

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT

VIỆN CHĂN NUÔI



PHẠM NGỌC THẠCH

**NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CHẾ PHẨM SINH HỌC
PHÂN GIẢI XƠ TRONG KHẤU PHÂN NUÔI BÒ**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ

CHUYÊN NGÀNH: CHĂN NUÔI

MÃ SỐ : 9 62 01 05

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: 1. TS. PHẠM KIM CƯỜNG
2. PGS.TS. MAI VĂN SÁNH**

HÀ NỘI, 2020

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan, đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi dưới sự hướng dẫn của các thầy và sự giúp đỡ của các đồng nghiệp trong suốt thời gian từ năm 2013 - 2019. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa được công bố trong bất kỳ công trình nào khác. Mọi trích dẫn đều có nguồn gốc rõ ràng.

Tác giả của luận án



Phạm Ngọc Thạch

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận án này, tôi đã nhận được sự quan tâm, giúp đỡ của các thầy, cô giáo, các tập thể, cá nhân cùng bạn bè đồng nghiệp.

Trước tiên, tôi xin bày tỏ sự biết ơn sâu sắc tới các thầy hướng dẫn khoa học: TS. Phạm Kim Cương, PGS.TS. Mai Văn Sánh và cố GS.TS. Vũ Chí Cương. Các thầy đã tận tâm và nhiệt tình giúp đỡ, truyền đạt kiến thức chuyên môn, trao đổi phương pháp luận, ý tưởng và nội dung nghiên cứu, động viên nghiên cứu sinh để hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban giám đốc Viện Chăn nuôi, Phòng Đào tạo và Thông tin đã giúp đỡ tôi rất nhiều trong quá trình học tập và tạo điều kiện thuận lợi để tôi hoàn tất các thủ tục bảo vệ luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn, TS. Chu Mạnh Thắng trưởng phòng Đào tạo và Thông tin và các cán bộ làm việc tại quý phòng. Đồng thời, tôi xin cảm ơn các cán bộ nghiên cứu tại Bộ môn Dinh dưỡng và thức ăn chăn nuôi, Trung tâm thực nghiệm và bảo tồn vật nuôi, Trung tâm nghiên cứu bò và đồng cỏ Ba Vì, Phòng chăn nuôi – thú y huyện Eaka (Đắk Lắk) đã có nhiều trao đổi và giúp đỡ tôi trong việc hoàn thành luận án.

Nhân dịp này, tôi xin chân thành cảm ơn các cơ quan của tỉnh Ninh Bình đã tạo mọi điều kiện và nhiệt tình giúp đỡ tôi trong quá trình học tập và hoàn thành luận án.

Cuối cùng, tôi xin được dành những tình cảm, lời cảm ơn sâu sắc nhất tới toàn thể người thân trong gia đình, bạn bè thân thiết, đặc biệt là vợ và các con của tôi đã luôn động viên, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và hoàn thành bản luận án này.

Nghiên cứu sinh



Phạm Ngọc Thạch

MỤC LỤC

<u>Nội dung</u>	<u>Trang</u>
MỞ ĐẦU	1
1. Đặt vấn đề	1
2. Mục tiêu nghiên cứu	2
3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn.....	2
4. Những đóng góp mới của luận án	3
CHƯƠNG I: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1. 1. ĐẶC ĐIỂM CỦA NGUỒN NGUYÊN LIỆU THỨC ĂN GIÀU XƠ CHO GIA SÚC NHAI LẠI	4
1.1.1. Cấu trúc của thành tế bào thực vật	4
1.1.2. Xenlulo	6
1.1.3. Hemicellulose	7
1.1.4. Lignin	8
1.2. TIÊU HÓA XƠ Ở GIA SÚC NHAI LẠI	9
1.2.1. Sơ lược chức năng của dạ cỏ	9
1.2.2. Quá trình lên men trong dạ cỏ dạ cỏ	12
1.2.3. Quá trình tiêu hóa thành tế bào thực vật của vi sinh vật dạ cỏ	12
1.3. CHẾ PHẨM SINH HỌC DÙNG CHO GIA SÚC NHAI LẠI	17
1.3.1. Các chủng vi sinh vật được sử dụng làm probiotic	17
1.3.2. Cơ chế hoạt động của probiotic	17
1.3.3. Ảnh hưởng của probiotic đến khả năng sản xuất và sức khỏe của gia súc nhai lại	20
1.4. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VÀ SỬ DỤNG CHẾ PHẨM SINH HỌC PHÂN GIẢI XƠ	38
1.4.1. Tình hình nghiên cứu sản xuất và sử dụng các chế phẩm vi sinh có khả năng phân giải xơ trên thế giới	38
1.4.2. Tình hình nghiên cứu sản xuất và sử dụng các chế phẩm sinh học ở Việt Nam	43
1.4.3. Nguồn gốc xuất xứ chế phẩm sinh học của đề tài luận án	46
CHƯƠNG II: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	47
2.1. ĐỐI TƯỢNG, THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU	47
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	47
2.1.2. Địa điểm nghiên cứu	47
2.1.3. Thời gian nghiên cứu	48
2.2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU	48

<u>Nội dung</u>	<u>Trang</u>
2.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến tốc độ và đặc điểm sinh khí <i>in vitro</i> của một số thức ăn giàu xơ làm thức ăn cho gia súc nhai lại	48
2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến khả năng phân giải một số thức ăn giàu xơ bằng phương pháp <i>in sacco</i> và thay đổi hệ vi sinh vật dạ cỏ	48
2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến khả năng tiêu hóa thức ăn bằng phương pháp <i>in vivo</i>	48
2.2.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần cơ sở là thức ăn giàu xơ của bò lai Sind sinh trưởng đến lượng thức ăn thu nhận, tăng khối lượng và hiệu quả kinh tế	48
2.2.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần nuôi bò lai hướng sữa $\frac{3}{4}$ HF đến lượng thức ăn thu nhận, năng suất, chất lượng sữa và hiệu quả kinh tế	49
2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	49
2.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến tốc độ và đặc điểm sinh khí <i>in vitro</i> của một số thức ăn giàu xơ làm thức ăn cho gia súc nhai lại	49
2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến khả năng phân giải thức ăn bằng phương pháp <i>in sacco</i> và thay đổi hệ vi sinh vật dạ cỏ	54
2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến khả năng tiêu hóa thức ăn bằng phương pháp <i>in vivo</i>	59
2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần cơ sở là thức ăn giàu xơ nuôi bò lai Sind sinh trưởng đến lượng thức ăn thu nhận, tăng khối lượng và hiệu quả kinh tế	61
2.3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần nuôi bò lai hướng sữa $\frac{3}{4}$ HF đến lượng thức ăn thu nhận, năng suất, chất lượng sữa và hiệu quả kinh tế	64
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	68
3.1. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến tốc độ và đặc điểm sinh khí <i>in vitro</i> của một số thức ăn giàu xơ làm thức ăn cho gia súc nhai lại	68
3.1.1. Thành phần hóa học của các loại thức ăn thí nghiệm	68
3.1.2. Tốc độ và đặc điểm sinh khí <i>in vitro</i> của rơm	70
3.1.3. Tốc độ và đặc điểm sinh khí <i>in vitro</i> của cỏ khô Pangola	73
3.1.4. Tốc độ và đặc điểm sinh khí <i>in vitro</i> của cỏ voi	75
3.1.5. Tốc độ và đặc điểm sinh khí <i>in vitro</i> của thân cây ngô	78

<u>Nội dung</u>	<u>Trang</u>
3.2. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến khả năng phân giải một số thức ăn giàu xơ bằng phương pháp <i>in sacco</i> và thay đổi hệ vi sinh vật dạ cỏ	84
3.2.1. Tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô <i>in sacco</i> của rơm	84
3.2.2. Tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô <i>in sacco</i> của cỏ khô Pangola	86
3.2.3. Tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô <i>in sacco</i> của cỏ voi	88
3.2.4. Tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô <i>in sacco</i> của thân cây ngô	90
3.2.5. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần cơ sở đến tổng số vi sinh vật dạ cỏ	92
3.3. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm đến khả năng tiêu hóa xơ của thức ăn trong điều kiện <i>in vivo</i>.....	98
3.3.1. Thành phần hóa học của các loại thức ăn thí nghiệm	98
3.3.2. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng của các loại thức ăn	100
3.4. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần cơ sở là thức ăn giàu xơ nuôi bò lai Sind sinh trưởng đến lượng thức ăn thu nhận, tăng khối lượng và hiệu quả kinh tế	108
3.4.1. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thức ăn thí nghiệm	108
3.4.2. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến lượng thức ăn thu nhận bò thí nghiệm	109
3.4.3. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến thay đổi khối lượng bò thí nghiệm	111
3.4.4. Hiệu quả sử dụng thức ăn	113
3.4.5. Sơ bộ tính toán hiệu quả nuôi dưỡng bò thí nghiệm	114
3.5. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần nuôi bò lai hướng sữa $\frac{3}{4}$HF đến lượng tã thu nhận năng suất, chất lượng sữa và hiệu quả kinh tế	118
3.5.1. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thức ăn thí nghiệm	118
3.5.1. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến lượng thức ăn thu nhận của bò thí nghiệm	120
3.5.2. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến thay đổi khối lượng	121
3.5.3. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến năng suất sữa ..	122
3.5.4. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến chất lượng sữa của bò thí nghiệm	124
3.5.4. Hiệu quả sử dụng thức ăn	126
3.5.5. Sơ bộ tính toán hiệu quả nuôi dưỡng bò sữa thí nghiệm	127
CHƯƠNG IV: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	132
4.1. KẾT LUẬN	132

<u>Nội dung</u>	<u>Trang</u>
4.2. ĐỀ NGHỊ	133
TÀI LIỆU THAM KHAM KHẢO	134
PHỤ LỤC	158
CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ..	161

DANH MỤC CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

ADF	Xơ không tan trong dung môi axit
ADFI	ADF ăn vào
ADG	Tăng khối lượng bình quân/ngày
ATP	Phân tử mang năng lượng
KTS	Khoáng tổng số
CP	Protein thô
CPD	Tiêu hóa protein
CRD	Ngẫu nhiên hoàn toàn
CPI	Protein ăn vào
DM	Vật chất khô
DMI	Vật chất khô ăn vào
FAT	Mỡ
FCM	Sữa tiêu chuẩn
FCR	Hệ số chuyển đổi thức ăn
KL	Khối lượng
ME	Năng lượng trao đổi
NDF	Xơ không tan trong dung môi trung tính
NDFD	Tiêu hóa NDF
NDFI	NDF ăn vào
OM	Chất hữu cơ
OMD	Tiêu hóa chất hữu cơ
OMI	Chất hữu cơ ăn vào
Probiotic	Chế phẩm sinh học
SCFA	Axit béo mạch ngắn

SEM	Sai số số trung bình
TMR	Thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh
VCK	Vật chất khô

DANH MỤC BẢNG BIỂU

<u>Nội dung</u>	<u>Trang</u>
Bảng 1.1. Các vi sinh vật dạ cỏ và hoạt tính enzyme của chúng liên quan tới phân giải thành tế bào thực vật trong dạ cỏ (Dehority, 1993)	13
Bảng 1.2: Các hoạt tính enzyme chủ yếu cần thiết cho quá trình thủy phân các polyme thành tế bào thực vật hiện diện trong dạ cỏ	15
Bảng 1.3. Ảnh hưởng bổ sung trực tiếp một số chủng vi khuẩn (direct fed microbial) vào khẩu phần đến khả năng sản xuất của gia súc nhai lại ..	26
Bảng 1.4. Sử dụng probiotics và tác động của chúng trong thức ăn chăn nuôi và thủy sản	40
Bảng 2.1. Khẩu phần cơ sở nuôi bò thí nghiệm <i>in sacco</i> (theo vật chất khô) ..	54
Bảng 2.2. Sơ đồ thí nghiệm <i>in sacco</i>	56
Bảng 2.3. Thành phần hóa học của các mẫu thức ăn	58
Bảng 2.4. Sơ đồ thí nghiệm <i>in vivo</i>	59
Bảng 2.5. Sơ đồ bố trí thí nghiệm	62
Bảng 2.6. Tỷ lệ trộn và giá trị dinh dưỡng thức ăn tinh (% vật chất khô)	62
Bảng 2.7. Sơ đồ bố trí thí nghiệm	65
Bảng 3.1. Thành phần hóa học của các mẫu thức ăn	68
Bảng 3.2. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men <i>in vitro</i> rơm	70
Bảng 3.3. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men <i>in vitro</i> cỏ khô Pangola	73
Bảng 3.4. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men <i>in vitro</i> cỏ voi	76
Bảng 3.5. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men <i>in vitro</i> thân cây ngô	79
Bảng 3.6: Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô <i>in sacco</i> của rơm	85
Bảng 3.7. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô <i>in sacco</i> cỏ khô Pangola	87
Bảng 3.8. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô <i>in sacco</i> của cỏ voi	89

<u>Nội dung</u>	<u>Trang</u>
Bảng 3.9. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô <i>in sacco</i> thân cây ngô	91
Bảng 3.10. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần cơ sở là rơm, cỏ khô Pangola, cỏ voi và thân cây ngô đến tổng số vi sinh vật dạ cỏ	93
Bảng 3.11. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng nguyên liệu thức ăn ..	98
Bảng 3.12a. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa rơm (%)	100
Bảng 3.12b. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa cỏ khô Pangola (%)	101
Bảng 3.12c. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa cỏ voi (%)	102
Bảng 3.12d. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa thân cây ngô (%)	102
Bảng 3.12e. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa TMR (%)	103
Bảng 3.13. Giá trị dinh dưỡng của thức ăn bò thí nghiệm	108
Bảng 3.14. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm đến thu nhận thức ăn	110
Bảng 3.15. Thay đổi khối lượng bò thí nghiệm	111
Bảng 3.16. Hiệu quả sử dụng thức ăn của bò thí nghiệm	113
Bảng 3.17. Hiệu quả kinh tế của nuôi dưỡng bò thịt	115
Bảng 3.18. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thức ăn thí nghiệm ..	119
Bảng 3.19. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm đến thu nhận thức ăn của bò nuôi thí nghiệm	120
Bảng 3.20. Thay đổi khối lượng bò nuôi thí nghiệm	122
Bảng 3.21. Năng suất sữa bò nuôi thí nghiệm	122
Bảng 3.22. Chất lượng sữa của bò thí nghiệm	125
Bảng 3.23. Hiệu quả sử dụng thức ăn của bò thí nghiệm	126
Bảng 3.24. Hiệu quả kinh tế của nuôi dưỡng bò sữa	127

DANH MỤC HÌNH

<u>Nội dung</u>	<u>Trang</u>
Hình 1.1. Cấu trúc thành tế bào thực vật	4
Hình 1.2. Công thức hóa học của cellulose	6
Hình 1.3. Công thức hóa học của hemicellulose	7
Hình 1.4. Công thức hóa học của lignin	8
Hình 3.1. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men <i>in vitro</i> rơm	72
Hình 3.2. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men <i>in vitro</i> cỏ khô Pangola	74
Hình 3.3. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men <i>in vitro</i> cỏ voi.	77
Hình 3.4. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men <i>in vitro</i> thân cây ngô	79
Hình 3.5a. Tốc độ phân giải chất khô <i>in sacco</i> rơm khi bổ sung chế phẩm A qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%)	86
Hình 3.5b. Tốc độ phân giải chất khô <i>in sacco</i> rơm khi bổ sung chế phẩm C qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%)	86
Hình 3.6a. Tốc độ phân giải chất khô <i>in sacco</i> cỏ khô Pangola khi bổ sung chế phẩm A qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%)	88
Hình 3.6b. Tốc độ phân giải chất khô <i>in sacco</i> cỏ khô Pangola khi bổ sung chế phẩm C qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%)	88
Hình 3.7a. Tốc độ phân giải chất khô <i>in sacco</i> cỏ Voi khi bổ sung chế phẩm A qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%)	90
Hình 3.7b. Tốc độ phân giải chất khô <i>in sacco</i> cỏ Voi khi bổ sung chế phẩm C qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%)	90
Hình 3.8a. Tốc độ phân giải chất khô <i>in sacco</i> thân cây ngô khi bổ sung chế phẩm A qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%)	92
Hình 3.8b. Tốc độ phân giải chất khô <i>in sacco</i> thân cây ngô khi bổ sung chế phẩm C qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%)	92
Hình 3.9. Lượng vật chất khô thu nhận của bò thí nghiệm	111
Hình 3.10. Sinh trưởng tuyệt đối (kg/con/ngày) của bò thí nghiệm	112
Hình 3.11. Sinh trưởng tương đối (%) của bò thí nghiệm	113
Hình 3.12. Hiệu quả sử dụng thức ăn của bò thí nghiệm	114
Hình 3.13. Lượng vật chất khô thu nhận của bò sữa thí nghiệm	121
Hình 3.14. Sản lượng sữa tiêu chuẩn (FCM) của bò sữa thí nghiệm	123
Hình 3.15. Hệ số giảm sữa của bò sữa thí nghiệm	124
Hình 3.16. Hiệu quả sử dụng thức ăn của bò sữa thí nghiệm	127

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Thức ăn thô là nguồn cung cấp năng lượng chính cho động vật nhai lại mà một trong những thành phần chính trong thức ăn thô đó là xenlulo, chúng là chất tạo màng sinh học phong phú nhất trên trái đất (Avellaneda và cộng sự., 2009; Paloheimo và cộng sự., 2010). Nhiều loại thức ăn thô nguồn gốc thực vật như cây thức ăn, các loại phụ phẩm trồng trọt (rơm, thân cây ngô sau thu bắp, ngọn lá mía ...) và một số phụ phẩm chế biến công-nông nghiệp thường có chất lượng thấp do khả năng tiêu hóa thấp và hạn chế cung cấp năng lượng cho động vật, do đó khi sử dụng chúng trong khẩu phần nuôi dưỡng thì loại thức ăn này góp phần làm bài tiết nhiều chất dinh dưỡng do có các liên kết phức tạp hạn chế khả năng phân giải các thành phần của thành tế bào trong dạ cỏ theo đó ảnh hưởng đến khả năng tiêu hóa các chất dinh dưỡng (Beauchemin và cộng sự., 2004). Điều này đòi hỏi cần phải tìm phương pháp tối ưu hóa việc sử dụng thức ăn thô trong chăn nuôi. Một trong các lựa chọn được đề cập đó là sử dụng các enzym ngoại sinh để hỗ trợ và thúc đẩy quá trình tiêu hóa (Avellaneda và cộng sự., 2009). Các enzym ngoại sinh được sử dụng ở động vật nhai lại có nguồn gốc từ nấm (phần lớn là *Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus niger* và *A. oryzae*) và từ vi khuẩn (*Bacillus spp.*, *Penicillium funiculosum*) có hoạt tính phân giải xenlulo và hemicellulo cao, được kết hợp ở dạng lỏng hoặc dạng bột sau đó được bổ sung vào thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh, cỏ khô, thức ăn ủ chua, thức ăn tinh, chất bổ sung hoặc premix để tăng khả năng phân giải chất dinh dưỡng trong thành tế bào (Beauchemin và cộng sự., 2004).

Ở Việt Nam, ít có công trình nghiên cứu sản xuất các chế phẩm vi sinh tiêu hóa thức ăn giàu xơ phục vụ chăn nuôi, đặc biệt là chăn nuôi gia súc nhai lại. Với đặc điểm thức ăn cho gia súc nhai lại thường có hàm lượng xơ cao hơn rất nhiều so với thức ăn cho lợn và gà. Xuất phát từ lý do trên, đề tài sử dụng

các sản phẩm sinh học có hoạt tính cao sản xuất trong nước trên cơ sở sử dụng các chủng vi sinh vật an toàn (nấm sợi, vi khuẩn) sinh tổng hợp hệ enzyme cellulase từ Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật trong khẩu phần nuôi dưỡng bò để cải thiện khả năng phân giải thức ăn giàu xơ nhằm nâng cao hiệu quả sử dụng thức ăn, giảm giá thành sản phẩm và góp phần làm tăng hiệu quả kinh tế cho ngành chăn nuôi.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Xác định liều lượng bổ sung thích hợp chế phẩm sinh học phân giải xơ nhằm nâng cao tỷ lệ tiêu hóa nguyên liệu thức ăn giàu xơ.
- Đánh giá hiệu quả sử dụng các chế phẩm sinh học phân giải xơ trong khẩu phần nuôi dưỡng bò thịt và bò sữa.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án

3.1. Ý nghĩa khoa học của đề tài

- Kết quả của đề tài luận án đã minh chứng việc bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ vào khẩu phần ăn cho bò có tác dụng tích cực đến tốc độ và đặc điểm sinh khí *in vitro*, tỷ lệ và đặc điểm phân giải *in sacco*, tỷ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng của thức ăn nhiều xơ, đồng thời tăng khối lượng cơ thể, giảm tiêu tốn thức ăn cho bò thịt lai Sind và tăng năng suất, giảm hệ số sụt sữa cho bò lai $\frac{3}{4}$ HF.
- Kết quả của đề tài còn là tài liệu tham khảo trong nghiên cứu và giảng dạy chuyên ngành.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn của đề tài

Bổ sung chế phẩm sinh học Best^FRumen[®] (A) và Best^FRumen[®] (C) đã mang lại những kết quả tốt trong chăn nuôi bò thịt và bò sữa, bởi vậy kết quả đó của đề tài dễ dàng được áp dụng thực tiễn ở các cơ sở chăn nuôi bò thịt và bò sữa nhằm tăng năng suất và hiệu quả kinh tế.

4. Những đóng góp mới của luận án

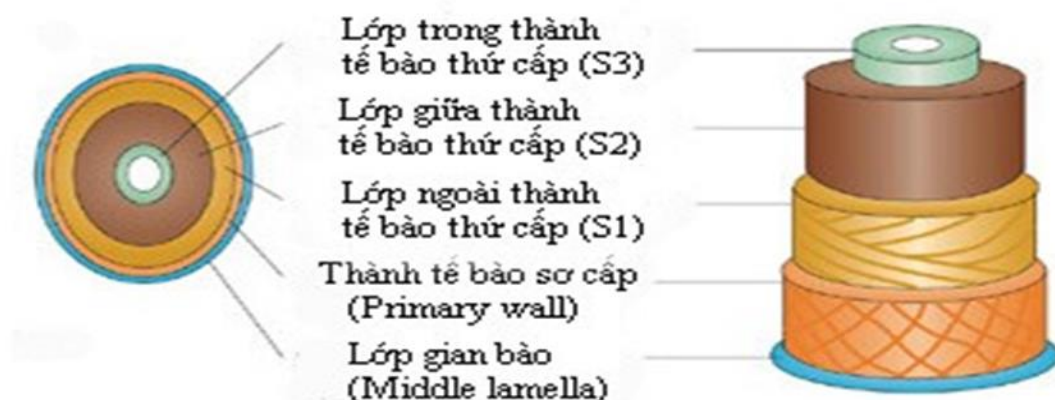
- Kết quả luận án đã bổ sung thêm dữ liệu thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của các loại thức ăn cho gia súc nhai lại;
- Luận án là công trình khoa học đầu tiên đã đánh giá được ảnh hưởng của mức bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ vào khẩu phần đến tốc độ và đặc điểm sinh khí *in vitro*, tỷ lệ và đặc điểm phân giải *in sacco*, tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ, giá trị năng lượng (ME) và hàm lượng axit béo mạch ngắn của một số thức ăn nhiều xơ. Mặt khác nó còn đóng góp cho gợi ý có hiệu quả về liều lượng bổ sung chế phẩm Best^FRumen^① (A) và Best^FRumen^② (C) đến khả năng phân giải một số thức ăn nhiều xơ cho bò lai sind và bò sữa ³/₄HF đang nuôi ở Việt Nam.
- Các điểm mới này có ý nghĩa khoa học và thực tiễn rất cao trong tài liệu giảng dạy và nghiên cứu khoa học cũng như trong thực tiễn chăn nuôi đại gia súc hiện nay.

CHƯƠNG I: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. ĐẶC ĐIỂM CỦA NGUỒN NGUYÊN LIỆU THỨC ĂN GIÀU XƠ CHO GIA SÚC NHAI LẠI

1.1.1. Cấu trúc của thành tế bào thực vật

Không giống như động vật, thực vật không có hệ thống xương nâng đỡ để chống lại tác động của trọng lực; thay vào đó, chúng sử dụng lực tích tụ trong thành tế bào có thể đủ mạnh để giữ cây nhưng đồng thời cho phép uốn và nén ở một số cây, chẳng hạn như khi có gió (Burton và cộng sự., 2010). Trong tự nhiên, các lớp của thành tế bào thực vật được minh họa bằng mô hình của gỗ (Hình 1.1).



Hình 1.1. Cấu trúc thành tế bào thực vật

Ở giữa các tế bào, có một hợp chất đóng vai trò như keo dán gắn kết các tế bào lại với nhau, đó là lớp gian bào. Lớp này cấu tạo từ các chất keo, có bản chất là pectin và không có tác động về quang học. Bên trong là thành tế bào sơ cấp, được chia thành 2 mặt: bên trong và bên ngoài. Sự sắp xếp của các vi sợi trong thành tế bào sơ cấp theo hướng phân tán tăng dần từ mặt trong ra mặt ngoài. Tiếp đến là thành tế bào thứ cấp gồm 3 lớp: lớp ngoài (S1), lớp giữa (S2) và lớp trong (S3). Sự phân chia thành tế bào thứ cấp thành 3 lớp S chủ yếu là

do sự định hướng khác nhau của các vi sợi trong ba lớp đó. Diễn hình các vi sợi định hướng độ xoắn trong vách tế bào. Lớp ngoài của thành tế bào thứ cấp, các vi sợi được định hướng trong cấu trúc xoắn chéo có độ nghiêng tạo thành một góc lớn với trục dọc của tế bào. Lớp giữa là lớp dày nhất và ở lớp giữa có góc nhỏ và độ nghiêng của sợi xoắn ốc trong khi vi sợi trong lớp 3 được sắp xếp như ở lớp ngoài, với một góc rộng với trục dọc của tế bào.

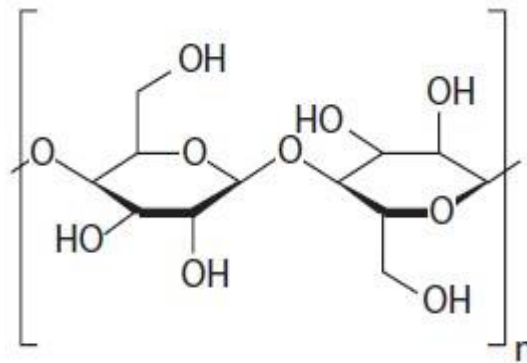
Chức năng của thành tế bào là chống đỡ cho các cơ quan của cây đặc biệt là các vách dày và cứng. Nó còn có các chức năng quan trọng như hấp thụ, thoát hơi nước hay vận chuyển và bài tiết. Ngoài vai trò cấu trúc, thành tế bào còn là nguồn cung cấp năng lượng cho cây. Ví dụ, hạt của nhiều loại ngũ cốc như ngô, lúa mì và gạo chứa nội nhũ chủ yếu là tinh bột, nhưng thành tế bào của lớp vỏ ngoài đóng vai trò như một nguồn năng lượng trong quá trình nảy mầm; Người ta ước tính rằng có tới 18% lượng glucose của hạt lúa mạch nảy mầm được giải phóng từ (1,3; 1,4) – β – D - glucans từ thành tế bào (Burton và cộng sự., 2010).

Lignocellulose là thành phần cấu trúc chính của thực vật thân gỗ và các thực vật khác như cỏ, lúa, ngô... Thành phần chủ yếu của lignocellulose là cellulose, hemicellulose và lignin. Cellulose và hemicellulose là các đại phân tử cấu tạo từ các gốc đường khác nhau, trong khi lignin là một polymer dạng vòng được tổng hợp từ tiền phenylpropanoid. Thành phần cấu tạo và phần trăm của các polymer này là khác nhau giữa các loài. Hơn nữa, thành phần cấu tạo trong cùng một cây hay các cây khác nhau là khác nhau dựa vào độ tuổi, giai đoạn sinh trưởng, phát triển của cây và các điều kiện khác.

Thành phần cellulose, hemicellulose và lignin trong thành tế bào thực vật chiếm tương ứng (35 – 50%); (20 – 35%) và (10 – 15%).

1.1.2. Xenlulo

Xenlulo là một phân tử mạch thẳng của β -glucan không hòa tan, gồm >15.000 gốc D-anhydroglucopyranose được liên kết với nhau bằng liên kết với cầu nối β (1 – 4). Công thức hóa học của xenlulo được minh họa qua Hình 1.2.



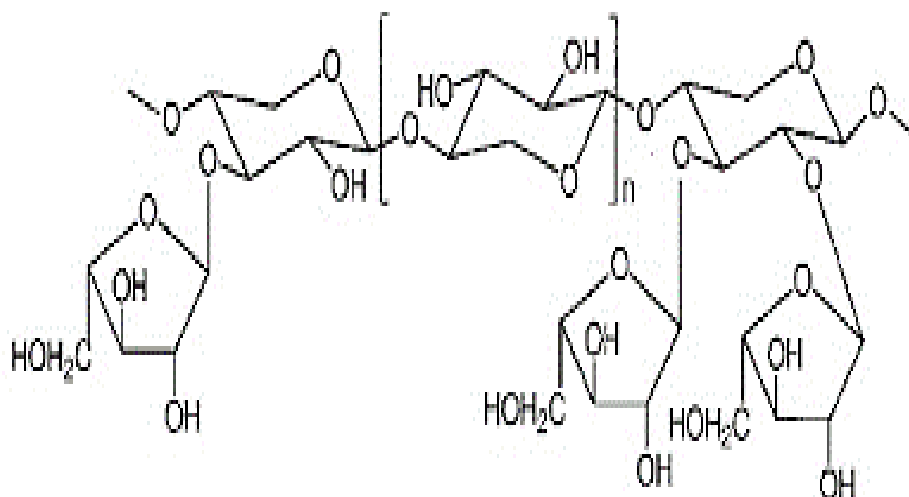
Hình 1.2. Công thức hóa học của cellulose

Xenlulo hầu như chỉ được tìm thấy trong thành tế bào của thực vật và cây cối, nhưng nó cũng xuất hiện trong các sinh vật sống khác nhau như phân ngành động vật có dây sống, tảo và một số loài vi khuẩn dưới dạng màng exopolysaccharide tạo ra (Lynd và cộng sự., 2002; Khandelwal và Windle, 2013). Tuy nhiên, xenlulo do vi sinh vật tạo ra thường có các đặc tính khác với xenlulo do thực vật tạo ra nên ứng dụng của chúng cũng khác nhau (Lin và cộng sự., 2013). Xenlulo thực vật được thủy phân bởi nhiều xenluloza khác nhau: endoglucanas thủy phân các chuỗi xenlulo một cách ngẫu nhiên và tạo ra các đồng phân của xenlulo; exoglucanase tạo ra cellobiose bằng cách thủy phân các chuỗi cellulose nằm trong liên kết cuối cùng của chúng và các β – glucosidase giải phóng glucose từ cellobiose (Beauchemin và cộng sự., 2004). Các thí nghiệm, sử dụng cellulose tinh khiết đã được dùng đánh giá một số nghiên cứu về quá trình thủy phân và sử dụng vi sinh vật. Tuy nhiên, sinh khối xenlulo phức tạp hơn xenlulo tinh khiết vì nó tạo ra phức chất với hemixenlulo và lignin. Hơn nữa, có sự khác biệt giữa các mô của thực vật, ví dụ như mô

trung bì có thành tế bào mỏng hơn và ít hóa lỏng hơn, dễ bị phân hủy bởi các enzym sợi phân trong khi trung bì ở cây bệnh xơ cứng có độ hóa lỏng cao và có thành dày hơn nên enzym khó phân hủy (Lynd và cộng sự., 2002).

1.1.3. Hemicellulose

Hemicellulose là một nhóm polysaccharide không đồng nhất được đặc trưng bởi các liên kết β (1 – 4) trong cấu hình xích đạo, trong đó bao gồm xyloglucans và glucuronoxylans (có trong dicots), glucuronoarabinoxylans (trong cỏ và cây lá kim), glucomannans (dicots và cỏ) và galactoglucomannans (cây lá kim) (Scheller và Ulvskov, 2010). Công thức hóa học của Hemicellulose được minh họa qua Hình 1.3.

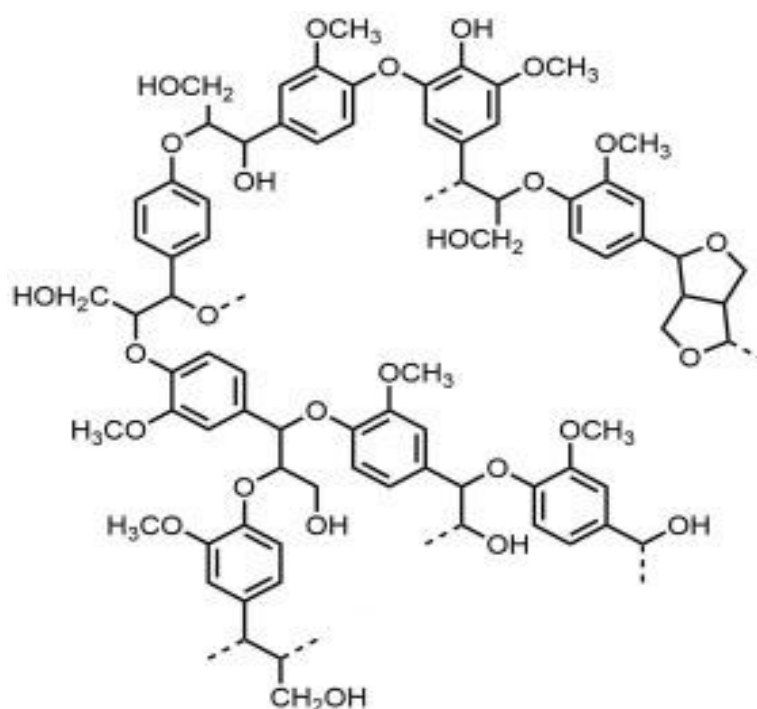


Hình 1.3. Công thức hóa học của hemicellulose

Xylan là thành phần chính của hemixenluloza, sau xenluloza, polysaccharid có nhiều nhất trong tự nhiên, chiếm 30 – 35% thành tế bào của ngũ cốc và cỏ. Hemicellulose được coi là một phần quan trọng trong dinh dưỡng của động vật nhai lại (Paloheimo và cộng sự., 2010). Hemicellulose được tổng hợp trong thể Golgi của tế bào thực vật nhờ hoạt động của một số glycosyltransferase được tìm thấy giữa β - (1 – 4)-glucan synthase, β - (1 – 4)-xylan synthase, và β - (1 – 4) - mannan synthase (Scheller và Ulvskov, 2010).

1.1.4. Lignin

Lignin là một polyme phân nhánh được hình thành bởi bốn rượu (coniferyl, hydroxyconiferyl, coumaryl, và rượu sinapyl) từ phenylpropanoid của thực vật, tạo ra các dạng lignin khác nhau như: guaiacyl, 5-hydroxyguaiacyl, p-hydroxyphenyl và syringyl lignin lắng đọng trong tế bào thành một phần của quá trình trưởng thành của cây, sau khi hoàn thành quá trình phát triển của tế bào (Moore và Jung, 2001). Công thức hóa học của lignin được minh họa qua Hình 1.4.



Hình 1.4. Công thức hóa học của lignin

Tỷ lệ của các hợp chất phenolic thay đổi tùy thuộc vào bản chất của loài thực vật, cơ quan và các lớp thành tế bào (Taiz và Zeiger, 2006). Dạng guaiacyl lignin đại diện cho 95% lignin được tìm thấy trong thực vật hạt trần, trong khi có một lượng lớn cả hai dạng syringyl và guaiacyl lignin trong thực vật hạt kín. Dạng hydroxyphenyl lignin được tìm thấy trong hầu hết các loại thực vật với một lượng nhỏ, nhưng dạng này cũng được tìm thấy trong một loại ngô (Bm3). Quá trình sinh tổng hợp lignin bắt đầu bằng phenylalanin. Tiền chất thứ hai là

tyrosine hoạt động thông qua tyrosinylase ammoniac để tạo thành axit coumaric. Các enzym khác tham gia vào quá trình tổng hợp lignin là phenylalanine ammoniaclyase, cinnamate 4-hydroxylase, 4-coumaroyl hydroxylase, O-methyltransferase, lên men 5-hydroxylase, 4-coumarate-CoA ligase, 4-coumaroyl-CoA hydroxylase, caffeoyl-CoA O-methyltransferase, cinnamoyl-CoA reductase, cinnamyl alcohol dehydrogenase và peroxidase (Moore và Jung. 2001). Lignin có trọng lượng phân tử cao, tạo độ cứng cho thành tế bào của thực vật, nên hạn chế sự sẵn có của carbohydrate cấu trúc đối với vi sinh vật dạ cỏ (Van Soest. 1994). Do đó, điều này làm hạn chế khả năng tiêu hóa lignin và tính sẵn có tổng thể về chất dinh dưỡng trong thức ăn thô xanh (Jung và Allen. 1995).

1.2. TIÊU HÓA XƠ Ở GIA SÚC NHAI LẠI

1.2.1. Sơ lược chức năng của dạ cỏ

Đặc điểm nổi bật của bộ máy tiêu hoá ở gia súc nhai lại là những khoang phình lớn, tại đây có các điều kiện môi trường thuận lợi cho vi sinh vật lên men hydrat-carbon và các chất hữu cơ khác. Sản phẩm chủ yếu của quá trình lên men tại đây là các axit béo bay hơi, CH_4 , CO_2 và ATP – chất mang năng lượng cần thiết cho vi sinh vật sinh trưởng và phát triển.

Nhờ cấu tạo đặc biệt của cơ quan tiêu hoá, gia súc nhai lại có thể tiêu hoá một khối lượng lớn xenlulo và các nguồn nitơ vô cơ. Dạ dày của gia súc nhai lại gồm 3 túi ở phía trước: dạ cỏ, dạ tổ ong, dạ lá sách – chúng còn được gọi là dạ dày trước và một túi nằm phía sau: dạ múi khế – chức năng tiêu hoá của phần này giống như dạ dày ở động vật dạ dày đơn. Phần dạ dày trước thường chiếm khoảng 70 – 75% tổng dung tích của cơ quan tiêu hoá.

Trong dạ dày trước, dạ cỏ là phần lớn nhất có dung tích khoảng 100 lít ở bò trưởng thành khối lượng từ 500 – 600 kg (chiếm hơn 90% dung tích dạ dày

trước). Quá trình lên men thức ăn xảy ra ở dạ cỏ và dạ tổ ong. Dạ cỏ có các điều kiện thuận lợi cho hoạt động của quần thể vi sinh vật yếm khí như:

- Môi trường dạ cỏ gần như trung tính ($\text{pH} = 6,5 - 7,4$) và tương đối ổn định nhờ tác dụng đệm của muối photphat và bicacbonat của nước bọt.

- Nhiệt độ trong dạ cỏ khá ổn định, dao động từ $38 - 41^{\circ}\text{C}$.

- Môi trường yếm khí.

- Thức ăn vào dạ cỏ cung cấp chất dinh dưỡng đều đặn cho vi sinh vật phát triển

- Dịch dạ cỏ có khoảng $85 - 90\%$ nước, độ ẩm cao: $80 - 90\%$.

- Nồng độ oxy (O_2) dưới 1% .

- Nhu động của dạ cỏ yếu nên thức ăn lưu lại lâu.

- Các sản phẩm của quá trình lên men luôn luôn được trao đổi qua thành dạ cỏ, vì vậy chênh lệch nồng độ cơ chất luôn luôn thích hợp cho quá trình lên men.

Do có các điều kiện thuận lợi, nên vi sinh vật dạ cỏ phát triển mạnh về số lượng, đa dạng về chủng loại: chúng bao gồm vi khuẩn, nấm, protozoa, mycoplasma, các loại virút và thể thực khuẩn. Mycoplasma, virút và thể thực khuẩn không đóng vai trò quan trọng trong tiêu hoá xơ.

Số lượng vi sinh vật trong dạ cỏ có thể đạt tới trên $10^{10}/\text{ml}$ dịch dạ cỏ và chiếm khoảng 60% sinh khối vi sinh vật trong dịch dạ cỏ (Hungate, 1966). Những vi sinh vật chủ yếu tiêu hoá các hydrat-carbon vách tế bào thực vật bao gồm các chủng như *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Bacteroides succinogenes* và một số lượng ít hơn là *Butyrivibrio fibrisolvens* (Baldwin và Allison, 1983). Khoảng 75% vi khuẩn trong dịch dạ cỏ bám dính vào các hạt thức ăn (Forsberg và Lam, 1977). Cheng và cộng sự, (1991) đã sử dụng kính hiển vi điện tử quan sát thấy có sự hình thành các đám vi khuẩn lớn bám trên các hạt thức ăn ở dạ cỏ. Ở cùng mức chất khô ăn vào và cùng nồng

độ NH_3 dạ cỏ, số lượng vi khuẩn trong dạ cỏ của những gia súc ăn rơm xử lý amoniac lớn hơn những gia súc ăn rơm không xử lý (Silva và Orskov, 1984).

Các nấm kỵ khí chỉ mới được phân lập từ dịch dạ cỏ trong khoảng vài chục năm gần đây, mặc dù khả năng xâm nhập vào tế bào thực vật của chúng không bằng vi khuẩn, nhưng các sợi nấm bám sâu vào mô bào thực vật, phá huỷ các mô bào tạo điều kiện cho vi khuẩn phân huỷ thành tế bào. Do đó, nấm cũng có vai trò quan trọng trong việc tiêu hoá xơ (Bauchop, 1981).

Số lượng protozoa có thể đạt trên $10^6/\text{ml}$ dịch dạ cỏ ở gia súc ăn thức ăn nhiều xơ và có thể chiếm trên 40% tổng lượng sinh khối vi sinh vật trong dịch dạ cỏ. Trái lại ở khẩu phần có nhiều tinh bột và đường thì mật độ protozoa chỉ đạt $4 \times 10^6/\text{ml}$ dịch dạ cỏ. Tuy nhiên, số lượng protozoa nhiều hơn yêu cầu cho hoạt động bình thường của dạ cỏ vẫn còn là điều bí ẩn (Van Soest, 1982). Người ta đã xác định rằng nhiều loại protozoa có hoạt tính phân giải xenluloza và chiếm một tỷ lệ nhất định trong tiêu hoá xơ ở dạ cỏ (Coleman, 1988; Demeyer, 1988). Phần chất hữu cơ của xác chết protozoa được tiêu hoá ngay trong dạ cỏ, tuy nhiên, phần protein của chúng đi xuống dạ múi khế rất nhỏ so với tổng protein vi sinh vật (Leng, 1982b). Điều rõ ràng là protozoa ăn vi khuẩn theo kiểu thực bào làm giảm sinh khối của vi khuẩn và có thể cả nấm trong dạ cỏ (Coleman, 1986). Do đó ở những gia súc ăn khẩu phần có hàm lượng xơ cao có thể làm giảm tỷ lệ tiêu hoá những khẩu phần như đã được quan sát thấy trên cừu ăn rơm lúa mì không xử lý và rơm lúa mì xử lý (Romulo, 1986). Hơn nữa việc protozoa ăn vi khuẩn làm giảm lượng protein vi sinh vật trôi xuống ruột, do đó loại bỏ protozoa có thể làm tăng khả năng sản xuất của gia súc nhai lại khi cho ăn rơm (Bird và Leng, 1985). Tóm lại vai trò của protozoa đối với tiêu hoá chất xơ vẫn còn có những ý kiến chưa thống nhất, nó có mặt tích cực là xúc tiến tiêu hoá chất xơ nhưng lại có mặt tiêu cực là ngăn cản và hạn chế sự phát triển của hệ vi khuẩn dạ cỏ.

1.2.2. Quá trình lên men trong dạ cỏ

Quá trình lên men tiêu hoá thức ăn trong dạ cỏ là một phức hợp và liên quan đến tác động qua lại của các quá trình lý học, sinh học và hoá học, chúng phụ thuộc vào vật chủ, loại thức ăn và hệ vi sinh vật dạ cỏ.

Sản phẩm cuối cùng của quá trình lên men thức ăn bao gồm: xác vi sinh vật, axit béo bay hơi (VFA), CO_2 , CH_4 và NH_3 . Phân tử mang năng lượng (ATP) được tạo ra trong quá trình lên men bị thủy phân, cung cấp năng lượng cho quá trình tổng hợp tế bào vi sinh vật từ các chất trao đổi trung gian và từ các cơ chất có trong dịch dạ cỏ (ví dụ như NH_3 , các axit amin, các axit béo bay hơi, CO_2 , S, các vitamin...). Chất dinh dưỡng cung cấp cho những gia súc ăn khẩu phần có rơm hoặc thức ăn giàu xơ là các axit béo bay hơi và các thành phần có thể tiêu hoá được của các tế bào vi sinh vật (thường là các axit amin).

Đặc điểm của tiêu hoá yếm khí trong dạ cỏ tuân theo những qui luật nghiêm ngặt của các phản ứng hoá học, sự thay đổi về số lượng của bất cứ sản phẩm nào cũng sẽ làm thay đổi cân bằng của các sản phẩm khác. Tăng tổng hợp tế bào vi sinh vật lên do những chất hữu cơ nào đó sẽ làm giảm các sản phẩm khác như các axit béo bay hơi, CO_2 , CH_4 và nhiệt (Leng, 1982a). Một lượng lớn khí mêtan (CH_4) thoát ra trong quá trình ợ hơi, trong khi khí CO_2 bị mất đi trong quá trình hấp thụ đi xuống đường tiêu hoá phía dưới và ợ hơi.

1.2.3. Quá trình tiêu hóa thành tế bào thực vật của vi sinh vật dạ cỏ

1.2.3.1. Vi sinh vật dạ cỏ liên quan đến phân giải thành tế bào thực vật

Thành tế bào thực vật bị một số loại vi khuẩn, nấm và động vật nguyên sinh phân hủy (Bảng 1.1), các vi khuẩn và nấm đóng góp khoảng 80% hoạt động phân giải và 20% là từ động vật nguyên sinh (Dijkstra và Tamminga, 1995). Các chủng vi sinh vật phân giải xơ như *Fibrobacter succinogenes*, *flavefaciens Ruminococcus* và *Ruminococcus albus* là sinh vật chủ yếu tham gia quá trình phân giải thành tế bào thực vật trong dạ cỏ (Cheng và cộng sự.,

1991; Forsberg và Cheng, 1992).

