 1,92% và khoáng

tổng số đạt 2,66%. Tương tự, cỏ VA06 có thành phần dinh dưỡng lần lượt là 15,92% VCK, 8,90% protein, 29,62% xơ thô, 2,24% béo thô và 2,01% khoáng tổng số.

Kết quả về thành phần hóa học của cỏ Hamil trong nghiên cứu này cao hơn kết quả của Nguyễn Thị Thúy Hằng và ctv (2013), cỏ Hamil cho chất lượng: 21,57% VCK, 9,72% protein, 28,65% xơ thô, 0,34% béo thô và 1,91% khoáng tổng số. Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Thủy và ctv (2018), cỏ Hamil trồng tại Bình Dương có VCK là 20,1%, protein 10,9%, xơ thô 32,1% và khoáng tổng số 1,9%. Tại Thái Nguyên, Mai Hoàng Đạt (2009) khi trồng cỏ VA06 cho VCK 14,78%, protein 9,03%, xơ thô 32,52%. Cỏ VA06 thu hoạch ở thời điểm 45 ngày, cắt ở độ cao 10cm có protein 10,3%, VCK 15-16%, ADF 44,1%, NDF 66,8%, tro 14,5% và 36,5% carbohydrate hòa tan (Pipat và ctv, 2014).

Tóm lại, giống cỏ Hamil và cỏ VA06 trồng tại Trà Vinh cho chất lượng tốt, phù hợp cho gia súc sử dụng.

Bảng 6. Thành phần dinh dưỡng cỏ (% VCK)

Giống	VCK	CP	Xơ thô	Béo thô	Khoángt
Hamil	21,50	12,10	34,23	1,92	2,66
VA06	15,92	8,90	29,62	2,24	2,01

3.3. Khả năng lưu gốc qua mùa khô không tưới

Bảng 7. Khả năng lưu gốc của cỏ

Giống cỏ	Sống cuối mùa mưa (cây/m ²)	Tái sinh qua mùa khô (cây/m ²)	%
Hamil	367	242	65,94
VA06	142	85	59,86

Tỷ lệ lưu gốc của cỏ sau mùa khô không tưới sẽ thể hiện được khả năng chịu hạn của các giống cỏ, tỷ lệ lưu gốc càng cao, khả năng chịu hạn qua mùa khô không tưới càng cao và ngược lại. Số liệu Bảng 7 cho thấy, tỷ lệ lưu gốc của cỏ Hamil và cỏ VA06 trồng tại Trà Vinh lần lượt là 65,94% và 59,86%. Điều này cho thấy, khi không tưới hoàn toàn vào mùa khô thì tỷ lệ lưu gốc của cỏ VA06 thấp hơn cỏ Hamil. Như vậy, có thể kết luận rằng, cỏ VA06 kém chịu hạn hơn so với cỏ Hamil. Tuy nhiên, với tỷ lệ lưu gốc của cỏ Hamil và cỏ VA06 trong nghiên cứu này là tương đối tốt, với mức độ

gốc còn lại sau mùa khô sẽ tạo tiền đề để cỏ tiếp tục đẻ nhánh, tạo NS trong mùa mưa.

4. KẾT LUẬN

Cỏ Hamil và VA06 đều có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt trong điều kiện đất đai, thời tiết khí hậu tại Trà Vinh.

Cỏ Hamil và VA06 cho NS chất xanh 229,68 và 362,93 tấn/ha/năm, NS chất khô 49,38 và 57,78 tấn/ha/năm, NS protein 5,98 và 5,14 tấn/ha/năm.

Khả năng lưu gốc qua mùa khô không tưới của cỏ Hamil là 65,94%, cỏ VA06 là 59,86%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Hòa Bình, Ngô Thị Thùy, Bùi Huy Doanh, Đặng Thái Hải, Nguyễn Thị Hằng và Bùi Quang Tuấn (2017). Năng suất và giá trị dinh dưỡng của cỏ Taiwanese Napier nhập từ Thái Lan trồng tại Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam. Tạp chí KHNN Việt Nam, 15(4): 462-70.
2. Cook B.G., Pengelly B.C., Brown S.D., Donnelly J.L., Eagles D.A., Franco M.A., Hanson J., Mullen B.F., Partridge I.J., Peters M. and Schultze-Kraft R. (2005). CSIRO, DPI & F (Qld), CIAT và ILRI, Brisbane, Australia.
3. Mai Hoàng Đạt (2009). Đánh giá về thành phần loài, năng suất, chất lượng của tập đoàn cây thức ăn gia súc, huyện Yên Sơn, tỉnh Tuyên Quang. Luận văn Thạc sĩ Sinh học, Trường Đại học Thái Nguyên.
4. Nguyễn Thị Thúy Hằng, Nguyễn Văn Đại, Nguyễn Hữu Trà và Nguyễn Thị Liên (2013). Ảnh hưởng của các mức phân đạm đến năng suất chất lượng của cỏ *P. maximum* cv. Hamil trồng tại Thái Nguyên. BCKH Viện Chăn nuôi, Trang: 251-60.
5. Hongthong Phimmasan (2005). Evaluation of tropical forages as feeds for growing rabbits. MSc thesis, Swedish Uni. of Agr. Sci., Dep. Ani. Nut. Man., Uppsala, Sweden.
6. Phạm Thế Huệ (2017). Sinh trưởng và phát triển của cỏ Va06 và Ghine TD8 tại huyện Eakar, tỉnh Đắk Lắk. Tạp chí KH Trường Đại học Cần Thơ, 51(B): 1-6.
7. Trương La (2011). Nghiên cứu ứng dụng một số biện pháp kỹ thuật nhằm phát triển nuôi bò cho đồng bào dân tộc tại chỗ ở Tây Nguyên. Báo cáo tổng kết đề tài. Viện Khoa học Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên.
8. Nguyễn Thị Mùi, Nguyễn Văn Quang và Hoàng Đình Hiếu (2012). Nghiên cứu phát triển nguồn thức ăn chăn nuôi (thô xanh, phụ phẩm nông nghiệp) có năng suất, chất lượng cao phù hợp với các vùng sinh thái Việt Nam. BCĐT-Viện Chăn nuôi.
9. Pipat Lounglawan, Wassana Lounglawan and Wisitiporn Saksomba (2014). Effect of cutting interval and cutting height on yield and chemical composition of King Napier Grass (*P. Purpureum* x *P. Americanum*). Apbee procedia. 8: 27-31.
10. Nguyễn Thị Thủy, Phí Như Liễu và Nguyễn Văn Tiến (2018). Ảnh hưởng của khoảng cách trồng và mức phân chuồng đến năng suất, chất lượng cỏ *Panicum maximum* cv. Hamil. Tạp chí KHCC Chăn nuôi, 88(6/2018): 37-46.

SỰ KHÁC BIỆT GIỮA TINH TRÙNG X VÀ Y LÀM CƠ SỞ CHO VIỆC PHÂN LY GIỚI TÍNH TINH TRÙNG VẬT NUÔI

Ngô Thành Trung^{1*}, Trần Thị Chi¹, Vũ Hải Yến¹, Trịnh Thị Linh Chi¹ và Sử Thanh Long¹

Ngày nhận bài báo: 30/01/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 25/02/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 15/03/2021

1. MỞ ĐẦU

Mỗi tinh trùng là một tế bào sinh dục đực có khả năng thụ tinh cho tế bào trứng, chúng mang thông tin di truyền để xác định giới tính của thế hệ con cái. Nó bao gồm nhiễm sắc thể X và nhiễm sắc thể Y. Nguồn gốc và sự trưởng thành của cả hai tinh trùng X và Y là như nhau, tuy nhiên, có thể có sự khác biệt nhất định. Các nghiên cứu trước đây đã đề xuất một sự khác biệt đáng kể giữa tinh trùng X và Y, tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây cho thấy sự khác biệt đó không đáng kể hoặc không có sự khác biệt giữa các tinh trùng này về tỷ lệ, hình dạng và kích thước, khả năng vận động và kiểu bơi, độ bền, điện tích, pH, phản ứng stress và hiện tượng lệch bội lè. Sự khác biệt duy nhất giữa tinh trùng X và Y nằm ở hàm lượng ADN của chúng. Hơn nữa, các nghiên cứu chuyên sâu về protein và hệ gen gần đây đã xác định được một hệ protein và gen biểu hiện sự khác biệt giữa tinh trùng X và Y. Do đó, sự khác biệt về hàm lượng ADN có thể là nguyên nhân của sự biểu hiện khác biệt của một số gen và protein nhất định giữa hai loại tế bào này. Trong bài tổng quan này, các thông tin từ nhiều công bố gần đây được tổng hợp để so sánh những khác biệt giữa tinh trùng X và tinh trùng Y liên về các đặc điểm cấu trúc, chức năng và phân tử của chúng.

Tinh trùng được sản xuất trong tinh hoàn bởi hai quá trình gồm quá trình sinh tinh tử và quá trình biệt hoá tinh tử thành tinh trùng. Trong quá trình sinh tinh tử, tinh nguyên bào không biệt hóa (tế bào gốc—có bộ NST 2n) trải qua quá trình biệt hoá thành tinh nguyên bào

A1, tinh nguyên bào B, tinh bào cấp 1, tinh bào cấp 2 và kết thúc giảm phân hình thành tinh tử có hình tròn mang NST X hoặc Y (Oakberg, 1956). Trong quá trình biệt hoá tinh tử thành tinh trùng, các tinh tử hình tròn đơn bội biệt hóa thành các tế bào tinh được kéo dài và sau cùng hình thành nên tinh trùng nhờ quá trình sinh tinh (Hendriksen, 1999). Sau đó tinh trùng trưởng thành ở trong tinh dịch được giải phóng trong quá trình xuất tinh, có khả năng thụ tinh cho một noãn bào và đóng góp một nửa vật liệu di truyền cho đời sau (Clapham, 2013; Rahman và ctv, 2013). Dựa vào lượng nhiễm sắc thể, tinh trùng có hai loại, đó là loại mang nhiễm sắc thể X (tinh trùng X) và loại mang nhiễm sắc thể Y (tinh trùng Y) (Shettles, 1960; Gellatly, 2009). Nếu tinh trùng X kết hợp với nhiễm sắc thể X của người mẹ hoặc con mẹ thì con sinh ra là một bé gái hoặc con cái (XX), trong khi nếu tinh trùng Y thụ tinh cho trứng của người mẹ hoặc con mẹ thì con sinh ra là một bé trai hoặc một con đực (Gellatly, 2009).

2. KHÁC BIỆT VỀ HÌNH THÁI HỌC VÀ TỶ LỆ TỰ NHIÊN CỦA TINH TRÙNG X VÀ Y

Trong quá trình sinh tinh của động vật có vú, theo định luật phân ly của Mendel quá trình giảm phân tinh trùng X và Y được tạo ra với tỷ lệ 50: 50. Do đó, tỷ lệ giới tính tự nhiên trong quá trình sinh tinh được dự kiến là 1: 1 (Umehara và ctv, 2019). Việc tổng hợp các công bố cho thấy có ba nhóm kết luận chính về tỷ lệ tinh trùng X và Y: (1) tỷ lệ tinh trùng X cao hơn so với tinh trùng Y (Martin và ctv, 1983; Bibbins và ctv, 1988), (2) tỷ lệ tinh trùng Y cao hơn so với tinh trùng X (Landrum và Shettles, 1960; Shettles, 1960; Quinlivan và Sullivan, 1974), và (3) không tồn tại sự khác biệt về tỷ lệ của hai loại tinh trùng (Van Kooij và Van Oost, 1992; Goldman và ctv, 1993; Han

¹ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Ngô Thành Trung, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Điện thoại: 0961070980; Email: nttrungcnshhua@gmail.com

và ctv, 1993a). Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ tinh trùng X và Y tự nhiên. Một số nghiên cứu từ 1970 đến 1980 cho biết tuổi của cha có ảnh hưởng đến tỷ lệ tinh trùng X và Y, do đó làm thay đổi tỷ lệ giới tính của thế hệ con cái (Erickson, 1976; James và Rostron, 1985; Ruder, 1985). Ngoài ra, nghiên cứu của Hu và Namekawa (2015) cho biết quá trình phiên mã xảy ra một cách có chọn lọc theo các nhiễm sắc thể bao gồm cả nhiễm sắc thể giới tính của tinh trùng; do vậy, thành phần của nhiễm sắc thể giới tính đã bị thay đổi do sự biến đổi sau quá trình giảm phân thông qua biểu hiện gen và khả năng tồn tại của tinh trùng trong quá trình thành thực trong mào tinh hoàn và những điều này có thể ảnh hưởng đến tỷ lệ tinh trùng X/Y (Bean, 1990). Theo Umehara và ctv (2019), hoạt động phối tử của các thụ thể Toll-like 7/8 (TLR7/8), được mã hóa chọn lọc bởi nhiễm sắc thể X, ức chế đáng kể khả năng vận động của tinh trùng X mà không làm thay đổi khả năng thụ tinh của chúng. Dựa vào đó, đã tạo ra được hơn 90% phôi đực sau khi thụ tinh trong ống nghiệm bằng cách chọn lọc tinh trùng có khả năng vận động cao hơn. Trong một nghiên cứu khác có sử dụng mô hình chuột knockout (KO), Rathje và ctv (2019) đã cho rằng việc loại bỏ một phần nhiễm sắc thể Y (Yqdel) ở nam giới tạo ra số lượng tinh trùng X và Y bằng nhau. Kruger và ctv (2019) cho biết việc loại bỏ hoàn toàn gen Slx1 liên kết với NST X sẽ tạo ra nhiều con đực hơn thông qua việc điều hòa quá trình chuyển đổi tế bào mầm sau quá trình giảm phân (từ tinh tử hình tròn thành tinh trùng). Chaudhary và ctv (2014) đã thực hiện loại bỏ có chọn lọc tinh trùng Y và làm tăng tỷ lệ tinh trùng X ở chuột và người, theo đó, khả năng sống sót của tinh trùng Y ở người thấp hơn so với X có thể là do biểu hiện gia tăng của protein apoptotic (protein liên quan đến cái chết theo chương trình của tế bào) khi tế bào Y sống trong điều kiện bị stress, trong ống nghiệm, do đó, dẫn đến thay đổi tỷ lệ Y-X (You và ctv, 2017).

Mặc dù có những tiến bộ to lớn trong lĩnh vực nghiên cứu sinh học phát triển, quan niệm cơ bản về cấu trúc tinh trùng vẫn chưa

rõ ràng. Bởi vậy, không xác định được rõ tinh trùng X và Y có khác nhau về hình dạng và kích thước hay không. Bằng cách kiểm tra trực tiếp dưới kính hiển vi, quan sát thấy hai loại tinh trùng có hình dạng khác nhau: một loại có đầu tròn nhỏ (có lẽ là tinh trùng Y) và loại khác có đầu thon dài tương đối lớn (có lẽ là tinh trùng X) được đề xuất bởi các nghiên cứu ban đầu (Shettles, 1960). Cả tinh trùng X và Y đều có các nhiễm sắc thể giống hệt nhau và có một nhiễm sắc thể X hoặc Y. Như vậy, sự khác biệt về kích thước của tinh trùng X và Y có thể là do sự khác biệt giữa các nhiễm sắc thể X và Y. Tuy nhiên, một số nhà nghiên cứu cho rằng kích thước của tinh trùng không chỉ liên quan đến hàm lượng nhiễm sắc thể của nó mà cũng có thể liên quan đến thành phần tế bào chất và có thể thay đổi trong một quần thể tinh trùng nhất định trong quá trình sinh tinh trùng (Shannon và Handel, 1993; Lankenau và ctv, 1994; Cui, 1997). Hossain và ctv (2001) cho rằng các biến đổi trong thành phần của tế bào chất của tinh trùng X và Y do quá trình giảm phân và / hoặc quá trình sinh tinh lớn hơn so với các biến đổi do chính nhiễm sắc thể giới tính tạo ra.

Mặc dù giả thuyết ban đầu cho rằng tinh trùng X và Y khác nhau dựa trên kích thước và hình dạng của chúng (Shettles, 1960) và được đồng tình bởi các nhà nghiên cứu khác (Cui và Matthews, 1993; Cui, 1997) tuy nhiên, điều này đã bị bác bỏ bởi những lập luận đầy sức thuyết phục bằng việc sử dụng kết quả của các nghiên cứu gần đây mà sử dụng các phương pháp đặc hiệu dùng để phân biệt tinh trùng X và tinh trùng Y (Hossain và ctv, 2001; Grant, 2006; Zavaczki và ctv, 2006). Trong một nghiên cứu quan trọng, Carvalho và ctv (2013) đã chứng minh rằng không có sự khác biệt nào về hình dạng và kích thước của tinh trùng X và Y của bò mặc dù đã đánh giá 23 đặc điểm cấu trúc giữa tinh trùng X và Y. Do đó, có thể suy luận rằng không có sự khác biệt đáng kể nào tồn tại đối với hình dạng và kích thước của tinh trùng X và Y. Các nghiên cứu trước đây chủ yếu sử dụng các phương pháp so sánh không đặc hiệu như xác định thể Barr

và thể F có độ nhạy thấp trong việc phân biệt giữa tinh trùng X và Y, do đó làm cho kết quả của các nghiên cứu này (Ví dụ, tinh trùng X lớn hơn tinh trùng Y) ít tin cậy hơn.

3. KHÁC BIỆT VỀ KIỂU BOI VÀ DI CHUYỂN CỦA TINH TRÙNG X VÀ Y

Do nhu cầu cao về chọn lọc giới tính trong sinh sản động vật, một số nghiên cứu đã cố gắng tìm ra sự khác nhau giữa tinh trùng X và Y trong nhiều thập kỷ qua. Một số nhà khoa học đã áp dụng các phương pháp khác nhau để chọn lọc giới tính dựa trên khả năng vận động của tinh trùng; tuy nhiên, hiệu quả của các phương pháp này còn gây tranh cãi. Ngoài ra, không chắc chắn rằng tinh trùng Y có di chuyển nhanh hơn tinh trùng X hay không. Một ví dụ, nếu tinh trùng Y di chuyển nhanh hơn tinh trùng X thì một người đàn ông đáng lẽ chỉ sinh con trai, và cơ hội sinh con gái gần như bằng không. Tinh trùng bắt đầu bơi trong quá trình di chuyển đến mào tinh hoàn (Chang, 1951). Tinh trùng người di chuyển với tốc độ lên tới 3000 μm / phút (Smith và Braun, 2012); tuy nhiên, một số tinh trùng di chuyển chậm với tốc độ 1000 / phút. Do đó, một tinh trùng dài 55 μm có thể đi được 1000-3000 m. Trong suốt hành trình này, các yếu tố hình thái, sự điều hòa hóa học của tinh trùng và yếu tố ion, quá trình phosphoryl hóa protein (đặc biệt là tyrosine), ATP, vòng tuần hoàn adenosine monophosphate, protein kinase-A (PKA), các yếu tố enzyme, các yếu tố huyết tương có vai trò quan trọng trong việc giúp cho sự di chuyển của tinh trùng (Kwon và ctv, 2014b; Rahman và ctv, 2017b, 2018). Đồng thời, một số quá trình sinh lý nhất định như quá trình hoạt hóa và phản ứng thể đỉnh acrosome cũng xảy ra trong tinh trùng (Visconti, 2009; Battanstone và ctv, 2013; Rahman và ctv, 2017b). Sự khác biệt về khả năng đáp ứng của các tinh trùng X hoặc Y đối với các yếu tố và quá trình này sẽ khiến một nhóm tinh trùng hoạt hóa và vận động mạnh hơn các loại tinh trùng khác. Vật liệu di truyền (ADN) của tinh trùng X ở trên người nhiều hơn 2,8% so với tinh trùng Y; sự khác

biệt này là 3 - 4,2% giữa tinh trùng X và Y của vật nuôi (Hendriksen và ctv, 1996). Một số nhà khoa học đã kết luận rằng sự khác biệt về hàm lượng ADN giữa tinh trùng X và Y có thể ảnh hưởng đến khả năng vận động và kiểu bơi của chúng (Johnson và ctv, 1989; Johnson, 1994), tuy nhiên, kết quả của những nghiên cứu này chưa được thuyết phục.

Ericsson và ctv (1973) đã sử dụng phương pháp cột dung dịch gradient nồng độ albumin và chứng minh rằng tinh trùng Y của con người (nhuộm màu với quinacrine fluorochrom) đã bơi xuống đáy của cột dung dịch trước tinh trùng X. Các nghiên cứu này khẳng định rằng phương pháp của họ có thể cho kết quả > 85% đối với tinh trùng Y, với hoạt lực là 90 đến 95%. Phát hiện này là bằng chứng đầu tiên về sự khác biệt về khả năng bơi của tinh trùng X và Y. Tuy nhiên, phát hiện tinh trùng Y bằng phương pháp nhuộm fluorochrom quinacrine được thực hiện bởi Ericsson và ctv (1973) sau đó đã được chứng minh là không đặc hiệu (Flaherty và Matthews, 1996; Cui, 1997), do đó dẫn đến kết quả không chính xác. Trong một nghiên cứu khác, Sarkar và ctv (1984) công bố rằng ở người, tốc độ di chuyển ngược dòng dung dịch của tinh trùng X là chậm hơn (vận tốc góc giảm) so với tinh trùng Y, tuy nhiên, tốc độ của cả hai tế bào đều giống nhau trong dung dịch tĩnh.

Có rất nhiều tranh luận về khả năng di chuyển của tinh trùng X và Y. Penprint và ctv (1998) đã chứng minh rằng tinh trùng Y của bò không thể bơi nhanh hơn tinh trùng X trong một dung dịch muối đơn giản. Alminana và ctv (2014) đã công bố có sự khác biệt không đáng kể về khả năng vận động của tinh trùng X và Y. Sự mâu thuẫn này càng trở nên phức tạp hơn sau khi đánh giá ảnh hưởng của dịch ống dẫn trứng đến khả năng vận động của tinh trùng X và Y (Zhu và ctv, 1994). Ngược lại, người ta đã xác nhận rằng khả năng vận động của tinh trùng X và Y thay đổi theo điều kiện nhất định trong *in vitro* (và có lẽ là *in vivo*). Ví dụ, độ pH thấp, nhiệt độ cao và oxy hóa tăng làm chậm khả năng vận động của tinh trùng Y, trong khi đó khả năng di

chuyển của tinh trùng X giảm nhanh khi tinh trùng được ủ trong điều kiện pH cao (Shettles, 1970; Oyeyipo và ctv, 2017). Trong một nghiên cứu gần đây, Umehara và ctv (2019) đã cho rằng việc kích hoạt phối tử TLR7/8 làm giảm đáng kể khả năng vận động của tinh trùng X (bằng cách thay đổi sản xuất ATP) so với Y. Ngoài ra, sử dụng mô hình chuột KO, Rathje và ctv (2019) đã báo cáo rằng con đực Yqdel (XYRIIIqdel) sản xuất tinh trùng Y ít vận động hơn so với X.

4. KHÁC BIỆT VỀ ĐỘ BỀN/TUỔI THỌ CỦA TINH TRÙNG X VÀ Y

Khả năng sống của tinh trùng là khả năng duy trì màng sinh chất, màng acrosomal nguyên vẹn của tinh trùng và khả năng tồn tại trong quá trình đi qua ống dẫn trứng để tiếp cận và thụ tinh với trứng. Shettles (1960) cho rằng tinh trùng X khỏe và mạnh hơn tinh trùng Y vì chúng có hàm lượng ADN cao hơn tinh trùng Y. Giả thuyết này được đồng tình bởi các nhà nghiên cứu khác (Cui và Matthews, 1993; Flaherty và Matthews, 1996; Carvalho và ctv, 2013). Carvalho và ctv (2013) đã cho rằng ngoài hàm lượng ADN cao hơn thì kích thước lớn hơn và chiều dài dài hơn của nhiễm sắc thể X làm cho tinh trùng X có độ bền cao hơn so với tinh trùng Y. You và ctv (2017) đã chứng minh được rằng khi tinh trùng được ủ ở các điều kiện nhiệt độ/điều kiện sống khác nhau hoặc trong môi trường chứa 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (một chất gây rối loạn nội tiết) (You và ctv, 2018) thì tinh trùng Y dễ bị tổn thương và khả năng sống sót thấp hơn so với tinh trùng X. Thêm nữa, tác dụng tương tự của các chất gây rối loạn nội tiết khác, như dibromochloropropane và diazinon (Diaz) tác động lên khả năng sống của tinh trùng Y (Song và ctv, 2018). Khả năng sống sót của tinh trùng Y giảm chủ yếu liên quan đến sự biểu hiện tăng protein apoptotic trong tinh trùng Y còn hoạt động (You và ctv, 2017), điều này làm ảnh hưởng đến tuổi thọ chung của tinh trùng (You và ctv, 2018).

Đặc biệt, khả năng tồn tại của tinh trùng cũng liên quan đến môi trường trên đường

sinh dục của con cái. Môi trường trong đường sinh sản nữ (hoặc động vật cái) (chủ yếu là thành phần hóa học, nồng độ pH, các ion và phản ứng phiên mã) ảnh hưởng đến khả năng tồn tại của tinh trùng X và Y và giúp chọn lọc tinh trùng tốt nhất để thụ tinh (Dominko và First, 1997; Holt và Fazeli, 2010). Van Dyk và ctv (2001) đã thực hiện các thí nghiệm *in vitro* bắt chước môi trường *in vivo* trong đường sinh dục cái và báo cáo rằng tinh trùng Y sống sót lâu hơn tinh trùng X và tinh trùng Y liên kết thành thạo hơn với màng pellucida hơn tinh trùng X (tỷ lệ liên kết, Y: X = 1,15: 1,02). Các nghiên cứu khác cho thấy rằng sự biểu hiện cao hơn của một số protein nhất định (như các protein liên quan đến chuyển hóa năng lượng, ví dụ, tiểu đơn vị ATP) cung cấp nhiều năng lượng hơn cho tinh trùng Y, do đó làm tăng khả năng sống sót của chúng (Chayko và Martin-Deleon, 1992; Aranha và Martin-Deleon, 1995; Hendriksen, 1999; Chen và ctv, 2012). Dựa trên những phát hiện đã nói ở trên, có thể rút ra hai giả thuyết khác nhau: (1) do hàm lượng ADN cao hơn, tinh trùng X ổn định/độ bền cao hơn so với tinh trùng Y ít nhất là trong điều kiện *in vitro* hoặc (2) một số tính chất nhất định của tinh trùng Y có khả năng tồn tại lâu hơn trong đường sinh dục cái (*in vivo*) do đó nó ảnh hưởng đến tuổi thọ của cả hai tế bào theo cách khác nhau.

5. KHÁC BIỆT VỀ ĐIỆN TÍCH CỦA TINH TRÙNG X VÀ Y

Xác định sự khác biệt giữa tinh trùng X và Y là cách duy nhất để đánh giá sự lựa chọn trước giới tính. Các nghiên cứu khác nhau đã cố gắng xác định sự khác biệt về điện tích giữa tinh trùng X và Y. Các biểu mô của màng tinh hoàn tiết ra axit sialic (glycoprotein) cung cấp điện tích bề mặt âm cho tinh trùng (Hoffmann và Killian, 1981). Sự khác biệt về điện tích bề mặt tế bào giữa hai loại tinh trùng là do sự khác biệt về hàm lượng axit sialic tiếp xúc trên bề mặt của chúng (Kaneko và ctv, 1984). Những phát hiện này cho thấy tinh trùng X và Y có thể biểu hiện sự khác biệt về khả năng tích điện tích của chúng. Kết quả của phương pháp điện di dòng tự do chỉ ra rằng khả năng

tích điện của tinh trùng X ở người cao hơn so với tinh trùng Y và tinh trùng X có điện tích âm cao hơn so với tinh trùng Y (Kaneko và ctv, 1984). Ngược lại, Engelmann và ctv (1988) đã cho rằng tinh trùng người phân thành X và Y riêng biệt khi chúng di chuyển về phía cực dương, với các phân di chuyển nhanh hơn và chậm hơn tương ứng với tinh trùng Y và X. Những phát hiện của Engelmann và ctv (1988) được đồng tình bởi những người thuộc nhóm nghiên cứu khác nghiên cứu trên tinh trùng bò (Blottner và ctv, 1994). Hạn chế chính của các nghiên cứu này là việc sử dụng thuốc nhuộm huỳnh quang quinacrine không đặc hiệu và không chính xác để xác định đối với tinh trùng Y (thể F) (Windsor và ctv, 1993), dẫn đến các kết quả không phù hợp. Gần đây, Ainsworth và ctv (2011) quan sát thấy rằng việc sử dụng thiết bị phân lập điện di tinh trùng CS-10 không làm sai lệch tỷ lệ của tinh trùng X và Y sau khi biệt hóa dựa trên phản ứng PCR. Đặc biệt, thiết bị này chỉ có tác dụng phân lập được chức năng tinh trùng nhưng không xác định được kiểu gen của chúng. Do đó, sự di chuyển của tinh trùng về phía cực dương có thể chủ yếu phụ thuộc vào hàm lượng axit sialic trên bề mặt của chúng, điều này cho phép chúng kết hợp với các tinh trùng khác trong quá trình điện di. Do đó, những phát hiện của Ainsworth và ctv (2011) đã làm rõ so với các nghiên cứu trước đây về sự khác biệt đáng kể về tinh trùng X và Y dựa trên khả năng tích điện của chúng.

6. KHÁC BIỆT VỀ ĐỘ PH THÍCH HỢP ĐỐI VỚI HOẠT ĐỘNG CỦA TINH TRÙNG X VÀ Y

Tinh trùng của động vật có vú không di chuyển trong tinh hoàn và chúng phản ứng với các yếu tố bên ngoài bằng cách di chuyển sang mào tinh hoàn. Trong số các yếu tố như nồng độ ion, đặc biệt là độ pH, đóng một vai trò không thể thiếu trong việc điều chỉnh các hoạt động của tinh trùng trưởng thành. Trong quá trình lưu trữ tinh trùng trong mào tinh hoàn, độ pH hơi axit được duy trì để hạn chế khả năng hoạt động của tinh trùng. Ở động vật nuôi, độ pH có tính axit trong đuôi mào tinh

hoàn có thể gây ức chế khả năng vận động của tinh trùng (Hamamah và Gatti, 1998). Mối liên hệ giữa pH và các chức năng của tinh trùng trở nên phức tạp hơn khi tinh trùng được phóng vào đường sinh dục của con cái. Cần phải giữ độ pH cân bằng giữa hai môi trường là đường sinh dục của con cái và độ pH nội bào của tinh trùng để khả năng thụ tinh thành công cao. Trong phần này, chúng tôi sẽ thảo luận về việc liệu tinh trùng X và Y có nhạy cảm với độ pH khác nhau hay không.

Các nghiên cứu ban đầu chỉ ra rằng tinh trùng X lớn hơn và khỏe hơn tinh trùng Y, và họ cho rằng chúng hoạt động ổn định trong môi trường có tính acid hơn so với tinh trùng Y (Landrum và Shettles, 1960; Shettles, 1960). Các nghiên cứu hạn chế đã ủng hộ giả thuyết sơ bộ này. Muehleis và Long (1976) đã cho rằng việc thụ tinh của một con thỏ cái đã rụng trứng với tinh dịch được pha loãng với dung dịch đệm có độ pH 5,4, 6,9 và 9,6 tương ứng tạo ra 48%, 63% và 49% con đực. Kết quả này phần nào ủng hộ giả thuyết của Shettles, trong đó khẳng định rằng ở độ pH axit (5,4) có ảnh hưởng xấu đến tinh trùng Y, do đó ảnh hưởng đến xác suất (xác suất thấp 48%) của việc thụ thai tạo ra con đực; tuy nhiên, chưa chắc chắn rằng ở pH kiềm 9,6 có làm giảm tỷ lệ phần trăm (49%) tạo ra con cái so với tinh trùng được pha loãng với dung dịch đệm ở pH 6,9. Pratt và ctv (1987) đã đề cập đến mối quan hệ tiêu cực giữa độ pH âm đạo và tỷ lệ phần trăm con đực được thụ thai ở chuột đồng vàng. Diasio và Glass (1971) đã nghiên cứu rằng tinh trùng X và Y ở người không thể phân biệt được dựa trên ái lực độ pH của chúng trong quá trình chúng di chuyển qua ống mao quản chứa các môi trường có độ pH khác nhau. Kiểm tra 58.489 tinh trùng người, gần đây đã chứng minh rằng việc ủ tinh trùng người trong các điều kiện pH khác nhau, bao gồm 6,5; 7,5 và 8,5 từ 0 đến 5 ngày không làm thay đổi thay đổi tỷ lệ nhiễm sắc thể Y: X (You và ctv, 2017). Do đó, phần lớn các nghiên cứu gần đây không cung cấp bất kỳ lời giải thích hợp lý nào cho việc tinh trùng X và Y hoạt động khác nhau ở các điều kiện pH khác nhau.

7. KHÁC BIỆT VỀ CẤU TRÚC BỀ MẶT CỦA TINH TRÙNG X VÀ Y (KHÁNG NGUYÊN HY)

Kháng nguyên HY là một kháng nguyên đặc hiệu cho tinh trùng Y. Nó là một phần cơ bản của màng trên tinh trùng Y và là một kháng nguyên cụ thể kiểm soát các gen đặc hiệu của tinh trùng Y (Ohno và Wachtel, 1978). Ở đây, chúng tôi đã tìm ra bằng chứng cho giả thuyết rằng tinh trùng X và Y có thể được phân biệt dựa trên hàm lượng kháng nguyên HY bề mặt của chúng.

Kể từ khi xác định một kháng nguyên liên kết với tinh trùng Y, các nhà khoa học đã tin rằng có một phương pháp miễn dịch có thể được xem xét để điều khiển tỷ lệ giới tính ở động vật có vú. Điều này ban đầu được chứng minh trong một nghiên cứu của Bennett và Boyse (1973). Họ kết luận rằng tỷ lệ giới tính của con đực giảm đáng kể (45,4%) khi chuột cái được thụ tinh với tinh trùng được điều trị bằng kháng thể kháng HY so với tinh trùng không được điều trị (53,4%). Nghiên cứu này đã ủng hộ cho giả thuyết rằng kháng nguyên HY có thể được sử dụng để phân biệt giữa tinh trùng X và Y; tuy nhiên, một sự thay đổi nhỏ trong tỷ lệ giới tính đực sau khi thụ tinh với tinh trùng được điều trị bằng kháng thể kháng HY chỉ ra sự khác biệt nhỏ về nồng độ kháng nguyên HY giữa hai loại tinh trùng. Krco và Goldberg (1976) đã thực hiện thí nghiệm sử dụng gây độc tế bào hai bước và xác định được kháng nguyên HY trong phôi chuột 8 tế bào, do đó cung cấp thêm dẫn chứng về biểu hiện nhiễm sắc thể Y của kháng nguyên HY. Những phát hiện tương tự đã được các nhà nghiên cứu khác thu được bằng cách sử dụng một số mô hình vật nuôi trong phòng thí nghiệm và trên động vật nuôi trong nhà (Silvers và Wachtel, 1977; Utsumi và ctv, 1993). Tuy nhiên, một số nhà nghiên cứu đã phát hiện ra rằng kháng thể kháng HY không liên kết đặc hiệu với tinh trùng Y (Hoppe và Koo, 1984; Hendriksen và ctv, 1993; Sills và ctv, 1998). Sills và ctv (1998) báo cáo rằng kháng thể kháng HY cũng liên kết với tinh trùng X và do đó không thể được sử dụng để phân biệt giữa tinh trùng X và Y.

Bên cạnh đó, các nghiên cứu liên quan đến sự phân biệt giới tính ở tinh trùng người bằng cách sử dụng kháng nguyên bề mặt không mang lại kết quả cuối cùng (Jeulin và ctv, 1982; Sills và ctv, 1998).

8. KHÁC BIỆT GIỮA TINH TRÙNG X VÀ Y Ở MỨC ĐỘ PHÂN TỬ

8.1. Phản ứng với stress

Aitken, 2014; Barazani và ctv, 2014 đã tìm hiểu nguyên nhân dẫn đến vô sinh ở nam giới trong điều kiện stress oxy hóa và, stress vật lý, môi trường và nghề nghiệp làm việc (đối với người). Tinh trùng là những tế bào đầu tiên phản ứng với stress (Gharagozloo và Aitken, 2011). Trong cơ sở dữ liệu của MEDLINE, thuật ngữ stress do oxy hóa đã được đề cập trong hơn 200.000 bài báo được xuất bản từ năm 2001 đến nay, trong đó >1.800 bài báo đã tập trung vào tinh trùng. Các cơ chế phản ứng của tinh trùng X và Y khi bị stress vẫn chưa rõ ràng. Vì tinh trùng X và Y khác nhau về hàm lượng di truyền, vì vậy phản ứng của chúng đối với stress có thể khác nhau. Alminana và ctv (2014) cho rằng một sự khác biệt không đáng kể trong khi tạo ra các loại phản ứng oxy hóa nội bào (ADN) bởi ADN ty thể của tinh trùng X và Y, và kết luận rằng sự thay đổi nhỏ trong hàm lượng ADN giữa tinh trùng X và Y không thể tạo ra các phản ứng khác nhau. Kết luận tương tự đã được rút ra bởi các nhà nghiên cứu khác (Ward và Coffey, 1991).

Ở động vật có vú, tinh trùng không thể thụ tinh với trứng nếu môi trường trong đường sinh dục cái không thích hợp mặc dù chúng có hoạt lực và hình thái bình thường (Kwon và ctv, 2014b; Rahman và ctv, 2017b, 2019). Các bộ phận khác nhau của đường sinh dục cái, chẳng hạn như tử cung, ngã ba tử cung và ống dẫn trứng, được lập trình cụ thể để chỉ chọn một tinh trùng trưởng thành về chức năng để thụ tinh (Holt và Fazeli, 2010). Sau khi tinh trùng đến ống dẫn trứng, chúng tạm thời gắn vào thành của ống dẫn trứng để trải qua quá trình hoạt hóa trước khi trứng rụng (Rahman và ctv, 2015, 2016). Hoạt hóa là một quá trình mà trong đó những thay đổi

phức tạp về phân tử, sinh hóa và sinh lý xảy ra ở tinh trùng trong đường sinh sản của con cái hoặc trong môi trường chuyên biệt *in vitro* và là điều kiện tiên quyết để thụ tinh (Salicioni và ctv, 2007; Visconti, 2012; Kwon và ctv, 2015). Do đó, việc ủ ấm tinh trùng trước khi thụ tinh là rất cần thiết vì thời gian hoạt hóa có thể khác nhau giữa tinh trùng X và Y tùy thuộc vào cấu tạo gen của chúng. Perez-Crespo và ctv (2008) cho rằng tinh trùng X và Y của chuột bị ảnh hưởng khác nhau khi nhiệt độ tăng cao. Hơn nữa, họ đã chứng minh rằng những con chuột cái giao phối với những con chuột đực có nhiệt độ tinh hoàn cao vào ngày giao phối tạo ra nhiều chuột con mang giới tính cái hơn. Tỷ lệ giới tính bị thay đổi (tức là, số con cái tăng lên) cũng được quan sát thấy khi tinh trùng bò đực ủ ở 40°C trong 4 giờ được sử dụng để thụ tinh so với những tinh trùng đực ủ ở 38,5°C (Hendricks và ctv, 2009). Tương tự như vậy, Lechiak và ctv (2003) đã khẳng định rằng sự gia tăng đáng kể của phôi cái khi tinh trùng bò đực ủ trước trong 24 giờ. Theo những phát hiện này, gần đây sử dụng thiết kế thí nghiệm trong ống nghiệm, chúng tôi cũng đã chứng minh rằng tinh trùng Y của con người dễ bị nhạy cảm, stress hơn tinh trùng X, gây ra bởi sự thay đổi của điều kiện nuôi cấy (You và ctv, 2017). Ngược lại, Iwata và ctv (2008) cho rằng việc ủ tinh trùng bò bằng axit hyaluronic trong 1 và 5 giờ tạo ra 56,4 và 67,3% phôi đực, dẫn đến làm lệch tỷ lệ 1: 1. Do đó, có thể giả thuyết rằng việc tiếp xúc của tinh trùng với các yếu tố stress bên ngoài dẫn đến sức sống khác nhau của tinh trùng X và Y; tuy nhiên, chưa có bằng chứng nào cụ thể và xác thực để nói rằng yếu tố stress có ảnh hưởng đến khả năng sống và quá trình chọn lọc tinh trùng X và Y.

Các nghiên cứu gần đây cho rằng sự thay đổi về tỷ lệ giới tính của con người do tiếp xúc với mức độ gia tăng của hóa chất môi trường, cụ thể là hóa chất gây rối loạn nội tiết (ED) (Van Larebeke và ctv, 2008; McDonald và ctv, 2014; Song và ctv, 2018; You và ctv, 2018). ED can thiệp vào quá trình sinh tổng hợp và chuyển hóa hormone và có thể ảnh hưởng

đến sinh lý và sinh sản của tế bào (Anway và ctv, 2005). Mocarelli và ctv (2000) cho rằng sự gia tăng nồng độ 2,3,7, 8-tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD hoặc Dioxin) trong huyết thanh của người bố làm tăng xác suất sinh con gái. Sự tiếp xúc giữa tinh trùng của chuột với TCDD trong ống nghiệm cũng làm giảm khả năng sống sót của tinh trùng Y (You và ctv, 2018), điều này có khả năng thay đổi tỷ lệ phôi đực và phôi cái. Những phát hiện này phù hợp với một nghiên cứu khác (Ryan và ctv, 2002), trong đó số lượng con cái được sinh ra nhiều hơn so với con đực đã được ghi nhận sau khi tiếp xúc với môi trường TCDD với nồng độ cao. Một tác dụng tương tự của các ED khác nhau đã được báo cáo bởi một số nghiên cứu trên người và động vật (Garry và ctv, 2002; Ikeda và ctv, 2005; Ishihara và ctv, 2007; Terrell và ctv, 2011). Mặc dù có một vài trường hợp ngoại lệ, ví dụ, khi tiếp xúc với biphenyl polychlorin hóa làm tăng khả năng con trai của thế hệ sau (Bonefeld-Jorgensen và ctv, 2001), phần lớn các phát hiện cho thấy đàn ông tiếp xúc với môi trường stress có nhiều khả năng sinh con gái (XX) nhiều hơn là bé trai (XY) do hàm lượng ADN trong tinh trùng X cao hơn so với tinh trùng Y. Tuy nhiên, các cơ chế phản ứng stress cụ thể giữa hai loại tế bào vẫn chưa rõ ràng và cần được nghiên cứu thêm.