Nấm trong dạ cỏ sản sinh các loại enzyme và phân giải các cơ chất trên phạm vi rộng hơn so với các vi khuẩn dạ cỏ (Wubah và cộng sự., 1993). Hơn nữa, nấm trong dạ cỏ có thể phân huỷ các cấu trúc polyme vững chắc của thành tế bào thực vật và xenlulaza và xylanases được chúng sản sinh nằm trong số những enzyme phân giải xơ được biết đến nhiều nhất (Forsberg và Cheng, 1992; Trinci và cộng sự., 1994; Gilbert và cộng sự., 1992). Ngoài ra, nấm còn có khả năng đặc biệt trong việc xâm nhập vào lớp biểu bì ở bề mặt tế bào thực vật và thành tế bào các mô bị lignin hóa (Akin, 1989).

Bảng 1.1. Các vi sinh vật dạ cỏ và hoạt tính enzyme của chúng liên quan tới phân giải thành tế bào thực vật trong dạ cỏ (Dehority, 1993)

Vi sinh vật	Hoạt tính phân giải		
	Cellulolytic	Hemicellulolytic	Pectinolytic
Vi khuẩn			
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	+	+	+
<i>Ruminococcus albus</i>	+	+	+
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	+	+	+
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	+	+	+
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	+		+
<i>Clostridium longisporum</i>	+		
<i>Clostridium locheadii</i>		+	+
<i>Prevotella ruminantium</i>		+	+
<i>Eubacterium xylanophilum</i>		+	
<i>Ruminobacter amylophilus</i>		+	
<i>Succinimonas amylolytica</i>		+	
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>		+	
<i>Selenomonas ruminantium</i>		+	
<i>Selenomonas lactilytica</i>		+	
<i>Lachnospira multiparus</i>		+	+
<i>Streptococcus bovis</i>		+	+
<i>Megasphaera elsdenii</i>		+	
Động vật nguyên sinh			
<i>Eudiplodinium maggii</i>	+	+	+

Vi sinh vật	Hoạt tính phân giải		
	<i>Cellulolytic</i>	<i>Hemicellulolytic</i>	<i>Pectinolytic</i>
<i>Ostracodinium dilobum</i>	+	+	+
<i>Epidinium caudatum</i>	+	+	
<i>Metadinium affine</i>	+	+	+
<i>Eudiplodinium bovis</i>	+	+	+
<i>Orphryoscolex caudatus</i>	+	+	+
<i>Polyplastron multivesiculatum</i>	+	+	+
<i>Diplodinium pentacanthum</i>	+		
<i>Endoploplastron triloricaum</i>	+		
<i>Orphryoscolex tricornatus</i>	+		
<i>Ostracodinium gracile</i>	+		
<i>Entodinium caudatum</i>	+	+	
<i>Isotricha intestinalis</i>	+	+	+
<i>Isotricha prostoma</i>	+	+	+
Nấm			
<i>Neocallimastix frontalis</i>	+	+	+
<i>Neocallimastix patriciarum</i>	+	+	+
<i>Neocallimastix joyonii</i>	+	+	
<i>Caecomyces communis</i>	+	+	+
<i>Piromyces communis</i>	+	+	+
<i>Orpinomyces bovis</i>	+	+	
<i>Ruminomyces elegans</i>	+	+	

Các hoạt động của động vật nguyên sinh trong dạ cỏ đóng góp đáng kể vào quá trình tiêu hóa các polyme thành tế bào thực vật, sự vắng mặt của chúng ở dạ cỏ có thể gây ảnh hưởng tiêu cực đến mức độ phân giải xơ (Coleman, 1986; Bonhomme, 1990; Williams và Coleman, 1988). Hầu hết các enzyme phân giải xơ được phát hiện có trong quần thể động vật nguyên sinh trong dạ cỏ, nhưng do những khó khăn trong việc cấy, do đó các nghiên cứu về hệ thống enzyme này còn gặp nhiều trở ngại.

1.2.3.2. Sản sinh hệ enzyme hoàn chỉnh

Quá trình thành tế bào thực vật bị phân giải trong dạ cỏ là kết quả của sự tương tác phối hợp phức tạp giữa các nhóm vi sinh vật sản sinh các loại enzyme

khác nhau và loại thức ăn có trong dạ cỏ. Việc thủy phân các cơ chất có cấu trúc vững chắc phải nhờ đến nhiều loại vi sinh vật trong dạ cỏ vì chúng có thể sản sinh ra nhiều loại enzyme và mỗi loại có đặc điểm riêng (Bảng 1.2).

Bảng 1.2. Các hoạt tính enzyme chủ yếu cần thiết cho quá trình thủy phân các polyme thành tế bào thực vật hiện diện trong dạ cỏ

Cơ chất polymer	Thủy phân liên kết	Emzym tác động thủy phân
Cellulose	β -1,4-glucose	Endo- β -1,4-glucanase
Cellulose (non-reducing end)	β -1,4-glucose	Exo- β -1,4-glucanase
Cellobiose	β -1,4-glucose	β -1,4-Glucosidase
Soluble cellooligomers	β -1,4-glucose	Cellulodextrinase
Cellulose or xylan	β -1,4-glucose hoặc xylose	Xylocellulase
Xylan	β -1,4-xylose	Endo- β -1,4-xylanase
Xylobiose	β -1,4-xylose	β -1,4-Xylosidase
Arabinoxylan	α -1,3-	α -L-Arabinofuranosidase
Glucuronoxylan	α -1,3 or α -1,2	α -Glucuronidase
Acetylxylan	Acetylester	O-Acetyl xylan esterase
Cầu nối với Ferulic acid hoặc liên kết với	Feruloylester	Ferulic acid esterase
<i>p</i> -Coumaric acid	<i>p</i> -Coumaryl ester liên kết hoặc cầu nối	<i>p</i> -Coumaric acid esterase
Laminarin	β -1,3-glucanase	β -1,3-hexose linkage
Lichenin	β -1,3- và β -1,4- hexose linkages	Liên kết β -1,3- β -1,4-glucanase
Polygalacturan	α -1,4-Galacturonide	Pectate lyase
Pectin	α -1,4-Galacturonide	Pectin lyase
Pectin	Methylester	Pectin methylesterase

Các enzyme tồn tại trong dạ cỏ rất đa dạng về hoạt tính, bao gồm các enzyme phân giải polyme thành tế bào thực vật (ví dụ, cellulases, xylanases, β -glucanases, pectinaza), phân giải tinh bột (amylases), phân giải protein (protease), phân giải phức chất chứa gốc photpho (phytases) và cả những men phân giải độc tố có trong thực vật (ví dụ, tannases). Sự đa dạng của các enzyme

trong dạ cỏ không chỉ xuất phát từ sự đa dạng của hệ vi sinh vật, mà còn từ sự đa dạng của các loại enzyme phân giải xơ do từng loại vi sinh vật sản sinh (Doerner và White, 1990; Malburg và Forsberg, 1993; Flint và cộng sự., 1994; Ali và cộng sự., 1995; Yanke và cộng sự., 1995).

1.2.3.3. Vi sinh vật bám dính và xâm nhập vào các tiểu phần thức ăn

Vi khuẩn dạ cỏ tiêu hóa thức ăn nhờ các hoạt tính của các enzyme do chúng sản sinh ra. Có mối tương quan giữa các enzyme và các cơ chất cần thiết trong thức ăn để cho quá trình thủy phân xảy ra. Dạ cỏ chứa một hỗn hợp không đồng nhất bao gồm phần dịch lỏng và các tiểu phần rắn. Polysaccharide – enzyme tiết ra ở dạng chất lỏng có thể sớm bị phân giải hoặc bị cuốn trôi khỏi dạ cỏ trước khi tiếp xúc với các cơ chất. Rõ ràng, việc vi sinh vật bám chặt vào các hạt thức ăn là cách hiệu quả nhất để vi khuẩn có thể kéo dài thời gian lưu lại trong dạ cỏ và tạo điều kiện để các enzyme do chúng tiết ra tiếp xúc với bề mặt các tiểu phần thức ăn. Quá trình bám dính là rất cần thiết cho tiêu hóa các loại thức ăn thô xanh và các loại hạt ngũ cốc trong dạ cỏ một cách hiệu quả (McAllister và cộng sự., 1994; McAllister và Cheng, 1996).

1.2.3.4. Tương tác giữa các vi sinh vật trong dạ cỏ

Mặc dù một số vi sinh vật dạ cỏ sản sinh enzyme cùng với các hoạt tính có thể thủy phân một số hợp chất của vách tế bào nhưng để phân giải hoàn toàn các polyme trong thành tế bào thực vật đòi hỏi phải có sự tham gia của hàng loạt các enzyme thủy phân có thể phản ứng đồng thời cùng một lúc và mang tính hệ thống. Việc tăng các hoạt tính của enzyme thủy phân thành tế bào trong dạ cỏ đòi hỏi tính đa dạng của vi sinh vật dạ cỏ để sản sinh ra hệ các enzyme đặc trưng, mỗi enzyme có khả năng cắt các mối liên kết nhất định nằm trong thành tế bào thức ăn.

Tương tác các hoạt tính của enzyme là bằng chứng về hoạt động của hệ vi sinh vật dạ cỏ để tiêu hóa thành tế bào thực vật một cách hiệu quả. Chúng

bao gồm cả việc tăng quá trình tổng hợp xylanase, cellulase, tăng tỷ lệ và mức độ tiêu hóa cellulose (Joblin và cộng sự., 1990; Teunissen và cộng sự., 1992; Bauchop và Mountfort, 1981; Mountfort và cộng sự., 1982).

1.3. CHẾ PHẨM SINH HỌC DÙNG CHO GIA SÚC NHAI LẠI

1.3.1. Các chủng vi sinh vật được sử dụng làm probiotic

Các vi sinh vật chủ yếu được nghiên cứu và sử dụng làm chế phẩm sinh học (probiotic) dùng cho gia súc vật nhai lại bao gồm những vi sinh vật có nguồn gốc từ *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Bifidobacterium species*, *Propionibacterium*, *E.coli* Nissle 1917, *Megasphaera elsdenii* và *Prevotella bryantii* (Kruis và cộng sự., 2004; Seo và cộng sự., 2010). Các chủng vi khuẩn sản xuất probiotic có thể được phân loại như sau: nhóm vi khuẩn sản xuất axit lactic (LAB) và nhóm vi khuẩn sử dụng axit lactic (LUB). Sản xuất và sử dụng axit lactic trong dạ cỏ liên quan đến hiệu quả sử dụng thức ăn và sức khỏe vật nuôi. Nấm men và các chế phẩm sinh học từ nấm như *Saccharomyces* và *Asperillus* cho kết quả tốt hơn ở gia súc nhai lại trưởng thành (Fuller, 1999; Seo và cộng sự., 2010). Sự kết hợp của các chủng probiotic có thể làm tăng tác dụng có lợi cho sức khỏe hơn so với sử dụng các chủng riêng lẻ, vì chúng tạo hiệu ứng kết dính tổng hợp (Collado và cộng sự., 2007).

1.3.2. Cơ chế hoạt động của probiotic

Một số cơ chế hoạt động của probiotic được đề xuất khi bổ sung vào khẩu phần ăn nuôi dưỡng gia súc đó là:

(i) Sản sinh nhiều loại chất kháng khuẩn và các chất ức chế chuyển hóa như axit hữu cơ, vi khuẩn, diacetyl, kháng sinh và H₂O₂ (Hydrogen Peroxide) (Vandenbergh, 1993; Rolfe, 2002);

(ii) Cạnh tranh với mầm bệnh ở các vị trí bám dính hoặc nguồn dinh dưỡng (Guillot, 2003). Sự hiện diện của một số vi khuẩn trong đường ruột phụ thuộc

vào khả năng bám dính vào biểu mô ruột của chúng, do đó chúng trở nên bất động trên thành ruột và chống lại việc bị đẩy ra ngoài khi ruột nhu động, cũng như chiếm một vị trí thích hợp làm giảm khả năng của sinh vật gây hại (Fuller, 1992; Fooks và Gibson, 2002);

(iii) Sản sinh các chất dinh dưỡng (ví dụ như các axit amin, vitamin) hoặc các yếu tố sinh trưởng khác có tác dụng kích thích các vi sinh vật khác trong đường tiêu hóa và vật chủ;

(iv) Điều hòa miễn dịch của vật chủ (Isolauri và cộng sự., 2001);

(v) Sản xuất và kích thích các enzym;

(vi) Chuyển hóa và giải độc các hợp chất hoặc cơ chất bất lợi cho vật chủ.

Có sự khác biệt rõ rệt giữa các nhóm lợi khuẩn là các đặc tính và cơ chế hoạt động của chúng. Vi khuẩn sản xuất axit lactic (LAB) (ví dụ như *Lactobacilli* và *Enterococci*) cung cấp nguồn axit lactic một cách liên tục trong dạ cỏ, giúp hệ vi sinh vật thích nghi với sự tích tụ axit lactic, kích thích vi khuẩn sử dụng lactate (LUB) và ổn định độ pH dạ cỏ của động vật nhai lại (Yoon và Stern, 1995; Seo và cộng sự., 2010). Trong khi đó, LUB (ví dụ *M. elsdenii*) được sử dụng để làm giảm nồng độ lactate bằng cách chuyển đổi sản phẩm lên men thành axit béo dễ bay hơi (VFA) và duy trì độ pH dạ cỏ khi gia súc nhai lại ăn khẩu phần chứa nhiều chất lên men (Kung và Hession, 1995). Vi khuẩn *Propionibacteria* lên men lactate thành propionate, làm tăng sản xuất propionat trong dạ cỏ, kết quả là làm tăng lượng glucose sản sinh, cung cấp nhiều cơ chất hơn để tổng hợp lactose, cải thiện quá trình sử dụng năng lượng và giảm ketosis (Stein và cộng sự., 2006; Weiss và cộng sự., 2008).

Các chủng vi khuẩn *E. coli* sản sinh độc tố khi bám vào tế bào biểu mô ruột và chất nhầy gây bệnh tiêu chảy. Lee và cộng sự. (2003) đã phát hiện ra rằng vi khuẩn *L. rhamnosus* GG có thể bám dính vào tế bào biểu mô để hoạt động tương tác kỵ nước và hạn chế mầm bệnh bám vào các thụ thể của tế bào

ruột. Lactate do LAB sản xuất cũng có vai trò quan trọng trong việc thâm nhập vào tế bào vi sinh vật và can thiệp vào chức năng thiết yếu của tế bào để làm giảm độ pH nội bào (Holzapfel và cộng sự., 1995). Oxy già (H_2O_2) được LAB tạo ra có thể oxy hóa các nhóm sulfhydryl của protein và màng lipid của tế bào vi khuẩn, do đó ngăn chặn được quá trình chuyển hóa vật chất và năng lượng (glycolysis) vì quá trình oxy hóa các nhóm sulfhydryl có trong các enzym. Các chủng LAB khác nhau cũng kích hoạt các đại thực bào để tạo ra các cytokine có vai trò kích thích phản ứng miễn dịch (Dicks và Botes, 2010; Carlsson và cộng sự., 1983). Holzapfel và cộng sự. (1995) cho rằng LAB tạo ra H_2O_2 , chất này ức chế hiệu quả chủng *S. aureus* và *Pseudomonas spp.*

Bổ sung nấm men vào khẩu phần nuôi dưỡng đã tạo ra những tác động có lợi cho vi sinh vật phát triển từ đó làm tăng số lượng vi khuẩn trong dạ cỏ. Nấm men có tác dụng loại bỏ oxy (O_2) trong dạ cỏ, các tế bào nấm men trong dạ cỏ sử dụng oxy có sẵn trên bề mặt của thức ăn tươi vừa ăn vào để duy trì các hoạt động trao đổi chất (Newbold và cộng sự., 1996). Điều này đã tạo ra những điều kiện tốt hơn cho các chủng vi khuẩn kỵ khí phân giải xenlulo phát triển, kích thích sự gắn kết giữa chúng với các hạt thức ăn thô xanh và làm tăng tốc độ phân giải xenlulo (Seo và cộng sự., 2010). Ngoài ra, *Saccharomyces cerevisiae* có thể cạnh tranh với các vi khuẩn sử dụng tinh bột khác để lên men tinh bột, từ đó ngăn chặn sự tích tụ lactate trong dạ cỏ và nâng cao khả năng cung cấp các yếu tố giúp sinh trưởng như axit hữu cơ hoặc vitamin, do đó kích thích các quần thể vi khuẩn phân giải xenlulo và LUB ở gia súc nhai lại phát triển (Lynch và Martin, 2002; Chaucheyras và cộng sự., 1995). Kết quả là chúng có thể cải thiện các sản phẩm cuối cùng của quá trình lên men dạ cỏ của gia súc nhai lại như: các axit béo bay hơi (VFA), protein vi sinh vật dạ cỏ, theo đó làm tăng khả năng tiêu hóa thức ăn và giảm lượng axit lactic dư thừa trong dạ cỏ.

1.3.3. Ảnh hưởng của probiotic đến khả năng sản xuất và sức khỏe của gia súc nhai lại

1.3.3.1. Khả năng thu nhận các chất dinh dưỡng

Gia súc thu nhận càng nhiều thức ăn mỗi ngày thì cơ hội tăng khả năng sản xuất hàng ngày của chúng càng lớn. Bổ sung probiotic đã được phát hiện để tăng lượng thức ăn ăn vào và tạo ra ảnh hưởng tích cực đến năng suất của gia súc nhai lại (Chiofalo và cộng sự., 2004; Antunovic và cộng sự., 2006; Desnoyers và cộng sự., 2009). Lý do cho việc tăng lượng thức ăn ăn vào và khả năng sản xuất là do bổ sung probiotic trong khẩu phần đã tăng cường hoạt động của vi khuẩn phân giải xenlulo trong dạ cỏ và tác động tích cực đến độ pH của dạ cỏ, theo đó cải thiện quá trình phân giải xơ và lượng chất khô ăn vào (Wallace và Newbold, 1993; Umberger và Notter, 1989). Ví dụ, chủng *Lactobacillus plantarum* có tác dụng cắt mạch liên kết của một số carbohydrate thành các cơ chất đơn giản hơn như glucose để cung cấp năng lượng, trong khi đó chủng *Aspergillus oryzae* giúp sản xuất các enzym tham gia vào quá trình tiêu hóa carbohydrate, chất xơ và cải thiện khả năng sản xuất của động vật (Khalid và cộng sự., 2011). Tăng khả năng sản xuất thường liên quan đến yếu tố gia tăng lượng thức ăn ăn vào (Fiems, 1994).

1.3.3.2. Khả năng tiêu hóa các chất dinh dưỡng

Khả năng sản xuất gia súc nhai lại cải thiện có mối liên hệ chặt chẽ với cải thiện khả năng tiêu hóa các chất dinh dưỡng. Chế phẩm sinh học (probiotic) dùng cho động vật nhai lại chủ yếu được lựa chọn để cải thiện mức độ tiêu hóa các loại thức ăn khác nhau ở động vật nhai lại thông qua làm tăng độ pH trong dạ cỏ, tiêu hóa chất xơ và tổng hợp protein vi sinh vật (Mohamed và cộng sự., 2009; El-Waziry và Ibrahim, 2007; Uyeno và cộng sự., 2015). Probiotic tăng cường sự phát triển và/hoặc các hoạt động phân giải xơ của vi khuẩn dạ cỏ đồng thời ngăn ngừa toan hóa dạ cỏ bằng cách giúp cân bằng tỷ lệ các axit béo bay

hoi (VFA) trong dạ cỏ (Arcos-Garcia và cộng sự., 2000). Khi bổ sung canh trường nuôi cấy nấm men vào khẩu phần ăn nuôi cừu Awassi cho thấy kết quả về tỷ lệ tiêu hóa chất khô, chất hữu cơ, tỷ lệ tiêu hóa biểu kiến protein thô và NDF cao hơn so với đối chứng (Haddad và Goussous, 2005). Whitley và cộng sự. (2009) cũng báo cáo khả năng tiêu hóa DM, CP, NDF và ADF được cải thiện rõ ràng ở dê thịt nuôi khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học so với nhóm đối chứng. Abd ElGhani (2004) quan sát thấy rằng, khi cho cừu đực ăn khẩu phần bổ sung canh trường nấm men thì khả năng tiêu hóa các chất dinh dưỡng cao hơn so với cừu ăn thức ăn tinh và thức ăn thô. Tác động tích cực và phương thức hoạt động của các sản phẩm nấm men thường được coi là liên quan đến những thay đổi về tốc độ và mô hình lên men trong dạ cỏ. Hoạt tính của một số chủng nấm men khô đặc biệt hiệu quả trong việc nâng cao và ổn định pH của động vật nhai lại bằng cách kích thích quần thể động vật nguyên sinh, chúng hấp thu tinh bột nhanh chóng, do đó tăng mức độ cạnh tranh với vi khuẩn sản xuất amylolytic lactate (Throne và cộng sự., 2009; Nocek và Kautz, 2006). Môi trường dạ cỏ ít bị axit hơn và có lợi cho sự phát triển và các hoạt động của vi sinh vật phân giải xenlulo (Mosoni và cộng sự., 2007). Nấm men cũng có khả năng làm thay đổi quá trình lên men trong dạ cỏ bằng cách làm giảm sự hình thành khí mêtan (CH_4) (Chung và cộng sự., 2011).

Bổ sung kết hợp chủng vi sinh vật *L. acidophilus* NP51 và *P. freudenreichii* NP24 đã cải thiện khả năng tiêu hóa protein thô, NDF và ADF của bò Holstein đang vắt sữa, kết quả là làm tăng 7,6% năng suất sữa trung bình hàng ngày trong khi đó lượng vật chất khô ăn vào (DMI) không tăng, điều này gợi ý rằng việc bổ sung đã làm thay đổi hệ sinh thái vi sinh vật dạ cỏ. Tương tự như khi bổ sung chế phẩm sinh học chứa 2 chủng vi sinh vật là *Enterococcus faecium* và nấm men tương ứng với mức 5×10^9 cfu và 2×10^9 /con/ngày vào thức ăn nuôi bò sữa mang thai 21 ngày đến sau khi đẻ 10 tuần, kết quả là năng suất

sữa của bò tăng 2,3 kg/con/ngày nhưng không thấy sai khác về tỷ lệ mỡ sữa hiệu chỉnh 3.5% (Boyd và cộng sự., 2011). Điều này cho thấy các chủng vi sinh vật *E. faecium* đã sản sinh axit lactic hỗ trợ quần thể vi sinh vật dạ cỏ tiêu hóa thức ăn thô (ví dụ như cây ngô ủ chua, cỏ khô) trong khẩu phần đồng thời làm tăng vật chất khô thu nhận (DMI) (Nocek và Kautz, 2006). Ngược lại, theo Hristov và cộng sự. (2010) không thấy có sự cải thiện về khả năng tiêu hóa khẩu phần cơ sở là cây ngô ủ chua khi bổ sung nấm men *S.cerevisiae* nuôi bò cái Holstein. Mặc dù bổ sung nấm men là tăng quá trình tổng hợp protein vi sinh vật, không thấy có sai khác rõ rệt của các chỉ tiêu DMI, năng suất và chất lượng sữa.

Trên cơ sở phân tích dữ liệu lớn các bài báo khoa học đề cập đến ảnh hưởng của chế phẩm sinh học chứa nấm men đến các loài gia súc nhai lại sản xuất thịt và sữa, Desnoyers và cộng sự. (2009) thấy rằng, mức độ đáp ứng của gia súc biến động lớn, nhưng tổng giá thì giá trị về lượng vật chất khô ăn thức ăn vào tăng trung bình là 0,44 g/kg khối lượng cơ thể và tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ tăng 0,8%. Như vậy, cải thiện khả năng tiêu hóa thức ăn của vi sinh vật có thể là do nhờ enzyme của chế phẩm sinh học bổ sung hoặc thay đổi cơ chế hoạt động của hệ vi sinh vật dạ cỏ theo hướng có lợi trong tiêu hóa thức ăn cho vật chủ.

Do đó, người ta kết luận rằng việc bổ sung probiotic vào khẩu phần nuôi dưỡng có thể giúp cải thiện khả năng tiêu hóa các chất dinh dưỡng.

1.3.3.3. Cải thiện tốc độ sinh trưởng

Chế phẩm sinh học (probiotic) có thể giúp tăng khối khối lượng cơ thể gia súc nhai lại. Các chủng probiotic được sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp đã cải thiện đáng kể lượng thức ăn thu nhận, tỷ lệ chuyển hóa thức ăn, tăng trọng hàng ngày và khối lượng cơ thể cừu, dê và gia súc (Casey và cộng sự., 2007; Stein và cộng sự., 2006) (Bảng 1.3). Chế phẩm sinh học cải thiện hệ sinh thái vi sinh vật, tổng hợp và hấp thu chất dinh dưỡng, giúp ổn định độ pH và lactate (muối

hoặc ét-xte của axit lactic) ở gia súc nhai lại từ đó làm khả năng tăng khối lượng gia súc cao hơn (Musa và cộng sự., 2009; Mountzouris và cộng sự., 2007; Oyetayo và Oyetayo, 2005). Bổ sung probiotic cho cừu làm tăng khối lượng, việc tăng khối lượng cao hơn so với đối chứng có thể là do quá trình tổng hợp protein của vi sinh vật được cải thiện dẫn đến cung cấp nhiều axit amin cho đường ruột hơn hoặc nó có thể liên quan đến tăng lượng thức ăn thu nhận và hiệu quả sử dụng thức ăn tốt hơn thấy ở nhóm bổ sung trong chế phẩm sinh học (Jang và cộng sự., 2009; Erasmus và cộng sự., 1992; Antunovic và cộng sự., 2006). Tăng khối lượng cao hơn ở gia súc nhai lại cũng có thể là do tăng cường hoạt động phân giải xenluloza theo đó cải thiện quá trình phân giải chất xơ do làm giảm hoạt động của các vi sinh vật sản xuất amoniac dẫn đến lượng protein sẵn có được hấp thụ ở đường ruột nhiều hơn (Russell và Wilson, 1996). Bò được nuôi dưỡng bằng khẩu phần bổ sung chủng *Bacillus licheniformis* và *Bacillus subtilis* cho kết quả tăng khối lượng trung bình hàng ngày và tăng khối lượng kết thúc cao hơn so với đối chứng (Kowalski và cộng sự., 2009). Fiems (1994) cũng báo cáo rằng việc bổ sung *S. cerevisiae* vào khẩu phần đã làm tăng 9,5% và 7,8% khối lượng cơ thể bê và bò giai đoạn sinh trưởng, điều này thường liên quan đến việc tăng lượng thức ăn thu nhận.

Tương tự về việc cải thiện khả năng sinh trưởng cũng thấy ở bò tơ HF được nuôi bằng khẩu phần bổ sung *S. cerevisiae* (Ghazanfar và cộng sự., 2015). Bổ sung chủng vi khuẩn *B.amyloliquefaciens* H57 vào khẩu phần chứa dầu cọ nuôi cừu White Dorper mang thai đã làm tăng lượng vật chất khô thu nhận, tăng khối lượng bình quân giai đoạn mang thai và khả năng sản xuất đầu chu kỳ sữa (Le và cộng sự., 2014; McNeill và cộng sự., 2016). Đối với bê hướng sữa, bổ sung chủng *B.amyloliquefaciens* mức $3,16 \times 10^8$ cfu/kg chất khô thức ăn nuôi từ 4 – 12 tuần cho kết quả tốc độ sinh trưởng tăng 39% (551 so với 767 g/day), hiệu quả sử dụng thức ăn tăng 14% (2,5 so với 2,9 kg sữa + DM

thức ăn tập ăn cho bê/kg tăng khối lượng) (Le và cộng sự., 2016). Bổ sung vào khẩu phần nuôi bê Holstein chủng vi khuẩn *P. jensenii* 702 phân lập ở Australia đã cho kết quả làm tăng khối lượng ở giai đoạn trước cai sữa và giai đoạn sau cai sữa tương ứng là 25% và 50% (Adams và cộng sự., 2008).

Frizzo và cộng sự. (2011), phân tích số liệu lớn của 21 báo cáo từ năm 1985 – 2010, khi so sánh chế phẩm sinh học chứa vi khuẩn sinh axit lactic với chế phẩm sinh học vi khuẩn không sinh axit lactic *L.acidophilus*, *L.plantarum*, *L.salivarius*, *E.faecium*, *L. casei/paracasei* hoặc *Bifidobacterium* spp., bổ sung vào sữa nuôi bê đã làm tăng khối lượng cơ thể (dao động từ 0,10 – 0,46 kg) và giảm tiêu tốn thức ăn (dao động từ -1,2 – 0,41 kg) so với bê đối chứng.

1.3.3.4. Năng suất và chất lượng sữa

Đối với gia súc cho sữa, bổ sung probiotics tạo ra những tác động có lợi đến năng suất sữa, hàm lượng chất béo và protein trong sữa (Kritas và cộng sự., 2006) (Bảng 1.3). Theo báo cáo Fiems (1994) việc bổ sung *S. cerevisiae* vào khẩu phần nuôi bò đang vắt sữa làm tăng 3,9% năng suất sữa. Tổng kết 8 thí nghiệm bổ sung *A.oryzae* và nấm men trên bò đang khai thác sữa cho thấy, việc bổ sung đã làm tăng năng suất sữa trung bình tương ứng là 4,3% và 5,1% (Williams và Newbold, 1990). Wallace và Newbold (1993) đã tổng kết 19 kết quả từ các nghiên cứu bổ sung nấm men vào khẩu phần nuôi bò sữa ở các giai đoạn cho sữa khác nhau cho thấy năng suất sữa tăng từ 6,8 – 17,4 % tùy giai đoạn cho sữa. Việc tăng năng suất sữa, tỷ lệ chất rắn không mỡ và protein sữa ở bò sữa liên quan đến số lượng vi khuẩn phân giải xenluloza, phân giải chất xơ và thay đổi axit béo dễ bay hơi trong dạ cỏ (Martin và Nisbet, 1990). GomezBasauri và cộng sự. (2001) đã quan sát thấy năng suất sữa tăng khi cho bò ăn hỗn hợp các chủng vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* và *Enterococcus faecium*. Nghiên cứu của Stein và cộng sự. (2006) cũng cho thấy năng suất sữa tiêu chuẩn (FCM) tăng 8,5% ở bò ăn khẩu phần bổ sung

6×10^{10} *Propionibacterium*/ngày trong thời từ 2 tuần trước khi đẻ đến 30 tuần sau sinh (Bảng 1.3). Nocek và Kautz, (2006) quan sát thấy lượng chất khô ăn vào và năng suất sữa tăng lên tương ứng là 2,6 kg/ngày và 2,3 kg/ngày khi bò sữa ăn khẩu phần bổ sung 5×10^9 chủng *faecium* và 2×10^9 chủng nấm men *S. cerevisiae*/con/ngày. Theo Lehloenya và cộng sự. (2007), khi cho bò sữa ăn khẩu phần bổ sung hỗn hợp nấm men và vi khuẩn *Propioni bacterium* từ 2 tuần trước khi đẻ đến 30 tuần sau khi sinh đã làm năng suất sữa tăng 9%. Tuy nhiên, theo Putnam và cộng sự. (1997) năng suất sữa của bò sữa chỉ tăng lên khi bổ sung nấm men đối với khẩu phần có hàm lượng protein thấp.

Nghiên cứu của Weiss và cộng sự. (2008) cho thấy, khi bổ sung chủng *Propionibacterium* P169 vào khẩu phần, không thấy sai khác rõ rệt về năng suất sữa của bò so với đối chứng, nhưng làm giảm tiêu tốn thức ăn và tăng 4,4% hiệu quả sử dụng năng lượng của khẩu phần. Bổ sung kết hợp chủng *L. acidophilus* NP51 và *P. freudenreichii* NP24 (4×10^9 cfu/con/ngày) vào khẩu phần đã làm tăng trung bình 7,6% năng suất sữa ở bò Holstein (Boyd và cộng sự., 2011). Dê Saanen ăn khẩu phần bổ sung *S.cerevisiae* liều lượng 4×10^9 cfu/con/ngày có năng suất sữa trung bình hàng ngày cao hơn 14% so với đối chứng (Stella và cộng sự., 2007).

Desnoyers và cộng sự. (2009) đã xem xét và phân tích dữ liệu dữ liệu lớn từ 110 bài báo, 157 thí nghiệm và 376 mức bổ sung, nghiên cứu ảnh hưởng của nấm men (bao gồm ít nhất có chủng *S. cerevisiae*) bổ sung vào khẩu phần nuôi bò, dê, cừu và trâu đến lượng thức ăn thu nhận, năng suất sữa và quá trình lên men dạ cỏ. Kết quả cho thấy, bổ sung chế phẩm sinh học nấm men sống đã làm tăng 1,2 g sữa sản xuất/kg khối lượng cơ thể. Về tổng thể, việc bổ sung đã ảnh hưởng rõ rệt đến năng suất sữa, nhưng kết quả có phạm vi biến động lớn. Không thấy ảnh hưởng của bổ sung đến thành phần protein sữa. Kết quả phân tích dữ liệu lớn được Poppy và cộng sự. (2012) thực hiện cho thấy, các chế phẩm sinh

học thương mại chứa *S. cerevisiae* dùng bổ sung vào khẩu phần ăn đã làm năng suất sữa tăng 1,18 kg/ngày, mỡ sữa tiêu chuẩn 1,61 kg/ngày và năng lượng hiệu chỉnh sữa tiêu chuẩn 1,65 kg/ngày. Tương tự, bổ sung *S.cerevisiae* vào khẩu phần đã làm mỡ sữa và protein sữa tương ứng là 0,06 kg/ngày và 0,03 kg/ngày. Lượng vật chất khô ăn vào của bò đầu kỳ và cuối kỳ cho sữa tăng tương ứng là 0,62 và 0,78 kg/ngày. Tăng lượng thức ăn thu nhận cùng với việc cải thiện khả năng phân giải thức ăn của vi sinh vật có thể được cho là cơ chế hoạt động của chế phẩm sinh học cải thiện khả năng sản xuất của gia súc.

Bảng 1.3. Ảnh hưởng bổ sung trực tiếp một số chủng vi khuẩn (direct fed microbial) vào khẩu phần đến khả năng sản xuất của gia súc nhai lại

Vi sinh vật probiotics	Gia súc	Tác dụng	Tham khảo
<i>Multi-species probiotic</i>	Bê sinh trưởng	Cải thiện tăng khối lượng	Bayatkouhsar và cộng sự. (2013)
<i>Yeast culture</i>	Bò tơ Holstein	Cải thiện sức khỏe	Moya và cộng sự. (2009)
<i>Enterococcus faecium Yeast</i>	Bò cái	Tăng vật chất khô ăn vào, và tăng năng suất sữa 2,3 kg/con/ngày	Nocek và Kautz (2006)
<i>Enterococcus faecium Saccharomyces cerevisiae</i>	Bò cái	Lứa sữa thứ nhất sản xuất nhiều mỡ lứa sữa tiếp theo bò ít phải điều trị kháng sinh.	Oetzel và cộng sự. (2007)
<i>Prevotella bryantii</i>	Bò cái	Tăng tỷ lệ mỡ sữa, nồng độ axêtic, butyric, giảm lact-tic 2 – 3 ^h sau khi ăn	Chiquette và cộng sự. (2008)
<i>Propionibacterium strain P169</i>	Bò cái	Bò cái ăn P169 có nồng độ axetic thấp hơn, propionic và hiệu quả sử dụng năng lượng cao hơn.	Weiss và cộng sự. (2008)
<i>Propionibacterium strain P169 Yeast culture</i>	Bò cái	Bổ sung P169 có khuynh hướng tăng tỷ lệ propionic, tuy nhiên không ảnh hưởng đến khả năng tiêu hóa dạ cỏ, tổng hợp N của vi khuẩn	Lehloenya và cộng sự. (2008)

Vi sinh vật probiotics	Gia súc	Tác dụng	Tham khảo
		hoặc tốc độ thức ăn thoát qua.	
<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Bò Holstein	Năng suất và protein sữa tăng khi bổ sung <i>Bacilli</i> . <i>Bacillus licheniformis</i> tăng khả năng tiêu hóa dạ cỏ và hàm lượng VFA.	Qiao và cộng sự. (2009)
<i>Bacillus cereus</i> <i>Saccharomyces boulardii</i>	Cừu	Cả hai chủng làm tăng khả năng miễn dịch.	Roos và cộng sự. (2010)
<i>Lactobacillus spp.</i>	Bê	Giảm tiêu chảy	Beeman (1985)
	Bê	Cải thiện thức ăn ăn vào và tăng khối lượng	Lee và Botts (1988)
	Cừu	Giảm tỷ lệ chết	Umberger và cộng sự. (1989)
	Cừu	Cải thiện thức ăn ăn vào và tăng khối lượng	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Bê	Duy trì khối lượng ban đầu và kiểm soát giảm khối lượng đến 2 tuần tuổi.	Cruywagen và cộng sự. (1996)
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Bê	Cả hai chủng giúp tăng khối lượng trung bình hàng ngày, hiệu quả sử dụng thức ăn và giảm tiêu chảy.	Abe và cộng sự. (1995)
<i>Streptococcus faecium</i>	Bê	Cải thiện thức ăn ăn vào và giảm tiêu chảy	Tournut (1989)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bê	Cải thiện thức ăn ăn vào và tăng khối lượng	Hughes (1988)
	Cừu	Cải thiện thức ăn ăn vào và tăng khối lượng	Jordan và Johnston (1990)
	Bê	Giảm stress khi vận chuyển	Phillips và von Tungeln (1985)
<i>Aspergillus oryzae</i>	Bê	Cải thiện thức ăn ăn vào và tăng khối lượng	Beharka và cộng sự. (1991)
	Bê	Tăng hàm lượng VFA, propionic và axetic trong dạ cỏ. Số lượng vi khuẩn Cellulolytic đếm được cao hơn đối chứng.	Beharka và cộng sự. (1991)

Vi sinh vật probiotics	Gia súc	Tác dụng	Tham khảo
<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Bê Holstein	Tăng khối lượng trung bình hàng ngày và khối lượng kết thúc cao hơn.	Kowalski và cộng sự. (2009)
<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Cừu	Lô thí nghiệm có tỷ lệ chết thấp hơn và năng suất sữa cao hơn rõ rệt.	Kowalski và cộng sự. (2009)

1.3.3.5. Năng suất và chất lượng thịt

Bổ sung các chế phẩm sinh học (probiotic) cũng được chứng minh là làm tăng khối lượng thịt xẻ và khả năng ngậm nước của thịt, đồng thời giảm hao hụt khi nấu và độ rắn chắc của thịt (Ceslovas và cộng sự., 2005). Nghiên cứu của Abdelrahman và Hunaiti (2008) cho thấy, tỷ lệ thịt xẻ cao hơn ở cừu non được nuôi khẩu phần bổ sung probiotic. Các vi khuẩn sử dụng lactate hoặc sản xuất lactate không ảnh hưởng đến chỉ tiêu về tỷ lệ thịt xẻ và mỡ giắt thớ thịt (Ware và cộng sự., 1988). Tuy nhiên, giá trị độ dày mỡ lưng ở dê khi được nuôi khẩu phần bổ sung probiotic cao hơn 2% so với đối chứng (Whitley và cộng sự., 2009). Tương tự, Pelicano và cộng sự. (2005) báo cáo, giá trị chất béo cao hơn 11,6% thấy ở gia súc được bổ sung probiotic. Sự thay đổi chất béo trong cơ thể này có thể là do có sự thay đổi liên quan đến nồng độ axit béo bay hơi tổng số (VFA) làm cho tăng quá trình tổng hợp lipit và phân bố chất béo nhiều hơn trong các mô khác nhau của cơ thể (Elam và cộng sự., 2003).

1.3.3.6. Giảm tải các mầm bệnh và tăng cường phản ứng miễn dịch

Ngoài việc cải thiện khả năng sản xuất của gia súc nhai lại, chế phẩm sinh học còn có ảnh hưởng tích cực đến sức khỏe gia súc. Nghiên cứu của Apas và cộng sự. (2010) khi sử dụng chế phẩm sinh học chứa các chủng vi sinh vật gồm *L. reuteri* DDL 19, *L. alimentarius* DDL 48, *E. faecium* DDE 39 và *Bi. Bifidum* DDBA được phân lập từ phân dê khỏe mạnh (tỷ lệ trộn 1:1:1:1), bổ sung vào thức ăn nuôi dê cai sữa (mức 2×10^9 cfu/con/ngày) cho thấy, làm giảm số lượng vi khuẩn gây bệnh (*Salmonella* và *Shigella*) trong phân.

Các vi khuẩn nằm trong đường ruột ức chế mầm bệnh bằng cách cạnh tranh xâm chiếm các vị trí và các nguồn dinh dưỡng, đồng thời sản sinh các hợp chất độc hại hoặc kích thích hệ thống miễn dịch (Paravez và cộng sự., 2006). Các cơ chế này không loại trừ lẫn nhau và có thể ức chế một hoặc tất cả các khía cạnh của cơ chế này (Chaucheyras-Durand và cộng sự., 2008). Theo đó, bằng cách bảo vệ này đã làm tăng tỷ lệ sống sót của vật nuôi gấp 10 lần, lượng thức ăn thu nhận và tăng khối lượng cao hơn đáng kể, đồng thời giảm sự di chuyển mầm bệnh đến các mô nội tạng (Shu và cộng sự., 2000). Lưu ý rằng, việc sản xuất axit lactic bằng chế phẩm sinh học đã tạo ra một môi trường axit bất lợi cho mầm bệnh phát triển. Ngoài ra, việc sản xuất chế phẩm sinh học từ một số chủng lợi khuẩn (như *E. faecium*) giúp duy trì sức khỏe đường ruột thông qua ức chế sự phát triển của các chủng vi khuẩn không có lợi trong đường ruột (Chiquette, 2009). Nghiên cứu của Peterson và cộng sự. (2007) cho thấy các chủng *L. acidophilus* có khả năng làm giảm các vị trí bám dính của *E. coli* O157:H7 trong đường ruột của bò. Bổ sung chủng *L. acidophilus* làm giảm hiện tượng tiêu chảy và số lượng coliform ở đường ruột của bê (Beecham và cộng sự., 1977; Bruce và cộng sự., 1979). Nghiên cứu trong điều kiện *in vitro* cho thấy khả năng sinh trưởng và khả năng sống sót của cả hai chủng *E. coli* O157:H7 và *Listeria monocytogenes* đều giảm khi nuôi cấy với sự hiện diện của nấm men. *S. boulardii* và nó được cho là có hiệu quả chống lại *Salmonella* và *E. coli* và phân giải độc tố do *Clostridium difficile* tạo ra (Chiquette, 2009). Việc bổ sung các loại probiotic cũng liên quan đến những tác dụng có lợi mang lại cho hệ thống miễn dịch, chẳng hạn như cải thiện khả năng kháng bệnh và giảm nguy cơ dị ứng. Probiotic làm cho động vật khỏe mạnh, kích thích phản ứng miễn dịch không đặc hiệu, tăng cường hệ thống bảo vệ miễn dịch và tăng cường hàm lượng immunoglobulin tác động đến khả năng sinh trưởng, sản xuất và

khả năng kháng bệnh tật hiệu quả hơn (Ceslovas và cộng sự., 2005; Cetin và cộng sự., 2005).

1.3.3.7. Ổn định độ pH dạ cỏ, phòng và điều trị một số bệnh liên quan đến trao đổi chất

a/ Ổn định độ pH dạ cỏ

Theo Chiquette (2009), probiotic được khuyến cáo sử dụng cho gia súc nhai lại trưởng thành trong những trường hợp mất cân bằng hệ vi sinh vật dạ cỏ, ví dụ như giai đoạn chuyển tiếp, gia súc thay đổi khẩu phần từ chế độ ăn thức ăn thô xanh sang chế độ ăn nhiều thức ăn tinh. Do thức ăn tinh được lên men nhanh chóng trong dạ cỏ dẫn đến hàm lượng VFA tích tụ nhanh chóng, góp phần làm giảm độ pH, nếu hệ đệm trong dạ cỏ không thể kịp thời điều chỉnh tác động này. Nếu độ pH dạ cỏ thấp diễn ra trong thời gian dài thì sẽ gây ảnh hưởng tiêu cực đến lượng thức ăn thu nhận, quá trình trao đổi chất của vi sinh vật, khả năng phân giải các chất dinh dưỡng và dẫn đến toan hóa dạ cỏ (acidosis), viêm nhiễm, viêm chân móng, tiêu chảy, giảm hàm lượng mỡ trong sữa và làm giảm khả năng hoạt động của vi khuẩn phân giải xenluloz trong dạ cỏ (Chaucheyras-Durand và cộng sự., 2012). Hơn nữa, với mức độ cao của axit còn làm giảm nhu động và hiệu quả nhào trộn các chất dinh dưỡng bên trong dạ cỏ, dẫn đến làm giảm lượng VFA hấp thu qua thành dạ cỏ. Khi độ pH dạ cỏ thấp hơn 6,0, hoạt động của vi khuẩn phân giải xenluloza giảm nghiêm trọng và số lượng động vật nguyên sinh giảm. Trong số những thay đổi của vi sinh vật liên quan đến độ pH thấp ở gia súc nhai lại đó là sự gia tăng lên về số lượng vi khuẩn có khả năng chịu pH thấp, chúng sản xuất và sử dụng lactate (Chiquette, 2009).

Lactate là một sản phẩm chủ yếu của quá trình lên men carbohydrate, được tạo ra bởi các chủng vi khuẩn sản sinh lactate như *Streptococcus bovis*, *Selenomonas ruminantium*, *Mitsuokella multiacidus*, *Lachnospira Multiara* hoặc *Lactobacillus sp.* và *S. bovis* từ khẩu phần ăn chứa nhiều chất lên men.

Chủng vi khuẩn *M. elsdenii* và *Selenomonas ruminantium* sub sp được coi là vi khuẩn sử dụng đường chiếm ưu thế với số lượng lớn được tìm thấy ở dạ cỏ của gia súc ăn ngũ cốc, chúng có vai trò hữu ích trong việc cân bằng hệ vi sinh vật, ổn định pH dạ cỏ và thúc đẩy của vi sinh vật phân giải thành tế bào thực vật (Chaucheyras-Durand và cộng sự., 2012). Khi bổ sung các chủng vi khuẩn sản xuất lactate như *Lactobacillus* và *Enterococcus* vào khẩu nuôi bò sữa cho thấy giá trị trung bình độ pH hàng ngày giảm xuống dưới 5,5 (Nocek và cộng sự., 2002). Theo Denev, (2006) chủng *Lactobacillus acidophilus* có khả năng sản sinh axit lactic, làm giảm thấp độ pH đường ruột làm ức chế sự phát triển của các vi khuẩn gây bệnh. Nguyên tắc cơ bản là dạ cỏ đã được cung cấp liên tục nguồn lactate, vi khuẩn sử dụng lactate và kích thích hệ vi sinh vật thích nghi cùng sự hiện diện của nồng độ lactate cao hơn (Chiquette, 2009).

Nấm men cũng đã được chứng minh là có thể điều chỉnh độ pH dạ cỏ và hạn chế nguy cơ toan hóa dạ cỏ thông qua tương tác với vi khuẩn sản xuất và sử dụng lactate (Michalet-Doreau và Morand, 1996). Nấm men cũng được chứng minh là có vai trò làm giảm nồng độ lactate ở gia súc nhai lại trong trường hợp nhiễm toan hóa dạ cỏ (acidosis) bằng cách cạnh tranh với *S. bovis* để lên men tinh bột hoặc kích thích quần thể vi khuẩn sử dụng lactate ở động vật nhai lại (Lynch và Martin, 2002). Một số chủng *S. cerevisiae* có thể cung cấp chất dinh dưỡng như peptit, vitamin, axit hữu cơ và các chất tạo ra các yếu tố tương tác có lợi cho vi khuẩn sử dụng lactate đồng thời tạo điều kiện sử dụng đường hòa tan hiệu quả hơn ở vi khuẩn sản xuất lactate (Girard, 1996). Nấm men cũng có thể kích thích động vật nguyên sinh *Entodiniomorphs* trong việc nhấm chìm các hạt tinh bột và làm chậm quá trình lên men dạ cỏ.

b/ Phòng và trị bệnh toan hóa dạ cỏ (acidosis)

Độ pH dạ cỏ thấp dưới phạm vi mức tối ưu để tiêu hóa thức ăn của khẩu phần giàu carbohydrate (ví dụ tinh bột) sẽ ảnh hưởng hoặc giảm khả năng tiêu

hóa chất xơ trong khẩu phần (Duffield và cộng sự., 2004); do các axit béo mạch ngắn (SCFAs) tích lũy và làm mất cân bằng khả năng đệm của dạ cỏ (Plaizier và cộng sự., 2008). Điều kiện đưa ra để khuyến cáo với bò sữa bị mắc cận lâm sàng bệnh toan hóa dạ cỏ (acidosis) khi độ pH dạ cỏ $<5,6$ và nằm trong phạm vi từ $5,2 - 5,6$ trong 3 giờ/ngày (Gozho và cộng sự., 2005). Đây là chỉ số rất quan trọng về kinh tế trong chăn nuôi bò sữa để làm thế nào giúp chúng qua khỏi các triệu chứng như giảm độ ngon miệng, tiêu chảy, mất nước, suy nhược cơ thể, rối loạn nhu động dạ cỏ và giảm khả năng tiêu hóa xơ trong khẩu phần (Plaizier và cộng sự., 2008). Axit lactic là yếu tố chủ yếu gây toan hóa dạ cỏ khi độ pH $< 5,2$ do quá trình tích lũy lactate (Owens và cộng sự., 1998).

Các chế phẩm sinh học có tác dụng trong phòng và điều trị bệnh toan hóa dạ cỏ (acidosis) hiệu quả. Sử dụng các chủng vi khuẩn *Propionibacterium* P63, *L. plantarum* 115 và *L. rhamnosus* 32 với liều lượng rất cao (1×10^{11} cfu/con/ngày) đưa trực tiếp qua canul vào dạ cỏ cừu ăn khẩu phần hỗn hợp (cám mỳ, ngô hoặc khô dầu cải) trong 3 ngày liên tục, kết quả là đã làm ổn định độ pH dạ cỏ và phòng bệnh toan hóa dạ cỏ (Lettat và cộng sự., 2012). Điều này có thể được lý giải là chế phẩm sinh học bổ sung có khả năng điều chỉnh hoạt động vi khuẩn trong dạ cỏ tăng khả năng thủy phân xenluloza và ức chế vi khuẩn sản xuất axit lactic đã làm cho độ pH dạ cỏ đạt mức ổn định. Kết quả tương tự thấy khi bổ sung vi khuẩn sử dụng lactate *Megasphaera elsdenii* có tác dụng ngăn ngừa tích lũy axit lactic trong điều kiện lên men *in vitro* (Prabhu và cộng sự., 2012). Nghiên cứu của Klieve và cộng sự. (2003) đã chứng minh rằng cấy chủng vi khuẩn *M. elsdenii* YE34 trong dạ cỏ của bò được ăn khẩu phần nhiều ngũ cốc đã làm hình thành vi khuẩn sử dụng axit lactic sớm hơn khoảng 7–10 ngày so với bò không được cấy. Điều thú vị thấy ở bò ăn khẩu phần nhiều ngũ cốc (lúa mạch) có chủng *Ruminococcus bromii* là quần thể vi khuẩn chiếm ưu thế trong dạ cỏ và là lợi khuẩn có tiềm năng nâng cao hiệu quả

sử dụng tinh bột ở bò khẩu phần nhiều ăn ngũ cốc (Klieve và cộng sự., 2007). Bổ sung nấm men *S. cerevisiae* giảm nồng độ axit lactic trong dạ cỏ bò Holstein vắt sữa từ đó có thể phòng bệnh acidosis (Marden và cộng sự., 2008; Thrune và cộng sự., 2009). Ngược lại, Hristov và cộng sự. (2010) cho rằng không thấy ảnh hưởng của bổ sung *S.cerevisiae* và canh trường nuôi cấy chúng đến quá trình lên men dạ cỏ.

Mặc dù các chế phẩm sinh học được phát hiện có hiệu quả trong việc ngăn ngừa nhiễm toan dạ cỏ, nhưng rất khó để thiết lập các quần thể lợi khuẩn tiềm năng ổn định trong dạ cỏ. Chiquette và cộng sự. (2007) đã cố gắng thiết lập chủng *Ruminococcus flavefaciens* NJ bằng cách đưa cấy vi khuẩn này cùng với nấm men *S. cerevisiae*, hy vọng nó sẽ ổn định các điều kiện trong dạ cỏ để tạo điều kiện thuận lợi cho việc vi khuẩn được cấy. Tương tự như sử dụng chủng vi khuẩn *Ruminococcus bromii* YE282 cấy cùng *Megasphaera elsdenii* YE34 là vi khuẩn tiêu hóa tinh bột trong khẩu phần nuôi bò đực vì nếu cấy riêng rẽ *M. elsdenii* YE 34 thì không thấy ảnh hưởng tới mức độ toan hóa dạ cỏ trong môi trường dạ cỏ (Klieve và cộng sự., 2012).

c/ Giảm tiêu chảy do chủng *E. coli* O157: H57 gây ra

Chủng *E. coli* O157: H57 tạo ra độc tố Shiga là mầm bệnh truyền nhiễm từ động vật sang người gây ra bệnh tiêu chảy xuất huyết và hội chứng huyết tán (HUS), có thể dẫn đến suy thận cấp ở trẻ em (Karmali và cộng sự., 2010). Việc lây nhiễm qua các sản phẩm động vật (thịt, sữa, trứng) từ động vật bị nhiễm mầm bệnh này là một vấn đề nghiêm trọng cho sức khỏe cộng đồng. Wisener và cộng sự. (2014) đã thực hiện một phân tích tổng hợp về tác dụng của chế phẩm sinh học trong việc giảm tiêu chảy do vi khuẩn *E. coli* O157: H57 gây ra ở bò thịt khi khẩu phần được bổ sung chế phẩm sinh học và nhận thấy rằng đều có hiệu quả trong thời dài hạn (> 90 ngày) và ngắn hạn (<90 ngày). Sự kết hợp giữa chủng *L. acidophilus* và *P. freudenreichii* là phương pháp điều trị bằng

probiotic hiệu quả nhất, với liều 109 cfu/con/ngày có hiệu quả hơn so với tỷ lệ liều thấp hơn. Các nghiên cứu trước đó cũng đã phát hiện ra rằng sự kết hợp của *L.acidophilus* và *P. freudenreichii* đã làm giảm đáng kể lượng O157 trong phân ở bò (Sargeant và cộng sự., 2007). Kết quả tương tự thấy được trong nghiên cứu của Ohya và cộng sự. (2000) khi phát triển một chế phẩm sinh học chứa chủng *S. bovis* LCB6 và *L.gallinarum* LCB 12, được phân lập từ gia súc trưởng thành, có hiệu quả trong việc loại bỏ tiêu chảy do vi khuẩn *E. coli* O157. Họ cho rằng nồng độ SCFA, đặc biệt là axit axetic trong đường tiêu hóa tăng lên đáng kể có thể là lý do gây ra sự ức chế vi khuẩn *E. coli* O157.

d/ Giảm tình trạng căng thẳng (stress) cho bê non

Tình trạng căng thẳng ở bê non thường xuyên dẫn đến còi cọc hoặc tiêu chảy và sụt cân. Các yếu tố gây căng thẳng thường thấy trong hoạt động chăn nuôi, bao gồm cai sữa, tiêm phòng, khử sừng, thiến, gắn thẻ, v.v., hoặc nhiệt độ môi trường cao. Ngoài ra, còn do dạ cỏ và quần thể vi sinh vật trong dạ cỏ chưa phát triển và hoạt động đầy đủ trong những ngày đầu đời.

Probiotics có thể làm giảm các vấn đề nêu trên ở bê non, nhưng kết quả là khác nhau. Tác dụng của probiotic chứa chủng *L. acidophilus* trong việc giảm tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy ở bê sữa non đã được báo cáo ngay từ năm 1977 (Bechman và cộng sự., 1977). Các nghiên cứu khác khi sử dụng chế phẩm sinh học LAB, cũng thu được làm giảm tỷ lệ tiêu chảy ở bê (Abe và cộng sự., 1995; Abu-Tarboush và cộng sự., 1996; Jatkauskas và Vrotniakiene, 2010). Kết quả tương tự về tỷ lệ tiêu chảy, thời gian mỗi lần tiêu chảy và tổng số ngày tiêu chảy ở bê sữa từ tuần 4 đến tuần 12 được nuôi trong điều kiện mùa hè cận nhiệt đới đã giảm đáng kể khi bổ sung chủng *B.amyloliquefaciens* H57 vào chế độ nuôi dưỡng bê (Le và cộng sự., 2016). Căng thẳng ở động vật gây ra chứng loạn khuẩn hoặc mất cân bằng vi sinh vật trong GIT có thể cần thiết để probiotic có lợi cho sức khỏe bê.

1.3.3.8. Thiết lập quần thể vi khuẩn sản sinh enzym phân giải xơ trong dạ cỏ

Khi mới sinh, gia súc non nhanh chóng thu nhận hệ vi sinh vật từ nước bọt, phân của mẹ và của các động vật khác (Chaucheyras-Durand và cộng sự., 2008). Quá trình tiếp xúc kéo dài giữa mẹ và con non thường xuyên hơn ở hình thức chăn nuôi quy mô nhỏ, tuy nhiên, trong chăn nuôi bò sữa thâm canh, bê con nhanh chóng bị tách khỏi mẹ và thường được ăn thức ăn tinh trước khi hệ vi sinh vật dạ cỏ hoàn thiện dẫn đến mất cân bằng hệ vi sinh vật bị làm cho gia súc non dễ bị nhiễm các bệnh khác nhau (Fonty và cộng sự., 1987). Rối loạn tiêu hóa là một trong những bệnh gây thiệt hại kinh tế lớn nhất trong giai đoạn nuôi gia súc non. Nghiên cứu với cừu non của Chaucheyras-Durand và Fonty (2001; 2002) cho thấy ở cừu con bổ sung chủng *S. cerevisiae* hàng ngày có tỷ lệ vi khuẩn sản sinh enzym phân giải xơ cao hơn và quần thể vi khuẩn này cũng ổn định hơn so với cừu đối chứng, bởi vì động vật nguyên sinh ăn vi khuẩn trong dạ cỏ và chúng chỉ xuất hiện ở dạ cỏ khi có quần thể vi khuẩn quan sát thấy động vật nguyên sinh xuất hiện sớm hơn ở cừu con được bổ sung *S. cerevisiae* so với cừu con đối chứng.

Phân tích tổng hợp về việc áp dụng men vi sinh (chứa ít nhất một chủng *S. cerevisiae*) ở động vật nhai lại cho thấy rằng nấm men sống làm tăng đáng kể nồng độ axit béo mạch ngắn (SCFA) trong dạ cỏ và làm tăng pH dạ cỏ, nhưng kết quả rất khác nhau. Mặc dù việc bổ sung men làm giảm nồng độ axit lactic trong dạ cỏ ở mức vừa phải nhưng không ảnh hưởng đến tỷ lệ axetate/propionate. Tuy nhiên, ảnh hưởng của việc bổ sung nấm men lên quá trình lên men dạ cỏ thay đổi theo tỷ lệ thức ăn tinh trong khẩu phần. Nhìn chung, tác động tích cực của việc bổ sung nấm men đối với pH dạ cỏ tăng lên theo tỷ lệ thức ăn tinh trong khẩu phần và mức vật chất khô ăn vào (Desnoyers và cộng sự., 2009).

Tương tự, men vi sinh làm tăng nồng độ các axit béo mạch ngắn (SCFA), nồng độ protein thô (CP) và tăng lượng vật chất khô ăn vào (DMI). Tỷ lệ chất xơ và NDF trong khẩu phần càng cao thì khả năng tiêu hóa các chất hữu cơ do bổ sung nấm men sống càng tốt (Desnoyers và cộng sự., 2009). Người ta đã công nhận rằng chế phẩm sinh học dựa trên cơ sở là nấm men bổ sung vào khẩu phần nuôi gia súc nhai lại làm tăng số lượng vi khuẩn phân giải xenlulo, ảnh hưởng có lợi đến quá trình lên men của vi sinh vật, làm cho phân hủy cellulose cao hơn và tăng sản xuất protein vi sinh vật (Dawson và cộng sự., 1990; Newbold, 1996; Chaucheyras-Durand và cộng sự., 2008).

Sử dụng kỹ thuật PCR, Ding và cộng sự. (2014) đã chứng minh rằng *S. cerevisiae* làm tăng tổng số vi khuẩn dạ cỏ ở bò lai hướng thịt ăn khẩu phần gồm (cỏ Alfalfa + thức ăn tinh), nhưng số lượng nấm và động vật nguyên sinh trong dạ cỏ không thay đổi. Tỷ lệ chủng *Selenomonas ruminantium* là vi khuẩn sử dụng lactate tăng lên, trong khi tỷ lệ chủng *Ruminobacter amylophilus* vi khuẩn phân giải tinh bột giảm.

1.3.3.9. Cải thiện quá trình phân giải xơ trong dạ cỏ

Hầu hết thức ăn thô trong khẩu phần nuôi gia súc nhai lại có chất lượng thấp và việc cải thiện khả năng tiêu hóa chúng khi sử dụng chế phẩm sinh học đang được nhiều người quan tâm. Chế phẩm sinh học enzyme phân giải xơ thường được sử dụng để cải thiện chức năng tiêu hóa của gia súc nhai lại trưởng thành (Kumar và Sirohi, 2013; Præsteng và cộng sự., 2013), cũng như đối với động vật nhai lại trước khi cai sữa (Sun và cộng sự., 2010). Xenluloz bị phân hủy trong dạ cỏ bởi một quần thể vi khuẩn cụ thể vì vật chủ không có các enzym cần thiết để phân hủy xenluloza. Nấm men đã được chứng minh là có khả năng kích thích quần thể phân giải xenluloza trong dạ cỏ và làm tăng hoạt tính enzym của chúng (Chiquette, 2009). Tác động này lên quần thể vi khuẩn được cho là kết quả của việc nấm men lấy O₂ trong dạ cỏ, gây bất lợi cho hoạt động quần

thể vi khuẩn hiếu khí, do đó tạo ra môi trường tối ưu hơn cho vi khuẩn kỵ khí (Newbold và cộng sự., 1996). Tuy nhiên, sự gia tăng vi khuẩn phân giải xenluloza không phải lúc nào cũng dẫn đến tăng tiêu hóa chất xơ, vì hoạt động của chúng phụ thuộc vào độ pH dạ cỏ (Russell và Wilson, 1996). Dawson và cộng sự. (1990) đã tìm thấy sự gia tăng số lượng vi khuẩn phân giải cellulose trong dạ cỏ bò đực Jersey, khi nuôi khẩu phần thức ăn giàu xơ được bổ sung *S.cerevisiae* hoặc kết hợp *S.cerevisiae*, *L.acidophilus* và *E. faecium*.

Bổ sung các chất chiết từ nấm men vào khẩu phần nuôi bò đã làm tăng tổng số vi khuẩn yếm khí và vi khuẩn phân giải xơ trong dạ cỏ (Dawson và cộng sự, 1990; Newbold và cộng sự, 1991; Harrison và cộng sự, 1988). Chủng *S. cerevisiae* có thể ngăn chặn sự tích tụ acid lactic sản sinh thông qua việc cạnh tranh với *Streptococcus bovis* bằng cách kích thích *Megasphaera elsdenii* hấp thu acid lactic, cung cấp axit amin và vitamin (Chaucheyras và cộng sự. 1995c). Bổ sung *S. cerevisiae* đã làm tăng số lượng động vật nguyên sinh dạ cỏ của bò đực sinh trưởng nuôi bằng khẩu phần cơ sở là rơm, giúp cải thiện khả năng tiêu hóa NDF (Plata và cộng sự., 1994). Nấm men cũng được báo cáo là giải phóng vitamin và các yếu tố sinh trưởng khác (axit hữu cơ, vitamin B và các axit amin) cần thiết cho vi khuẩn phân giải xenluloza phát triển (Chiquette, 2009).

Ảnh hưởng của nấm men đến quá trình lên men dạ cỏ ở động vật ăn chế độ ăn thức ăn thô là thay đổi. Chế độ ăn bao gồm *S. cerevisiae* và/hoặc *Armillaria heimii* (nấm rế trắng) ở cừu làm tăng DMI, năng lượng trao đổi ăn vào và khả năng tiêu hóa ADF (Mpofu và Ndlovu, 1994). Tiềm năng tiêu hóa NDF, protein thô và chất khô của cỏ khô cỏ Alfalfa, thân cây ngô và vỏ cà phê trong điều kiện *insacco* ở bò Holstein đặt canul tăng lên khi bổ sung chủng nấm men *S.cerevisiae* (Roa và cộng sự., 1997). Ngược lại, việc bổ sung nấm men cho bò được cho ăn khẩu phần cơ sở là rơm lúa mạch (Moloney và Drennan, 1994) hoặc khẩu phần có nhiều ngũ cốc (Mir và Mir, 1994) không ảnh hưởng

đến khả năng tiêu hóa chất khô, NDF và giảm khả năng tiêu hóa của protein thô. Bổ sung nấm men vào khẩu phần cơ sở là ngọn mía nuôi cừu, không thấy cải thiện rõ rệt khả năng lên men và tiêu hóa trong dạ cỏ, mặc dù độ pH dạ cỏ giảm (ArcosGarcía và cộng sự., 2000).

1.4. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VÀ SỬ DỤNG CHẾ PHẨM SINH HỌC PHÂN GIẢI XƠ

1.4.1. Tình hình nghiên cứu sản xuất và sử dụng các chế phẩm vi sinh có khả năng phân giải xơ trên thế giới

1.4.1.1. *Enzymes*

Nhờ những tiến bộ trong công nghệ sinh học, các chế phẩm enzyme ngày càng hiệu quả hơn, có thể được sản xuất với số lượng lớn và giá thành tương đối rẻ (McDonald và cộng sự., 2010). Vì vậy, bổ sung chúng vào khẩu phần nuôi dưỡng là biện pháp để nâng cao giá trị dinh dưỡng đang trở thành phổ biến. Theo các nghiên cứu của Fuller, R. (1989), các enzym được sử dụng chủ yếu trong các khẩu phần nuôi động vật dạ dày đơn (monogastric) nhưng cũng được dùng bổ sung vào khẩu phần ăn nuôi gia súc nhai lại. Mục đích chính của bổ sung là để nâng cao giá trị dinh dưỡng của thức ăn, đặc biệt đối với loại thức ăn kém chất lượng, ít tốn kém và tạo được sự kết hợp các thành phần nguyên liệu thức ăn trong khẩu phần. Ví dụ enzyme được sử dụng phổ biến là các enzyme phytase trong khẩu phần ăn của gia súc dạ dày đơn. Các nghiên cứu về công nghệ sinh học trên lợn và gia cầm đã được trực tiếp hướng tới các hoạt tính của phytase do enzyme phytase bổ sung vào thức ăn có tác động tổng thể tốt hơn lên các cơ chất có trong khẩu phần ăn của lợn và gia cầm và chúng tạo ra photpho sinh học một cách hiệu quả, làm giảm lượng photpho thải ra môi trường đồng thời tăng hoạt động NSPase để nâng cao lượng dinh dưỡng và kích thích sinh trưởng và cải thiện khả năng sản xuất (Gaggia và cộng sự., 2010). Việc cấm hoặc hạn chế sử dụng protein có nguồn gốc động vật do chúng

cung cấp phot pho, đã thúc đẩy việc chấp nhận sử dụng các enzym phytase trong thức ăn chăn nuôi ở một số nước (Fuller, R. 1989).

Axit amin tiêu hóa cũng có thể được cải thiện cùng với việc bổ sung phytase. Trong một nghiên cứu trên lợn thịt của Zhang và Kornegay, (1999) cho thấy, tỷ lệ tiêu hóa của tất cả các axit amin trừ proline và glycine tăng tuyến tính khi tăng bổ sung phytase. Trong dinh dưỡng gia súc nhai lại, Fibrolytic enzyme bổ sung vào khẩu phần ăn để điều chỉnh môi trường dạ cỏ là một trong những hướng đang được nghiên cứu rộng rãi trong những năm gần đây (Kahi và Rewe, 2008; Nagaraja, 2012). Enzyme đã cải thiện các polysaccharides sẵn có dự trữ trong cây (ví dụ như tinh bột), dầu và protein, được bảo vệ tránh không bị các enzym tiêu hóa bằng cách làm cho các cấu trúc vách tế bào không bị thấm nước. Do đó, cellulase có thể được sử dụng để phá vỡ cellulose, mà không bị phân hủy bởi các enzyme nội sinh. Enzyme cần thiết cho sự bẻ gãy các carbohydrate thành tế bào để giải phóng ra các đường cần thiết cho quá trình sinh trưởng của vi khuẩn sinh axit lactic. Bổ sung cellulase vào khẩu phần chứa phụ phẩm chế biến lúa mì đã làm tăng khả năng tiêu hóa của polysaccharides không có gốc tinh bột từ 0,192 – 0,359 % và protein thô từ 0,65 – 0,71% ở hồi tràng (McDonald và cộng sự.,2010).

1.4.1.2. Probiotics

Khái niệm "probiotics" được định nghĩa bởi FAO/WHO là "các vi sinh vật khi được cung cấp với số lượng đủ lớn sẽ mang lại lợi ích về sức khỏe cho vật chủ". Một vài chủng vi khuẩn acid lactic (LAB), các loài thuộc chủng *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, và *Enterococcus*, được xem như có lợi cho vật chủ và do đó được coi như probiotics và đã được bổ sung vào một vài thực phẩm chức năng.

Probiotics được bổ sung vào khẩu phần nuôi vật nuôi trong nông nghiệp để cải thiện sự cân bằng vi khuẩn đường ruột (Fuller, 1989). Bảng 1.4 liệt kê ứng dụng các chủng probiotic trong dinh dưỡng vật nuôi và thủy sản.

Bảng 1.4. Sử dụng probiotics và tác động của chúng trong thức ăn chăn nuôi và thủy sản

Chủng Probiotic	Đối tượng áp dụng	Tác động của Probiotic	Nguồn
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>	nuôi tôm	giảm stress, cải thiện sức khỏe, chất lượng nước, nước sạch khi luân chuyển, kiểm soát vi khuẩn gây bệnh và tính chất gây hại của chúng, kích thích hệ miễn dịch, cải thiện đường tiêu hóa, thay thế kháng sinh, nâng cao khả năng sinh trưởng	Decamp và Moriarty (2006); Moriarty và cộng sự., 2005
<i>Bacillus</i> spp. và Yeasts	nuôi động vật thân mềm	giảm thiểu các bệnh do <i>Vibrio</i> spp. và <i>Aeromonas</i> spp., gây ra tỷ lệ chết	Verschuere và cộng sự., 2000
<i>Clostridium</i> spp.	thức ăn nuôi cá nước ngọt	sản sinh các enzymes tiêu hóa thuận lợi cho sử dụng và tiêu hóa, kháng khuẩn chống các bệnh gây ra do các vi khuẩn	Bairagi và cộng sự., 2002
<i>Bacillus</i> spp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	thủy sản	cải thiện chất lượng nước và tương tác với thực vật phù du, khả năng bám dính gắn chặt, sản sinh chất kháng khuẩn, cung cấp chất kích thích miễn dịch	Verschuere và cộng sự., 2000
<i>Bacillus</i> spp., <i>S. cerevisiae</i>	thủy sản	kích thích sinh trưởng của vi tảo tiết cơ chất có khả năng ức chế bệnh tật và phẩy khuẩn, sau đó một số loài vi tảo sản sinh kháng sinh thiotropocin để chống một số bệnh	Naviner và cộng sự., 1999; Kawano và cộng sự., 1997

Chủng Probiotic	Đối tượng áp dụng	Tác động của Probiotic	Nguồn
<i>S. cerevisiae</i>	thủy sản	kích thích hệ miễn dịch hoạt động, sản sinh cơ chất ức chế các yếu tố gây bệnh	Verschuere và cộng sự., 2000
<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>L. plantarum</i>	thức ăn gia cầm	sản sinh cơ chất kháng khuẩn chống gây bệnh như <i>Campylobacter</i>	Santini và cộng sự., 2010
<i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Lactococcus lactis</i> , <i>L. casei</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	lợn cai sữa	kích thích sinh trưởng, giảm số lượng coliform bằng cách sản sinh chất chuyển hóa thành kháng sinh	Pérez Guerra và cộng sự., 2007
<i>S. cerevisiae</i>	bò vắt sữa	tăng quá trình huy động dự trữ của cơ thể, tăng tỷ lệ mỡ sữa	Giger-Reverdin và cộng sự., 1996
<i>S. cerevisiae</i>	thức ăn lạc đà	tăng trọng và cải thiện hiệu quả sử dụng thức ăn	Mohamed và cộng sự., 2009
<i>S. cerevisiae</i>	thức ăn trâu	tăng tiêu hóa cellulose	Kumar và cộng sự., 1994
<i>Pediococcus acidilactici</i>	gà thịt	cải thiện khả năng sản xuất, giảm cholesterol trong huyết thanh	Alkhalif và cộng sự., 2010
<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus ssp.</i>	gà đẻ	giảm tỷ lệ chết	Yörük và cộng sự., 2004
<i>L. sporogenes</i>	gà thịt	giảm cholesterol và triglycerides tổng số trong huyết thanh	Panda và cộng sự., 2006
<i>Lactobacillus ssp.</i>	thức ăn nuôi gà	điều chỉnh đáp ứng miễn dịch	Koenen và cộng sự., 2004
<i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i>	thức ăn gia cầm	giảm các bệnh lây sang người từ thịt gia cầm	Santini và cộng sự., 2010
<i>L. reuteri</i> LPB P01-001	thức ăn nuôi lợn	tăng trọng, hoạt tính kháng khuẩn chống lại <i>E. coli</i> và <i>S. Aureus</i>	Pancheniak và C.R. Soccol (2005)

Ngược lại với việc sử dụng các loại thuốc kháng sinh để bổ sung vào thức ăn, chúng sẽ tiêu diệt vi khuẩn, vì thế các chế phẩm sinh học trong thực phẩm được thiết kế để sử dụng một số chủng vi khuẩn có khả năng tác động ở đường

ruột như mong muốn (McDonald và cộng sự., 2010). Bên cạnh việc các vi sinh vật có trách nhiệm sản sinh các vitamin nhóm B và các enzym tiêu hóa, và kích thích miễn dịch niêm mạc đường ruột, tăng việc bảo vệ để chống lại các độc tố do các vi sinh vật gây bệnh tiết ra. Với động vật nhai lại, chúng kiểm soát hiệu quả hơn các bệnh về đường tiêu hóa của động vật non, khi chưa có đầy đủ vi khuẩn hệ vi sinh vật trong dạ cỏ. Sự thâm nhập vi khuẩn ban đầu vào ruột non là qua mẹ và môi trường xung quanh, thường bao gồm *Streptococci*, *E. coli* và *Clostridium welchii*. Khi bắt đầu bú sữa, lactobacilli trở thành vi khuẩn chiếm ưu thế. Probiotics cho bê có chứa *Lactobacilli* hoặc *Streptococci* lành tính và có giá trị khi được dùng cho bê bị stress hoặc đang điều trị bằng thuốc kháng sinh làm phá hủy hệ vi sinh vật đường ruột (Fuller, 1989). Hơn nữa, bổ sung các chế phẩm sinh học vào khẩu phần ăn để mang lại lợi ích nhiều hay ít còn tùy thuộc vào sức khỏe vật nuôi. Khó khăn để xác định loài vi khuẩn có lợi trong mọi hoàn cảnh. Probiotics đôi khi được tìm thấy là có lợi trong việc bảo vệ cho lợn tránh mắc các bệnh truyền nhiễm. Vi khuẩn sinh axit lactic được phân lập từ đường tiêu hóa của lợn như *Enterococcus faecium* và *L. acidophilus*, có thể ức chế các chủng khác ở đường ruột, chẳng hạn như *Salmonella enteritidis*, *S. cholerae suis*, *S. typhimurium* và *Yersinia enterocolitica*. Men khô (*Saccharomyces cerevisiae*) được cho là có lợi thế hơn các chế phẩm sinh học vi khuẩn do chịu đựng tốt ở độ pH cao và các điều kiện môi trường. Sử dụng probiotic còn tùy thuộc vào mở rộng luật pháp trong việc tạo sản phẩm để bảo vệ gia súc và người tiêu dùng. Ở gia súc nhai lại trưởng thành, nấm men có thể được sử dụng như probiotic để cải thiện quá trình lên men ở dạ cỏ. Tác động của việc bổ sung probiotics bằng cách uống (trong trường hợp này, gọi là cộng sinh) và vi khuẩn nội tại có lợi trong đường ruột có thể tăng lên bằng cách phối hợp với prebiotics (Gibson và cộng sự., 2004).

Prebiotics là các thành phần thức ăn không thể tiêu hóa được, phổ biến nhất là oligosaccharides, đó là carbohydrate không tiêu hóa. Khi được đưa vào vật chủ với số lượng đủ lớn, sẽ kích thích có chọn lọc sự phát triển hoặc hoạt động của một hoặc một số lượng hạn chế vi sinh vật trong đường ruột.

Hỗn hợp probiotic và prebiotic được gọi là Synbiotics, đã đạt được bằng cách kết hợp *Lactobacillus* với lactose, FOS với *B. subtilis*, GOS với *Bifidobacteria* spp và *E. faecium* và prebiotics rau diếp xoăn và chúng đã được chứng minh là có tiềm năng cho sức khỏe và cải thiện khả năng sản xuất. Probiotics và prebiotics thường được sử dụng cho tất cả các loài dạ dày đơn đã được nghiên cứu và sử dụng rộng rãi ở lợn là *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., và *Saccharomyces cerevisiae* được chứng minh là hữu ích trong các bệnh như tiêu chảy, viêm ruột hoại tử và tác nhân gây bệnh khác liên quan đến đường tiêu hóa bệnh và trong thời gian cai sữa lợn con (Gaggia và cộng sự., 2010).

1.4.2. Tình hình nghiên cứu sản xuất và sử dụng các chế phẩm sinh học ở Việt Nam

1.4.2.1. Tình hình nghiên cứu sản xuất các chế phẩm Probiotic

Ở nước ta hiện nay việc nghiên cứu sản xuất probiotic phục vụ cho đời sống dân sinh nói chung và chăn nuôi nói riêng còn rất mới mẻ và bắt đầu được quan tâm trong vài năm gần đây. Lê Thanh Bình và cộng sự (1999) đã sản xuất chế phẩm PRO99 gồm hai chủng vi khuẩn lactic và nuôi thử nghiệm trên gà broiler cho thấy quần thể vi sinh vật đường ruột thay đổi theo chiều hướng tích cực, các vi khuẩn lactic tăng, E. Coli giảm rõ rệt ở nhóm gà được ăn thức ăn có bổ sung PRO99. Khối lượng cơ thể lúc 50 ngày tuổi của gà ở nhóm được ăn thức ăn có bổ sung PRO99 cao hơn so với đối chứng 10,6%. Phạm Ngọc Lan và cộng sự. (2003) đã phân lập được hai trong số 789 chủng vi khuẩn lactic trong ruột gà. Bằng các phương pháp nghiên cứu sinh học phân tử, nhóm tác

giả đã xác định được các chủng CH123 và CH156 có những tính chất probiotic gần với *Lactobacillus agillis* và *Lactobacillus sallivarius* (có khả năng đề kháng được với 40% axit mật; sinh trưởng được ở môi trường pH = 4,0 và nồng độ NaCl = 6,0%, có hoạt tính kháng với *Salmonella*, *E. coli*) có khả năng sử dụng như nguồn probiotic ứng dụng trong chăn nuôi. Nguyễn Thị Hồng Hà và cộng sự. (2003) đã sử dụng hai chủng *Bifidobacterium bifidum* và *Lactobacillus acidophillus* để sản xuất chế phẩm Probiotic, bước đầu đã nghiên cứu được công nghệ sản xuất bằng phương pháp sấy phun. Chế phẩm sau 6 tháng vẫn có số tế bào vi khuẩn sống ở mức 10^6 CFU/g và có khả năng ức chế vi khuẩn *Salmonella*. Nguyễn Thuỳ Châu (2003) thông báo đã lựa chọn được chủng nấm men *Candida utilis* CM125 cho sinh khối cao trên môi trường rỉ mật đường, bước đầu đã đưa ra được qui trình công nghệ sản xuất sinh khối loại nấm men này. Nguyễn La Anh và cộng sự. (2003) đã phân lập được chủng vi khuẩn lactic BC 5.1 từ nước bắp cải muối chua và đã xác định được rằng chủng vi khuẩn này có tính chất probiotic và có thể sử dụng trong chế biến thực phẩm. Võ Thị Thứ và cộng sự. (2003) đã nghiên cứu sản xuất được chế phẩm Biochie dạng dung dịch (từ vi khuẩn *Bacillus* và *Lactobacillus*) với mật độ 10^8 tế bào/ml có tác dụng cải thiện môi trường nước nuôi tôm, cá. Lê Tấn Hưng và cộng sự. (2003) đã nghiên cứu sản xuất hai chế phẩm probiotic BIO I và BIO II. Chế phẩm BIO II gồm các nhóm vi khuẩn *Lactobacillus*, *Bacillus* và nấm men *Saccharomyces* phối hợp với các enzyme α -amylase và protease dùng trong xử lý môi trường nước nuôi tôm, cá và chế phẩm BIO I dùng trong chăn nuôi. Hiện nay chế phẩm BIO II đã được ứng dụng rộng rãi nhưng chế phẩm BIO I hiệu quả sử dụng chưa cao. Gần đây nhất trong khuôn khổ Đề tài cấp Bộ “Nghiên cứu sản xuất probiotic và enzyme tiêu hóa dùng trong chăn nuôi” tác giả Trần Quốc Việt và cộng sự. (2009) đã tuyển chọn vi khuẩn A2026 có tên khoa học: *Rhodococcus fascian* tiết enzyme B-glucanase và Cellulase và chủng nấm

VN06-F0329 có tên khoa học: *Aspergillus niger* van Tieghem var *niger*, tiết enzyme Xylanase để sản xuất chế phẩm đa enzyme dùng trong thức ăn chăn nuôi lợn và gà. Kết quả đánh giá hiệu quả sử dụng của chế phẩm trên lợn cho thấy tốc độ sinh trưởng của lợn được bổ sung enzyme cao hơn so với đối chứng từ 8,2%, mức tiêu tốn thức ăn/kg tăng trọng giảm 7,3%, tỷ lệ tiêu chảy giảm từ 10,7% ở lô đối chứng xuống còn 4,8%. Kết quả thử nghiệm trên gà cho thấy tốc độ sinh trưởng của nhóm được ăn thức ăn có bổ sung chế phẩm đa enzyme cao hơn 7,4%, tiêu tốn thức ăn giảm 9,3% so với đối chứng.

1.4.2.2. Tình hình nghiên cứu sản xuất và sử dụng các chế phẩm enzyme tiêu hóa

Việc nghiên cứu về enzyme ở Việt nam đã được quan tâm nhiều từ những năm 1990 của thế kỷ trước. Những nghiên cứu này phần lớn tập trung vào việc phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật có hoạt tính enzyme hoặc nghiên cứu chiết xuất, xác định đặc tính, hoạt lực của một số loại enzyme phục vụ cho các mục đích dân sinh. Dương Văn Hợp và cộng sự. (1993) đã phân lập, tuyển chọn được 1 chủng nấm sợi (DH12) từ 24 chủng nấm ở các nguồn tinh bột khác nhau và 1 chủng của Nhật bản (*Aspergillus niger* TH319K) có hoạt tính glucoamylaza cao (đạt 70 đơn vị/g chế phẩm enzyme thô). Phạm Hồ Trương và cộng sự. (1993), từ cơ chất chứa tinh bột đã phân lập được 22 chủng có khả năng đồng hoá tinh bột sống và đã chọn chủng T1 có hoạt tính gluco-amylaza cao nhất. Nguyễn Thị Hoài Hà và cộng sự. (2002) đã công bố công trình nghiên cứu hoạt tính amylaza của hai chủng *Bacillus* H5-1 và H5-4 dùng trong sản xuất men vi sinh. Phạm Hồ Trương và cộng sự. (1993) đã nghiên cứu đặc điểm phân giải ligno-xellulo và lignin của hai chủng nấm *Acreminium sp* và *Sporotrichum Pulverulentum* từ bảo tàng giống vi sinh vật của Viện HLKH Liên xô (cũ). Phạm Hồ Trương và cộng sự. (1993) đã sử dụng hỗn hợp các chủng nấm *Acreminium sp* và *Sporotrichum Pulverulentum* để lên men rắn để

khảo sát khả năng phân giải lignin của chúng trong rơm lúa mỳ. Phạm Văn Ty và cộng sự. (1993) đã nghiên cứu khả năng phân giải xellulo của xạ khuẩn phục vụ cho xử lý rác thải đô thị. Những nghiên cứu về proteaza có các công trình của Trần Đình Thanh và cộng sự. (2000) (proteaza từ đu đủ xanh); Lê Gia Hy (2000) nghiên cứu chiết suất proteaza từ xạ khuẩn ưa kiềm; Vũ Ngọc Bội và cộng sự. (2004): nghiên cứu xử lý cá bằng proteaza; Ngô Tự Thành và cộng sự. (2005): nghiên cứu hoạt tính của proteaza từ *Bacillus*. Nguyễn Thuỳ Châu và cộng sự. (2005) đã đưa ra qui trình công nghệ sản xuất phytaza từ chủng nấm *Aspergillus niger* MP2, công nghệ lên men *Aspergillus niger* ĐL1 tổng hợp pectinaza, công nghệ lên men *Aspergillus niger* Awamoviri BK để tổng hợp Mannanaza ở qui mô bán công nghiệp.

1.4.3. Nguồn gốc xuất xứ chế phẩm sinh học của đề tài luận án

Chế phẩm sinh học dạng bột do Viện Chăn nuôi và Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học (Đại học quốc gia Hà Nội) phối hợp nghiên cứu, sản xuất và thử nghiệm trong khuôn khổ đề tài: “Nghiên cứu sản xuất và sử dụng chế phẩm sinh học để xử lý các nguồn nguyên liệu giàu xellulose làm thức ăn chăn nuôi” thuộc Chương trình Công Nghệ Sinh Học Nông Nghiệp. Đơn vị Chủ trì: Viện Chăn nuôi.

– Chế phẩm Best^FRumen[®] (gọi tắt là A): Là chế phẩm được tạo ra từ quá trình lên men chủng nấm sợi hữu ích *A.oryzae* có nồng độ xelulaza, amylaza và xylanaza đạt >1100 UI/g và β -glucanaza đạt >200 UI/g.

– Chế phẩm Best^FRumen[®] (gọi tắt là C): Là chế phẩm được tạo ra từ quá trình lên men chủng nấm sợi hữu ích *A.oryzae* và các chủng vi sinh vật *Lactobacillus*, *Bacillus* và *Saccharomyces* có nồng độ enzyme xelulaza, amylaza và xylanaza đạt >1100 UI/g và β -glucanaza đạt >200 UI/g và nồng độ vi sinh vật hữu ích >10⁹CFU/g.

CHƯƠNG II: NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG, THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

a/ Chế phẩm sinh học

Chế phẩm sinh học dạng bột do Viện Chăn nuôi và Viện Vi sinh vật phối hợp nghiên cứu và sản xuất gồm:

- Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là A): Là chế phẩm được tạo ra từ quá trình lên men chủng nấm sợi hữu ích *A.oryzae* có nồng độ xelulaza, amylaza và xylanaza đạt >1100 UI/g và β -glucanaza đạt >200 UI/g.
- Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là C): Là chế phẩm được tạo ra từ quá trình lên men chủng nấm sợi hữu ích *A.oryzae* và các chủng vi sinh vật *Lactobacillus*, *Bacillus* và *Saccharomyces* có nồng độ enzyme xelulaza, amylaza và xylanaza đạt >1100 UI/g và β -glucanaza đạt >200 UI/g và nồng độ vi sinh vật hữu ích >10⁹CFU/g.

b/ Thức ăn thô

- Rơm lúa khô
- Cỏ khô Pangola
- Cỏ voi 45 ngày
- Thân cây ngô tươi sau thu bắp
- Thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh (TMR)

c/ Gia súc thí nghiệm:

- Bò đực lai Sind, khối lượng trung bình 200 kg mổ lỗ dò dạ cỏ đặt cannula.
- Bò lai Sind sinh trưởng
- Bò lai hướng sữa ¾ HF.

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu

- Bộ môn Dinh dưỡng và Thức ăn chăn nuôi, Viện Chăn nuôi

- Trung tâm thực nghiệm và bảo tồn vật nuôi, Viện chăn nuôi
- Các gia trại nuôi bò lai hướng thịt ở Eaka, Đắk Lắk
- Trung tâm nghiên cứu bò và đồng cỏ Ba Vì

2.1.3. Thời gian nghiên cứu: từ 2013 đến 2019

2.2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

2.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến tốc độ và đặc điểm sinh khí *in vitro* của một số thức ăn giàu xơ làm thức ăn cho gia súc nhai lại

Mục đích: Đánh giá và tìm mức bổ sung thích hợp nhất để nghiên cứu *in sacco*.

2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến khả năng phân giải một số thức ăn giàu xơ bằng phương pháp *in sacco* và thay đổi hệ vi sinh vật dạ cỏ

Mục đích: Đánh giá được hiệu quả của bổ sung thích hợp chế phẩm sinh học đến tốc độ và đặc điểm phân giải các chất dinh dưỡng của một số thức ăn giàu xơ và tìm ra mức bổ sung thích hợp nhất cho nghiên cứu *in vivo*.

2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến khả năng tiêu hóa thức ăn bằng phương pháp *in vivo*

Mục đích: Đánh giá hiệu quả của bổ sung thích hợp chế phẩm sinh học đến tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng của một số thức ăn giàu xơ từ đó áp dụng để bổ sung nuôi bò lai hướng thịt và hướng sữa.

2.2.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần cơ sở là thức ăn giàu xơ của bò lai Sind sinh trưởng đến lượng thức ăn thu nhận, tăng khối lượng, hiệu quả sử dụng thức ăn và hiệu quả kinh tế

Mục đích: Đánh giá hiệu quả của bổ sung thích hợp chế phẩm sinh học vào khẩu phần nuôi bò lai hướng thịt sinh trưởng đến lượng thức ăn thu nhận, tăng khối lượng, hiệu quả sử dụng thức ăn và hiệu quả kinh tế.

2.2.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần nuôi bò lai hướng sữa $\frac{3}{4}$ HF đến lượng thức ăn thu nhận, năng suất, chất lượng sữa, hiệu quả sử dụng thức ăn và hiệu quả kinh tế

Mục đích: Đánh giá hiệu quả của bổ sung thích hợp chế phẩm sinh học vào khẩu phần nuôi bò lai hướng sữa đến lượng thức ăn thu nhận, năng suất, chất lượng sữa, hiệu quả sử dụng thức ăn và hiệu quả kinh tế.

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến tốc độ và đặc điểm sinh khí *in vitro* của một số thức ăn giàu xơ làm thức ăn cho gia súc nhai lại

* Nguyên vật liệu và thức ăn

a/ *Chế phẩm sinh học*

– Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là A): Là chế phẩm được tạo ra từ quá trình lên men chủng nấm sợi hữu ích *A.oryzae* có nồng độ xelulaza, amylaza và xylanaza đạt >1100 UI/g và β -glucanaza đạt >200 UI/g.

– Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là C): Là chế phẩm được tạo ra từ quá trình lên men chủng nấm sợi hữu ích *A.oryzae* và vi khuẩn *Lactobacillus*, *Bacillus* và *Saccharomyces* có nồng độ enzyme xelulaza, amylaza và xylanaza đạt >1100 UI/g và β -glucanaza đạt >200 UI/g và nồng độ vi sinh vật hữu ích >10⁹CFU/g.

b/ *Thức ăn thô*: Rơm khô, cỏ khô Pangola, cỏ voi 45 ngày và thân cây ngô tươi sau thu bắp.

c/ *Gia súc thí nghiệm*: Bò đực lai Sind, khối lượng trung bình 200 kg mỡ lỗ dò dạ cỏ đặt canul.