8.2. Sự khác biệt về hàm lượng nhiễm sắc thể của tinh trùng X và Y

Sự bất thường về cấu trúc nhiễm sắc thể của tinh trùng là nguyên nhân lớn dẫn đến sự vô sinh (Pang và ctv, 1999; Schmidt và ctv, 2000). Một cách ngắn gọn, sự bất thường nhiễm sắc thể được định nghĩa là sự mất hoặc thừa hoặc bị thay đổi nhiễm sắc thể dẫn đến số lượng NST không đúng hoặc gây ra sự bất thường về cấu trúc ở một hoặc nhiều nhiễm sắc thể (Jurewicz và ctv, 2014). Nhìn chung, các bất thường nhiễm sắc thể ở phôi đực cho là xuất phát từ trứng (Hassold và ctv, 1996), tuy nhiên, những bất thường do tinh trùng cũng có thể ảnh hưởng đáng kể đến phôi (Tesarik và Mendoza, 1996; Bonduelle và ctv, 2002). Sự bất thường ở nhiễm sắc thể giới tính chiếm

hơn 5% các lỗi nhiễm sắc thể chính ở phôi, với khoảng 80% trường hợp có nguồn gốc từ con bố (Hassold và ctv, 1996; Hassold và Hunt, 2001). In't Veld và ctv (1995) và Hoegerman và ctv (1995) là 2 nhóm nghiên cứu đầu tiên báo cáo nguy cơ gia tăng các bất thường về nhiễm sắc thể de novo (các bất thường của nhiễm sắc thể trong tế bào giao tử), đặc biệt là ở nhiễm sắc thể giới tính, trong tinh trùng. Tần số dị bội nhiễm sắc thể giới tính trong tinh trùng người khỏe mạnh là 0,13-1,20% (Egozcue và ctv, 1997). Templado và ctv (2005) đã xem xét 23 nghiên cứu và phát hiện ra rằng tỷ lệ lệch nhiễm sắc thể giới tính trung bình (có thêm một nhiễm sắc thể ở trạng thái đơn bội) trong tinh trùng người là 0,26%.

Sự kết hợp giữa kỹ thuật FISH và các đầu dò nhiễm sắc thể đặc hiệu nhiều màu có thể được sử dụng để khảo sát hàm lượng nhiễm sắc thể của tinh trùng nhằm thiết lập tỷ lệ dị bội tương đối (Chevret và ctv, 1995). Ở bệnh nhân mắc chứng oligoasthenoteratozoospermic (OAT là một tình trạng bao gồm oligozoospermia (số lượng tinh trùng thấp), asthenozoospermia (tinh trùng vận động kém) và teratozoospermia (hình dạng tinh trùng bất thường)). OAT là nguyên nhân phổ biến nhất của vô sinh ở con đực) tỷ lệ thể dị bội nhiễm sắc thể giới tính cao hơn so với dị bội thể tự bội ở cùng một cá thể, cũng như dị bội nhiễm sắc thể giới tính ở tinh trùng Y khỏe mạnh (Pang và ctv, 1999, 2010). Phù hợp với phát hiện nói trên, Van Opstal và ctv (1997) cũng báo cáo sai số ở nhiễm sắc thể X và Y cao hơn đáng kể so với nhiễm sắc thể 18 (autosome) trong tinh trùng của bệnh nhân azoospermic. Ngược lại, Pfeffer và ctv (1999) báo cáo tỷ lệ dị bội nhiễm sắc thể 18 (0,7-10%) cao hơn so với dị bội nhiễm sắc thể giới tính (0-4,3%) trong phần tinh trùng bơi lên của 10 người đàn ông vô sinh mắc chứng OAT. Điều thú vị là nghiên cứu tương tự của Pfeffer và ctv, 1999 cũng khẳng định thể dị bội nhiễm sắc thể giới tính cao hơn, tuy nhiên thể dị bội được quan sát thấy trong toàn bộ tinh trùng. Do đó, các phương pháp làm giàu tinh trùng khác nhau cũng có thể ảnh hưởng đến tỷ lệ dị bội.

Một số nghiên cứu đã điều tra tỷ lệ dị bội ở nhiễm sắc thể X và Y trong tinh trùng của người (Chevret và ctv, 1995; Martin và ctv, 1995a,b,1996). Chevret và ctv (1995) đã công bố tỷ lệ thể dị bội ở nhiễm sắc thể X (0,04%) tương đối cao hơn so với ở nhiễm sắc thể Y (0,009%) trong tinh trùng kỳ gian phân của nam giới bình thường, tuy nhiên, các nghiên cứu khác đã báo cáo sự khác biệt nhỏ về tỷ lệ thể lệch bội ở nhiễm sắc thể X và nhiễm sắc thể Y (Martin và ctv, 1995a,b; Samura và ctv, 1997). Ngược lại, Williams và ctv (1993) đã báo cáo tỷ lệ lệch bội ở nhiễm sắc thể Y (YY, 0,11%) cao hơn ở nhiễm sắc thể X (XX, 0,08%). Phát hiện này được hỗ trợ thêm bởi một nghiên cứu khác trình bày 0,18% (YY) và 0,07% (XX) lần lượt ở nhiễm sắc thể Y và X (Martin và ctv, 1996). Sự khác biệt giữa tỷ lệ thể dị bội được báo cáo ở nhiễm sắc thể X và Y vẫn chưa rõ ràng mặc dù thể dị bội được phát hiện bằng các phương pháp tương tự (tức là FISH 3 màu kết hợp với đầu dò nhiễm sắc thể cụ thể và kính hiển vi huỳnh quang) trong tất cả các trường hợp. Do đó, sự khác biệt về tinh trùng X và Y dựa trên tần số dị bội ở nhiễm sắc thể X và Y vẫn chưa rõ ràng, điều này phù hợp với những khác biệt được báo cáo khác giữa các loại tinh trùng này.

Các nghiên cứu gần đây đã báo cáo rằng việc tiếp xúc với một số chất gây rối loạn nội tiết EDs và thuốc trừ sâu gây ra bất thường nhiễm sắc thể giới tính trong tinh trùng (Smith và ctv, 2004; Xia và ctv, 2005; Perry, 2008). Nghiên cứu dịch tễ học cho thấy mối liên hệ đáng kể giữa việc tiếp xúc với hai hóa chất clo hữu cơ và sự phân tách nhiễm sắc thể giới tính trong tinh trùng được thu thập từ những người đàn ông đã trải qua đánh giá vô sinh tại Bệnh viện Đa khoa Massachusetts từ tháng 1/2000 đến tháng 5/2003 (Mcauliffe và ctv, 2012). Họ quan sát thấy rằng nồng độ p, p'-dichlorodiphenyldichloroethylene (p, p'-DDE) trong huyết thanh cao hơn đã làm tăng đáng kể tần suất phân tách tinh trùng XX (X), XY và tổng số nhiễm sắc thể giới tính. Điều thú vị là những người đàn ông có nồng độ polychlorinated biphenyls (PCBs) trong huyết

thanh cao hơn cho thấy sự gia tăng đáng kể tần suất YY (loại bỏ tinh trùng Y), XY và tổng số nhiễm sắc thể giới tính, tuy nhiên, nghiên cứu này không cung cấp thêm giải thích về phát hiện của họ, cụ thể về cơ chế mà sự gia tăng tiếp xúc với PCB tạo ra tác dụng bảo vệ chống lại sự phân hủy XX và trong đó sự gia tăng tiếp xúc với p, p'-DDE làm tăng sự phân hủy XX. Do đó, cần nghiên cứu các cơ chế có thể có về mối liên hệ giữa việc tiếp xúc với các hóa chất độc hại, bao gồm EDC (ví dụ như PCB và p, p'-DDE) và sự phân tách nhiễm sắc thể giới tính. Hơn nữa, các nghiên cứu dịch tễ học tương tự được đảm bảo để xác định ảnh hưởng của các hóa chất môi trường khác nhau và mối liên quan của chúng với sự sai lệch nhiễm sắc thể trong tinh trùng.

8.3. Cấu trúc hệ gen và hệ protein của tinh trùng X và Y

Việc xác định và định lượng gen/protein trong tế bào cung cấp những hiểu biết quan trọng về các chức năng tế bào của chúng. Genomics liên quan đến cấu trúc, chức năng, sự tiến hóa và lập bản đồ của hệ gen (Bader và ctv, 2003), trong khi proteomics liên quan đến các phương pháp mới để xác định đặc tính của protein bằng cách thực hiện các phân tích định tính và định lượng (Rahman và ctv, 2016, 2017a, 2018). Một tinh trùng cung cấp một nửa số vật chất di truyền trong nhân cho đời con lưỡng bội thông qua thụ tinh. Do đó, việc kiểm tra các gen và hàm lượng protein trong tinh trùng có thể cung cấp những hiểu biết tiềm năng về chức năng của chúng. Người ta đã báo cáo rằng tinh trùng đơn bội có khả năng chủ động phiên mã nhiễm sắc thể quan trọng (bao gồm cả nhiễm sắc thể giới tính) cho sự tăng trưởng và tồn tại của chúng (Braun và ctv, 1989). Vì tinh trùng mang nhiễm sắc thể X và Y biểu hiện các gen riêng biệt được mã hóa bởi mỗi nhiễm sắc thể giới tính (Hendriksen, 1999), nó có thể dẫn đến sự khác biệt về protein giữa tinh trùng X và Y. Mặc dù phần lớn các gen được chia sẻ giữa các tinh trùng X và Y thông qua cấu trúc nội bào (Braun và ctv, 1989), nhưng không phải gen nào cũng có sản phẩm (Hendriksen, 1999). Do đó, tinh trùng

X và Y có thể được phân biệt dựa trên thành phần gen/protein của chúng. Trong phần này sẽ xem xét các nghiên cứu về các đặc điểm gen và protein của tinh trùng X và Y và đã làm sáng tỏ mối liên quan của chúng với các đặc điểm sinh lý của hai loại tinh trùng.

Cho đến nay, rất ít nghiên cứu đã xác định và biểu hiện các gen khác biệt trong tinh trùng X và Y. Tinh trùng chứa một lượng nhỏ RNA tổng số (tinh trùng người 0,015pg; tinh trùng bò $1,8 \times 10^{-4}$ pg) so với lượng RNA trong tế bào xôma (1-3 pg). Lượng RNA nhỏ trên mỗi tinh trùng là hạn chế lớn đối với nghiên cứu về biểu hiện gen trong các tế bào này. Chen và ctv (2014) đã sử dụng các phương pháp tiếp cận toàn diện về hệ gen và xác định được 31 gen biểu hiện khác biệt trong tinh trùng bò X và Y (27 và 4 gen điều chỉnh trong tinh trùng X và Y tương ứng). Sử dụng công nghệ giải trình tự RNA, người ta đã báo cáo rằng nhiễm sắc thể X mã hóa 492 gen, trong khi nhiễm sắc thể Y chỉ mã hóa 15 gen trong tinh trùng chuột. Một số gen này (đặc biệt là các thụ thể receptor) cũng được chứng minh là có liên quan đến sự phát triển, khả năng sống sót và chức năng của các loại tinh trùng cụ thể (Umehara và ctv, 2019). Do đó, các gen biểu hiện khác biệt có thể giúp xác định nền tảng di truyền về sự khác biệt ổn định giữa tinh trùng X và Y. Alminana và ctv (2014) quan sát thấy tinh trùng biểu hiện gen đặc trưng cho giới tính trong trứng của lợn cái được thụ tinh với tinh trùng X hoặc Y. Khi thực hiện thụ tinh bằng cách sử dụng tinh trùng Y, 271 bản sao bị điều chỉnh giảm số lượng thụ thể trên bề mặt màng tế bào và 230 bản sao được điều chỉnh tăng cường ở vôi trứng. Vì vậy, ống dẫn trứng có thể có các cảm biến sinh học đặc biệt để sàng lọc tinh trùng. Bermejo-Alvarez và ctv (2010) đã công bố sự khác biệt đáng kể về mức độ mRNA của GSTM3, DNMT3A và PGRMC1 giữa phôi nang bò được tạo ra bởi thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng X và những phôi được tạo ra bằng thụ tinh trong ống nghiệm với tinh trùng Y. Điều này chỉ ra rằng tế bào trứng cũng có thể điều chỉnh một cơ chế giống hệt nhau để 'cải tổ' lại các tinh trùng khác nhau. Những tiến

bộ gần đây trong nghiên cứu bộ gen đã cung cấp một số kỹ thuật cải tiến cho phép phân giải hoàn toàn tinh trùng và phân lập RNA tổng số (Kirley, 1990; Meng và Feldman, 2010; Chen và ctv, 2014). Do đó, các nghiên cứu sâu hơn được thực hiện để xác định các gen biểu hiện trong tinh trùng giới tính của các loài khác nhau.

Tinh trùng trưởng thành trải qua quá trình phiên mã tối thiểu (có ít ribosome nên không thể dịch mã) cũng như tổng hợp protein (Kwon và ctv, 2014a, 2015). Do đó, những tế bào này cực kỳ thích hợp để thực hiện phân tích protein. So sánh trực tiếp mức protein trong các tế bào khác nhau có thể xác định các dấu hiệu gây ra sự khác biệt giữa các tế bào này (Park và ctv, 2013; Kwon và ctv, 2014a). Các nghiên cứu tài liệu chỉ ra rằng các nghiên cứu hạn chế đã được thực hiện để đánh giá bản thiết kế protein của tinh trùng X và Y cho đến nay. Hendriksen và ctv (1996) báo cáo sự khác biệt không có ý nghĩa về nồng độ của protein màng sinh chất trong tinh trùng X và Y trên lợn. Nghiên cứu này chỉ ra rằng không thể phân biệt giới tính của tinh trùng dựa trên các đặc tính bề mặt của chúng. Chen và ctv (2012) đã sử dụng phương pháp điện di hai chiều cùng với khối phổ (2DE-MS/MS) và xác định biểu hiện 42 protein khác biệt giữa tinh trùng X và Y. Trong số này, 11 protein được điều chỉnh tăng cường biểu hiện và 4 protein điều chỉnh giảm biểu hiện ở tinh trùng X so với protein ở tinh trùng Y ($P < 0,05$). Phát hiện này cũng được khẳng định thêm trong nghiên cứu của De Canio và ctv (2014); Scott và ctv (2018). De Canio và ctv (2014) nhận thấy rằng có 15 và 2 protein lần lượt được điều chỉnh tăng cường trong tinh trùng X và Y. Trong một nghiên cứu khác gần đây, Scott và ctv (2018) đã xác định được sự biểu hiện khác biệt của 8 loại protein giữa tinh trùng mang X và Y. Trong số này, protein liên quan đến sự phát triển phôi (protein chứa miền EF-hand 1) được biểu hiện rất nhiều trong tinh trùng Y, trong khi phần lớn các protein được phát hiện khác có nhiều trong tinh trùng X. Vì protein dồi dào trong tinh trùng Y giúp phát triển phôi sau thụ tinh và hơn nữa là khả năng sống sót của bé trai so

với bé gái, điều này cũng khiến số lượng trẻ sơ sinh là nam được sinh ra nhiều hơn một chút so với trẻ sơ sinh nữ (100). Bất chấp sự biểu hiện khác biệt của các protein cụ thể giữa hai loại tế bào, cấu trúc liên kết ion kẽm của cytochrome c (2EIN_R) ở tim bò là protein duy nhất được công bố bởi Chen và ctv (2012) với những đặc điểm chỉ biểu hiện ở tinh trùng X. Do đó, 2EIN_R có thể được coi là một dấu ấn sinh học mới để phân biệt hai loại tế bào với mục tiêu chọn lọc giới tính. Ngược lại, phần lớn các nghiên cứu proteomics đã xác định được các protein giống hệt nhau có giới hạn mặc dù các mẫu được thu thập từ cùng một loài động vật (bò đực). Hơn nữa, Chen và ctv (2012) đã báo cáo mức độ tăng của đồng dạng tubulin $\alpha 3$ và $\beta 4B$ trong tinh trùng X. Ngược lại, De Canio và ctv (2014) đã báo cáo các cấu hình biểu hiện khác nhau của hai đồng dạng tubulin $\alpha 8$ và $\beta 2B$. Việc sử dụng các phương pháp tiếp cận của proteomic khác nhau (tức là 2DE-MS/MS, nUPLC-MS/MS và phân tích SWATH-MS) trong các nghiên cứu này có thể dẫn đến những khác biệt này. Dựa trên những phát hiện này, cần suy đoán rằng tinh trùng X và Y ít nhất có thể khác nhau dựa trên hàm lượng protein của chúng; tuy nhiên, các nghiên cứu sâu hơn được đảm bảo để xác định các dấu hiệu đã được xác nhận có thể phân biệt hai loại tế bào này một cách thích hợp. Ngoài ra, phân tích protein của tinh trùng X và Y từ các loài động vật khác nhau nên được tiến hành để ứng dụng thực tế của chúng, đặc biệt là cho các kỹ thuật miễn dịch.

Sự khác biệt về hàm lượng protein và các con đường tín hiệu liên quan giữa tinh trùng X và Y có thể cung cấp cơ sở lý thuyết để phân biệt giữa các loại tinh trùng này. Tuy nhiên, không chắc liệu những khác biệt này có tương quan với khía cạnh sinh học của tinh trùng X và Y. Bằng cách sử dụng cùng một chương trình đã xác định các quá trình bệnh liên quan được điều chỉnh bởi các protein biểu hiện khác biệt trong tinh trùng X và Y. Ví dụ, L-lactate dehydrogenase A và glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase đặc hiệu của tinh hoàn, được biểu hiện nhiều trong tinh trùng

X, được phát hiện có liên quan về mặt chức năng với ung thư vú và ung thư cổ tử cung. Cả hai loại ung thư đều là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong do ung thư ở phụ nữ (Siegel và ctv, 2015). Theo đó, điều tra dịch tễ học ở người cho thấy tỷ lệ mắc bệnh thiếu máu tương đối cao (Malhotra và ctv, 2004; Alvarez-Uria và ctv, 2014), bệnh Alzheimer (Vina và Lloret, 2010), bệnh Huntington (Panas và ctv, 2011), và trypanosoma (Pepin và ctv, 2002) ở phụ nữ. Các bệnh này cũng được phát hiện có liên quan đến các protein biểu hiện nhiều ở tinh trùng X. Tương tự, các protein xuất hiện nhiều ở tinh trùng Y, đó là TUBA8 và GSTM3, được phát hiện có liên quan đến ung thư gan và ung thư thận, và tỷ lệ mắc cả hai bệnh này được báo cáo là cao hơn ở nam giới so với nữ giới (Woldrich và ctv, 2008; Wu và ctv, 2018). Tuy nhiên, một số bệnh khác được tìm thấy có liên quan đến các protein biểu hiện khác biệt ở tinh trùng X và Y thể hiện kết quả khác so với dữ liệu dịch tễ học. Ví dụ, suy tim được phát hiện có liên quan đến CAPZB biểu hiện nhiều trong tinh trùng Y, tuy nhiên, tỷ lệ mắc bệnh này ở nam giới thấp hơn ở nữ giới. Cũng như vậy, bệnh lao được phát hiện có liên quan đến chức năng bị thay đổi của TPI1 biểu hiện nhiều hơn ở tinh trùng X so với tinh trùng Y. Tuy nhiên, tỷ lệ mắc bệnh này ở nam cao hơn nữ. Những mâu thuẫn này có lẽ là do chương trình Pathway Studio, đã tạo ra các đường dẫn protein bằng cách sử dụng thông tin có trong cơ sở dữ liệu PubMed, nhưng không có khả năng giải thích chính xác mọi tình trạng bệnh. Ngoài ra, bất chấp sự biểu hiện khác biệt của một loại protein cụ thể giữa hai loại tế bào, sự tồn tại của phần lớn các protein là không đổi giữa chúng. Do đó, sự gia tăng biểu hiện của một protein trong tế bào cụ thể không phải lúc nào cũng thể hiện sự hoạt hóa chức năng của chúng. Một nhược điểm lớn khác của giả thuyết này là những thay đổi nhỏ về cấu trúc protein (ít hơn 2 lần cuộn gập) giữa tinh trùng X và Y có thể không nhất thiết cho thấy bất kỳ sự khác biệt đáng kể nào về biểu hiện protein trong thế hệ con cái, và do đó có thể dẫn đến nhiều kết luận khác nhau.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là kết quả thực hiện đề tài được tài trợ bởi Dự án “Nâng cao năng lực nghiên cứu của các trường đại học Việt Nam” do Ngân hàng thế giới tài trợ, là kết quả đề tài nghiên cứu sinh của học viên Ngô Thành Trung, Học viện Nông nghiệp Việt Nam đồng thời là thành viên nhóm nghiên cứu tinh hoa về Công nghệ Sinh sản và Tế bào, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agarwal A., Sharma R.K., Sharma R., Assidi M., Abuzenadah A.M. and Alshahrani S. (2014). Characterizing semen parameters and their association with reactive oxygen species in infertile men. *Rep. Bio. Endrol.*, **12**: 33.
2. Ainsworth C.J., Nixon B. and Aitken R.J. (2011). The electrophoretic separation of spermatozoa: an analysis of genotype, surface carbohydrate composition and potential for capacitation. *Int. J. And.*, **34**: e422-34.
3. Aitken R.J. (2014). Age, environment and our reproductive future: bonking baby boomers and the future of sex. *Rep.*, **147**: 1-11.
4. Alminana C., Caballero I., Heath P.R., Maleki-Dizaji S., Parrilla I. and Cuello C. (2014). The battle of the sexes starts in the oviduct: modulation of oviductal transcriptome by X and Y-bearing spermatozoa. *BMC Genomics*, **15**: 293.
5. Alvarez-Uria G., Naik P.K., Midd M., Yalla P.S. and Pakam R. (2014). Prevalence and severity of anaemia stratified by age and gender in rural India. *Anemia*, **2014**: 176182.
6. Anway M.D., Cupp A.S., Uzumcu M. and Skinner M.K. (2005). Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Sci.*, **308**: 1466-69.
7. Aranha I.P. and Martin-Deleon P.A. (1995). Mouse chromosome 6 in Rb translocations: consequences in singly and doubly heterozygous males. *Cytogenet. Cell Genet.*, **69**: 253-59.
8. Bader G.D., Heilbut A., Andrews B., Tyers M., Hughes T. and Boone C. (2003). Functional genomics and proteomics: charting a multidimensional map of the yeast cell. *Trends Cell Biol.* **13**: 344-56.
9. Barazani Y., Katz B.F., Nagler H.M. and Stemmer D.S. (2014). Lifestyle, environment, and male reproductive health. *Urol. Clin. North Ame.*, **41**: 55-66.
10. Battistone M.A., Da Ros V.G., Salicioni A.M., Navarrete F.A., Krapf D. and Visconti P.E. (2013). Functional human sperm capacitation requires both bicarbonate-dependent PKA activation and down-regulation of Ser/Thr phosphatases by Src family kinases. *Mol. Hum. Rep.*, **19**: 570-80.
11. Bean B. (1990). Progenitive sex ratio among functioning sperm cells. *Am. J. Hum. Genet.*, **47**: 351-53.
12. Benet J., Genesca A., Navarro J., Egozcue J. and Templado C. (1992). Cytogenetic studies in motile sperm

- from normal men. *Hum. Genet.*, **89**: 176-80.
13. **Bennett D. and Boyse E.A.** (1973). Sex ratio in progeny of mice inseminated with sperm treated with H-Y antiserum. *Nature* **246**: 308-09.
 14. **Bermejo-Alvarez P., Rizos D., Rath D., Lonergan P. and Gutierrez-Adan A.** (2010). Sex determines the expression level of one third of the actively expressed genes in bovine blastocysts. *Pro. Nat. Aca. Sci. USA*, **107**: 3394-99.
 15. **Bibbins P.E. Jr., Lipshultz L.I., Ward J.B.Jr. and Legator M.S.** (1988). Fluorescent body distribution in spermatozoa in the male with exclusively female offspring. *Fertil. Steril.* **49**: 670-75.
 16. **Blomqvist S.R., Vidarsson H., Soder O. and Enerback S.** (2006). Epididymal expression of the forkhead transcription factor Foxl1 is required for male fertility. *EMBO J.*, **25**: 4131-41.
 17. **Blottner S., Bostedt H., Mewes K. and Pitra C.** (1994). Enrichment of bovine X and Y spermatozoa by free-flow electrophoresis. *Zentralbl. Vet.*, **41**: 466-74.
 18. **Bonduelle M., Van Assche E., Joris H., Keymolen K., Devroey P. and Van Steirteghem A.** (2002). Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters. *Hum. Rep.*, **17**: 2600-14.
 19. **Bonefeld-Jorgensen E.C., Andersen H.R., Rasmussen T.H. and Vinggaard A.M.** (2001). Effect of highly bioaccumulated polychlorinated biphenyl congeners on estrogen and androgen receptor activity. *Toxicology*, **158**: 141-53.
 20. **Brandriff B.F., Gordon L.A., Haendel S., Singer S., Moore D.H.II and Gledhill B.L.** (1986). Sex chromosome ratios determined by karyotypic analysis in albumin-isolated human sperm. *Fer. Steril.*, **46**: 678-85.
 21. **Braun R.E., Behringer R.R., Peschon J.J., Brinster R.L. and Palmiter R.D.** (1989). Genetically haploid spermatids are phenotypically diploid. *Nature*, **337**: 373-76.
 22. **Carvalho J.O., Silva L.P., Sartori R. and Dode M.A.** (2013). Nanoscale differences in the shape and size of X and Y chromosome-bearing bovine sperm heads assessed by atomic force microscopy. *PLoS One*, **8**: e59387.
 23. **Chandler J.E., Steinholt-Chenevert H.C., Adkinson R.W. and Moser E.B.** (1998). Sex ratio variation between ejaculates within sire evaluated by polymerase chain reaction, calving, and farrowing records. *J. Dai. Sci.*, **81**: 1855-67.
 24. **Chang M.C.** (1951). Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. *Nature*, **168**: 697-98.
 25. **Chaudhary I., Jain M. and Halder A.** (2014). Sperm sex ratio (X:Y) and its variations. *Austin J. Rep. Med. Infertil.*, **1**: 7.
 26. **Chayko C.A. and Martin-Deleon P.A.** (1992). The murine Rb(6.16) translocation: alterations in the proportion of alternate sperm segregants effecting fertilization in vitro and in vivo. *Hum. Genet.*, **90**: 79-85.
 27. **Check J.H., Shanis B.S., Cooper S.O. and Bollendorf A.** (1989). Male sex preselection: swim-up technique and insemination of women after ovulation induction. *Arc. Androl.*, **23**: 165-66.
 28. **Chen X., Yue Y., He Y., Zhu H. Hao H., Zhao X.** (2014). Identification and characterization of genes differentially expressed in X and Y sperm using suppression subtractive hybridization and cADN microarray. *Mol. Rep. Dev.*, **81**: 908-17.
 29. **Chen X., Zhu H., Wu C., Han W., Hao H., Zhao X.** (2012). Identification of differentially expressed proteins between bull X and Y spermatozoa. *J. Proteomics*, **77**: 59-67.
 30. **Chevret E., Rousseaux S., Monteil M., Pelletier R., Cozzi J. and Sele B.** (1995). Meiotic segregation of the X and Y chromosomes and chromosome 1 analyzed by three-color FISH in human interphase spermatozoa. *Cyt. Cell Gen.*, **71**: 126-30.
 31. **Clapham D. E.** (2013). Sperm BerserKers. *Elife*. **2**: e01469.
 32. **Colaco S. and Modi D.** (2018). Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. *Rep. Biol. Endocrinol.*, **16**: 14.
 33. **Cui K.H.** (1997). Size differences between human X and Y spermatozoa and prefertilization diagnosis. *Mol. Hum. Rep.*, **3**: 61-67.
 34. **Cui K.H. and Matthews C.D.** (1993). X larger than Y. *Nature* **366**, 117-118. **Curtsinger, J. W., Ito, R. and Hiraizumi Y.** (1983). A two-generation study of human sex-ratio variation. *Am. J. Hum. Genet.*, **35**: 951-61.
 35. **De Canio M., Soggiu A., Piras C., Bonizzi L., Galli A., Urbani A.** (2014). Differential protein profile in sexed bovine semen: shotgun proteomics investigation. *Mol. Biosyst.*, **10**: 1264-71.
 36. **Diasio R.B. and Glass R.H.** (1971). Effects of pH on the migration of X and Y sperm. *Fertil. Steril.*, **22**, 303-05.
 37. **Dominko T. and First N.L.** (1997). Relationship between the maturational state of oocytes at the time of insemination and sex ratio of subsequent early bovine embryos. *Theriogenology*, **47**: 1041-50.
 38. **Egozcue J., Blanco J. and Vidal F.** (1997). Chromosome studies in human sperm nuclei using fluorescence *in-situ* hybridization (FISH). *Hum. Rep. Update*, **3**: 441-52.
 39. **Eisenberg M.L., Murthy L., Hwang K., Lamb D.J. and Lipshultz L.I.** (2012). Sperm counts and sperm sex ratio in male infertility patients. *Asian J. Androl.*, **14**: 683-86.
 40. **Engelmann U., Krassnigg F., Schatz H. and Schill W.B.** (1988). Separation of human X and Y spermatozoa by free-flow electrophoresis. *Gamete Res.*, **19**: 151-60.
 41. **Erickson J.D.** (1976). The secondary sex ratio in the United States 1969- 71: association with race, parental ages, birth order, paternal education and legitimacy. *Ann. Hum. Genet.*, **40**: 205-12.
 42. **Ericsson R.J., Langevin C.N. and Nishino M.** (1973). Isolation of fractions rich in human Y sperm. *Nature*, **246**: 421-24.
 43. **Evans J.M., Douglas T.A. and Renton J.P.** (1975). An attempt to separate fractions rich in human Y sperm. *Nature*, **253**: 352-54.
 44. **Flaherty S.P. and Matthews C. D.** (1996). Application of modern molecular techniques to evaluate sperm sex selection methods. *Mol. Hum. Rep.*, **2**: 937-42.
 45. **Garry V.F., Harkins M.E., Erickson L.L., Long-Simpson L.K., Holland S.E. and Burroughs B.L.** (2002). Birth defects, season of conception, and sex of children born

- to pesticide applicators living in the Red River Valley of Minnesota, USA. *Env. Heal. Perspect.*, **110**(3): 441-49.
46. **Gellatly C.** (2009). Trends in population sex ratios may be explained by changes in the frequencies of polymorphic alleles of a sex ratio gene. *Evo. Biol.*, **36**: 190-00.
 47. **Gharagozloo P. and Aitken R.J.** (2011). The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Hum. Rep.*, **26**: 1628-40.
 48. **Goldman A.S., Fomina Z., Knights P.A., Hill C.J., Walker A.P. and Hulten M.A.** (1993). Analysis of the primary sex ratio, sex chromosome aneuploidy and diploidy in human sperm using dual-colour fluorescence in situ hybridisation. *Eur. J. Hum. Genet.*, **1**: 325-34.
 49. **Grant V.J.** (2006). Entrenched misinformation about X and Y sperm. *BMJ*, **332**: 916.
 50. **Halder A. and Tutschek B.** (1998). Analysis of meiotic segregation in human noncondensed interphase spermatozoa by triple colour rapid direct fluorescent in situ hybridization. *Ind. J. Med. Res.*, **107**: 94-97.
 51. **Hamamah S. and Gatti J.L.** (1998). Role of the ionic environment and internal pH on sperm activity. *Hum. Rep.*, **13**(4): 20-30.
 52. **Han T.L., Flaherty S.P., Ford J.H. and Matthews C.D.** (1993a). Detection of X- and Y-bearing human spermatozoa after motile sperm isolation by swim-up. *Fer. Steril.*, **60**: 1046-51.
 53. **Han T.L., Ford J.H., Webb G.C., Flaherty S.P., Correll A. and Matthews C.D.** (1993b). Simultaneous detection of X- and Y-bearing human sperm by double fluorescence in situ hybridization. *Mol. Rep. Dev.*, **34**: 308-13.
 54. **Hassanane M., Kovacs A., Laurent P., Lindblad K. and Gustavsson I.** (1999). Simultaneous detection of X- and Y-bearing bull spermatozoa by double colour fluorescence in situ hybridization. *Mol. Rep. Dev.*, **53**: 407-12.
 55. **Hassold T., Abruzzo M., Adkins K., Griffin D., Merrill M. and Millie E.** (1996). Human aneuploidy: incidence, origin, and etiology. *Env. Mol. Mutagen.*, **28**: 167-75.
 56. **Hassold T. and Hunt P.** (2001). To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat. Rev. Genet.*, **2**: 280-91.
 57. **Hendricks K.E., Martins L. and Hansen P.J.** (2009). Consequences for the bovine embryo of being derived from a spermatozoon subjected to postejaculatory aging and heat shock: development to the blastocyst stage and sex ratio. *J. Rep. Dev.*, **55**: 69-74.
 58. **Hendriksen P.J.** (1999). Do X and Y spermatozoa differ in proteins? *Theriogenology*, **52**: 1295-07.
 59. **Hendriksen P.J., Tieman M., Van Der Lende T. and Johnson L.A.** (1993). Binding of anti-H-Y monoclonal antibodies to separated X and Y chromosomebearing porcine and bovine sperm. *Mol. Rep. Dev.*, **35**: 189-96.
 60. **Hendriksen P.J., Welch G.R., Grootegoed J.A., Van Der Lende T. and Johnson L.A.** (1996). Comparison of detergent-solubilized membrane and soluble proteins from flow cytometrically sorted X- and Y-chromosome bearing porcine spermatozoa by high resolution 2-D electrophoresis. *Mol. Rep. Dev.*, **45**: 342-50.
 61. **Hoegerman S.F., Pang M.G. and Kearns W.G.** (1995). Sex chromosome abnormalities after intracytoplasmic sperm injection. *Lancet*, **346**: 1095.
 62. **Hoffmann D.S. and Killian G.J.** (1981). Isolation of epithelial cells from the corpus epididymidis and analysis for glycerylphosphorylcholine, sialic acid, and protein. *J. Exp. Zool.*, **217**: 93-02.
 63. **Holt W.V. and Fazeli A.** (2010). The oviduct as a complex mediator of mammalian sperm function and selection. *Mol. Rep. Dev.*, **77**: 934-43.
 64. **Hoppe P.C. and Koo G.C.** (1984). Reacting mouse sperm with monoclonal H-Y antibodies does not influence sex ratio of eggs fertilized in vitro. *J. Rep. Imm.*, **6**: 1-9.
 65. **Hossain A.M., Barik S. and Kulkarni P.M.** (2001). Lack of significant morphological differences between human X and Y spermatozoa and their precursor cells (spermatids) exposed to different prehybridization treatments. *J. Androl.*, **22**, 119-23.
 66. **Hu Y.C. and Namekawa S.H.** (2015). Functional significance of the sex chromosomes during spermatogenesis. *Reproduction* **149**: 265-77. doi: 10.1530/REP-14-0613 Iizuka, R., Kaneko, S., Aoki, R., and Kobayashi, T. (1987). Sexing of human sperm by discontinuous Percoll density gradient and its clinical application. *Hum. Rep.*, **2**: 573-75.
 67. **Ikeda M., Tamura M., Yamashita J., Suzuki C. and Tomita T.** (2005). Repeated in utero and lactational 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure affects male gonads in offspring, leading to sex ratio changes in F2 progeny. *Toxicol. App. Pharmacol.*, **206**: 351-55.
 68. **Int Veld P., Brandenburg H., Verhoeff A., Dhont M. and Los F.** (1995). Sex chromosomal abnormalities and intracytoplasmic sperm injection. *Lancet*, **346**: 773.
 69. **Irving J., Bittles A., Peverall J., Murch A. and Matson P.** (1999). The ratio of X and Y-bearing sperm in ejaculates of men with three or more children of the same sex. *J. Assist. Rep. Genet.*, **16**: 492-94.
 70. **Ishihara K., Warita K., Tanida T., Sugawara T., Kitagawa H. and Hoshi N.** (2007). Does paternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) affect the sex ratio of offspring. *J. Vet. Med. Sci.*, **69**: 347-52.
 71. **Iwata H., Shiono H., Kon Y., Matsuura K., Kimura K. and Kuwayama T.** (2008). Effects of modification of in vitro fertilization techniques on the sex ratio of the resultant bovine embryos. *Anim. Rep. Sci.*, **105**: 234-44.
 72. **James W.H. and Rostron J.** (1985). Parental age, parity and sex ratio in births in England and Wales. *J. Biosoc. Sci.*, **17**: 47-56.
 73. **Jasin M. and Zalamea P.** (1992). Analysis of Escherichia coli beta-galactosidase expression in transgenic mice by flow cytometry of sperm. *Proc. Nat. Aca. Sci. USA*, **89**: 10681-85.
 74. **Jeulin C., Wiels J., Casanova M. and Fellous M.** (1982). Relationship between Y-chromosome and H-Y antigen expression in human spermatozoa, *The Sperm Cell*, ed. J. André.
 75. **Johnson L.** (1994). A new approach to study the architectural arrangement of spermatogenic stages revealed little evidence of a partial wave along the length of human seminiferous tubules. *J. Androl.*, **15**: 435-41.
 76. **Johnson L.A.** (2000). Sexing mammalian sperm for

- production of offspring: the state-of-the-art. *Ani. Rep. Sci.*, **6**: 93-07.
77. **Johnson L.A., Flook J.P. and Hawk H.W.** (1989). Sex preselection in rabbits: live births from X and Y sperm separated by ADN and cell sorting. *Biol. Rep.*, **41**: 199-03.
 78. **Johnson L.A., Welch G.R., Keyvanfar K., Dorfmann A., Fugger E.F. and Schulman J.D.** (1993). Gender preselection in humans? Flow cytometric separation of X and Y spermatozoa for the prevention of X-linked diseases. *Hum. Rep.*, **8**: 1733-39.
 79. **Jurewicz J., Radwan M., Sobala W., Radwan P., Jakubowski L. and Hawula W.** (2014). Lifestyle factors and sperm aneuploidy. *Rep. Biol.*, **14**: 190-99.
 80. **Kaneko S., Iizuka R., Oshio S., Nakajima H., Oshio S. and Mohri H.** (1993). Separation of human X- and Y-bearing sperm using free-flow electrophoresis. *Proc. Jpn. Acad. Ser.*, **59**: 276-79.
 81. **Kaneko S., Oshio S., Kobayashi T., Iizuka R. and Mohri H.** (1984). Human X and Y-bearing sperm differ in cell surface sialic acid content. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **124**: 950-55.
 82. **Kirley T.L.** (1990). Inactivation of (Na⁺,K⁺)-ATPase by beta-mercaptoethanol. Differential sensitivity to reduction of the three beta subunit disulfide bonds. *J. Bio. Chem.*, **265**: 4227-32.
 83. **Krco C.J. and Goldberg E.H.** (1976). H-Y male antigen: detection on eight-cell mouse embryos. *Sci.*, **193**: 1134-35.
 84. **Kruger A.N., Brogley M.A., Huizinga J.L., Kidd J.M., de Rooij D.G. and Hu Y.C.** (2019). A neofunctionalized X-linked ampliconic gene family is essential for male fertility and equal sex ratio in mice. *Curr. Biol.*, **29**: 3699-06.
 85. **Kwon W.S., Rahman M.S., Lee J.S., Kim J., Yoon S.J., Park Y.J.** (2014a). A comprehensive proteomic approach to identifying capacitation related proteins in boar spermatozoa. *BMC Genomics*, **15**: 897.
 86. **Kwon W.S., Rahman M.S. and Pang M.G.** (2014b). Diagnosis and prognosis of male infertility in mammal: the focusing of tyrosine phosphorylation and phosphotyrosine proteins. *J. Proteome Res.*, **13**: 4505-17.
 87. **Kwon W.S., Rahman M.S., Lee J.S., Yoon S.J., Park Y.J. and Pang M.G.** (2015). Discovery of predictive biomarkers for litter size in boar spermatozoa. *Mol. Cell. Proteomics*, **14**: 1230-40.
 88. **Landrum B. and Shettles L.B.** (1960). Nuclear structure of human spermatozoa. *Nature*, **188**: 916-18.
 89. **Lankenau S., Corces V.G. and Lankenau D.H.** (1994). The *Drosophila* microRNA retrotransposon encodes a testis-specific antisense RNA complementary to reverse transcriptase. *Mol. Cell. Biol.*, **14**: 1764-75.
 91. **Lechniak D., Strabel T., Bousquet D. and King A.W.** (2003). Sperm preincubation prior to insemination affects the sex ratio of bovine embryos produced in vitro. *Rep. Dom. Ani.*, **38**: 224-27. 92. **Lobel S.M., Pomponio R.J. and Mutter G.L.** (1993). The sex ratio of normal and manipulated human sperm quantitated by the polymerase chain reaction. *Fertil. Steril.*, **59**: 387-92.
 93. **Malhotra P., Kumari S., Kumar R. and Varma S.** (2004). Prevalence of anemia in adult rural population of north India. *J. Ass. Physicians India*, **52**: 18-20.
 94. **Martin R.H., Balkan W., Burns K., Rademaker A.W., Lin C.C. and Rudd N.L.** (1983). The chromosome constitution of 1000 human spermatozoa. *Hum. Genet.*, **63**: 305-09.
 95. **Martin R.H., Rademaker A.W. and Leonard N.J.** (1995a). Analysis of chromosomal abnormalities in human sperm after chemotherapy by karyotyping and fluorescence in situ hybridization (FISH). *Cancer Genet. Cytogenet.*, **80**: 29-32.
 96. **Martin R.H., Spriggs E., Ko E. and Rademaker A.W.** (1995b). The relationship between paternal age, sex ratios, and aneuploidy frequencies in human sperm, as assessed by multicolor FISH. *Am. J. Hum. Genet.*, **57**: 1395-99.
 97. **Martin R.H., Spriggs E. and Rademaker A.W.** (1996). Multicolor fluorescence in situ hybridization analysis of aneuploidy and diploidy frequencies in 225,846 sperm from 10 normal men. *Biol. Rep.*, **54**: 394-98.
 98. **McAuliffe M.E., Williams P.L., Korrick S.A., Altshul L.M. and Perry M.J.** (2012). Environmental exposure to polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE and sperm sex-chromosome disomy. *Env. Heal. Perspect.*, **120**: 535-40.
 99. **Mcdonald E., Watterson A., Tyler A.N., McArthur J. and Scott E.M.** (2014). Multi-factorial influences on sex ratio: a spatio-temporal investigation of endocrine disruptor pollution and neighborhood stress. *Int. J. Occup. Env. Heal.*, **20**: 235-46.
 100. **Meng L. and Feldman L.** (2010). A rapid TRIzol-based two-step method for ADN-free RNA extraction from *Arabidopsis* siliques and dry seeds. *Bio. J.*, **5**: 183-86.
 101. **Mocarelli P., Gerthoux P.M., Ferrari E., Patterson D.G.Jr., Kieszak S.M. and Brambilla P.** (2000). Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offspring. *Lancet*, **355**: 1858-63.
 102. **Muehleis P.M. and Long S.Y.** (1976). The effects of altering the pH of seminal fluid on the sex ratio of rabbit offspring. *Fertil. Steril.*, **27**: 1438-45.
 103. **Oakberg E.F.** (1956). Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium. *Am. J. Anat.*, **99**: 507-16.
 104. **Ohno S. and Wachtel S.S.** (1978). On the selective elimination of Y-bearing sperm. *Immunogenetics*, **7**: 13-16.
 105. **Oyeyipo I.P., van der Linde M. and du Plessis S.S.** (2017). Environmental exposure of sperm sex-chromosomes: a gender selection technique. *Toxicol. Res.*, **33**: 315-23.
 106. **Panas M., Karadima G., Vassos E., Kalfakis N., Kladi A., Christodoulou K.** (2011). Huntington's disease in Greece: the experience of 14 years. *Clin. Genet.*, **80**: 586-90.
 107. **Pang M.G., Hoegerman S.F., Cuticchia A.J., Moon S.Y., Doncel G.F. and Acosta A.A.** (1999). Detection of aneuploidy for chromosomes 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 17, 18, 21, X and Y by fluorescence in-situ hybridization in spermatozoa from nine patients with oligoasthenoteratozoospermia undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Rep.*, **14**: 1266-73.
 108. **Pang M.G., Kim Y.J., Lee S.H. and Kim C.K.** (2005). The high incidence of meiotic errors increases with decreased