* Chuẩn bị thí nghiệm

a/ *Phân tích thành phần hóa học*

Các loại thức ăn đều được lấy mẫu theo (TCVN 4325-2007) và phân tích thành phần hoá học theo các tiêu chuẩn sau: vật chất khô (TCVN 4325-2007), protein thô (TCVN 4328-2001), xơ thô (TCVN 4326-2007), lipid (TCVN 4331-2007), khoáng tổng số (TCVN 4327-2007), riêng NDF, ADF và ADL được phân tích theo Goering và Van Soest (1970), tại Phòng phân tích thức ăn và sản phẩm chăn nuôi, Viện Chăn nuôi.

b/ Thí nghiệm in vitro gas production

Bò dùng lấy dịch dạ cỏ được nuôi tại chuồng và cho ăn 25 kg cỏ voi (vật chất khô: 19,89%; protein thô: 9,19%). Khẩu phần này đảm bảo thích hợp cho quá trình phân giải xenluloza. Dịch dạ cỏ được lấy từ 2 bò vào buổi sáng trước khi cho ăn.

Thí nghiệm *in vitro* gas production được tiến hành theo thủ tục của Menke và Steingass (1988) gồm các bước:

- + Chuẩn bị mẫu thức ăn, xilanh và dịch dạ cỏ
- + Chuẩn bị dung dịch đệm và pha chế dung dịch ủ mẫu
- + Tiến hành thí nghiệm.

** Chuẩn bị mẫu*

- Mẫu sấy khô và nghiền mịn đến kích thước 1mm.
- Khối lượng mẫu cho một xilanh: 200 ± 5 mg. Mẫu đặt vào phần cuối của xilanh.
- Bôi trơn pít tông bằng vasolin và đẩy pít tông sát đến bề mặt mẫu sau đó đẩy xilanh.
- Xilanh chứa mẫu được đặt trong tủ ấm ở 39°C qua đêm và tiếp tục để trong tủ ấm ở 39°C cho đến khi lấy dịch dạ cỏ và chuẩn bị xong dung dịch đệm.

** Vị trí của xilanh*

- Xi lanh không chứa mẫu (blank) và mẫu chuẩn, cần phải đặt vào đầu, giữa và cuối của giá xi lanh khi thí nghiệm.

– Mẫu nghiên cứu được nhắc lại 3 lần và phải đặt tách biệt ở đầu, giữa và cuối của giá ống nghiệm.

** Các dung dịch cần có*

Dung dịch khoáng đa lượng:

5,7 g Na_2HPO_4

6,2 g KH_2PO_4

0,6 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Hoà với nước cất thành 1 lít dung dịch

Dung dịch khoáng vi lượng:

13,2 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

10 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

1 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

0,8 g $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Hoà với nước cất thành 100 ml

Dung dịch đệm 1:

35 g NaHCO_3

4 g $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$

Hoà với nước cất thành 1 lít dung dịch

Dung dịch Resazurin:

100 mg resazurin

Hoà với nước cất thành 100 ml

** Dung dịch đệm*

– Từng phần của dung dịch đệm cần phải được chuẩn bị trước khi tiến hành thí nghiệm.

– Chuẩn bị dung dịch đệm 2 (dung dịch tươi ngay trước khi làm thí nghiệm) cho mỗi lần thí nghiệm (trộn các dung dịch đã được chuẩn bị vào bình tam giác).

** Cách pha dung dịch đệm 2*

Dung dịch (ml)	Lượng dung dịch cần tạo ra (ml)								
	500	750	1000	1200	1300	1400	1500	1700	2000
Nước cất	237,5	356	475	570	617,5	665	712,5	831	950
DD đệm 1	120	180	240	288	312	336	360	420	480
Đa khoáng	120	180	240	288	312	336	360	420	480
Vi khoáng	0,06	0,090	0,12	0,144	0,156	0,168	0,180	0,210	0,240
Resazurin	0,61	0,92	1,22	1,46	1,59	1,71	1,83	2,14	2,44

Dung dịch (ml)	Lượng dung dịch cần tạo ra (ml)								
	500	750	1000	1200	1300	1400	1500	1700	2000
<i>Dung dịch khử</i>									
Nước cất	23,8	35,7	47,5	57,1	61,9	66,6	71,3	83,2	95
NaOH 1N	1,0	1,5	2,0	2,4	2,6	2,8	3,0	3,5	4,0
Na ₂ S.9 H ₂ O	0,168	0,252	0,336	0,360	0,437	0,470	0,504	0,588	0,672

Lưu ý: Dung dịch đậm 2 chỉ trộn trước khi tiến hành mỗi lần thí nghiệm

- Làm ấm dung dịch đến 39° C sau đó cho dung dịch khử vào
- Đặt bình tam giác có dung dịch đậm vào bể nước (Water bath) có khuấy từ ổn định nhiệt 39° C trong 25 – 30 phút sau đó cho dung dịch khử vào, sục khí CO₂ vào dung dịch cho đến khi mẫu dung dịch chuyển sang màu hồng sau đó sang màu sáng. Độ pH của dung dịch từ 7 – 7,3.

**** Dịch dạ cỏ***

- Dịch dạ cỏ lấy từ 2 bò vào buổi sáng trước khi cho ăn để đảm bảo thành phần và hoạt lực của vi sinh vật trong dạ cỏ tương đối ổn định. Lượng dịch khoảng 1 lít/con sau đó trộn với nhau, đổ vào 1 bình kín (để đảm bảo yếm khí), dịch phải được giữ ấm 39° C cho đến khi pha chế.
- Lọc bỏ những hạt thức ăn lớn bằng vải xô, để loại trừ các mảnh thức ăn lớn còn lẫn ở trong dịch dạ cỏ làm ảnh hưởng không tốt đến kết quả sinh khí trong thí nghiệm.
- Tỷ lệ dung dịch đậm 2 và dịch dạ cỏ là (2:1) cụ thể như sau: hỗn hợp dịch dạ cỏ của 2 bò với số lượng tương đương được trộn đều và cho vào bình tam giác với dung dịch đậm 2 theo tỷ lệ 2:1.
- Bình tam giác phải giữ trong bình nước ấm 39° C, liên tục sục khí CO₂ và khuấy đều cho đến khi đã chuẩn bị xong xilanh.

**** Tiến hành thí nghiệm***

Quy trình thí nghiệm sinh khí *in vitro* gas production trên các mẫu thức ăn:

rom lúa khô, cỏ khô Pangola, cỏ voi 45 ngày và thân cây ngô tươi sau thu bắp. Cân mẫu khối lượng 200 ± 5 mg, đưa vào mỗi xilanh. Để ủ mẫu trong tủ ấm 39°C qua đêm. Sáng hôm sau bổ sung vào mẫu chế phẩm **Best^FRumen[®]** (A) theo tỷ lệ 9‰; 11‰; 13‰ và **Best^FRumen[®]** (C) theo tỷ lệ 11‰, 13‰; 15‰ (theo chất khô của thức ăn). Sau đó bơm 30 ml hỗn hợp dung dịch đậm 2 và dịch dạ cỏ vào xilanh đã có mẫu và chế phẩm. Đưa xi lanh vào tủ ấm 39°C và đọc gas tại các thời điểm 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 và 96 giờ.

** Ghi chép và xử lý số liệu*

– Lượng khí sinh ra khi lên men *in vitro* của thức ăn thí nghiệm được ghi chép tại các thời điểm 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 và 96 giờ.

– Lượng khí tích lũy trong quá trình lên men *in vitro* được tính như sau:
Khí tích lũy (ml) = Lượng khí sinh ra tại thời điểm t (ml) - Giá trị trung bình lượng khí sinh ra tại thời điểm t (ml) của các xi lanh không chứa mẫu (blank).

– Đặc điểm sinh khí khi lên men *in vitro* tích lũy trong 96 giờ được tính theo phương trình của Orskov và McDonald (1979):

$$P = a + b (1 - e^{-ct})$$

Trong đó: *P*: giá trị lượng khí sinh ra ở khoảng thời gian *t*(ml); *a*: lượng khí ban đầu (ml); *b*: lượng khí sinh ra trong khi lên men (ml); (*a + b*): tiềm năng khí sinh ra (ml); *c*: hằng số tốc độ khí sinh ra (phần/giờ); *e*: logarit tự nhiên

*** Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu được xử lý thô trên bảng tính Excel 2013, sau đó được xử lý trên phần mềm MINITAB 16.0 (Mỹ), sử dụng mô hình như sau:

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

Trong đó: *X_{ij}*: giá trị quan sát thứ *j* của yếu tố thí nghiệm *i*; μ : trung bình tổng thể; α_i : ảnh hưởng của yếu tố thí nghiệm (chế phẩm); *e_{ij}*: sai số ngẫu nhiên.

Nếu phương sai cho kết quả ảnh hưởng rõ rệt thì sử dụng phép thử Tukey để so sánh sai số giữa các giá trị trung bình.

2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến khả năng phân giải một số thức ăn giàu xơ bằng phương pháp *in sacco* và thay đổi hệ vi sinh vật dạ cỏ

* Nguyên vật liệu và gia súc

a/ *Chế phẩm sinh học*: Chế phẩm sinh học dạng bột do Viện Chăn nuôi và Viện Vi sinh vật phối hợp nghiên cứu và sản xuất gồm: (i) Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là A) và (ii) Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là C). Hoạt tính của chế phẩm như trình bày ở nội dung 1 (trang 49).

b/ *Thức ăn thô*: Rơm khô; cỏ khô Pangola; cỏ voi 45 ngày và thân cây ngô tươi sau thu bắp

c/ *Gia súc thí nghiệm*: Ba bò đực lai Sind mỗ lỗ dò dạ cỏ có khối lượng trung bình 200 kg.

* Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trên 3 bò đực lai Sind, khối lượng trung bình 200 kg/con. Bò được mỗ lỗ dò dạ cỏ và đặt canul. Bò được nuôi nhốt cá thể và nuôi dưỡng bằng khẩu phần ăn cơ sở (cỏ voi 20 kg và 1 kg thức ăn hỗn hợp) ở mức **duy trì** theo tiêu chuẩn của Kearn (1982) dùng cho bò nhiệt đới. Sơ đồ nuôi dưỡng được trình bày ở bảng 2.1.

Bảng 2.1. Khẩu phần cơ sở nuôi bò thí nghiệm *in sacco* (theo vật chất khô)

Thức ăn	Khẩu phần		
	I (đối chứng)	II	III
Rơm*	*	*	*
Cám hỗn hợp	*	*	*
Tăng khoáng liếm	Tự do	Tự do	Tự do
Chế phẩm A (g/con/ngày)**	-	30	40
Chế phẩm C (g/con/ngày)**	-	40	50

Ghi chú: (i) A là chế phẩm **Best^FRumen[®]** và C là chế phẩm **Best^FRumen[®]**; (ii) * với cỏ

*khô Pangola, cỏ Voi và thân cây ngô cũng được thiết kế tương tự như Rơm; (iii) ** chế phẩm A làm đợt 1 và chế phẩm C làm đợt 2*

Đối với khẩu phần cơ sở II và III, mỗi giai đoạn nuôi bò từng khẩu phần được bổ sung chế phẩm A (gồm 2 mức 30 và 40 g/con/ngày) và C (gồm 2 mức 40 và 50 g/con/ngày) tương ứng với mẫu thức ăn thô nghiên cứu. Hỗn hợp thức ăn được chuẩn bị trước khi cho ăn. Tất cả các thành phần được trộn đều thành hỗn hợp và bổ sung chế phẩm sinh học.

Thí nghiệm được tiến hành 2 đợt:

- Đợt 1: Thí nghiệm trên chế phẩm A và
- Đợt 2: Thí nghiệm trên chế phẩm C

Ở giai đoạn của từng đợt, bò được nuôi thích nghi khẩu phần như sau:

* Đợt 1: Thí nghiệm trên chế phẩm A

- khẩu phần I - đối chứng không bổ sung chế phẩm
- khẩu phần IIA – bổ sung chế phẩm A liều 30 g/con/ngày
- khẩu phần IIIA - bổ sung chế phẩm A liều 40 g/con/ngày

* Đợt 2: Thí nghiệm trên chế phẩm C

- khẩu phần I - đối chứng không bổ sung chế phẩm
- khẩu phần IIC – bổ sung chế phẩm C liều 40 g/con/ngày
- khẩu phần IIIC - bổ sung chế phẩm C liều 50 g/con/ngày

Thời gian nuôi thích nghi 10 ngày, thời gian nuôi thí nghiệm 4 ngày để đặt mẫu và lấy mẫu. Trong giai đoạn 2 và 3 khẩu phần được thay đổi do đó mỗi gia súc được nuôi với 3 khẩu phần khác nhau, thí nghiệm được thiết kế theo ô vuông Latin (bảng 2.2). Cách cho ăn, thức ăn hỗn hợp chia đều và cho ăn làm 2 lần vào 8^h sáng và 4^h chiều. Sau giai đoạn nuôi chuẩn bị 10 ngày để làm quen với thức ăn và ổn định lượng ăn vào, tiến hành đặt mẫu thí nghiệm vào dạ cỏ nhóm bò thí nghiệm.

Bảng 2.2. Sơ đồ thí nghiệm in sacco

Chế phẩm	Giai đoạn	Bò thí nghiệm		
		1	2	3
Chế phẩm A	1	I	IIA	IIIA
	2	IIA	IIIA	I
	3	IIIA	I	IIA
Chế phẩm C	1	I	IIC	IIIC
	2	IIC	III	I
	3	IIIC	I	IIC

*Ghi chú: (i) chế phẩm A: **Best^FRumen**®; chế phẩm C: **Best^FRumen**®; (ii) Sơ đồ trên được thực hiện cho mỗi loại thức ăn thí nghiệm. Hỗn hợp thức ăn được chuẩn bị trước khi cho ăn. Tất cả các thành phần được trộn đều thành hỗn hợp. Thời gian nuôi thích nghi sau mỗi đợt là 10 ngày, nuôi dưỡng và lấy mẫu là 4 ngày.*

Thủ tục thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp kỹ thuật túi ni lông (nylon bag technique) của Orskov và cộng sự. (1980). Mẫu đặt dạ cỏ được chuẩn bị trước một ngày. Các mẫu được cân trước khi cho vào túi ni lông đã được cân khối lượng bì túi, khối lượng mẫu (± 5 g) ở dạng khô và được đánh dấu mã mẫu trên túi ni lông loại L075 Laker Wire Weavers, Warrington (Anh), kích thước túi 125×100mm, kích thước lỗ vải là 45-5 μ m. Sau khi cân xong, các túi mẫu được bảo quản trong tủ lạnh qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Thời gian ủ mẫu trong dạ cỏ là 4; 8; 16; 24; 48; 72 và 96 giờ. Mỗi mẫu được nhắc lại 3 lần tại mỗi thời điểm ủ trong dạ cỏ.

Sau khi rút túi nilon chứa mẫu ra khỏi dạ cỏ, túi được rửa dưới vòi nước lạnh cho đến khi nước trong. Các túi mẫu được sấy ở nhiệt độ 65°C trong vòng 48 giờ.

Để hiệu chỉnh số liệu các thành phần hòa tan của mẫu thức ăn trong dạ cỏ với các thành phần tiêu hóa thực do hoạt động của men vi sinh vật trong dạ cỏ, 2 túi/mẫu thức ăn (± 5 g mẫu/túi) cho mỗi đợt thí nghiệm được ngâm ngập trong nước ấm 39°C trong vòng 1 giờ. Sau đó các túi mẫu này được rửa và sấy khô như các túi mẫu ủ trong dạ cỏ và cũng được phân tích các chỉ tiêu như các

túi ủ trong dạ cỏ.

Xử lý số liệu in sacco

Dùng chương trình máy tính NEWAY của Cheng, Viện Nghiên cứu Nông nghiệp Rowett, Scotland được sử dụng để tính mức độ phân giải chất khô *in sacco* của thức ăn theo phương trình mũ của Orskov và Mc Donal (1979):

$$P = a + b (1 - e^{-ct})$$

Trong đó: P là lượng chất khô mất đi tại thời điểm t (%); a là phần hòa tan hoặc bị rửa trôi (%); b là phần không hòa tan bị tiêu hóa tại thời điểm t (%); $(a+b)$ là tiềm năng phân giải của chất khô ở dạ cỏ (%); c là hằng số tốc độ phân giải của chất khô (%/giờ); e là logarit tự nhiên; t là thời gian ủ mẫu trong dạ cỏ (giờ).

Hiệu quả phân giải (ED) của chất khô được tính theo phương trình của Orskov và Ryle (1990).

$$ED = a + \left[b \left(\frac{c}{c + k} \right) \right]$$

Ở đây k là tốc độ di chuyển của thức ăn ra khỏi dạ cỏ và bằng 0,05 theo ARC (1984).

Xác định thành phần hóa học

Tất cả các thức ăn đều được lấy mẫu và phân tích thành phần hoá học như: chất khô, protein thô, xơ thô, khoáng tổng số, NDF, ADF, theo các tiêu chuẩn tương ứng TCVN 4326 - 2007, TCVN 4328 - 2001, TCVN 4331-2007, TCVN 4329 - 2007, TCVN 4327 - 2007, riêng NDF, ADF và ADL được xác định theo phương pháp của Goering và Van Soest (1970). Các chỉ tiêu phân tích được tiến hành tại Phòng phân tích thức ăn và sản phẩm chăn nuôi, Viện chăn nuôi.

Bảng 2.3. Thành phần hóa học của các mẫu thức ăn

Loại thức ăn	Vật chất khô (%)	Protein thô	Lipid thô	Dẫn xuất không đậm	Xơ thô	NDF	ADF	Khoáng tổng số
				(%) vật chất khô				
Rơm	88,7	5,6	1,5	44,8	34,9	73,1	40,7	13,3
Cỏ khô Pangola	87,7	7,0	2,6	48,2	36,2	78,2	42,2	6,1
Cỏ voi tươi	19,9	9,2	2,3	43,6	34,0	63,2	37,7	10,9
Thân cây ngô	18,0	9,9	2,4	59,3	22,8	61,4	30,4	5,7

Ghi chú: NDF: xơ không tan trong môi trường trung tính, ADF: xơ không hòa tan trong môi trường axit.

Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến thay đổi hệ vi sinh vật dạ cỏ

Dịch dạ cỏ bò thí nghiệm *in sacco* được lấy tại các thời điểm 0 và 4 giờ sau khi cho ăn. Khoảng 100 mL dịch dạ cỏ được lấy từ phần giữa của dạ cỏ mỗi lần vào thời gian cuối mỗi giai đoạn. Mẫu dịch dạ cỏ được lọc qua bốn lớp vải. Các mẫu được chia thành hai phần. Phần đầu của 1 mL dịch dạ cỏ được lấy và giữ trong một bình nhựa 10 mL/L có chứa 9 mL của 10 mL dung dịch formalin theo tỷ lệ (1: 9 v/v, dịch dạ cỏ: 10 mL/L formalin) và được bảo quản ở 4° C để xác định đếm tổng số lượng vi khuẩn, quần thể đơn bào và nấm theo Galyean (1989) bằng buồng đếm hồng cầu (Boeco, Hamburg, Đức).

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý trên phần mềm MINITAB 16 (Mỹ), sử dụng mô hình như sau:

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

Trong đó: X_{ij} : giá trị quan sát thứ j của yếu tố thí nghiệm i ; μ : trung bình tổng thể; α_i : ảnh hưởng của yếu tố i ; e_{ij} : sai số ngẫu nhiên.

Nếu phương sai cho kết quả ảnh hưởng rõ rệt thì sử dụng phép thử Tukey để so sánh sai số giữa các giá trị trung bình.

2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học đến khả năng tiêu hóa thức ăn bằng phương pháp *in vivo*

Trên cơ sở kết quả thí nghiệm *in sacco* về hiệu quả của bổ sung vào thức ăn lựa chọn **Best^FRumen[®]** gọi tắt là (A) mức 40 g và chế phẩm **Best^FRumen[®]** gọi tắt là (C) mức 50 g để tiến hành thí nghiệm cho nội dung này.

* Vật liệu nghiên cứu

Sử dụng 15 bò đực Lai Sind có độ tuổi trung bình 15 tháng tuổi, khối lượng bình quân 200 kg cho nghiên cứu này. Các loại thức ăn gồm rơm lúa, thân cây ngô, cỏ voi, cỏ khô Pangola và thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh (TMR) được sử dụng theo thứ tự từng đợt cho nghiên cứu này. Sơ đồ thí nghiệm được thể hiện ở bảng 2.4.

Bảng 2.4. Sơ đồ thí nghiệm *in vivo*

Diễn giải	Khẩu phần		
	ĐC0	A40	C50
Số gia súc (con)	5	5	5
Thức ăn thí nghiệm*	Tự do	Tự do	Tự do
Chế phẩm A (g/con/ngày)	-	40	-
Chế phẩm C (g/con/ngày)	-	-	50
Nước uống	Tự do	Tự do	Tự do
Tăng khoáng liếm	Tự do	Tự do	Tự do

*Ghi chú: (i) tiêu chuẩn ăn xây dựng theo tiêu chuẩn của Kearn (1982) dùng cho bò nhiệt đới; (ii) ĐC0: đối chứng; (iii) A40 bổ sung 40g chế phẩm A: **Best^FRumen[®]**; (iv) C50 bổ sung 50g chế phẩm C: **Best^FRumen[®]**; (v) * Thứ tự từng loại thức ăn mỗi đợt: rơm khô; cỏ Voi; thân cây ngô; cỏ khô Pangola; TMR.*

Như vậy, thí nghiệm này được tiến hành 5 đợt, mỗi đợt sử dụng một loại thức ăn. Tỷ lệ tiêu hóa *in vivo* của các mẫu thức ăn (đối chứng và mức bổ sung chế phẩm sinh học) được xác định bằng kỹ thuật thu phân tổng số của Cochran và Galyean (1994).

Quy trình cụ thể của mỗi đợt thí nghiệm như sau: Bò được nuôi nhốt cá thể và cho ăn ở mức ước tính gần với nhu cầu duy trì trong thời gian thích nghi

14 ngày, sau đó thu phân, nước tiểu, thức ăn cho ăn và thức ăn thừa liên tục trong 7 ngày tiếp theo. Trong thời gian thu mẫu:

- Toàn bộ lượng phân bò bài tiết ra được thu nhật hàng ngày, xác định khối lượng rồi lấy mẫu (10% tổng lượng phân)

- Tổng lượng nước tiểu bài tiết hàng ngày được hứng vào xô nhựa đặt có bổ sung 250 ml H₂SO₄ 5N), cân xác định khối lượng và lấy mẫu hàng ngày (5% tổng lượng thu được của ngày).

- Thức ăn cho ăn và thức ăn thừa cũng được cân, lấy mẫu hàng ngày và bảo quản trong tủ lạnh. Tất cả các mẫu được bảo quản trong tủ lạnh sâu

Đến ngày thứ 6 của giai đoạn thu mẫu, toàn bộ mẫu đã lưu trong tủ lạnh sâu được lấy ra để giải đông. Sáng ngày thứ 7 của giai đoạn này, các mẫu phân, nước tiểu và thức ăn của cùng một cá thể thu được trong thời gian 7 ngày được trộn đều với nhau và lấy 2 mẫu đại diện để phân tích thành phần hoá học như: chất khô, protein thô, xơ thô, khoáng tổng số, NDF, ADF, theo các tiêu chuẩn tương ứng TCVN 4326 - 2007, TCVN 4328 - 2001, TCVN 4331-2007, TCVN 4329 - 2007, TCVN 4327 - 2007, riêng NDF, ADF được xác định theo phương pháp của Goering và Van Soest (1970) tại Phòng phân tích thức ăn và sản phẩm chăn nuôi, Viện chăn nuôi.

** Chỉ tiêu theo dõi và phương pháp tính toán*

$$\% \text{Tiêu hóa VCK} = \frac{K. \text{lượng VCK ăn vào} - K. \text{lượng VCK phân}}{K. \text{lượng VCK ăn vào}} \times 100$$

$$\% \text{Tiêu hóa protein} = \frac{K. \text{lượng protein ăn vào} - K. \text{lượng protein phân}}{K. \text{lượng protein ăn vào}} \times 100$$

$$\% \text{Tiêu hóa mỡ} = \frac{K. \text{lượng mỡ ăn vào} - K. \text{lượng mỡ phân}}{K. \text{lượng mỡ ăn vào}} \times 100$$

$$\% \text{Tiêu hóa xơ} = \frac{K. \text{lượng xơ ăn vào} - K. \text{lượng xơ phân}}{K. \text{lượng xơ ăn vào}} \times 100$$

$$\% \text{Tiêu hóa NDF} = \frac{K. \text{lượng NDF ăn vào} - K. \text{lượng NDF phân}}{K. \text{lượng NDF ăn vào}} \times 100$$

$$\% \text{Tiêu hóa ADF} = \frac{K. \text{lượng ADF ăn vào} - K. \text{lượng ADF phân}}{K. \text{lượng ADF ăn vào}} \times 100$$

$$\% \text{Tiêu hóa CHC} = \frac{K. \text{lượng CHC ăn vào} - K. \text{lượng CHC phân}}{K. \text{lượng CHC ăn vào}} \times 100$$

Trong đó:

- Chất hữu cơ (CHC) ăn vào = (K.lượng chất khô ăn vào - K. lượng khoáng ăn vào).

- Chất hữu cơ (CHC) phân = (K.lượng chất khô của phân - K.lượng khoáng trong phân)

2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần cơ sở là thức ăn giàu xơ nuôi bò lai Sind sinh trưởng đến lượng thức ăn thu nhận, tăng khối lượng, hiệu quả sử dụng thức ăn và hiệu quả kinh tế

* Vật liệu

- 15 bê lai Sind 15-18 tháng tuổi, khối lượng trung bình 190 kg
- Chế phẩm sinh học dạng bột do Viện Chăn nuôi và Viện Vi sinh vật phối hợp nghiên cứu và sản xuất gồm: (i) Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là A) và (ii) Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là C). Hoạt tính của chế phẩm như trình bày ở nội dung 1 (trang 49).

* Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm tiến hành trên 15 bê đực lai Sind có độ tuổi trung bình 15 – 18 tháng tuổi, khối lượng trung bình 190 kg. Gia súc được phân khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (CRBD) đồng đều về khối lượng cơ thể (5 con/lô) trong đó:

- Lô 1: Đối chứng không bổ sung chế phẩm
- Lô 2: bổ sung chế phẩm A
- Lô 3: bổ sung chế phẩm C.

Khẩu phần ăn các lô tương tự nhau về năng lượng và protein thô. Trước khi thí nghiệm bê được tẩy giun sán bằng Fasinox (Ciba Co., Switzerland) và

được nuôi chuẩn bị 15 ngày để làm quen với khẩu phần và điều kiện chăm sóc quản lý nuôi dưỡng. Tóm tắt sơ đồ bố trí thí nghiệm được trình bày ở bảng 2.5.

Bảng 2.5. Sơ đồ bố trí thí nghiệm

Hạng mục	ĐC0	A40	C50
Số con	5	5	5
Nuôi chuẩn bị (ngày)	15	15	15
Thức ăn			
Cỏ voi	Tự do	Tự do	Tự do
Thức ăn tinh*	*	*	*
Chế phẩm A (g/con/ngày)		40	
Chế phẩm B (g/con/ngày)			50
Tăng khoáng liềm	Tự do	Tự do	Tự do
Nước uống	Tự do	Tự do	Tự do

*Ghi chú: ĐC0: đối chứng; A40: bổ sung 40g chế phẩm A (Best^FRumen[®]); C50 bổ sung 50g chế phẩm C (Best^FRumen[®]); * lượng thức ăn tinh bổ sung đảm bảo cân đối theo tiêu chuẩn của Kearn (1982) dùng cho bò nhiệt đới*

Phương thức nuôi dưỡng: bò thí nghiệm được nuôi cá thể và cho ăn 2 lần/ngày (8 giờ sáng và 4 giờ chiều). Cách cho ăn: Chế phẩm được trộn đều vào thức ăn tinh (bảng 2.6) cho ăn trước sau đó thức ăn thô ăn sau để đảm bảo gia súc ăn hết chế phẩm.

Bảng 2.6. Tỷ lệ trộn và giá trị dinh dưỡng thức ăn tinh (% vật chất khô)

Nguyên liệu	
– Sắn lát (%)	25
– Cám gạo (%)	50
– Ngô (%)	9
– Đậu tương (%)	16
Tổng cộng	100
Giá trị dinh dưỡng	
– Chất khô (%)	89,35
– Protein thô (%)	15,28
– Năng lượng trao đổi (MJ)	11,6

* Phân tích thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thức ăn

Tất cả các mẫu thức ăn cho ăn được phân tích các chỉ tiêu: Vật chất khô (DM), protein thô (CP), mỡ thô (EE), xơ thô (CF), NDF, ADF và khoáng tổng số (Ash) theo tiêu chuẩn TCVN 4326 -2007, TCVN 4328 – 2007, TCVN 4331 – 2007, TCVN – 4329-2007, AOAC 973.18.01 và AOAC 973.18.01, TCVN – 4327-2007. Các chỉ tiêu phân tích được tiến hành tại Phòng phân tích thức ăn và sản phẩm chăn nuôi, Viện chăn nuôi.

Giá trị năng lượng của thức ăn được tính toán trên cơ sở khí tích lũy tại thời điểm 24 giờ (G_{24}) khi lên men sinh khí *in vitro* (*in vitro gasproduction*) theo phương trình ME (kcal/kg DM) = $1885 + 21 \times GP_{24} + 2.49 \times DM - 21.6 \times CP$ (Đình Văn Mười, 2012).

** Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp tính*

– *Lượng thức ăn thu nhận*: Thức ăn cho ăn và thức ăn thừa hàng ngày của từng các thể bò được cân và ghi chép hàng ngày cho từng các thể ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm để tính lượng thức ăn ăn vào.

– *Khối lượng tích lũy*: được xác định bằng cách cân khối lượng 4 tuần/lần vào buổi sáng trước khi cho ăn bằng cân điện tử RudWeight (Úc).

– *Tăng khối lượng tuyệt đối*: được xác định bằng công thức:

$$A \text{ (g/ngày)} = \frac{P_2 - P_1}{T_2 - T_1}$$

Trong đó: P_2 Khối lượng cân tại thời điểm T_2 (kg); P_1 Khối lượng cân tại thời điểm T_1 (kg); T_1 ; T_2 thời gian nuôi dưỡng tương ứng với P_1 , P_2

– *Tăng khối lượng tương đối*: được xác định bằng công thức:

$$R(\%) = \frac{P_2 - P_1}{(P_2 + P_1)/2} \times 100$$

Trong đó: $R\%$: Tốc độ tăng trưởng (%); P_1 : Khối lượng cân tại thời điểm T_1 (kg); P_2 : Khối lượng cân tại thời điểm T_2 (kg).

– *Tiêu tốn thức ăn cho tăng khối lượng*: được tính toán từ số liệu ghi chép thức ăn thu nhận và tăng khối lượng của bò thí nghiệm.

- *Hiệu quả sử dụng thức ăn*: kg thức ăn/kg tăng KL
- *Sơ bộ hạch toán kinh tế*: tính toán sơ bộ trên cơ sở chi phí đầu vào (tiền mua bò, thức ăn nuôi dưỡng).

** Xử lý số liệu*

Số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) trên phần mềm Minitab 16.0 (Mỹ). Mô hình tổng quát như sau:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij}$$

Trong đó: Y_{ij} là biến phụ thuộc, μ là trung bình tổng thể, A_i ảnh hưởng của khẩu phần, ε_{ij} là sai số ngẫu nhiên.

Nếu ANOVA cho thấy có sự sai khác thì phương pháp so sánh cặp số trung bình Tukey sẽ được áp dụng để xác định sai khác giữa các nghiệm thức.

2.3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần nuôi bò lai hướng sữa $\frac{3}{4}$ HF đến lượng thức ăn thu nhận, năng suất, chất lượng sữa, hiệu quả sử dụng thức ăn và hiệu quả kinh tế

** Vật liệu*

- 15 bò $\frac{3}{4}$ HF đang khai thác sữa lứa 3 năng suất sữa trung bình 15 kg, tháng sữa 3-4, khối lượng trung bình 435 kg được sử dụng nuôi thí nghiệm.
- Chế phẩm sinh học bao gồm: Chế phẩm sinh học dạng bột do Viện Chăn nuôi và Viện Vi sinh vật phối hợp nghiên cứu và sản xuất gồm: (i) Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là A) và (ii) Chế phẩm **Best^FRumen[®]** (gọi tắt là C). Hoạt tính của chế phẩm như trình bày ở nội dung 1 (trang 49).

** Bố trí thí nghiệm*

Thí nghiệm tiến hành trên 15 bò $\frac{3}{4}$ HF đang khai thác sữa lứa 3 năng suất sữa trung bình 15 kg, tháng sữa 3-4, khối lượng trung bình 435 kg được sử dụng nuôi thí nghiệm. Gia súc được bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh đồng đều về năng suất sữa (5 con/lô) trong đó:

- Lô 1: Đối chứng không bổ sung chế phẩm

- Lô 2: bổ sung chế phẩm A
- Lô 3: bổ sung chế phẩm C.

Khẩu phần ăn các lô tương tự nhau về năng lượng và protein thô. Trước khi thí nghiệm bò được nuôi chuẩn bị 15 ngày để làm quen với khẩu phần và điều kiện chăm sóc. Tóm tắt sơ đồ bố trí thí nghiệm được trình bày ở bảng 2.7.

Bảng 2.7. Sơ đồ bố trí thí nghiệm

Diễn giải	ĐC0	A40	C50
Số gia súc (con)	5	5	5
Thời gian nuôi chuẩn bị (ngày)	15	15	15
Thời gian thí nghiệm (ngày)	90	90	90
Khẩu phần nuôi dưỡng	NRC	NRC	NRC
	2002	2002	2002
Chế phẩm A (g/con/ngày)		40	
Chế phẩm C (g/con/ngày)			50
Tăng khoáng liêm	Tự do	Tự do	Tự do
Nước uống	Tự do	Tự do	Tự do

Ghi chú: ĐC0; Đối chứng; A40: bổ sung 40g chế phẩm A (Best^FRumen®); C50 bổ sung 50g chế phẩm C (Best^FRumen®); lượng thức ăn cho ăn được điều chỉnh qua theo dõi ghi chép năng suất sữa

Phương thức nuôi dưỡng: Bò thí nghiệm được nuôi cá thể và cho ăn theo qui trình nuôi dưỡng bò vắt sữa.

Cách cho ăn: Bò thí nghiệm được cho ăn ngày 2 lần và buổi sáng lúc 8h và buổi chiều lúc 16h. Chế phẩm được trộn đều với thức ăn tinh cho ăn trước, cỏ voi và cỏ khô Pangola được phay nhỏ (5-7 cm) bằng máy phay cỏ sau đó trộn với thức ăn ủ chua trước khi cho ăn.

** Phân tích thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thức ăn*

Tất cả các mẫu thức ăn cho ăn được phân tích các chỉ tiêu: Vật chất khô (DM), protein thô (CP), mỡ thô (EE), xơ thô (CF), NDF, ADF và khoáng tổng số (Ash) theo tiêu chuẩn TCVN 4326 -2007, TCVN 4328 – 2007, TCVN 4331 – 2007, TCVN – 4329-2007, AOAC 973.18.01 và AOAC 973.18.01, TCVN –

4327-2007. Các chỉ tiêu phân tích được tiến hành tại Phòng phân tích thức ăn và sản phẩm chăn nuôi, Viện chăn nuôi.

** Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp tính*

– *Lượng thức ăn thu nhận*: Thức ăn cho ăn và thức ăn thừa hàng ngày của từng cá thể bò được cân và ghi chép hàng ngày cho từng cá thể ở tất cả các nghiệm thức thí nghiệm để tính lượng thức ăn ăn vào.

– *Năng suất sữa*: Cân sữa hàng ngày của từng cá thể bò thí nghiệm bằng cân lò xo một mặt số 30 kg (CĐH-30 của Nhơn Hòa). Năng suất sữa được chuyển đổi sang sữa tiêu chuẩn (FCM) theo công thức sau:

$$NS \text{ sữa tiêu chuẩn (FCM)} = NS \text{ sữa thực tế} \times [0,4 + (0,15 \times \text{tỷ lệ mỡ sữa thực tế})]$$

– *Chất lượng sữa*: Sữa từng cá thể được phân tích các thành phần gồm: vật chất khô, protein, mỡ, chất rắn không mỡ và tỷ trọng bằng máy EKOMILK 120 (Bungari) với tần suất 3 ngày/lần

– *Hệ số giảm sữa (HSGS)*:

$$HSGS = \frac{\text{Tổng sữa tháng trước (kg)} - \text{Tổng sữa tháng sau (kg)}}{\text{Tổng sữa tháng trước (kg)}} \times 100$$

– *Thay đổi khối lượng*: được xác định bằng cách cân khối lượng 4 tuần/lần vào buổi sáng trước khi cho ăn bằng cân điện tử RudWeight (Úc).

– *Hiệu quả sử dụng thức ăn*: kg thức ăn/kg sữa tiêu chuẩn

– *Sơ bộ hạch toán kinh tế*: tính toán sơ bộ trên cơ sở chi phí đầu vào là giá thức ăn nuôi dưỡng và bán sữa tại thời điểm bắt đầu và kết thúc thí nghiệm.

** Xử lý số liệu*

Số liệu xử lý bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) trên phần mềm Minitab 16.0 (Mỹ). Mô hình tổng quát như sau:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij}$$

Trong đó: Y_{ij} là biến phụ thuộc, μ là trung bình tổng thể, A_i ảnh hưởng của khâu phân, ε_{ij} là sai số ngẫu nhiên.

Nếu ANOVA cho thấy có sự sai khác thì phương pháp so sánh cặp số trung bình Tukey sẽ được áp dụng để xác định sai khác giữa các nghiệm thức.

CHƯƠNG III: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. ẢNH HƯỞNG CỦA BỔ SUNG CHẾ PHẨM SINH HỌC ĐẾN TỐC ĐỘ VÀ ĐẶC ĐIỂM SINH KHÍ *IN VITRO* CỦA MỘT SỐ THỨC ĂN GIÀU XƠ LÀM THỨC ĂN CHO GIA SÚC NHAI LẠI

3.1.1. Thành phần hóa học của các loại thức ăn thí nghiệm

Để nghiên cứu mức độ ảnh hưởng của việc bổ sung các chế phẩm sinh học vào khẩu phần ăn cơ sở đến khả năng sinh khí *in vitro* một số thức ăn giàu xơ ở bò. Các mẫu thức ăn thí nghiệm đều được phân tích thành phần hóa học và kết quả được trình bày trong bảng 3.1.

Bảng 3.1. Thành phần hóa học của các mẫu thức ăn

Loại thức ăn	Vật chất khô (%)	Protein thô	Lipid thô	Dẫn xuất không đậm	Xơ thô	NDF	ADF	Khoáng tổng số
				(%) vật chất khô				
Rơm	88,7	5,6	1,5	44,8	34,9	73,1	40,7	13,3
Cỏ khô Pangola	87,7	7,0	2,6	48,2	36,2	78,2	42,2	6,1
Cỏ voi	19,9	9,2	2,3	43,6	34,0	63,2	37,7	10,9
Thân cây ngô	18,0	9,9	2,4	59,3	22,8	61,4	30,4	5,7

Ghi chú: NDF: xơ không tan trong môi trường trung tính, ADF: xơ không hòa tan trong môi trường axit.

Số liệu thu được ở Bảng 3.1 cho thấy, thành phần hóa học của rơm có hàm lượng vật chất khô (VCK), protein thô, lipid thô, dẫn xuất không đậm, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng số (Ash) tương ứng như sau: 88,7%; 5,6%; 1,5%; 44,76%; 34,9%; 73,1%; 40,7% và 13,3%. Kết quả cho thấy rơm có hàm lượng vật chất khô cao nhất trong bốn loại thức ăn: rơm, cỏ voi, thân cây ngô, cỏ khô Pangola đồng thời chứa nhiều xơ thô nhưng lại nghèo protein và lipid. Hàm lượng vật chất khô, khoáng tổng số, thấp hơn so với kết quả của Vũ Duy

Giảng và cs (2008) đã công bố, vật chất khô và khoáng tổng số lần lượt là 90,3%; 15,4% và cũng theo kết quả của tác giả thì lượng NDF và ADF tương ứng là 70,1%; 39,7% kết quả này thấp hơn kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm này NDF và ADF tương ứng là 73,11 và 40,65%,

Cỏ voi là thức ăn thô xanh, có hàm lượng vật chất khô thấp (19,9%). Hàm lượng protein cao hơn rom và cỏ khô Pangola, tuy nhiên hàm lượng xơ thô, NDF và ADF lần lượt là: 34,0; 63,2 và 37,7% thấp hơn hàm lượng xơ thô, NDF và ADF của rom và cỏ khô Pangola. Các thành phần hóa học của cỏ voi về vật chất khô, protein thô, lipid thô, dẫn xuất không đậm, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng số tương ứng lần lượt là: 19,9%; 9,2%; 2,3%; 43,4%; 34,0%; 63,2%; 37,7% và 10,9%. Kết quả này thấp hơn kết quả của Đinh Văn Mười (2012) đã công bố về protein thô 9,2 so với 10,18%.

Các thành phần hóa học của thân cây ngô về vật chất khô, protein thô, lipid thô, dẫn xuất không đậm, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng số tương ứng lần lượt là: 18,00%; 9,89%; 2,39%; 59,26%; 22,80%; 61,38%; 30,40% và 5,67%. Kết quả này thấp hơn so với kết quả của Đinh Văn Mười (2012) đã công bố: vật chất khô, protein thô, lipid thô, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng số lần lượt là: 20,87%; 10,73%; 29,14%; 66,19%; 35,56% và 8,65%.

Các thành phần hóa học của cỏ khô Pangola về vật chất khô, xơ thô, NDF và ADF tương ứng lần lượt là: 87,7%; 36,2%; 78,2% và 42,2%, cao hơn về hàm lượng vật chất khô trong nghiên cứu của Đinh Văn Mười (2012): 86,49% nhưng hàm lượng xơ thô, NDF, ADF lại thấp hơn kết quả của tác giả: hàm lượng xơ thô, NDF và ADF lần lượt là 41,31%; 80,3% và 47,51%. Mặt khác hàm lượng protein trong nghiên cứu này thấp hơn kết quả của Hoàng Chung (2004) đã công bố: 8,88%. Có sự khác nhau về kết quả này có thể là do nguồn gốc của các nguyên liệu thức ăn khác nhau, điều kiện khí hậu, đất đai ở mỗi vùng khác nhau.

3.1.2. Tốc độ và đặc điểm sinh khí *in vitro* của rơm

Lượng khí sản sinh và đặc điểm sinh khí trong điều kiện *in vitro* của rơm khi được bổ sung chế phẩm ở các mức khác nhau được trình bày trong bảng 3.2 và minh họa qua hình 3.1.

Bảng 3.2. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men *in vitro* rơm

Thông số	0 (ĐC)	Liều bổ sung A			Liều bổ sung C			SEM
		9‰	11‰	13‰	11‰	13‰	15‰	
Lượng khí sinh ra (mL/200 mg DM) Thời gian ủ (giờ)								
3	1,3 ^c	1,8 ^{bc}	2,5 ^a	1,3 ^c	2,1 ^{ab}	2,7 ^a	1,5 ^{bc}	0,21
6	2,5 ^b	3,2 ^{ab}	4,1 ^a	2,6 ^b	3,3 ^{ab}	4,2 ^a	2,6 ^b	0,27
9	4,0 ^c	5,0 ^{bc}	6,3 ^a	4,2 ^c	4,9 ^{bc}	5,8 ^{ab}	4,2 ^c	0,33
12	6,7 ^d	8,5 ^c	10,8 ^a	7,1 ^d	9,2 ^{bc}	9,9 ^{ab}	7,0 ^d	0,60
24	15,1 ^c	19,5 ^a	21,1 ^a	17,1 ^{bc}	19,0 ^{ab}	20,3 ^a	17,0 ^{bc}	0,80
48	19,2 ^e	23,4 ^{bc}	25,5 ^a	21,6 ^d	22,6 ^{cd}	25,0 ^{ab}	21,4 ^d	0,83
72	21,8 ^e	26,0 ^{bc}	28,3 ^a	23,8 ^d	25,4 ^{cd}	27,6 ^{ab}	23,8 ^d	0,87
96	23,1 ^e	27,2 ^{cd}	29,5 ^a	25,5 ^d	27,2 ^{cd}	29,0 ^{ab}	25,8 ^{cd}	0,83
Đặc điểm sinh khí								
A	1,3 ^c	1,8 ^{bc}	2,5 ^a	1,3 ^c	2,1 ^{ab}	2,7 ^a	1,5 ^{bc}	0,21
B	22,3 ^c	25,9 ^{ab}	27,1 ^a	24,5 ^b	24,9 ^b	26,7 ^a	24,6 ^b	0,61
A + B	23,5 ^e	27,7 ^{bc}	29,6 ^a	25,8 ^d	27,0 ^{cd}	29,3 ^{ab}	26,0 ^{cd}	0,81
C	4,0 ^a	4,5 ^a	4,8 ^a	4,2 ^a	4,5 ^a	4,5 ^a	4,1 ^a	0,11
L	4,1 ^a	4,3 ^a	4,1 ^a	4,2 ^a	4,3 ^a	4,2 ^a	4,4 ^a	0,04
OMD	31,7 ^d	35,6 ^{ab}	37,0 ^a	33,5 ^c	35,2 ^{ab}	36,3 ^a	33,4 ^c	0,71
VFA	0,33 ^d	0,43 ^b	0,46 ^a	0,38 ^c	0,42 ^b	0,45 ^a	0,37 ^c	0,02

Ghi chú: *a, b, c, d, e,...* các giá trị trung bình trong cùng một hàng với các chữ cái khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); Chế phẩm A: Best^FRumen[®]; Chế phẩm C: Best^FRumen[®]; A: Khí ban đầu (mL); B: Khí sinh ra khi lên men (mL); (A+B): Tiềm năng sinh khí; c: Tốc độ sinh khí (%/giờ); L: Pha dừng (giờ); OMD: Tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (%); VFA: axit béo bay hơi tổng số (mmol/200mg chất khô); SEM: sai số số trung bình.

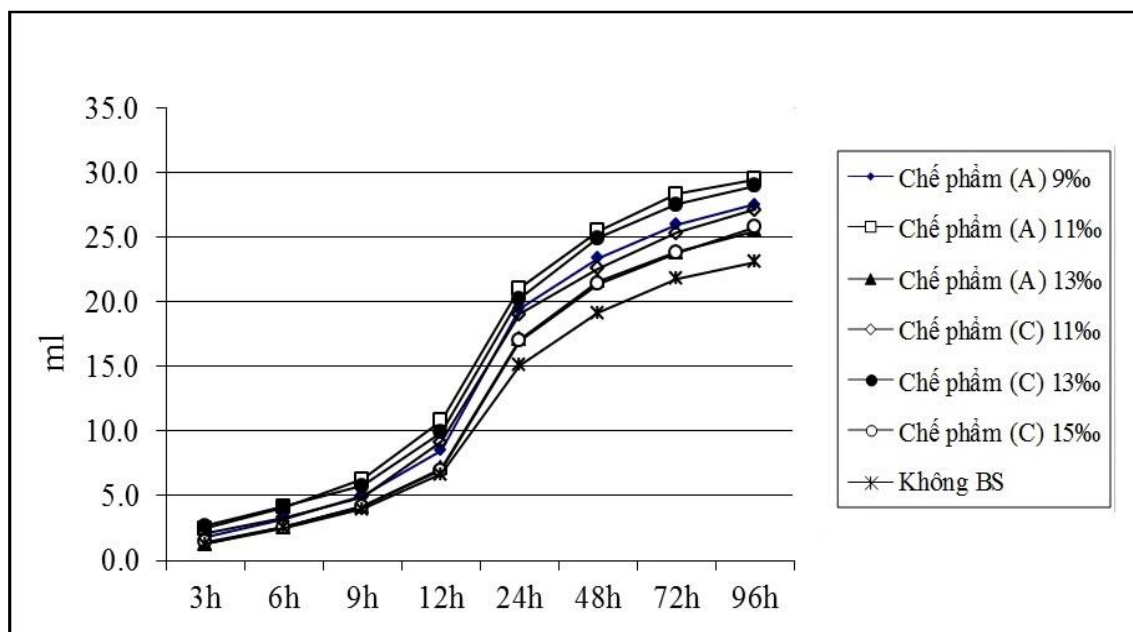
Kết quả trên cho thấy: Khi bổ sung chế phẩm A, lượng khí sinh ra tại các mức giờ là khác nhau và ở các liều bổ sung chế phẩm khác nhau thì lượng khí sinh ra của rơm là khác nhau. Tại thời điểm 24^h sau ủ, lượng khí sinh ra có

sự khác biệt đáng kể ($P < 0,05$) giữa các mẫu có bổ sung chế phẩm so với mẫu đối chứng (không bổ sung chế phẩm), tuy nhiên không thấy có sự khác biệt giữa hai mức bổ sung 11‰ và 9‰. Khi bổ sung chế phẩm A vào rơm thì lượng khí sinh ra đạt cao nhất ở mức bổ sung 11‰ (21,1ml) và thấp nhất ở mức bổ sung 13‰ (17,1ml) cao hơn hẳn so với mức đối chứng (15,1ml). Cũng tại thời gian ủ này, khi bổ sung chế phẩm C vào rơm lượng khí sinh ra cũng có sự khác biệt đáng kể ($P < 0,05$) giữa các mẫu được bổ sung chế phẩm so với mẫu đối chứng (không bổ sung chế phẩm). Lượng khí sinh ra đạt cao nhất ở mức bổ sung 13‰ (20,3ml), thấp nhất ở mức bổ sung 15‰ (17ml), mức này vẫn cao hơn so với đối chứng (15,1ml). Khi nồng độ enzyme tăng, lượng khí sinh ra theo xu hướng tăng lên. Tuy nhiên, khi nồng độ enzyme đạt đến một ngưỡng nào đó thì nồng độ cơ chất sẽ trở thành yếu tố hạn chế tốc độ phản ứng. Vì thế ở công thức bổ sung 15‰ chế phẩm C, nồng độ chế phẩm dù cao hơn nhưng lượng khí sinh ra vẫn thấp hơn so với công thức bổ sung 11‰ và 13‰.

Tại thời điểm 96^h ủ, lượng khí sinh ra ở các mẫu bổ sung chế phẩm có sự khác biệt so với mẫu đối chứng ($P < 0,05$), khi bổ sung chế phẩm A lượng khí cao nhất đạt ở mức 11‰ (29,5ml) và thấp nhất là đối chứng 23,1ml. Cũng ở thời gian ủ này khi bổ sung chế phẩm C, lượng khí sinh ra không có sự khác biệt ở hai mức bổ sung 11‰ và 15‰, tuy nhiên vẫn có sự khác biệt giữa các mức bổ sung chế phẩm và đối chứng ($P < 0,05$). Lượng khí cao nhất đạt ở mức 13‰ (29,0ml), thấp nhất là đối chứng 23,1ml.

Đặc điểm sinh khí *in vitro* ở bảng 3.2. cho thấy, tiềm năng sinh khí ở các mẫu bổ sung chế phẩm A có sự khác biệt so với mẫu đối chứng ($P < 0,05$), tiềm năng sinh khí đạt cao nhất ở mức 11‰ (29,6ml) và thấp nhất ở mức đối chứng 23,5ml. Khi bổ sung chế phẩm C, tiềm năng sinh khí không có sự khác biệt ở hai mức bổ sung 11‰ và 15‰, tuy nhiên vẫn có sự khác biệt giữa các mức bổ

sung chế phẩm và đối chứng ($P<0,05$). Tiềm năng sinh khí đạt cao nhất ở mức bổ sung 13‰ (29,3ml), đạt thấp nhất ở đối chứng 23,5ml ($P<0,05$).



Hình 3.1. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men *in vitro* rơm (Ghi chú: (A): Best^FRumen[®]; (C): Best^FRumen[®])

Hệ số c (%/h) biểu hiện tốc độ sinh khí khi lên men của các mẫu thức ăn trong thí nghiệm sinh khí *in vitro*. Trong thí nghiệm này khi bổ sung chế phẩm A hoặc C, không thấy có sự khác biệt rõ rệt về tốc độ lên men sinh khí giữa các mức bổ sung chế phẩm và mẫu đối chứng. Tốc độ lên men sinh khí đạt cao nhất khi bổ sung chế phẩm A ở mức 11‰ (4,8%/h), chế phẩm C ở mức 13‰ (4,5%/h) và thấp nhất ở đối chứng (4,0%/h).

Khoảng thời gian (L) là tham số rất quan trọng trong động thái sinh khí *in vitro*. Pha dừng ở đây dao động từ 4,1^h đến 4,4^h, hầu như không có sự khác nhau đáng kể về pha dừng khi ta bổ sung chế phẩm vào rơm so với đối chứng ($P>0,05$).

Tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (OMD) và axit béo bay hơi tổng số (VFA) có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$) giữa các mẫu ủ, đồng thời các chỉ số này có xu hướng tăng lên khi bổ sung chế phẩm. Tuy nhiên, bổ sung chế phẩm A ở mức 11‰ và chế phẩm B ở mức 13‰ cho các giá trị OMD và VFA tương ứng

là (37,0; 36,3% và 0,46; 0,45 mmol) cao hơn và sai khác so với các liều bổ sung còn lại và đối chứng ($P<0,05$).

3.1.3. Tốc độ và đặc điểm sinh khí *in vitro* của cỏ khô Pangola

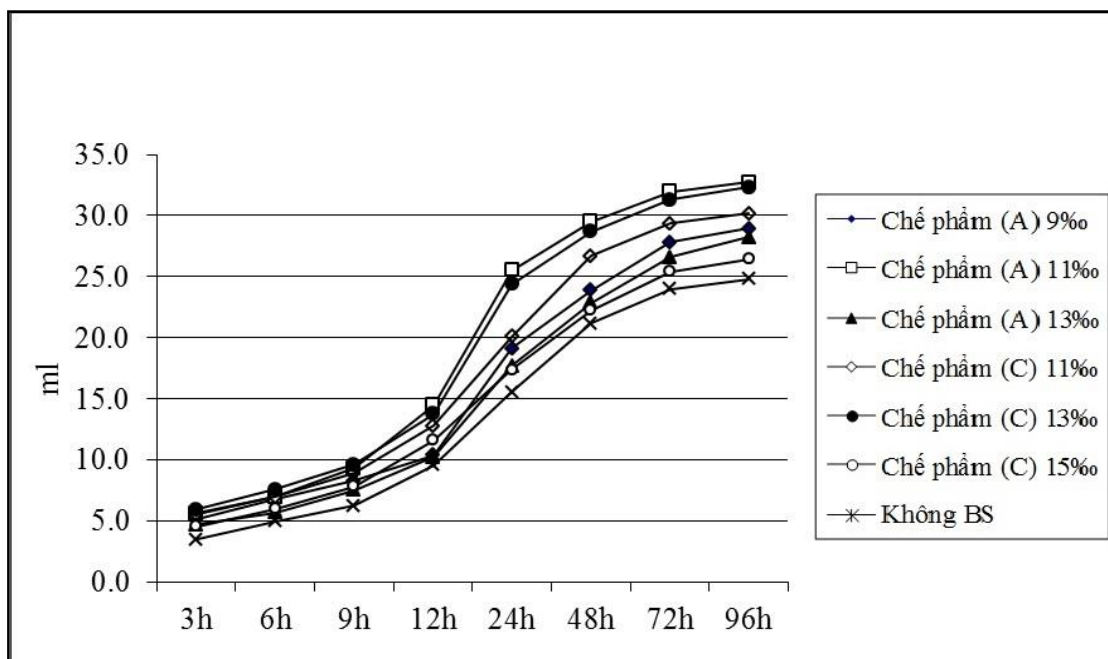
Lượng khí sản sinh và đặc điểm sinh khí trong điều kiện *in vitro* của cỏ khô Pangola khi được bổ sung chế phẩm ở các mức khác nhau được trình bày ở bảng 3.3 và minh họa qua hình 3.2.

Bảng 3.3. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men *in vitro* cỏ khô Pangola

Thông số	0 (ĐC)	Liều bổ sung A			Liều bổ sung C			SEM
		9‰	11‰	13‰	11‰	13‰	15‰	
Lượng khí sinh ra (mL/200 mg DM)								
<i>Thời gian ủ (giờ)</i>								
3	3,5 ^c	5,1 ^{ab}	5,6 ^a	4,7 ^b	5,5 ^{ab}	5,9 ^a	4,6 ^b	0,31
6	5,0 ^c	6,7 ^{ab}	7,0 ^{ab}	5,7 ^{bc}	7,0 ^{ab}	7,6 ^a	6,0 ^{bc}	0,34
9	6,2 ^c	8,3 ^{ab}	9,3 ^{ab}	7,5 ^{bc}	8,9 ^{ab}	9,6 ^a	7,8 ^{ab}	0,45
12	9,5 ^d	10,4 ^{cd}	14,5 ^a	10,2 ^{cd}	12,8 ^{abc}	13,8 ^{ab}	11,6 ^{bcd}	0,73
24	15,6 ^d	19,1 ^{bc}	25,5 ^a	17,7 ^c	20,1 ^b	24,4 ^a	17,4 ^{cd}	1,40
48	21,2 ^d	23,9 ^c	29,5 ^a	22,9 ^{cd}	26,7 ^b	28,7 ^a	22,3 ^{cd}	1,24
72	24,0 ^d	27,8 ^{bc}	31,9 ^a	26,6 ^c	29,4 ^{ab}	31,3 ^a	25,4 ^{cd}	1,12
96	24,8 ^e	29,0 ^c	32,7 ^a	28,2 ^{cd}	30,2 ^{bc}	32,3 ^{ab}	26,4 ^{de}	1,10
Đặc điểm sinh khí								
A	3,5 ^c	5,1 ^{ab}	5,6 ^a	4,7 ^b	5,5 ^{ab}	5,9 ^a	5,6 ^b	0,31
B	22,3 ^c	24,8 ^{ab}	27,3 ^a	24,6 ^{bc}	25,6 ^{ab}	26,6 ^{ab}	22,2 ^c	0,74
A + B	25,7 ^c	29,9 ^b	32,9 ^a	29,3 ^b	31,1 ^a	32,5 ^a	26,8 ^c	1,03
C	3,7 ^b	3,5 ^b	5,2 ^a	3,3 ^b	3,9 ^b	4,8 ^a	3,9 ^b	0,26
L	3,8 ^c	4,0 ^b	4,3 ^a	4,0 ^b	4,0 ^b	4,2 ^a	3,7 ^c	0,08
OMD	32,3 ^c	35,4 ^b	41,1 ^a	34,1 ^{bc}	36,3 ^b	40,1 ^a	33,9 ^c	1,24
VFA	0,34 ^d	0,42 ^{ab}	0,56 ^a	0,39 ^c	0,44 ^b	0,54 ^a	0,38 ^c	0,03

Ghi chú: ^{a, b, c, d, e,...} các giá trị trung bình trong cùng một hàng với các chữ cái khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$); Chế phẩm A: Best^FRumen[®]; Chế phẩm C: Best^FRumen[®]; A: Khí ban đầu (ml); B: Khí sinh ra khi lên men (ml); (A+B): Tiềm năng sinh khí; c: Tốc độ sinh khí (%/giờ); L: Pha dừng (giờ); OMD: Tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (%); VFA: axit béo bay hơi tổng số (mmol/200mg chất khô); SEM: sai số số trung bình

Kết quả bảng 3.3 cho một số nhận xét như sau: Tại thời điểm 24^h lượng khí tích lũy ở mẫu đối chứng thấp hơn rõ rệt ($P<0,05$) các mẫu bổ sung chế phẩm, đạt cao nhất ở mức bổ sung 11‰ (25,5ml) và 13‰ (24,4ml) lần lượt đối với chế phẩm A và chế phẩm C. Lượng khí sinh ra đạt thấp nhất ở mức đối chứng 15,6ml.



Hình 3.2. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men *in vitro* cỏ khô *Pangola* (Ghi chú: (A): Best^FRumen[®]; (C): Best^FRumen[®])

Số liệu bảng 3.3 cho thấy tiềm năng sinh khí ở các mẫu bổ sung chế phẩm A có sự khác biệt so với mẫu đối chứng ($P<0,05$) và tiềm năng sinh khí giữa hai mức bổ sung 9‰ và 13‰ là gần như bằng nhau. Tiềm năng sinh khí đạt cao nhất ở mức 11‰ (32,9ml), thấp nhất ở mức đối chứng 25,7ml. Đối với chế phẩm C, có sự khác biệt về tiềm năng sinh khí khi bổ sung chế phẩm ở mức 11‰ và 13‰ so với đối chứng. Tuy nhiên, không có sự khác biệt rõ rệt khi bổ sung ở mức 15‰ so với đối chứng. Tiềm năng sinh khí đạt cao nhất khi bổ sung chế phẩm C ở mức 13‰ (32,5ml) và thấp nhất ở mức đối chứng 25,7ml ($P<0,05$).

Tốc độ sinh khí c đạt cao nhất ở mức bổ sung 11‰ chế phẩm A và 13‰ chế phẩm C cao hơn hẳn đối chứng (5,2 và 4,8 so với 3,7%/h) trong khi đó các mức bổ sung còn lại gần như không có sự khác biệt so với đối chứng ($P>0,05$).

Pha dừng ở đây dao động từ 4^h đến 4,3^h, hầu như không có sự khác nhau đáng kể về pha dừng khi ta bổ sung chế phẩm A hoặc C ở các mức khác nhau vào rơm so với đối chứng ($P>0,05$).

Tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (OMD) và axit béo bay hơi tổng số (VFA) của cỏ khô Pangola trong thí nghiệm cũng cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$) giữa các mẫu ủ, khi bổ sung chế phẩm enzyme thì giá trị các chỉ số này có xu hướng tăng lên. Tuy nhiên, bổ sung chế phẩm A ở mức 11‰ và chế phẩm B ở mức 13‰ cho các giá trị OMD và VFA tương ứng là (41,1; 40,1% và 0,56; 0,54 mmol) đạt cao nhất so với các liều bổ sung còn lại và đối chứng ($P<0,05$).

3.1.4. Tốc độ và đặc điểm sinh khí *in vitro* của cỏ voi

Lượng khí sinh ra của cỏ voi khi bổ sung các mức chế phẩm sinh học được trình bày ở bảng 3.4 và minh họa qua hình 3.3.

Kết quả ở bảng 3.4 cho thấy, lượng khí tích lũy trong quá trình lên men tăng dần theo thời gian ủ và tăng mạnh tại thời điểm 24^h sau ủ. Tại thời điểm này, lượng khí sinh ra có sự khác biệt đáng kể ($P<0,05$) giữa mẫu đối chứng so với mẫu có bổ sung chế phẩm, trừ công thức bổ sung chế phẩm A ở mức 13‰ là không có sự khác biệt với đối chứng. Khi bổ sung chế phẩm A vào cỏ voi thì tốc độ sinh khí đạt cao nhất ở mức bổ sung 11‰ (31ml) và thấp nhất ở mức 13‰ (23,9ml) nhưng vẫn cao hơn so với đối chứng (23,7ml). Tương tự như vậy khi bổ sung chế phẩm C vào cỏ voi thì lượng khí sinh ra có sự khác biệt đáng kể ($P<0,05$) giữa mẫu có bổ sung chế phẩm ở tất cả các mức bổ sung so với mẫu đối chứng. Lượng khí sinh ra đạt cao nhất ở mức bổ sung 13‰ (30ml)

và thấp nhất là mức bổ sung 15‰ (26ml) nhưng vẫn cao hơn mức đối chứng (23,7ml).

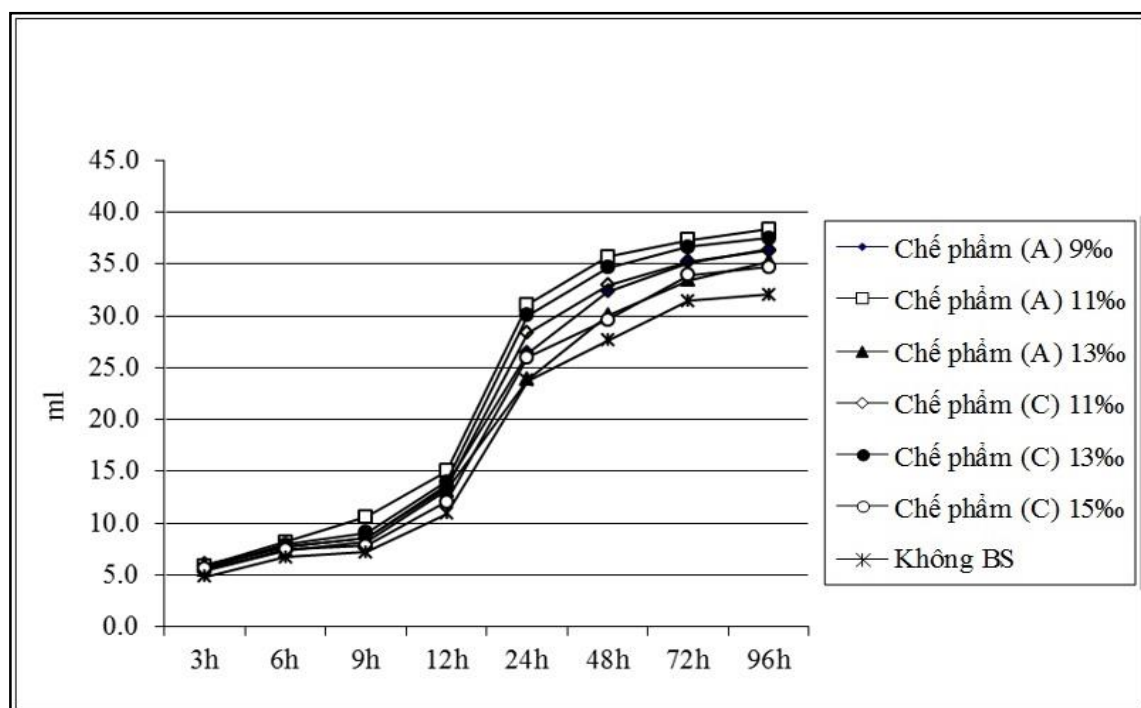
Bảng 3.4. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men *in vitro* cỏ voi

Thông số	0 (ĐC)	Liều bổ sung A			Liều bổ sung C			SEM
		9‰	11‰	13‰	11‰	13‰	15‰	
Lượng khí sinh ra (mL/200 mg DM)								
<i>Thời gian ủ (giờ)</i>								
3	4,8 ^{ab}	6,0 ^a	5,8 ^a	5,4 ^{ab}	5,7 ^{ab}	5,6 ^{ab}	5,6 ^{ab}	0,15
6	6,7 ^b	7,7 ^{ab}	8,2 ^a	7,3 ^{ab}	7,7 ^{ab}	7,9 ^{ab}	7,5 ^{ab}	0,18
9	7,2 ^c	8,5 ^b	10,6 ^a	8,2 ^{bc}	8,6 ^b	9,1 ^b	7,8 ^{bc}	0,41
12	10,9 ^d	13,6 ^{abc}	15,0 ^a	13,1 ^{bc}	13,4 ^{abc}	14,0 ^{ab}	12,1 ^{cd}	0,50
24	23,7 ^e	26,4 ^{cd}	31,0 ^a	23,9 ^e	28,3 ^{bc}	30,0 ^{ab}	26,0 ^d	1,08
48	27,6 ^c	32,3 ^{ab}	35,7 ^a	30,1 ^{bc}	32,9 ^{ab}	34,7 ^a	29,6 ^{bc}	1,10
72	31,5 ^c	35,1 ^{ab}	37,3 ^a	33,4 ^{bc}	35,3 ^{ab}	36,6 ^{ab}	33,9 ^{bc}	0,75
96	32,0 ^c	36,4 ^{ab}	38,3 ^a	35,2 ^{ab}	36,3 ^{ab}	37,5 ^{ab}	34,7 ^{bc}	0,78
Đặc điểm sinh khí								
A	4,8 ^b	6,0 ^a	5,8 ^a	5,4 ^{ab}	5,7 ^{ab}	5,6 ^{ab}	5,6 ^{ab}	0,15
B	28,0 ^c	31,1 ^{ab}	33,0 ^a	30,6 ^{abc}	31,2 ^{ab}	32,6 ^{ab}	29,9 ^{bc}	0,64
A + B	32,8 ^c	37,2 ^{ab}	38,9 ^a	36,0 ^{abc}	36,9 ^{ab}	38,2 ^{ab}	35,4 ^{bc}	0,76
C	4,3 ^{bc}	4,3 ^{bc}	5,4 ^a	3,9 ^c	4,8 ^{ab}	5,1 ^a	4,3 ^{bc}	0,20
L	4,5 ^a	4,5 ^a	4,3 ^a	4,2 ^a	4,5 ^a	4,5 ^a	4,6 ^a	0,05
OMD	40,8 ^{bc}	43,2 ^b	47,3 ^a	41,0 ^{bc}	44,9 ^{ab}	46,4 ^a	42,8 ^c	0,96
VFA	0.52 ^d	0.58 ^c	0.68 ^a	0.53 ^d	0.62 ^b	0.66 ^a	0.57 ^c	0.02

Ghi chú: a, b, c, d, e,... các giá trị trung bình trong cùng một hàng với các chữ cái khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05); Chế phẩm A: Best^FRumen[®]; Chế phẩm C: Best^FRumen[®]; A: Khí ban đầu (ml); B: Khí sinh ra khi lên men (ml); (A+B): Tiềm năng sinh khí; c: Tốc độ sinh khí (%/giờ); L: Pha dừng (giờ); OMD: Tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (%); VFA: axit béo bay hơi tổng số (mmol/200mg chất khô); SEM: sai số số trung bình.

Động thái sinh khí *in vitro* của cỏ voi khi bổ sung chế phẩm sinh học ở bảng 3.4 cho thấy, tiềm năng sinh khí ở các mẫu bổ sung chế phẩm Best^FRumen[®] có sự khác biệt so với mẫu đối chứng (P<0,05), tiềm năng sinh khí đạt cao nhất ở mức 11‰ (38,9ml), thấp nhất ở mức đối chứng 32,8ml. Đối với chế phẩm C, chúng tôi thấy tiềm năng sinh khí ở các mẫu bổ sung chế phẩm

có sự khác biệt so với mẫu đối chứng ($P < 0,05$), tuy nhiên không có sự khác biệt giữa hai mức bổ sung 11‰ và 13‰. Tiềm năng sinh khí đạt cao nhất ở mức 13‰ (38,2ml), thấp nhất ở mức đối chứng 32,8ml ($P < 0,05$).



Hình 3.3. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men *in vitro* cỏ voi (Ghi chú: (A): Best^FRumen[®]; (C): Best^FRumen[®])

Tốc độ sinh khí c: Khi bổ sung chế phẩm A ở mức 11‰ và 13‰ thì tốc độ lên men sinh khí có sự khác biệt so với đối chứng, còn bổ sung ở mức 9‰ không tạo nên sự khác biệt đáng kể so với đối chứng ($P < 0,05$). Tốc độ sinh khí đạt cao nhất ở mức bổ sung 11‰ (5,4%/h) và cao hơn hẳn đối chứng 4,3%/h ($P < 0,05$). Tương tự như vậy khi bổ sung chế phẩm C ở mức 11‰ và 13‰ thì tốc độ lên men sinh khí có sự khác biệt so với đối chứng, còn bổ sung ở mức 15‰ không tạo nên sự khác biệt đáng kể so với đối chứng. Tốc độ sinh khí đạt cao nhất ở mức bổ sung 13‰ (5,1%/h) và cao hơn hẳn đối chứng 4,3%/h ($P < 0,05$).

Pha dừng ở đây dao động từ 4,2^h đến 4,6^h, hầu như không có sự khác nhau đáng kể về pha dừng khi ta bổ sung chế phẩm vào cỏ voi so với đối chứng.

Về các chỉ tiêu tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (OMD) và axit béo bay hơi tổng số (VFA) của cỏ voi cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$) giữa các mẫu ủ, khi bổ sung chế phẩm enzyme thì giá trị các chỉ số này có xu hướng tăng lên. Tuy nhiên, cũng như mẫu rơm và cỏ khô Pangola, khi bổ sung chế phẩm A ở mức 11‰ và chế phẩm B ở mức 13‰ thì các giá trị OMD và VFA tương ứng là (47,3; 46,4% và 0,68; 0,66 mmol) đạt cao nhất so với các liều bổ sung còn lại và đối chứng ($P<0,05$).

3.1.5. Tốc độ và đặc điểm sinh khí *in vitro* của thân cây ngô

Tốc độ và đặc điểm sinh khí của thân cây ngô khi bổ sung chế phẩm sinh học được trình bày ở bảng 3.5 và minh họa qua hình 3.4.

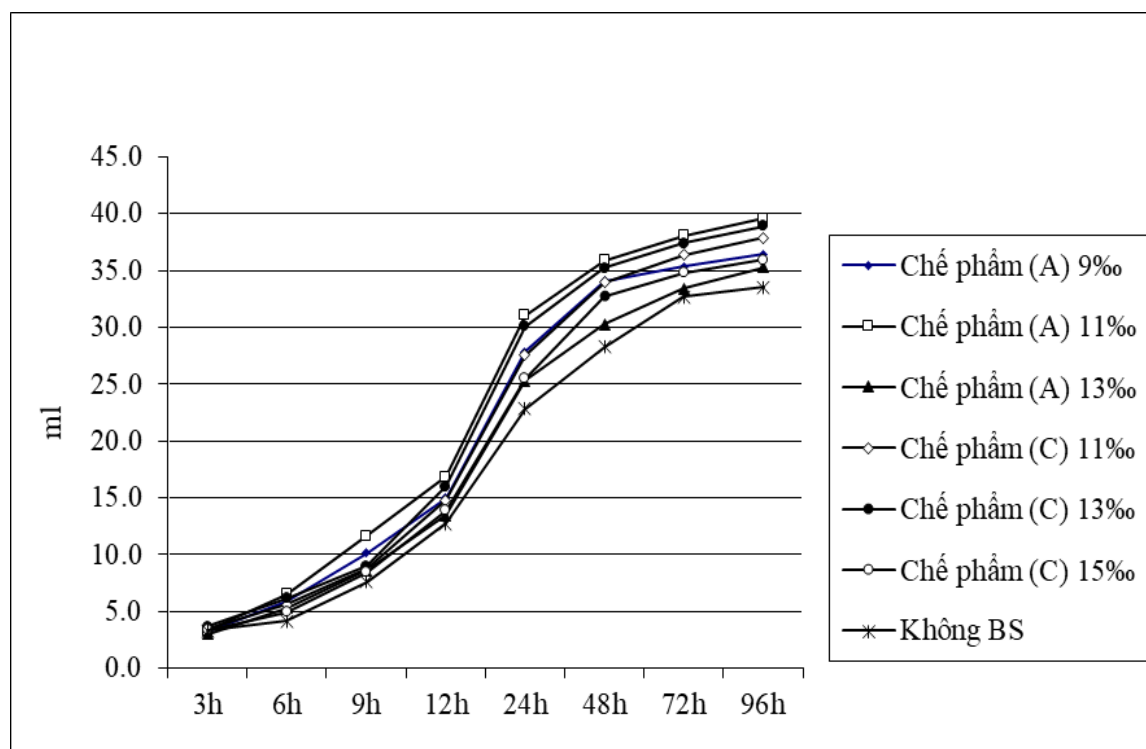
Số liệu bảng 3.5 cho thấy, tại thời điểm 24h sau ủ, lượng khí sinh ra có sự khác biệt đáng kể giữa mẫu đối chứng (không bổ sung chế phẩm) và mẫu có bổ sung chế phẩm ($P<0,05$). Khi bổ sung chế phẩm A vào thân cây ngô thì lượng khí sinh ra đạt cao nhất ở mức bổ sung 11‰ (31ml) và thấp nhất là 13‰ (25,3ml) nhưng vẫn cao hơn mức đối chứng (22,8ml). Tương tự như vậy khi bổ sung chế phẩm C vào thân cây ngô, lượng khí sinh ra có sự khác biệt đáng kể giữa mẫu đối chứng (không bổ sung chế phẩm) và mẫu có bổ sung chế phẩm ($P<0,05$). Lượng khí sinh ra đạt cao nhất ở mức bổ sung 13‰ (30,1ml) và thấp nhất là 15‰ (25,5ml) nhưng vẫn cao hơn mức đối chứng (22,8ml).

Bảng 3.5. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men *in vitro* thân cây ngô

Thông số	0 (ĐC)	<u>Liều bổ sung A</u>			<u>Liều bổ sung C</u>			SEM
		9‰	11‰	13‰	11‰	13‰	15‰	
Lượng khí sinh ra (mL/200 mg DM)								
<i>Thời gian ủ (giờ)</i>								
3	3,3 ^a	3,2 ^a	3,3 ^a	3,0 ^a	3,5 ^a	3,7 ^a	3,4 ^a	0,08
6	4,2 ^d	5,8 ^{abc}	6,5 ^a	5,3 ^{bc}	5,6 ^{abc}	6,2 ^{ab}	4,9 ^{cd}	0,30
9	7,6 ^c	10,2 ^{ab}	11,6 ^a	8,7 ^{bc}	8,8 ^{bc}	9,0 ^{bc}	8,5 ^{bc}	0,49
12	12,8 ^d	15,0 ^{abc}	16,9 ^a	13,5 ^{cd}	14,8 ^{bcd}	16,0 ^{ab}	13,9 ^{cd}	0,54

Thông số	0 (ĐC)	Liều bổ sung A			Liều bổ sung C			SEM
		9‰	11‰	13‰	11‰	13‰	15‰	
24	22,8 ^c	27,9 ^{abc}	31,0 ^a	25,3 ^{bc}	27,5 ^{abc}	30,1 ^{ab}	25,5 ^{bc}	1,08
48	28,2 ^c	34,1 ^{ab}	35,9 ^a	30,3 ^{bc}	33,9 ^{ab}	35,2 ^a	32,7 ^{ab}	1,04
72	32,7 ^b	35,3 ^{ab}	38,1 ^a	33,4 ^{ab}	36,4 ^{ab}	37,4 ^{ab}	34,8 ^{ab}	0,76
96	33,5 ^b	36,4 ^{ab}	39,6 ^a	35,3 ^{ab}	37,9 ^{ab}	38,9 ^a	36,0 ^{ab}	0,81
Đặc điểm sinh khí								
A	3,3 ^a	3,2 ^a	3,3 ^a	3,0 ^a	3,5 ^a	3,7 ^a	3,4 ^a	0,08
B	30,7 ^b	33,4 ^{ab}	36,0 ^a	32,0 ^{ab}	34,6 ^{ab}	35,3 ^a	33,0 ^{ab}	0,71
A + B	34,0 ^b	36,7 ^{ab}	39,3 ^a	35,0 ^{ab}	38,1 ^{ab}	39,0 ^a	36,4 ^{ab}	0,76
C	4,4 ^c	5,7 ^{ab}	6,0 ^a	4,9 ^{bc}	5,0 ^{bc}	5,5 ^{ab}	4,9 ^{bc}	0,21
L	4,2 ^a	3,9 ^{ab}	3,7 ^b	3,9 ^{ab}	4,1 ^{ab}	4,1 ^{ab}	4,2 ^{ab}	0,07
OMD	40,0 ^d	44,5 ^b	47,3 ^a	42,2 ^c	44,1 ^b	46,5 ^a	42,4 ^c	0,96
VFA	0,50 ^d	0,62 ^b	0,68 ^a	0,56 ^c	0,61 ^b	0,66 ^a	0,56 ^c	0,02

Ghi chú: a, b, c, d, e,... các giá trị trung bình trong cùng một hàng với các chữ cái khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); Chế phẩm A: Best^FRumen®; Chế phẩm C: Best^FRumen®; A: Khí ban đầu (ml); B: Khí sinh ra khi lên men (ml); (A+B): Tiềm năng sinh khí; c: Tốc độ sinh khí (%/giờ); L: Pha dừng (giờ); OMD: Tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (%); VFA: axit béo bay hơi tổng số (mmol/200mg chất khô); SEM: sai số số trung bình



Hình 3.4. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến lượng khí sinh ra khi lên men *in vitro* thân cây ngô (Ghi chú: (A): Best^FRumen®; (C): Best^FRumen®)

Động thái sinh khí *in vitro* của thân cây ngô khi bổ sung chế phẩm sinh học ở bảng 3.5 cho thấy, tiềm năng sinh khí ở các mẫu bổ sung chế phẩm A trên thân cây ngô có sự khác biệt so với mẫu đối chứng ($P<0,05$), tuy nhiên giữa hai mức 9‰ và 13‰ thì tiềm năng sinh khí không có sự khác biệt rõ rệt. Tiềm năng sinh khí đạt cao nhất ở mức bổ sung 11‰ (39,3ml), thấp nhất ở mức đối chứng 34ml. Đối với chế phẩm C, tiềm năng sinh khí ở các mẫu bổ sung chế phẩm trên thân cây ngô có sự khác biệt so với mẫu đối chứng ($P<0,05$), tuy nhiên, giữa hai mức 11‰ và 15‰ thì tiềm năng sinh khí không có sự khác biệt rõ rệt. Tiềm năng sinh khí đạt cao nhất ở mức bổ sung 13‰ (39ml), thấp nhất ở mức đối chứng 34ml.

Tốc độ sinh khí c, ở tất cả các mức bổ sung chế phẩm đều cao hơn đối chứng rõ rệt với $P<0,05$, đạt cao nhất ở mức bổ sung 11‰ (6,0%/h) ở chế phẩm A và 13‰ (5,5%/h) ở chế phẩm C, thấp nhất ở đối chứng (4,4%/h).

Pha dừng phụ thuộc vào chất dễ lên men có trong khẩu phần. Pha dừng ở đây dao động từ 3,7^h đến 4,2^h. Pha dừng ở các mức bổ sung chế phẩm đều có sự khác biệt rõ rệt so với đối chứng với $P<0,05$. Pha dừng dài nhất ở mẫu đối chứng (4,2h), có thể là do vi sinh vật mất nhiều thời gian ban đầu để tấn công phá vỡ thức ăn khi ủ thí nghiệm. Pha dừng ngắn nhất là ở mức 11‰ khi bổ sung chế phẩm A (3,7h).

Các chỉ tiêu tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (OMD) và axit béo bay hơi tổng số (VFA) của cỏ khô cỏ cây ngô sau thu bắp cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$) giữa các mẫu ủ, khi bổ sung chế phẩm enzyme thì giá trị các chỉ số này có xu hướng tăng lên. Khi bổ sung chế phẩm A ở mức 11‰ và chế phẩm B ở mức 13‰ thì các giá trị OMD và VFA tương ứng là (47,3; 46,5% và 0,68; 0,66 mmol) đạt cao nhất so với các liều bổ sung còn lại và đối chứng ($P<0,05$).

Thảo luận chung thí nghiệm 1

Khi nồng độ enzyme tăng, lượng khí sinh ra theo xu hướng tăng lên. Tuy nhiên, khi nồng độ enzyme đạt đến một ngưỡng nào đó thì nồng độ cơ chất sẽ trở thành yếu tố hạn chế tốc độ phản ứng. Điều này là hoàn toàn hợp lý vì lượng khí sinh ra không những phụ thuộc vào bản chất của thức ăn mà còn phụ thuộc vào nồng độ các enzyme có mặt trong dạ cỏ. Trong ngưỡng giới hạn, nồng độ enzyme càng cao thì tốc độ phản ứng càng cao, lượng khí sinh ra càng cao, Pell và Schofield (1) cho rằng điều cốt lõi của tốc độ sinh khí khi lên men *in vitro* là thời gian ủ được tính toán trên cơ sở lấy giá trị lượng khí sinh ra trừ đi lượng khí sinh ra ở thời điểm trước đó và giá trị này có thể cho ta những gợi ý sơ bộ về tỷ lệ tiêu hóa khác nhau của thức ăn.

Lượng khí sản sinh ra khi lên men *in vitro* và khả năng tiêu hóa thức ăn *in vivo* có mối liên hệ chặt chẽ với nhau, khí sinh ra là kết quả của quá trình lên men các chất dinh dưỡng trong thức ăn. Các nghiên cứu trước đây cho thấy, khả năng tồn tại của vi khuẩn axit lactic trong dạ cỏ làm thay đổi các thông số của quá trình lên men dạ cỏ *in vitro* và ảnh hưởng đến hệ vi sinh vật dạ cỏ (Gollop và cộng sự., 2005; Weinberg và cộng sự., 2004). Kết quả thu được từ nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng việc bổ sung probiotic đã nâng cao tốc độ lên men dạ cỏ bằng cách tăng lượng khí sản sinh, các thông số về đặc điểm sinh khí lên men và tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (OMD). Việc đo lượng khí sản sinh trong ống nghiệm đã cung cấp thông tin hữu ích về đặc điểm tiêu hóa của các phân hòa tan và không hòa tan trong thức ăn (Getachew và cộng sự., 1998). Việc khí sinh ra ban đầu (A) có giá trị thấp là do quá trình lên men phân hòa tan bị trì hoãn do có sự chậm trễ trong quá trình xâm nhập của vi sinh vật hoặc thời gian trễ hay pha dừng (L) sau khi phân hủy phân hòa tan trước khi lên men thành tế bào (Blümmel và Becker, 1997). Sự gia tăng lượng khí tích lũy, khối lượng khí sản sinh trong quá trình lên men (B) tạo ra từ phần không hòa tan và tiềm năng sinh khí (A+B)

cho thấy khả năng tiêu hóa cơ chất và hoạt động của vi khuẩn phân giải xơ tăng lên. Soriano và cộng sự. (2014) báo cáo rằng không có sự khác biệt đáng kể về tổng lượng khí sản sinh, đặc điểm sinh khí và OMD khi bổ sung 1% *Lactobacillus mucosae* vào hỗn hợp dung dịch trong xi lanh chạy gas. Các chủng vi khuẩn axit lactic và mức độ khác nhau có thể đã tác động làm biến đổi quá trình lên men dạ cỏ. Vai trò của vi sinh vật dạ cỏ, bao gồm vi khuẩn và động vật nguyên sinh, trong việc tiêu hóa các phần thức ăn hòa tan và không hòa tan của thức ăn đã được biết rõ. Trong nghiên cứu này, sự cải thiện đặc điểm sản xuất khí và OMD có thể được giải thích là do bổ sung chế phẩm enzyme phân giải xơ, theo đó cải thiện hoạt động của quần thể vi sinh vật.

Trong nghiên cứu này, việc bổ sung enzyme phân giải xơ làm tăng đáng kể lượng axit béo bay hơi tổng số (VFA) trong dịch dạ cỏ. Các thành phần cấu trúc xơ thành tế bào thực vật là nguồn cung cấp carbohydrate chính cho gia súc nhai lại, chúng được vi sinh vật dạ cỏ lên men để tạo ra VFA, sau đó được hấp thụ qua thành dạ cỏ, đóng góp một nguồn năng lượng chính cho động vật chủ (Candyrine và cộng sự., 2017). Các thành phần dinh dưỡng của cơ chất được lên men *in vitro*, sản sinh VFA và khí (chủ yếu là CO₂ và CH₄) và tạo điều kiện cho tế bào vi sinh vật phát triển (Getachew và cộng sự., 1998). Việc cải thiện quá trình tiêu hóa cơ chất thông qua bổ sung probiotic đã góp phần vào việc sản xuất VFA cao hơn. Phát hiện này phù hợp với Soriano và cộng sự. (2014), người đã báo cáo sự cải thiện đáng kể nồng độ VFA riêng lẻ và tổng bằng cách đưa 1% phần nổi của *L. mucosae* vào ủ trong ống nghiệm trong thời gian 48^h.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy, bổ sung chế phẩm probiotic có thể đã tác động lên quần thể vi sinh vật trong quá trình lên men dạ cỏ *in vitro*. Theo đó làm tăng tổng số vi khuẩn, vi khuẩn phân giải xơ và tổng số động vật nguyên sinh. Việc cải thiện tổng lượng khí sinh ra trong quá trình lên men cho thấy sự gia tăng hoạt động của vi khuẩn phân giải xenluloza trong dịch dạ cỏ

vì hoạt động của vi khuẩn phân giải xenlulo càng cao thì tạo ra VFA và khí càng cao. Theo Krause và cộng sự. (1999) bổ sung enzyme phân giải xơ đã tác động theo chiều hướng có lợi cho hoạt động của *Fibrobacter*, *Ruminococcus* và *Butyrivibrio* là những vi khuẩn trong dạ cỏ chiếm ưu thế trong phân giải chất xơ của thành tế bào thực vật để tạo ra VFA. Tương tự như vậy, khi quần thể vi khuẩn phân giải xenlulo tăng lên có thể giải thích cho việc làm tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ (OMD) cao hơn. Một số nghiên cứu cho thấy, tác dụng của probiotic mà không cần sự hiện diện của tế bào sống (Loh và cộng sự., 2010; Thanh và cộng sự., 2010; Thu và cộng sự., 2011b).

Trong nghiên cứu hiện tại, việc cải thiện tổng số vi khuẩn và vi khuẩn phân giải xenluloza có thể là do sự tương tác của probiotic enzyme phân giải xơ bổ sung có chứa các chất chuyển hóa của vi khuẩn chủng nấm sợi hữu ích *A.oryzae* và vi khuẩn *Lactobacillus*, *Bacillus* và *Saccharomyces* với vi khuẩn dạ cỏ. Yoon và Stern (1995) đã báo cáo rằng việc kích thích sự phát triển của vi sinh vật, thay đổi mô hình lên men trong dạ cỏ và cải thiện khả năng tiêu hóa là những phương thức hoạt động của probiotics được bổ sung trong khẩu phần ăn của gia súc nhai lại. Bổ sung probiotic làm tăng cường khả năng thích nghi của vi khuẩn trong dạ cỏ động vật nhai lại với sự hiện diện của axit lactic hoặc ngăn cản sự tích tụ axit lactic trong dạ cỏ bằng cách phân giải axit lactic thành axit axetic (Ghorbani và cộng sự., 2002; Nocek và cộng sự., 2002). Theo Jiao và cộng sự. (2017) bổ sung probiotic đã tạo ra những điều kiện thuận lợi cho các hoạt động của nhóm vi khuẩn phân giải xenlulo và tăng khả năng tiêu hóa xơ. Điều này phù hợp với nghiên cứu hiện tại, trong đó sự gia tăng lượng khí sản sinh khi lên men *in vitro* thức ăn giàu xơ đồng thời cải thiện tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ của thức ăn OMD khi bổ sung probiotic.

Kết luận sơ bộ thí nghiệm 1

- Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của các loại thức ăn trong

nghiên cứu này có sự biến động do vậy lượng khí sinh ra, các thông số về đặc điểm sinh khí trong quá trình lên men *in vitro*, giá trị tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ và hàm lượng axit béo bay hơi tổng số có sự khác nhau tùy loại thức ăn.

- Việc bổ sung chế phẩm emzyme phân giải xơ đã làm tăng lượng khí sản sinh, tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ và hàm lượng axit béo bay hơi

- Bổ sung chế phẩm A (Best^FRumen^①) mức 9‰ và 11‰; chế phẩm C (Best^FRumen^②) mức 11‰ và 13‰ cho các kết quả về lượng khí sản sinh, tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ và hàm lượng axit béo bay hơi cao hơn so với mức khác.

- Tiếp tục nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm A (Best^FRumen^①) mức 9‰ và 11‰ và chế phẩm C (Best^FRumen^②) mức 11‰ và 13‰ đến tốc độ và đặc điểm phân giải *in sacco* của một số thức ăn giàu xellulose làm thức ăn cho gia súc nhai lại để lựa chọn mức bổ sung thích hợp.

3.2. ẢNH HƯỞNG CỦA BỔ SUNG CHẾ PHẨM SINH HỌC ĐẾN KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI MỘT SỐ THỨC ĂN GIÀU XƠ BẰNG PHƯƠNG PHÁP *IN SACCO* VÀ THAY ĐỔI HỆ VI SINH VẬT DẠ CỎ

Trên cơ sở kết quả thu được của nội dung 1, chúng tôi lựa chọn bổ sung chế phẩm A (Best^FRumen^①) mức 9‰ và 11‰; chế phẩm C (Best^FRumen^②) bổ sung mức 11‰ và 13‰ được sử dụng cho nghiên cứu nội dung này để lựa chọn mức bổ sung thích hợp.

3.2.1. Tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô *in sacco* của rơm

Tỷ lệ và đặc điểm phân giải vật chất khô *in sacco* của rơm được trình bày ở bảng 3.6 và minh họa qua hình 3.5a và 3.5b.

Kết quả ở bảng 3.6 cho thấy, tỷ lệ phân giải chất khô (DM) của rơm tại các thời điểm là khác nhau giữa các khẩu phần. Tốc độ phân giải tăng mạnh ở khoảng thời gian từ 4 – 48^h và từ 72 – 96^h có tăng nhưng chậm hơn. Ở tất cả các thời điểm, tốc độ phân giải DM của rơm của các khẩu phần bổ sung chế

phẩm đều cao hơn khẩu phần đối chứng ($P<0,05$). Tại thời điểm 24^h ủ mẫu, tỷ lệ phân giải DM của rơm ở các khẩu phần bổ sung 40g chế phẩm (A) và (C) mức 50g đạt tương ứng là 45,80 và 44,36% trong khi đó giá trị này ở khẩu phần đối chứng là 34,04% ($P<0,05$) đồng thời cao hơn hẳn các mức bổ sung khác. Nhìn chung, tỷ lệ phân giải DM của rơm ở khẩu phần được bổ sung chế phẩm sinh học cao hơn 30% so với khẩu phần đối chứng, đặc biệt ở giai đoạn 24^h ủ mẫu.