- sperm count in severe male factor infertilities. *Hum. Rep.*, **20**: 1688-94.
109. **Pang M.G., You Y.A., Park Y.J., Oh S.A., Kim D.S. and Kim Y.J.** (2010). Numerical chromosome abnormalities are associated with sperm tail swelling patterns. *Fertil. Steril.*, **94**: 1012-20.
110. **Park Y.J., Kim J., You Y.A. and Pang M.G.** (2013). Proteomic revolution to improve tools for evaluating male fertility in animals. *J. Proteome Res.*, **12**: 4738-47.
111. **Penfold L.M., Holt C., Holt W.V., Welch G.R., Cran D.G. and Johnson L.A.** (1998). Comparative motility of X and Y chromosome-bearing bovine sperm separated on the basis of ADN content by flow sorting. *Mol. Rep. Dev.*, **50**: 323-27.
112. **Pepin J., Mpia B. and Iloasebe M.** (2002). Trypanosoma brucei gambiense African trypanosomiasis: differences between men and women in severity of disease and response to treatment. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **96**: 421-26.
113. **Perez-Crespo M., Pintado B. and Gutierrez-Adan A.** (2008). Scrotal heat stress effects on sperm viability, sperm ADN integrity, and the offspring sex ratio in mice. *Mol. Rep. Dev.*, **75**: 40-47.
114. **Perry M.J.** (2008). Effects of environmental and occupational pesticide exposure on human sperm: a systematic review. *Hum. Rep. Update*, **14**: 233-42.
115. **Pfeffer J., Pang M.G., Hoegerman S.F., Osgood C.J., Stacey M.W., Mayer J.** (1999). Aneuploidy frequencies in semen fractions from ten oligoasthenoteratozoospermic patients donating sperm for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil. Steril.*, **72**: 472-78.
116. **Pratt N.C., Huck U.W. and Lisk R.D.** (1987). Offspring sex ratio in hamsters is correlated with vaginal pH at certain times of mating. *Behav. Neural Biol.*, **48**: 310-16.
117. **Quinlivan W.L., Preciado K., Long T.L. and Sullivan H.** (1982). Separation of human X and Y spermatozoa by albumin gradients and Sephadex chromatography. *Fertil. Steril.*, **37**: 104-07.
118. **Quinlivan W.L. and Sullivan H.** (1974). The ratios and separation of X and Y spermatozoa in human semen. *Fertil. Steril.*, **25**: 315-18.
119. **Rahman M.S., Kang K.H., Arifuzzaman S., Pang W.K., Ryu D.Y., Song W.H.** (2019). Effect of antioxidants on BPA-induced stress on sperm function in a mouse model. *Sci. Rep.*, **9**: 10584.
120. **Rahman M.S., Kwon W.S., Karmakar P.C., Yoon S.J., Ryu B.Y. and Pang M.G.** (2017a). Gestational exposure to bisphenol A affects the function and proteome profile of F1 spermatozoa in adult mice. *Environ. Health Perspect.*, **125**: 238-45.
121. **Rahman M.S., Kwon W.S. and Pang M.G.** (2017b). Prediction of male fertility using capacitation-associated proteins in spermatozoa. *Mol. Rep. Dev.*, **84**: 749-59.
122. **Rahman M.S., Kwon W.S., Lee J.S., Yoon S.J., Ryu B.Y. and Pang M.G.** (2015). Bisphenol-A affects male fertility via fertility-related proteins in spermatozoa. *Sci. Rep.*, **5**: 9169.
123. **Rahman M.S., Kwon W.S., Ryu D.Y., Khatun A., Karmakar P.C. and Ryu B.Y.** (2018). Functional and proteomic alterations of F1 capacitated spermatozoa of adult mice following gestational exposure to bisphenol A. *J. Pro. Res.*, **17**: 524-35.
124. **Rahman M.S., Kwon W.S., Yoon S.J., Park Y.J., Ryu B.Y. and Pang M.G.** (2016). A novel approach to assessing bisphenol-A hazards using an in vitro model system. *BMC Genomics*, **17**: 577.
125. **Rahman M.S., Lee J.S., Kwon W.S. and Pang M.G.** (2013). Sperm proteomics: road to male fertility and contraception. *Int. J. Endocrinol.*, **2013**: 360986. doi: 10.1155/2013/360986.
126. **Rathje C.C., Johnson E.E.P., Drage D., Patinioti C., Silvestri G. and Affara N.A.** (2019). Differential sperm motility mediates the sex ratio drive shaping mouse sex chromosome evolution. *Curr. Biol.*, **29**: 3692-98.
127. **Recio R., Robbins W.A., Borja-Aburto V., Moran-Martinez J., Froines J.R. and Hernandez R.M.** (2001). Organophosphorous pesticide exposure increases the frequency of sperm sex null aneuploidy. *Env. Heal. Per.*, **109**: 1237-40.
128. **Ross A., Robinson J.A. and Evans H.J.** (1975). Failure to confirm separation of X- and Y-bearing human sperm using BSA gradients. *Nature*, **253**: 354-55.
129. **Rubio C., Gil-Salom M., Simon C., Vidal F., Rodrigo L. and Minguez Y.** (2001). Incidence of sperm chromosomal abnormalities in a risk population: relationship with sperm quality and ICSI outcome. *Hum. Rep.*, **16**: 2084-92.
130. **Ruder A.** (1985). Paternal-age and birth-order effect on the human secondary sex ratio. *Am. J. Hum. Genet.*, **37**: 362-72.
131. **Ryan J.J., Amirova Z. and Carrier G.** (2002). Sex ratios of children of Russian pesticide producers exposed to dioxin. *Env. Health Perspect.*, **110**: A699-01.
132. **Salicioni A.M., Platt M.D., Wertheimer E.V., Arcelay E., Allaire A. and Sosnik J.** (2007). Signalling pathways involved in sperm capacitation. *Soc. Rep. Fertil. Suppl.*, **65**: 245-59.
133. **Samura O., Miharu N., He H., Okamoto E. and Ohama K.** (1997). Assessment of sex chromosome ratio and aneuploidy rate in motile spermatozoa selected by three different methods. *Hum. Rep.*, **12**: 2437-42.
134. **Sarkar S., Jolly D.J., Friedmann T. and Jones O.W.** (1984). Swimming behavior of X and Y human sperm. *Differentiation* **27**: 120-25.
135. **Schmidt W., Jenderny J., Hecher K., Hackeloer B.J., Kerber S. and Kochhan L.** (2000). Detection of aneuploidy in chromosomes X, Y, 13, 18 and 21 by QF-PCR in 662 selected pregnancies at risk. *Mol. Hum. Rep.*, **6**: 855-60.
136. **Scott C., De Souza F.F., Aristizabal V.H.V., Hethrington L., Krisp C. and Molloy M.** (2018). Proteomic profile of sex-sorted bull sperm evaluated by SWATH-MS analysis. *Ani. Rep. Sci.*, **198**: 121-28.
137. **Shannon M. and Handel M.A.** (1993). Expression of the Hprt gene during spermatogenesis: implications for sex-chromosome inactivation. *Biol. Rep.*, **49**: 770-78.
138. **Shettles L.B.** (1960). Nuclear morphology of human spermatozoa. *Nature*, **186**: 648-49.
139. **Shettles L.B.** (1970). Factors influencing sex ratios. *Int. J. Gynecol. Obstet.*, **8**: 643-47.

140. Siegel R.L., Miller K.D. and Jemal A. (2015). Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J. Clin.*, **65**: 5-29.
141. Sills E.S., Kirman I., Colombero L.T., Hariprashad J., Rosenwaks Z. and Palermo G.D. (1998). H-Y antigen expression patterns in human X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa. *Am. J. Rep. Immunol.*, **40**: 43-47.
142. Silvers W.K. and Wachtel S.S. (1977). H-Y antigen: behavior and function. *Sci.*, **195**: 956-60.
143. Smith B. E. and Braun, R. E. (2012). Germ cell migration across Sertoli cell tight junctions. *Sci.*, **338**: 798-02.
144. Smith J.L., Garry V.E., Rademaker A.W. and Martin R.H. (2004). Human sperm aneuploidy after exposure to pesticides. *Mol. Rep. Dev.*, **67**: 353-59.
145. Son W.H., Mohamed E.A., Pang W.K., Kang K.H., Ryu D.Y. and Rahman M.S. (2018). Effect of endocrine disruptors on the ratio of X and Y chromosome-bearing live spermatozoa. *Rep. Toxicol.*, **82**: 10-17.
146. Spriggs E.L., Rademaker A.W. and Martin R.H. (1996). Aneuploidy in human sperm: the use of multicolor FISH to test various theories of nondisjunction. *Am. J. Hum. Genet.*, **58**: 356-62.
147. Szyda J., Simianer H. and Lien S. (2000). Sex ratio distortion in bovine sperm correlates to recombination in the pseudoautosomal region. *Genet. Res.*, **75**, 53-59.
148. Templado C., Bosch M. and Benet J. (2005). Frequency and distribution of chromosome abnormalities in human spermatozoa. *Cytogenet. Genome Res.*, **111**: 199-05.
149. Terrell M.L., Hartnett K.P. and Marcus M. (2011). Can environmental or occupational hazards alter the sex ratio at birth? A systematic review. *Emerg. Health Threats J.*, **4**: 7109. .
150. Tesarik J. and Mendoza C. (1996). Genomic imprinting abnormalities: a new potential risk of assisted reproduction. *Mol. Hum. Rep.*, **2**: 295-98.
151. Ueda K. and Yanagimachi R. (1987). Sperm chromosome analysis as a new system to test human X- and Y-sperm separation. *Gamete Res.*, **17**: 221-28.
152. Umehara T., Tsujita N. and Shimada M. (2019). Activation of Toll-like receptor 7/8 encoded by the X chromosome alters sperm motility and provides a novel simple technology for sexing sperm. *PLoS Biol.*, **17**: e3000398.
153. Utsumi K., Hayashi M., Takakura R., Utaka K. and Iritani A. (1993). Embryo sex selection by a rat male-specific antibody and the cytogenetic and developmental confirmation in cattle embryos. *Mol. Rep. Dev.*, **34**: 25-32.
154. Van Dyk Q., Mahony M.C. and Hodgen G.D. (2001). Differential binding of X- and Y-chromosome-bearing human spermatozoa to zona pellucida *in vitro*. *Andrologia*, **33**: 199-05.
155. Van Kooij R.J. and Van Oost B.A. (1992). Determination of sex ratio of spermatozoa with a deoxyribonucleic acid-probe and quinacrine staining: a comparison. *Fertil. Steril.*, **58**: 384-86..
156. Van Larebeke N.A., Sasco A.J., Brophy J.T., Keith M.M., Gilbertson M. and Watterson A. (2008). Sex ratio changes as sentinel health events of endocrine disruption. *Int. J. Occup. Env. Health*, **14**: 138-43.
157. Van Munster E.B., Stap J., Hoebe R.A., Te Meerman G.J. and Aten J.A. (1999). Difference in volume of X- and Y-chromosome-bearing bovine sperm heads matches difference in ADN content. *Cytometry*, **35**: 125-28.
158. Van Opstal D., Los F.J., Ramlakhan S., Van Hemel J.O., Van Den Ouweland A.M. and Brandenburg H. (1997). Determination of the parent of origin in nine cases of prenatally detected chromosome aberrations found after intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Rep.*, **12**: 682-86.
159. Vina J. and Lloret A. (2010). Why women have more Alzheimer's disease than men: gender and mitochondrial toxicity of amyloid-beta peptide. *J. Alz. Dis.*, **20**(2): S527-33.
160. Visconti P.E. (2009). Understanding the molecular basis of sperm capacitation through kinase design. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **106**: 667-68.
161. Wang H.X., Flaherty S.P., Swann N.J. and Matthews C.D. (1994). Discontinuous Percoll gradients enrich X-bearing human spermatozoa: a study using double-label fluorescence in-situ hybridization. *Hum. Rep.*, **9**: 1265-70.
162. Ward W.S. and Coffey D.S. (1991). ADN packaging and organization in mammalian spermatozoa: comparison with somatic cells. *Biol. Rep.*, **44**: 569-74.
163. Williams B.J., Ballenger C.A., Malter H.E., Bishop F., Tucker M. and Zwingman T.A. (1993). Non-disjunction in human sperm: results of fluorescence in situ hybridization studies using two and three probes. *Hum. Mol. Genet.*, **2**: 1929-36.
164. Windsor D.P., Evans G. and White I.G. (1993). Sex predetermination by separation of X and Y chromosome-bearing sperm: a review. *Rep. Fertil. Dev.*, **5**: 155-71.
165. Woldrich J.M., Mallin K., Ritchey J., Carroll P.R. and Kane C.J. (2008). Sex differences in renal cell cancer presentation and survival: an analysis of the National Cancer Database, 1993-2004. *J. Urol.*, **179**: 1709-13.
166. Wu E.M., Wong L.L., Hernandez B.Y., Ji J.F., Jia W. and Kwee S.A. (2018). Gender differences in hepatocellular cancer: disparities in nonalcoholic fatty liver disease/steatohepatitis and liver transplantation. *Hep. Res.*, **4**: 66.
167. Xia Y., Cheng S., Bian Q., Xu L., Collins M.D. and Chang H.C. (2005). Genotoxic effects on spermatozoa of carbaryl-exposed workers. *Toxicol. Sci.*, **85**: 615-23.
168. Yan J., Feng H.L., Chen Z.J., Hu J., Gao X. and Qin Y. (2006). Influence of swim-up time on the ratio of X- and Y-bearing spermatozoa. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Rep. Biol.*, **129**: 150-54.
169. You Y.A., Kwon W.S., Saidur Rahman M., Park Y.J., Kim Y.J. and Pang M.G. (2017). Sex chromosome-dependent differential viability of human spermatozoa during prolonged incubation. *Hum. Rep.*, **32**: 1183-91.
170. You Y.A., Mohamed E.A., Rahman M.S., Kwon W.S., Song W.H. and Ryu B.Y. (2018). 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin can alter the sex ratio of embryos with decreased viability of Y spermatozoa in mice. *Rep. Toxicol.*, **77**: 130-36.
171. Zavaczki Z., Celik-Ozenci C., Ovari L., Jakab A., Sati G.L. and Ward D.C. (2006). Dimensional assessment of X-bearing and Y-bearing haploid and disomic human sperm with the use of fluorescence in situ hybridization and objective morphometry. *Fertil. Steril.*, **85**: 121-27.
172. Zhu J., Barratt C.L., Lippes J., Pacey A.A., Lenton E.A. and Cooke I.D. (1994). Human oviductal fluid prolongs sperm survival. *Fertil. Steril.*, **61**: 360-66.

HIỆN TRẠNG NUÔI BÒ SINH SẢN TẠI TỈNH TRÀ VINH

Trương Văn Hiếu^{1*} và Nguyễn Thị Kim Quyên¹

Ngày nhận bài báo: 30/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 04/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 24/04/2021

TÓM TẮT

Điều tra được tiến hành từ tháng 01 đến tháng 10 năm 2020 trên 180 hộ với số lượng 1.034 con bò, trong đó 507 con cái sinh sản tại 3 huyện Châu Thành, Cầu Ngang và Trà Cú, tỉnh Trà Vinh nhằm đánh giá hiện trạng nuôi bò sinh sản tại nông hộ. Kết quả cho thấy cơ cấu giống: bò cái LS chiếm 56,4%, lai F₁(Cha x LS) là 30,6% còn lại các giống lai F₁ BBB, Brahman và Droughtmaster. Số hộ phỏng vấn có chuồng bò kiên cố là 80,6%, phương thức nuôi nhốt hoàn toàn 61,1%, theo dõi bò động dục 71,1%, ghi chép ngày phối giống 91,1%, đỡ đẻ bò cái lúc sinh 90% và gieo tinh nhân tạo là 95%. Một số kỹ thuật quan trọng chưa được các hộ quan tâm như tách bò mẹ sắp sinh con (31,1%), cai sữa bê sớm lúc ≤ 4 tháng tuổi (37,2%), tiêm phòng vaccine (36,1%) và tẩy giun sán (40,5%). Đa số các hộ nuôi bò sinh sản đều sử dụng thức ăn thô là cỏ trồng, rơm khô và bổ sung cám gạo hoặc thức ăn hỗn hợp cho bò cái mang thai 2 tháng trước khi đẻ và bò mẹ 4 tháng nuôi con. Tuổi động dục và phối giống lần đầu, thời gian phối lại sau đẻ, khoảng cách lứa đẻ của bò LS lần lượt là 18,8, 20,4 tháng, 116,6, 397,5 ngày và bò lai Cha lần lượt là 20,1, 23,6 tháng, 132,1, 414,9 ngày. Các hộ chăn nuôi bò sinh sản có những khó khăn chính như thiếu cỏ xanh, rơm khô vào mùa khô và bò phối giống nhiều lần không đậu thai.

Từ khóa: *Hiện trạng chăn nuôi bò, cơ cấu giống, thức ăn, sinh sản, tỉnh Trà Vinh.*

ABSTRACT

Current status of the cows calved production in Tra Vinh province

The investigation was carried out from January to October 2020 on 180 households with 1,034 cattle, which 507 raising cows in three districts including Chau Thanh, Cau Ngang and Tra Cu, Tra Vinh province to evaluated the cows production system in households. The results indicated that breeding structure: Crossbred Sindhi (LS) cows accounted for 56.4%, crossbred Charolais F₁(Cha x LS) was 30.6%, the rest were crossbred of BBB, Brahman and Droughtmaster. The permanent animal houses (80.6%), cattle in the captive (61.1%), following oestrus detection (71.1%), recording the insemination day (91.1%), delivery (90%) and artificial insemination for the cows (95%). Some important techniques have not cared such as detached pregnant cows near reproduction (31.1%), early weaning at ≤ 4 months (37.2%), vaccination (36.1%) and parasite prevention (40.5%) in the households. Almost all the raising cow households used roughage feed that was grass, rice straw and added rice bran or mixed feed for 2 months-pregnant cows and cows after 4-months of calving. The age at first estrus and first insemination, the duration of successful cross-breeding after calving and calving intervals of crossbred LS cows were 18.1 and 20.4 months, 116.6 and 397.5 days, respectively; crossbred Cha cows were 20.1 and 23.6 months, 132.1 and 414.9 days, respectively. The main problems in the raising cow households such as lack of growing grass, rice straw in dry season and cows mating many times without conception.

Keywords: *Cattle production system, breeding structure, feed, reproduction, Tra Vinh province.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trà Vinh có điều kiện phát triển chăn nuôi bò thuận lợi: nguồn thức ăn, phụ phẩm nông nghiệp dồi dào và là một trong những nghề

chăn nuôi truyền thống. Tổng diện tích trồng lúa ước tính 224.348 ha, cây bắp 3.748 ha, khoai lang 1.134 ha và cây đậu phộng 4.336 ha (Cục thống kê, 2019). Như vậy, hàng năm cung cấp một lượng phụ phẩm nông nghiệp khá lớn làm thức ăn nuôi bò. Nguồn phụ phẩm này cần được sử dụng hiệu quả trong chăn nuôi vì đây

¹ Trường Đại học Trà Vinh

* Tác giả liên hệ: TS. Trương Văn Hiếu, Trường Đại học Trà Vinh, Điện thoại: 0919375328; Email: vanhieu@tvu.edu.vn.

là một lợi thế để phát triển nuôi bò của tỉnh. Ngoài nguồn phụ phẩm, một số giống cỏ tại địa phương như cỏ Long Tây, cỏ nước,... và trồng cỏ cao sản để nuôi bò. Theo Phạm Văn Quyến (2018) tỷ lệ các hộ trồng cỏ nuôi bò chiếm 93,3% với diện tích 0,18 ha/hộ, cho thấy người chăn nuôi bò rất quan tâm đến nguồn thức ăn.

Trà Vinh là tỉnh có số lượng bò đứng thứ 2 của đồng bằng sông Cửu Long. Theo báo cáo của Chi cục Chăn nuôi và Thú y số lượng bò của tỉnh đến tháng 7/2020 là 213.450 con. Bò nuôi nhiều nhất tại 3 huyện: Cầu Ngang 48.638 con, Trà Cú 36.364 con và Châu Thành 35.256 con (Cục thống kê, 2019), tỷ lệ bò lai tại Trà Cú là 95,75%, trong đó lai Zebu chiếm 65,96% và lai khác chiếm 29,97% (Phạm Văn Quyến, 2018). Nghiên cứu của Phạm Văn Quyến 2016-2018 đã sử dụng tinh bò Red Angus (RA), Brahman (Br), Droughtmaster (DM) lai tạo với bò lai Sind (LS) nuôi tại Trà Cú cho biết con lai sinh trưởng và sinh sản tốt. Tuy nhiên, sự phát triển đàn bò tự phát theo nhu cầu thị trường, từ đó người chăn nuôi lai tạo đàn bò cái lai Zebu hoặc lai hướng thịt với bò đực chuyên thịt và chọn bò cái tiếp tục nuôi sinh sản, chuyển sang phương thức chăn nuôi thâm canh, thiếu đầu tư về khoa học kỹ thuật, nuôi bò còn mang tính tự cung, tự cấp nên năng suất còn thấp và hiệu quả chưa cao. Để thực hiện chiến lược phát triển bò thịt chất lượng cao, cần đánh giá hiện trạng chăn nuôi bò sinh sản của tỉnh để làm cơ sở khoa học phát triển chăn nuôi bò thịt chất lượng cao tại địa phương.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian

Nghiên cứu được tiến hành trên 180 hộ nuôi bò sinh sản tại 3 xã có đàn bò nhiều nhất trong mỗi huyện: xã Thanh Mỹ - Châu Thành, Long Sơn - Cầu Ngang và Phước Hưng - Trà Cú đại diện cho các hộ chăn nuôi bò sinh sản của tỉnh Trà Vinh, từ tháng 01/2020 đến tháng 10/2020.

2.2. Phương pháp

Sử dụng phương pháp chọn mẫu ngẫu nhiên và chọn 180 hộ chăn nuôi bò sinh sản,

tại 3 xã, mỗi xã 60 hộ. Các hộ được chọn có số lượng bò cái ít nhất là 3 con.

Tiến hành điều tra bằng phương pháp phỏng vấn trực tiếp, hồi cứu số liệu với hộ nuôi bò sinh sản theo nội dung phiếu phỏng vấn đã thiết kế sẵn như: giống bò nuôi sinh sản, quản lý, chăm sóc nuôi dưỡng bò sinh sản, các loại và số lượng thức ăn, năng suất sinh sản và những khó khăn. Một số chỉ tiêu sinh sản của bò cái được phỏng vấn hồi cứu bằng bản hỏi có sẵn và thu thập thông tin trên cá thể bò ở 2 lứa đẻ gần nhất. Song song đó, kết hợp quan sát thực tế, ghi nhận các thông tin theo các chỉ tiêu đã thiết kế sẵn liên quan đến nuôi bò sinh sản về: Cơ cấu giống bò của nông hộ và đàn bò cái sinh sản; Quản lý, chăm sóc nuôi dưỡng bò cái sinh sản; Các loại và tỷ lệ sử dụng thức ăn trong khẩu phần nuôi bò sinh sản của nông hộ; Một vài chỉ tiêu sinh sản của đàn bò cái; Khó khăn chính trong chăn nuôi bò sinh sản.

Tuổi động dục lần đầu (TĐDLĐ), tuổi phối giống (TPGLĐ) và tuổi đẻ lần đầu (TĐLĐ) lần lượt là số tháng tính từ khi bò cái được sinh ra cho đến ĐDLĐ, PGLĐ và ĐLĐ.

Thời gian phối giống đậu thai sau khi đẻ (TGPGĐTĐ, ngày) là số này được tính từ khi bò đẻ cho đến ngày phối giống đậu thai.

Khoảng cách lứa đẻ (KCLĐ, ngày) là số ngày từ khi bò đẻ lần này đến đẻ lần tiếp theo.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phương pháp thống kê mô tả để xác định các giá trị trung bình, độ lệch chuẩn bằng phần mềm Minitab 16.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Cơ cấu giống của đàn bò sinh sản

Kết quả bảng 1 cho thấy cơ cấu giống bò nuôi bò sinh sản cho thấy giống bò lai hướng thịt chiếm tỷ lệ cao nhất (71,47%) và bò LS chiếm 28,53%. Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Phạm Văn Quyến (2018): bò Zebu chiếm 65,96% và bò lai hướng thịt chiếm 29,79%. Sự khác biệt này do thị trường giá bò lai hướng thịt cao gấp đôi so với bò lai Zebu

nên người chăn nuôi chỉ phối giống bò chuyên thịt phổ biến là Charolais (Cha), Blanc-Blue-Belgium (BBB). Cơ cấu các giống bò của nông hộ, bò lai hướng thịt như lai F_1 (Cha x LS) chiếm tỷ lệ cao nhất 46,61%, kế đến bò LS 28,53%, bò lai F_1 (BBB x LS) 19,73% và cả bò F_1 (Bra x LS), F_1 (DM x LS) 5,13%. Kết quả cho thấy bò lai hướng thịt được ưa chuộng tại tỉnh Trà Vinh hiện nay là bò lai Cha và BBB.

Bảng 1. Cơ cấu đàn bò cái sinh sản của nông hộ

Giống bò	Tổng đàn		Bò cái sinh sản	
	n	Tỷ lệ (%)	n	Tỷ lệ (%)
Lai Sind (LS)	295	28,53	286	56,41
F_1 (ChaxLS)	482	46,61	155	30,57
F_1 (BBBxLS)	204	19,73	39	7,69
F_1 (BrxLS)/(DMxLS)	53	5,13	27	5,33
Bò cái sinh sản	1.034	-	507	49,03

Trong cơ cấu đàn bò, bò mẹ sinh sản chiếm 49,03%. Kết quả này tương đương với nghiên cứu của Phạm Văn Quyến (2018) tỷ lệ bò sinh sản tại Trà Cú tỉnh Trà Vinh chiếm 49,17%; Ngô Thị Diệu và ctv (2016) tỷ lệ bò đã đẻ ở Quảng Bình chiếm 50%; Nguyễn Bình Trường và Nguyễn Văn Thu (2018) tỷ lệ nuôi bò cái sinh sản và bán lấy thịt tại An Giang chiếm 43,9%. Kết quả điều tra về cơ cấu giống bò nuôi sinh sản cho thấy tỷ lệ bò mẹ giống LS cao nhất chiếm 56,41%, bò lai F_1 (ChaxLS) 30,57%, bò F_1 (BBBxLS) 7,69% và bò F_1 (BrxLS), F_1 (DMxLS) là 5,33%. Tỷ lệ bò cái đã đẻ LS thấp hơn so với khảo sát của Phạm Văn Quyến (2018) công bố 65,96% và bò lai khác là 29,79%. Điều này cho thấy bò nuôi sinh sản F_1 lai bò hướng thịt đang tăng chiếm tỷ lệ 43,59%; phù hợp với nhu cầu thị trường và giá trị kinh tế từ giống bò lai hướng thịt mang lại cho người chăn nuôi.

3.2. Quản lý, chăm sóc nuôi dưỡng bò cái sinh sản

Kết quả bảng 2 cho thấy tỷ lệ hộ có chuồng bò kiên cố chiếm 80,56%: nền chuồng bằng xi măng, cột bê tông, lợp mái tôn, máng ăn kiên cố và có nơi thu gom chất thải. Tỷ lệ hộ có chuồng bò tạm bợ, bán kiên cố chiếm 19,44%; nền chuồng phổ biến bằng xi măng, cột bằng gỗ, mái lợp lá hoặc tôle, máng ăn tận dụng

bằng gỗ hoặc vật dụng khác. Vậy, các hộ chăn nuôi bò đã đầu tư chuồng trại kiên cố ở mức khá, chứng tỏ người dân có ý thức cao về xây dựng chuồng trại để thuận lợi cho chăm sóc nuôi dưỡng bò.

Bảng 2. Chăm sóc nuôi dưỡng bò cái sinh sản

Chi tiêu		180 hộ	Tỷ lệ (%)
Chuồng trại	Tạm bợ, bán kiên cố	35	19,44
	Kiên cố	145	80,56
Phương thức nuôi	Bò nuôi nhốt	110	61,11
	Bò nuôi bán chăn thả	70	38,89
Quản lý, chăm sóc	Theo dõi động dục	128	71,11
	Ghi ngày phối giống	164	91,11
	Dự kiến ngày bê sinh	172	95,55
	Tách bò mẹ sắp đẻ	56	31,11
	Đỡ đẻ bò cái lúc sinh	162	90
	Cai sữa ≤4 tháng tuổi	67	37,22
	Tiêm phòng vaccine	65	36,11
Phối giống	Tẩy giun, sán	73	40,55
	Gieo tinh nhân tạo	171	95,0
Xử lý phân	Bò đực phối giống	9	5,0
	Phoi khô (80%), bón đồng cỏ (20%)	180	100

Số hộ chăn nuôi bò quan tâm đến quản lý, chăm sóc và nuôi dưỡng đàn bò. Cụ thể: bò nuôi nhốt hoàn toàn là 61,11%, theo dõi và phát hiện động dục (71,11%), thụ tinh nhân tạo (95%), ghi chép ngày phối giống (91,11%), dự kiến ngày bò sinh bê (95,55%) và đỡ đẻ cho bò lúc sinh là 90%. Bên cạnh đó một số kỹ thuật khác ảnh hưởng lớn đến năng suất sinh sản của bò các hộ chưa thực hiện tốt như tách bò mẹ khỏi đàn trước sinh bê con, cai sữa bê sớm lúc ≤ 4 tháng tuổi, tiêm phòng vaccine và tẩy giun sán lần lượt là 31,11; 37,22; 36,11 và 40,55%. Đa số các hộ chăn nuôi chưa quan tâm đến tiêm phòng vaccine phòng bệnh lở mồm long móng (LMLM) và tụ huyết trùng vì người chăn nuôi cho biết tiêm vaccine ảnh hưởng đến bò đang mang thai như sảy thai hoặc không đậu thai và bê con xù lông chậm lớn. Kết quả này phù hợp với báo cáo Sở NN&PTNT (2019) đàn gia súc (heo, bò) tiêm phòng bệnh LMLM là 57,96% chủ yếu trên đàn heo. Đối với tẩy giun sán, những bò mẹ rất ốm hoặc tiêu chảy thường xuyên và gọi

thú y điều trị thì mới thực hiện tẩy giun sán. Đây là hạn chế cần khắc phục nhằm nâng cao hiệu quả chăn nuôi bò. Nuôi bò sinh sản tại Quảng Bình có tỷ lệ tiêm phòng 97,5% và tẩy giun sán 75,85% (Ngô Thị Diệu và ctv, 2016). Đàn bò thịt tiêm phòng vaccine nuôi tại An Giang, Đồng Tháp lần lượt là 93,25 và 92,65% (Nguyễn Ni Lê và ctv, 2017; Nguyễn Văn Hón và Nguyễn Thị Hồng Nhân, 2017). Nguyễn Thị Mỹ Linh và ctv (2019) đàn bò sinh sản tiêm phòng 97,2% và tẩy giun 77,8%.

Tất cả các hộ chăn nuôi bò xử lý chất thải bằng cách phơi khô phân bò bán là 100% với giá thành 8.000-10.000 đồng/bao loại 25kg. Do các hộ chăn nuôi gia đình nhỏ lẻ, nguồn phân bò hàng ngày không nhiều, điều kiện kinh tế còn khó khăn nên chưa đầu tư xây dựng biogas. Phương pháp xử lý này tốn nhiều công lao động, giá thành thấp và còn gây ô nhiễm môi trường. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Văn Hón và Nguyễn Thị Hồng Nhân (2017) xử lý phân bò phơi khô bán là 100%. Đề nghị đơn vị quản lý chuyên môn phải tuyên truyền và có chính sách hỗ trợ để người chăn nuôi bò áp dụng rộng rãi hệ thống xử lý phân bò bằng biogas hoặc ủ phân vi sinh hoặc kết hợp nuôi trùn quế nhằm tái tạo sử dụng nguồn chất thải này có hiệu quả hơn và làm giảm ô nhiễm môi trường theo

Luật Chăn nuôi.

Các hộ áp dụng phương pháp phối giống cho bò bằng gieo tinh nhân tạo chiếm 95%. Điều này cho thấy đội ngũ dẫn tinh viên địa phương đủ về số lượng và chất lượng. Có được kết quả này là tinh triển khai Quyết định 50/QĐ-TTg ngày 14/09/2014 của Thủ tướng Chính phủ về chính sách hỗ trợ nâng cao hiệu quả chăn nuôi nông hộ giai đoạn 2015-2020; bao gồm đào tạo dẫn tinh viên, hỗ trợ vật tư gieo tinh, tinh bò, dụng cụ bảo quản tinh, người chăn nuôi chỉ trả tiền công phối giống. Kết quả này tương đương với nghiên cứu của Ngô Diệu Nhi và ctv (2016) là 94,15%; Nguyễn Thị Mỹ Linh và ctv (2019) là 91,6%. Một số rất ít hộ chăn nuôi bò phối giống bằng nháy trực tiếp chiếm 5% được áp dụng cho bò cái tơ phối giống lần đầu hoặc phối giống hơn ≥ 2 lần chưa đậu thai. Như vậy, phối giống trên đàn bò bằng phương pháp thụ tinh nhân tạo là hướng đi chung của các hộ chăn nuôi bò sinh sản hiện nay.

3.3. Khẩu phần thức ăn chăn nuôi bò sinh sản

Bò sinh sản được nuôi nhốt tại chuồng cho ăn khẩu phần chính là cỏ xanh, rom khô và bổ sung cám gạo hoặc TAHH cho bò cái mang thai 2 tháng trước khi đẻ và bò mẹ 4 tháng nuôi con. Một số ít hộ sẵn có hoặc mua thân lá cây đậu phộng khô cho ăn bổ sung (Bảng 3).

Bảng 3. Loại và tỷ lệ sử dụng thức ăn trong khẩu phần nuôi bò sinh sản tại hộ

Loại thức ăn	Bò chò phối, mang thai		Bò nuôi con	
	Tỷ lệ hộ sử dụng TA (%)	Lượng TA (kg/con/ngày)	Tỷ lệ hộ sử dụng TA (%)	Lượng TA (kg/con/ngày)
Cỏ trồng	100	19,92±3,09	100	21,67±3,11
Rom khô	100	3,71±1,65	100	3,14±1,27
Thân lá đậu phộng khô	24,44	1,80±0,45	24,44	2,14±0,55
Cám gạo	71,11	0,39±0,13	53,33	0,55±0,22
TAHH	28,89	0,36±0,13	46,67	0,51±0,20

Loại thức ăn thô chủ lực vẫn là cỏ trồng và rom khô có 100% hộ sử dụng nuôi bò sinh sản. Bò sinh sản cho ăn cỏ trồng 19,9-21,7 kg/con, thấp hơn so với khảo sát trên bò sinh sản tại Quảng Ngãi của Nguyễn Thị Mỹ Linh và ctv (2019) là 24,8-25,0 kg/con. Các hộ nuôi bò sinh sản sử dụng rom khô rất nhiều (3,14-3,71 kg/con), cao hơn so với Nguyễn Thị Mỹ Linh

và ctv (2019) là 1,74-1,83 kg/con. Tất cả các hộ chăn nuôi đều dự trữ rom khô làm thức ăn cho bò cái và cho bò ăn rom khô mỗi ngày. Rom khô có giá trị dinh dưỡng rất thấp, cho ăn nhiều trong khẩu phần và lâu dài làm thiếu chất dinh dưỡng cho bò cái sinh sản. Ngoài ra, 24,4% hộ phồng vắn bổ sung thân lá cây đậu phộng phơi khô 1,8-2,14 kg/con/ngày cho bò

cái mang thai vào những tháng cuối kỳ hoặc bò cái nuôi con. Lý do hộ nuôi bò sử dụng thân lá cây đậu phộng khô còn thấp, do số hộ trồng cây đậu phộng ít và chỉ tập trung một vài xã trong huyện. Các hộ sử dụng thức ăn tinh là cám gạo nhiều hơn so với TÀHH, do giá thành cám gạo thấp hơn; nhưng các chất dinh dưỡng trong cám gạo thấp hơn so với TÀHH. Cám gạo bổ sung cho bò cái chờ phối, mang thai là 0,39 kg/con, thấp hơn so với bò nuôi con là 0,55 kg/con. Tương tự, TÀHH bổ sung cho bò chờ phối, mang thai là 0,36 kg/con thấp hơn so với bò cái nuôi con là 0,51 kg/con. Cho thấy các hộ phỏng vấn đều quan tâm đến bò sau đẻ và nuôi con thể hiện tăng số lượng cám gạo và TÀHH; tuy nhiên sự chênh lệch này không đáng kể. Kết quả bổ sung TÀHH thấp hơn so nghiên cứu của Nguyễn Thị Mỹ Linh và ctv (2019) bò mang thai 0,94 kg/con và bò sau đẻ là 0,7 kg/con. Kết quả trên cho thấy khẩu phần thức ăn chủ yếu cỏ, rơm khô phù hợp cho giống bò lai Zebu hơn so với những giống bò lai hướng thịt. Trong khi đó các nguồn thức ăn giàu đạm, vẫn chưa được chú trọng nuôi bò sinh sản lai hướng thịt. Việc thiếu chất đạm trong khẩu phần bò sinh sản sẽ ảnh hưởng đến khối lượng bê sơ sinh, sinh trưởng của bê trong giai đoạn bú sữa và thời gian động dục lại sau khi đẻ (Nguyễn Thị Mỹ Linh và ctv, 2019). Như vậy, các hộ cần quan tâm đến tăng số lượng và chất lượng thức ăn cho bò cái sinh sản đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng theo từng giống bò và theo từng giai đoạn sinh sản nhằm tăng năng suất sinh sản.

3.4. Năng suất sinh sản của đàn bò cái

Tuổi động dục lần đầu trung bình của bò LS là 18,8 tháng, sớm hơn so với bò cái lai Cha (20,1 tháng). Tuổi phối giống lần đầu của bò LS là 20,4 tháng, sớm hơn so với bò cái lai Cha (23,6 tháng). Vậy, con lai hướng thịt có TGPGLD dài hơn so bò LS. Kết quả này tương đương với công bố của Nguyễn Bình Trường và Nguyễn Văn Thu (2018): TĐDLĐ bò cái lai Zebu là 20,5 tháng và TPGLĐ là 21,7 tháng. Kết quả này sớm hơn so với công bố của Ngô Thị Diệu và ctv (2016) TĐDLĐ của bò cái lai Zebu là 24,4-25,9 tháng và TPGLĐ là 24,9-26,3 tháng.

Thời gian mang thai của đàn bò LS và lai Cha ở các hộ điều tra trung bình 282,2-282,9 ngày, tương đương với kết quả của Nguyễn Xuân Bả và ctv (2017); Hoàng Văn Trường và Nguyễn Tiến Vòn (2008); Đinh Văn Tuyền và ctv (2008).

Bảng 4. Năng suất sinh sản của đàn bò cái lai

Chỉ tiêu	Lai Sind		Lai Charolais	
	n	Mean±SD	n	Mean±SD
TĐDLĐ (tháng)	200	18,8±3,10	150	20,1±4,77
TPGLĐ (tháng)	200	20,4±3,22	150	23,6±4,75
TGMT (ngày)	200	282,2±8,03	150	282,9±8,38
TĐLD (tháng)	200	29,8±3,22	150	31,0±4,75
PGĐTĐ (ngày)	170	116,6±35,6	120	132,1±37,63
KCLĐ (ngày)	170	397,5±35,4	120	414,9±39,48

TĐLD của bò LS là 29,8 tháng, bò lai Cha là 31 tháng, tùy thuộc vào kết quả phối giống lần đầu. Kết quả này là sớm hơn so với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Xuân Bả và ctv (2017) (33,3 tháng); Hoàng Văn Trường và Nguyễn Tiến Vòn (2008) (43,1-47,2 tháng); Đinh Văn Tuyền và ctv (2008) (38,3 tháng trên bò cái Br và 39,2 tháng trên bò cái DM); Đinh Văn Cải (2006) (34,84 tháng); Ngô Thị Diệu và ctv (2016) (34,96 tháng).

Thời gian phối giống đậu thai sau đẻ tương đối tốt: của bò LS là 116,6 ngày và bò lai Cha là 132,1 ngày. Tương tự, KCLĐ trung bình của bò LS là 397,5 ngày, ngắn hơn bò lai Cha (414,9 ngày); tương đương với kết quả nghiên cứu của Ngô Thị Diệu và ctv (2016) là 423-440 ngày; Nguyễn Ngọc Hải và ctv (2017) là 13,9 tháng và Nguyễn Thị Mỹ Linh và ctv (2019) là 391,8 ngày. Nhưng thấp hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Bình Trường và Nguyễn Văn Thu (2018) là 14,7 tháng; Nguyễn Xuân Bả và ctv (2018) là 15,9 tháng. Vậy, KCLĐ và TGĐDLĐ là hợp lý. Do người nuôi bò có kinh nghiệm chăm sóc nuôi dưỡng, quản lý đàn bò sinh sản tốt và kỹ năng hành nghề của lực lượng dẫn tinh viên tốt.

3.5. Một số khó khăn chính trong chăn nuôi bò sinh sản của nông hộ

Qua Bảng 5 cho thấy, các hộ chăn nuôi bò sinh sản có những khó khăn chính như thiếu cỏ xanh vào mùa khô (100%) là do hiện tượng

xâm nhập mặn, đồng thời nguồn nước ngầm sụt giảm gây thiếu nước tưới đồng cỏ vào mùa khô và thiếu rom khô vào mùa khô (100%). Vì vậy, hộ nuôi bò phải biết áp dụng kỹ thuật ủ chua cỏ, thức ăn dự trữ vào mùa khô phục vụ nuôi bò. Hơn nữa, hiện tượng xâm nhập mặn tác hại đến diện tích trồng lúa nên thiếu rom khô vào mùa khô dẫn đến giá rom khô ngày càng cao (≥ 2.400 đồng/kg). Ngoài ra, hầu hết các hộ phỏng vấn trả lời không biết chế biến dự trữ thức ăn (100%). Mặt khác, đa số các hộ khảo sát cho biết bò cái phối giống > 1 lần không đậu thai (48,3%) và số hộ có bò đẻ mổ do thai lớn (6,11%). Quan sát thực địa và ý kiến cán bộ quản lý chuyên môn tại địa phương bò phối giống nhiều lần không đậu thai là do bò cái bị viêm đường sinh dục là phổ biến hoặc một số bò cái động dục yếu hoặc chậm động dục. Mặt khác, bò cái đẻ mổ do bò mẹ giống lai bò hướng thịt có khung xương chậu nhỏ. Tương tự, bò cái tở gieo tinh giống bò BBB hoặc người chăn nuôi cho ăn TAHH nhiều vào giai đoạn mang thai cuối kỳ dẫn đến bê con có khối lượng lớn. Vấn đề này càng tăng trong thời gian tới do bò mẹ con lai hướng thịt nhiều vì thị trường hiện nay ưa chuộng bò lai BBB. Vậy, người nuôi bò cần áp dụng kỹ thuật chăm sóc nuôi dưỡng, sử dụng thức ăn theo giai đoạn bò sinh sản, phòng và trị bệnh sinh sản trên bò cái.