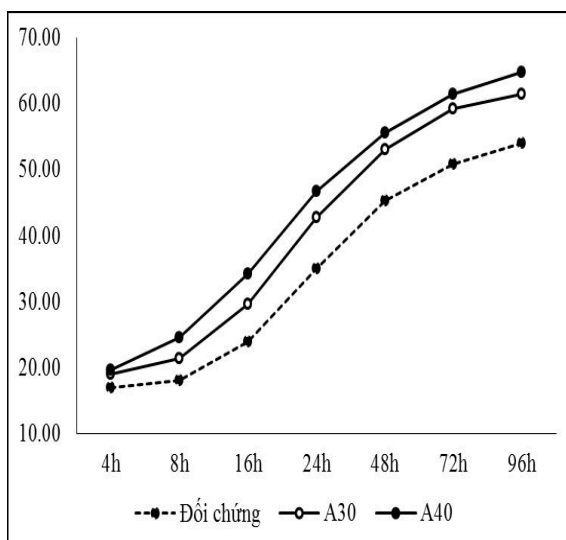
Bảng 3.6. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô in sacco của rơm

Thông số	ĐC (0)	Liều bổ sung A (g)		Liều bổ sung C (g)		SEM
		30	40	40	50	
Tỷ lệ phân giải (%/DM)						
<i>Thời gian ủ (giờ)</i>						
4	16,90 ^b	19,04 ^a	19,66 ^a	19,37 ^a	18,73 ^a	1,09
8	18,13 ^c	21,42 ^b	24,58 ^a	21,66 ^b	25,31 ^a	2,86
16	23,97 ^c	27,56 ^b	33,17 ^a	26,99 ^b	32,47 ^a	3,90
24	34,04 ^d	41,79 ^c	45,80 ^a	43,88 ^b	44,36 ^b	4,66
48	45,30 ^c	53,08 ^{ab}	55,61 ^b	54,93 ^b	57,74 ^a	4,79
72	50,81 ^d	59,27 ^c	59,50 ^c	63,34 ^b	65,21 ^a	5,54
96	54,03 ^d	61,43 ^c	64,72 ^b	66,36 ^a	67,04 ^a	5,32
Đặc điểm phân giải						
a	10,44 ^b	10,08 ^b	11,60 ^a	11,00 ^b	11,40 ^{ab}	0,21
b	48,20 ^e	53,40 ^d	55,30 ^c	59,50 ^b	61,30 ^a	2,32
a + b	58,60 ^d	64,20 ^c	66,90 ^c	70,50 ^b	72,70 ^a	2,47
c	2,50 ^b	3,00 ^a	3,70 ^a	2,70 ^b	3,20 ^a	0,21
ED	26,68 ^c	31,22 ^b	34,18 ^a	32,27 ^b	34,37 ^a	1,40

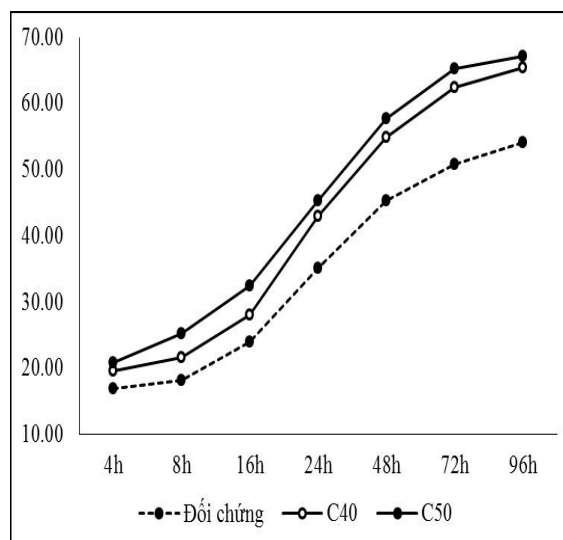
Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A30 và A40: bổ sung 30 và 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen ②); C40 và C50: bổ sung 40 và 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen ②); a: Phần hòa tan hoặc bị mất do rửa trôi (%); b: Phần không hòa tan bị tiêu hóa tại thời điểm t (%); (a+b): Tiềm năng phân giải (%); c: Tốc độ phân giải (%/giờ); ED: Hiệu quả phân giải (%); SEM: Sai số số trung bình.

Số liệu thu được về đặc điểm phân giải DM cũng cho thấy: tiềm năng phân giải (a + b) DM của rơm ở các khẩu phần như đối chứng, bổ sung 30 và 40g chế phẩm A, bổ sung 40 và 50g chế phẩm C lần lượt là 58,60; 64,20; 66,90;

70,50 và 72,70%, thấp nhất ở khẩu phần đối chứng ($P<0,05$). Khi so sánh giá trị (a+b) ở các mức bổ sung chế phẩm A với chế phẩm C thấy có mức độ cao - thấp khác nhau ($P<0,05$), điều này có thể là do khác nhau về bản chất và hoạt tính của 2 chế phẩm.



Hình 3.5a: Tốc độ phân giải chất khô *in sacco* rơm khi bổ sung chế phẩm A qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%); Chế phẩm A: **Best^FRumen ①**



Hình 3.5b: Tốc độ phân giải chất khô *in sacco* rơm khi bổ sung chế phẩm C qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%); Chế phẩm C: **Best^FRumen ②**

Tốc độ phân giải (%/h) ở khẩu phần bổ sung chế phẩm cao hơn so với lô đối chứng. Cụ thể giá trị này ở lô đối chứng là 2,55 trong khi đó ở các lô được bổ sung chế phẩm A (30 và 40g) và C (40 và 50g) lần lượt là 3,00 và 3,70; 2,70 và 3,20%/h. Hiệu quả phân giải ở các khẩu phần có sự khác nhau rõ rệt: cao nhất ở khẩu phần bổ sung 50g chế phẩm C (34,37%) tiếp đến là khẩu phần bổ sung 40g chế phẩm A (34,18%) và thấp nhất là ở khẩu phần đối chứng (26,68%).

3.2.2. Tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô *in sacco* của cỏ khô Pangola

Tốc độ phân giải chất khô của cỏ khô Pangola được trình bày ở bảng 3.7 và minh họa qua hình 3.6a và 3.6b.

Kết quả bảng 3.7 cho thấy, tỷ lệ phân giải DM cỏ khô Pangola tăng mạnh ở thời điểm từ 4 – 48^h và tăng chậm hơn từ 72 – 96^h ủ mẫu. Tại tất cả các thời

điểm ủ mẫu, tỷ lệ phân giải DM ở các khẩu phần bổ sung chế phẩm (A) mức 30; 40g và (C) mức 40; 50g đều cao hơn khẩu phần đối chứng ($P<0,05$). Tại thời điểm 24^h ủ mẫu ở các khẩu phần bổ sung chế phẩm (A) mức 30; 40g và (C) mức 40; 50g tương ứng là 39,47; 53,23 và 46,26; 47,06% trong khi đó giá trị này ở đối chứng là 36,69% ($P<0,05$). Nhìn chung, tỷ lệ phân giải vật chất khô của cỏ khô Pangola ở khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ cao hơn 28 – 45% so với khẩu phần đối chứng, đặc biệt ở giai đoạn 24^h.

Tiềm năng phân giải vật chất khô (a + b) của cỏ khô Pangola ở các khẩu phần bổ sung 30 và 40g chế phẩm A, bổ sung 40 và 50g chế phẩm C lần lượt là 62,80; 72,70; 66,00 và 71,50% trong khi đó ở khẩu phần đối chứng là 50,30% ($P<0,05$). Giá trị (a + b) ở khẩu phần bổ sung 40g chế phẩm A và 50g chế phẩm C cao hơn so với mức bổ sung khác ($P<0,05$).

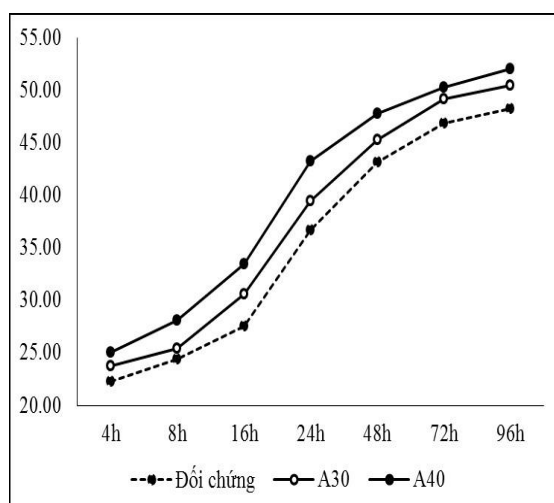
Bảng 3.7. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô in sacco của cỏ khô Pangola

Thông số	ĐC (0)	Liều bổ sung A (g)		Liều bổ sung C (g)		SEM
		30	40	40	50	
Tỷ lệ phân giải (%/DM)						
<i>Thời gian ủ (giờ)</i>						
4	22,30 ^b	23,70 ^a	35,01 ^b	23,87 ^a	36,60 ^b	3,09
8	24,42 ^c	25,16 ^a	37,04 ^c	27,46 ^a	38,64 ^b	3,03
16	27,50 ^d	30,58 ^b	40,44 ^c	30,43 ^a	43,44 ^c	3,13
24	36,69 ^c	39,47 ^a	53,23 ^c	46,26 ^b	47,06 ^b	2,93
48	43,13 ^d	45,23 ^a	56,73 ^c	52,15 ^b	52,76 ^b	2,52
72	46,81 ^b	59,17 ^a	60,29 ^a	59,93 ^a	61,20 ^a	2,69
96	48,21 ^c	60,46 ^b	61,99 ^{ab}	62,72 ^a	63,26 ^a	2,82
Đặc điểm phân giải						
a	17,50 ^d	19,60 ^b	26,90 ^c	17,70 ^a	21,50 ^d	1,72
b	32,80 ^c	43,20 ^c	45,80 ^a	48,30 ^c	50,00 ^b	3,03
a + b	50,30 ^e	62,80 ^d	72,70 ^a	66,00 ^b	71,50 ^c	4,02
c	1,60 ^d	2,62 ^c	3,80 ^a	2,80 ^{bc}	3,10 ^b	0,43
ED	24,21 ^d	28,19 ^{bc}	29,84 ^b	27,75 ^{bc}	32,58 ^a	1,37

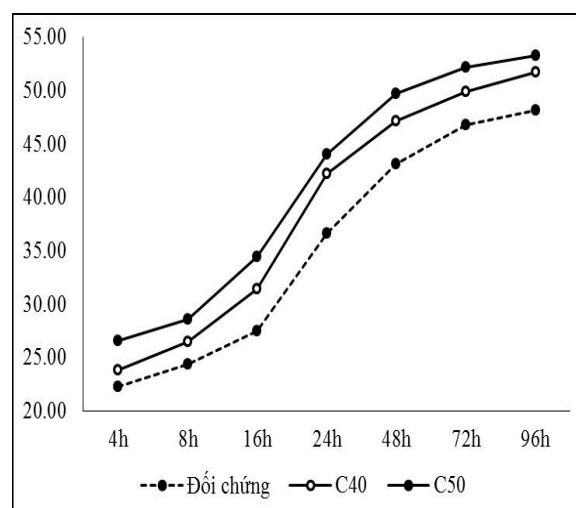
Ghi chú: ^{a, b, c, ...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A30 và A40: bổ sung 30 và

40g/con/ngày (Chế phẩm A: *Best^FRumen*®); C40 và C50: bổ sung 40 và 50g/con/ngày (Chế phẩm C: *Best^FRumen*®); a: Phần hòa tan hoặc bị mất do rửa trôi (%); b: Phần không hòa tan bị tiêu hóa tại thời điểm t (%); (a+b): Tiềm năng phân giải (%); c: Tốc độ phân giải (%/giờ); ED: Hiệu quả phân giải (%); SEM: Sai số số trung bình.

Tốc độ phân giải (%/h) chất ở khẩu phần bổ sung chế phẩm cao hơn tốc độ phân giải ở lô đối chứng. Cụ thể giá trị này ở lô đối chứng là 1,60 trong khi đó ở các lô được bổ sung chế phẩm A (30 và 40g) và C (40 và 50g) lần lượt là 2,62 và 3,80; 2,80 và 3,10. Hiệu quả phân giải vật chất khô cỏ Pangola cao nhất ở khẩu phần bổ sung 50g chế phẩm C (32,58%) tiếp đến là khẩu phần bổ sung 40g chế phẩm A (29,84%) và thấp nhất là ở khẩu phần đối chứng (24,21%) ($P < 0,05$).



Hình 3.6a: Tốc độ phân giải chất khô *in sacco* cỏ khô Pangola khi bổ sung chế phẩm A qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%);
Chế phẩm A: *Best^FRumen*®



Hình 3.6b: Tốc độ phân giải chất khô *in sacco* cỏ khô Pangola khi bổ sung chế phẩm C qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%);
Chế phẩm C: *Best^FRumen*®

3.2.3. Tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô *in sacco* của cỏ voi

Tỷ lệ và đặc điểm phân giải vật chất khô *in sacco* của cỏ voi được trình bày ở bảng 3.8 và minh họa qua hình 3.7a và 3.7b.

Nhìn vào bảng và các hình cho thấy: Tương tự như rom lúa, tốc độ phân giải DM của cỏ voi tại các thời điểm là khác nhau, tăng mạnh ở thời điểm từ 4 – 48^h, từ 72 – 96^h mặc dù có tăng nhưng tốc độ chậm hơn. Ở tất cả các thời điểm tốc độ phân giải DM của cỏ voi ở các khẩu phần bổ sung chế phẩm (A)

mức 30; 40g và (C) mức 40; 50g đều cao hơn khẩu phần đối chứng ($P<0,05$). Tại thời điểm 24^h ủ mẫu, tỷ lệ phân giải DM của cỏ voi ở các khẩu phần bổ sung chế phẩm (A) mức 30; 40g và (C) mức 40; 50g tương ứng là 61,71; 62,65 và 57,94; 59,49% trong khi đó giá trị này ở đối chứng là 56,59% ($P<0,05$). Nhìn chung, tỷ lệ phân giải vật chất khô của cỏ voi ở khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học cao hơn 10% so với khẩu phần đối chứng, đặc biệt ở giai đoạn 24^h.

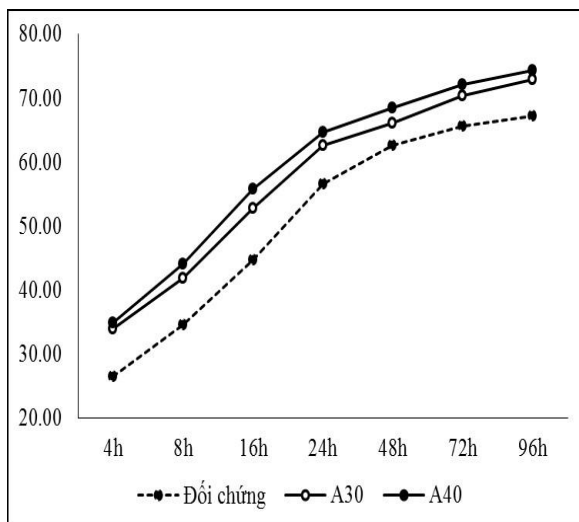
Bảng 3.8. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô in sacco của cỏ voi

Thông số	ĐC (0)	Liều bổ sung A (g)		Liều bổ sung C (g)		SEM
		30	40	40	50	
Tỷ lệ phân giải (%/DM)						
<i>Thời gian ủ (giờ)</i>						
4	26,52 ^c	32,94 ^a	33,05 ^a	32,18 ^a	30,05 ^b	1,23
8	34,70 ^d	40,93 ^a	39,19 ^b	37,11 ^c	36,95 ^c	1,06
16	43,69 ^b	45,79 ^{ab}	45,76 ^{ab}	46,18 ^{ab}	47,54 ^b	0,62
24	56,59 ^c	61,71 ^a	62,65 ^a	57,94 ^c	59,49 ^b	1,13
48	62,66 ^b	65,12 ^a	65,51 ^a	66,73 ^a	66,85 ^a	0,76
72	65,62 ^c	69,36 ^b	71,13 ^a	71,34 ^a	72,17 ^a	1,17
96	67,29 ^d	71,90 ^c	73,43 ^{bc}	74,42 ^a	75,59 ^{ab}	1,44
Đặc điểm phân giải						
a	16,00 ^c	24,60 ^a	23,90 ^a	22,90 ^b	21,80 ^a	1,53
b	51,00 ^a	46,70 ^c	49,20 ^b	51,00 ^a	54,00 ^a	1,20
a + b	67,00 ^d	71,30 ^c	73,10 ^b	73,90 ^b	75,80 ^a	1,49
c	3,91 ^a	4,70 ^b	5,00 ^b	4,00 ^c	4,60 ^b	0,26
ED	43,32 ^c	45,63 ^{ab}	46,32 ^a	45,10 ^{bc}	46,51 ^a	0,57

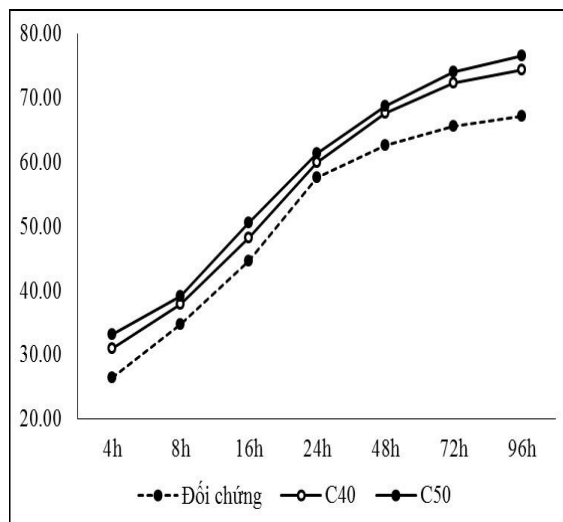
Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A30 và A40: bổ sung 30 và 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen®); C40 và C50: bổ sung 40 và 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen®); a: Phần hòa tan hoặc bị mất do rửa trôi (%); b: Phần không hòa tan bị tiêu hóa tại thời điểm t (%); (a+b): Tiềm năng phân giải (%); c: Tốc độ phân giải (%/giờ); ED: Hiệu quả phân giải (%); SEM: Sai số số trung bình.

Kết quả về đặc điểm phân giải DM cho thấy tiềm năng phân giải vật chất khô (a+b) của cỏ voi ở các khẩu phần bổ sung 30 và 40g chế phẩm A, bổ sung 40 và 50g chế phẩm C và đối chứng lần lượt là 71,30; 73,10; 73,90; 75,80% và 67,00% ($P<0,05$), thấp nhất ở khẩu phần đối chứng. Tiềm năng phân giải DM

cỏ voi, khẩu phần bổ sung 30 và 40g chế phẩm A thấp hơn so với giá trị này ở khẩu phần bổ sung 40 và 50g chế phẩm C ($P<0,05$) có thể là do khác nhau về bản chất và hoạt tính của 2 chế phẩm A và C.



Hình 3.7a: Tốc độ phân giải chất khô *in sacco* cỏ voi khi bổ sung chế phẩm A qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%); Chế phẩm A: **Best^FRumen[®]**



Hình 3.7b: Tốc độ phân giải chất khô *in sacco* cỏ voi khi bổ sung chế phẩm C qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%); Chế phẩm C: **Best^FRumen[®]**

Tốc độ phân giải (%/h) ở khẩu phần bổ sung chế phẩm cao hơn tốc độ phân giải ở lô đối chứng. Cụ thể giá trị này ở lô đối chứng là 3,91 trong khi đó ở các lô được bổ sung chế phẩm A (30 và 40g) và C (40 và 50g) lần lượt là 4,70 và 5,00; 4,00 và 4,60 %/h. Ở mức bổ sung 40 g chế phẩm A và 50 g chế phẩm C cao hơn các mức bổ sung khác ($P<0,05$). Hiệu quả phân giải ở các khẩu phần có sự khác nhau rõ rệt giữa các khẩu phần ($P<0,05$), cao nhất ở khẩu phần bổ sung 50g chế phẩm C (46,51%) tiếp đến là khẩu phần bổ sung 40g chế phẩm A (46,32%) và thấp nhất là ở khẩu phần đối chứng (43,32%).

3.2.4. Tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô *in sacco* của thân cây ngô

Kết quả tỷ lệ phân giải chất khô *in sacco* của thân cây ngô được thể hiện ở bảng 3.9 và minh họa qua hình 3.8a và 3.8b.

Kết quả bảng 3.9 cho thấy, tại tất cả các thời điểm ủ mẫu, tốc độ phân giải DM của thân cây ngô ở các khẩu phần bổ sung chế phẩm (A) mức 30; 40g

và (C) mức 40; 50g đều cao hơn khẩu phần đối chứng ($P<0,05$), ví dụ, tại thời điểm 24h ủ mẫu ở các khẩu phần bổ sung chế phẩm (A) mức 30; 40g và (C) mức 40; 50g tương ứng là 62,63; 62,64 và 62,03; 63,71% trong khi đó giá trị này ở đối chứng là 58,87% ($P<0,05$). Nhìn chung, tỷ lệ phân giải DM của thân cây ngô ở khẩu phần bổ sung bổ sung chế phẩm sinh học cao hơn 5 – 8% so với khẩu phần đối chứng, đặc biệt ở giai đoạn 24^h.

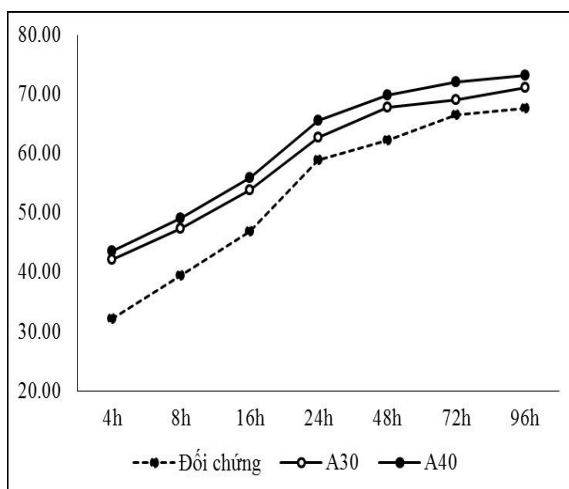
Bảng 3.9. Ảnh hưởng các mức bổ sung chế phẩm đến tỷ lệ và đặc điểm phân giải chất khô in sacco của thân cây ngô

Thông số	ĐC (0)	Liều bổ sung A (g)		Liều bổ sung C (g)		SEM
		30	40	40	50	
Tỷ lệ phân giải (%/DM)						
<i>Thời gian ủ (giờ)</i>						
4	32,17 ^c	42,09 ^a	42,48 ^a	36,92 ^b	38,26 ^b	1,89
8	39,42 ^c	44,42 ^a	45,05 ^a	42,62 ^b	43,87 ^{ab}	1,00
16	45,80 ^b	47,77 ^{ab}	49,87 ^{ab}	48,23 ^{ab}	51,70 ^a	1,00
24	58,87 ^b	62,63 ^a	62,64 ^a	62,03 ^a	63,71 ^a	0,82
48	62,29 ^d	67,74 ^a	69,79 ^{bc}	66,31 ^{ab}	68,54 ^c	1,29
72	66,44 ^c	69,10 ^a	71,97 ^b	70,24 ^{ab}	70,92 ^{ab}	0,95
96	70,67 ^b	72,12 ^a	73,22 ^b	72,78 ^{ab}	73,82 ^{ab}	0,54
Đặc điểm phân giải						
a	24,60 ^c	33,80 ^a	34,00 ^a	28,30 ^b	28,40 ^b	1,80
b	44,50 ^a	38,60 ^c	40,60 ^c	44,30 ^b	45,60 ^b	1,33
a + b	69,10 ^c	72,40 ^b	74,60 ^a	72,60 ^{ab}	74,00 ^b	0,96
c	3,95 ^b	4,02 ^b	4,04 ^a	4,56 ^b	5,21 ^a	0,23
ED	45,75 ^c	46,60 ^b	46,63 ^b	49,55 ^a	51,15 ^a	1,03

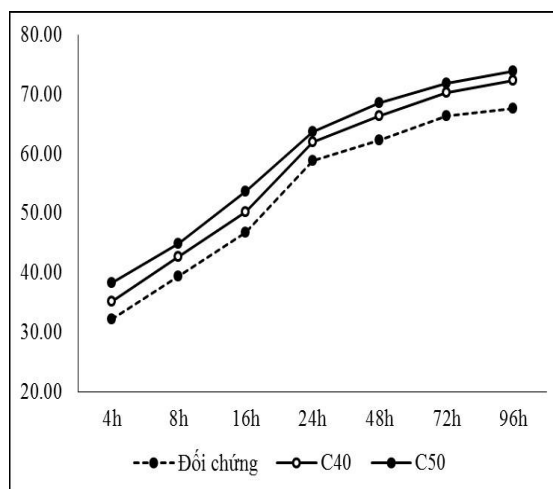
Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A30 và A40: bổ sung 30 và 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen ©); C40 và C50: bổ sung 40 và 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen ©); a: Phần hòa tan hoặc bị mất do rửa trôi (%); b: Phần không hòa tan bị tiêu hóa tại thời điểm t (%); (a+b): Tiềm năng phân giải (%); c: Tốc độ phân giải (%/giờ); ED: Hiệu quả phân giải (%); SEM: Sai số số trung bình.

Tiềm năng phân giải DM của thân cây ngô ở các khẩu phần bổ sung 30 và 40g chế phẩm A, bổ sung 40 và 50g chế phẩm C lần lượt là 72,40; 74,60; 72,60 và 74,00% trong khi đó đối chứng là 69,10% ($P<0,05$) đồng thời khẩu

phần bổ sung mức 40g chế phẩm A và 50g chế phẩm B đạt giá trị cao hơn so với mức bổ sung khác. Tốc độ phân giải (%/h) ở khẩu phần bổ sung chế phẩm cao hơn tốc độ phân giải ở lô đối chứng. Cụ thể giá trị này ở lô đối chứng là 3,95 trong khi đó ở các lô được bổ sung chế phẩm A (30 và 40g) và C (40 và 50g) lần lượt là 4,02 và 4,04; 4,56 và 5,21%. Hiệu quả phân giải ở các khẩu phần có sự khác nhau rõ rệt và dao động từ 45,75 – 51,15% cao nhất ở khẩu phần bổ sung 50g chế phẩm C và thấp nhất ở khẩu phần đối chứng (45,75%) ($P < 0,05$).



Hình 3.8a: Tốc độ phân giải chất khô *in sacco* thân cây ngô khi bổ sung chế phẩm A qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%); Chế phẩm A: **Best^FRumen[®]**



Hình 3.8b: Tốc độ phân giải chất khô *in sacco* thân cây ngô khi bổ sung chế phẩm C qua các thời điểm ủ mẫu ở dạ cỏ (%); Chế phẩm C: **Best^FRumen[®]**

3.2.5. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần cơ sở đến tổng số vi sinh vật dạ cỏ

Kết quả ảnh hưởng của việc bổ sung chế phẩm sinh học A với liều lượng (30 và 40g) và chế phẩm C liều (40 và 50g) vào khẩu phần cơ sở là rơm; cỏ khô Pangola; cỏ voi và thân cây ngô đến tổng số vi sinh vật vật dạ cỏ được trình bày ở bảng 3.10.

Kết quả ở các bảng 3.10 cho thấy, các giá trị trung bình của vi sinh vật, protozoa (động vật nguyên sinh) và nấm đếm được ở dạ cỏ của bò ăn các khẩu phần cơ sở là rơm; cỏ Voi; cỏ khô Pangola; thân cây ngô được bổ sung chế phẩm sinh học cao hơn so với bò đối chứng và có sự sai khác rõ rệt ($P < 0,05$).

Cụ thể, với số lượng vi sinh vật đếm được ở bò ăn khẩu phần bổ sung 30 và 40 g chế phẩm A tương ứng dao động từ $4,7 \times 10^{10}$ – $4,8 \times 10^{10}$ và $5,9 \times 10^{10}$ – $6,0 \times 10^{10}$; với khẩu phần bổ sung 40 và 50 g chế phẩm C giá trị này tương ứng dao động từ $4,1 \times 10^{10}$ – $4,3 \times 10^{10}$ và $4,6 \times 10^{10}$ – $4,8 \times 10^{10}$ trong khi đó ở lô đối chứng giá trị trung bình của vi sinh vật đếm được $3,6 \times 10^{10}$ – $3,8 \times 10^{10}$ tùy theo khẩu phần.

Bảng 3.10. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần cơ sở là rơm, cỏ khô Pangola, cỏ voi và thân cây ngô và đến tổng số vi sinh vật dạ cỏ

Thức ăn	Khẩu phần	Đếm trực tiếp (con/ml)								
		Bacteria ($\times 10^{10}$)			Protozoa ($\times 10^5$)			Nấm ($\times 10^4$)		
		0 ^h trước khi ăn	4 ^h sau khi ăn	Trung bình	0 ^h trước khi ăn	4 ^h sau khi ăn	Trung bình	0 ^h trước khi ăn	4 ^h sau khi ăn	Trung bình
Rơm	ĐC (0)	2,2 ^c	4,9 ^d	3,6 ^d	3,1 ^a	4,2 ^a	3,7 ^a	1,1 ^d	1,3 ^d	1,1 ^b
	A30	3,1 ^b	6,2 ^b	4,7 ^b	3,4 ^b	4,2 ^b	3,8 ^b	2,1 ^{ab}	3,9 ^{bc}	3,1 ^a
	A40	4,2 ^a	7,5 ^a	5,9 ^a	4,4 ^c	4,3 ^c	4,3 ^c	2,3 ^a	4,3 ^a	3,3 ^a
	C40	2,7 ^c	5,5 ^c	4,1 ^c	3,7 ^d	4,2 ^c	4,0 ^c	1,5 ^c	3,7 ^c	2,6 ^{ab}
	C50	3,3 ^b	5,8 ^{bc}	4,6 ^b	3,8 ^d	4,3 ^c	4,1 ^c	1,9 ^b	4,1 ^{ab}	2,9 ^a
	SEM	0,34	0,43	0,38	0,47	0,78	0,62	0,23	0,56	0,39
Cỏ khô Pangola	ĐC (0)	2,4 ^d	5,1 ^d	3,7 ^d	3,4 ^a	4,5 ^a	3,9 ^a	1,1 ^d	1,2 ^b	1,2 ^d
	A30	3,3 ^b	6,4 ^b	4,9 ^b	3,6 ^b	4,4 ^b	4,0 ^b	2,1 ^{ab}	2,3 ^a	2,3 ^{ab}
	A40	4,4 ^a	7,6 ^a	6,0 ^a	4,5 ^c	4,4 ^c	4,5 ^c	2,3 ^a	2,5 ^a	2,4 ^a
	C40	2,9 ^c	5,6 ^c	4,3 ^c	3,8 ^d	4,4 ^c	4,1 ^c	1,5 ^c	1,6 ^b	1,6 ^c
	C50	3,5 ^b	6,0 ^{bc}	4,8 ^b	4,0 ^d	4,5 ^c	4,3 ^c	1,9 ^b	2,1 ^a	2,0 ^b
	SEM	0,35	0,44	0,36	0,46	0,73	0,61	0,24	0,52	0,37
Cỏ Voi	ĐC (0)	2,3 ^d	5,1 ^d	3,7 ^d	3,2 ^a	4,4 ^a	3,8 ^a	1,2 ^b	1,4 ^c	1,3 ^b
	A30	3,3 ^b	6,4 ^b	4,8 ^b	3,6 ^b	4,3 ^b	3,9 ^b	2,3 ^a	4,1 ^b	3,2 ^a
	A40	4,4 ^a	7,6 ^a	6,0 ^a	4,5 ^c	4,4 ^c	4,5 ^c	2,4 ^a	4,6 ^a	3,5 ^a
	C40	2,9 ^c	5,6 ^c	4,2 ^c	3,8 ^d	4,4 ^c	4,1 ^c	1,6 ^b	3,8 ^b	2,7 ^{ab}
	C50	3,5 ^b	5,9 ^{bc}	4,7 ^b	4,0 ^d	4,5 ^c	4,3 ^c	2,0 ^a	4,2 ^{ab}	3,1 ^a
	SEM	0,32	0,41	0,37	0,45	0,76	0,58	0,22	0,54	0,35

Thức ăn	Khẩu phần	Đếm trực tiếp (con/ml)								
		Bacteria ($\times 10^{10}$)			Protozoa ($\times 10^5$)			Nấm ($\times 10^4$)		
		0 ^h trước khi ăn	4 ^h sau khi ăn	Trung bình	0 ^h trước khi ăn	4 ^h sau khi ăn	Trung bình	0 ^h trước khi ăn	4 ^h sau khi ăn	Trung bình
Thân cây ngô	ĐC (0)	2,3 ^d	5,0 ^d	3,7 ^a	3,2 ^a	4,1 ^a	3,6 ^a	1,2 ^d	1,4 ^d	1,3 ^b
	A30	3,2 ^b	6,3 ^b	4,8 ^b	3,5 ^b	4,2 ^b	3,8 ^b	2,3 ^{ab}	4,1 ^{bc}	3,2 ^a
	A40	4,3 ^a	7,6 ^a	5,9 ^d	4,5 ^c	4,4 ^c	4,4 ^c	2,4 ^a	4,5 ^a	3,4 ^a
	C40	2,8 ^c	5,6 ^c	4,2 ^c	3,8 ^d	4,3 ^c	4,1 ^c	1,6 ^c	3,8 ^c	2,7 ^{ab}
	C50	3,4 ^b	5,9 ^{bc}	4,7 ^b	3,9 ^d	4,5 ^c	4,2 ^c	2,0 ^b	4,2 ^{ab}	3,1 ^a
	SEM	0,33	0,39	0,32	0,44	0,79	0,63	0,22	0,57	0,38

Ghi chú: ^{a, b, c, ...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A30 và A40: bổ sung 30 và 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen ②); C40 và C50: bổ sung 40 và 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen ②); SEM: sai số của số trung bình.

Về giá trị trung bình số lượng động vật nguyên sinh (protozoa) đếm được ở dịch dạ cỏ cho thấy có xu hướng tăng khi bổ sung chế phẩm sinh học, đồng thời có sự biến động giữa các khẩu phần cơ sở nuôi dưỡng. Ví dụ, giá trị trung bình về động vật nguyên sinh trong dịch dạ cỏ cao nhất ở nhóm bò được bổ sung 40 g chế phẩm A dao động từ $4,3 \times 10^5 - 4,5 \times 10^5$ tiếp đến là bổ sung 50 g chế phẩm C dao động từ $4,1 \times 10^5 - 4,3 \times 10^5$ thấp nhất thấy ở bò đối chứng dao động từ $3,7 \times 10^5 - 3,9 \times 10^5$. Kết quả về số lượng tế bào nấm có khuynh hướng tương tự, đó là cao nhất ở nhóm bò được bổ sung 40 g chế phẩm A và tiếp đến là bổ sung 50 g chế phẩm C lần lượt dao động từ $2,4 \times 10^4 - 3,5 \times 10^4$ và $2,9 \times 10^4 - 3,1 \times 10^4$ thấp nhất thấy ở bò đối chứng dao động từ $1,1 \times 10^4 - 1,3 \times 10^4$ tùy theo khẩu phần.

Thảo luận chung thí nghiệm 2

Khi nồng độ enzyme tăng, tỷ lệ phân giải vật chất khô theo xu hướng tăng lên. Tuy nhiên, khi nồng độ enzyme đạt đến một ngưỡng nào đó thì nồng độ cơ chất sẽ trở thành yếu tố hạn chế tốc độ phản ứng. Điều này là hoàn toàn hợp lý vì

tỷ lệ phân giải chất khô không những phụ thuộc vào bản chất của thức ăn mà còn phụ thuộc vào nồng độ các enzyme có mặt trong dạ cỏ. Việc bổ sung chế phẩm đã làm tăng hàm lượng các enzyme cellulaza, xylanaza có tác dụng phân giải các thành phần xơ của thức ăn giàu xơ (cellulose và hemicellulose), chúng xâm nhập và cắt đứt các liên kết β -1,4-glucosid có trong cellulose và hemicellulose để tạo thành các phân tử glucose đơn giản, từ đó làm tăng tốc độ phân giải DM của thức ăn. Theo Colombatto và cộng sự., (2003) hiệu quả hoạt động tốt nhất của các enzyme là loại bỏ các rào cản cấu trúc thức ăn làm chậm quá trình vi sinh vật xâm nhập để tiêu hóa từ đó tăng tốc độ phân giải. Kết quả thu được từ nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng việc bổ sung probiotic đã nâng cao tỷ lệ phân giải chất khô của thức ăn giàu xơ, đồng thời có sự khác biệt về giá trị tỷ lệ phân giải chất khô ở các khẩu phần bổ sung các mức chế phẩm khác nhau.

Theo Yang và cộng sự. (2002), điều kiện trong dạ cỏ của động vật nhai lại đang nuôi dưỡng thường ít tối ưu hoàn toàn cho sự phát triển của vi khuẩn fibrolytic, việc bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ làm tăng hàm lượng enzyme có chứa enzyme cellulaza và xylanaza, giúp ổn định độ pH dạ cỏ để phân giải phân giải các thành phần thức ăn, làm tăng tỷ lệ vật chất khô không hòa tan có thể lên men, từ đó tăng tiềm năng phân giải vật chất khô thức ăn. Nghiên cứu của El-Waziry và Ibrahim, (2007) cho thấy, khi bổ sung enzyme ngoại sinh từ nấm và vi sinh vật đã làm tăng khả năng phân giải xơ do tăng quá trình lên men phân giải xơ của vi sinh vật dạ cỏ nhờ hoạt tính enzyme của chế phẩm bổ sung. Bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ đã cung cấp nhiều cơ chất hơn cho nhóm vi khuẩn lên men lactic và thúc đẩy sự phát triển của vi khuẩn sử dụng cellulolytic và lactate (Chaucheyras-Durand và cộng sự., 2008), làm tăng pH trong dạ cỏ (Mohamed và cộng sự., 2009; Paryad và Rashidi, 2009) và từ đó làm tăng khả năng tiêu hóa xơ và các thành phần của xơ (NDF và ADF). Nhờ có sự hiện diện của cơ chất enzyme ngoại sinh giúp đã làm tăng tổng số vi

khuẩn có khả năng thủy phân xellulo (Wallace và Newbold, 1992), theo đó các liên kết chặt chẽ trong thành tế bào thực vật được các enzyme phân giải.

Trong nghiên cứu này, việc bổ sung enzyme phân giải xơ làm tăng đáng kể các thông số về đặc điểm phân giải vật chất khô của thức ăn. Việc xác định tỷ lệ phân giải chất khô đã cung cấp thông tin hữu ích về đặc điểm phân giải các phần hòa tan (a) và không hòa tan nhưng có thể lên men (b) và tiềm năng phân giải tối đa (a+b) trong thức ăn (Getachew và cộng sự., 1998). Phần hòa tan hoặc bị mất do rửa trôi ra ban đầu (a) có giá trị thấp là do quá trình lên men chúng bị trì hoãn do có sự chậm trễ trong quá trình xâm nhập của vi sinh vật phân hủy phần hòa tan trước khi lên men thành tế bào (Blümmel và Becker, 1997). Sự gia tăng tỷ lệ phân giải phần không hòa tan nhưng có thể lên men (b) tạo ra từ phần không hòa tan và tiềm phân giải (a+b) cho thấy khả năng tiêu hóa cơ chất và hoạt động của vi khuẩn phân giải xơ tăng lên, theo đó làm tăng tốc độ phân giải (c) và hiệu quả phân giải (E). Các thành phần cấu trúc xơ thành tế bào thực vật là nguồn cung cấp carbohydrate chính cho gia súc nhai lại, chúng được vi sinh vật dạ cỏ lên men để tạo ra VFA, sau đó được hấp thụ qua thành dạ cỏ, đóng góp một nguồn năng lượng chính cho động vật chủ (Candyrine và cộng sự., 2017). Việc bổ sung enzyme phân giải xơ nghiên cứu này có thể đã làm tăng đáng kể lượng axit béo bay hơi tổng số (VFA) trong dịch dạ cỏ thúc đẩy quá trình lên men các thành phần dinh dưỡng của cơ chất và tạo điều kiện cho tế bào vi sinh vật phát triển (Soriano và cộng sự., 2014).

Các kết quả thu được về vi sinh vật tổng số trong nghiên cứu này có thể được lý giải là phần lớn các chế phẩm từ nấm có chứa sản phẩm tách chiết khi lên men nấm mốc *A. oryzae* (AO), nuôi cấy nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (SC), hoặc cả hai loại mang lại lợi ích thông qua những thay đổi trong quá trình lên men dạ cỏ (Martin và cộng sự., 2002). Nhiều nghiên cứu cho thấy chế phẩm dạng này đã kích thích các vi khuẩn dạ cỏ phát triển từ đó

tổng số vi khuẩn yếm khí trong dạ cỏ và vi khuẩn phân giải xơ đã được tăng lên khi sử dụng các chất chiết xuất từ nấm (Newbold và cộng sự., 1991; Harrison và cộng sự., 1988). Nấm men cũng đã được chứng minh là đã kích thích vi khuẩn nhóm vi khuẩn yếm khí nhờ sự hiện diện của nhóm vi khuẩn sản sinh metan, kết quả là làm quá trình lên men thức ăn ở dạ cỏ hiệu quả hơn (Chaucheryras và cộng sự., 1995b). Sản phẩm tách chiết khi lên men *Aspergillus* và canh trường nấm men đã chỉ ra rằng nó đã kích thích trực tiếp nấm trong dạ cỏ nên đã tăng khả năng phân giải xơ (Chang và cộng sự., 1999). Một lý do khác trong việc cải thiện quá trình lên men là do nấm men có thể lấy oxy dư thừa trong khi lên men ở dạ cỏ (Newbold và cộng sự., 1996) vì thế tạo ra môi trường thích hợp hơn cho vi khuẩn yếm khí phát triển. Bổ sung *Saccharomyces cerevisiae* cũng làm tăng số lượng protozoa trong dạ cỏ bò đực ăn khẩu phần cơ sở là rơm đã cải thiện khả năng phân giải NDF (Plata và cộng sự., 1994).

Một số nghiên cứu khác cũng cho thấy, tác dụng của probiotic mà không cần sự hiện diện của tế bào sống (Loh và cộng sự., 2010; Thanh và cộng sự., 2010; Thu và cộng sự., 2011b). Trong nghiên cứu này, việc cải thiện tổng số vi khuẩn và vi khuẩn phân giải xenluloza có thể là do sự tương tác của probiotic enzyme phân giải xơ bổ sung có chứa các chất chuyển hóa của vi khuẩn chủng nấm sợi hữu ích *A.oryzae* và vi khuẩn *Lactobacillus*, *Bacillus* và *Saccharomyces* với vi khuẩn dạ cỏ. Bổ sung probiotic làm tăng cường khả năng thích nghi của vi khuẩn trong dạ cỏ động vật nhai lại với sự hiện diện của axit lactic hoặc ngăn cản sự tích tụ axit lactic trong dạ cỏ bằng cách phân giải axit lactic thành axit axetic (Ghorbani và cộng sự., 2002; Nocek và cộng sự., 2002). Theo Jiao và cộng sự. (2017) bổ sung probiotic đã tạo ra những điều kiện thuận lợi cho các hoạt động của nhóm vi khuẩn phân giải xenlulo và tăng khả năng tiêu hóa xơ. Điều này phù hợp với nghiên cứu hiện tại, trong đó sự gia tăng tốc

độ phân giải thức ăn giàu xơ đồng thời cải thiện tỷ lệ tiêu hóa vật chất của thức ăn khi bổ sung probiotic.

Kết luận sơ bộ thí nghiệm 2

- Việc bổ sung chế phẩm enzyme phân giải xơ đã làm tăng tỷ lệ phân giải chất khô *in sacco* và các thông số về đặc điểm phân giải chất khô.
- Bổ sung chế phẩm A (Best^FRumen[®]) mức 40g; chế phẩm B (Best^FRumen[®]) mức 50g cho các giá trị về tỷ lệ phân giải chất khô, xơ thô *in sacco* và các thông số về đặc điểm phân giải chất khô cao hơn các mức bổ khác.
- Việc bổ sung chế phẩm enzyme phân giải xơ đã làm tăng vi sinh vật, protozoa (động vật nguyên sinh) và nấm đếm được ở dạ cỏ của bò ăn các khẩu phần cơ sở là rơm; cỏ Voi; cỏ khô Pangola; thân cây ngô.
- Tiếp tục nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm A (Best^FRumen[®]) mức 40 g và chế phẩm B (Best^FRumen[®]) mức 50g vào khẩu phần đến khả năng sản xuất của gia súc nhai lại.

3.3. ẢNH HƯỞNG CỦA BỔ SUNG CHẾ PHẨM SINH HỌC ĐẾN KHẢ NĂNG TIÊU HÓA CỦA THỨC ĂN BẰNG PHƯƠNG PHÁP *IN VIVO*

3.3.1. Thành phần hóa học của các loại thức ăn thí nghiệm

Thành phần hóa học của các loại thức ăn thí nghiệm được trình bày ở bảng 3.11.