Bảng 5. Khó khăn chính trong nuôi bò sinh sản

Khó khăn	Số hộ	Tỷ lệ (%)
Thiếu cỏ xanh vào mùa khô	180	100
Thiếu rom khô vào mùa khô	180	100
Thiếu kỹ thuật chế biến dự trữ TA	180	100
Phối giống >1 lần không đậu thai	87	48,3
Đẻ mổ do thai lớn	11	6,11

Như vậy, nuôi bò sinh sản được xem là hướng đi tiềm năng phát triển kinh tế hộ gia đình tại Trà Vinh. Nghề này tuy còn gặp một số khó khăn nhưng nếu được tập huấn kỹ thuật chế biến dự trữ thức ăn, chăm sóc nuôi dưỡng bò sinh sản, hỗ trợ chuyên môn của cán bộ thú y trong phòng và trị bệnh là định hướng phát triển kinh tế bền vững tại địa phương trong thời gian tới.

4. KẾT LUẬN

Nuôi bò sinh sản trong nông hộ có cơ cấu bò LS 28,5% và bò lai hướng thịt (71,5%) đang được ưa chuộng tại tỉnh Trà Vinh mà hiện nay là bò lai Cha và BBB. Đàn bò cái sinh sản chiếm 49,03% đàn bò khảo sát, trong đó bò LS chiếm 56,4%; lai Cha chiếm 30,6% và các bò lai hướng thịt khác.

Đa số các hộ nuôi bò sinh sản đều xây dựng chuồng bò kiên cố (80,6%), phương thức nuôi nhốt hoàn toàn (61,1%), theo dõi và phát hiện động dục (71,1%), ghi chép ngày phối giống (91,1%), dự kiến ngày bò sinh bê (95,6%), đỡ đẻ cho bò lúc sinh (90%), gieo tinh nhân tạo (95%). Một số kỹ thuật quan trọng chưa được các hộ quan tâm như tách bò mẹ ra khỏi đàn trước khi sinh, cai sữa sớm bê con, tiêm phòng vaccine và tẩy giun sán trên đàn bò.

Thức ăn chính trong khẩu phần nuôi bò sinh sản là cỏ xanh, rom khô và bổ sung thức ăn tinh cho bò cái mang thai trong 2 tháng trước khi đẻ và bò mẹ 4 tháng nuôi con.

Đàn bò LS có năng suất sinh sản tốt: TPGLĐ là 20,4 tháng và KCLĐ là 397,5 ngày. Tương tự, bò lai Cha TPGLĐ là 23,6 tháng và KCLĐ là 414,9 ngày.

Một số khó khăn chính của hộ nuôi bò sinh sản là thiếu thức ăn: cỏ xanh và rom khô vào mùa khô; thiếu kỹ thuật chế biến dự trữ thức ăn và bò cái phối giống nhiều lần không đậu thai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Xuân Bả, Đinh Văn Dũng, Nguyễn Thị Mùi, Nguyễn Hữu Văn, Phạm Hồng Sơn, Hoàng Thị Mai, Trần Thanh Hải, Rowan Smith, David Parsons và Jeff Corfield (2015). Hiện trạng hệ thống chăn nuôi bò sinh sản trong nông hộ ở vùng Duyên hải Nam Trung Bộ, Việt Nam, Tạp chí NN&PTNT, 21: 107-19.
2. Đinh Văn Cải (2006). Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu chọn lọc và lai tạo nhằm nâng cao khả năng sản xuất bò thịt ở Việt Nam, Phân viện Chăn nuôi Nam bộ.
3. Cục Thống kê Trà Vinh (2019). Báo cáo tình hình kinh tế - xã hội năm 2019. Số 265/BC-CTK, ngày 27/12/2019: 3-7.
4. Ngô Thị Diệu, Đinh Văn Dũng, Trần Quang Trung, Diệp Thị Lệ Chi và Nguyễn Xuân Bả (2016). Hệ thống chăn nuôi bò, khả năng sinh sản của bò cái lai và sinh trưởng của bê lai Zebu nuôi tại Quảng Bình. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 210: 70-77.

5. Nguyễn Ngọc Hải, Chế Minh Tùng, Nguyễn Kiên Cường và Phí Như Liễu (2017). Khả năng sinh sản và nghiên cứu ứng dụng giải pháp hormone để khắc phục bệnh chậm sinh ở bò Brahman nhập nội, Tạp chí KHCV Chăn nuôi, 76: 84-90.
6. Nguyễn Văn Hón và Nguyễn Thị Hồng Nhân (2017). Tình hình chăn nuôi bò tại huyện Tân Hồng, tỉnh Đồng Tháp. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 216: 73-77.
7. Nguyễn Ni Lê, Đinh Văn Dũng, Đỗ Võ Anh Khoa, Lâm Phước Thành và Nguyễn Thị Hồng Nhân (2017). Đánh giá kỹ thuật chăn nuôi và năng suất đàn bò thịt tại tỉnh An Giang. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 216: 33-38.
8. Phạm Văn Quyến (2018). Nghiên cứu xây dựng mô hình lai tạo và nuôi dưỡng bò lai hướng thịt tại huyện Trà Cú, tỉnh Trà Vinh. Báo cáo tổng kết đề tài, Sở Khoa học & Công nghệ Trà Vinh.
9. Sở Nông nghiệp & PTNT Trà Vinh (2019). Báo cáo tổng kết thực hiện kế hoạch phát triển nông nghiệp nông thôn năm 2019 và triển khai kế hoạch năm 2020. Số 52/BC-SNN, ngày 31/01/2020: 5
10. Nguyễn Bình Trường và Nguyễn Văn Thu (2018). Hiện trạng chăn nuôi bò thịt ở An Giang: Sinh sản và sinh trưởng. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 229: 74-79.
11. Hoàng Văn Trường và Nguyễn Tiến Vón (2008). Kết quả nghiên cứu khả năng thích nghi với điều kiện chăn nuôi nông hộ ở Bình Định của bò thịt Brahman (nhập từ Cu Ba), Tạp chí Nông nghiệp và PTNT, 2: 33-37.
12. Đinh Văn Tuyên, Nguyễn Quốc Đạt, Nguyễn Văn Hùng và Nguyễn Thanh Bình (2008). Một số chỉ tiêu sinh sản của bò Brahman và Droughtmaster ngoại nhập 3 lứa đầu nuôi tại TP Hồ Chí Minh và khả năng sinh trưởng của bê sinh ra từ chúng, Tạp chí KHCV Chăn nuôi, 5: 16-23.

KHẢ NĂNG PHÁT HIỆN CỦA QUE THỬ NHANH VNUA-BQT ĐỂ CHẨN ĐOÁN CÓ THAI SỚM Ở BÒ SỮA

Nguyễn Thị Hải¹, Nguyễn Hoàng Thịnh², Bùi Huy Doanh², Phạm Thị Kim Anh³ và Phạm Kim Đăng^{2*}

Ngày nhận bài báo: 30/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 12/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 24/04/2021

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành để đánh giá khả năng phát hiện của que thử VNUA-BQT trong chẩn đoán có thai sớm ở bò sữa. Giải nồng độ progesteron 2,0 ng/ml, 2,5 ng/ml, 3 ng/ml cùng cố trong mẫu trắng được chuẩn bị để đánh giá ngưỡng phát hiện, độ đặc hiệu, độ chọn lọc và độ xác thực của kit. Tổng số 60 bò sữa được lấy mẫu ở các thời điểm 22, 24, 26 ngày sau phối giống để đánh giá các chỉ tiêu trên thực địa. Kết quả nghiên cứu cho thấy que thử VNUA-BQT có khả năng phát hiện tối thiểu ở nồng độ 2,5 ng/ml. Kết quả nghiên cứu trong phòng thí nghiệm và thử nghiệm trên mẫu thực cho thấy que thử VNUA-BQT đạt yêu cầu một test nhanh định tính với độ xác thực là 97,5%, độ đặc hiệu là 100%, độ nhạy là 95%, không có độ lệch dương và độ lệch âm cao nhất là 4,8%. Nếu sử dụng mẫu máu thì thời điểm phát hiện chính xác nhất từ ngày thứ 26 tính từ ngày phối giống.

Từ khóa: Que thử thai nhanh, VNUA-BQT, máu, sữa, bò.

ABSTRACT

Preliminary evaluation the detectability of the VNUA-BQT test for early of pregnancy diagnosis in dairy cattle

The study was conducted to evaluate the detection ability of the VNUA-BQT test in early pregnancy diagnosis in dairy cattle. A standard solution of 2.0 ng/ml; 2.5 ng/ml; 3.0 ng/ml progesterone spiked in blank samples was prepared to assess the detection threshold, specificity, selectivity and authenticity of the kit. A total of 60 cows were sampled at 22, 24 and 26 days after insemination to assess the field indicators. Research results show that the VNUA-BQT test strip has the Limit of detection (LOD) at a concentration of 2.5 ng/ml. Research results in the laboratory and

¹ NCS, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³ Trung tâm dịch vụ nông nghiệp Thuận Thành, Bắc Ninh

* Tác giả liên hệ: PGS.TS. Phạm Kim Đăng, Trường Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Điện thoại: 0987432772; Email: pkdang@vnua.edu.vn

real samples showed that the VNUA-BQT test strip passed a qualitative fast test with an accuracy of 97.5%, a specificity of 100%, a sensitivity of 95 %, there is no positive deviation and the highest negative deviation is 4.8%. The most accurate time of detection is from the 26th day from the date of insemination for the blood sample.

Keywords: *Pregnancy Rapid Test Cassette, VNUA-BQT, blood, milk, cow.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành chăn nuôi đã và đang phát triển cả về qui mô và tính chuyên hóa cơ bản đáp ứng nhu cầu thực phẩm cho tiêu dùng nội địa nhưng lại xuất hiện sự mất cân đối và bất hợp lý về cơ cấu sản xuất và tiêu thụ thịt ở Việt Nam (thịt lợn chiếm tới 77,5% lượng thịt tiêu thụ, thịt gia cầm chỉ chiếm 15,7% và thịt gia súc ăn cỏ (trâu, bò) chỉ chiếm 6,6%). Trong khi đó, sữa sản xuất trong nước mới chỉ đáp ứng gần 30% nhu cầu và thịt bò phải nhập khẩu tiêu tốn không ít ngoại tệ của đất nước. Trước sức ép nhu cầu thịt bò, cùng với nhu cầu sữa ngày càng cao, đặc biệt trong bối cảnh dịch tả lợn Châu Phi, Bộ Nông nghiệp và PTNT đã có chiến lược định hướng phát triển đàn bò (Cục Chăn nuôi, 2020). Một trong những giải pháp tăng đàn nhanh nhất là thông qua con đường nhân giống và sinh sản. Tuy nhiên, trong điều kiện khí hậu ở Việt Nam, cùng với trình độ chăn nuôi còn hạn chế, chế độ chăm sóc, nuôi dưỡng, quản lý, thú y... chưa được tốt nên sức sản xuất nói chung và khả năng sinh sản của bò vẫn còn rất thấp. Hiện tượng bất thường, rối loạn sinh sản vẫn xảy ra rất phổ biến, đặc biệt trên đàn bò sữa.

Đặc biệt, khi mang thai không phát hiện kịp thời sau khi phối giống, sẽ kéo dài khoảng cách lứa đẻ, giảm tỷ lệ nhân giống, ảnh hưởng đến năng suất và hiệu quả chăn nuôi. Nếu bò mang thai được phát hiện ở giai đoạn sớm, không những được chăm sóc nuôi dưỡng cẩn thận và quản lý theo chế độ mang thai, mà còn làm tăng tỷ lệ thành công khi mang thai. Bò không mang thai có thể kịp thời phối giống, rút ngắn khoảng cách lứa đẻ và giảm chi phí thức ăn từ đó cải thiện tỷ lệ truyền giống và lợi ích kinh tế sẽ được tăng lên. Vì vậy, chẩn đoán thai sớm là rất quan trọng đối với sự phát triển của các ngành chăn nuôi bò.

Trong chăn nuôi nói chung và chăn nuôi bò nói riêng, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng hàm lượng progesterone trong sữa và huyết tương có mối liên hệ và biến động theo giai đoạn sinh lý sinh dục cái (động dục, rụng trứng, có thai) và với bò chậm sinh sản hoặc vô sinh do u nang buồng trứng, u thể vàng và tồn lưu thể vàng (Nguyễn Thị Hải và ctv, 2020). Chính vì vậy, bằng các phương pháp đo phóng xạ miễn dịch (RIA), ELISA, sắc ký lỏng... các nghiên cứu đã định lượng, bán định lượng progesteron để chẩn đoán có thai hoặc chẩn đoán các trường hợp bất thường về sinh sản của bò (Heap và ctv, 1973; Shemesh và ctv, 1978; Holdsworth và ctv, 1979; Nakao và ctv, 1983; Pennington và ctv, 1985; Roelofs và ctv, 2006). Tuy nhiên, khi triển khai thực tế gặp rất nhiều khó khăn nên que thử nhanh (quick-stick) được chế tạo từ kháng thể đơn dòng nhằm phân tích định lượng và định tính hormone sinh sản là một phương pháp dễ thực hiện trong điều kiện sản xuất thực tế. Mặc dù trên thế giới, phát triển kit-ELISA, que thử nhanh để định lượng và phát hiện các hormone sinh sản đã được sản xuất và ứng dụng rộng rãi cả trong nghiên cứu và sản xuất. Tuy nhiên, ở Việt Nam do vẫn phải nhập khẩu nên giá rất cao. Đặc biệt, trong điều kiện thực tế việc vận chuyển, bảo quản đã ảnh hưởng rất lớn đến chất lượng phân tích nên việc sử dụng còn hạn chế, đa số chỉ dùng trong nghiên cứu. Để chủ động trong nghiên cứu và sản xuất, và làm chủ công nghệ sản xuất được các sản phẩm ứng dụng này với giá thành hợp lý nhằm mục đích nâng cao khả năng sản xuất của vật nuôi nói chung và bò nói riêng có ý nghĩa khoa học, thực tiễn rất lớn. Trong khuôn khổ đề tài Bộ Nông nghiệp & PTNT do Khoa Chăn nuôi – Học viện Nông nghiệp Việt Nam chủ trì đã nghiên cứu chế tạo que thử nhanh VNUA-BQT để phát hiện sớm có thai của bò

lần đầu tiên được thực hiện ở Việt Nam. Để có cơ sở cho việc triển khai ứng dụng que thử trong sản xuất, cần tiếp tục đánh giá các chỉ tiêu kỹ thuật của que thử.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được tiến hành trên mẫu máu và mẫu sữa của bò sữa nuôi tại các trang trại và nông hộ tại Hà Nội và Mộc Châu, từ tháng 9/2019 đến tháng 5/2020.

2.1. Xác định ngưỡng phát hiện, độ đặc hiệu, độ chọn lọc và độ xác thực của que thử

Tiêu chí kỹ thuật được đánh giá thông qua các tiêu chí được qui định tại Quyết định 657/2002/EC (EC, 2002) quy định đối với phép thử sàng lọc.

Ngưỡng phát hiện của que được xác định

Bảng 1. Thông tin và công thức xác định các tham số của phương pháp

Kết quả test	Mẫu thực sự dương tính (N+) (mẫu củng cố)	Mẫu thực sự âm tính (N-) (mẫu trắng)
Dương tính	PA (Dương tính theo qui định)	FP (Dương tính giả)
Âm tính	FN (Âm tính giả)	NA (Âm tính theo qui định)

Độ xác thực (%) = $\frac{PA + NA}{N} \times 100\%$
 với N = N⁺ + N⁻

Độ nhạy (%) = $\frac{PA}{N^+} \times 100\%$

Độ đặc hiệu (%) = $\frac{NA}{N^-} \times 100\%$

N là tổng số mẫu phân tích = N⁺ + N⁻

N⁺ là số mẫu thực sự dương tính (mẫu củng cố)

N⁻ là số mẫu thực sự âm tính (mẫu trắng)

PA là số mẫu dương tính theo kết quả phân tích trong số N⁺ mẫu

FN là số mẫu âm tính theo kết quả phân tích trong số N⁺ mẫu

FP là số mẫu dương tính theo kết quả phân tích trong số N⁻ mẫu

NA là số mẫu âm tính theo kết quả phân tích trong số N⁻ mẫu

2.2. So sánh các tiêu chí kỹ thuật với que thử thương mại trong phòng thí nghiệm

Để khẳng định chất lượng và khả năng ứng dụng trong thực tiễn, một nghiên cứu

trên cơ sở phân tích thăm dò mẫu trắng được củng cố ở nồng độ lớn hơn hoặc bằng nồng độ giới hạn phát hiện (LOD) theo thiết kế của que thử là 2,5 ng/ml. Giải nồng độ thăm dò trong nghiên cứu này là 2,0; 2,5 và 3,5 ng/ml.

Đánh giá các tham số kỹ thuật và khả năng phát hiện que thử các mẫu thí nghiệm được chuẩn bị như sau: các mẫu máu hoặc mẫu sữa đối chứng âm (không chứa progesteron), mẫu đối chứng dương (mẫu trắng được củng cố chất chuẩn ở nồng độ ≥ ngưỡng phát hiện), các nồng độ của progesteron chuẩn được pha trên các nền mẫu máu hoặc mẫu sữa. Mẫu dương tính thật là mẫu trắng được củng cố chất chuẩn ở nồng độ ≥ ngưỡng phát hiện của phương pháp. Phân tích lặp lại tối thiểu 20 mẫu trắng và 20 mẫu củng cố chất chuẩn được thể hiện tại bảng 1.

so sánh với que thử thương mại trên thị trường. Nghiên cứu sử dụng mẫu sữa và mẫu máu âm tính (mẫu lấy từ bò chưa phối giống) để củng cố ở nồng độ xác định để so sánh khả năng phát hiện que thử của đề tài với que thử có trên thị trường (Que thử Catte Pregnancy Rapid Test Cassette, Lot:20190422) (que thương mại). Mỗi loại que thử phân tích mỗi loại mẫu 20 mẫu âm tính thật và 20 mẫu dương tính thật (củng cố progesteron ở nồng độ 3,5 ng/ml).

2.3. Đánh giá que thử thông qua thử nghiệm trên mẫu thực

Từ kết quả theo dõi, chu kỳ tính của bò có sự biến động giao động 17-25 ngày, chính vì vậy để đảm bảo phát hiện có thai cần phải khả sát thời điểm tối ưu cho kết quả chắc chắn nhất. Nghiên cứu tiến hành khảo sát ngẫu nhiên 60 bò được phối giống (khu vực Hà Nội 30 con, Mộc Châu 30 con). Tất cả bò sau khi phối đều được kiểm tra mẫu máu 3 thời điểm 22, 24 và 26 ngày tính từ thời điểm phối giống. Sau đó theo dõi mang thai bằng

phương pháp thông thường đang áp dụng tại cơ sở tại thời điểm 3,5 đến 4 tháng tính từ thời điểm thụ tinh.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định ngưỡng phát hiện, độ đặc hiệu, độ chọn lọc và độ xác thực của que thử

Ngưỡng phát hiện của que thử được xác định trên cơ sở phân tích thăm dò mẫu trắng được củng cố ở nồng độ lớn hơn hoặc bằng nồng độ giới hạn phát hiện (LOD) theo thiết kế của que thử là 2,5 ng/ml. Dải nồng độ thăm dò trong nghiên cứu này là 2,0; 2,5 và 3,5 ng/ml. Kết quả phân tích cho thấy que thử VNUA-BQT có khả năng phát hiện ổn định ở mức 2,5 và 3,5 ng/ml. Nghiên cứu cũng tiến hành phân tích 20 mẫu trắng củng cố progesteron ở ba mức nồng độ 2,0; 2,5 và 3,5 ng/ml đối với cả hai loại mẫu (mẫu máu và mẫu sữa). Kết quả cho thấy que thử VNUA-BQT có khả năng phát hiện 100% (20/20 mẫu) số mẫu củng cố ở nồng độ 3,5 ng/ml và 95% (19/20 mẫu) đối với mẫu củng cố ở nồng độ 2,5 ng/ml. Trong khi đó, mẫu củng cố 2,0 ng/ml mẫu phát hiện được 12/20 mẫu (đối với mẫu máu) và 8/20 mẫu (đối với mẫu sữa). Theo nghiên cứu của Rajamahendran và ctv (1990) khi tiến hành phân tích nồng độ progesteron bằng phương pháp ELISA cho thấy với nồng độ >2 ng/ml thì khả năng phát hiện đạt 94%. Kết quả của nghiên cứu cho thấy giới hạn phát hiện trong mẫu của que thử VNUA-BQT bé hơn hoặc bằng 2,5 ng/ml đáp ứng mong đợi của nghiên cứu và tương đương với nghiên cứu của Rajamahendran và ctv (1990).

Theo thiết kế thí nghiệm, để đánh giá độ tin cậy của que thử, trên mỗi nền mẫu (máu, sữa) tiến hành phân tích 20 mẫu trắng (được xem như mẫu âm tính thật) và 20 mẫu trắng củng cố ở nồng độ 3,5 ng/ml (được xem như dương tính thật). Kết quả phân tích cho thấy 1/20 mẫu âm tính giả và không có mẫu dương tính giả nào (Bảng 2).

Kết quả phân tích cho thấy đối với mẫu sữa, que thử VNUA-BQT có khả năng phát hiện với độ xác thực là 97,5%, độ đặc hiệu là

100%, độ nhạy là 95%, không có độ lệch dương và độ lệch âm là 4,8% (Bảng 3).

Bảng 2. Kết quả phân tích mẫu trắng và mẫu củng cố ở nồng độ 3,5 ng/ml

Nền mẫu	Kết quả test	Mẫu thực sự dương tính (N+) (mẫu củng cố, n=20)	Mẫu thực sự âm tính (N-) (mẫu trắng, n=20)
Sữa	Dương tính	19	0
	Âm tính	1	20
Máu	Dương tính	20	0
	Âm tính	0	20

Đối với mẫu máu, que thử VNUA-BQT có khả năng phát hiện với độ xác thực là 100%, độ đặc hiệu là 100%, độ nhạy là 100%, không có độ lệch dương và độ lệch âm (Bảng 3).

Bảng 3. Kết quả đánh giá các tham số của phương pháp trên các nền mẫu khác nhau (%)

Tham số	Mẫu sữa	Mẫu máu	Qui định 657/2002/EC
Độ xác thực	97,5	100	≥90
Độ đặc hiệu	100,0	100	≥90
Độ nhạy	95,0	100	≥90
Độ lệch dương	0	0	≤10
Độ lệch âm	4,8	0	≤10

Đối chiếu qui định của Ủy ban Châu Âu, các tham số que thử VNUA-BQT đạt yêu cầu phân tích sàng lọc các chất hóa học trong mẫu sản phẩm, chế phẩm sinh học động vật.

3.2. Kết quả so sánh các tiêu chí kỹ thuật với que thử thương mại trong phòng thí nghiệm

Để khẳng định chất lượng và khả năng ứng dụng trong thực tiễn, một nghiên cứu so sánh với que thử thương mại trên thị trường được thực hiện. Nghiên cứu sử dụng mẫu trắng (không chứa progesterone) và mẫu củng cố ở nồng độ 3,5 ng/ml để so sánh khả năng phát hiện que thử VNUA-BQT với que thử thương mại. Kết quả cho thấy, khả năng phát hiện của que thử VNUA BQT có ưu điểm hơn so với que thương mại. Que thương mại có tỷ lệ dương tính giả cao hơn so với VNUA BQT và đặc biệt vượt quá 5% âm tính giả hay nói cách khác độ xác thực và độ nhạy dưới 95%.

Bảng 5. So sánh khả năng phát hiện của que thử khi phân tích mẫu trắng và mẫu cùng cố ở nồng độ 3,5 ng/ml

Nền mẫu	Kết quả test	Mẫu thực sự dương tính (N+)		Mẫu thực sự âm tính (N-)	
		(mẫu cùng cố, n=20)		(mẫu trắng, n=20)	
		VNUA-BQT	Que thương mại	VNUA-BQT	Que thương mại
Sữa	Dương tính	19	17	0	0
	Âm tính	1	3	20	20
Máu	Dương tính	20	19	0	0
	Âm tính	0	1	20	20

3.3. Kết quả thử nghiệm trên mẫu thực

Qua khảo sát thấy chu kỳ tính của bò có sự biến động dao động 17-25 ngày, chính vì vậy, để đảm bảo phát hiện có thai cần phải khảo sát thời điểm tối ưu cho kết quả chắc chắn nhất. Nghiên cứu tiến hành khảo sát ngẫu nhiên mẫu máu của 60 bò đã được phối giống. Tất cả bò sau khi phối đều được kiểm tra 3 thời điểm 22, 24 và 26 ngày tính từ thời điểm phối giống. Sau đó, theo dõi mang thai bằng phương pháp thông thường đang áp dụng tại cơ sở tại thời điểm 3,5-4 tháng tính từ thời điểm thụ tinh và phân tích kết quả xét nghiệm.

Bảng 4. Kết quả kiểm tra theo thời gian sau phối

Chỉ tiêu		Ngày sau phối		
		22	24	26
Kết quả que thử tại các thời điểm thử	Dương tính	46	48	55
	Âm tính	14	12	5
Kết quả sau 4 tháng	Có chửa	52		
	Không chửa	8		
Que thử phát hiện nhưng bò không chửa		3		

Kết quả cho thấy khi bò không có chửa, không phải do thể vàng tồn lưu, đều cho kết quả âm tính kể cả trường hợp rối loạn khác. Đối với bò không có chửa do thể vàng tồn lưu đều cho kết quả dương tính. Trong số 52 bò có chửa đã được khẳng định sau 4 tháng theo dõi có tới 12 bò không được phát hiện ở 22 ngày và 10 bò ở 24 ngày tính từ ngày phối giống. Đến ngày thứ 26 thì 100% bò có chửa đều cho kết quả dương tính. Đối với trường hợp khi thử cho kết quả dương tính ở lần thứ 3 nhưng không có chửa sau khi kiểm tra đều do tồn lưu thể vàng (3 bò). Theo nghiên cứu của Shemesh và ctv (1978) khi sử dụng phương

pháp miễn dịch phóng xạ để đánh giá nồng độ progesteron ở các thời điểm sau phối giống cho thấy vào ngày 24 thì phát hiện bò có chửa đạt 93%, không có chửa đạt 100%. Như vậy, kết quả cho thấy ở ngày thứ 26 sau phối giống và sử dụng kit VNUA BQT có độ tin cậy cao.

Từ kết quả này chúng tôi khuyến cáo sử dụng que thử tốt nhất vào ngày thứ 26 tính từ thời điểm thụ tinh. Như vậy, nếu kết quả âm tính có thể khẳng định là không có chửa (chính xác 100%), nếu kết quả dương tính cần xem xét thêm các trường hợp thể vàng tồn lưu.

4. KẾT LUẬN

Que thử VNUA-BQT có khả năng phát hiện tối thiểu ở nồng độ 2,5 ng/ml. Kết quả nghiên cứu trong phòng thí nghiệm và thử nghiệm trên mẫu thực cho thấy que thử VNUA-BQT đạt yêu cầu một test nhanh định tính với độ xác thực là 97,5%, độ đặc hiệu là 100%, độ nhạy là 95%, không có độ lệch dương và độ lệch âm cao nhất là 4,8%. Thời điểm phát hiện chính xác nhất từ ngày thứ 26 tính từ ngày phối giống.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện từ nguồn kinh phí của đề tài “Nghiên cứu sản xuất kháng thể đơn dòng đặc hiệu progesterone để chế tạo que thử nhanh (Quick Sticks) chẩn đoán có thai sớm ở bò” thuộc chương trình CNSH trong nông nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Chăn nuôi (2020). Báo cáo kết quả thực hiện chiến lược phát triển chăn nuôi giai đoạn 2008-19.
2. EC (2002). Quyết định của Ủy ban Châu Âu số 657/2002/EC.
3. Nguyễn Thị Hải, Nguyễn Hoàng Thịnh, Phạm Kim Đăng và Nguyễn Văn Tinh (2020). Hàm lượng progesterone trong máu và sữa của bò sữa Holstein

- nuôi tại một số tỉnh ở Việt Nam. Tạp chí KHCN Chăn nuôi, 261(12/2020): 56-61.
4. **Heap R.B., Laing J.A. and Walters D.E.** (1973). Pregnancy diagnosis in cows; change in milk progesterone concentration during the oestrous cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunoassay. *J. Agr. Sci.*, 81(1): 151-57.
 5. **Holdsworth R.J., Chaplin V.M. and Booth J.M.** (1979). Radioimmunoassay of progesterone in milk: Development of techniques for large-scale use as a test of pregnancy. *Bri. Vet. J.*, 135(5): 470-77.
 6. **Nakao T., Sugihashi A., Saga N., Tsunda N. and Kawata K.** (1983). An improved Enzyme immunoassay of progesterone applied to bovine milk. *Bri. Vet. J.*, 139(2): 109-18.
 7. **Pennington J.A., Schultz L.H. and Hoffman W.F.** (1985). Comparison of pregnancy diagnosis by milk progesterone on day 21 and day 24 post breeding: Field study in dairy cattle. *J. Dai. Sci.*, 68(10): 2740-45.
 8. **Rajamahendran R., B.J. Keeling, J. Robinson and V Ravindran** (1990). The use of rapid on-farm milk progesterone tests as an aid to reproductive management in dairy cattle. *Can. J. Ani. Sci.*, 70(4): 997-03.
 9. **Roelofs J.B., Van Eerdenburg F.J., Hazeleger W., Soede N.M. and Kemp B.** (2006). Relationship between progesterone concentrations in milk and blood and time of ovulation in dairy cattle. Short communication. *Ani. Rep. Sci.*, 91(3-4): 337-43.
 10. **Shemesh M., Ayalon N., Shalev E., Nerya A., Schindler H. and Milguir F.** (1978). Milk progesterone measurement in dairy cows: Correlation with estrus and pregnancy determination. *Theriogenology*, 9(4): 343-51.

NGHIÊN CỨU ĐÔNG LẠNH NHANH TINH CỦA MỘT SỐ GIỐNG DÊ NUÔI TẠI VIỆT NAM

Ngô Thành Trung^{1*}, Trần Thị Chi¹, Vũ Hải Yến¹, Đỗ Hồng Quyên¹, Phạm Văn Tiêm², và Sử Thanh Long¹

Ngày nhận bài báo: 30/01/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 25/02/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 15/03/2021

TÓM TẮT

Thí nghiệm được tiến hành với 4 giống dê Boer, Saanen, Beetal và Alpine, mỗi giống 4 đực giống nhằm đánh giá chất lượng tinh nguyên và tinh cọng rạ dung tích 0,25 ml được đông lạnh nhanh để sử dụng cho thụ tinh nhân tạo. Kết quả cho thấy, thể tích tinh dịch trung bình của giống dê Alpine là 1,32ml, dê Saanen là 1,07ml, dê Boer là 1,00 và dê Beetal là 1,01ml; nồng độ tinh trùng trung bình của 4 giống dê đạt tương đương nhau, khoảng 2,5 tỷ tinh trùng/ml; hoạt lực tinh trùng trung bình của dê Beetal là cao nhất (83,21±4,54%), 3 giống còn lại đạt tương đương nhau khoảng 80%; tổng số tinh trùng tiến thẳng trong một lần xuất tinh của cả 4 giống dê đạt tương đương nhau, khoảng 2,3 tỷ tinh trùng; độ pH tinh dịch của cả 4 giống dê đều hơi axit (6,85); tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trung bình của 4 giống dê cũng tương đương nhau, đạt khoảng 12%. Số liệu tinh đông lạnh dạng cọng rạ dung tích 0,25ml trung bình sản xuất được/lần khai thác của giống dê Alpine 33±9 cọng với hoạt lực tinh giải đông trung bình sau 24 giờ bảo quản trong ni tơ lỏng là 36,67±4,56% và sau 30 ngày là 34,84±3,02%, dê Beetal là 32±7 cọng, 38,04±4,4% và 35,56±3,05%; dê Boer là 30±4 cọng, 37,53±4,44% và 35,25±2,95%; dê Saanen là 31±6 cọng, 37,48±3,8% và 34,38±3,02%. Số lượng tinh trùng trong 1 cọng rạ là trung bình 73 triệu.

Từ khóa: Đông lạnh tinh trùng dê, dê Boer, dê Saanen, dê Beetal, dê Alpine.

ABSTRACT

A study of fast cryopreservation of semen of some goat breeds in Vietnam

The experiment was achieved with 4 goat breed including Boer, Saanen, Beetal and Alpine, 4 males per breed to assess quality of their fresh semen and fast cryopreserved semen 0.25ml straws used for artificial insemination. The results showed that average semen volume of Alpine goat was 1.32ml, Saanen's was 1.07ml, Boer's was 1.00 and Beetal's was 1.01ml, average sperm concentration of all 4 goat breeds was equal about 2.5 billions sperms/ml, average sperm motility of Beetal goat

¹ Nhóm nghiên cứu tinh hoa về Công nghệ Sinh sản và Tế bào, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Bộ Khoa học và Công nghệ

* Tác giả liên hệ: PGS.TS. Sử Thanh Long, Bộ môn Ngoại sản, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Điện thoại: 0904870888; Email: sulongjp@yahoo.com

was highest (83.21±4.54%), the 3 others were equal about 80%; average total progressive motility sperms/ejaculation of all 4 goat breeds were equal about 2.3 billions of sperms, pH value of semen of all 4 goat breeds was quite acidic (6.85), average abnormal morphology of all 4 goat breeds was equal about 12%. Average numbers of cryopreserved semen 0.25 ml straws produced each ejaculation of Alpine goat breed were 33±9 straws with average thawed motility after 24 hours of preservation in liquid nitrogen was 36.67±4.56% and after 30 days was 34.84±3.02%, Beetal goat breeds were 32±7 straws, 38,04±4.4% and 35.56±3.05%, Boer goat breeds's were 30±4 straws, 37.53±4.44% and 35.25±2.95%; Saanen goat breeds's were 31±6 straws, 37.48±3.8% and 34.38±3.02%. Sperm number per straw was 73 millions.

Keywords: *Goat semen cryopreservation, Boer goat, Saanen goat, Beetal goat, Alpine goat*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam có điều kiện để phát triển chăn nuôi dê nhờ có nhiều đồi núi, khí hậu thuận lợi cho các loại cỏ cây phát triển. Bên cạnh đó, nguồn phế phụ phẩm nông nghiệp sản xuất ra hàng năm lớn, nguồn lao động dồi dào. Nhưng nghề chăn nuôi dê ở nước ta vẫn chưa được phát triển mạnh, nhất là chăn nuôi dê lấy sữa. Trước năm 1994, Việt Nam chỉ có 2 giống dê là dê Cỏ và dê Bách Thảo. Chăn nuôi theo lối quảng canh, lấy thịt là chủ yếu, năng suất thấp. Để cải tạo đàn dê và phát triển chăn nuôi dê, tháng 4/1994, 500 con dê kiêm dụng sữa, thịt được nhập từ Ấn Độ bao gồm 3 giống Beetal, Jumnapari, Barbari, song song với việc nhập dê giống thì 350 liều tinh cọng rạ giống Alpine và Saanen được nhập về từ Pháp. Nhưng do chưa thích nghi với điều kiện khí hậu và điều kiện sống ở Việt Nam nên dê chết nhiều, số lượng dê đực giống không đáp ứng nhu cầu phối giống trong mùa sinh sản, đến năm 2002 trong chương trình giống tiếp tục nhập 120 con dê từ Mỹ trong đó 40 dê Boer chuyên thịt và hai giống dê chuyên sữa Saanen và Alpine mỗi giống 40 con.

Việc nhập đực giống và tinh đông lạnh bước đầu là rất cần thiết để cải tạo đàn giống, nhưng nếu phục vụ cho sản xuất đại trà thì rất tốn kém và hiệu quả kinh tế không cao. Hơn nữa, dê ngoại thuần cho năng suất thịt, sữa cao nhưng khả năng thích nghi và chống chịu bệnh kém, không mẫn đề, dê ngoại có tầm vóc quá lớn so với dê cỏ nên gặp khó khăn cho việc phối giống. Trái lại, dê cỏ có khả năng chống chịu tốt, mẫn đề nhưng có năng suất thịt sữa quá thấp. Để khắc phục các hạn chế trên và

góp phần nâng cao hiệu quả chăn nuôi dê, cần quan tâm đến việc lai tạo và cải tạo đàn dê giống. Để lai tạo và cải tạo đàn dê giống, con đường nhanh nhất, kinh tế nhất chính là thụ tinh nhân tạo (TTNT). Trong chăn nuôi, con đực có vai trò hết sức quan trọng vì nó ảnh hưởng rất lớn tới khả năng sản xuất qua nhiều thế hệ, mỗi đực giống tốt sẽ là nguồn gen quý góp phần vào việc sản xuất hàng trăm, hàng nghìn cá thể đời sau. Vì vậy nó cũng là nguồn nguyên liệu phục vụ cho việc nghiên cứu bảo tồn tinh pha loãng và sản xuất tinh đông lạnh. Để thực hiện tốt công tác TTNT, việc nghiên cứu đặc điểm sinh học, tính chất hoá lý của tinh dịch là rất cần thiết. Nghiên cứu đặc điểm sinh học tinh dịch là cơ sở khoa học cho việc đánh giá phẩm chất dê đực giống thông qua chất lượng tinh dịch. Nhờ đặc điểm sinh học của tinh dịch giúp ta chọn lựa được những mẫu tinh dịch tốt, đủ tiêu chuẩn để pha loãng bảo tồn, sản xuất tinh đông lạnh phục vụ cho công tác TTNT. Chỉ có những mẫu tinh nguyên tốt mới cho ta những liều tinh loãng hoặc đông lạnh tốt. Dựa vào đặc điểm sinh học và tính chất hoá lý của tinh dịch... ta mới xác định được thành phần, tỷ lệ các chất trong môi trường và lượng môi trường thích hợp để pha loãng bảo tồn tinh dịch. Việc nghiên cứu sinh học tinh dịch dê giúp ta xây dựng được chế độ quản lý, chăm sóc, nuôi dưỡng và chế độ khai thác hợp lý đối với dê đực giống.

Ở Việt Nam, nghiên cứu TTNT cho lợn, bò, trâu đã nhận được kết quả tốt. Mạng lưới thụ tinh nhân tạo bằng tinh loãng đã phổ biến trên toàn quốc. Bên cạnh đó, nước ta đã xây dựng được ngân hàng tinh đông lạnh phục vụ cho TTNT và lưu giữ nguồn gen quý lâu

dài trong nitơ lỏng (-196°C). Một số tác giả đã quan tâm nghiên cứu đặc điểm sinh học tinh dịch dê, môi trường pha loãng tinh dịch dê ở nhiệt độ thấp ($+4^{\circ}\text{C}$) và công nghệ đông lạnh tinh dịch dê và đã thu được những kết quả đáng khích lệ. Nhưng việc áp dụng kỹ thuật TTNT cho dê vẫn chưa được phát triển mở rộng, kỹ thuật TTNT cho dê bằng tinh pha loãng và tinh dê đông lạnh là nhu cầu cần thiết trong công tác lai tạo giống dê, khai thác triệt để tiềm năng sinh sản của dê đực, nhất là đực cao sản mở rộng phạm vi thụ tinh nhân tạo, góp phần lưu giữ quỹ gen và tính đa dạng sinh học các giống dê ở Trung tâm nghiên cứu Dê và Thỏ Sơn Tây. Để góp phần phục vụ công tác giống và bảo tồn tinh dịch của các giống dê nuôi thuần tại Việt Nam, chúng tôi tiến hành đề tài: “Đánh giá một số đặc điểm sinh học tinh dịch, hiệu quả bảo tồn bằng tinh đông lạnh dạng cọng rạ của một số giống Dê” nhằm đánh giá chất lượng tinh dịch của một số giống dê và khả năng sản xuất tinh đông lạnh dạng cọng rạ phục vụ thụ tinh nhân tạo, cụ thể là (i) đánh giá và so sánh được các chỉ tiêu sinh học tinh dịch, tinh trùng của một số giống dê và (ii) đánh giá và so sánh hiệu quả bảo tồn bằng phương pháp đông lạnh nhanh tinh cọng rạ của một số giống dê.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Sử dụng tinh dịch của 16 dê đực thuộc 4 giống: Alpine, Beetal, Boer, Saanen, tuổi dê thí nghiệm từ 12 tháng tuổi đến 24 tháng tuổi, dê khoẻ mạnh, đang trong thời kỳ khai thác tinh tốt, tinh dịch dê có hoạt lực từ 70% trở lên mới sử dụng cho công tác phối giống.

2.2. Dụng cụ và hóa chất

Hóa chất: Tris, Glucose, axit citric, lòng đỏ trứng, Streptomycin, Penicillin, Glycerol, nước cất, NaCl, KCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , CaCl_2 , KH_2PO_4 , Gentamicine, Phenol đỏ, Natri pyruvate, Natri lactate, Hypotaurin, Heparin, PMSG, hCG.

Dụng cụ: Kính hiển vi quang học, buồng đếm hồng cầu, tủ bảo ôn, máy ly tâm lạnh,

máy đo pH, bình nito, dụng cụ đông lạnh, cọng rạ 0,25ml, micropipette, đĩa ấm, bể ổn nhiệt, tủ sấy, máy đo pH, cân kỹ thuật và cân phân tích, máy khuấy từ, buồng đếm Thoma, lam kính, lamên, giấy lau, ống Eppendorf, ống đong, cốc đong, pipet thủy tinh 5 và 10ml, ống bóp cao su, giá đỡ.

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học Sinh sản và Tế bào, Bộ môn Ngoại - Sản, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Thí nghiệm 1. Đánh giá và so sánh các chỉ tiêu sinh học tinh dịch, tinh trùng của 4 giống dê nuôi tại Việt Nam.

Thí nghiệm 2. Đánh giá và so sánh hiệu quả bảo tồn bằng phương pháp đông lạnh nhanh tinh cọng rạ của 4 giống dê nuôi tại Việt Nam.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Khai thác tinh dê

Tinh dịch dê được khai thác nhân tạo bằng âm đạo giả (nhiệt độ âm đạo giả $40-42^{\circ}\text{C}$), dê đực nhảy lên dê cái chịu đực được cố định trong giá sắt (theo phương pháp của Chemineau và Cagnie). Dụng cụ lấy tinh được vô trùng trước khi sử dụng. Tinh dịch được lấy vào buổi sáng, với khoảng cách giữa hai lần lấy tinh là 2-3 ngày.

2.4.2. Đánh giá chất lượng tinh nguyên

Chất lượng tinh nguyên được đánh giá theo từng lần khai thác của từng cá thể, các mẫu tinh không trộn lẫn. Chỉ tiêu theo dõi: (i) Lượng xuất tinh (V , ml): được xác định bằng phễu hứng tinh có chia vạch. (ii) Hoạt lực tinh trùng (A , %): nhỏ 3 giọt tinh nguyên lên lam kính, quan sát trên kính hiển vi, ước lượng tỷ lệ % tinh trùng tiến thẳng. Lấy trung bình hoạt lực quan sát được từ 3 giọt tinh trên lam kính; (iii) Nồng độ tinh trùng (C , tỷ/ml): dùng micropipette hút 5 μl tinh nguyên trộn đều trong 9995 μl NaCl 10% trong ống Fancol 10ml, lắc đều, đưa dung dịch vào 2 phía của buồng đếm Neu Bauer (có đệm lamên dùng cho buồng đếm), đưa lên kính hiển vi đếm số lượng tinh trùng có trong 80 ô con rồi tính nồng độ tinh trùng; (iv) Tỷ lệ tinh trùng sống

(%): dựa theo nguyên lý tinh trùng chết khi nhuộm sẽ bắt màu của thuốc nhuộm, tinh trùng sống sẽ không bắt màu thuốc nhuộm. Cách tiến hành: Lấy 1 phiến kính khô, sạch. Nhỏ một giọt tinh mới lấy lên lam kính. Nhỏ 1-2 giọt dung dịch Eosin 5% bên cạnh giọt tinh. Dùng đũa thủy tinh trộn đều và phiết tiêu bản. Sau đó, đưa lên quan sát trên kính hiển vi ở độ phóng đại 400-600 lần. Những tinh trùng bắt màu đỏ hồng của Eosin là tinh trùng đã chết còn tinh trùng không bị nhuộm màu là tinh trùng sống. Đếm tổng số 400 tinh trùng (cả sống và chết) cho một mẫu và xác định tỷ lệ tinh trùng sống; (v) Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình: làm tiêu bản cố định và quan sát trên kính hiển vi với độ phóng đại 1.000 lần. Cho 10 μ l tinh pha vào ống Eppendorf có chứa 700 μ l dung dịch Formol Citrate 4%. Dùng lam kính sạch, sấy khô, nhỏ một giọt tinh pha đã được cố định lên lam. Dùng lamen sạch, trong, đã sấy khô đặt nghiêng từ từ lên phần lam kính có chứa giọt tinh pha, sao cho tiêu bản được cố định mà không có bọt khí. Phần dung dịch thừa được thấm hết bằng giấy thấm. Đưa tiêu bản đã cố định lên quan sát trên kính hiển vi. Đếm tổng số 400 tinh trùng (cả bình thường và kỳ hình) cho một mẫu và xác định tỷ lệ tinh trùng kỳ hình.

2.4.3. Đông lạnh và giải đông tinh dê

(i) *Đông lạnh tinh dê*: Yêu cầu về tinh nguyên được sử dụng để đông lạnh: nồng độ tinh trùng đạt 2.10⁹ tinh trùng/ml, tỷ lệ tinh trùng hoạt động \geq 70%. Đông lạnh cọng rạ gồm 4 bước: Bước 1: Tinh dịch sau khi được lựa chọn sẽ được pha loãng với dung dịch rửa (250mM Tris, 28mM Glucose, 104mM citric

acid) ở 37°C, ly tâm ở 2.000 vòng trong 15 phút (nhiệt độ phòng, 20°C) hai lần. Bước 2: Tinh trùng được pha loãng theo tỷ lệ 1:3 trong dung dịch đông lạnh 1 (250mM Tris, 28mM Glucose, 104mM axit citric, 12% lòng đỏ trứng, 0,05% Streptomycin, 500UI Penicillin, lên thể tích đến 100ml). Đánh giá nồng độ tinh trùng sau đó điều chỉnh để đạt nồng độ 800 \times 10⁶tinh trùng/ml. Thêm dung dịch đông lạnh 2 (250mM Tris, 28mM Glucose, 104mM axit citric, 12% lòng đỏ trứng, 0,05% Streptomycin, 500UI Penicillin, 8% Glycerol) cho tới khi đạt nồng độ 300 \times 10⁶tinh trùng/ml ở nhiệt độ phòng sau đó đóng vào các cọng rạ 0,25ml (70 đến 80 triệu tinh trùng/cọng rạ 0,25ml). Bước 3: Cọng rạ được hạ từ nhiệt độ phòng xuống 5°C trong vòng 2 giờ. Để ổn định ở nhiệt độ 5°C trong vòng 3 giờ. Bước 4: Hơ cọng rạ trên hơi nitơ lỏng cách 4cm trong 20 phút. Cuối cùng nhúng cọng rạ vào sâu trong nitơ lỏng.

(ii) *Giải đông tinh dê sau đông lạnh*: Thời điểm giải đông 30 ngày sau đông lạnh; Giải đông: Sử dụng bình giải đông với nhiệt độ của nước 37°C, với thời gian giải đông 30 giây; Yêu cầu chất lượng tinh sau giải đông để đạt yêu cầu sử dụng cho thụ tinh nhân tạo: Hoạt lực tinh trùng \geq 30%.

2.5. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập theo ngày, tuần và theo tháng và xử lý số liệu được xử lý theo chương trình phần mềm Excel 2013 và SAS v9.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá đặc điểm sinh học tinh dịch 4 giống dê

Bảng 1. Các chỉ tiêu chất lượng tinh của 4 giống dê nuôi tại Việt Nam (n=16/giống)

Chỉ tiêu	Saanen	Alpine	Beetal	Boer
Màu sắc tinh dịch	Trắng sữa	Trắng sữa	Trắng sữa	Trắng sữa
Thể tích tinh dịch (ml)	1,07 \pm 0,08 ^b	1,32 \pm 0,14 ^a	1,01 \pm 0,12 ^c	1,00 \pm 0,08 ^c
Hoạt lực tinh trùng (%)	79,93 \pm 2,91 ^b	80,06 \pm 2,74 ^b	83,20 \pm 4,48 ^a	79,93 \pm 2,91 ^b
Nồng độ tinh trùng (tỷ tinh trùng /ml)	2,80 \pm 0,61 ^a	2,37 \pm 0,60 ^b	2,77 \pm 0,41 ^a	2,84 \pm 0,36 ^a
Tổng số tinh trùng tiến thẳng/lần khai thác (tỷ)	2,44 \pm 0,59 ^a	2,5 \pm 0,70 ^a	2,33 \pm 0,47 ^a	2,29 \pm 0,33 ^a
pH tinh dịch	6,85 \pm 0,05 ^a	6,85 \pm 0,05 ^a	6,85 \pm 0,04 ^a	6,85 \pm 0,05 ^a
Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	12,10 \pm 2,39 ^a	12,26 \pm 2,35 ^a	11,95 \pm 1,94 ^a	12,34 \pm 2,41 ^a

Ghi chú: Trên cùng hàng, các giá trị có chữ cái bên trên khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với P<0,05

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT VÀ CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

Chất lượng tinh dịch trước khi đông lạnh là nhân tố quyết định đến chất lượng tinh bảo quản cũng như hiệu quả thụ tinh. Các mẫu tinh dịch được tiến hành khai thác, chọn lọc, tiêu chí về các chỉ tiêu tinh dịch, tinh trùng để lựa chọn dê đực giống cần đạt được yêu cầu của thí nghiệm: các mẫu tinh dịch được khai thác từ các dê đực giống có độ tuổi, cân nặng và tần suất khai thác tinh tương đương nhau (2-4 tuổi, đang trong độ tuổi khai thác, khai thác 2 lần/tuần), các chỉ tiêu tinh nguyên đạt tương đương giữa các cá thể khác nhau trong cùng một giống (thể tích tinh dịch tổng số đạt 0,8-1,5ml, hoạt lực tinh trùng đạt trên 70%, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình dưới 15%). Trên cơ sở đó,

tổng số 12 dê đực giống thuộc 4 giống dê gồm Boer, Saanen, Alpine, Beetal được sử dụng.

3.2. Kết quả giải đông tinh đông lạnh cọng rạ của 4 giống dê

Tinh dịch sau khi được khai thác, đánh giá một số chỉ tiêu sinh học nhằm chọn lọc các mẫu tinh đạt yêu cầu để sử dụng cho quy trình đông lạnh tinh dịch. Bước cuối cùng của quy trình đông lạnh tinh dịch là giải đông, đánh giá chất lượng tinh sau giải đông. Đây là khâu cực kỳ quan trọng nó cho phép ta biết được quy trình đông lạnh, kỹ thuật đông lạnh sử dụng có phù hợp và chính xác hay chưa, các liều tinh đông lạnh có đạt yêu cầu để đem phối giống hay không.

Bảng 2. Kết quả đánh giá chất lượng tinh đông lạnh của 4 giống dê

Giống dê	Số mẫu kiểm tra (n)	Hoạt lực tinh trùng sau đông lạnh 24h (%)	Hoạt lực tinh trùng sau đông lạnh 30 ngày (%)	Nồng độ (triệu tinh trùng/cọng)
Boer	16	37,48±3,80 ^a	34,38±2,85 ^b	74,68±17,43 ^a
Saanen	16	37,53±4,44 ^a	35,25±2,95 ^a	78,64±21,26 ^a
Alpine	16	38,04±4,40 ^a	35,56±3,05 ^a	68,74±19,65 ^a
Beetal	16	38,04±4,40 ^a	34,84±3,02 ^b	73,36±16,84 ^a
Tổng	64	3,67±4,56	35,25±2,95	73,46±18,58

Kết quả ở bảng 2 cho thấy kết quả giải đông khá tốt, tất cả hoạt lực đều đủ tiêu chuẩn là trên 30%, đều đạt yêu cầu kỹ thuật đối với thụ tinh nhân tạo tinh đông lạnh và có thể sử dụng để phối giống. Hoạt lực của các mẫu tinh được giải đông sau 24h đông lạnh và sau 30 ngày đông lạnh cũng tương đương nhau không có sự sai khác có ý nghĩa. Điều này chứng tỏ chất lượng tinh đông lạnh ổn định trong thời gian bảo tồn. Số lượng tinh trùng trong 1 cọng rạ là trung bình 73 triệu.

4. THẢO LUẬN

4.1. Kết quả đánh giá chất lượng tinh của các giống dê nghiên cứu

Chỉ tiêu màu sắc của các mẫu tinh khảo sát đều có màu bình thường là trắng sữa đạt tiêu chuẩn sử dụng cho đông lạnh: (i) Về lượng tinh dịch trung bình một lần lấy tinh của các giống dê rất thấp (dao động trong 0,7-0,17ml). Lượng tinh dịch giữa các giống dê khác nhau thì có sự khác nhau và nó phụ

thuộc vào từng giống, cụ thể trong nghiên cứu này là: giống Alpine có thể tích tinh dịch trung bình là 1,32ml; dê Saanen là 1,07ml; dê Boer là 1,00ml; dê Beetal là 1,01ml. Theo kết quả của một số tác giả, lượng tinh dịch dê: theo Ritar (1990) thể tích tinh dịch dê Angora V=0,5-1,2ml, theo Peskovatsov (1985) thể tích tinh dịch dê Don V=0,9ml, theo A.Sanbekov (1983) V=1,05ml. Theo Đỗ Văn Thu và ctv (1997) lượng tinh dịch trung bình của dê Ấn Độ (Jumnapari, Barbari, Beetal) vào khoảng 0,9ml. Như vậy, kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả mà các tác giả đã công bố; (ii) Nồng độ tinh trùng trung bình của các dê đực trong thí nghiệm này là rất cao và không có sự sai khác không rõ rệt giữa các giống dê: ở dê Boer là 2,84±0,36 tỷ tinh trùng/ml, ở dê Saanen là 2,8±0,61 tỷ tinh trùng/ml, ở dê Alpine là 2,37±0,6 tỷ tinh trùng /ml, ở dê Beetal là 2,77±0,41 tỷ tinh trùng/ml. So sánh với các kết quả của các tác giả đã công bố: theo Ritar (1990), nồng độ tinh trùng ở dê Angora

là 3×10^9 tinh trùng/ml; theo A.Sanbekov (1983) chỉ tiêu này ở giống dê Kirgizia là $3,587 \times 10^9$ tinh trùng/ml; theo Peskovatsov (1985), chỉ tiêu này ở giống dê Don là $2,4 \times 10^9 - 3 \times 10^9$ tinh trùng/ml, có những trường hợp cá biệt nồng độ tinh trùng dê đạt 5×10^9 tinh trùng/ml; thì kết quả của nghiên cứu trong thí nghiệm này cũng tương đương với kết quả đã được công bố trước đó; (iii) Hoạt lực của các mẫu tinh dê trước đông lạnh khá cao, trung bình đạt 76,22% và đều đạt yêu cầu tiêu chuẩn để phối giống, pha loãng và đông lạnh tinh dịch. Giá trị hoạt lực tinh trùng theo giống dê nghiên cứu lần lượt là: dê Alpine đạt $79,93 \pm 2,91\%$; dê Saanen đạt $80,64 \pm 2,63\%$; dê Beetal đạt $83,21 \pm 4,54\%$; dê Boer đạt $80,03 \pm 2,8\%$. Kết quả về hoạt lực tinh trùng của các giống dê trong nghiên cứu này cũng phù hợp với một số tác giả đã công bố: Salamon và Ritar (1982) cho biết hoạt lực của tinh trùng dê Angora đạt 75-80%. Sham Suddin và ctv (1997) công bố hoạt lực của dê Black Belgal là 77-79%, theo Peskovatsov (1985) hoạt lực của tinh trùng dê Don là 75-80%; (iv) Chỉ tiêu VAC của các giống dê nghiên cứu có sự sai khác không rõ rệt giữa hai giống Boer và Saanen: ở dê Boer đạt $2,5 \pm 0,7$ tỷ tinh trùng tiến thẳng/lần khai thác tinh, ở dê Saanen là $2,29 \pm 0,33$ tỷ, Tương tự, không có sự sai khác về chỉ tiêu VAC giữa giống dê Alpine và dê Babari: ở dê Alpine là $2,44 \pm 0,59$ tỷ vào dê Beetal là $2,33 \pm 0,47$ tỷ. Kết quả cũng cho thấy có sự sai khác rõ rệt giữa nhóm dê giống Boer và Shanen với nhóm Alpine và Babari ($P=0,05$); (v) pH của dê hơi axit và khá ổn định, không có sự sai khác rõ rệt giữa các giống dê: ở dê Boer là $6,85 \pm 0,05$, ở dê Saanen là $6,85 \pm 0,05$, ở dê Alpine là $6,85 \pm 0,05$, ở dê Beetal là $6,85 \pm 0,04$. Kết quả này cũng tương đương như những kết quả mà các tác giả khác đã công bố: theo Asanbekov (1983), pH tinh dê Kirgizia là 6,925, theo Nguyễn Tấn Anh (1995), pH tinh dịch dê Bách Thảo là 6,87 (6,8-7,2); (vi) Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của các mẫu tinh kiểm tra tương đối cao và có sự khác nhau có ý nghĩa ($P=0,95$) giữa các giống: ở dê Boer là $12,34 \pm 2,41\%$, ở dê Saanen là $12,1 \pm 2,39\%$, ở dê Alpine là $12,26 \pm 2,35\%$ và ở

dê Beetal là $11,95 \pm 1,94\%$. Kết quả này cao hơn so với kết quả của Sham Suddin (1991) là 9%;

4.2. Kết quả đông lạnh nhanh tinh dê

Theo Đỗ Văn Thu và ctv (2008) hoạt lực của tinh đông lạnh sau giải đông là 39,35% sau bảo tồn 24h; 38,98% sau bảo tồn 30 ngày và nồng độ tinh trùng/cọng rạ 0,25ml là 73,46 triệu. Chúng tôi nhận thấy rằng kết quả về nồng độ tinh trùng trong các mẫu tinh đông lạnh hơi thấp hơn so với kết quả của tác giả Đỗ Văn Thu đã công bố. Tuy nhiên, nồng độ tinh trùng trong các mẫu tinh dê đông lạnh đều đạt yêu cầu cho thụ tinh nhân tạo.

5. KẾT LUẬN

Đã đánh giá được chất lượng tinh dịch của 4 giống dê nuôi tại Việt Nam:

(i) Thể tích tinh dịch: Giống Alpine cao nhất, đạt 1,32ml; Saanen là 1,07ml; Boer và Beetal đạt tương đương nhau và thấp hơn so với 2 giống Alpine và Saanen (1,00 và 1,01ml);

(ii) Nồng độ tinh trùng: 4 giống dê đạt tương đương nhau, khoảng 2,5 tỷ tinh trùng/ml;

(iii) Hoạt lực tinh trùng: dê Beetal đạt cao nhất ($83,21 \pm 4,54\%$), 3 giống còn lại đạt tương đương nhau khoảng 80%;

(iv) Tổng số tinh trùng tiến thẳng trong một lần xuất tinh: cả 4 giống dê đạt tương đương nhau, trung bình 2,3 tỷ tinh trùng;

(v) Độ pH tinh dịch: cả 4 giống dê đều hơi axit (6,85);

(vi) Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của 4 giống dê tương đương nhau, đạt khoảng 12%. Đã đông lạnh thành công tinh dịch của 4 giống dê với kết quả hoạt lực tinh sau giải đông khá tốt: Số liệu tinh đông lạnh dạng cọng rạ dung tích 0,25ml sản xuất được/lần khai thác đạt: Alpine 33 ± 9 cọng, Beetal 32 ± 7 cọng, Boer 30 ± 4 cọng và Saanen 31 ± 6 cọng. Hoạt lực tinh sau 24h đông lạnh: Boer $37,53 \pm 4,44\%$, Saanen $37,48 \pm 3,8\%$, Alpine $36,67 \pm 4,56\%$ và Beetal $38,04 \pm 4,4\%$. Hoạt lực tinh sau 30 ngày đông lạnh: Boer $35,25 \pm 2,95\%$, Saanen $34,38 \pm 3,02\%$, Alpine $34,84 \pm 3,02\%$ và Beetal $35,56 \pm 3,05\%$.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là kết quả thực hiện đề tài được tài trợ bởi Dự án “Nâng cao năng lực nghiên cứu của các trường đại học Việt Nam” do Ngân hàng thế giới tài trợ, là kết quả đề tài nghiên cứu sinh của học viên Ngô Thành Trung, Học viện Nông nghiệp Việt Nam đồng thời là thành viên nhóm nghiên cứu tinh hoa về Công nghệ Sinh sản và Tế bào, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hahn K., Failing K. and Wehrend A. (2019). Effect of temperature and time after collection on buck sperm quality. *BMC Vet. Res.*, **15**: 355.
2. Iqbal Z., Ijaz A., Aleem M., Shahzad A.H., Sohail M.U., Nak D., Nak Y. and Abbas S. (2015). Effect of Butylated Hydroxytoluene on Post-thawed Semen Quality of Beetal Goat Buck, *Capra hircus* Pak. *J. Zool.*, **47**(1): 119-24.
3. Karagiannidis A., Varsakeli S. and Karatzas G. (1999). Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Thriogenology*, **53**: 1285-93.
4. Khandoker M., Afini N. and Azwan A. (2018). Productive and reproductive performance of Saanen goat at AZ-Zahra farm of Sandakan in Malaysia. *Bang. J. Ani. Sci.*, **47**(1): 1-12.
5. Kulaksiz R. and Daşkin A. (2010). *In vitro* evaluation of Saanen buck semen frozen in different extenders supplemented with various antioxidants. *Ankara Üni. Vet. Fak. Der.*, **57**: 151-56.
6. Kulaksiz R., Ari U.Ç., Daşkin A. and Üner A.G. (2013). The effect of different glycerol concentrations on freezability of semen from Angora, Kilis and Saanen goats. *Slovak J. Ani. Sci.*, **46**(2): 39-44.
7. Memon A.A., Wahid H., Rosnina Y., Goh Y.M., Ebrahimi M., Nadia F.M. and Audrey G. (2011). Effect of butylated hydroxytoluene on cryopreservation of Boer goat semen in Tris egg yolk extender. *Ani. Rep. Sci.*, **129**(1-2): 44-49.
8. Ngoma L., Kambulu L. and Mwanza M. (2016). Factors Influencing Goat's Semen Fertility and Storage: A Literature Review. *J. Hum. Eco.*, **56**(1-2): 114-25.
9. Putri A.R.I, Ciptadi G., Budiarto A. and Santoso I. (2019). Post-thawing sperm quality of Boer buck semen diluted in phosphate buffer saline supplemented with bovine serum albumin. *Earth & Env. Sci.*, **387**: 012121
10. Shamsuddin M., Amiri Y. and Bhuiyan M. (2000). Characteristics of Buck Semen with Regard to Ejaculate Numbers, Collection Intervals, Diluents and Preservation Periods. *Rep. Dom. Ani.*, **35**: 53-57.
11. Talouarn E., Bardou P., Palhière I., Oget C., Clément V., Consortium T., Tosser-Klopp G., Rupp R. and Robert-Granié C. (2020). Genome wide association analysis on semen volume and milk yield using different strategies of imputation to whole genome sequence in French dairy goats. *BMC Genetics*, **21**: 19.

HIỆU QUẢ PHỐI GIỐNG NHÂN TẠO TRÊN GÀ TRE GIỐNG

Phạm Chúc Trinh Bạch¹, Phan Ngọc Quí¹ và Võ Phong Vũ Anh Tuấn^{1*}

Ngày nhận bài báo: 30/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 10/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 14/04/2021

TÓM TẮT

Gà Tre là một giống gà được nuôi phổ biến ở các tỉnh Đồng bằng Sông Cửu Long, nhất là các tỉnh Tiền Giang và Bến Tre. Việc phối giống nhân tạo trên gà Tre chưa được nghiên cứu rộng rãi như gà Đông Tào, gà Hồ,... Đề tài được tiến hành tại một trại chăn nuôi gà Tre giống từ tháng 3/2019 đến tháng 11/2019 nhằm đánh giá hiệu quả phối giống nhân tạo trên gà Tre. Kết quả cho thấy phối giống nhân tạo vào buổi chiều khác biệt rõ rệt với phối giống nhân tạo vào buổi sáng và phối giống tự nhiên về tỷ lệ trứng có phôi ($P < 0,05$). Ngoài ra, kết quả về số tinh trùng tiến thẳng/liều phối từ 100 đến 150 triệu tinh trùng cho tỷ lệ trứng có phôi trên 95% và khác biệt có ý nghĩa thống kê với liều phối 50 triệu tinh trùng ($P < 0,05$). Hơn nữa, khoảng cách giữa 2 lần phối giống nhân tạo 3 ngày/lần và 5 ngày/lần cho tỷ lệ trứng có phôi 100% và khác biệt rõ rệt với khoảng cách 7 ngày/lần, 9 ngày/lần, 12 ngày/lần và phối giống tự nhiên ($P < 0,05$). Cuối cùng, hiệu quả kinh tế trong phối giống nhân tạo cho lợi nhuận cao hơn phối giống tự nhiên 500-600 VNĐ/quả trứng có phôi. Tóm lại, trong phối giống nhân tạo trên gà Tre nên thực hiện vào buổi chiều với 150 triệu tinh trùng/liều phối ở khoảng cách 5 ngày/lần.

Từ khóa: Gà Tre, phối giống nhân tạo, trứng có phôi, tinh trùng.

¹ Trường CĐ Nông Nghiệp Nam Bộ

*Tác giả liên hệ: TS. Võ Phong Vũ Anh Tuấn, Trường CĐNN Nam Bộ, xã Tân Mỹ Chánh, TP Mỹ Tho, tỉnh Tiền Giang; Điện thoại: 0919 213 577; Email: anhtuan@nbac.edu.vn

ABSTRACT

The study of efficiency of artificial insemination on Tre breeders

The Tre chicken is a popularly raised breed in the Mekong Delta, especially in Tien Giang and Ben Tre provinces. The artificial insemination on Tre chicken has not been widely studied such as Dong Tao chicken, Ho chicken. This study was performed at the breeding farm from March to November 2019 to evaluate the efficiency of artificial insemination on Tre breeders. The results indicated that the percentage of fertile egg in the artificial insemination in the evening was significantly higher than that of in the morning ($P < 0.05$). Moreover, the percentage of fertile egg was reach over 95% at a dose from 100 to 150 million sperms and significantly different with a dose of 50 million sperms ($P < 0.05$). In addition, the interval of 3 days and 5 days were given the percentage of fertile egg with 100% and the significant difference with 7 days, 9 days, 12 days and natural mating ($P < 0.05$). Finally, the economic efficiency in artificial insemination was more profitable than natural mating from 500 to 600 VND per a fertile egg. In conclusion, our results imply that the artificial insemination on Tre chicken could be done in the evening with 150 million sperms/dose at 5-day interval.

Keywords: Tre chicken, artificial insemination, fertile egg, sperm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gà Tre là giống gà bản địa được nuôi khá phổ biến ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long, đặc biệt ở tỉnh Tiền Giang, Bến Tre và được nuôi với quy mô lớn (>2.000 con/trại). Ngoài việc nuôi gà Tre thịt phục vụ nhu cầu thị trường, trứng gà Tre cũng là một sản phẩm được người tiêu dùng ưa chuộng. Với yêu cầu ngày càng cao của thị trường về thịt và trứng gà Tre nên nhu cầu về con giống cũng tăng cao. Gà Tre nuôi lấy trứng giống hiện được nuôi trên chuồng lồng (trung bình 1 lồng 0,72m² nuôi 6 con mái và 1 trống) và phối giống tự nhiên. Việc nuôi gà Tre giống trên lồng giúp giảm vấn đề ấp bóng trên gà mái, tăng tỷ lệ đẻ nhưng có nhiều bất lợi cho gà trống như khó đập mái, chất lượng tinh giảm,... phải bố trí tỷ lệ trống nhiều hơn so với nuôi trên nền với chất độn chuồng. Ngoài ra, việc gà trống được nuôi chung với gà mái trên chuồng lồng và phối giống tự nhiên làm tăng nguy cơ thoái hóa giống cũng như giảm chất lượng tinh trùng vì gà Tre trống ăn chung thức ăn của gà Tre mái (Dương Thanh Liêm và ctv, 2006). Bên cạnh đó, việc phối giống nhân tạo trên gà Tre chưa được nghiên cứu rộng rãi như gà Đông Tào (Lê Thị Thắm và ctv, 2017), gà Hồ (Bùi Hữu Đoàn và ctv, 2016),... Vì thế, để tăng hiệu quả trong chăn nuôi gà Tre mái và sử dụng tối ưu gà Tre trống góp phần tăng

cao hiệu quả trong chăn nuôi gà Tre giống thì việc khảo sát, đánh giá phối giống nhân tạo trên giống gà này là thật sự cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian

Gà Tre trống và mái 8-10 tháng tuổi, khỏe mạnh, thể chất tốt và đầy đủ đặc điểm của giống. Gà được nuôi dưỡng chăm sóc theo quy trình chăn nuôi của trại. Gà trống và gà mái được huấn luyện thành thạo trong việc khai thác tinh và phối giống nhân tạo trước khi đưa vào thí nghiệm.

Nghiên cứu thực hiện tại: (1) trại chăn nuôi ở Song Bình, Chợ Gạo, Tiền Giang và (2) trường Cao Đẳng Nông nghiệp Nam Bộ: Tân Mỹ Chánh, TP Mỹ Tho, Tiền Giang, từ tháng 3/2019 đến tháng 11/2019.

2.2. Bố trí thí nghiệm

2.2.1. Xác định số lượng tinh trùng tối ưu/liều phối và thời điểm phối giống nhân tạo tối ưu

Gà trống được khai thác tinh và mang số đánh dấu từng con. Tinh dịch sau khi kiểm tra được pha loãng với nước muối (0,9%, vô trùng) cho 3 mức VAC (tổng số tinh trùng tiến thẳng): 50, 100 và 150 triệu/liều phối. Thể tích tinh pha là 0,2 ml/liều phối (Saleh và ctv, 2012). Gà mái sử dụng trong phối giống nhân tạo được nuôi 6 con/lồng. Gà trống được nhốt

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT VÀ CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

3 con/lồng (có mang số chân từng con). Tinh dịch sẽ được phối ngay sau khi pha (Nguyễn Văn Duy, 2013; Li và ctv, 2018) vào buổi sáng (6-7 giờ) hoặc buổi chiều (17-18 giờ). Dùng ống tiêm (1ml, vô trùng) hút tinh đã pha loãng đưa sâu vào âm đạo bơm từ từ, tránh bơm mạnh sẽ làm tinh trào ngược ra (Nguyễn Văn Duy, 2013; Li và ctv, 2018).

Trứng gà mái ở các nghiệm thức (NT) được thu ngay sau khi phối giống nhân tạo

1 ngày. Trứng được đánh dấu riêng cho từng NT và thu hàng ngày, liên tục trong 5 ngày.

Ở NT phối giống tự nhiên, gà mái được nhốt chung gà trống với tỷ lệ 6 mái/trống/lồng. Trứng được thu cùng ngày với các NT phối giống nhân tạo, được đánh dấu riêng và thu hàng ngày, liên tục trong 5 ngày.

Trứng có phôi được xác định thông qua việc soi trứng vào ngày ấp thứ 3.

Bảng 1. Xác định số lượng tinh trùng và thời điểm phối giống nhân tạo

Phương thức phối	Nhân tạo						Tự nhiên
	Buổi sáng			Buổi chiều			
VAC (triệu tinh trùng/liều phối)	50	100	150	50	100	150	
Số gà mái (con)	36	36	36	36	36	36	36
Số gà trống (con)	3	3	3	3	3	3	6
Số lần lặp lại (lần)	6	6	6	6	6	6	6

2.2.2. Xác định khoảng cách tối ưu giữa 2 lần phối giống

Gà mái được phối giống nhân tạo với tinh dịch theo mức VAC tối ưu và thời điểm phối tối ưu từ kết quả ở TN trên. Gà trống và gà

mái ở TN này được bố trí như ở TN trên.

Trứng gà mái ở các NT được thu như TN trên và thu liên tục trong 12 ngày.

Trứng có phôi được xác định thông qua việc soi trứng vào ngày ấp thứ 3.

Bảng 2. Bố trí thí nghiệm xác định khoảng cách tối ưu giữa 2 lần phối giống

Phương thức phối	Nhân tạo					Tự nhiên
	3	5	7	9	12	
Khoảng cách 2 lần phối giống (ngày/lần)	3	5	7	9	12	
Số gà mái (con)	36	36	36	36	36	36
Số gà trống (con)	3	3	3	3	3	6
Số lần lặp lại (lần)	6	6	6	6	6	6

2.2.3. Nuôi dưỡng gà thí nghiệm

Gà được cho ăn 2 lần/ngày (lúc 7 và 15 giờ), lượng thức ăn khoảng 50 g/con/ngày.

Gà trống sử dụng trong phối giống nhân tạo được cung cấp khẩu phần ăn cơ bản; gà mái được ăn khẩu phần ăn cơ bản, có bổ sung khoáng đa lượng và vi lượng tối thiểu 2 lần/tuần.

Gà trống và gà mái sử dụng trong phối giống tự nhiên cho ăn cùng khẩu phần ăn cơ bản, có bổ sung khoáng đa lượng và vi lượng tối thiểu 2 lần/tuần.

2.3. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Minitab 16.0 để tính toán và so sánh các kết quả thu được.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Số lượng tinh trùng tối ưu/liều phối và thời điểm phối giống nhân tạo tối ưu

3.1.1. Số lượng tinh trùng tối ưu/liều phối

Trong phối giống nhân tạo, số lượng tinh trùng tối ưu là chỉ tiêu quan trọng cần xác định nhằm tối ưu hóa trong sử dụng gà trống cũng như nâng cao hiệu quả (HQ) trong chăn nuôi. Kết quả về số lượng tinh trùng tối ưu/liều phối được trình bày ở bảng 3.

Kết quả bảng 3 cho thấy với 50 triệu tinh trùng/liều phối cho tỷ lệ (TL) trứng có phôi thấp hơn ở 100 và 150 triệu tinh trùng/liều phối (91,61 và 92,31%). Sự khác biệt có ý nghĩa về thống kê ($P < 0,05$). Điều này chứng tỏ ở liều

phôi 50 triệu tinh trùng/liều phôi không đạt hiệu quả về TL trứng có phôi mặc dù ở liều phôi này thì sự khác biệt về TL trứng có phôi không có ý nghĩa khi so sánh với phôi giống tự nhiên ($P>0,05$). Như vậy, khi phôi giống nhân tạo trên gà Tre, số lượng tinh trùng/liều phôi phải đạt từ 100 triệu tinh trùng trở lên (Kharayat và ctv, 2016).

Bảng 3. Số lượng tinh trùng/liều phôi (triệu/liều)

Phương thức phôi	Nhân tạo			Tự nhiên
Số tinh trùng	150	100	50	
Số gà mái (con)	72	72	72	36
Số gà trống (con)	6	6	6	6
Số trứng giống (quả)	143	143	147	70
Trứng có phôi (quả)	132	131	118	60
TL trứng có phôi (%)	92,31 ^a	91,61 ^a	80,27 ^b	85,71 ^{ab}

3.1.2. Thời điểm phối giống nhân tạo tối ưu

Thời điểm phối giống nhân tạo sẽ quyết định TL trứng có phôi (Kharayat và ctv, 2016). Chính vì vậy, chỉ tiêu này cần được xác định cùng với số lượng tinh trùng/liều phôi. Hai chỉ tiêu này sẽ góp phần trực tiếp nâng cao tỷ lệ trứng có phôi trong chăn nuôi gà giống. Kết quả này được trình bày ở bảng 4.

Số liệu ở bảng 4 cho thấy phôi giống nhân tạo vào buổi chiều cho TL trứng có phôi

(93,93%) cao hơn buổi sáng (82,19%) và cao hơn phôi tự nhiên (85,71%). Kết quả ở bảng 4 cũng cho thấy sự khác biệt rõ rệt về TL trứng có phôi giữa phôi giống nhân tạo buổi chiều so với buổi sáng và phôi tự nhiên ($P<0,05$). Từ đó, có thể khẳng định việc phối giống nhân tạo nên thực hiện vào buổi chiều vì tinh trùng sau khi được đưa vào âm đạo gà mái sẽ dễ dàng di chuyển để gặp trứng do buổi sáng gà chưa đẻ nên trứng sẽ cản trở sự di chuyển của tinh trùng (Kharayat và ctv, 2016).

Bảng 4. Thời điểm phối giống nhân tạo

Phương thức phôi	Nhân tạo		Tự nhiên
Thời điểm (buổi)	Sáng	Chiều	
Số gà mái (con)	108	108	36
Số gà trống (con)	9	9	6
Số trứng giống (quả)	219	214	70
Trứng có phôi (quả)	180	201	60
TL trứng có phôi (%)	82,19 ^a	93,93 ^b	85,71 ^a

3.1.3. Số lượng tinh trùng/liều phôi và thời điểm phối giống nhân tạo

Nhằm thấy rõ ảnh hưởng của chỉ tiêu về số lượng tinh trùng và thời điểm phối giống nhân tạo về TL trứng có phôi, chúng tôi đã tổng hợp và trình bày các số liệu này ở bảng 5.

Bảng 5. Số lượng tinh trùng/liều và thời điểm phối

Phương thức phôi	Nhân tạo						Tự nhiên
	150		100		50		
Số tinh trùng (tr/liều)	150		100		50		
Thời điểm (buổi)	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	
Số gà mái (con)	36	36	36	36	36	36	36
Số gà trống (con)	3	3	3	3	3	3	6
Số trứng giống (quả)	74	69	70	73	75	72	70
Số trứng có phôi (quả)	64	68	60	71	56	62	60
TL trứng có phôi (%)	86,49 ^b	98,55 ^a	85,71 ^b	97,26 ^a	74,67 ^b	86,11 ^b	85,71 ^b

Số liệu tổng hợp ở bảng 5 cho thấy khi kết hợp giữa số lượng tinh trùng/liều phôi với thời điểm phối thì phôi giống nhân tạo vào buổi chiều ở 100 và 150 triệu tinh trùng/liều phôi cho tỷ lệ trứng có phôi cao hơn khi phối giống nhân tạo vào buổi sáng hoặc chiều ở 50 triệu tinh trùng/liều phôi (Kharayat và ctv, 2016). Sự khác biệt này có ý nghĩa về thống kê $P<0,05$). Như vậy, phôi giống nhân tạo vào buổi chiều ở 100 và 150 triệu tinh trùng/liều

phôi cho hiệu quả hơn phôi giống tự nhiên về TL trứng có phôi. Sự khác biệt này có ý nghĩa về thống kê ($P<0,05$). Do vậy, trong chăn nuôi gà Tre giống, người chăn nuôi nên thực hiện phối giống nhân tạo vào buổi chiều ở liều phôi tối thiểu là 100 triệu tinh trùng (Kharayat và ctv, 2016).

3.1.4. Đánh giá hiệu quả kinh tế

Hiệu quả kinh tế trong chăn nuôi luôn được quan tâm hàng đầu vì đây là yếu tố

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT VÀ CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

quyết định trong chăn nuôi. Để đánh giá HQ kinh tế phối giống nhân tạo trong chăn nuôi gà Tre giống, chúng tôi đã tiến hành TN và trình bày kết quả đánh giá giữa số lượng tinh trùng tối ưu/liều phối và thời điểm phối giống nhân tạo tối ưu với phối giống tự nhiên (Bảng 6).

Bảng 6. Hiệu quả kinh tế

Phương thức phối	Nhân tạo		Tự nhiên
Số tinh trùng (tr/liều)	150	100	
Thời điểm (buổi)	Chiều	Chiều	
Số gà mái (con)	36	36	36
Số gà trống (con)	3	3	6
Số trứng giống (quả)	69	73	70
Trứng có phôi (quả)	68	71	60
Tổng chi (đ)	145.629	146.529	152.862
Tổng thu (đ)	272.000	284.000	240.000
HQ kinh tế/quả (đ)	1.858,4	1.936,2	1.452,3

Số liệu ở bảng 6 cho thấy chăn nuôi gà Tre giống vẫn luôn mang lại HQ kinh tế cao cho người chăn nuôi. Thật vậy, với mỗi trứng gà có phôi người chăn nuôi sẽ thu lợi nhuận từ 1.450 đến 1.930 đồng (đ). Số liệu ở bảng 6 đã khẳng định được rằng phối giống nhân tạo mang lại lợi nhuận cao hơn phối giống tự nhiên mặc dù sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê. Điều này có thể được giải thích do

sự chênh lệch về số gà trống phải nuôi (phối giống tự nhiên cần số gà trống gấp đôi phối giống nhân tạo). Hơn nữa, do gà trống được nuôi chung gà mái nên khó khống chế mức ăn của gà trống nên gà dễ mập (ăn nhiều, ít vận động). Ngoài ra, do nhu cầu cao về hàm lượng can-xi của gà mái nên nếu nuôi chung, gà trống ăn thức ăn của gà mái (nhiều can-xi) sẽ làm giảm chất lượng tinh và ảnh hưởng đến tỷ lệ trứng có phôi (Dương Thanh Liêm và ctv, 2006). Trái lại, gà trống sử dụng trong phối giống nhân tạo được nhốt riêng (3 con/lồng), khẩu phần ăn đủ và đúng tiêu chuẩn, gà được vận động nhiều và lịch khai thác theo kế hoạch nên chất lượng tinh tốt hơn, giúp tỷ lệ trứng có phôi cao hơn.

3.2. Khoảng cách giữa 2 lần phối giống nhân tạo

3.2.1. Khoảng cách tối ưu giữa 2 lần phối

Từ kết quả TN trên, chọn thời điểm phối giống nhân tạo vào buổi chiều là thời điểm tối ưu và số lượng tinh trùng tiến thẳng/liều phối là 150 triệu là tối ưu để thực hiện cho TN xác định khoảng cách (KC) tối ưu giữa 2 lần phối giống nhân tạo (Bảng 7).

Bảng 7. Kết quả khoảng cách giữa hai lần phối giống nhân tạo

Phương thức phối	Nhân tạo					Tự nhiên
KC 2 lần phối (ngày)	3	5	7	9	12	
Số gà mái (con)	36	36	36	36	36	36
Số gà trống (con)	3	3	3	3	3	6
Số trứng giống (quả)	170	175	165	166	166	162
Số trứng có phôi (quả)	170	175	155	140	120	138
Tỷ lệ trứng có phôi (%)	100 ^a	100 ^a	93,94 ^b	84,34 ^c	72,29 ^d	85,19 ^c

Bảng 7 cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về TL trứng có phôi khi phối giống nhân tạo với khoảng cách giữa 2 lần phối: 3, 5, 7, 9 và 12 ngày và phối giống tự nhiên ($P < 0,05$). Cũng qua bảng 7 cho thấy, ở khoảng cách 7 ngày/lần phối có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$) so với khoảng cách 9, 12 ngày/lần và phối giống tự nhiên (Kharayat và ctv, 2016). Tuy nhiên, trong điều kiện cần tiết giảm

chi phí lao động, với khoảng cách giữa hai lần phối nhân tạo là 9 ngày/lần vẫn cho tỷ lệ trứng có phôi tương đương với phối giống tự nhiên ($P > 0,05$). Nhìn chung, trong chăn nuôi gà Tre, người làm công tác kỹ thuật nên chọn khoảng cách giữa 2 lần phối giống nhân tạo là 5 ngày/lần vừa tiết kiệm được chi phí lao động vừa đạt được hiệu quả trong chăn nuôi nhất là trong chăn nuôi gà bố, mẹ.

3.2.2. Đánh giá hiệu quả kinh tế

Việc phối giống nhân tạo cho gà nói chung đã mang lại nhiều hiệu quả tích cực và được nhiều trại áp dụng trong chăn nuôi những dòng gà nặng cân như Đông Tảo, Hồ (Nguyễn Văn Duy, 2013; Lê Thị Thắm và ctv, 2017). Trong tương lai không xa, việc phối giống nhân tạo sẽ được áp dụng rộng rãi

trong chăn nuôi gà, đặc biệt với gà Tre giống vì giúp cải thiện chất lượng con giống, giảm thiểu tình trạng thoái hóa giống như hiện nay. Để áp dụng hiệu quả việc phối giống nhân tạo cho gà Tre giống cũng cần giảm thiểu chi phí công lao động. Chính vì vậy, việc nghiên cứu thời gian tối ưu giữa 2 lần phối sẽ góp phần nâng cao hiệu quả kinh tế. Kết quả này được trình bày qua bảng 8.