Bảng 3.11. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng nguyên liệu thức ăn

Nguyên liệu thức ăn	Vật chất khô (%)	Protein thô	Lipid thô	Xơ thô	NDF	ADF	Khoáng tổng số
		% vật chất khô					
Rơm	88,70	5,64	1,45	34,88	73,11	40,65	13,28
Cỏ khô Pangola	87,66	6,95	2,60	36,21	78,19	42,23	6,07
Cỏ voi	19,89	9,19	2,34	34,04	63,22	37,65	10,86
Thân cây ngô	18,00	9,89	2,39	22,80	61,38	30,40	5,67

Nguyên liệu thức ăn	Vật chất khô (%)	Protein thô	Lipid thô	Xơ thô	NDF	ADF	Khoáng tổng số
% vật chất khô							
TMR*	65,60	16,32	4,29	42,22	72,08	36,54	4,18

Ghi chú: TMR được trộn theo tỷ lệ: Ngô hạt (17%); Rơm lúa (45%); Cám gạo (22%); Cỏ voi ủ chua (9%); Rỉ mật (5%) và Urê (2%)*

Số liệu thu được ở Bảng 3.11 cho thấy, rơm có hàm lượng vật chất khô (VCK), protein thô, lipit thô, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng số tương ứng như sau: 88,70%; 5,64%; 1,45%; 44,76%; 34,88%; 73,11%; 40,65% và 13,28%. Kết quả cho thấy rơm có hàm lượng vật chất khô cao nhất trong bốn loại thức ăn: rơm, cỏ voi, thân cây ngô, cỏ khô Pangola đồng thời chứa nhiều xơ thô nhưng lại nghèo protein và lipid. Hàm lượng vật chất khô, khoáng tổng số, thấp hơn so với kết quả của Vũ Duy Giảng và cs (2008) đã công bố, vật chất khô và khoáng tổng số lần lượt là 90,3%; 15,4% và cũng theo kết quả của tác giả thì lượng NDF và ADF tương ứng là 70,1%; 39,7% kết quả này thấp hơn kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm này NDF và ADF tương ứng là 73,11 và 40,65%.

Với cỏ khô Pangola, các thành phần hóa học của vật chất khô, xơ thô, NDF và ADF tương ứng lần lượt là: 87,66%; 36,21%; 78,19% và 42,23%, cao hơn về hàm lượng vật chất khô trong nghiên cứu của Đinh Văn Mười (2012): 86,49% nhưng hàm lượng xơ thô, NDF, ADF lại thấp hơn kết quả của tác giả: hàm lượng xơ thô, NDF và ADF lần lượt là 41,31%; 80,3% và 47,51%. Mặt khác hàm lượng protein trong nghiên cứu này thấp hơn kết quả của Hoàng Chung (2004) đã công bố: 8,88%. Có sự khác nhau về kết quả này có thể là do nguồn gốc của các nguyên liệu thức ăn khác nhau, điều kiện khí hậu, đất đai ở mỗi vùng khác nhau.

Cỏ voi là thức ăn thô xanh, có hàm lượng vật chất khô thấp (19,89%). Hàm lượng protein cao hơn rơm và cỏ khô Pangola, tuy nhiên hàm lượng xơ thô, NDF và ADF lần lượt là: 34,04; 63,22 và 37,65% thấp hơn hàm lượng xơ thô, NDF và ADF của rơm và cỏ khô Pangola. Các thành phần hóa học của cỏ

voi về vật chất khô, protein thô, lipid thô, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng số tương ứng lần lượt là: 19,98%; 9,19%; 2,34%; 34,04%; 43,04%; 63,22%; 37,65% và 10,86%. Kết quả này thấp hơn kết quả của Đinh Văn Mười (2012) đã công bố về protein thô 9,19 so với 10,18%.

Các thành phần hóa học của thân cây ngô về vật chất khô, protein thô, lipid thô, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng số tương ứng lần lượt là: 18,00%; 9,89%; 2,39%; 22,80%; 61,38%; 30,40% và 5,67%. Kết quả này thấp hơn so với kết quả của Đinh Văn Mười (2012) đã công bố: vật chất khô, protein thô, lipid thô, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng số lần lượt là: 20,87%; 10,73%; 29,14%; 66,19%; 35,56% và 8,65%.

Về tổng thể, thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh (TMR) có hàm lượng protein thô cao nhất 16,32%. Tuy nhiên, do khác nhau về chủng loại thức ăn nên mức độ biến động của các chỉ tiêu về thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng là đương nhiên.

3.3.2. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng của các loại thức ăn

Thí nghiệm *in vivo* được tiến hành 5 đợt, mỗi đợt sử dụng một loại thức ăn. Thức ăn nuôi gia súc ở mức duy trì gồm nhóm: (i) đối chứng; (ii) bổ sung chế phẩm A liều 40 g/con/ngày và (iii) bổ sung chế phẩm C liều 50g/con/ngày. Kết quả về lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa chất dinh dưỡng trong các loại thức ăn được trình bày ở các bảng 3.12a; 3.12b; 3.12c; 3.12d và 3.12e.

Bảng 3.12a. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa rơm (%) (Mean $\pm$ SE)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Thức ăn ăn vào			
Chất khô ăn vào (kg/ngày)	3,83 ^b $\pm$ 0,12	4,13 ^a $\pm$ 0,06	4,04 ^{ab} $\pm$ 0,07
Chất khô ăn vào (% KL)	1,69 ^b $\pm$ 0,03	1,82 ^a $\pm$ 0,02	1,79 ^a $\pm$ 0,03
Chất hữu cơ ăn vào (kg/ngày)	3,34 ^a $\pm$ 0,09	3,59 ^a $\pm$ 0,05	3,52 ^{ab} $\pm$ 0,06
Tỷ lệ tiêu hóa (%)			

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Chất khô	45,50 ^b ± 0,27	48,99 ^a ± 0,32	49,49 ^a ± 0,35
Protein thô	36,06 ^b ± 0,78	42,65 ^a ± 0,92	42,83 ^a ± 0,82
Mỡ thô	42,14 ^b ± 1,42	46,81 ^a ± 1,51	47,36 ^a ± 1,27
Xơ thô	60,10 ^b ± 0,68	62,40 ^a ± 0,55	62,66 ^a ± 0,69
NDF	57,67 ^b ± 0,89	60,09 ^a ± 0,76	60,35 ^a ± 0,89
ADF	56,05 ^b ± 0,6	58,49 ^a ± 0,56	58,95 ^a ± 0,64
Chất hữu cơ	43,86 ^b ± 0,32	47,87 ^a ± 0,56	47,53 ^a ± 0,98

Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen[®]); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen[®]); KL: Khối lượng; Mean: số trung bình; SE: sai số của số trung bình.

Bảng 3.12b. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa cỏ khô Pangola (%) (Mean ± SE)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Thức ăn ăn vào			
Chất khô ăn vào (kg/ngày)	3,81 ^b ± 0,11	4,15 ^a ± 0,25	3,93 ^{ab} ± 0,10
Chất khô ăn vào (% KL)	1,72 ^b ± 0,03	1,85 ^a ± 0,09	1,74 ^b ± 0,04
Chất hữu cơ ăn vào (kg/ngày)	3,62 ^b ± 0,09	3,84 ^a ± 0,22	3,68 ^b ± 0,09
Tỷ lệ tiêu hóa (%)			
Chất khô	39,53 ^b ± 0,68	45,26 ^a ± 0,30	44,65 ^a ± 0,30
Protein thô	33,31 ^b ± 0,73	50,77 ^a ± 2,15	47,21 ^a ± 0,84
Mỡ thô	41,90 ^b ± 0,63	67,09 ^a ± 0,41	65,14 ^a ± 0,91
Xơ thô	36,57 ^b ± 0,76	58,30 ^a ± 0,94	50,46 ^a ± 0,65
NDF	37,76 ^b ± 1,01	56,02 ^a ± 1,01	57,80 ^a ± 0,52
ADF	35,75 ^b ± 0,83	55,90 ^a ± 0,94	58,04 ^a ± 0,84
Chất hữu cơ	37,86 ^b ± 0,70	46,84 ^a ± 0,99	47,58 ^a ± 0,84

Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen[®]); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen[®]); KL: Khối lượng; Mean: số trung bình; SE: sai số của số trung bình.

Bảng 3.12c. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa cỏ voi (%) (Mean ± SE)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Thức ăn ăn vào			
Chất khô ăn vào (kg/ngày)	3,91 ^b ± 0,19	4,49 ^a ± 0,08	4,49 ^a ± 0,08
Chất khô ăn vào (% KL)	2,05 ± 0,17	2,07 ± 0,03	2,06 ± 0,03
Chất hữu cơ ăn vào (kg/ngày)	3,38 ^b ± 0,17	4,00 ^a ± 0,07	4,01 ^a ± 0,07
Tỷ lệ tiêu hóa (%)			
Chất khô	57,03 ^b ± 0,30	63,43 ^a ± 0,36	62,75 ^a ± 0,16
Protein thô	65,75 ^b ± 0,42	71,11 ^a ± 0,60	70,97 ^a ± 0,42
Mỡ thô	69,58 ^b ± 0,77	74,91 ^a ± 0,59	74,15 ^a ± 0,62
Xơ thô	62,92 ^b ± 0,45	67,51 ^a ± 0,53	66,02 ^a ± 0,50
NDF	64,17 ^b ± 0,63	69,14 ^a ± 0,71	68,65 ^a ± 0,69
ADF	60,24 ^b ± 0,46	65,86 ^a ± 0,56	65,25 ^a ± 0,50
Chất hữu cơ	54,86 ^b ± 0,34	62,77 ^a ± 0,75	62,23 ^a ± 0,73

Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen[®]); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen[®]); KL: Khối lượng; Mean: số trung bình; SE: sai số của số trung bình.

Bảng 3.12d. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa thân cây ngô (%) (Mean ± SE)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Thức ăn ăn vào			
Chất khô ăn vào (kg/ngày)	3,90 ^b ± 0,05	3,95 ^{ab} ± 0,04	4,09 ^a ± 0,06
Chất khô ăn vào (% KL)	1,72 ^b ± 0,01	1,84 ^a ± 0,01	1,83 ^a ± 0,01
Chất hữu cơ ăn vào (kg/ngày)	3,61 ^b ± 0,04	3,75 ^a ± 0,05	3,74 ^a ± 0,06
Tỷ lệ tiêu hóa (%)			
Chất khô	46,98 ^b ± 0,65	49,24 ^a ± 0,50	48,96 ^a ± 0,48
Protein thô	62,18 ^b ± 0,51	65,06 ^a ± 0,64	64,94 ^a ± 0,62
Mỡ thô	64,76 ^b ± 0,41	67,86 ^a ± 0,93	66,86 ^a ± 0,94
Xơ thô	34,91 ^b ± 0,81	39,53 ^a ± 1,16	39,63 ^a ± 1,15
NDF	47,22 ^b ± 0,62	49,23 ^a ± 0,91	48,96 ^{ab} ± 0,88
ADF	38,82 ^b ± 0,73	43,77 ^a ± 1,30	43,90 ^a ± 1,29
Chất hữu cơ	46,98 ^b ± 0,65	49,24 ^a ± 0,50	48,96 ^a ± 0,48

Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen[®]); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen[®]); KL: Khối lượng; Mean: số trung bình; SE: sai số của số trung bình.

Bảng 3.12e. Lượng thức ăn ăn vào và tỷ lệ tiêu hóa TMR (%) (Mean ± SE)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Thức ăn ăn vào			
Chất khô ăn vào (kg/ngày)	3,89 ^b ± 0,05	4,11 ^a ± 0,07	4,20 ^a ± 0,05
Chất khô ăn vào (% KL)	1,81 ^a ± 0,02	1,86 ^b ± 0,02	1,93 ^a ± 0,02
Chất hữu cơ ăn vào (kg/ngày)	3,38 ^b ± 0,04	3,63 ^a ± 0,06	3,72 ^a ± 0,04
Tỷ lệ tiêu hóa (%)			
Chất khô	64,99 ^b ± 0,34	67,92 ^a ± 0,49	65,74 ^a ± 0,46
Protein thô	67,79 ^c ± 0,31	84,72 ^a ± 0,33	83,61 ^b ± 0,25
Mỡ thô	62,46 ^b ± 0,36	87,75 ^a ± 0,42	86,67 ^a ± 0,38
Xơ thô	53,68 ^b ± 0,45	61,86 ^a ± 0,41	60,63 ^a ± 0,36
NDF	62,54 ^b ± 0,59	74,96 ^a ± 0,53	73,30 ^a ± 0,45
ADF	61,63 ^b ± 0,46	73,55 ^a ± 0,69	71,93 ^a ± 0,60
Chất hữu cơ	59,93 ^b ± 0,39	64,53 ^a ± 0,83	62,38 ^a ± 0,71

Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (P<0,05); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A:Best^FRumen®); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen®); KL: Khối lượng; Mean: số trung bình; SE: sai số của số trung bình.

3.3.2.1. Lượng thức ăn ăn vào

Kết quả ở các bảng số liệu cho thấy khả năng thu nhận chất khô và chất hữu cơ khác nhau tùy theo loại thức ăn, tuy nhiên, xu hướng chung khi bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ A và C thì lượng vật chất khô thức ăn vào tăng so với đối chứng (P<0,05). Cụ thể về lượng chất khô ăn vào của rom: 4,13 và 4,04 so với 3,83 kg; cỏ khô Pangola: 4,15 và 3,93 so với 3,81 kg; cỏ voi: 4,49 và 4,49 so với 3,91 kg; thân cây ngô: 3,95 và 4,09 so với 3,90 kg; TMR: 4,11 và 4,20 so với 3,89 kg. Với chất hữu cơ ăn vào cũng có khuynh hướng tương tự như vật chất khô thu nhận của bò thí nghiệm, ví dụ, chất hữu cơ ăn của rom: 3,59 và 3,52 so với 3,34 kg; cỏ khô Pangola: 3,84 và 3,68 so với 3,62 kg; cỏ

voi: 4,0 và 4,01 so với 3,38 kg; thân cây ngô: 3,75 và 3,74 so với 3,61 kg; TMR: 3,63 và 3,72 so với 3,38 kg.

3.3.2.2. Tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng

Tỷ lệ tiêu hóa chất khô của rom ăn khẩu phần đối chứng là 45,50% trong khi đó rom ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm A và C lần lượt là 48,99 và 49,49% ($P<0,05$) tương tự như vậy, đối với cỏ khô Pagola, cỏ voi, thân cây ngô và thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh (TMR) lần lượt là 39,53 so với 45,26 và 44,65%; 57,03 so với 63,43 và 62,75%; 46,98 so với 49,24 và 48,96%; 64,99 so với 67,92 và 65,74% ($P<0,05$).

Khả năng tiêu hóa protein tiêu hóa cao hơn ($P < 0,05$) khi bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ A và C so với đối chứng. Cụ thể như rom khô: 42,65 và 42,83 so với 36,06%; cỏ khô Pangola: 50,77 và 47,21 so với 33,31%; cỏ voi: 71,11 và 70,97 so với 65,75%; thân cây ngô: 65,06 và 64,94 so với 62,18%; TMR: 84,72 và 83,61 so với 67,79%.

Đối với xơ thô: khả năng tiêu hóa chỉ tiêu này của thức ăn rom, cỏ khô Pangola, cỏ voi, thân cây ngô và TMR khi được bổ sung chế phẩm A và C cũng có sự tăng lên đáng kể ($P<0,05$) so với đối chứng lần lượt là 62,40 và 62,66 so với 60,10%; 58,30 và 50,46 so với 36,57%; 67,51 và 66,02 so với 62,92%; 39,53 và 39,63 so với 34,91%; 61,86 và 60,63 so với 53,68%.

Về khả năng tiêu hóa thành phần xơ không hòa tan trong môi trường trung tính (NDF- neutral detergent fibre) và xơ không hòa tan trong môi trường axit (ADF- acid detergent fibre) cũng có sự tăng lên ($P<0,05$) khi bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ so với đối chứng

Thảo luận chung thí nghiệm 3

Kết quả về khả năng thu nhận chất khô và chất hữu cơ của các loại thức ăn trong nghiên cứu này có sự biến động khác nhau, điều này có thể được lý giải là do có sự khác nhau về thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của các

loại thức ăn. Tuy nhiên, xu hướng chung khi bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ A và C thì lượng thức ăn và chất hữu cơ ăn vào tăng ($P < 0,05$) so với đối chứng. Ví dụ lượng chất khô của rom ăn vào: 4,13 và 4,04 so với 3,83 kg; thân cây ngô: 3,95 và 4,09 so với 3,90 kg; cỏ voi: 4,49 và 4,49 so với 3,91 kg; cỏ khô Pangola: 4,15 và 3,93 so với 3,81 kg; TMR: 4,11 và 4,20 so với 3,89 kg. Bổ sung probiotic đã được phát hiện để tăng lượng thức ăn ăn vào và tạo ra ảnh hưởng tích cực đến năng suất của gia súc nhai lại (Chiofalo và cộng sự., 2004; Antunovic và cộng sự., 2006; Desnoyers và cộng sự., 2009). Điều này có thể nhờ tác động của enzyme trong chế phẩm làm suy yếu các rào cản trên thành tế bào thực vật là yếu tố hạn chế tiêu hóa vi khuẩn trong dạ cỏ. Tác động trực tiếp của các enzyme ngoại sinh là trước khi tiêu hóa thức ăn có thể tạo ra quá trình giải phóng đường làm giảm phát sinh hòa tan một phần thành phần thành tế bào. Do đó, điều này có thể làm tăng lượng carbohydrate có sẵn trong dạ cỏ cần thiết để rút ngắn thời gian xâm nhập của vi sinh vật và tăng cường mức độ gắn kết và phát triển nhanh chóng của vi sinh vật (Forsberg và Cheng, 1992). Khi enzyme được cho ăn trực tiếp thường đi kèm với lượng thức ăn tăng lên, do tăng khả năng ngon miệng vì đường được giải phóng bằng thủy phân các sợi thức ăn trước khi ăn, theo đó tạo ra các hiệu ứng của enzyme sau khi ăn làm tăng tỷ lệ và mức độ tiêu hóa thức ăn đồng thời làm tăng tốc độ thoát qua. Những yếu tố này được phản ánh thông qua việc làm tăng khả năng thủy phân của dạ cỏ tác động gián tiếp đến tiêu hóa ở đường ruột, và do đó làm tăng lượng thức ăn (Adesogan, 2004). Theo Colombatto và Beauchemin (2003) hiệu quả hoạt động tốt nhất của các enzyme là loại bỏ các rào cản cấu trúc thức ăn làm chậm quá trình vi sinh vật xâm nhập để tiêu hóa từ đó tăng tốc độ phân giải.

Trong nghiên cứu này, khi bổ sung chế phẩm sinh học A (chứa chủng *Aspergillus oryzae*) và chế phẩm C (chứa các chủng *Aspergillus oryzae*, *Lactobacillus*, *Bacillus* và *Saccharomyces*) vào khẩu phần nuôi dưỡng đã làm

tăng đáng kể khả năng tiêu hóa các chất dinh dưỡng chủ yếu có trong các loại thức ăn. Cụ thể, tỷ lệ tiêu hóa chất khô của rơm ăn khẩu phần đối chứng là 45,50% trong khi đó rơm ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm A và C lần lượt là 48,99 và 49,49% ($P<0,05$) tương tự như vậy, đối với thân cây ngô, cỏ voi, cỏ khô Pagola và thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh (TMR) lần lượt là 46,98 so với 49,24 và 48,96%; 57,03 so với 63,43 và 62,75%; 39,53 so với 45,26 và 44,65%; 64,99 so với 67,92 và 65,74% ($P<0,05$). Lý do cho việc tăng lượng thức ăn ăn vào là do bổ sung probiotics trong khẩu phần đã tăng cường hoạt động của vi khuẩn phân giải xenlulo trong dạ cỏ và tác động tích cực đến độ pH của dạ cỏ, theo đó cải thiện quá trình phân giải xơ và lượng chất khô ăn vào (Wallace và Newbold, 1993; Umberger và Notter, 1989). Theo Dierck, (1989) tăng khả năng tiêu hóa vật chất khô của thức ăn khi bổ sung chế phẩm đã cung cấp enzyme và các cơ chất có lợi khác cho hệ vi sinh vật dạ cỏ, từ đó làm biến đổi môi trường dạ cỏ và đường ruột theo hướng có lợi cho quá trình tiêu hóa thức ăn.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy, khả năng tiêu hóa protein tiêu hóa cao hơn khi bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ A và C so với đối chứng ($P<0,05$). Cụ thể như rơm khô: 42,65 và 42,83 so với 36,06%; thân cây ngô: 65,06 và 64,94 so với 62,18%; cỏ voi: 71,11 và 70,97 so với 65,75%; cỏ khô Pangola: 50,77 và 47,21 so với 33,31%; TMR: 84,72 và 83,61 so với 67,79%. Tăng khả năng tiêu hóa protein thô có thể là kết quả của quá trình phân giải xơ nhờ hoạt tính enzyme thúc đẩy quá trình cellulolytic trong dạ cỏ để giải phóng protein liên kết với cấu trúc carbohydrate.

Đối với xơ thô: khả năng tiêu hóa chỉ tiêu này của thức ăn rơm, thân cây ngô, cỏ voi, cỏ khô Pangola và TMR khi được bổ sung chế phẩm A và C cũng có sự tăng lên đáng kể so với đối chứng lần lượt là, 62,40 và 62,66 so với 60,10%; 39,53 và 39,63 so với 34,91%; 67,51 và 66,02 so với 62,92%; 58,30 và 50,46 so với 36,57%; 61,86 và 60,63 so với 53,68% ($P<0,05$). Kết quả này

phù hợp với nghiên cứu của Khalid và cộng sự. (2011) cho thấy, chủng *Lactobacillus plantarum* có tác dụng cắt mạch liên kết của một số carbohydrate thành các cơ chất đơn giản hơn như glucose để cung cấp năng lượng, trong khi đó chủng *Aspergillus oryzae* giúp sản xuất các enzym tham gia vào quá trình tiêu hóa carbohydrate, chất xơ và cải thiện khả năng sản xuất của động vật. Theo El-Waziry và Ibrahim, (2007), việc làm tăng khả năng tiêu hóa xơ có thể là do quá trình lên men phân giải xơ của vi sinh vật dạ cỏ tăng nhờ hoạt tính enzyme của chế phẩm bổ sung, chúng có tác dụng kích thích vi sinh vật chọn lọc cơ chất của chế phẩm lên men và tiêu hóa xơ trong dạ cỏ. Nghiên cứu của Chaucheyras-Durand và cộng sự. (2008) cho thấy, bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ đã cung cấp nhiều cơ chất hơn cho nhóm vi khuẩn lên men lactic, thúc đẩy sự phát triển của vi khuẩn sử dụng cellulolytic và lactate, tăng pH trong dạ cỏ (Mohamed và cộng sự., 2009; Paryad và Rashidi, 2009) và từ đó làm tăng khả năng tiêu hóa xơ.

Về khả năng tiêu hóa thành phần xơ không hòa tan trong môi trường trung tính (NDF- neutral detergent fibre) và xơ không hòa tan trong môi trường axit (ADF- acid detergent fibre) cũng có sự tăng lên ($P < 0.05$) khi bổ sung chế phẩm sinh học phân giải xơ so với đối chứng, có thể là do tăng tổng số vi khuẩn có khả năng thủy phân xellulo (Wallace và Newbold, 1992), theo đó các liên kết chặt chẽ trong thành tế bào thực vật được các enzyme phân giải (Chaucheyras-Durand và cộng sự., 2008). Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của Singh và cộng sự. (2016) về hệ số tiêu hóa DM, CP, EE, CF và NFE cao hơn khi bổ sung probiotic vào thức ăn nuôi Barbari.

Kết luận sơ bộ thí nghiệm 3

– Các giá trị về lượng vật chất khô và chất hữu cơ thu nhận, tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng của thức ăn có sự biến động trong nghiên cứu tỷ lệ tiêu hóa của thức ăn bằng phương pháp *in vivo* do các loại thức ăn khác nhau về

thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng.

– Bổ sung chế phẩm A (Best^FRumen[®]) mức 40g; chế phẩm B (Best^FRumen[®]) mức 50g vào các khẩu phần cơ sở làm rơm, thân cây ngô, cỏ voi, cỏ khô Pangola và TMR đã làm tăng lượng vật chất khô và chất hữu cơ thu nhận so với lô đối chứng và mức bổ sung khác ($P < 0,05$).

– Bổ sung chế phẩm A (Best^FRumen[®]) mức 40g; chế phẩm B (Best^FRumen[®]) mức 50g vào các khẩu phần cơ sở làm rơm, thân cây ngô, cỏ voi, cỏ khô Pangola và TMR đã làm tăng khả năng tiêu hóa *in vivo* các chất dinh dưỡng (protein thô, mỡ thô, xơ thô, NDF, ADF và chất hữu cơ) so với lô đối chứng và mức bổ sung khác ($P < 0,05$).

3.4. ẢNH HƯỞNG CỦA BỔ SUNG CHẾ PHẨM SINH HỌC VÀO KHẨU PHẦN CƠ SỞ LÀ THỨC ĂN GIÀU XƠ NUÔI BÒ LAI SIND SINH TRƯỞNG ĐẾN LƯỢNG THỨC ĂN THU NHẬN, TĂNG KHỐI LƯỢNG, HIỆU QUẢ SỬ DỤNG THỨC ĂN VÀ HIỆU QUẢ KINH TẾ

3.4.1. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thức ăn thí nghiệm

Trên cơ sở tích lũy tại thời điểm 24^h (GP₂₄) và thành phần hóa học của thức ăn, tính toán giá trị năng lượng trao đổi (ME) theo phương trình ME (MJ/kg DM) = $1885 + 21 \times GP_{24} + 2.49 \times DM - 21.6 \times CP$ (Đinh Văn Mười, 2012) từ thí nghiệm *in vitro* gas production của cỏ voi và thức ăn hỗn hợp bổ sung được trình bày ở bảng 3.13.

Bảng 3.13. Giá trị dinh dưỡng của thức ăn bò thí nghiệm

Chỉ tiêu	Cỏ voi	Thức ăn tinh
Chất khô (DM) (%)	21,01	89,35
Protein thô (% DM)	11,49	15,28
Mỡ thô (%DM)	1,72	11,56
Xơ thô (%DM)	35,81	12,29

Chỉ tiêu	Cỏ voi	Thức ăn tinh
NDF (%)	67,83	31,36
ADF (%)	38,82	17,60
Khoáng tổng số (%DM)	10,81	10,00
Năng lượng trao đổi (MJ/kg DM)*	8,69	11,6

*Ghi chú: *Tính toán trên cơ sở khí tích lũy khi lên men thức ăn tại thời điểm 24^h và thành phần hóa học thức ăn.*

Kết quả ở bảng cho thấy giá trị năng lượng trao đổi (MJ/kg DM) của cỏ voi và thức ăn tinh trong thí nghiệm tương ứng là 8,69 và 11,6 MJ/kg chất khô. Về hàm lượng MJ ME/kg DM của cỏ voi và thức ăn hỗn hợp trong thí nghiệm này cũng không sai khác nhiều so với kết quả nghiên cứu về hai loại thức ăn tương tự trước đây ở Việt Nam. Theo Đinh Văn Mười. (2012) thì thức ăn hỗn hợp có hàm lượng protein thô 17% có giá trị ME tương ứng là 9,83 MJ ME/kg DM. Nghiên cứu của Vũ Chí Cương và cộng sự. (2003) khi so sánh thành phần hoá học, tỷ lệ tiêu hoá và giá trị dinh dưỡng của một số loại thức ăn chủ yếu dùng cho bò cho thấy giá trị năng lượng dao động từ 6,7 – 11,9 MJ tùy theo loại cây thức ăn. Giá trị năng lượng ME của thức ăn phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong số đó thành phần hóa học của thức ăn và tỷ lệ tiêu hóa các chất dinh dưỡng có trong thức ăn đó.

3.4.2. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến lượng thức ăn thu nhận bò thí nghiệm

Lượng thu nhận của con vật đối với một loại thức ăn nào đó phản ánh mức độ chấp nhận, tính thèm ăn của con vật đối với loại thức ăn đó. Lượng thu nhận thức ăn của con vật đối với một loại thức ăn phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có các yếu tố chính là nhu cầu dinh dưỡng và giới hạn của đường tiêu hóa. Bên cạnh đó còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố phụ như cân bằng dinh dưỡng của khẩu phần. Lượng thức ăn thu nhận của từng cá thể ăn các khẩu phần khác nhau được thể hiện ở bảng 3.14 và minh họa qua hình 3.9.

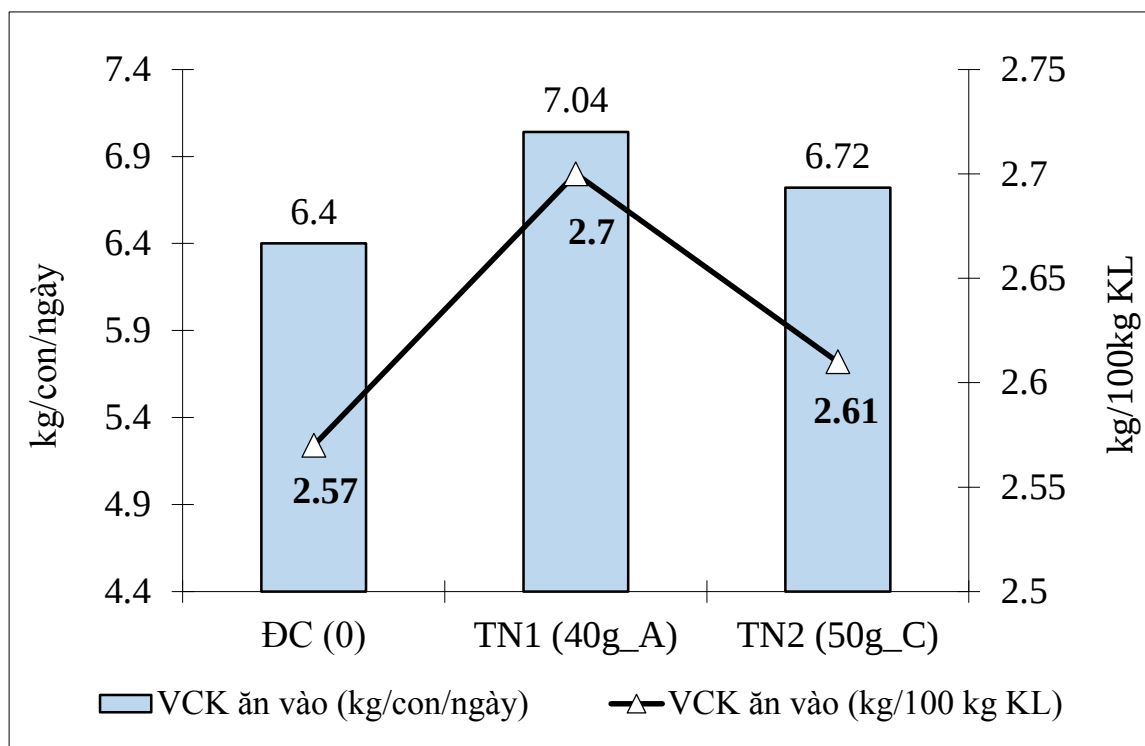
**Bảng 3.14. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm đến lượng thức ăn thu nhận
(Mean $\pm$ SD)**

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Vật chất khô thu nhận			
kg/con/ngày	6,40 ^c $\pm$ 0,91	7,04 ^a $\pm$ 0,47	6,72 ^b $\pm$ 0,46
kg/100 kg KL	2,57 ^c $\pm$ 0,11	2,70 ^a $\pm$ 0,18	2,61 ^b $\pm$ 0,14
g/KL ^{0,75}	102,04 ^c $\pm$ 17,64	108,63 ^a $\pm$ 19,32	104,48 ^b $\pm$ 20,11
Chất dinh dưỡng thu nhận			
ME, MJ/con/ngày	61,47 ^c $\pm$ 8,97	67,28 ^a $\pm$ 4,05	63,62 ^b $\pm$ 4,08
CP, kg/con/ngày	0,81 ^c $\pm$ 0,12	0,89 ^a $\pm$ 0,05	0,84 ^b $\pm$ 0,05
NDF, kg/con/ngày	3,60 ^b $\pm$ 0,49	4,01 ^a $\pm$ 0,32	3,90 ^a $\pm$ 0,32
ADF, kg/con/ngày	2,05 ^b $\pm$ 0,28	2,29 ^a $\pm$ 0,19	2,22 ^a $\pm$ 0,18

Ghi chú: ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen[®]); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen[®]); KL: Khối lượng cơ thể; Mean: số trung bình; SD: độ lệch chuẩn.

Kết quả bảng 3.14 cho thấy, lượng vật chất khô ăn vào dao động từ 6,40 – 7,04 kg/con/ngày, thấp nhất thấy ở nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0), cao nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm (A40) có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) về lượng chất khô ăn vào của bò ăn các khẩu phần khác nhau. Lượng chất khô ăn vào tính trên 100 kg khối lượng cơ thể dao động từ 2,57 – 2,70 kg, cao nhất thấy ở bò ăn khẩu phần thí nghiệm (C40) tiếp theo là khẩu phần thí nghiệm (C50) và thấp nhất là nhóm bò ở lô (ĐC0) tương ứng cao-thấp là 2,70; 2,61 và 2,57 kg ($P < 0,05$).

Về các chất dinh dưỡng ăn vào như lượng ăn (ME-MJ/con/ngày), protein thô (kg/con/ngày), NDF (kg/con/ngày) và ADF (kg/con/ngày) tương ứng dao động từ (61,47 – 67,28 MJ); (0,81 – 0,89 kg); (3,60 – 4,01 kg) và (2,05 – 2,29 kg) tùy theo khẩu phần đồng thời có sự sai có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa nhóm bò ăn khẩu phần thí nghiệm (A40) và (C50) so với bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0).



Hình 3.9. Lượng vật chất khô thu nhận của bò thí nghiệm

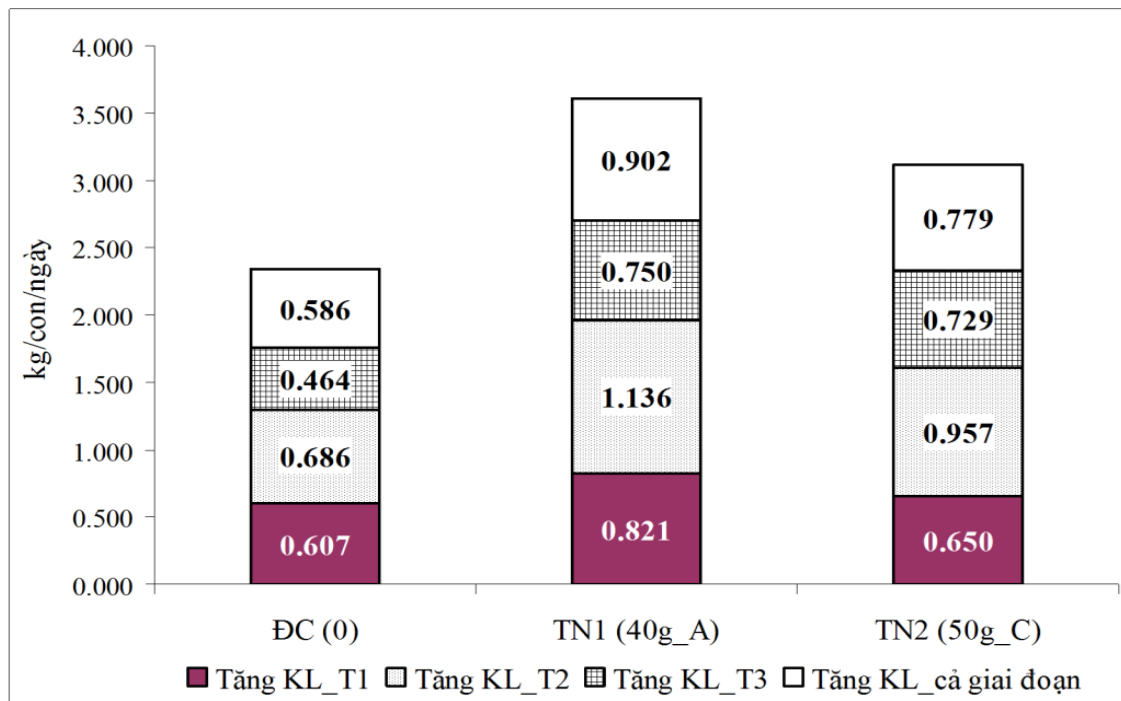
3.4.3. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến thay đổi khối lượng bò thí nghiệm

Khối lượng và tăng khối lượng của bò thí nghiệm được trình bày ở Bảng 3.15 và minh họa qua Hình 3.10 và 3.11.

Bảng 3.15. Thay đổi khối lượng bò thí nghiệm (Mean $\pm$ SD)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
KL ban đầu (kg)	224,6 $\pm$ 10,6	222,4 $\pm$ 8,3	225,0 $\pm$ 12,5
KL tháng 1 (kg)	241,6 $\pm$ 9,2	245,4 $\pm$ 9,6	243,2 $\pm$ 13,1
Tăng KL _{tháng 1} (kg/con/ngày)	0,607 ^b $\pm$ 0,088	0,821 ^a $\pm$ 0,121	0,650 ^b $\pm$ 0,069
KL tháng 2 (kg)	260,8 ^b $\pm$ 12,37	277,2 ^a $\pm$ 16,8	270,0 ^{ab} $\pm$ 14,62
Tăng KL _{tháng 2} (kg/con/ngày)	0,686 ^c $\pm$ 0,053	1,036 ^a $\pm$ 0,064	0,957 ^b $\pm$ 0,067
KL tháng 3 (kg)	273,8 ^b $\pm$ 7,7	298,2 ^a $\pm$ 8,2	290,4 ^a $\pm$ 10,5
Tăng KL _{tháng 3} (kg/con/ngày)	0,464 ^b $\pm$ 0,071	0,750 ^a $\pm$ 0,025	0,729 ^b $\pm$ 0,041
Tăng KL_{cả giai đoạn} (kg/con/ngày)	0,586^c $\pm$ 0,050	0,902^a $\pm$ 0,033	0,779^b $\pm$ 0,037

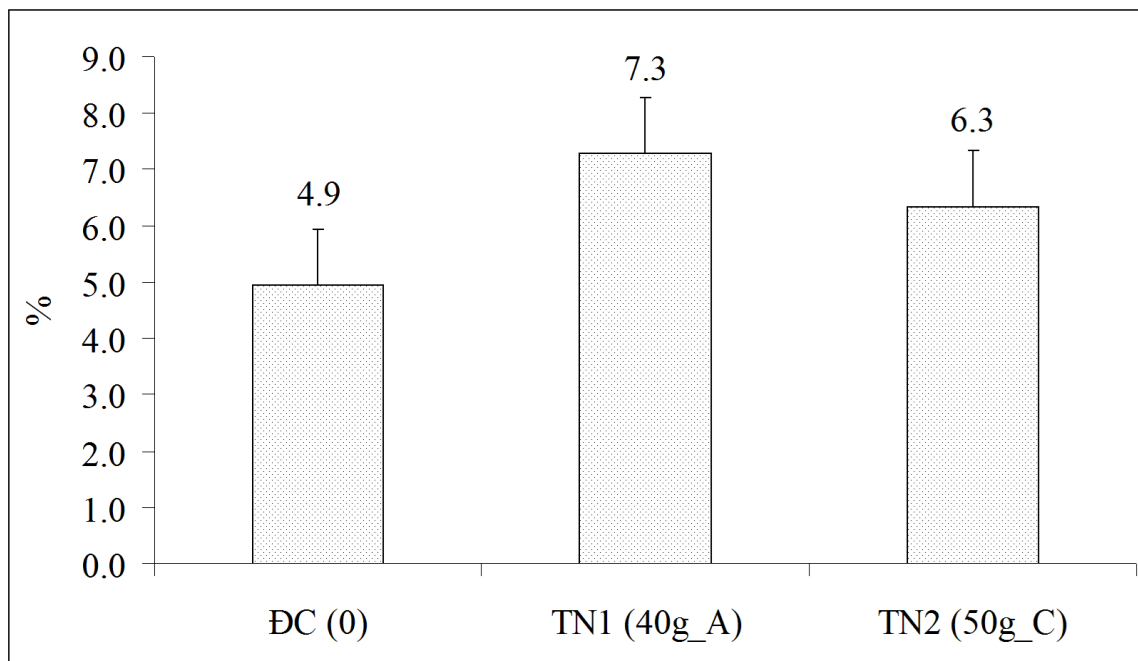
Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen®); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen®); KL: Khối lượng; Mean: số trung bình; SD: độ lệch chuẩn.



Hình 3.10. Sinh trưởng tuyệt đối (kg/con/ngày) của bò thí nghiệm

Kết quả cho thấy, tăng KL bình quân sau một tháng thí nghiệm đạt từ 0,607 – 0,821 kg/con/ngày, cao nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm A (A40) và thấp nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0) và có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Ở tháng thứ hai, tăng KL của bò ở tất cả các lô đối chứng và thí nghiệm đạt cao nhất cụ thể là 0,686 kg/con/ngày (ĐC0) đối chứng trong khi đó giá trị này của bò ở lô thí nghiệm (A40) và (C50) tương ứng là 1,136 và 0,957 kg/con/ngày, sau đó có xu hướng giảm ở tháng cuối của thí nghiệm.

Tính chung cho cả giai đoạn thí nghiệm, tăng KL trung bình hàng ngày của nhóm bò ăn khẩu phần thí nghiệm bổ sung chế phẩm (0,779 – 0,902 kg/con/ngày), trong khi đó bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0) chỉ đạt 0,586 kg/con/ngày và có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Kết quả này cũng được thể hiện qua sinh trưởng tương đối của các nhóm bò ăn các khẩu phần khác nhau trong giai đoạn thí nghiệm theo thứ tự từ cao-thấp là (A40), (C50) và (ĐC0) tương ứng là 7,3; 6,3 và 4,9% (Hình 3.11).



Hình 3.11. Sinh trưởng tương đối (%) của bò thí nghiệm

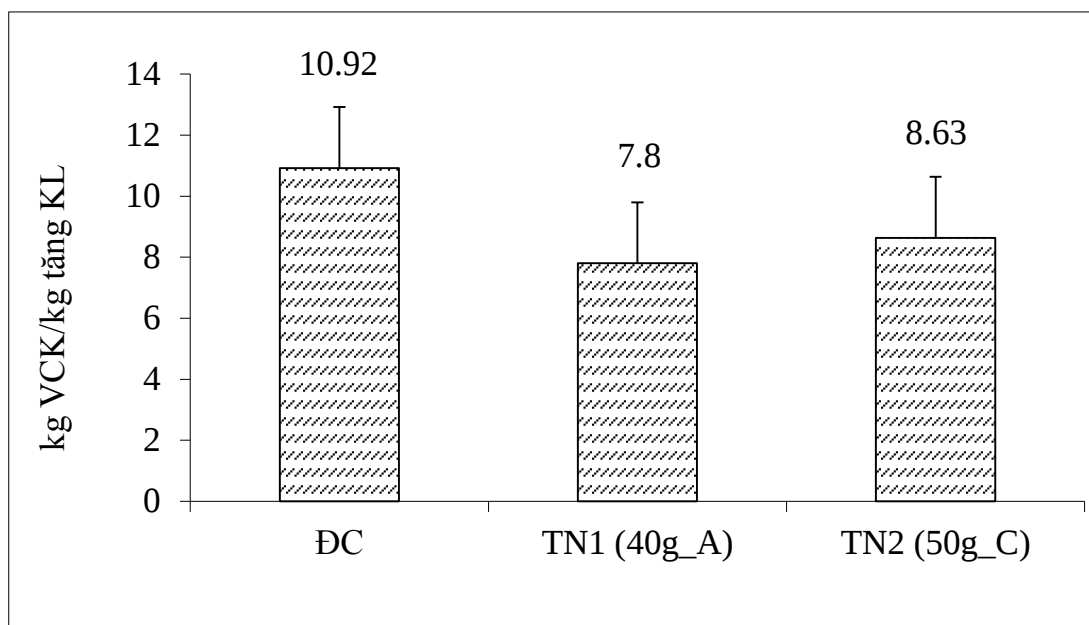
3.4.4. Hiệu quả sử dụng thức ăn

Kết quả về hiệu quả sử dụng thức ăn được tính toán dựa trên hai chỉ tiêu về lượng thức ăn ăn vào, năng lượng trao đổi ăn vào và tăng khối lượng trung bình trong thời gian thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 3.16 và minh họa qua Hình 3.12.

Bảng 3.16. Hiệu quả sử dụng thức ăn của bò thí nghiệm (Mean $\pm$ SD)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
VCK ăn vào (kg/con/ngày)	6,40 ^c $\pm$ 0,91	7,04 ^a $\pm$ 0,47	6,72 ^b $\pm$ 0,46
Tăng KL _{cả giai đoạn} (kg/con/ngày)	0,586 ^c $\pm$ 0,050	0,902 ^a $\pm$ 0,033	0,779 ^b $\pm$ 0,037
Tiêu tốn TĂ (kg VCK/kg tăng KL)	10,92 ^c $\pm$ 1,02	7,80 ^a $\pm$ 1,13	8,63 ^b $\pm$ 1,08
ME ăn vào (MJ/con/ngày)	61,47 ^c $\pm$ 8,97	67,28 ^a $\pm$ 4,05	63,62 ^b $\pm$ 4,08
HQSD ME (g tăng trọng/MJME)	9,53 ^c $\pm$ 1,15	13,41 ^a $\pm$ 1,21	12,24 ^b $\pm$ 1,18

Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen ©); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen ©); VCK: vật chất khô; KL: Khối lượng; HQSDTĂ: hiệu quả sử dụng thức ăn; HQSD ME: hiệu quả sử dụng năng lượng; Mean: giá trị trung bình; SD: độ lệch chuẩn.



Hình 3.12. Hiệu quả sử dụng thức ăn của bò thí nghiệm

Kết quả bảng 3.16 cho thấy tiêu tốn thức ăn cho 1 kg tăng KL dao động trong phạm vi từ 7,80 – 10,92 kg VCK/kg tăng khối lượng, thấp nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học A (A40) tiếp theo là nhóm bò ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học C (C50) và cao nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0) tương ứng thấp-cao là 7,80; 8,63 và 10,92 kg và có sai khác về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Hiệu quả sử dụng năng lượng thức ăn của khẩu phần ở bò trong thí nghiệm do động từ 9,53 – 13,41 g tăng trọng/MJ năng lượng trao đổi, cao nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm A tiếp đến là nhóm bò ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học C và thấp nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng tương ứng cao-thấp là 13,41; 12,24 và 9,53 (g tăng trọng/MJME) và có sai khác về mặt thống kê ($P < 0,05$).

3.4.5. Sơ bộ tính toán hiệu quả nuôi dưỡng bò thí nghiệm

Dựa trên cơ sở giá nguyên liệu phối trộn thức ăn tinh, bò mua và bán tại thời điểm bắt đầu và kết thúc thí nghiệm, sơ bộ tiến hành tính toán hiệu quả vỗ béo. Kết quả được trình bày ở bảng 3.17.