Bảng 8. Kết quả hiệu quả kinh tế

Phương thức phối	Nhân tạo					Tự nhiên
KC 2 lần phối (ngày)	3	5	7	9	12	
Số gà mái (con)	36	36	36	36	36	36
Số gà trống (con)	3	3	3	3	3	6
Số trứng giống (quả)	170	175	165	166	166	162
Số trứng có phôi (quả)	170	175	155	140	120	138
Tổng chi (đ)	358.593	360.093	354.093	349.593	343.593	372.654
Tổng thu (đ)	680.000	700.000	620.000	560.000	480.000	552.000
HQ kinh tế/quả (đ)	1.891	1.942	1.716	1.503	1.137	1.300

Số liệu từ bảng 8 cho thấy HQ kinh tế cao nhất khi thực hiện việc phối giống nhân tạo 5 ngày một lần (1.942 đ/quả trứng có phôi). Lợi nhuận tương đối khi thực hiện phối giống nhân tạo ở khoảng cách 3 ngày/lần. Nếu so sánh với phối giống tự nhiên, rõ ràng người chăn nuôi chỉ đạt khoảng 1.300 đ/quả trứng có phôi, lợi nhuận này chỉ bằng 2/3 so với khoảng cách 5 ngày một lần mặc dù sự khác biệt này không có ý nghĩa về thống kê.

4. KẾT LUẬN

Phối giống nhân tạo trên gà Tre giống nên thực hiện vào buổi chiều với số lượng tinh trùng tiến thẳng/liều phối là 150 triệu. Khoảng cách giữa 2 lần phối giống nhân tạo tối ưu là 5 ngày/lần. Hiệu quả kinh tế của phương thức phối giống nhân tạo mang lại lợi nhuận cao hơn phối giống tự nhiên 500-600 đ/quả trứng có phôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Duy (2013). Khả năng sinh sản của gà Hồ. Luận văn thạc sỹ nông nghiệp. Đại Học Nông Nghiệp

Hà Nội.

- Bùi Hữu Đoàn, Hoàng Anh Tuấn, Đào Lệ Hằng và Nguyễn Hoàng Thịnh (2016). Ảnh hưởng của phương pháp thụ tinh đến năng suất sinh sản của gà Hồ. Vietnam J. Agr. Sci., 14: 727-33.
- Kharayat N.S., Chaudhary G.R., Katiyar R., Balmurugan B., Patel M., Uniyal S., Raza M. and Mishra G.K. (2016). Significance of Artificial Insemination in Poultry. J. Vet. Sci. Tec., 5: 1-5.
- Li Y., Zhan K., Li J., Liu W., Ma R., Liu S., Han T., Li S., Wang S. and Hu Y. (2018). Comparison of natural mating and artificial insemination on laying performance, egg quality and welfare of fast feathering huainan partridge chickens. Pak. J. Zoo., 50: 1131-35.
- Dương Thanh Liêm, Bùi Huy Như Phúc và Dương Duy Đồng (2006). Thức ăn và dinh dưỡng động vật, NXB Nông nghiệp.
- Saleh D.M., Sugiyatno, Mugiyono S. and Siswadi R.W. (2012). Effect of Number of Spermatozoa, Oviduct Condition and Timing of Artificial Insemination on Fertility and Fertile Period of Kampung Rooster Spermatozoa. Ani. Pro., 14: 32-36.
- Lê Thị Thắm, Đỗ Văn Thu, Đoàn Việt Bình, Nguyễn Văn Khôi, Lê Thị Huệ, Ngô Xuân Thái và Đặng Vũ Bình (2017). Đánh giá phẩm chất tinh dịch và thụ tinh nhân tạo cho gà Đông Tảo. Vietnam J. Agr. Sci., 15: 755-63.

TÌNH HÌNH DỊCH LỞ MỒM LONG MÓNG Ở ĐÀN GIA SÚC CỦA TỈNH QUẢNG NINH GIAI ĐOẠN 2016-2020

Đỗ Thị Vân Giang^{1*}, Nguyễn Thị Bích Ngà¹, Trương Thị Tinh¹ và Vũ Thị Ánh Huyền¹

Ngày nhận bài báo: 23/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 12/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 24/04/2021

TÓM TẮT

Tổng hợp tình hình dịch Lở mồm long móng (LMLM) trên đàn gia súc của tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2016-2020 cho thấy, dịch bệnh xảy ra ở cả 5 năm điều tra. Dịch LMLM xảy ra với quy mô lớn vào năm 2019 tại 6 xã/phường/thị trấn thuộc 4 huyện/thành/thị ghi nhận 375 gia súc mắc bệnh. Trong các năm có dịch, bệnh xảy ra chủ yếu vào vụ Đông-Xuân (chiếm 78,78%), ít xảy ra hơn vào vụ Hè-Thu (chiếm 21,22%). Tại tỉnh Quảng Ninh, chỉ thấy bệnh LMLM xảy ra trên 3 nhóm đối tượng trâu, bò và lợn; các loài gia súc khác không mắc bệnh trong 5 năm điều tra. Các cơ quan chức năng cũng như người chăn nuôi cần chú ý tiêm phòng bệnh LMLM cho đàn gia súc tại địa phương nhằm khống chế dịch bệnh tái phát.

Từ khóa: Bệnh lở mồm long móng, gia súc, Quảng Ninh, tiêm phòng, 2016-2020.

ABSTRACT

Situation of Foot and mouth epidemic on cattle in Quang Ninh province from 2016 to 2020

Foot and mouth disease (FMD) epidemic occurred in the herd of cattle in Quang Ninh province in 5 years of investigation, period 2016-2020. FMD occurred on a large scale in 2019 in 6 communes/wards/towns in 4 districts/cities/towns, with 375 infected castles. During the epidemic years, this disease occurs mainly in Winter-Spring crop (accounting for 78.78%), less common in Summer-Autumn crop (accounting for 21.22%). In Quang Ninh province, FMD epidemic only occurs in buffaloes, cows, and pigs; Other animals are not infected within five years of investigation. The authorities and farmers should pay attention to the FMD vaccination of cattle to control locally recurrent disease.

Keywords: FMD, cattle, Quang Ninh, vaccination, 2016-2020.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Nguyễn Tiến Dũng (2000), bệnh Lở mồm long móng (LMLM) do virus thuộc họ Picornaviridae gây nên, là bệnh truyền nhiễm cấp tính nguy hiểm xảy ra ở tất cả các loài thú gặm chần (cả gia súc và động vật hoang dã). Bệnh có tính chất dịch lớn, lây lan rất nhanh và rất mạnh. Tỷ lệ gia súc mắc bệnh rất cao, gây thiệt hại rất lớn về kinh tế. Bệnh LMLM được Tổ chức Thú y thế giới (OIE) xếp vào danh mục những bệnh phải công bố dịch đối với tất cả các quốc gia.

Cục Thú y (2011) cho biết ở Việt Nam, bệnh LMLM được phát hiện đầu tiên vào năm

1898 tại Nha Trang và sau đó dịch đã xảy ra ở các tỉnh Trung và Nam Bộ. Từ năm 1976-1983, đã có 98 ổ dịch ở các tỉnh phía Nam, làm 26.648 trâu, bò và 2.919 lợn bị bệnh. Dịch LMLM đã xảy ra trên trâu, bò liên tục suốt thời gian từ 1975 đến 2005; trên lợn từ 1992 đến 2005 và gây thiệt hại nặng nề nhất vào các năm 1993, 1995, 1999, 2000.

Quảng Ninh là một tỉnh giáp Trung Quốc nên là đầu mối trung chuyển hàng hóa giữa 2 quốc gia. Việc vận chuyển, buôn bán động vật và sản phẩm động vật diễn ra hết sức phức tạp là nguyên nhân cơ bản dẫn đến việc bệnh LMLM lây lan tại tỉnh Quảng Ninh. Chính vì vậy, hàng năm dịch LMLM vẫn thường xuyên xuất hiện trên đàn gia súc của tỉnh này.

Từ những yêu cầu cấp thiết của việc khống chế bệnh LMLM tại tỉnh Quảng Ninh, chúng tôi đã khảo sát *Tình hình dịch Lở mồm*

¹Trường CĐ Kinh tế-Kỹ Thuật-ĐHTN

* Tác giả liên hệ: TS. Đỗ Thị Vân Giang, Trường CĐ Kinh tế-Kỹ Thuật - ĐHTN. Địa chỉ: Tổ 15, phường Thịnh Đán, thành phố Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên. Email: vangiang208@gmail.com; Điện thoại: 0904227272

long móng ở đàn gia súc của tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2016-2020.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian

Đàn gia súc tại tỉnh Quảng Ninh và bệnh LMLM trên đàn gia súc, từ năm 2016 đến 2020.

2.2. Phương pháp

Xác định sự phân bố bệnh LMLM ở gia súc tại các huyện, thành, thị của tỉnh Quảng Ninh năm 2016-2020; xác định tỷ lệ gia súc mắc bệnh và chết theo mùa vụ và theo loài mắc bệnh tại các địa phương có dịch; xác định tỷ lệ tiêm phòng vaccine LMLM tại Quảng Ninh: Sử dụng phương pháp điều tra dịch tễ học hồi cứu, dựa vào số liệu các ổ dịch LMLM được ghi chép chi tiết đến cấp xã do Chi cục Thú y tỉnh Quảng Ninh cung cấp.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học của Nguyễn Văn Thiện và ctv (2002).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự phân bố bệnh LMLM ở đàn gia súc tại Quảng Ninh giai đoạn 2016-2020

Bảng 1. Bệnh LMLM ở gia súc tại Quảng Ninh

Địa phương	Năm xảy ra dịch LMLM					Tổng
	2016	2017	2018	2019	2020	
Ba Chẽ				x	x	2
Bình Liêu		x		x	x	3
Cô Tô						0
Đầm Hà						0
Đông Triều	x		x			2
Hải Hà						0
Hoành Bồ				x		1
Tiên Yên						0
Vân Đồn						0
Quảng Yên						0
Cầm Phả						0
Uông Bí				x		1
Hạ Long						0
Móng Cái						0
Tổng	1	1	1	4	2	9

Ghi chú: x là có dịch LMLM

Diễn biến cụ thể ở các năm có dịch LMLM trên đàn gia súc tại các địa phương thuộc tỉnh Quảng Ninh được thể hiện qua Bảng 1 cho thấy dịch xuất hiện trong cả 5 năm điều tra tại tỉnh Quảng Ninh. Mỗi năm dịch chỉ xuất hiện ở 1-4 huyện, thành, thị và tập trung chủ yếu vào 3 huyện, thị (Ba Chẽ, Bình Liêu và Đông Triều). Một số huyện, thành, thị không thấy xuất hiện dịch LMLM trên đàn gia súc trong tất cả 5 năm điều tra (Cô Tô, Đầm Hà, Hải Hà, Tiên Yên, Vân Đồn, Quảng Yên, Cầm Phả, Hạ Long, Móng Cái). Trong cả 5 năm điều tra, bệnh LMLM chỉ gây bệnh cho đàn trâu, bò và lợn của tỉnh Quảng Ninh; không thấy các loài gia súc khác mắc bệnh.

3.2. Tỷ lệ gia súc mắc bệnh, chết và tiêu hủy do LMLM

Gia súc là loài vật nuôi phổ biến và có giá trị kinh tế, vì vậy khi dịch LMLM xảy ra đã gây ảnh hưởng không nhỏ đến kinh tế các hộ chăn nuôi. Để thấy rõ hơn bức tranh về tình hình dịch LMLM, đã tiến hành tổng hợp tỷ lệ gia súc mắc bệnh, chết và tiêu hủy do LMLM tại Quảng Ninh trong giai đoạn 2016-2020 và kết quả được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ gia súc bị bệnh, chết và tiêu hủy do LMLM

Năm	Số huyện, thành, thị có dịch	Số phường, xã, thị trấn có dịch	Số gia súc mắc bệnh (con)	Số gia súc chết, tiêu hủy (con)
2016	1	1	11	0
2017	1	3	84	0
2018	1	2	105	45
2019	4	6	375	208
2020	2	4	165	4
Tổng	9	16	740	257

Bảng 2 cho thấy trong giai đoạn 2016-2020, dịch LMLM xảy ra ở tất cả các năm, tuy nhiên, dịch chỉ xảy ra với quy mô nhỏ lẻ tại một số xã, phường trên địa bàn tỉnh Quảng Ninh. Dịch LMLM xảy ra với quy mô lớn nhất vào năm 2019 với 4 huyện, thành, thị; 6 phường, xã có dịch và ghi nhận 375 gia súc mắc bệnh; 208 gia súc chết và tiêu hủy. Năm 2016, dịch xảy ra với quy mô nhỏ tại xã Tràng

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT VÀ CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

Lương thuộc Đông Triều ghi nhận 11 con trâu mắc bệnh, không có con nào chết và tiêu hủy.

Sở dĩ như vậy là do khi có dịch LMLM xảy ra, Ban chỉ đạo phòng chống dịch của tỉnh cũng như cơ sở đã kịp thời hỗ trợ về nhân lực, vật tư, hóa chất để xử lý ổ dịch cũng như vaccine tiêm phòng bao vây dập dịch. Đồng thời, tỉnh Quảng Ninh luôn bám sát các văn bản chỉ đạo của Thủ tướng Chính phủ, Bộ Nông nghiệp và PTNT, Cục Thú y trong xử lý ổ dịch cũng như thực hiện cơ chế hỗ trợ đối với vật nuôi bị thiệt hại do thiên tai, dịch bệnh. Vì vậy, công tác xử lý ổ dịch, hỗ trợ thiệt hại

cho người chăn nuôi được thực hiện đúng qui định, đúng đối tượng và có hiệu quả. Điều này đã khuyến khích người chăn nuôi kịp thời khai báo khi có dịch xảy ra.

3.3. Tình hình dịch LMLM theo mùa vụ tại Quảng Ninh

Mùa vụ là yếu tố được rất nhiều nhà dịch tễ học quan tâm. Đây được coi là yếu tố stress khiến bệnh dịch phát sinh. Để hiểu rõ hơn về đặc điểm dịch tễ của bệnh LMLM, tiến hành theo dõi tỷ lệ nhiễm bệnh, chết và tiêu hủy theo mùa vụ. Kết quả thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ gia súc mắc bệnh, chết và tiêu hủy do LMLM theo mùa vụ

Năm	Số gia súc mắc bệnh (con)	Đông - Xuân				Hè - Thu			
		Số con mắc (con)	Tỷ lệ (%)	Số con tiêu hủy, chết (con)	Tỷ lệ (%)	Số con mắc (con)	Tỷ lệ (%)	Số con tiêu hủy, chết (con)	Tỷ lệ (%)
2016	11	0	0,00	0	0,00	11	100	0	0,00
2017	84	84	100	0	0,00	0	0,00	0	0,00
2018	105	105	100	45	42,86	0	0,00	0	0,00
2019	375	229	61,07	207	90,39	146	38,93	2	1,37
2020	165	165	100	4	2,42	0	0,00	0	0,00
Chung	740	583	78,78	256	43,91	157	21,22	2	1,27

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy tính chung trong các năm điều tra, dịch LMLM ở đàn gia súc chủ yếu bùng phát vào vụ Đông-Xuân (tỷ lệ mắc bệnh là 78,78%; tỷ lệ chết và tiêu hủy là 43,91%). Bệnh xuất hiện với tỷ lệ thấp trong vụ Hè-Thu (tỷ lệ mắc bệnh chung trong 5 năm vào vụ Hè-Thu là 21,22%; tỷ lệ chết và tiêu hủy là 1,27%). Dịch LMLM bùng phát vào vụ Đông-Xuân trong cả 4 năm (2017-2020), không xảy ra vào vụ Đông-Xuân năm 2016; Dịch chỉ xuất hiện trong vụ Hè-Thu vào năm 2016 và 2019 với số gia súc mắc bệnh thấp, không xảy ra vào vụ Hè-Thu trong các năm 2017, 2018 và 2020.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù

hợp với nghiên cứu của Phạm Anh Hùng (2012) tại Lai Châu; Nguyễn Hải Sơn (2010) và Lại Văn Lý (2015) tại Quảng Ninh.

3.4. Tình hình dịch LMLM theo loài mắc bệnh

Giống, loài có ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm bệnh nói chung và tỷ lệ nhiễm bệnh LMLM nói riêng. Kết quả điều tra cho thấy tỷ lệ mắc bệnh LMLM phụ thuộc theo loài gia súc có tại Quảng Ninh; giai đoạn 2016-2020 bệnh chỉ xảy ra trên trâu, bò và lợn. Về cơ bản, trâu và bò rất gần nhau về phương diện sinh học nên khi điều tra, chúng tôi đã chia loài mắc bệnh thành 2 nhóm là nhóm trâu, bò và nhóm lợn.

Bảng 4. Tình hình mắc bệnh LMLM theo loài

Năm	Tổng số gia súc mắc LMLM (con)	Trâu, bò				Lợn			
		Số con mắc (con)	Tỷ lệ (%)	Số con tiêu hủy và chết (con)	Tỷ lệ (%)	Số con mắc (con)	Tỷ lệ (%)	Số con tiêu hủy và chết (con)	Tỷ lệ (%)
2016	11	11	100	0	0,00	0	0,00	0	0,00
2017	84	84	100	0	0,00	0	0,00	0	0,00
2018	105	0	0,00	0	0,00	105	100	45	42,86
2019	375	146	38,93	2	1,37	229	61,07	207	90,39
2020	165	165	100	4	2,42	0	0,00	0	0,00
Chung	740	406	54,86	6	1,48	334	45,14	252	75,45

Kết quả bảng 4 cho thấy, trong 5 năm điều tra tại tỉnh Quảng Ninh, bệnh LMLM chỉ xuất hiện trên đàn trâu, bò và lợn; không thấy bệnh xuất hiện trên các loại gia súc khác. Số lượng trâu, bò mắc bệnh LMLM nhiều hơn so với lợn (54,86 và 45,14%); điều này chứng tỏ trâu, bò mắc bệnh với mầm bệnh hơn lợn. Tuy nhiên, tỷ lệ chết và tiêu hủy của lợn lại rất cao so với trâu, bò (75,45% ở lợn và 1,48% ở trâu, bò); điều này là do, trâu, bò là loài có giá trị kinh tế rất lớn đối với các hộ chăn nuôi, chính vì vậy người chăn nuôi thường tiến hành điều trị bệnh cho đối tượng vật nuôi này; bên cạnh đó, sức đề kháng của trâu, bò khá tốt nên ít trâu, bò chết do LMLM nếu được điều trị kịp thời.

3.5. Tỷ lệ tiêm phòng vaccine LMLM cho đàn gia súc tại Quảng Ninh giai đoạn 2016-2020

Tiêm vaccine là một trong những biện pháp chủ động giúp ngăn ngừa dịch bệnh. Theo Saravanan và ctv (2015), việc tiêm chủng vaccine phòng bệnh LMLM có thể duy trì miễn dịch tốt cho đàn gia súc. Chính vì vậy, tỉnh Quảng Ninh đã có hướng chỉ đạo tiêm vaccine để phòng bệnh LMLM cho đàn gia súc tại các địa phương. Kết quả tiêm phòng vaccine LMLM của tỉnh giai đoạn 2016-2020 được thể hiện qua bảng 5:

Bảng 5. Tỷ lệ tiêm phòng vaccine LMLM cho gia súc tại tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2016 - 2020

Năm	Kế hoạch tiêm (con)	Thực tế đã tiêm (con)	Tỷ lệ (%)
2016	172.500	148.860	86,30
2017	186.900	169.484	90,68
2018	208.600	185.007	88,69
2019	174.500	153.611	88,03
2020	147.950	111.728	75,52

Qua Bảng 5 cho thấy: Từ năm 2016 đến 2020, vaccine LMLM đã được tiêm phòng hàng năm cho đàn gia súc của tỉnh Quảng Ninh để phòng bệnh LMLM. Trong từng năm, Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Quảng Ninh đều đặt ra kế hoạch tiêm phòng bệnh LMLM cho đàn gia súc; tuy nhiên, số lượng gia súc được tiêm thực tế thường không đạt được chỉ tiêu đề ra. Năm 2016-2019, tỷ lệ tiêm phòng vaccine LMLM đạt tương đối cao (>80%) nhưng đến năm 2020 tỷ

này giảm còn 75,52%. Sở dĩ tỷ lệ tiêm phòng năm 2020 giảm là do ảnh hưởng của dịch bệnh Covid-19 đã làm cho công tác tiêm phòng tại các địa phương gặp rất nhiều khó khăn.

4. KẾT LUẬN

Trong cả 5 năm điều tra (2016-2020), năm nào dịch LMLM cũng xảy ra trên đàn gia súc của tỉnh Quảng Ninh, trong đó năm 2019 dịch xảy ra với quy mô lớn nhất.

Dịch LMLM chủ yếu xảy ra vào vụ Đông-Xuân, rất ít, thậm chí không xảy ra ở vụ Hè-Thu.

Tại Quảng Ninh, dịch LMLM chỉ xảy ra trên đàn trâu, bò và lợn; không thấy các loài gia súc khác mắc bệnh trong thời gian điều tra.

Tỷ lệ tiêm phòng vaccine LMLM cho đàn gia súc thực tế tại Quảng Ninh tương đối cao so với kế hoạch (75,52-90,68); tuy nhiên so với tổng đàn gia súc thì vẫn còn thấp. Chính vì vậy, địa phương cần tiếp tục đẩy mạnh công tác tiêm phòng bệnh LMLM cho đàn gia súc nhằm phòng tránh dịch bệnh bùng phát.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Quảng Ninh (2016-2020). Báo cáo kết quả thực hiện công tác Chăn nuôi và thú y hàng năm (2016-2020).
2. Cục Thú y (2011). Chương trình Quốc Gia khống chế và thanh toán bệnh lở mồm long móng giai đoạn 2011-2015.
3. Nguyễn Tiến Dũng (2000). Bệnh lở mồm long móng (bài tổng hợp), Tạp chí KHKT Thú y, 7: 8-16.
4. Phạm Anh Hùng (2012). Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ và xác định type virus gây bệnh LMLM ở trâu, bò tại tỉnh Lai Châu, Luận văn Thạc sĩ Nông nghiệp, Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên.
5. Lại Văn Lý (2015). Nghiên cứu sự lưu hành của virus lở mồm long móng ở trâu, bò tại tỉnh Quảng Ninh và hiệu lực của vaccine Aftopar trong công tác phòng chống, Luận văn Thạc sĩ Thú y, Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên.
6. Saravanan P., Sreenivasa B.P., Selvan R.P., Basagoudanavar S.H., Hosamani M., Reddy N.D., Nathanielsz J., Derozier C. and Venkataramanan R. (2015). Protective immune response to liposome adjuvanted high potency foot-and-mouth disease vaccine in Indian cattle, Vaccine, 33(5): 670-77.
7. Nguyễn Hải Sơn (2010). Nghiên cứu sự lưu hành của vi rút Lở mồm long móng trên trâu, bò và hiệu lực của vắc xin trong công tác phòng dịch Lở mồm long móng tại tỉnh Quảng Ninh. Luận văn Thạc sĩ Thú y, Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên.
8. Nguyễn Văn Thiện, Nguyễn Khánh Quốc và Nguyễn Duy Hoan (2002). Phương pháp nghiên cứu trong chăn nuôi, NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.

HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ *MYCOPLASMA SUIS* CỦA MỘT SỐ LOẠI KHÁNG SINH THÔNG QUA CÁC CHỈ TIÊU SINH HÓA MÁU VÀ TÌNH TRẠNG SỨC KHỎE TRÊN HEO CON CAI SỮA

Nguyễn Ngọc Hải¹, Bùi Thị Diệu Mai^{1*} và Diệp An Thành Long²

Ngày nhận bài báo: 30/01/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 20/02/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 09/03/2021

TÓM TẮT

Thí nghiệm nhằm đánh giá hiệu quả điều trị đàn heo nhiễm *Mycoplasma suis* của 4 loại kháng sinh kết hợp khác nhau trên tổng số 100 heo cai sữa được xác nhận nhiễm *M. suis* trước đó được phân vào 4 lô: Lô I sử dụng kháng sinh flofenicol và doxycycline; Lô II: doxycycline; Lô III: bactrim (trimethoprim và sulfamethoxazole); và Lô IV: doxycycline và bactrim, được bổ sung vào trong khẩu phần của heo sau cai sữa có nhiễm *M. suis* với 2 đợt điều trị, trong giai đoạn từ sau cai sữa đến lúc 3 tháng tuổi đã có tác dụng làm giảm mức độ nhiễm *M. suis*; làm cải thiện các chỉ tiêu sinh lý, sinh hoá máu như sự gia tăng trở lại mức bình thường của hàm lượng tế bào hồng cầu từ mức thấp ($5,62-5,88 \times 10^{12}/l$) trở về mức $6,32-6,99 \times 10^{12}/l$, hàm lượng Hemoglobin (HGB) từ mức 9,91-10,17g/dl trở về 10,55-12,87 g/dl, hàm lượng Hematocrit từ mức 33,02-34,22% về mức 42,41-38,43% và glucose huyết từ mức 49,28-51,94 mg/dl về mức 93,70-113,79 mg/dl. Hiệu quả của việc điều trị cũng được đánh giá thông qua các chỉ tiêu bệnh hô hấp và tiêu hóa. Kết quả điều trị cho thấy kháng sinh tốt nhất là ở lô IV có sự kết hợp kháng sinh doxycycline và bactrim, kể đến là lô I (doxycycline và florfenicol). Kết quả điều trị chỉ được ghi nhận rõ khi được cấp thuốc ít nhất hai lần với liệu trình 7 ngày/lần cấp và mỗi lần cấp cách nhau 30 ngày.

Từ khóa: *Mycoplasma suis*, heo con cai sữa, điều trị.

ABSTRACT

Assessing the effectiveness of *Mycoplasma suis* infection treatment with some antibiotics through the physiological-biochemical blood parameters and health status in post-weaning piglets

The study aimed to evaluate effects of treating *Mycoplasma suis* in pigs by different kinds of antibiotics on a total of 100 weaning pigs which had confirmed positive with *Mycoplasma suis* were divided into 4 lots. Using antibiotics in Lot I (flofenicol and doxycycline), Lot II (doxycycline), Lot III (bactrim), Lot IV (doxycycline and bactrim) in addition to the meals of post-weaned pigs infected with *M. suis* during the period from post-weaning to 3-month age, which the drug was given at least twice, has been effective for reducing the harmful effects on animal health indicators caused by *M. suis*. The improvement of the blood samples with physiological-biochemical blood figures had been recognised such as a rise back to the normal level of RBC from a low level of 5.62 to $5.88 \times 10^{12}/l$, returned to from 6.32 to $6.99 \times 10^{12}/l$, HGB from $9.91-10.17$ g/dl to normal level ($10.55-12.87$ g/dl), HCT from $33.02-34.22\%$ to level $42.41-38.43\%$ and blood glucose from 49.28 to 51.94 mg/dL to level $93.70-113.79$ mg/dl. The effectiveness of the treatment was also assessed by indicators of respiratory and gastrointestinal diseases. The results showed that this treatment with antibiotics was best in in Lot IV (the combination of doxycycline và bactrim, followed by Lot I (doxycycline và florfenicol). The result of treatment with doxycycline antibiotic was only recognized when the drug was given at least twice with a 7-day course and each 30 days apart.

Keywords: *Mycoplasma suis*, post-weaning piglets, treatment.

¹ Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM

² Phân hiệu Trường Đại học Lâm Nghiệp tại tỉnh Đồng Nai

* Tác giả liên hệ: ThS. Bùi Thị Diệu Mai, Phân hiệu Trường Đại học Lâm Nghiệp tại tỉnh Đồng Nai, Điện thoại: 0901613795. Email: btdmai@vnuf2.edu.vn

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm trùng *Mycoplasma suis* (*M. suis*), tên gọi trước đây là *Eperythrozoon suis*, sau được phân loại lại thuộc chi *Mycoplasma*, có thể xảy ra ở tất cả các nhóm tuổi của heo. Bệnh thường liên quan đến các yếu tố stress và có thể tái phát ở động vật bị stress thường xuyên, kết hợp đồng thời với các bệnh truyền nhiễm khác, bệnh do ký sinh trùng hoặc cùng các vấn đề liên quan đến quản lý đàn. Loài vi sinh vật này còn được cho là có liên quan đến rối loạn sinh sản trên heo nái, gia tăng cảm nhiễm bệnh lý đường ruột và đường hô hấp (Hoelzle và ctv, 2006).

M. suis có rất nhiều ở các tế bào hồng cầu heo, chúng bám lên bề mặt hồng cầu, gây biến dạng, hư hại, làm sụt giảm số lượng cũng như chức năng của hồng cầu. Heo nhiễm bệnh bị giảm glucose huyết và bị co giật, hôn mê và chết (Ana và ctv, 2011). Các xét nghiệm huyết học có thể được sử dụng để xác định *M. suis*. Kết quả huyết học cho thấy, nồng độ hemoglobin, hematocrit giảm thấp, giảm số lượng tế bào hồng cầu và nồng độ đường glucose trong máu giảm. Sự gia tăng của tổng nồng độ bilirubin là dấu hiệu điển hình cho triệu chứng thiếu máu tán huyết. Ở dạng thiếu máu tán huyết, sự gia tăng số lượng bilirubin tự do (gián tiếp) có thể xảy ra do sự kết hợp với axit glucuronic trong gan bị ức chế (Heinritz, 1999).

Kháng sinh nhóm tetracyclines được coi là một kháng sinh đặc hiệu để loại trừ *M. suis*. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu cho rằng, có thể là do việc duy trì bổ sung tetracyclines ở các mức độ khác nhau trong thức ăn làm xuất hiện dạng thể mãn tính kéo dài (Messick và ctv, 2011). Tại Việt Nam hiện nay chưa có nghiên cứu nào cụ thể về loài vi sinh vật cũng như ảnh hưởng của chúng. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá hiệu quả điều trị *M. suis* lên các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa máu và tình trạng sức khỏe của heo con cai sữa bằng một số kháng sinh trên điều kiện thực tế chăn nuôi heo tại Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và thời gian thí nghiệm

Thí nghiệm (TN) được tiến hành tại 1 trại chăn nuôi heo thuộc tỉnh Bình Dương. Các xét nghiệm tìm và phát hiện vi khuẩn *M. suis* trong mẫu máu heo tại phòng Lab Hàn-Việt, Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh. Các mẫu máu kiểm tra chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa được gửi đến Phòng khám đa khoa Ái Nghĩa, P. Tân Hiệp, TP. Biên Hòa, Đồng Nai.

Đối tượng: 100 con heo con sau cai sữa 18-21 ngày tuổi có khối lượng (KL) trung bình 5-7kg, có dấu hiệu lâm sàng chung của bệnh *M. suis* như thiếu máu, niêm mạc nhợt nhạt, gây còm với sự đồng đều về trọng lượng, giới tính, độ tuổi.

Ô chuồng TN: Mỗi ô chuồng TN có diện tích 30m², nền xi măng có độ dốc thích hợp để thoát nước, máng ăn tự động có gắn hệ thống nước để làm giảm độ bụi của thức ăn. Nước được cung cấp bằng núm uống tự động. Ô chuồng của các lô được bố trí trong cùng một dãy.

Thức ăn: Trong tuần đầu, sau khi chuyển heo vào chuồng, cho heo ăn hạn chế để tránh tiêu chảy, sau đó cho ăn tự do. Các kháng sinh sử dụng trong TN được trộn vào thức ăn để khảo sát.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm trên heo

Lô TN	Kháng sinh trại	Tỷ lệ phối trộn kháng sinh
I	Flo - Doxy	Cấp đường ăn/uống, 50 mg hỗn hợp phối trộn sẵn/kg TKL/ngày; dùng liên tiếp 7 ngày.
II	Bactrim	Cấp đường ăn/uống, 30 mg hỗn hợp phối trộn sẵn/kg TKL/ngày; dùng liên tiếp 7 ngày.
II	Doxycycline	Cấp đường ăn/uống, 50 mg hỗn hợp phối trộn sẵn/kg TKL/ngày; dùng liên tiếp 7 ngày.
IV	Bactrim + Doxycycline	Cấp đường ăn/uống, (50mg Bactrim + 10mg doxy)/kg/ngày; dùng liên tiếp 7 ngày.

Đàn heo cai sữa được lấy máu đem đi xét nghiệm tìm *M. suis*. Nếu trang trại được xác nhận nhiễm *M. suis* thì sẽ được tiến hành bố trí TN. Heo được lựa chọn mẫu ngẫu nhiên

theo cách bốc thăm và được chia vào 4 lô, mỗi lô 25 con. TN được bố trí theo mẫu hoàn toàn ngẫu nhiên 1 yếu tố với yếu tố TN là kháng sinh được phân phối vào 4 lô như bảng 1.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Trước khi TN, 5 heo ngẫu nhiên trên mỗi ô chuồng được lấy mẫu xét nghiệm. Sau đó, các heo được TN điều trị. Có 2 lần điều trị bằng các loại kháng sinh, lần điều trị 2 cách lần 1 là 30 ngày và mỗi lần điều trị diễn ra trong 7 ngày. Sau mỗi lần điều trị, 5 heo con sẽ tiếp tục được chọn một cách ngẫu nhiên ở mỗi lô sẽ được kiểm tra máu lại để đánh giá sự thay đổi cường độ nhiễm *M. suis* của từng lô thông qua các kết quả xét nghiệm giống như trước khi sử dụng kháng sinh. Các lần kiểm tra đánh giá mẫu máu lại theo định kỳ 2 tuần/lần.

Chỉ tiêu về sinh lý máu: Kiểm tra xét nghiệm số lượng tế bào hồng cầu (RBC), hàm lượng hemoglobin (HMG), hàm lượng hematocrit (HCT).

Chỉ tiêu sinh hóa huyết thanh: Glucose huyết (GLU).

Chỉ tiêu đánh giá tình trạng sức khỏe heo (%): bệnh hô hấp (HH), bệnh tiêu hóa (TH), tỷ lệ chết.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu sau khi thu thập sẽ được xử lý bằng phần mềm Excel phiên bản 2015. Phần mềm minitab 17, dùng trắc nghiệm F, Phi tham số và trắc nghiệm χ^2 .

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của *M. suis* đến các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa

Kết quả ở bảng 2 thể hiện sự khác biệt rõ ràng các chỉ tiêu sinh lý, sinh hoá máu trước và sau TN ở từng lô và giữa các lô. Tại thời điểm trước TN, đàn heo cai sữa được khảo sát có giá trị các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa máu heo đồng đều giữa các lô ($P < 0,05$). Sau khi điều trị, toàn bộ các lô TN có bổ sung kháng sinh điều trị đều làm cho giá trị trung bình của các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa máu gia tăng có ý nghĩa ($P < 0,05$) so với giá trị trung bình trước

khi điều trị. Trong đó, sự cải thiện ở lô IV khác biệt rõ ràng so với lô III ($P < 0,05$) ở tất cả các chỉ tiêu theo dõi. Cụ thể là, sử dụng kháng sinh ở 4 lô được bổ sung vào trong khẩu phần của heo trong giai đoạn TN đã có tác dụng làm cải thiện các chỉ tiêu sinh lý, sinh hoá máu, cũng như sự gia tăng trở lại mức bình thường của hàm lượng RBC từ mức thấp $5,62-5,88 \times 10^{12}/l$ trở về mức bình thường $6,32-6,99 \times 10^{12}/l$, HGB từ mức $9,91-10,17 \text{ g/dl}$ trở về mức bình thường $10,55-12,87 \text{ g/dl}$, HCT từ mức $33,02-34,22\%$ về mức bình thường $42,41-38,43\%$ và glucose huyết từ mức $49,28-51,94 \text{ mg/dl}$ về mức bình thường ($93,70-113,79 \text{ mg/dl}$). Ngoài ra, từ kết quả minh họa diễn tiến sự thay đổi các chỉ tiêu tại Hình 1 cho thấy sự gia tăng rất nhanh so với trước khi dùng kháng sinh ở tất cả các lô TN ngay sau lần điều trị bằng kháng sinh đầu tiên và tiếp tục tăng cao rất có ý nghĩa ($P < 0,05$) ở các lần xét nghiệm sau lần cấp thuốc thứ 2, và đều đạt các giá trị trung bình trong khoảng chỉ số sinh lý.

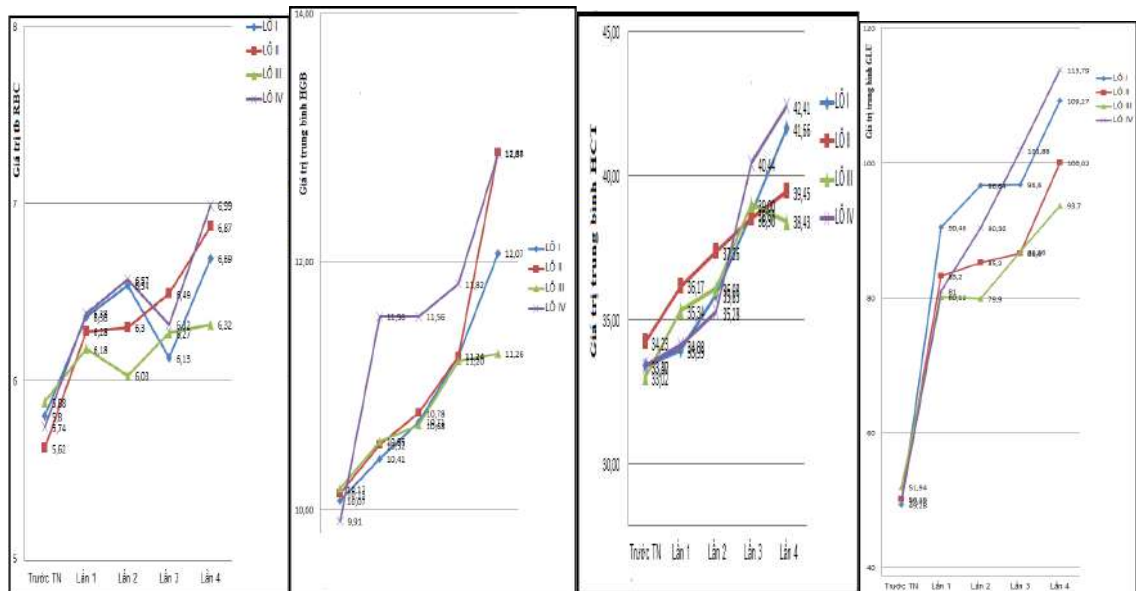
Từ các dữ liệu tổng hợp ở Bảng 2 và Hình 1 cũng có thể nhận thấy nhóm IV nổi trội hơn về mặt cải thiện ảnh hưởng của bệnh đối với các chỉ tiêu trên, trong khi đó, lô III chậm hơn so với các lô khác. Theo nghiên cứu của De Busser và ctv (2008), khi theo dõi điều trị bằng kháng sinh oxytetracyclines trong vòng 7 ngày trên đối tượng heo con bị nhiễm *M. suis* cho thấy, giá trị trung bình về các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa máu thấp hơn so với kết quả ở các lô TN của chúng tôi. Cụ thể là các chỉ số trung bình hàm lượng hemoglobin là $2,29 \text{ g/dl}$ (so với $12,87 \text{ g/dL}$), hematocrit là 12% (so với $42,41\%$) và số lượng hồng cầu $2,6 \times 10^{12}/l$ (so với $6,99 \times 10^{12}/l$). Điều này có thể giải thích rằng, mức độ nhiễm *M. suis* trên heo trong TN này thấp hơn so với nghiên cứu trên, đồng thời cho thấy liệu trình điều trị *M. suis* bằng kháng sinh thuộc nhóm tetracyclines cần được thực hiện trong thời gian đủ dài, ít nhất sau hai lần điều trị, mỗi lần cách nhau 2 tuần tuần thì mới có thể cải thiện rõ các chỉ tiêu sinh lý sinh hóa máu heo nhiễm *M. suis*.

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT VÀ CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

Bảng 2. So sánh giá trị trung bình của các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa trên heo thí nghiệm

Lô thí nghiệm		Chỉ số sinh lý	Lô I	Lô II	Lô III	Lô IV
Số nái khảo sát (n)			5	5	5	5
Số lượng hồng cầu (RBC) ($\times 10^{12}/L$)	Trước TN		5,80 \pm 0,35 ^a	5,62 \pm 0,30 ^a	5,88 \pm 0,21 ^a	5,74 \pm 0,37 ^a
	Sau TN	5,5-8,10	6,96 \pm 1,08 ^a	6,57 \pm 0,84 ^{ab}	6,32 \pm 0,48 ^b	6,99 \pm 0,75 ^a
	P		<0,05	<0,05	>0,05	<0,05
Hemoglobin (HGB) (g/dL)	Trước TN		10,07 \pm 0,34 ^a	10,13 \pm 0,51 ^a	10,17 \pm 0,91 ^a	9,91 \pm 0,49 ^a
	Sau TN	10,8-14,79	12,46 \pm 1,07 ^{ab}	11,88 \pm 1,49 ^{ab}	10,55 \pm 0,53 ^b	12,87 \pm 1,20 ^a
	P		<0,05	<0,05	>0,05	<0,05
Hematocrit (HCT) (%)	Trước TN		33,37 \pm 3,27 ^a	34,22 \pm 0,71 ^a	33,02 \pm 2,65 ^a	33,40 \pm 3,11 ^a
	Sau TN	33-45	41,66 \pm 1,99 ^{ab}	39,45 \pm 1,17 ^{ab}	38,43 \pm 1,41 ^b	42,41 \pm 1,82 ^a
	P		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Glucose (GLU) (mg/dL)	Trước TN		49,28 \pm 5,75 ^a	50,16 \pm 6,48 ^a	51,94 \pm 6,48 ^a	49,92 \pm 6,45 ^a
	Sau TN	68,4-120,6	105,38 \pm 13,61 ^{ab}	100,02 \pm 9,80 ^{ab}	93,70 \pm 3,94 ^b	113,79 \pm 3,55 ^a
	P		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Các giá trị Mean có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt thống kê giữa các lô thí nghiệm ($P < 0,05$).



Hình 1. Sự thay đổi về hàm lượng chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa máu heo của từng lô và giữa các lần xét nghiệm trong lô

3.2. Ảnh hưởng của *M. suis* đến các chỉ tiêu đánh giá sức khỏe heo

Kết quả từ Bảng 3 cho thấy, tỷ lệ ngày con bệnh giữa các lô TN II và IV có sự khác biệt về mặt thống kê với $P < 0,05$, với tỷ lệ ngày con bệnh cao nhất (3,59% ở tỷ lệ bệnh tiêu hóa và 2,08% bệnh hô hấp) ở lô II và thấp nhất là lô IV (1,87% ở tỷ lệ bệnh tiêu hóa, 1,01% bệnh hô hấp). Lô III có tỷ lệ cao thứ hai với 2,29% ở tỷ lệ bệnh tiêu chảy và 1,20% ở bệnh hô hấp.

Như vậy, hiệu quả điều trị *M. suis* ở lô IV đã góp phần làm giảm tỷ lệ bệnh hô hấp và tiêu hóa trên heo con so với lô còn lại, và có ý nghĩa khác biệt so với lô II ($P < 0,05$). Các kháng sinh ở lô I và III tuy có sự cải thiện nhưng chưa tạo ra được sự khác biệt so với các lô còn lại. Điều này có thể hiểu rằng, nếu việc điều trị *M. suis* bằng kháng sinh trên heo hiệu quả sẽ có tác dụng cải thiện tỷ lệ bệnh liên quan đến hô hấp và tiêu hóa ở đàn heo.

Bảng 3. Tỷ lệ các chỉ tiêu liên quan bệnh tiêu chảy (TH), hô hấp (HH) và tỷ lệ chết ở heo trong thí nghiệm

Kết quả	Lô I	Lô II	Lô III	Lô IV
Số lượng mẫu (con)	25	25	25	25
TL ngày bệnh TH (%)	2,09 ^{ab}	3,59 ^a	2,29 ^{ab}	1,87 ^b
TL ngày bệnh HH (%)	1,37 ^{ab}	2,08 ^a	1,20 ^{ab}	1,01 ^b
TL chết (%)	0,10	0,05	0,00	0,10

Heo chết xảy ra ở lô I (2 con) và lô IV (2 con) do tiêu chảy nặng; 1 con ở lô II chết không rõ nguyên nhân; ở lô III không có con nào chết. Song, tỷ lệ chết này không có ý nghĩa về mặt thống kê. *M. suis* thường gây bệnh mãn tính, ít gây chết heo, nhưng lại gây thiệt hại ngầm về mặt kinh tế chăn nuôi heo. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của De Busser và ctv (2008), tỷ lệ chết của đàn heo nhiễm *M. suis* được ghi nhận lên tới 16%. Điều này chứng tỏ đàn heo sau cai sữa trong nghiên cứu của chúng tôi có mức độ nhiễm nhẹ hơn so với đàn heo khảo sát trong nghiên cứu của De Busser.

Tóm lại, việc điều trị *M. suis* ở heo cai sữa bằng kháng sinh được bổ sung vào trong thức ăn ở các lô TN cho thấy có sự khác nhau ở các chỉ số tăng trưởng của heo cai sữa. Hiệu quả cao nhất là lô IV (doxycycline và bactrim), kế đến là lô I (doxycycline và flofernicol) và III (bactrim) và thấp nhất là lô II (doxycycline). Điều này có thể được giải thích rằng tình trạng nhiễm *M. suis* được cải thiện ở cả 4 lô, trong đó, các lô có sử dụng kháng sinh kết hợp doxycyclines (lô IV hay lô I) tạo ra sự cải thiện sớm dẫn đến tăng khối lượng trên đàn heo TN đồng thời được cải thiện. Tuy nhiên, do thời gian bố trí TN ngắn, chỉ kéo dài 70 ngày nên các số liệu liên quan đến hiệu quả điều trị

M. suis và chỉ tiêu tăng trưởng không thể hiện một cách rõ ràng trong TN này.

4. KẾT LUẬN

Hiệu quả điều trị *M. suis* thể hiện trên các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa máu cho thấy kháng sinh có chứa doxycycline sẽ tạo ra hiệu quả điều trị cải thiện nhanh hơn so với lô thuốc không sử dụng nhóm kháng sinh này, đặc biệt hiệu quả điều trị sẽ được ghi nhận rõ ràng khi kết hợp kháng sinh doxycycline với các kháng sinh phổ rộng khác. Ngoài ra, điều trị *M. suis* bằng kháng sinh trên heo sẽ có tác dụng cải thiện tỷ lệ bệnh liên quan đến hô hấp, tiêu hóa và các chỉ tiêu liên quan đến năng suất của đàn heo cai sữa trong TN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ana M.S. Guimaraes, Andrea P. Santos, Phillip SanMiguel, Thomas Walter, Jorge Timenetsky and Joanne B. Messick (2011). Complete Genome Sequence of *Mycoplasma suis* and Insights into Its Biology and Adaption to an Erythrocyte Niche. PLoS ONE, 6(5): e19574.
2. De Busser E.V., Mateusen B., Vicca J., Hoelzle L.E., Freddy Haesebrouck F. and Maes D. (2008). *Mycoplasma suis* infection in suckling pigs on a Belgian farm. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 77(3): 182-86.
3. Heinritzi K.H. (1999). Untersuchungen zur Pathogenese und Diagnostik der Infektion mit *Eperythrozoon suis*. Professorial dissertation. Ludwig Maximilians University of Munich, Germany.
4. Hoelzle L.E., Hoelzle K., Ritzmann M., Heinritzi K. and Wittenbrink M. (2006). *Mycoplasma suis* Antigens recognized during humoral immune response in experimentally infected pigs. Cli. & Vac. Imm., 13(1): 116-22.
5. Messick J.B. (2011). Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. Vet. Cli. Pathol., 33: 2-13.

PHÂN LẬP VÀ THỬ KHÁNG SINH ĐỐI PASTEURELLA MULTOCIDA TỪ VỊT BỆNH HOẶC NGHI MẮC BỆNH TỤ HUYẾT TRÙNG

Võ Phong Vũ Anh Tuấn^{1*}

Ngày nhận bài báo: 30/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 10/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 14/04/2021

¹ Trường CD Nông Nghiệp Nam Bộ

*Tác giả liên hệ: TS. Võ Phong Vũ Anh Tuấn, Trường CDNN Nam Bộ, xã Tân Mỹ Chánh, TP Mỹ Tho, tỉnh Tiền Giang; Điện thoại: 0919 213 577; Email: anhtuan@nbac.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá tình hình bệnh cũng như tính miễn cảm của vi khuẩn *P. multocida* đối với một số kháng sinh thường sử dụng trong phòng và trị bệnh hô hấp trên vịt ở một số huyện thuộc tỉnh Tiền Giang và tỉnh Bến Tre. Chín mươi mẫu bệnh phẩm gồm: máu tim, phổi và xương ống chân đã được thu thập từ tháng 11 năm 2018 đến tháng 06 năm 2019 và thực hiện tại phòng thí nghiệm Trường Cao đẳng Nông nghiệp Nam Bộ. Kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm trung bình là 57,04%; vịt nuôi quy mô nhỏ mắc bệnh cao hơn nuôi quy mô lớn ($P < 0,05$) và lứa tuổi trên 40 ngày tuổi miễn cảm cao với bệnh ($P < 0,05$). Các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được có độc lực cao chiếm 88,52%, không có chủng không có độc lực. Các chủng vi khuẩn *P. multocida* nhạy cảm cao với marbofloxacin (90,16%) và florfenicol (80,33%). Tuy nhiên, các chủng vi khuẩn *P. multocida* đề kháng mạnh với tylosin (73,77%) và đề kháng tương đối với doxycyclin (44,26%).

Từ khóa: Bệnh tụ huyết trùng, độc lực, vịt, kháng sinh đồ, Tiền Giang, Bến Tre.

ABSTRACT

Isolation and antimicrobial susceptibility of *P. multocida* from infected or suspected ducks of Pasteurellosis

The study was performed to evaluate the infected situation as well as the antimicrobial susceptibility of *P. multocida* to some antibiotics commonly used in prevention and treatment of poultry respiratory diseases in some districts of Tiengiang and Bentre provinces. Ninety samples including heart blood, lung and shin bone were collected from November 2018 to June 2019 and carried out at the laboratory of Nambo Agriculture College. The studied results showed that the *P. multocida* isolated rate was 57.04%; Small-scale farms were more susceptible to disease than large-scale farms ($P < 0.05$) and after 40 days of age were highly susceptible to the disease ($P < 0.05$). Moreover, the *P. multocida* isolates with high virulence accounted for 88.52%, no isolates were not virulent. The *P. multocida* isolates were highly susceptible to marbofloxacin (90.16%) and florfenicol (80.33%). However, the *P. multocida* isolates were strongly resistant to tylosin (73.77%) and relatively resistant to doxycycline (44.26%).

Keywords: Pasteurellosis, virulence, duck, antimicrobial susceptibility, Tiengiang province, Bentre province.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tụ huyết trùng gia cầm nói chung và trên vịt nói riêng do vi khuẩn *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) gây ra (Abd-Elsadek và ctv, 2020). Vi khuẩn thuộc nhóm gram âm, thường bắt màu lưỡng cực khi nhuộm gram (Christensen và Bisgaard, 2000). Mọi lứa tuổi vịt đều có thể mắc bệnh, phổ biến nhất là vịt ở giai đoạn chuẩn bị xuất chuồng với tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ chết cao. Các chủng độc lực cao gây chết vịt trong vòng 1-3 ngày, các chủng có độc lực vừa gây bệnh kéo dài với các tổn thương hoại tử các cơ quan nội tạng. Việc sử dụng các thuốc kháng khuẩn giúp tiêu diệt hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn *P. multocida*. Tuy nhiên, tình trạng lạm dụng các loại thuốc kháng khuẩn trong phòng và trị bệnh trên vịt đã và đang gây ra tình trạng đa kháng thuốc của các vi khuẩn trong đó có vi khuẩn *P. multocida* (Eid và ctv, 2019).

Theo báo cáo về tình hình kinh tế-xã hội tỉnh Tiền Giang tháng 10 năm 2018 cho thấy tổng đàn gia cầm (gà, vịt) là 13,03 triệu con, trong khi đó ở tỉnh Bến Tre khoảng 5,48 triệu con. Cùng với sự phát triển này thì tình hình dịch bệnh cũng hết sức phức tạp và khó lường. Để góp phần trong công tác điều trị bệnh trên vịt nói chung và bệnh do vi khuẩn *P. multocida* nói riêng, việc phân lập để xác định nguyên nhân gây bệnh cũng như thử kháng sinh đồ nhằm tìm hiểu tình hình kháng thuốc của vi khuẩn *P. multocida* từ đó có hướng lựa chọn và sử dụng thuốc kháng khuẩn hiệu quả nhất là trong công tác điều trị bệnh cho vịt.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, thu mẫu, phân lập và thời gian

90 mẫu bệnh phẩm: máu ở tim, phổi và xương ống chân (tủy xương) được thu từ vịt bệnh hoặc nghi mắc bệnh tụ huyết trùng tại

các trại chăn nuôi vịt tinh Tiền Giang và Bến Tre với trang thiết bị, vật liệu, hóa chất phục vụ cho phân lập, thử độc lực và làm kháng sinh đồ được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Trường Cao đẳng Nông nghiệp Nam Bộ, tháng 11/2018 đến tháng 6/2019.

2.2. Phương pháp

Lấy mẫu: Liên hệ với cán bộ thú y địa phương hoặc cửa hàng thuốc thú y để lấy thông tin trại có vịt bệnh hoặc nghi bị bệnh tụ huyết trùng. Bệnh phẩm được lấy vô trùng, ghi rõ tên mẫu, địa chỉ trại, chuồng nuôi, lứa tuổi vịt, giống vịt, điều kiện chăn nuôi và quy mô nuôi. Bệnh phẩm được cho vào thùng đá bảo quản và vận chuyển ngay về phòng thí nghiệm (TCVN 8400-31: 2015).

Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *P. multocida* phân lập được: Phân lập và định danh vi khuẩn theo phương pháp nghiên cứu thường quy (TCVN 8400-31: 2015). Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn được xét theo nhóm bệnh phẩm, chuồng nuôi, nhóm giống, quy mô nuôi, lứa tuổi và địa phương.

Thử độc lực của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được: Sử dụng chuột bạch khỏe mạnh (18-20 g/con).

Huyền dịch tiêm: khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được sẽ được cấy vào môi trường peptone, ở tủ ấm 37°C (không lắc). Sau 24h nuôi cấy, lấy 0,2ml canh trùng tiêm xoang phúc mạc của 02 chuột bạch, theo dõi tới đa trong 7 ngày (TCVN 8400-31: 2015).

Tính mẫn cảm của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được: Huyền dịch vi khuẩn được chuẩn bị từ khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được với nước muối sinh lý vô trùng có độ đục bằng với độ đục của ống dung dịch chuẩn Mac Farland 0,5 (CLSI, 2011). Huyền dịch vi khuẩn được trang đều trên bề mặt thạch MHA và để khô trước khi đặt các khoanh giấy kháng sinh (Balakrishnan và Roy, 2012). Bảy kháng sinh (tylosin 50µg (Tyl); gentamicin 10µg (Gen); doxycycline 30µg (Dox); enrofloxacin 5µg (En); florfenicol 30µg (Flor); marbofloxacin 5µg (Mar) and fosfomycine 50µg (Fos)) được sử dụng để kiểm tra tính mẫn cảm của các chủng vi khuẩn phân lập được theo hướng dẫn của

CLSI (CLSI, 2011). Ủ ở 37°C, sau 24h thì tiến hành đo đường kính vòng vô khuẩn (tính bằng mm) để kết luận vi khuẩn nhạy cảm, trung gian hay kháng đối với kháng sinh đó.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng Microsoft Excel 2010, Minitab 16.0 – sử dụng phép thử Chi – Square Test (χ^2) khi có sự khác biệt ($P < 0,05$).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *P. multocida*

3.1.1. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *P. multocida* theo nhóm bệnh phẩm

Trong quá trình thực hiện đề tài, 90 mẫu bệnh phẩm được thu thập từ vịt bệnh hoặc nghi mắc bệnh tụ huyết trùng. Các mẫu bệnh phẩm gồm máu ở tim, phổi và tủy xương (xương ống chân) của vịt bệnh hoặc nghi mắc bệnh tụ huyết trùng. Kết quả cho thấy, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* trên vịt trung bình theo nhóm bệnh phẩm là 57,04%. Trong đó, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* từ phổi (67,78%) cao hơn từ máu tim (54,44%) và thấp nhất là ở tủy xương. Tuy nhiên, sự khác biệt về tỷ lệ phân lập được từ 3 nhóm bệnh phẩm trên không có sự khác biệt về thống kê ($P > 0,05$). Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* từ máu tim thấp hơn từ phổi có thể do một số mẫu được thu thập khi diễn tiến của bệnh đã qua giai đoạn nhiễm trùng huyết nên vi khuẩn *P. multocida* không còn hiện diện trong máu. Nhìn chung, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* thấp, có thể do khi bệnh xuất hiện người chăn nuôi đã sử dụng thuốc kháng sinh để điều trị làm cho vi khuẩn *P. multocida* bị tiêu diệt hoặc làm yếu đi dẫn đến khó phân lập trên môi trường nuôi cấy. Kết quả này cũng phù hợp với nhận định của Sa Đình Chiến (2001) khi nghiên cứu về bệnh tụ huyết trùng trên gà tại Sơn La.

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm *P. multocida* theo bệnh phẩm

Bệnh phẩm	Số mẫu	Mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Máu tim	90	49	54,44 ^a
Phổi	90	61	67,78 ^a
Tủy xương	90	44	48,89 ^a
Trung bình			57,04

3.1.2. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *P. multocida* theo chuồng nuôi

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* ở nhóm vịt nuôi chuồng nền kết hợp có ao tắm (76,67%) cao hơn nhóm vịt nuôi trên chuồng sàn (50,00%). Sự khác biệt về tỷ lệ phân lập được giữa hai kiểu chuồng nuôi có sự khác biệt về thống kê ($P < 0,05$). Tỷ lệ phân lập vi khuẩn *P. multocida* ở nhóm vịt nuôi chuồng nền kết hợp có ao tắm cao có thể do hiện nay người chăn nuôi trên chuồng nền thường nuôi quy mô nhỏ, thường tận dụng mảnh vườn xung quanh nhà để xây dựng chuồng nuôi, cây cối xung quanh nhiều, việc vệ sinh, khử trùng, tiêu độc sau mỗi lứa nuôi khó triệt để dẫn đến khi thời tiết thay đổi từ mùa nắng sang mùa mưa, nhiệt độ thấp, độ ẩm cao, vi khuẩn *P. multocida* có điều kiện phát triển. Đồng thời, khi thời tiết thay đổi từ mùa nắng sang mùa mưa, nhiệt độ thấp, độ ẩm tăng cao làm cho vịt dễ bị stress dẫn đến sức đề kháng của vịt giảm, vi khuẩn *P. multocida* xâm nhập từ bên ngoài hoặc lưu trú sẵn trong cơ thể vịt nhân lên và gây bệnh.

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm *P. multocida* theo chuồng

Chuồng nuôi	Số mẫu	Dương tính	Tỷ lệ (%)
Chuồng nền+ao	60	42	76,67 ^a
Chuồng sàn	30	14	50,00 ^b
Trung bình			67,78

3.1.3. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *P. multocida* theo nhóm giống

Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* theo nhóm giống ở bảng 3 cho thấy, vịt Grimaud có 37 mẫu dương tính trong 44 mẫu thu thập chiếm tỷ lệ cao nhất (84,09%), vịt Xiêm (Ngan) có 15 mẫu dương tính trong tổng số 26 mẫu thu thập chiếm 57,69%, vịt Hòa Lan chiếm 45,45% và thấp nhất ở nhóm vịt Tàu chiếm 44,44%. Kết quả bảng 3 cũng cho thấy có sự khác biệt rõ rệt giữa tỷ lệ phân lập được vi khuẩn ở nhóm vịt Grimaud với vịt Xiêm, vịt Hòa Lan và vịt Tàu ($P < 0,05$). Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* của giống vịt Grimaud cao có thể do giống vịt này là giống ngoại nên sức đề kháng kém kết hợp với mật độ nuôi cao nên dễ mắc bệnh hơn.

Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm *P. multocida* theo giống

Nhóm giống	Số mẫu	Dương tính	Tỷ lệ (%)
Vịt Grimaud	44	37	84,09 ^a
Vịt Tàu	9	4	44,44 ^b
Vịt Hòa Lan	11	5	45,45 ^b
Vịt Xiêm (Ngan)	26	15	57,69 ^b
Trung bình			67,78

3.1.4. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *P. multocida* theo quy mô nuôi

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* từ các trại nuôi với quy mô dưới 200 con (85,29%) là cao nhất, sau đó là các trại nuôi với quy mô 200-1.000 con (79,31%) và tỷ lệ phân lập được thấp nhất từ các trại nuôi với quy mô từ 1.000 con trở lên (33,33%). Kết quả này cũng cho thấy có sự khác biệt rõ rệt giữa các hộ chăn nuôi quy mô dưới 1.000 và quy mô trên 1.000 con/trại ($P < 0,05$). Tỷ lệ phân lập vi khuẩn *P. multocida* từ các trại nuôi với quy mô dưới 1.000 con cao có thể do người chăn nuôi chú trọng việc phòng bệnh cho đàn vịt, việc vệ sinh và khử trùng chuồng trại chưa triệt để.

Bảng 4. Tỷ lệ nhiễm *P. multocida* theo quy mô

Quy mô (con)	Số mẫu	Dương tính	Tỷ lệ (%)
<200	34	29	85,29 ^a
200-1.000	29	23	79,31 ^a
>1.000	27	9	33,33 ^b
Trung bình			67,78

3.1.5. Tỷ lệ nhiễm khuẩn *P. multocida* theo tuổi

Kết quả ở bảng 5 cho thấy tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* ở từng giai đoạn tuổi có sự khác nhau rõ rệt. Giai đoạn vịt trên 40 ngày tuổi có 33 mẫu dương tính trong 38 mẫu thu thập chiếm tỷ lệ cao nhất là 86,84%, đứng thứ 2 là nhóm vịt ở giai đoạn 30-40 ngày tuổi có 14 mẫu dương tính trong 29 mẫu thu thập chiếm 48,28% và thấp nhất là nhóm vịt ở giai đoạn 1-<30 ngày tuổi chiếm 30,43%. Số liệu từ bảng 5 cũng cho thấy sự khác biệt giữa tỷ lệ phân lập được trên vịt giai đoạn trên 40 ngày tuổi có sự khác biệt rõ rệt với hai nhóm tuổi còn lại ($P < 0,05$). Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* ở giai đoạn trên 40 ngày tuổi cao có thể do vịt gần giai đoạn xuất chuồng,

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT VÀ CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

mật độ nuôi cao nên vịt dễ cảm thụ với vi khuẩn *P. multocida*, nhất là khi điều kiện bất lợi như nắng nóng. Vịt dưới 30 ngày tuổi tỷ lệ phân lập ít hơn có thể do giai đoạn vịt ít mẫn cảm với vi khuẩn *P. multocida*. Kết quả này phù hợp với kết luận của Nguyễn Xuân Bình (1996) là gia cầm bị bệnh và tử vong cao ở giai đoạn 30-60 ngày tuổi.

Bảng 5. Tỷ lệ nhiễm *P. multocida* theo lứa tuổi

Tuổi (ngày)	Số mẫu	Dương tính	Tỷ lệ (%)
1-<30	23	7	30,43 ^a
30-40	29	14	48,28 ^a
>40	38	33	86,84 ^b
Trung bình			67,78

3.1.6. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *P. multocida* theo địa phương

Bảng 6. Tỷ lệ nhiễm *P. multocida* theo địa phương

Tỉnh	Huyện	Số mẫu	Dương tính	Tỷ lệ (%)
Tiền Giang	Chợ Gạo	19	12	63,16 ^a
	Gò Công Tây	25	17	68,00 ^a
Bến Tre	Châu Thành	31	24	77,42 ^a
	Mỏ Cày Nam	15	8	53,33 ^a
Trung bình				67,78

Bệnh phẩm được lấy ở 2 huyện trên địa bàn tỉnh Tiền Giang và 2 huyện thuộc tỉnh Bến Tre. Đây là địa bàn chăn nuôi vịt tập trung (nuôi nhốt và sử dụng thức ăn hỗn hợp), mật độ chăn nuôi vịt cao và kết quả được ghi nhận ở bảng 6. Kết quả cho thấy, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* cao nhất ở huyện Châu Thành (Bến Tre) với 24 mẫu dương tính trong tổng số 31 mẫu thu thập chiếm 77,42%, kế đó là huyện Gò Công Tây (Tiền Giang) với 17 mẫu dương tính trong 25 mẫu thu thập chiếm 68,00%, huyện Chợ Gạo (Tiền Giang) với 12 mẫu dương tính trong 19 mẫu thu thập chiếm 63,16% và huyện Mỏ Cày Nam (Bến Tre) chiếm tỷ lệ thấp nhất (53,33%). Tuy nhiên, sự khác biệt về tỷ lệ phân lập được không có ý nghĩa về thống kê ($P>0,05$). Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* ở huyện Châu Thành (Bến Tre) và huyện Gò Công Tây (Tiền Giang) cao có thể do mật độ chăn nuôi vịt ở 2 địa phương cao với con giống chính là vịt Grimaud, nuôi

theo hình thức nuôi trên chuồng sàn và mật độ nuôi cao, nên khó kiểm soát mầm bệnh, mầm bệnh dễ lây lan và gây bệnh.

3.2. Thử độc lực các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được

Qua bảng 7 cho thấy trong tổng số 61 chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được có 54 chủng có độc lực cao chiếm tỷ lệ 88,52%; có 7 chủng có độc lực trung bình chiếm tỷ lệ 11,48% và không có chủng nào không có độc lực (TCVN 8400-31: 2015). Điều này cho thấy các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được từ vịt mắc bệnh hoặc nghi mắc bệnh tụ huyết trùng gần như là nguyên nhân chính gây bệnh trên vịt. Số liệu ở bảng 7 cũng cho thấy thời gian gây chết chuột trung bình khoảng 30h. Điều này một lần nữa khẳng định được độc lực của các chủng phân lập được.

Bảng 7. Độc lực các chủng vi khuẩn phân lập được

Số chuột tiêm	Số chuột chết	Thời gian chết	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
2	2	29,28	54	88,52
2	1	30,09	7	11,48
Tổng số			61	100

3.3. Sự mẫn cảm của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được với thuốc kháng khuẩn

Qua bảng 8 cho thấy các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được nhạy cảm cao với marbofloxacin (90,16%) và florfenicol (80,33%); nhạy cảm tương đối với enrofloxacin (77,05%) và fosformycin (70,49%). Kết quả bảng 8 cũng cho thấy các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được đề kháng mạnh với tylosin (73,77%); đề kháng tương đối với doxycyclin (44,26%).

Kết quả ở bảng 8 cũng cho thấy doxycyclin là kháng sinh đang có nguy cơ bị đề kháng. Điều này có thể do việc sử dụng thường xuyên kháng sinh này của người chăn nuôi trong phòng và trị các bệnh trên đường hô hấp của vịt trong đó có bệnh tụ huyết trùng (Eid và ctv, 2019). Kết quả về tính nhạy cảm kháng sinh của các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được cho thấy sự đề kháng kháng sinh ngày càng tăng nhất là những kháng sinh được sử

dụng thường xuyên (Harper và ctv, 2006), điều này dễ gây tình trạng kháng kháng sinh trên người.

Bảng 8. Kết quả thử kháng sinh đồ

Kháng khuẩn	Số mẫu kiểm tra	Nhạy		Trung gian		Kháng	
		n	(%)	n	(%)	n	(%)
Tyl	61	10	16,39	6	9,84	45	73,77
Gen	61	24	39,34	20	32,79	17	27,87
Dox	61	21	34,43	13	21,31	27	44,26
En	61	47	77,05	4	6,56	10	16,39
Flor	61	49	80,33	7	11,48	5	8,20
Mar	61	55	90,16	4	6,56	2	3,28
Fos	61	43	70,49	7	11,48	11	18,03

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn *P. multocida* từ đàn vịt mắc bệnh hoặc nghi mắc bệnh tụ huyết trùng chiếm 57,04%. Tỷ lệ mắc bệnh này chịu ảnh hưởng của chuồng nuôi, quy mô và tuổi vịt. Các chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được có độc lực cao, chiếm 88,52%. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy vi khuẩn mẫn cảm cao với các kháng sinh marbofloxacin (90,16%) và florfenicol (80,33%); mẫn cảm tương đối với enrofloxacin (77,05%) và fosformycin (70,49%). Vi khuẩn *P. multocida*

đề kháng mạnh với tylosin (73,77%); đề kháng tương đối với doxycyclin (44,26%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abd-Elsadek E.L., Hussein A.E. and Abouelkhair A.A. (2020). Molecular Studies on *Pasteurella multocida* in Ducks. J.C.V.R. 3: 1-9.
2. Balakrishnan G. and Roy P. (2012). Isolation, identification and antibiogram of *Pasteurella multocida* isolates of avian origin. Tamilnadu J. Vet. Ani. Sci., 8(4): 199-02.
3. Nguyễn Xuân Bình (1996). Nghiên cứu về đặc điểm dịch tễ bệnh tụ huyết trùng gia cầm ở Long An và biện pháp phòng trị thích hợp. Luận án phó tiến sĩ nông nghiệp Viện Thú y Quốc gia.
4. Sa Đình Chiến (2001). Nghiên cứu về bệnh tụ huyết trùng gà ở Sơn La, một số đặc tính của *P. multocida* phân lập được và biện pháp phòng trị. Luận án tiến sĩ nông nghiệp Viện Thú y Quốc gia.
5. Christensen J.P. and Bisgaard M. (2000). Fowl cholera. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 19(2): 626-37.
6. Eid H.M., Algammal A.M., Elfeil W.K., Youssef F.M., Harb S.M. and Abd-Allah E.M. (2019). Prevalence, molecular typing, and antimicrobial resistance of bacterial pathogens isolated from ducks. Vet. World, 12: 677-83.
7. Harper M., Boyce J.D. and Adle B. (2006). *Pasteurella multocida* pathogenesis:125 years after Pasteur. FEMS Microbiol Lett 265: 1-10.
8. Tài liệu của CLSI M100-S21 (ISSBN 1-56238-742-1) (2011). Viện Tiêu chuẩn Lâm sàng và Xét nghiệm, 940 West Valley, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 Hoa Kỳ.
9. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8400-31:2015 về bệnh động vật, phân 31: Bệnh tụ huyết trùng gia cầm.

TÌNH HÌNH NHIỄM VE Ở CHÓ NUÔI TẠI MỘT SỐ XÃ, THỊ TRẤN THUỘC HUYỆN ĐỒNG HỖ, TỈNH THÁI NGUYÊN

Đoàn Thị Phương^{1*} và Vũ Thị Ánh Huyền¹

Ngày nhận bài báo: 30/01/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 20/02/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 09/03/2021

TÓM TẮT

Điều tra tình hình nhiễm ve ở 577 chó nuôi tại 5 xã, thị trấn thuộc huyện Đồng Hỷ, tỉnh Thái Nguyên, kết quả cho thấy: có 192 chó nhiễm ve, chiếm tỷ lệ 33,28%. Tại địa bàn nghiên cứu chó nhiễm ve với cường độ từ nhẹ đến nặng (3-296 ve/chó). Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve có xu hướng tăng theo tuổi chó. Tính biệt không ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó. Chó nội nhiễm ve nhiều hơn so với chó lai và chó ngoại. Tỷ lệ nhiễm ve ở chó vào vụ Thu - Đông cao hơn rõ rệt so với vụ Xuân - Hè.

Từ khóa: Chó, ve, tỷ lệ nhiễm, cường độ nhiễm, Thái Nguyên.

¹Trường Cao đẳng Kinh tế-Kỹ Thuật-DHTN

* Tác giả để liên hệ: ThS. Đoàn Thị Phương, Trường Cao đẳng Kinh tế-Kỹ Thuật - DHTN. Địa chỉ: Tổ 15, phường Thịnh Đán, thành phố Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên. Email: yennhiphuong@gmail.com; Điện thoại: 0814166144

ABSTRACT

The infection of dogs with ticks in some communes, towns in Dong Hy, Thai Nguyen province

A total of 577 dogs in four communes, towns in Dong Hy district, Thai Nguyen province were checking the infected ticks, the results showed that 192 dogs infected ticks, percentage 33,28%. Dogs from the places studied were all infected with ticks from mild to severe intensity (from 3 to 296 ticks/dog). The infection rate and infection intensity of ticks in dogs increased with age. The infection rate and infection intensity of ticks in dogs not affected by the sex. Domestic dogs infected ticks more than foreign dog and hybrid dog. In autumn - winter, dog infected ticks more than autumn - summer.

Keywords: Dogs, ticks, infection rate, infection intensity, Thai Nguyen.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chó là một trong những loài vật được nuôi rất phổ biến trên toàn thế giới. Ở nhiều nước, chó được xem như một người bạn của con người. Phương thức chăn nuôi ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ nhiễm bệnh ở chó. Đa số hộ nuôi chó tại huyện Đông Hy còn nuôi chó theo hình thức thả rông và bán thả nên chó mắc nhiều bệnh ký sinh trùng; trong đó có bệnh ngoại ký sinh trùng do ve gây ra. Hoeppele và Feny (1933) khi nghiên cứu vết đốt của ve trên các súc vật thí nghiệm đã nhận thấy, tất cả các vị trí của cơ thể bị các loài ve đốt đều bị viêm, thâm. Những nơi ve bám đều có hiện tượng tăng bạch cầu eosin cục bộ. Bệnh do ve gây ra ở chó gây thiệt hại một cách âm thầm đến đàn chó nuôi, ve đốt hút máu làm chó thiếu máu, gây yếu, sinh trưởng và phát triển chậm, ảnh hưởng lớn đến kinh tế của người nuôi chó.

Bệnh ve ở chó là một trong những bệnh ngoại ký sinh trùng phổ biến nhất, không những gây tổn thương thực thể tổ chức da mà còn làm giảm sức đề kháng, giảm khả năng sinh trưởng và phát triển của chó. Latrofa và ctv (2014) cho biết, các loài ve đóng vai trò là vật môi giới truyền bệnh của một số bệnh truyền nhiễm nguy hiểm ở chó như: *Anaplasma platys*, *Cercopithifilaria* spp., *Ehrlichia canis* và *Hepatozoon canis*. Chính vì vậy, ve ký sinh là nhân tố trung gian nguy hiểm truyền bệnh cho gia súc, gia cầm, vật nuôi và từ đó truyền bệnh sang người. Nguyễn Thị Kim Lan và ctv (1999) cho biết: nhiều loài ve là môi giới truyền bệnh dịch hạch của loài gặm nhấm, bệnh viêm

não của người, bệnh sốt phát ban, các bệnh nguyên trùng, đặc biệt là bệnh lê dạng trùng của trâu, bò, dê, cừu, ngựa, chó, lợn....

Theo Nguyễn Thị Kim Lan (2012), vòng đời phát triển của ve *R. sanguineus* như sau: ve đực và cái ký sinh ở ký chủ và giao phối, sau khi hút no máu sơi xuống đất. Ve cái đẻ trứng thành ổ trên mặt đất, có màng nhầy bảo vệ. Trứng ve nhỏ, hình cầu, màu vàng nâu hay nâu sẫm. Sau một thời gian, trứng nở ra ấu trùng, Ấu trùng bò lên cây cỏ, ẩn dưới lá cây (nhất là cây có lông như sim, mua, cỏ tranh). Khi ký chủ đi qua, ấu trùng nhanh chóng bám vào ký chủ, hút no máu rồi phát triển ngay trên ký chủ đó hoặc rơi xuống đất thành thiếu trùng. Thiếu trùng vào ký chủ mới, lại hút no máu, phát triển thành ve trưởng thành và tiếp tục chu kỳ trên.

Xuất phát từ nhu cầu thực tế chăn nuôi và phòng tránh các bệnh cho chó đồng thời phòng tránh các bệnh truyền lây giữa người và vật nuôi, chúng tôi đã nghiên cứu đề tài “*Tình hình nhiễm ve ở chó nuôi tại một số xã và thị trấn thuộc huyện Đông Hy, tỉnh Thái Nguyên*”, từ đó có cơ sở đề xuất biện pháp phòng trị bệnh hiệu quả.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian

Chó nuôi tại 5 xã và thị trấn thuộc huyện Đông Hy, tỉnh Thái Nguyên và bệnh ve ký sinh ở chó, từ tháng 1/2020 đến tháng 11/2020.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp thu thập mẫu:

- Việc thu thập mẫu được tiến hành theo phương pháp lấy mẫu chùm nhiều bậc. Tại huyện Đông Hỷ, tỉnh Thái Nguyên lấy mẫu ở 5 xã, thị trấn; tại mỗi xã, thị trấn lấy mẫu ở 3-5 thôn, xóm. Số mẫu ở mỗi thôn, xóm được lấy một cách ngẫu nhiên.

- Thu thập mẫu ve: bắt hết ve ở 4 chân, 2 tai, cổ, đầu và thân chó (thực hiện đối với những con chó nuôi thuần, hướng dẫn cho chủ nhà thực hiện việc bắt ve). Thu thập tất cả số ve trên mỗi chó vào một bình tam giác, ghi nhãn đầy đủ, để nơi thoáng mát và tiến hành đếm số lượng.

2.2.2. Phương pháp xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm ve

Phương pháp xác định tỷ lệ nhiễm ve: Quan sát bằng mắt thường để phát hiện ve trên từng chó, nếu tìm thấy ve thì xác định là chó có nhiễm, ngược lại là không nhiễm.

Phương pháp xác định cường độ nhiễm ve: Cường độ nhiễm ve của mỗi chó được quy định bằng số lượng ve thu thập được theo phương pháp thu thập mẫu ve (số ve/chó).

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học (Nguyễn Văn Thiện, 2002) và trên phần mềm Minitab 14.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó tại một số xã, thị trấn huyện Đông Hỷ, tỉnh Thái Nguyên

Tiến hành điều tra trên 577 chó nuôi tại các xã: Cây Thị, Hóa Thượng, Khe Mo, Minh Lập và thị trấn Trại Cau thuộc huyện Đông Hỷ, tỉnh Thái Nguyên để xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm ve và kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó

Địa phương	Kiểm tra (con)	Nhiễm (con)	Tỷ lệ (%)	Cường độ (ve/chó)
Cây Thị	154	73	47,40	4 - 296
Hóa Thượng	98	21	21,43	3 - 46
Trại Cau	97	24	24,74	3 - 148
Khe Mo	116	41	35,34	3 - 92
Minh Lập	112	33	29,46	5 - 33
TB	577	192	33,28	3 - 296

Bảng 1 cho thấy chó nuôi tại các xã, thị trấn điều tra đều bị nhiễm ve với cường độ từ nhẹ đến nặng. Trong tổng số 577 chó kiểm tra tại 5 xã và thị trấn có 192 chó bị nhiễm ve, chiếm tỷ lệ 33,28%; cường độ nhiễm 3-296 ve/chó.

Như vậy, ve ký sinh ở chó rất phổ biến tại các địa phương nghiên cứu. Sở dĩ có sự phổ biến như vậy là do nhiều yếu tố tác động đến tình trạng nhiễm ve của chó. Kiểu khí hậu nhiệt đới gió mùa, nóng ẩm quanh năm của miền Bắc Việt Nam rất thuận lợi cho sự phát triển của ký sinh trùng nói chung và ve ký sinh ở chó nói riêng. Phương thức chăn nuôi chủ yếu là thả rông hoặc bán chăn thả đối với chó là nguyên nhân làm cho mầm bệnh phát tán ra môi trường ngoại cảnh và dễ cảm nhiễm vào cơ thể chó. Hiểu biết của người nuôi chó về bệnh ve ký sinh chưa cao, chưa có ý thức phòng và trị bệnh ve cho chó. Mặt khác, ve ký sinh ở chó là loài ve 3 ký chủ nên việc lây lan càng mạnh hơn.

Theo Nguyễn Thanh Hải (2007), Maia và ctv (2014), ve là loài môi giới truyền bệnh ký sinh trùng đường máu và nhiều bệnh truyền nhiễm nguy hiểm. Ngoài ra, ve còn gây nên những tổn thương cơ giới ở da cho gia súc. Vì vậy, tỷ lệ nhiễm ve ở chó cao là nguy cơ lây lan các mầm bệnh ký sinh trùng và bệnh truyền nhiễm khác.



Hình ảnh rất nhiều ve ký sinh trên chó





Hình ảnh ve ký sinh nhiều ở tai và chân của chó

3.2. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó theo tuổi

Tiến hành điều tra chó ở 3 lứa tuổi tại các xã, thị trấn nghiên cứu để xác định chó ở lứa tuổi nào dễ nhiễm ve nhất để nhằm xây dựng kế hoạch phòng bệnh.

Bảng 2. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve theo tuổi

Lứa tuổi (tháng)	Kiểm tra (con)	Nhiễm (con)	Tỷ lệ (%)	Cường độ (ve/chó)
< 3	147	29	19,73 ^a	3 - 39
3-12	194	62	31,96 ^b	4 - 296
> 12	236	101	42,80 ^c	3 - 125
TB	577	192	33,28	3 - 296

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả bảng 2 cho thấy, tuổi chó càng cao thì tỷ lệ nhiễm ve càng tăng và cường độ nhiễm càng nặng. Tỷ lệ nhiễm thấp nhất ở chó dưới 3 tháng tuổi (19,73%), cường độ nhiễm 3-39 ve/chó. Chó 3-12 tháng tuổi có tỷ lệ nhiễm là 31,96% và cường độ nhiễm 4-296 ve/chó. Tỷ lệ nhiễm cao nhất ở chó trên 1 năm tuổi (42,80%), cường độ nhiễm là 3-125 ve/chó. Khi so sánh thống kê thấy sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm ve ở các lứa tuổi chó là khá rõ rệt ($P < 0,05$).

Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó dưới 3 tháng tuổi thấp nhất vì, những chó này là chó con theo mẹ, thời gian tiếp xúc với môi trường sống và mầm bệnh chưa nhiều. Mặt khác, chó con thường được chó mẹ gặm liếm để bắt ve nên ve khó phát triển. Ở những chó lớn, thời gian tiếp xúc với môi trường ngoại cảnh nhiều nên cơ hội tiếp xúc với mầm bệnh nhiều, đồng

thời bộ lông của chó thường dày và dài hơn chó con, ve có điều kiện sống ký sinh tốt hơn, dễ dàng hút no máu để biến thái và sinh sản.

Cù Xuân Đức (2011) nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm ve ở chó nuôi tại Thái Nguyên cũng cho biết, tỷ lệ và cường độ nhiễm ve tăng dần theo tuổi chó.

Lê Thị Thu Phương (2019) cũng cho biết tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó nuôi tại quận Tây Hồ, Hà Nội có xu hướng tăng dần theo lứa tuổi, tuổi chó càng cao thì tỷ lệ nhiễm ve càng tăng và cường độ nhiễm càng nặng.

3.3. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó theo tính biệt

Kết quả bảng 3 cho thấy trong 304 chó được kiểm tra có 105 chó nhiễm ve, chiếm tỷ lệ 34,54%. Kiểm tra 273 chó cái thấy 87 chó nhiễm ve, chiếm tỷ lệ 31,87%. Khi so sánh thống kê thấy sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm ve ở chó đực và chó cái không rõ rệt ($P > 0,05$). Như vậy, tính biệt không ảnh hưởng đến tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó.

Bảng 3. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve theo tính biệt

Địa phương	Tính biệt	n	Nhiễm (con)	Tỷ lệ (%)	Cường độ (ve/chó)
Cây Thị	Đực	89	41	46,07	4-296
	Cái	65	32	49,23	
Hóa Thượng	Đực	51	13	25,49	3-46
	Cái	47	8	17,02	
Trại Cau	Đực	54	15	27,78	3-148
	Cái	43	9	20,93	
Khe Mo	Đực	61	18	29,51	3-92
	Cái	55	23	41,82	
Minh Lập	Đực	49	18	36,73	5-33
	Cái	63	15	23,81	
Trung bình	Đực	304	105	34,54	3-296
	Cái	273	87	31,87	

$P > 0,05$

Nguyễn Hồ Bảo Trân và Nguyễn Hữu Hưng (2014) khi nghiên cứu về tình hình nhiễm ngoại ký sinh trùng trên chó tại thành phố Cần Thơ đã cho biết: không có sự khác biệt giữa tỷ lệ nhiễm ngoại ký sinh trùng ở chó đực và chó cái. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với kết luận của tác giả trên.

3.4. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve theo loại chó

Tại địa bàn nghiên cứu, các hộ nuôi phổ biến 2 giống chó lai và chó nội, một số ít hộ có nuôi chó ngoại làm cảnh. Kết quả bảng 4 cho thấy, tỷ lệ nhiễm ve ở các giống chó có sự chênh lệch đáng kể. Kiểm tra 386 chó nội có 153 con nhiễm ve với cường độ 4-296 ve / chó, chiếm tỷ lệ 39,64%. Kiểm tra 154 chó lai có 38 con nhiễm ve với cường độ 3-129 ve / chó, chiếm tỷ lệ 24,68%. Kiểm tra 37 chó ngoại chỉ có duy nhất 1 chó nhiễm ve với cường độ nhiễm là 5 ve/chó, tỷ lệ nhiễm 2,70%.

Bảng 4. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve theo giống

Giống chó	Kiểm tra (con)	Nhiễm (con)	Tỷ lệ (%)	Cường độ (ve/chó)
Nội	386	153	39,64 ^a	4-296
Lai	154	38	24,68 ^b	3-129
Ngoại	37	1	2,70 ^c	5
TB	577	192	33,28	3-296

Tại địa bàn nghiên cứu, do điều kiện kinh tế của các hộ nuôi chó còn thấp, mục đích nuôi chó chủ yếu để trông giữ nhà nên rất ít chó nội và chó lai được nuôi nhốt mà chủ yếu vẫn là nuôi thả rông và bán thả. Chính điều kiện nuôi như vậy tạo điều kiện cho ve lây nhiễm vào chó nội và chó lai. Vì vậy, tỷ lệ nhiễm ve ở chó lai và chó nội khá cao. Bên cạnh đó, có một số ít hộ gia đình nuôi chó ngoại làm cảnh nên chó ngoại được chăm sóc rất chu đáo, thường xuyên được tắm chải và sử dụng thuốc phòng trị các bệnh ký sinh trùng nói chung và bệnh ve chó nói riêng nên tại địa bàn nghiên cứu chỉ có duy nhất 01 chó ngoại bị nhiễm ve. Tuy nhiên, do dung lượng mẫu còn rất ít (37 chó ngoại) nên cũng chưa hoàn toàn đại diện được cho chỉ tiêu này.

3.5. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó theo mùa vụ

Điều tra tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó theo 2 vụ Xuân-Hè và Thu-Đông để xác định thời điểm thích hợp phòng trị bệnh ve ký sinh cho chó. Kết quả bảng 5 cho thấy: mùa vụ có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó: vụ Xuân-Hè là 28,15% thấp hơn so với vụ Thu-Đông (39,19%). Sự sai khác

về tỷ lệ nhiễm ve ở chó theo mùa vụ khá rõ rệt ($P < 0,05$). Cường độ nhiễm ve ở chó vào vụ Xuân-Hè là 4-74 ve/chó, thấp hơn vụ Thu-Đông (3-296 ve/chó).

Bảng 5. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve theo mùa vụ

Địa phương	Mùa vụ	n	Nhiễm (con)	Tỷ lệ (%)	Cường độ (ve/chó)
Cây Thị	Xuân-Hè	90	35	38,89 ^a	5-74
	Thu-Đông	64	38	59,38 ^b	3-296
Hóa	Xuân-Hè	51	9	17,65 ^a	4-46
	Thu-Đông	47	12	25,53 ^a	3-42
Trại	Xuân-Hè	52	10	19,23 ^a	6-67
	Thu-Đông	43	14	32,56 ^b	3-148
Cau	Xuân-Hè	49	17	34,69 ^a	2-15
	Thu-Đông	67	24	35,82 ^b	6-92
Minh	Xuân-Hè	60	14	23,33 ^a	8-33
	Thu-Đông	52	19	36,54 ^b	6-27
Lập	Xuân-Hè	302	85	28,15 ^a	4-74
	Thu-Đông	273	107	39,19 ^b	3-296

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả Đỗ Thế Mạnh (2015) khi nghiên cứu tỷ lệ nhiễm ve ở chó theo mùa vụ tại huyện Đầm Hà và Hải Hà, tỉnh Quảng Ninh cho biết: tỷ lệ nhiễm ve ở chó vào vụ Xuân-Hè là 39,04%, thấp hơn rất nhiều so với tỷ lệ nhiễm vào vụ Thu-Đông (74,24%). Nguyễn Thị Liên (2018) cho biết trong tổng số 251 chó được kiểm tra trong vụ Xuân-Hè, có 62 chó nhiễm ve chiếm tỷ lệ 24,70% với cường độ nhiễm 1-124 ve/chó. Trong vụ Thu-Đông, 60 chó nhiễm ve trong tổng số 113 chó được kiểm tra, chiếm 53,09%. Cường độ nhiễm ve chó ở vụ Thu-Đông cũng dao động ở mức cao 4-460 ve/chó. Sự chênh lệch về tỷ lệ nhiễm ve ở chó giữa 2 mùa vụ có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,0001$). Điều này cho thấy mùa vụ có ảnh hưởng lớn đến tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó.

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm ve ở chó nuôi tại 5 xã và thị trấn thuộc huyện Đồng Hỷ, tỉnh Thái Nguyên là khá cao (33,28%); chó nhiễm ve với cường độ 3-296 ve/chó. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve tăng dần theo tuổi chó. Tính biệt không có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ve ở chó nội cao

hơn chó lai và rất thấp ở chó ngoại. Vụ Thu-Đông, chó nhiễm ve với tỷ lệ và cường độ cao hơn vụ Xuân-Hè.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Cù Xuân Đức** (2011). Đặc điểm dịch tễ bệnh ve chó ở hai huyện, thị của tỉnh Thái Nguyên, thử nghiệm thảo dược trong trị ve chó chó, Luận văn Thạc sĩ khoa học Nông nghiệp, ĐH Thái Nguyên.
2. **Nguyễn Thanh Hải** (2007). Nghiên cứu tác dụng diệt ve ký sinh trên chó và bò của chế phẩm thuốc mỡ chế từ cây Thuốc cá, Luận văn thạc sĩ khoa học nông nghiệp chuyên ngành thú y, Trường Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội.
3. **Hoeppele R. and Feny L.C.** (1933). Experimental Studies on ticks, *Chienes Med Tourn*, **VIII**: 29.
4. **Nguyễn Thị Kim Lan, Nguyễn Văn Quang và Nguyễn Quang Tuyên** (1999). Giáo trình ký sinh trùng thú y, Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, trang 170.
5. **Nguyễn Thị Kim Lan** (2012). Ký sinh trùng và bệnh ký sinh trùng thú y, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, trang 244.
6. **Latrofa M.S., Dantas-tores F., Giannelli A. and Otranto D.** (2014). Molecular detection of tick-borne pathogens in *Rhipicephalus sanguineus* group ticks, *Ticks Tick Borne Dis.*, **5**(4): 158.
7. **Nguyễn Thị Liên** (2018). Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học, dịch tễ học của ve ký sinh ở chó tại phòng khám thú y Mỹ Đình và biện pháp phòng trị, Hà và Hải Hà - tỉnh Quảng Ninh, thử nghiệm chiết xuất Thuốc Lào và Bách bộ trị ve cho chó, Luận văn thạc sĩ Thú y, Học viên Nông nghiệp Việt Nam.
8. **Maia C., Ferreira A., Nunes M., Vieira M. L., Campino L. and Cardoso L.** (2014). Molecular detection of bacterial and parasitic pathogens in hard ticks from Portugal, *Ticks Borne Dis.*, **5**(4): 409.
9. **Đỗ Thế Mạnh** (2015). Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh ve chó ở huyện Đầm Hà và Hải Hà - tỉnh Quảng Ninh, thử nghiệm chiết xuất Thuốc Lào và Bách bộ trị ve cho chó, Luận văn thạc sĩ Thú y, Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên.
10. **Lê Thị Thu Phương** (2019). Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh ve trên chó nuôi tại quận Tây Hồ - Thành phố Hà Nội và biện pháp phòng, trị, Luận văn thạc sĩ Thú y, Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên.
11. **Nguyễn Văn Thiện, Nguyễn Khánh Quắc và Nguyễn Duy Hoan** (2002). Giáo trình Phương pháp nghiên cứu trong chăn nuôi, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, trang 72.
12. **Nguyễn Hồ Bảo Trân và Nguyễn Hữu Hưng** (2014). Tình hình nhiễm ngoại ký sinh trùng trên chó tại thành phố Cần Thơ, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, **2**: 69.

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG *BACILLUS* SP. SINH ENZYME VÀ KHÁNG VI KHUẨN *ECHERICHIA COLI*

Nguyễn Thị Hạnh Chi^{1*}, Văng Khánh Ly¹, Đặng Nguyễn Hoàng Minh¹, Võ Hồng Nhịnh¹ và Nguyễn Tuyết Giang¹

Ngày nhận bài báo: 30/03/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 12/04/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 24/04/2021

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện từ tháng 01/2020 đến tháng 4/2020 tại khu Thực hành - Thí nghiệm trường Đại học An Giang, nhằm phân lập và tuyển chọn ra các chủng *Bacillus* sp. có đặc tính sinh học cao. Qua kết quả kiểm tra các đặc tính sinh hóa của 137 chủng vi khuẩn *Bacillus* được phân lập ban đầu, nghiên cứu đã sàng lọc còn 96 chủng *Bacillus* sp. Tiếp tục tuyển chọn các chủng *Bacillus* qua các đặc tính sinh enzyme amylase, protease, cellulase và phát triển ở 50°C cho kết quả lần lượt là 76,04; 95; 85 và 82,19%. Sau đó, ứng dụng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen 16S rRNA ở 10 chủng sinh enzyme thu được 2 chủng *B. subtilis*, 5 chủng *B. licheniformis*, 2 chủng *B. cereus* và 1 chủng *B. pumilus*. Các chủng này có sự tương đồng di truyền khá cao với các chủng vi khuẩn *Bacillus* có trong GenBank. Kiểm tra khả năng đối kháng của 7/8 chủng được định danh (bỏ 2 chủng *B. cereus*) đối với *E. coli*, kết quả đường kính vòng kháng khuẩn 9,3-15,33mm. Như vậy, 7 chủng này đều có khả năng sinh enzyme có thể sử dụng làm nguồn probiotic hoặc dùng trong xử lý chất thải.

Từ khóa: *Bacillus*, *E. coli*, đặc tính sinh học, đối kháng, phân lập.

¹ Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc Gia TP. HCM

* Tác giả liên hệ: TS. Nguyễn Thị Hạnh Chi, Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc Gia TP. HCM, Điện thoại: 0914.251.296; Email: nthchi71@gmail.com

ABSTRACT

Isolation and selection of *Bacillus* sp. strains for the enzyme production and resistance to *E. coli*

The study was conducted from Jan to Apr 2020 at the Practice-Experiment Area of An Giang University, to isolate and select of *Bacillus* sp. strains which exhibited high biological properties. Among 137 *Bacillus* isolates initially isolated, 96 strains were *Bacillus* sp. were screened based on biochemical characteristics. These strains were then selected for the properties of producing enzymes amylase, protease, cellulase and development at 50°C with the results of 76.04, 95, 85 and 82.19%, respectively. PCR technique and 16S rRNA gen sequencing were used; obtaining two strains of *B. subtilis*, five strains of *B. licheniformis*, two strains of *B. cereus* and one strain of *B. pumilus*. These strains possessed overall high genomic similarity with the *Bacillus* strains in GenBank. Further test (without two strains of *B. cereus*) showed that 7/8 strains with antagonistic ability against *E. coli*. The inhibition zone of mean diameters ranged from 9.3 to 15.33mm. Finally, these seven strains were capable of producing enzymes and can be used as probiotic sources or used in waste treatment.

Keywords: *Bacillus*, *E. coli*, biological properties, antagonistic ability, isolation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, để khắc phục tình trạng các chủng vi khuẩn gây bệnh đa kháng với kháng sinh và kháng sinh tích lũy trong cơ thể gia súc gây ảnh hưởng đến sức khỏe của người tiêu dùng, người chăn nuôi ứng dụng các biện pháp sinh học, đặc biệt là chế phẩm sinh học từ những chủng vi khuẩn đối kháng được xem là một trong những giải pháp thay thế hiệu quả và cung cấp một phương thức an toàn, bền vững đối với người nuôi và tiêu dùng. Thực tế, sử dụng chế phẩm probiotic mang lại rất nhiều lợi ích cho người chăn nuôi như hỗ trợ tiêu hóa thức ăn, cân bằng hệ vi sinh đường ruột bằng cách cạnh tranh với vi khuẩn gây bệnh, tác dụng tốt lên hệ thống kháng thể, phòng trừ bệnh tiêu chảy heo con và hiệu quả hơn trong hạn chế stress (Kabir, 2009), từ đó giảm chi phí trong phòng bệnh và tăng năng suất cho vật nuôi (Reuter, 2001).

Ở nước ta, các chủng vi khuẩn *Bacillus* được nghiên cứu và sử dụng phổ biến do chúng sở hữu những đặc tính quan trọng như: an toàn với con người và cả động vật, có khả năng cạnh tranh vị trí bám dính và sản sinh chất kháng khuẩn (bacteriocins) gây bất lợi với các chủng vi khuẩn gây bệnh. Ngoài ra, các chủng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng sinh enzyme ngoại bào, dễ pha trộn, chịu đựng nhiệt độ cao trong quá trình sản xuất, dễ bảo quản.

Từ những lý do trên, đề tài “Phân lập, tuyển chọn các chủng *Bacillus* sp. sinh enzyme và kháng vi khuẩn *E. coli*” được tiến hành nhằm đánh giá tiềm năng của vi khuẩn *Bacillus*, góp phần tạo nguyên liệu cho việc sản xuất các chế phẩm probiotics hoặc chế phẩm xử lý chất thải rắn trong chăn nuôi.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Phân lập vi khuẩn *Bacillus* từ 41 mẫu phân bò, 28 mẫu cò và 14 mẫu đất ở huyện Châu Thành, tỉnh An Giang.

Chủng vi khuẩn *E. coli* (E.VL28d) được sử dụng trong thử nghiệm này mang gen mã hóa kháng nguyên bám dính F18 và ba gen mã hóa độc tố đường ruột Sta, STb và EAST1 được lưu trữ với 20% glycerol (v/v) ở -70°C (Nguyễn Thị Hạnh Chi và ctv, 2015).

Vật liệu, dụng cụ, hóa chất, môi trường dùng trong phân lập và định danh vi khuẩn *Bacillus*.

Vật liệu, dụng cụ, hóa chất, môi trường dùng trong thử nghiệm đối kháng với vi khuẩn *E. coli*.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phân lập và định danh sơ bộ vi khuẩn *Bacillus*

Phân lập vi khuẩn *Bacillus* theo Guo và ctv (2006) và kiểm tra đặc tính sinh hóa vi khuẩn *Bacillus* theo Trần Linh Thuốc (2010).

2.2.2. Tuyển chọn các chủng vi khuẩn *Bacillus* dựa vào các đặc tính sinh học

Khả năng phát triển ở 50°C của vi khuẩn được khảo sát theo phương pháp của Barbosa và Levy (2000) có cải tiến. Phương pháp xác định khả năng phân giải cellulose được thực hiện theo Cowan và Steel (2004) có cải tiến; Phương pháp xác định khả năng phân giải tinh bột thực hiện theo Harley (2004); Phương pháp xác định khả năng phân giải protein được thực hiện theo phương pháp của Harley và Prescott (2002) có cải tiến.

2.2.3. Định danh vi khuẩn *Bacillus* bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen 16S rRNA

Lý trích DNA theo Zhenxiang và ctv (2018).

Khuếch đại đoạn gen 16S rRNA cặp mỗi phổ biến có trình tự:

2 7 F :
(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')

1 4 9 2 R :
(5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'27F)
(Saminathan và Narayanan, 2015).

Chu trình nhiệt của phản ứng: 1 chu kỳ: 94°C trong 5 phút; 35 chu kỳ: 94°C trong 1 phút, 55°C trong 1 phút, 72°C trong 1 phút và 1 chu kỳ ở 72°C trong 15 phút.

Giải trình tự đoạn gen 16S rRNA của vi khuẩn: sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch và giải mã trình tự nucleotide.

Phân tích đặc tính di truyền ở mức độ phân tử của các chủng *Bacillus*

Trình tự 16S rRNA được phân tích thông qua phần mềm BioEdit và BLAST trên ngân hàng gen để xác định sự tương đồng với các loài trên ngân hàng GenBank.

2.2.4. Xác định khả năng đối kháng vi khuẩn gây bệnh

Thử nghiệm khả năng đối kháng theo phương pháp vạch thẳng vuông góc và thử nghiệm khả năng đối kháng theo phương pháp khuếch tán: thực hiện theo Kivanç và ctv (2014).

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp và xử lý thống kê theo ANOVA trên phần mềm Excel và Minitab 16.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và định danh vi khuẩn *Bacillus* sp.

3.1.1. Phân lập vi khuẩn *Bacillus* sp.

Kết quả phân lập được 60/137 chủng (43,80%) phát triển trên môi trường NA cho khuẩn lạc có màu trắng đục, khô, bìa bất định, giống với mô tả của David và ctv (2016), các tác giả cho rằng *B. subtilis* có màu trắng đục, khô, bìa bất định. Kết quả còn cho thấy có 43/137 chủng có khuẩn lạc tròn, dẹt, khô, kích thước tế bào lớn hơn 3µm giống với nhận định của Zhenxiang và ctv (2018), các tác giả cho rằng trên môi trường NA, khuẩn lạc của *B. subtilis* có màu trắng đục, tròn, dẹt, khô và kích cỡ trung bình.

Để xác định các chủng thuộc giống *Bacillus*, một số thí nghiệm cho sàng lọc bước đầu được thực hiện như: nhuộm Gram, quan sát hình thái tế bào, nhuộm bào tử, thử nghiệm sinh hóa (indol, voges proskauer, catalase) (Guo và ctv, 2006; Zhenxiang và ctv, 2018). Kết quả thu được tổng cộng 137 chủng vi khuẩn có hình que, Gram dương và có khả năng sinh bào tử khi quan sát sau 48 giờ. Trong đó, 50,36% khuẩn lạc có bào tử ở trung tâm và 37,96% khuẩn lạc có bào tử không làm biến đổi hình dạng tế bào. Điều này cho thấy trong 137 chủng vi khuẩn có nhiều chủng có tiềm năng là *B. subtilis*.

3.1.2. Định danh *Bacillus* sp. bằng phản ứng sinh hóa

Từ 137 chủng được phân lập, các chỉ tiêu sinh hóa được tiến hành kiểm tra các đặc tính sinh hóa theo trình tự: tế bào vi khuẩn bắt màu tím sau khi nhuộm Gram, vi khuẩn có khả năng di động, dương tính với catalase, Voges Proskauer và âm tính với indol (Cowan và Steel, 2004).

Theo quy trình chọn lọc, 100% chủng vi khuẩn *B. subtilis* là trực khuẩn Gram dương; 119/137 chủng có tính di động (86,86%); 116/137 chủng không có khả năng chuyển đổi tryptophan thành indole. Tiếp tục kiểm tra phản ứng catalase, 122/137 chủng dương tính với catalase; 96/137 chủng cho kết quả dương tính với VP, 41 chủng cho kết quả âm tính sẽ bị loại bỏ.

Bảng 1. Sàng lọc *Bacillus* sp. qua đặc tính sinh hóa

Chỉ tiêu	n	Tỷ lệ (%)
Gram dương	137	100,00
Di động (+ tính)	119	86,86
Indol (- tính)	116	84,67
Catalase (+ tính)	122	89,05
VP (Voges Proskauer) (+ tính)	96	70,07

3.2. Tuyển chọn các chủng vi khuẩn *Bacillus* sp.

3.2.1. Đặc tính sinh học của các chủng vi khuẩn *Bacillus* sp.

Qua kết quả kiểm tra các đặc tính sinh hóa, đã sàng lọc được 96 chủng *Bacillus* sp. Tiếp tục tuyển chọn các chủng *Bacillus* qua các đặc tính sinh học, loại dần các chủng không đạt yêu cầu.

Bảng 2. Chọn *Bacillus* sp. qua đặc tính sinh học

Chỉ tiêu	n	Kết quả	Tỷ lệ (%)
Amylase (+ tính)	96	73	76,04
Phát triển ở 50°C	73	60	82,19
Cellulase (+ tính)	60	51	85,00
Protease (+ tính)	60	57	95,00

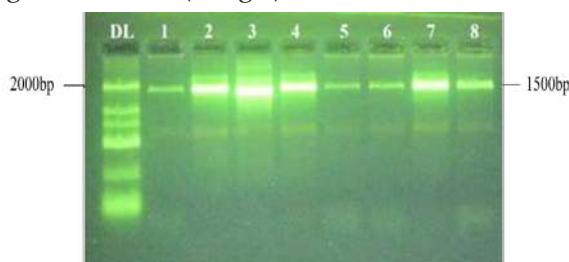
Kết quả của Bảng 2 cho thấy, đặc tính sinh học đầu tiên được kiểm tra là amylase, để kiểm tra khả năng thủy phân tinh bột của 96 chủng vi khuẩn. Dựa trên nguyên tắc amylase xúc tác thủy phân tinh bột thành đường, lượng tinh bột còn lại phản ứng màu với iod. Kết quả kiểm tra cho thấy có 73/96 chủng dương tính với amylase, có khả năng phân giải tinh bột.

Bào tử *B. subtilis* đã được ghi nhận có khả năng phát triển ở 50°C (Cowan và Steel, 2004). Kết quả kiểm tra cho thấy có 60 chủng có khả năng phát triển ở 50°C, loại bỏ 13 chủng cho kết quả âm tính. Phản ứng được thực hiện để kiểm tra khả năng thủy phân gelatine nhằm xác định các chủng vi khuẩn có khả năng sinh enzyme protease. Kết quả kiểm tra có 57/60 chủng có khả năng phân giải protease. Kết quả này phù hợp với nhận định của Gori và ctv (2011); Sundarram và Murthy (2014) đặc tính nổi bật của các loài *Bacillus* là có khả năng sinh ra nhiều loại enzyme có hoạt tính cao như enzyme cellulase, protease và amylase. *Bacillus* có khả năng tiết ra enzyme protease góp phần phân hủy nhanh các chất

hữu cơ. Theo Kim và ctv (2012), vi khuẩn *B. subtilis* có khả năng sản xuất ra 4 loại enzyme CMCCase, FPCCase, Avicelase và xylanase và β -glucosidase cho khả năng phân giải nhiều loại cơ chất kể cả tinh thể cellulose. Kết quả kiểm tra cho thấy có 51 chủng có enzyme cellulase này đều khả năng sinh enzyme amylase, protease và có khả năng phát triển ở nhiệt độ cao (50°C). Như vậy, nghiên cứu này đã tuyển chọn được 51 chủng có đặc tính sinh học có lợi cho quá trình phân hủy chất hữu cơ. Nghiên cứu tiếp tục chọn 10/51 chủng có đồng thời ba đặc tính sinh học trên để định danh bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen.

3.2.2. Định danh vi khuẩn *Bacillus* bằng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen 16S rRNA

Mùoi sản phẩm PCR (ly trích từ mùoi chủng *Bacillus* sp.) được điện di trên thạch agarose 2%. Kết quả điện di sản phẩm PCR cho thấy đã khuếch đại thành công đoạn gen có kích thước 1.500bp ở mùoi chủng vi khuẩn dương tính (Hình 1). Để xác định danh pháp đến mức loài, các chủng vi khuẩn sau khi thực hiện phản ứng PCR sẽ tiến hành giải trình tự nucleotide ở đoạn gen 16S rRNA. Trình tự nucleotide của 10 chủng vi khuẩn được chọn sau khi giải mã tiến hành so sánh với các loài vi khuẩn được lưu trữ từ ngân hàng dữ liệu gen của NCBI (Bảng 3).



Hình 1. Sản phẩm điện di của phản ứng PCR xác định *Bacillus* (1.500bp) trên thạch agarose

DL: DNA marker 100bp; giếng 1-8: dương tính C17-5d; D1-5a; B15-5d; D15-5b; C17-5b; B15-5b; D16-3b; C17-4b

Bảng 3 cho thấy, 10 chủng vi khuẩn *Bacillus* đều có mang gen mã hóa vi khuẩn *Bacillus* được phân lập từ phân bò, đất và cỏ. Trong đó, có 2 chủng có sự tương đồng di

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT VÀ CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

truyền rất cao (99,32-99,76%) với các chủng vi khuẩn *B. subtilis* có trong ngân hàng gen; 5 chủng có sự tương đồng di truyền cao (90,37-99,77%) với các chủng vi khuẩn *B. licheniformis* có trong GenBank; 2 chủng có sự tương đồng di truyền rất cao (99,93-100%) với các chủng vi khuẩn *B. cereus* có trong GenBank và 1 chủng có sự tương đồng di truyền rất cao (99,51%)

với các chủng vi khuẩn *B. pumilus* có trong GenBank. Điều này chứng minh 8/10 chủng *Bacillus* được phân lập ở huyện Châu Thành trong nghiên cứu này có trình tự nucleotide không có sự sai khác nhiều so với các chủng đã được công bố trên thế giới do có mức tương đồng đạt $\geq 99\%$.

Bảng 3. Kết quả định danh *Bacillus* bằng phương pháp giải trình tự gen

STT	Chủng <i>Bacillus</i> phân lập	Chủng vi khuẩn tham chiếu trên NCBI	Mã trên ngân hàng gen	Tỷ lệ tương đồng (%)
1	D1-5a	<i>Bacillus subtilis</i>	GQ280099.1	99,32
2	C15-4b	<i>Bacillus pumilus</i>	KC771039.1	99,51
3	P 3-3	<i>Bacillus cereus</i>	MN216227.1	99,93
4	B15-5b	<i>Bacillus licheniformis</i>	JN998748.1	93,68
5	B15-5d	<i>Bacillus cereus</i>	CP039269.1	100,00
6	D15-5b	<i>Bacillus licheniformis</i>	NR118996.1	99,00
7	D16-3b	<i>Bacillus subtilis</i>	MH910177.1	99,76
8	C17-4b	<i>Bacillus licheniformis</i>	KM277364.1	99,77
9	C17-5b	<i>Bacillus licheniformis</i>	JQ660649.1	90,37
10	C17-5d	<i>Bacillus licheniformis</i>	KP216572.1	99,22

Ghi chú: NCBI: National Center for Biotechnology Information

Tóm lại, từ 137 chủng vi khuẩn được phân lập ban đầu sau khi tiến hành các bước chọn lọc bằng phương pháp kiểm tra các phản ứng sinh hóa, đặc tính sinh học,... ứng dụng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen 16S rRNA trên 10 chủng, kết quả có 2 chủng *B. subtilis*, 5 chủng *B. licheniformis*, 2 chủng *B. cereus* và 1 chủng *B. pumilus*.

Trong quá trình chọn lọc, nghiên cứu này đã bỏ qua không kiểm tra phản ứng sinh hóa lecithinase để loại bỏ các loài *Bacillus* có

độc tính. Vi lecithinase là một enzyme có khả năng phá vỡ hệ thống mô bào, gây ngộ độc (Sharaf và ctv, 2014). Theo UK Standards for Microbiology Investigations (2015), các loài *Bacillus* đều âm tính với lecithinase, ngoại trừ nhóm *B. cereus*. Do đó, có 2/10 chủng bị loại ra sau khi được xác định là *B. cereus*.

3.2.3. Khả năng đối kháng của vi khuẩn *Bacillus* với *E. coli* gây bệnh tiêu chảy heo

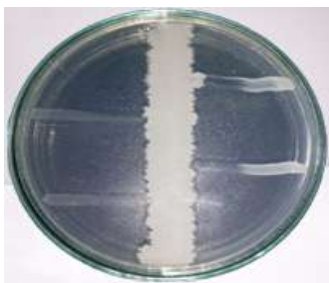
a. Khả năng đối kháng theo phương pháp vạch thẳng vuông góc

Bảng 4. Kết quả đối kháng theo phương pháp vạch thẳng vuông góc giữa các chủng *Bacillus* sp.

STT	Chủng <i>Bacillus</i> phân lập	Khoảng cách kháng khuẩn trong 24 giờ (mm)	Khoảng cách kháng khuẩn trong 32 giờ (mm)	Khoảng cách kháng khuẩn 48 giờ (mm)
1	D16-3b	15,44 ^a ±0,19	15,33 ^a ±0,33	12,67 ^a ±0,88
2	D1-5a	12,67 ^b ±0,39	12,89 ^b ±0,58	11,00 ^b ±0,19
3	C15-4b	12,44 ^{bc} ±0,60	13,33 ^b ±0,51	9,78 ^b ±0,67
4	C17-5b	11,67 ^{bc} ±0,33	12,00 ^b ±0,88	10,00 ^b ±0,33
5	C17-5d	11,22 ^c ±0,80	12,00 ^b ±0,57	9,78 ^b ±0,19
6	D15-5b	6,89 ^d ±0,69	7,67 ^c ±0,33	5,22 ^c ±0,84
7	B15-5b	4,44 ^e ±0,20	5,78 ^d ±0,19	3,78 ^c ±0,39
8	C17-4b	-	-	-
		P<0,001	P<0,001	P<0,001
Trung bình		10,68	11,33	8,88

Ghi chú: Các giá trị trong cùng cột với những chữ số mũ khác nhau thì sai khác thống kê ở mức P<0,001

Bảng 4 cho thấy 2 chủng *B. subtilis* (D16-3b và D1-5a) có khả năng đối kháng với *E. coli* tốt nhất trong 24 giờ đầu với khoảng cách vòng kháng khuẩn (Hình 2) trung bình là 15,44 và 12,67mm. Tương tự, khoảng cách kháng *E. coli* của 2 chủng trên ở thời điểm sau 32 và 48 giờ cao hơn các chủng còn lại. Các chủng *B. subtilis* có khả năng sinh ra các chất kháng khuẩn phổ rộng như subtilin, bacilysin, macobacillin, ... có thể tiêu diệt vi khuẩn gây bệnh. Ngoài ra, chúng tạo ra các chất bề mặt có hoạt tính sinh học (biosurfactants) khác nhau, có tiềm năng cao cho công nghệ sinh học và dược học (Banat và ctv, 2010). Các hợp chất này khác nhau về cấu trúc và phổ hoạt động và thường chịu trách nhiệm về tác dụng kháng khuẩn của *Bacillus* (Fernandes và ctv, 2007).



Hình 2. Đối kháng của *B. subtilis* (D16-3b) với *E. coli* (E.VL28d)

Bên cạnh đó, khoảng cách kháng *E. coli* trên cùng một chủng *Bacillus* sp. theo thời gian thay đổi rõ rệt. Ở thời điểm 32 giờ, khoảng cách này rộng nhất, được thể hiện qua giá trị trung bình là 11,33mm. Đặc biệt, các chủng D16-3b, C15-4b, D1-5a có giá trị cao nhất, đến 48 giờ các khoảng cách kháng khuẩn hẹp lại, nghĩa là khả năng đối kháng của *Bacillus* sp. giảm dần. Nguyên nhân có thể là trong môi trường TSA, vi khuẩn *Bacillus* sp. phát triển và tiết các chất kháng khuẩn ra môi trường ức chế sự phát triển của *E. coli* từ giai đoạn sớm. Càng về sau, khi môi trường dinh dưỡng ngày càng cạn kiệt, vi khuẩn phát triển kém, các chất kháng khuẩn tiết ra môi trường càng ít hơn, các chất này không tồn tại lâu trong môi trường nuôi cấy sẽ bị phân hủy dần, nên hàm lượng chất

kháng khuẩn của *Bacillus* sp. ở giai đoạn càng về sau càng giảm, hiệu quả kháng khuẩn đối với *E. coli* cũng giảm theo. Như vậy, 2 chủng *B. subtilis* (D16-3b và D1-5a) có hoạt tính kháng vi khuẩn *E. coli* cao, có thể cân nhắc sử dụng chúng trong các chế phẩm làm ức chế sự phát triển của vi khuẩn *E. coli* gây bệnh.

b. Khả năng đối kháng theo phương pháp khuếch tán trên thạch

Bảng 5. Khoảng cách kháng khuẩn của các chủng *Bacillus* sp. với *E. coli* gây bệnh tiêu chảy heo (P<0,001)

Tên chủng	Hoạt tính kháng khuẩn (D-d)mm
D16-3b	15,33 ^a ±0,58
D1-5a	13,33 ^{ab} ±1,53
C15-4b	13,17 ^{ab} ±0,76
C17-5b	12,17 ^{bc} ±1,00
C17-5d	11,50 ^{bc} ±0,50
D15-5b	10,33 ^{bc} ±1,15
B15-5b	9,33 ^c ±1,53
C17-4b	-

Ghi chú: D-d là đường kính vòng kháng khuẩn, d=6mm

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy có 7/8 chủng *Bacillus* có khả năng kháng *E. coli* gây tiêu chảy trên heo với đường kính vòng kháng khuẩn 9,3-15,33mm. Chủng có đối kháng với *E. coli* mạnh nhất là D16-3b với đường kính vòng kháng khuẩn là 15,33mm và thấp nhất là chủng B15-5b với đường kính vòng kháng khuẩn là 9,3mm. Kết quả này cũng phù hợp với nhận định của Kivanç và ctv (2014), các chủng *Bacillus* sp. có thể sinh ra các chất kháng khuẩn (bacteriocin) như lipopeptides có thể tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh. Điều này chứng tỏ hai *Bacillus subtilis* (D16-3b và D1-5a) được phân lập tại huyện Châu Thành tỉnh An Giang có khả năng sinh chất kháng khuẩn mạnh hơn các chủng *Bacillus* từ nghiên cứu trên.

Như vậy, 7/8 chủng có khả năng sinh chất kháng khuẩn tiêu diệt vi khuẩn *E. coli* gây tiêu chảy trên heo (E.VL28d), đặc biệt hai chủng *B. subtilis* (D16-3b và D1-5a) đều có khả năng ức chế sự phát triển của *E. coli* mạnh hơn so với năm chủng còn lại. Riêng chủng *B. licheniformis* (C17-4b) hoàn toàn không có khả năng ức chế vi khuẩn *E. coli* ở cả hai phương pháp kiểm định.



Hình 3. Đối kháng của *B. subtilis* (D16-3b) với *E. coli* (E.VL28d)

4. KẾT LUẬN

Đã phân lập chọn được 137 chủng *Bacillus* từ mẫu phân bò, đất và cỏ. Qua kiểm tra đặc tính sinh hóa, sinh học, tuyển chọn được 51 chủng *Bacillus* có khả năng sinh các enzyme amylase, protease và cellulase. Tiếp tục thực hiện kỹ thuật PCR và giải trình tự gen 16S rRNA, kết quả xác định được 10 chủng có bộ gen có mức độ tương đồng di truyền rất cao với các chủng *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. licheniformis* có trong GenBank.

Tuyển chọn được 7 chủng *Bacillus* sp. có lợi có khả năng kháng với chủng *E. coli* (E.VL28d), chúng đều có đặc tính để làm nguồn nguyên liệu sản xuất probiotic hoặc chế phẩm sinh học xử lý chất thải chăn nuôi, trong đó *B. subtilis* D16-3b thể hiện khả năng phân giải tinh bột, protein, cellulose rất rõ và khả năng đối kháng mạnh với vi khuẩn *E. coli* trong phòng thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Banat I.M., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M.G., Fracchia L., Smyth T.J. and Marchant R. (2010). Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *App. Mic. Bio.*, 87: 427-44.
- Barbosa T.M. and Levy S.B. (2000). The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. *Dru. Res. Updates*, 3(5): 303-11.
- Nguyễn Thị Hạnh Chi, Lý Thị Liên Khai và Nguyễn Thanh Lâm. (2015). Xác định sự hiện diện một số gene độc lực của các chủng Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) phân lập từ heo con tiêu chảy ở ĐBSCL. *Tạp chí KHKT Thú y*, 1: 41-52.
- Cowan S.T. and Steel K.J. (2004). *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria*. Cambridge Uni.
- David O., Olagunju J., Adebayo A., Oluwaniyi T. and Olajide M. (2016). Probiotic properties and antibiotic resistance pattern of *Bacillus* spp. isolated from two types of fermented locust bean (iru). *Bri. Biot. J.*, 10(4): 1-12.
- Fernandes P.A.V., de Arruda I.R., dos Santos A., de Araujo A.A., Maior A.M.S. and Ximenes E.A. (2007). Antimicrobial activity of surfactants produced by *Bacillus subtilis* R14 against multidrug-resistant bacteria. *Braz. J. Mic.*, 38(4): 704-09.
- Gori K., Bjørklund M., Canibe N., Pedersen A.Ø. and Jespersen L. (2011). Occurrence and identification of yeast species in fermented liquid feed for piglets. *Microbial Ecology*, 61: 146-53.
- Guo X., Li D., Lu W., Piao X. and Chen X. (2006). Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the *in vivo* effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs. *A. Van. Leeuw.*, 90: 139-46.
- Harley J.P. (2004). *Laboratory exercises in microbiology*. McGraw-Hill Science, Engineering & Mathematics.
- Harley J.P. and Prescott L.M. (2002). *Laboratory exercises in microbiology*, 5th ed. The Cell and Molecular Biology Editor Mc Graw - Hill Publishers.
- Kabir S.M. (2009). The Role of Probiotics in the Poultry Industry. *Int. J. Mol. Sci.*, 10(8): 3531-46.
- Kim Yu-K., Lee S.C., Cho Y.Y., Oh H.J. and Ko Y.H. (2012). Isolation of cellulolytic *Bacillus subtilis* strains from agricultural environments. *Int. Sch. Res. Mic.*, 2012: 1-9.
- Kıvanç S.A., Takım M., Kıvanç M. and Güllülü G. (2014). *Bacillus* spp. isolated from the conjunctiva and their potential antimicrobial activity against other eye pathogens. *Afr. Hea. Sci.*, 14(2): 364-71.
- Reuter G. (2001). Probiotics - possibilities and limitations of their application in food, animal feed, and in pharmaceutical preparations for men and animals. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr*, 114: 410-19.
- Saminathan D. and Narayanan J.S. (2015). Isolation and classical identification of potent extracellular alkaline protease producing alkalophilic *Bacillus* sp. from coastal regions of Tamil Nadu. *Afr. J. Mic. Res.*, 9(12): 847-54.
- Sundarram A. and Murthy T. (2014). α -amylase production and applications: a review. *J. App. Env. Mic.*, 2(4): 166-75.
- Sharaf E.F., El-Sayed W.S. and AboSaif R.M. (2014). Lecithinase-producing bacteria in commercial and home-made foods: Evaluation of toxic properties and identification of potent producers. *J. Tai. Uni. Sci.*, 8: 207-15.
- Trần Linh Thuốc (2010). Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước thực phẩm và mỹ phẩm. Hà Nội: NXB giáo dục.
- UK Standards for Microbiology Investigations (2015). Identification of *Bacillus* species. *Bac. Identification*, 9(3): 1-27.
- Lê Thị Hải Yến và Nguyễn Đức Hiên (2016). Khảo sát đặc tính probiotic của các chủng *Bacillus subtilis* phân lập tại các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí KH trường Đại học Cần Thơ*, 2: 26-32.
- Zhenxiang L.U., Weina G.U.O. and Chang L.I.U. (2018). Isolation, identification and characterization of novel *Bacillus subtilis*. *J. Vet. Med. Sci.*, 80(3): 427-33.

AN TOÀN SINH HỌC TRONG TRANG TRẠI

Ban Biên tập

Theo lời khuyên của Bà Danelle Bickett-Weddle, DVM, cộng tác viên của Trung tâm An ninh Thực phẩm và Sức khỏe Cộng đồng tại Trường Đại học Thú y Bang Iowa là khi bạn muốn trang trại của bạn đạt mức an toàn sinh học thì phải coi trang trại của bạn là một lâu đài. Bà cho rằng khi chúng ta hình dung một lâu đài, chúng ta nghĩ ngay đến tất cả các đặc điểm thiết kế để bảo vệ nó - một vị trí biệt lập, một hàng rào cao bên ngoài và có thể là một con hào xung quanh toàn bộ khu đất. Chính đó là cách bạn cần nghĩ về trang trại của mình - bạn là vua hay nữ hoàng, và chỉ như vậy thì trang trại của bạn mới thực sự bảo đảm tính an toàn sinh học.

Iowa không xa lạ gì với các sự kiện dịch bệnh động vật hạn chế buôn bán, khi vừa mới điều hướng và có một đợt bùng phát Dịch cúm gia cầm gây bệnh cao (HPAI) ở gia cầm cách đây chưa đầy 5 năm. Giống như bệnh lở mồm long móng (LMLM) nếu nó được đưa vào, HPAI yêu cầu các nỗ lực ngăn chặn để ngăn chặn sự lây lan của dịch bệnh ở Iowa.

Bà Bickett-Weddle cho rằng nếu bệnh LMLM được xác nhận tại một trang trại chăn nuôi ở bất kỳ đâu ở Hoa Kỳ, tất cả các hoạt động vận chuyển động vật trên toàn quốc sẽ bị dừng hoàn toàn trong tối thiểu 72 giờ. Ở Iowa, việc di chuyển xe chở thức ăn và sữa cũng có thể bị hạn chế. Sau 72 giờ đầu tiên, việc di chuyển ra vào các trang trại chăn nuôi trong khu vực vài dặm xung quanh trang trại dương tính với bệnh LMLM có thể tiếp tục, nhưng chỉ trên cơ sở cho phép cho đến khi dịch bùng phát được giải quyết. GS. Bickett-Weddle cũng lưu ý rằng: Nếu điều đó xảy ra với bạn, hãy tưởng tượng bạn sẽ phải chịu áp lực như thế nào khi nó diễn ra và đó là lý do tại sao điều quan trọng là phải có kế hoạch trước thời hạn.

Yêu cầu sự can thiệp của bác sĩ thú y là bước đầu tiên quan trọng trong việc phát triển một kế hoạch an toàn sinh học. Một trong những điểm nổi bật của kế hoạch như vậy là một lần ra vào trang trại được quản lý và duy nhất. Xem xét tất cả các phương tiện và những người thường xuyên ra vào trang trại của bạn - nhân viên, bác sĩ thú y, xe chở thức ăn, xe

chở sữa, máy rải phân, xe kéo chăn nuôi, đại diện AI, xe tải đẩy và nhiên liệu, xe tải UPS và FedEx, xe tải kết xuất và hơn thế nữa.

Làm thế nào bạn có thể quản lý tốt nhất những chuyển động này và khả năng ô nhiễm kèm theo của xe cộ, động vật và con người? Một số ý tưởng cũng được Bà nêu ra:

- Xác định người quản lý an toàn sinh học thực thi kế hoạch an toàn sinh học.

- Thiết lập hệ thống lưu trữ hồ sơ cho các động vật di chuyển ra vào trang trại.

- Biết ai đang vào trang trại bằng cách yêu cầu người giao thức ăn và những người khác được ghi lại bằng nhật ký giao hàng.

- Cung cấp và yêu cầu quần áo và ủng bảo hộ, dùng một lần cho những khách tham quan vào hoạt động của bạn. Khuyến khích nhân viên và những người thường xuyên tiếp xúc với động vật có quần áo và giày dép dành riêng cho nông trại.

- Đảm bảo Mã số Nhận dạng Cơ sở (PIN) từ Viên chức Thú y Tiểu bang của bạn cho mọi địa điểm nơi bạn có chăn nuôi. Giấy phép di chuyển trong tình huống cách ly sẽ không được cấp nếu không có mã PIN.

Bộ sưu tập toàn diện các nguồn tài nguyên để phát triển kế hoạch an toàn sinh học nâng cao cho trang trại bò sữa có trên trang web Nguồn cung cấp sữa an toàn của USDA. Bao gồm các công cụ để đào tạo an toàn sinh học và các biển báo trang trại in được, cùng với các mẹo thực hành để bảo vệ đàn bò sữa.

GS. Bickett-Weddle chỉ ra rằng an toàn sinh học tuyệt vời có thể bảo vệ đàn gia súc của bạn khỏi các bệnh có hại như BVD và salmonella, cũng như những bệnh thảm khốc như LMLM. Trong trường hợp bùng phát nghiêm trọng, một đàn "sạch" có thể có lợi về mặt kinh tế, vì nó sẽ có thể bán được sản phẩm khi những đàn khác không thể. Khi đã có kế hoạch an toàn sinh học, hãy thực thi nó. Bà nói: "Sự thật là an toàn sinh học gây bất tiện cho mọi người, nhưng nó cũng rất cần thiết" trong hệ thống chăn nuôi.

Nguồn: <https://www.dairyherd.com/article/dont-apologize-biosecurity-measures-your-farm>.