Bảng 3.17. Hiệu quả của nuôi dưỡng bò thịt (ĐV: nghìn đồng)

Diễn giải	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Giá thành TĂ (nghìn đ/kg)	7.5	7.5	7.5
Giá mua bò (nghìn đồng/kg)	60	60	60
Giá bán bò (nghìn đồng/kg)	65	65	65
* Chi			
Mua bò (nghìn đồng)	13476	13344	13500
Mua thức ăn (nghìn đồng)	2183	2361	2366
<i>Tổng chi (nghìn đồng)</i>	<i>15659</i>	<i>15705</i>	<i>15866</i>
* Thu			
Bán bò (nghìn đồng)	17797	19383	18876
<i>Chênh lệch thu-chi (nghìn đồng)</i>	<i>2138</i>	<i>3678</i>	<i>3010</i>
Thu/con/tháng (nghìn đồng)	713	1226	1003

Ghi chú: ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen ©); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen ©)

Kết quả bảng 3.17 cho thấy, tùy theo khẩu phần vỗ béo số tiền lãi thu được sau khi vỗ béo đạt từ 713.000 – 1.226.000 đồng/con/tháng. Lợi nhuận mang lại ở nhóm bò nuôi bằng khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học A và C lần lượt là 1.226.000 và 1.003.000 đồng/con/tháng) trong khi đó nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng cũng đạt 713.000 đồng/con/tháng. Điều này cho thấy hiệu quả mang lại từ việc bổ sung chế phẩm sinh học enzyme phân giải xơ.

Thảo luận chung thí nghiệm 4

Về lượng thức ăn thu nhận của bò lai Sind nuôi khẩu phần thí nghiệm dao động trong phạm vi từ 6,40 – 7,04 kg vật chất khô/con/ngày (bảng 3.14), cụ thể là lượng VCK ăn vào của các lô thí nghiệm (A40) và (C50) tương ứng là 7,04 và 6,72 kg/con/ngày trong khi đó giá trị này ở lô đối chứng (ĐC0) là 6,40 kg/con/ngày và có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Điều này phù hợp kết quả các nghiên cứu trước đây khi bổ sung fibrolytic enzymes vào khẩu phần nuôi dưỡng làm thay đổi lượng thức ăn thu nhận đồng thời cải thiện khả năng tiêu hóa xơ và hiệu quả sử dụng thức ăn (Beauchemin và cộng sự., 2004;

Feng và cộng sự., 1996; Iwaasa và cộng sự., 1997). Chế phẩm sinh học enzyme phân giải xơ thường được sử dụng để cải thiện chức năng tiêu hóa của gia súc nhai lại trưởng thành (Kumar và Sirohi, 2013; Præsteng và cộng sự., 2013). Các chất dinh dưỡng thu nhận như ME, protein thô, NDF và ADF (3.14) trong thí nghiệm này cũng được cải thiện và cao hơn so với lô đối chứng ($P < 0,05$), kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đây của Mpofu và Ndlovu, (1994) khi bổ sung các chủng *S. cerevisiae* và/hoặc *Armillaria heimii* (nấm rễ trắng) vào khẩu phần ăn nuôi cừu thịt làm tăng vật chất khô, năng lượng trao đổi ăn vào và khả năng tiêu hóa ADF. Theo Kearn (1982) bò 200 – 300 kg, tăng trọng 0,75 kg/con/ngày cần 5,4 – 7,4 kg chất khô/con/ngày. Như vậy, lượng chất khô ăn vào bò trong thí nghiệm này nằm trong khoảng tiêu chuẩn khẩu phần. Lượng chất khô ăn vào tính trên 100 kg khối lượng cơ thể dao động từ 2,57 – 2,70 kg thấp hơn một chút so với kết quả nghiên cứu của Preston và Willis (1967) trên bò tơ (200 kg) lượng chất khô thu nhận xấp xỉ từ 2,8 – 3 kg tính trên 100 kg khối lượng cơ thể khi bò được ăn khẩu phần vỗ béo.

Kết quả về tăng khối lượng của bò trong thí nghiệm này (0,586 – 902 kg/con/ngày) cao hơn kết quả nghiên cứu trước đây của Bùi Văn Chính và cộng sự, (1992); Lê Viết Ly và cộng sự, (1995); Vũ Văn Nội và cộng sự, (1999), trong các nghiên cứu này bò ăn khẩu có phế phụ phẩm nông nghiệp tăng KL: 0,51 – 0,58 kg/con/ngày. Tương tự như vậy, Vũ Chí Cương và cộng sự, (2005) thấy bò lai Sind ăn khẩu có phế phụ phẩm nông nghiệp tăng KL: 0,53 – 0,70 kg/con/ngày. Kết quả tăng KL trọng ở bò nuôi bằng khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học trong thí nghiệm này cao hơn kết quả của Clarke và cộng sự, (1996), tăng KL ở bò cái lai Sind vỗ béo là 0,60 – 0,66 kg ở bò cái loại thải. Tăng khối lượng của bò được bổ sung chế phẩm sinh học A và C trong thí nghiệm này cao hơn kết quả của Zhang Weixian và cộng sự, (1995) tại Trung quốc khi tiến hành thí nghiệm trên bò vàng Trung quốc khối lượng bắt đầu thí

thí nghiệm: 160 – 210 kg, độ tuổi trung bình 12 – 14 tháng, cho ăn rơm ủ urê cộng với 1,0 hoặc 1,5 kg khô dầu hạt bông có tăng trọng sau 60 ngày thí nghiệm là 602 và 687 g/con/ngày. Điều này cho thấy việc bổ sung chế phẩm sinh học đã làm tăng cường khả năng phân giải chất xơ trong khẩu phần từ đó làm tăng khả năng tiêu hóa và hấp thu các chất dinh dưỡng của khẩu phần. Tăng khối lượng cao hơn ở gia súc nhai lại là do tăng cường hoạt động phân giải xenluloza theo đó cải thiện quá trình phân giải chất xơ từ đó giảm hoạt động của các vi sinh vật sản xuất amoniac dẫn đến lượng protein sẵn có được hấp thụ ở đường ruột nhiều hơn (Russell và Wilson, 1996). Bò được nuôi dưỡng bằng khẩu phần bổ sung chủng *Bacillus licheniformis* và *Bacillus subtilis* cho kết quả tăng khối lượng trung bình hàng ngày và tăng khối lượng kết thúc cao hơn so với đối chứng (Kowalski và cộng sự., 2009). Fiems (1994) cũng báo cáo rằng việc bổ sung *S. cerevisiae* vào khẩu phần đã làm tăng 9,5% và 7,8% khối lượng cơ thể bê và bò giai đoạn sinh trưởng, điều này thường liên quan đến việc tăng lượng thức ăn thu nhận.

Tiêu tốn thức ăn cho 1 kg tăng KL của bò trong nghiên cứu này dao động từ 7,80 – 10,92 kg VCK/kg tăng KL tương ứng với nhóm bò ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học A (40g) và C (50g). Như vậy, chỉ tiêu này của nhóm bò ăn khẩu phần được bổ sung chế phẩm sinh học nằm trong khoảng tiêu chuẩn khuyến cáo của ARC (1980); NRC (1984); INRA (1989); Rajan (1990); Perry (1990) và AFRC (1993) dao động trong khoảng 7,1 – 8,8 kg chất khô/kg tăng trọng. Theo Kearl (1982) bò 200-300 kg, tăng khối lượng 0,75 kg/con/ngày cần 5,4-7,4 kg chất khô/con/ngày.

Hiệu quả sử dụng năng lượng thức ăn của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học (A40) và (C50) trong thí nghiệm này tương ứng là 13,41 – 12,24 g tăng trọng/MJ ME. Như vậy, chỉ số này nằm trong khoảng giá trị hiệu quả sử dụng năng lượng thức ăn được tính toán từ tiêu chuẩn ăn của Kearl (1982);

NRC (1984); Rajan (1990) và AFRC (1993) từ 11,45 – 12,58g tăng trọng/MJ năng lượng trao đổi.

Kết luận sơ bộ thí nghiệm 4

Kết quả nghiên cứu nội dung này cho thấy, bổ sung chế phẩm sinh học A (Best^FRumen^①) mức 40g; chế phẩm C (Best^FRumen^②) mức 50g vào các khẩu phần nuôi dưỡng bò lai Sind đã làm:

- Tăng khối lượng từ 586,0 kg/con/ngày (lô ĐC) lên 0,779 – 0,902 kg (P<0,05).
- Giảm tiêu tốn TĂ (kg VCK/kg tăng KL) từ 10,92 kg (lô ĐC) xuống 7,80 – 8,63 kg.
- Tăng hiệu quả sử dụng năng lượng thức ăn của khẩu phần từ 9,53 lên 12,24 – 13,41 g tăng trọng/MJ ME

3.5. ẢNH HƯỞNG CỦA BỔ SUNG CHẾ PHẨM SINH HỌC VÀO KHẨU PHẦN NUÔI BÒ LAI HƯỚNG SỮA ¾HF ĐẾN LƯỢNG THỨC ĂN THU NHẬN, NĂNG SUẤT, CHẤT LƯỢNG SỮA, HIỆU QUẢ SỬ DỤNG THỨC ĂN VÀ HIỆU QUẢ KINH TẾ

3.5.1. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thức ăn thí nghiệm

Kết phân tích thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng của thức ăn nuôi bò sữa thí nghiệm được trình bày ở bảng 8.18.

Số liệu thu được ở Bảng 3.18 cho thấy, trừ cám hỗn hợp và sắn tươi, các nguyên liệu thức ăn thô dùng phối hợp khẩu phần nuôi dưỡng có biến động về các chỉ tiêu thành phần hóa học, ví dụ, cỏ voi là thức ăn thô xanh có hàm lượng vật chất khô thấp (12,8%). Hàm lượng protein thô cao hơn cỏ khô Pangola, tuy nhiên hàm lượng xơ thô, NDF và ADF lần lượt là: 37,19; 69,31 và 40,11% thấp hơn hàm lượng xơ thô, NDF và ADF của cỏ khô Pangola. Các thành phần hóa học của cỏ voi về vật chất khô, protein thô, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng

số tương ứng lần lượt là: 12,8%; 6,95%; 37,19%; 69,31%; 40,11% và 11,88%. Kết quả này thấp hơn kết quả của Đinh Văn Mười (2012) đã công bố về protein thô là 13,18%.

Bảng 3.18. Thành phần hóa học và giá trị dinh dưỡng thức ăn thí nghiệm

Loại thức ăn	Vật chất khô (%)	Protein thô	Xơ thô	NDF	ADF	Khoáng tổng số	Năng lượng trao đổi (Kcal)
		% vật chất khô					
Cỏ voi	12,8	6,95	37,19	69,31	40,11	11,88	2061
Cỏ khô Pangola	91,68	5,14	39,15	80,88	43,67	4,28	1312
Cây ngô ủ chua	22,07	6,72	33,81	68,88	44,83	5,7	2500
Sắn tươi	27,7	3,25	2,61	19,57	4,05	2,53	2884
Cám hỗn hợp C40	91,25	16,8	4,92	19,4	6,3	8,13	2740

Các thành phần hóa học của cây ngô ủ chua về vật chất khô, protein thô, lipid thô, xơ thô, NDF, ADF và khoáng tổng số tương ứng lần lượt là: 22,07%; 6,72%; 33,81%; 68,88%; 44,83% và 5,7%. Kết quả này cao so với kết quả của Đinh Văn Mười (2012) đã công bố: vật chất khô, ADF, lipid thô lần lượt là 19,00%; 39,07%; 5,78% nhưng thấp hơn về protein thô và khoáng tổng số lần lượt là 8,19% và 13,27%.

Với cỏ khô Pangola, các thành phần hóa học của vật chất khô, xơ thô, NDF và ADF tương ứng lần lượt là: 91,68%; 39,15%; 80,88% và 43,67%, cao hơn về hàm lượng vật chất khô, NDF trong nghiên cứu của Đinh Văn Mười (2012): 86,49%; 80,30% nhưng hàm lượng xơ thô và ADF lại thấp hơn kết quả của tác giả lần lượt là 41,31%; và 47,51%. Mặt khác hàm lượng protein trong nghiên cứu này thấp hơn kết quả của Hoàng Chung (2004) đã công bố: 8,88%. Có sự khác nhau về kết quả này có thể là do nguồn gốc của các nguyên liệu thức ăn khác nhau, điều kiện khí hậu, đất đai ở mỗi vùng khác nhau.

3.5.1. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến lượng thức ăn thu nhận của bò thí nghiệm

Lượng thức ăn thu nhận của từng cá thể ăn các khẩu phần khác nhau được thể hiện ở bảng 3.19 và minh họa qua hình 3.13.

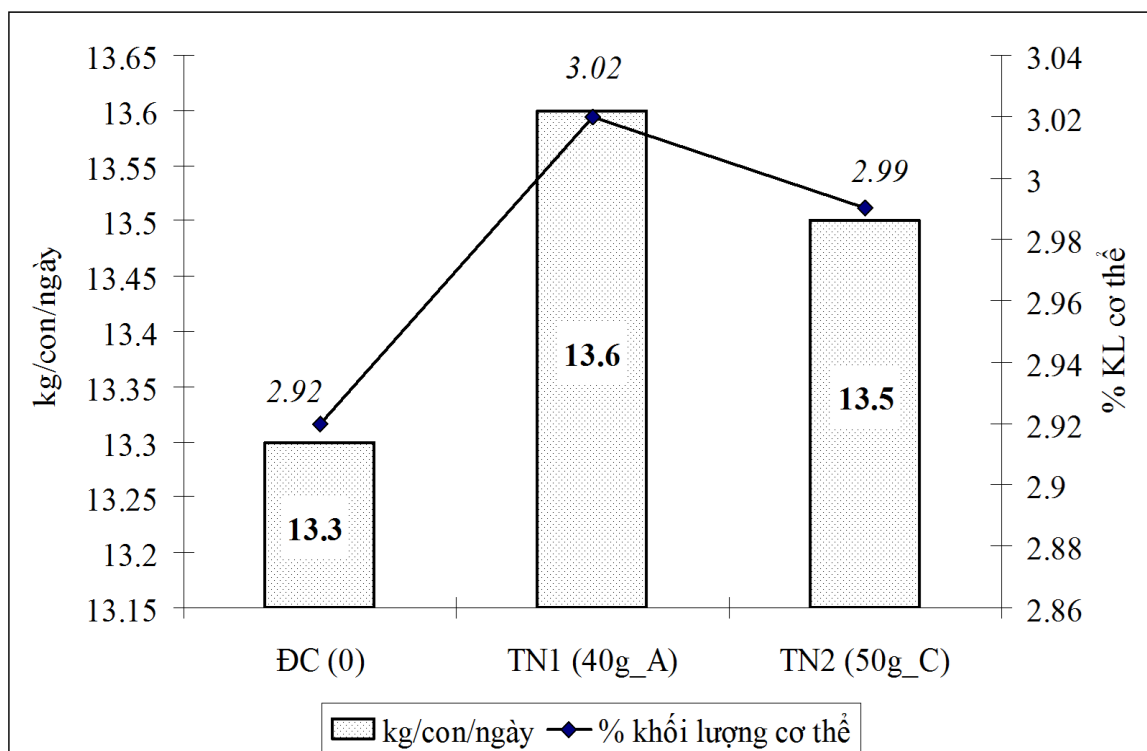
Bảng 3.19. Ảnh hưởng của bổ sung chế phẩm đến thu nhận thức ăn của bò nuôi thí nghiệm (Mean $\pm$ SD)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Chất khô thu nhận			
Kg/con/ngày	13,3 ^b $\pm$ 1,82	13,6 ^a $\pm$ 1,36	13,5 ^a $\pm$ 1,54
% KL cơ thể	2,92	3,02	2,99
Chất dinh dưỡng thu nhận			
CPI (kg/con/ngày)	1,4 ^b $\pm$ 0,46	1,5 ^a $\pm$ 0,48	1,5 ^a $\pm$ 0,53
NDFI (kg/con/ngày)	6,4 ^b $\pm$ 1,57	6,6 ^a $\pm$ 1,60	6,5 ^a $\pm$ 1,49
ADFI (kg/con/ngày)	3,4 ^b $\pm$ 0,53	3,6 ^a $\pm$ 0,85	3,5 ^a $\pm$ 0,74
OMI (kg/con/ngày)	12,5 ^b $\pm$ 0,82	12,8 ^a $\pm$ 0,85	12,7 ^a $\pm$ 0,84

Ghi chú: ^{a, b, c, ...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen[®]); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen[®]); KL: Khối lượng; CPI: protein thô ăn vào; NDFI: xơ không tan trong môi trường trung tính ăn vào; ADFI: Xơ không tan trong môi trường axit ăn vào; OMI: chất hữu cơ ăn vào; Mean: giá trị trung bình; SE: sai số của số trung bình.

Kết quả bảng 3.19 cho thấy lượng chất khô ăn vào tính cả giai đoạn từ dao động trong phạm vi từ 13,3 – 13,6 kg/con/ngày và không có sự khác nhau về lượng chất khô ăn vào của bò ăn các khẩu phần thí nghiệm A40 và C50, tuy nhiên, có sự sai khác rõ rệt ($P < 0,05$) về lượng thức ăn ăn vào của nhóm bò ăn khẩu phần thí nghiệm so với bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0). Lượng chất khô ăn vào tính trên 100 kg khối lượng cơ thể biến động từ 2,92 – 3,02 kg (hình 3.13). Như vậy tính ngon miệng của khẩu phần là chấp nhận được,

đồng thời lượng thức ăn thu nhận còn phụ thuộc vào loại thức ăn và cấu trúc của khẩu phần.



Hình 3.13. Lượng vật chất khô thu nhận của bò sữa thí nghiệm

Về thu nhận các chất dinh dưỡng như CPI , NDFI , ADFI và OMI ở bò ăn khẩu phần thí nghiệm A40 và C50 dao động lần lượt là (1,5 kg/con/ngày); (6,5 – 6,6 kg/con/ngày), (3,5 – 3,6 kg/con/ngày) và (12,7 – 12,8 kg/con/ngày) cao hơn so với bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0) (1,4 kg/con/ngày; 6,4 kg/con/ngày; 3,4 kg/con/ngày và 12,5 kg/con/ngày) ($P < 0,05$). Điều này cho thấy việc bổ sung chế phẩm sinh học đã làm tăng cường khả năng phân giải chất xơ trong khẩu phần nâng cao tỷ lệ tiêu hóa từ đó làm tăng lượng thức ăn thu nhận.

3.5.2. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến thay đổi khối lượng

Kết quả diễn biến thay đổi về khối lượng bò thí nghiệm được trình bày ở bảng 3.20.

Bảng 3.20. Thay đổi khối lượng bò nuôi thí nghiệm (Mean $\pm$ SD)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Khối lượng ban đầu (kg)	450,1 $\pm$ 16,2	443,3 $\pm$ 19,6	444,6 $\pm$ 18,9
Khối lượng kết thúc (kg)	458,2 $\pm$ 16,6	452,7 $\pm$ 17,9	454,6 $\pm$ 19,5
Khối lượng tăng (kg)	8,1 $\pm$ 1,03	9,4 $\pm$ 2,25	10,2 $\pm$ 1,97

Ghi chú: ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen ①); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen ②); Mean: giá trị trung bình; SE: sai số của số trung bình.

Kết quả bảng 3.20 cho thấy, khối lượng tăng bình quân trong thời gian nuôi dưỡng đàn bò tăng dao động trong phạm vi từ 8,1 – 10,2 kg cao nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần thí nghiệm (C50) và thấp nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0). Nhìn chung mức độ tăng khối lượng của bò thí nghiệm là thấp, lý do bò sữa đã đẻ lứa 3, lúc này khối lượng bò sữa đã đạt mức trưởng thành vì thế mức tăng khối lượng của cả 3 nhóm bò thấp.

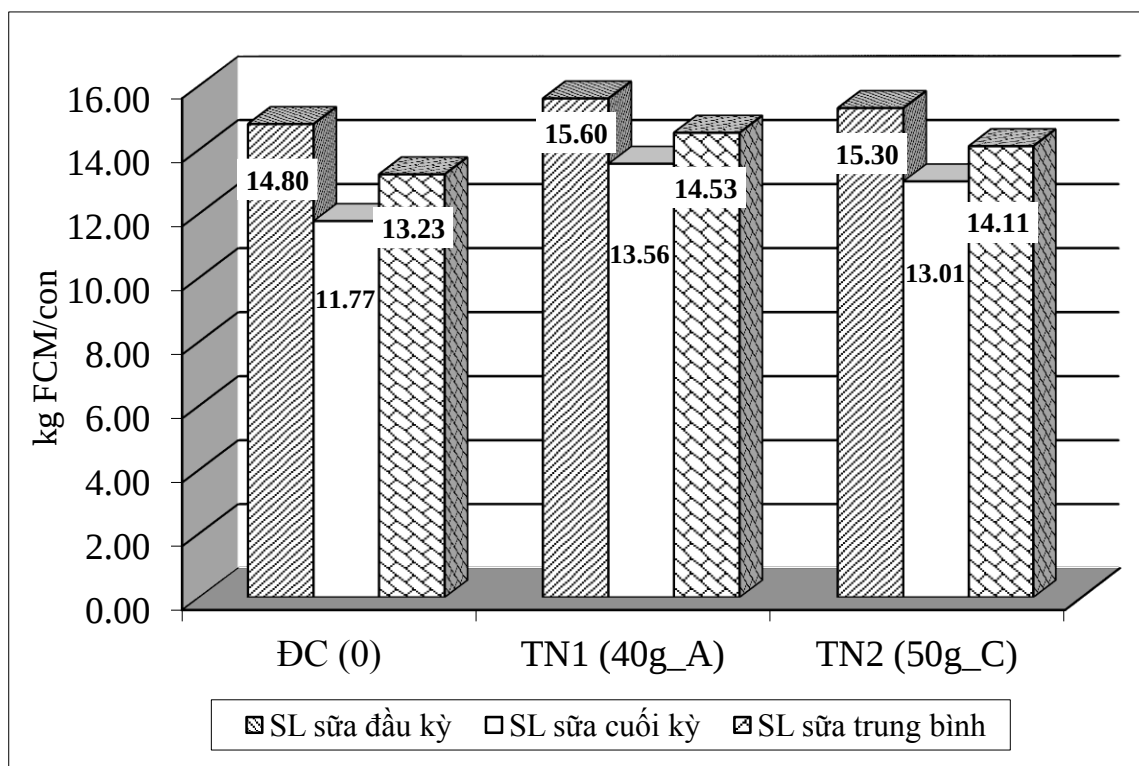
3.5.3. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến năng suất sữa

Kết quả diễn biến về năng suất sữa bò thí nghiệm nuôi dưỡng bằng các khẩu phần khác nhau được trình bày ở bảng 3.21 và được minh họa qua hình 3.14 và 3.15.

Bảng 3.21. Năng suất sữa bò nuôi thí nghiệm (Mean $\pm$ SD)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
NS sữa đầu kỳ (kg FCM/ngày)	14,8 $\pm$ 0,98	15,6 $\pm$ 1,81	15,3 $\pm$ 1,75
NS sữa cuối kỳ (kg FCM/ngày)	11,77 ^b $\pm$ 1,12	13,56 ^a $\pm$ 1,12	13,01 ^a $\pm$ 1,03
NS sữa trung bình (kg FCM/ngày)	13,23 ^b $\pm$ 1,66	14,53 ^a $\pm$ 1,40	14,11 ^a $\pm$ 1,47
Hệ số giảm sữa (%)	20,47 ^a $\pm$ 7,58	13,08 ^b $\pm$ 7,18	14,97 ^b $\pm$ 6,72

Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen ①); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen ②); NS: năng suất; FCM: sữa tiêu chuẩn; Mean: giá trị trung bình; SE: sai số của số trung bình.

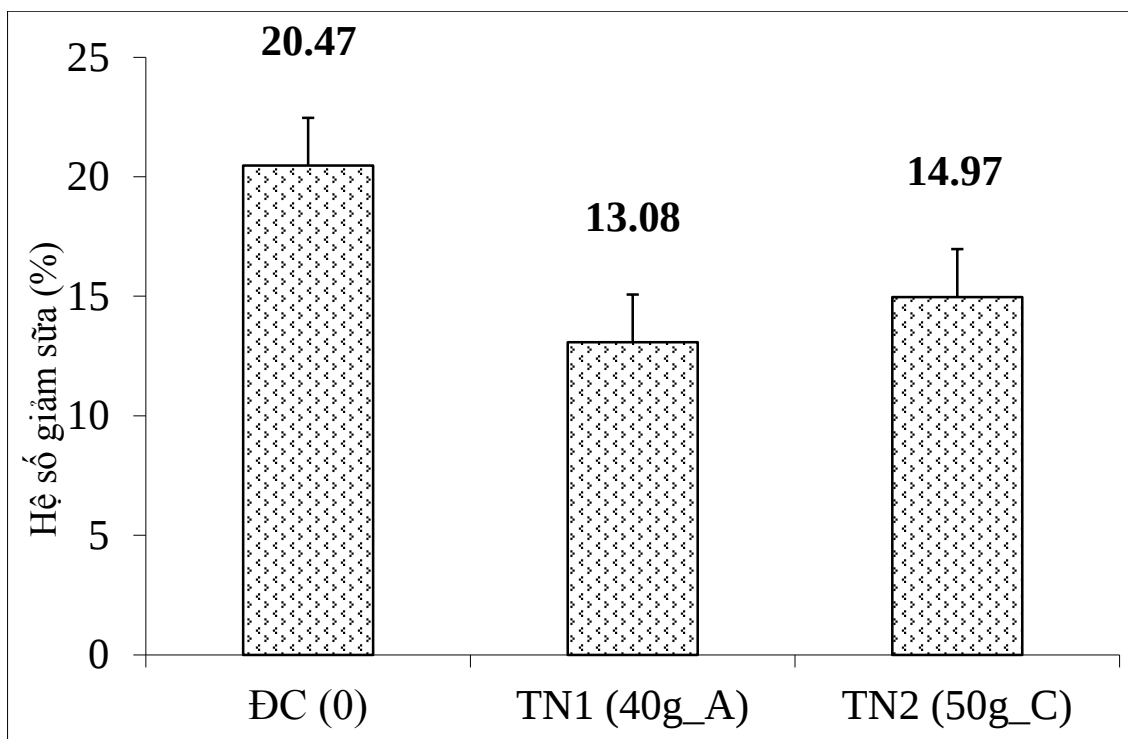


Hình 3.14. Sản lượng sữa tiêu chuẩn (FCM) của bò sữa thí nghiệm

Về năng suất sữa tiêu chuẩn (FCM) đầu kỳ dao động 14,8 – 15,6 kg, đến cuối kỳ năng suất sữa cao nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần thí nghiệm (A40) tiếp theo đến nhóm bò ăn khẩu phần thí nghiệm (C50) và thấp nhất ở nhóm bò đối chứng (ĐC0) tương ứng là 13,56; 13,01 và 11,77 kg/con (bảng 3.21 và hình 3.14) và có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa nhóm bò nuôi bằng khẩu phần thí nghiệm so với bò đối chứng.

Năng suất sữa trung bình cả giai đoạn của bò thí nghiệm dao động trong phạm vi từ 13,23 – 14,53 kg/con và có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa bò nuôi khẩu phần bằng thí nghiệm so với bò đối chứng ($P < 0,05$). Như vậy, bổ sung chế phẩm sinh học đã làm tăng năng suất sữa từ 6,7 – 9,8% đồng thời duy trì độ bền cho sữa. Điều này cho thấy việc bổ sung chế phẩm sinh học đã làm tăng cường khả năng phân giải chất xơ trong khẩu phần làm thay đổi các sản phẩm trong quá trình lên men như tỷ lệ axit acetic cao hơn trong thành phần axit béo bay hơi tổng số từ đó làm tăng khả năng tiêu hóa và hấp thu các chất

dinh dưỡng của khẩu phần.



Hình 3.15. Hệ số giảm sữa của bò sữa thí nghiệm

Hệ số giảm sữa biến động rất rộng phạm vi từ 5 đến 12% phụ thuộc vào di truyền môi trường và cả đặc tính cá thể của bò sữa (NRC, 2001). Hệ số giảm sữa càng thấp thì lượng sữa vắt được trong chu kỳ sữa càng cao. Hệ số sụt sữa của bò đang ở tháng sữa thứ 3 nuôi trong thời gian thí nghiệm cho thấy: thấp nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần thí nghiệm (A40) tiếp theo đến nhóm bò ăn khẩu phần 3 (C50) và cao nhất ở nhóm bò đối chứng (ĐC0) tương ứng 13,08; 14,97 và 20,47%. Điều này phù hợp với kết quả về ảnh hưởng của khẩu phần đến năng suất sữa tiêu chuẩn đề cập ở trên.

3.5.4. Ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến chất lượng sữa của bò thí nghiệm

Chất lượng sữa là chỉ tiêu quan trọng quyết định hiệu quả kinh tế trong chăn nuôi bò sữa vì sản phẩm bán ra thường được cơ sở thu gom hoặc nhà máy chế biến quyết định thông qua các chỉ tiêu chất lượng như mỡ sữa, protein,

chất khô và chất rắn không mỡ ... Kết quả về ảnh hưởng của khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học đến chất lượng sữa được trình bày ở bảng 3.21.

Bảng 3.22. Chất lượng sữa của bò thí nghiệm (Mean $\pm$ SE)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
Chất khô (%)	11,48 ^b $\pm$ 1,04	12,20 ^a $\pm$ 2,09	11,82 ^c $\pm$ 1,07
Protein (%)	3,19 ^{ab} $\pm$ 1,02	3,37 ^a $\pm$ 1,17	3,25 ^b $\pm$ 1,01
Mỡ (%)	4,10 ^b $\pm$ 1,04	4,33 ^a $\pm$ 1,08	4,21 ^{ab} $\pm$ 1,05
Chất rắn không mỡ (%)	7,38 ^b $\pm$ 1,03	7,87 ^a $\pm$ 1,13	7,61 ^b $\pm$ 1,05
Tỷ trọng	26,18 ^b $\pm$ 1,14	27,23 ^a $\pm$ 1,12	26,54 ^b $\pm$ 1,15

Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen[®]); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen[®]); Mean: giá trị trung bình; SE: sai số của số trung bình.

Chất lượng sữa là chỉ tiêu quan trọng trong chăn nuôi bò sữa, nó phản ánh quá trình chăm sóc quản lý nuôi dưỡng đàn bò, đồng thời cũng là yếu tố quyết định hiệu quả kinh tế do giá mua sữa tươi nguyên liệu các nhà máy thu mua để chế biến phụ thuộc vào chất lượng sữa tươi. Kết quả bảng 3.22 cũng cho thấy hàm lượng chất khô dao động trong khoảng từ 12,20 – 11,48 %, cao nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần A40 và thấp nhất ở nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng. Tương tự như hàm lượng vật chất khô, hàm lượng protein sữa đạt cao nhất là 3,37% ở nhóm bò ăn khẩu phần A40 và thấp nhất là 3,19% thấy ở nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0).

Hàm lượng mỡ sữa cũng có sự khác biệt ($P < 0,05$) giữa nhóm bò ăn khẩu phần được bổ sung chế phẩm sinh học so với nhóm bò đối chứng (4,33 và 4,21 so với 4,10%). Đối với chất rắn không mỡ (SNF), cũng có sự khác biệt ($P < 0,05$) giữa nhóm bò ăn khẩu phần được bổ sung chế phẩm sinh học so với nhóm bò đối chứng (7,87 và 7,61 so với 7,38%).

Điều này cho thấy, việc bổ sung chế phẩm sinh học và thức ăn nuôi dưỡng bò sữa không những làm tăng năng suất sữa mà còn cải thiện chất lượng sữa. Các chế phẩm enzyme từ nấm và vi sinh vật đã cung cấp cơ chất cho vi sinh vật dạ cỏ tăng khả năng và hiệu quả lên men các thức ăn giàu xơ trong khẩu phần, điều này được phản ánh qua giá trị mỡ sữa của nhóm bò ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm so với mỡ sữa của nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng (4,33 và 4,21 so với 4,10%).

Chỉ tiêu về chất rắn không mỡ và tỷ trọng sữa cũng cho thấy nhóm bò ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm có giá trị cao hơn so với nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng.

3.5.4. Hiệu quả sử dụng thức ăn

Kết quả về hiệu quả sử dụng thức ăn được tính toán dựa trên hai chỉ tiêu về lượng thức ăn ăn vào và năng suất sữa tiêu chuẩn trung bình trong thời gian thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 3.23 và minh họa qua hình 3.16.

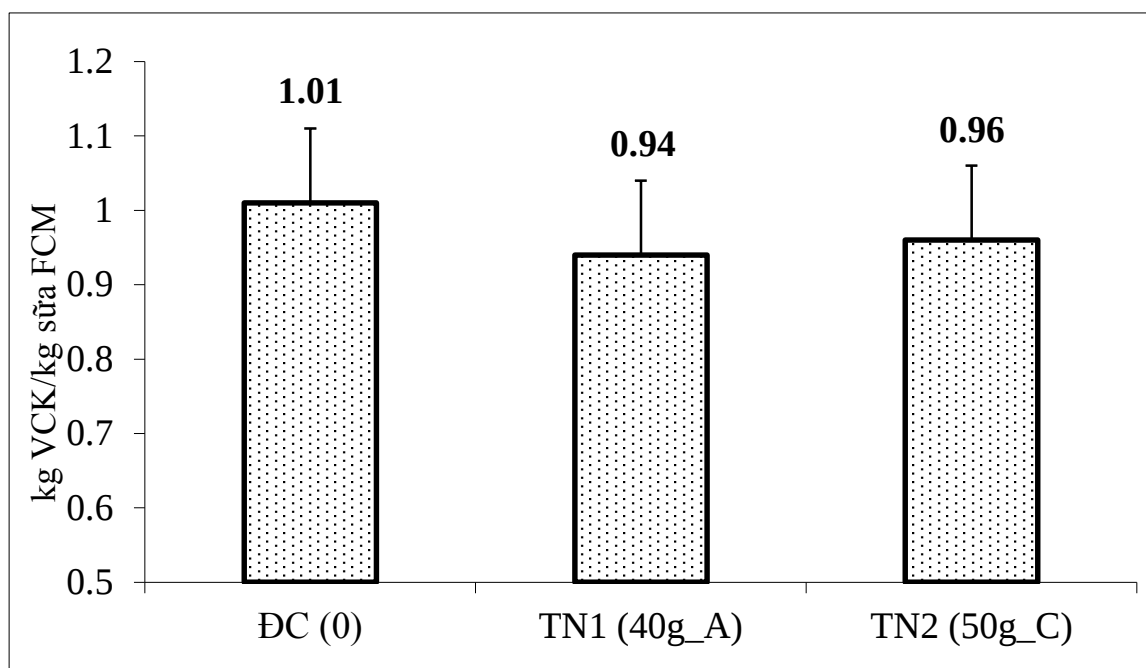
Bảng 3.23. Hiệu quả sử dụng thức ăn của bò sữa (Mean $\pm$ SD)

Chỉ tiêu	Khẩu phần		
	ĐC (0)	A40	C50
VCK ăn vào (kg/con/ngày)	13,3 ^b $\pm$ 1,82	13,6 ^a $\pm$ 1,36	13,5 ^a $\pm$ 1,54
NS sữa T.Bình (kg FCM/ngày)	13,23 ^b $\pm$ 1,66	14,53 ^a $\pm$ 1,40	14,11 ^a $\pm$ 1,47
TTTĂ (kgVCK/kg FCM)	1,01	0,94	0,96

Ghi chú: ^{a, b, c,...} các số trung bình trong cùng một hàng có chỉ số trên khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen[®]); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen[®]); VCK: vật chất khô; NS: năng suất; FCM: sữa tiêu chuẩn; TTTĂ: tiêu tốn thức ăn; Mean: giá trị trung bình; SE: sai số của số trung bình.

Bảng 3.23 cho thấy, tiêu tốn thức ăn (kg VCK/kg sữa tiêu chuẩn – FCM) để sản xuất 1 kg sữa tiêu chuẩn dao động từ 0,94 – 1,01 kg thấp nhất thấy ở nhóm bò sữa ăn khẩu phần A40 (0,96 kg VCK) tiếp đến và bò ăn khẩu phần C50 (0,99 kg) và cao nhất ở bò ăn khẩu phần ĐC0 (1,01 kg VCK/kg sữa FCM)

(hình 3.16). Điều này cho thấy việc bổ sung chế phẩm sinh học đã làm tăng cường khả năng phân giải chất xơ trong khẩu phần làm thay đổi các sản phẩm trong quá trình lên men như tỷ lệ axit acetic cao hơn trong thành phần axit béo bay hơi tổng số từ đó làm tăng khả năng tiêu hóa và hấp thu các chất dinh dưỡng của khẩu phần theo đó tăng hiệu quả sử dụng thức ăn và năng suất sữa.



Hình 3.16. Hiệu quả sử dụng thức ăn của bò sữa thí nghiệm

3.5.5. Sơ bộ tính toán hiệu quả nuôi dưỡng bò sữa thí nghiệm

Dựa trên cơ sở giá nguyên liệu phối trộn thức ăn và bán sữa tại thời điểm bắt đầu và kết thúc thí nghiệm, sơ bộ tiến hành tính toán hiệu quả kinh tế. Kết quả được trình bày ở bảng 3.24.

Bảng 3.24. Sơ bộ ước tính hiệu quả của nuôi dưỡng bò sữa

Lô	Chỉ tiêu	Khối lượng (kg)	Đơn giá (đ)	Thành tiền (đ)
ĐC (0)	Thức ăn	13,3	10500	139.650
	Năng suất sữa (ngày)	13,23	13000	178.100
	Thu nhập (ngày)			38.450
	Thu nhập (tháng)			1.153.500
A40	Thức ăn	13,6	10500	142.800
	Năng suất sữa (ngày)	14,53	13000	200.200

Lô	Chỉ tiêu	Khối lượng (kg)	Đơn giá (đ)	Thành tiền (đ)
	<i>Thu nhập (ngày)</i>			57.400
	<i>Thu nhập (tháng)</i>			1.722.000
	So với ĐC (0)			568.500
C50	Thức ăn	13,5	10500	141.750
	Năng suất sữa (ngày)	14,1	13000	193.700
	<i>Thu nhập (ngày)</i>			51.950
	<i>Thu nhập (tháng)</i>			1.558.500
	So với ĐC (0)			405.000

Ghi chú: ĐC (0): đối chứng không bổ sung; A40: bổ sung 40g/con/ngày (Chế phẩm A: Best^FRumen[®]); C50: bổ sung 50g/con/ngày (Chế phẩm C: Best^FRumen[®]);

Kết quả bảng 3.24 cho thấy tùy theo khẩu phần nuôi dưỡng, thu nhập được sau khi nuôi dưỡng đạt từ 1.153.500 – 1.722.000 đồng/con/tháng. Thu nhập ở nhóm bò nuôi bằng khẩu phần bổ sung chế phẩm sinh học A (Best^FRumen[®]) và chế phẩm C (Best^FRumen[®]) lần lượt là 1.722.000 và 1.558.500 đồng/con/tháng) trong khi đó nhóm bò ăn khẩu phần đối chứng chỉ đạt 1.153.500 đồng/con/tháng. Thu nhập chênh lệch so với đối chứng 405.000 – 568.500 đồng/con, điều này cho thấy hiệu quả mang lại từ việc bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần nuôi dưỡng bò vắt sữa.

Thảo luận chung thí nghiệm 5

Lượng chất khô ăn vào trong nghiên cứu này tính cả giai đoạn từ dao động từ 13,3 – 13,6 kg/con/ngày. Lượng chất khô ăn vào tính trên 100 kg khối lượng cơ thể biến động động từ 2,92 – 3,02 kg, theo NRC (2001) lượng thức ăn thu nhận lượng chất khô của bò dao động từ 2,8 – 3,2%. Về thu nhận các chất dinh dưỡng, CP (1,5 kg/con/ngày), NDF (6,5 – 6,6 kg/con/ngày), ADF (3,5 – 3,6 kg/con/ngày) và OMI (12,7 – 12,8 kg/con/ngày) ở bò ăn khẩu phần thí nghiệm (A40) và (C50) đều cao hơn so với bò ăn khẩu phần đối chứng (ĐC0). Điều này cho thấy việc bổ sung chế phẩm sinh học đã làm tăng cường khả năng phân giải chất xơ trong khẩu phần thông qua tác động làm các tiểu phần thức ăn ủ bị phá vỡ trong dạ cỏ nhanh hơn và do đó thoát qua dạ cỏ nhanh

hơn, tỷ lệ tiêu hóa cao hơn (Moseley và Jones, 1984; Jamot và Grenet, 1991), từ đó làm tăng lượng thức ăn thu nhận. Nocek và Kautz, (2006) quan sát thấy lượng chất khô ăn vào và năng suất sữa tăng lên tương ứng là 2,6 kg/ngày và 2,3 kg/ngày khi bò sữa ăn khẩu phần bổ sung 5×10^9 chủng *faecium* và 2×10^9 chủng nấm men *S. cerevisiae*/con/ngày. Theo Poppy và cộng sự. (2012) bổ sung chủng *S. cerevisiae* vào khẩu phần ăn bò sữa, lượng vật chất khô ăn vào của bò đầu kỳ và cuối kỳ cho sữa tăng tương ứng là 0,62 và 0,78 kg/ngày. Tăng lượng thức ăn thu nhận cùng với việc cải thiện khả năng phân giải thức ăn của vi sinh vật có thể được cho là cơ chế hoạt động của chế phẩm sinh học cải thiện khả năng sản xuất của gia súc.

Đối với gia súc cho sữa, bổ sung probiotics tạo ra những tác động có lợi đến năng suất sữa, hàm lượng chất béo và protein trong sữa (Kritas và cộng sự., 2006). Sản lượng sữa trung bình cả giai đoạn của bò thí nghiệm trong nghiên cứu này dao động từ 13,74 – 15,36 kg/con và có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa bò nuôi khẩu phần bằng thí nghiệm so với bò đối chứng ($P < 0,05$), việc bổ sung chế phẩm sinh học A40 và C50 đã làm tăng năng suất sữa từ 6,7 – 9,8%. Kết quả này phù hợp với kết quả phân tích dữ liệu lớn được Poppy và cộng sự. (2012) thực hiện cho thấy, các chế phẩm sinh học thương mại chứa *S. cerevisiae* dùng bổ sung vào khẩu phần ăn đã làm năng suất sữa tăng 1,18 kg/ngày. Nghiên cứu của Yasuda và cộng sự., (2007) khi bổ sung chế phẩm sinh học vào khẩu phần ăn nuôi ở bò HF đã làm tăng sản lượng sữa từ 3 – 16%. Theo nghiên cứu của Vibhute và cộng sự., (2011), bổ sung probiotic, *Lactobacillus*, *Saccharomyces* và *Propionibacterium spp* vào khẩu phần ăn nuôi bò lai Akola, Maharashtra đã làm tăng sản lượng sữa lên 4,65 – 5,41 lít. Nghiên cứu của Diler và cộng sự. (2014) cũng cho thấy, tổng năng suất sữa hàng ngày của bò được bổ sung chế phẩm sinh học tăng 12,7% so với 11,5% với bò trong nhóm đối chứng. Theo báo cáo Fiems (1994) việc bổ sung *S.*

cerevisiae vào khẩu phần nuôi bò đang vắt sữa làm tăng 3,9% năng suất sữa. Tổng kết 8 thí nghiệm bổ sung *A.oryzae* và nấm men trên bò đang khai thác sữa cho thấy, việc bổ sung đã làm tăng năng suất sữa trung bình tương ứng là 4,3% và 5,1% (Williams và Newbold, 1990). Wallace và Newbold (1993) đã tổng kết 19 kết quả từ các nghiên cứu bổ sung nấm men vào khẩu phần nuôi bò sữa ở các giai đoạn cho sữa khác nhau cho thấy năng suất sữa tăng từ 6,8 – 17,4 % tùy giai đoạn cho sữa. Nghiên cứu của Stein và cộng sự. (2006) cũng cho thấy năng suất sữa tiêu chuẩn (FCM) tăng 8,5% ở bò ăn khẩu phần bổ sung 6×10^{10} *Propionibacterium*/ngày trong thời từ 2 tuần trước khi đẻ đến 30 tuần sau sinh.

Về chất lượng sữa, hàm lượng mỡ sữa trong nghiên cứu này cũng có sự khác biệt ($P < 0,05$) giữa nhóm bò ăn khẩu phần được bổ sung chế phẩm sinh học A40 và C50 so với nhóm bò đối chứng (4,33 và 4,21 so với 4,10%). Theo nghiên cứu của Dutta và cộng sự., (2009), bổ sung trực tiếp chế phẩm gồm hai chủng *Enterococcus faecium* và *Saccharomyces cerevisiae* làm tăng tỷ lệ chất béo trong sữa bò do tăng sản lượng axit béo bay hơi (VFA). Theo Poppy và cộng sự. (2012) bổ sung chủng *S. cerevisiae* vào khẩu phần ăn bò sữa đã làm tăng mỡ sữa tiêu chuẩn 1,61 kg/ngày, tăng protein sữa 0,03 kg/ngày và năng lượng hiệu chỉnh sữa tiêu chuẩn 1,65 kg/ngày. Đối với chất rắn không mỡ (SNF), cũng có sự khác biệt ($P < 0,05$) giữa nhóm bò ăn khẩu phần được bổ sung chế phẩm sinh học so với nhóm bò đối chứng (7,87 và 7,61 so với 7,38%). Nghiên cứu của Hussain và cộng sự., 2014) cho thấy hàm lượng SNF tăng có thể là do có sự gia tăng hàm lượng protein của sữa trong các nhóm bò được ăn khẩu phần bổ sung chế phẩm khi hàm lượng protein và hàm lượng chất béo không béo trong sữa được cải thiện đáng kể ($P < 0,05$) trên những bò cái được nuôi bằng *Saccharomyces cerevisiae*. Việc tăng năng suất sữa, tỷ lệ chất rắn không mỡ và protein sữa ở bò sữa liên quan đến số lượng vi khuẩn phân giải

xenluloza, phân giải chất xơ và thay đổi axit béo dễ bay hơi trong dạ cỏ (Martin và Nisbet, 1990).

Tiêu tốn thức ăn (kg VCK/kg sữa tiêu chuẩn – FCM) để sản xuất 1 kg sữa tiêu chuẩn dao động từ 0,96 – 1.05 kg thấp nhất thấy ở nhóm bò sữa ăn khẩu phần A40 (0,96 kg VCK) tiếp đến và bò ăn khẩu phần C50 (0,99 kg) và cao nhất ở bò ăn khẩu phần đối chứng (1,05 kg VCK/kg sữa FCM). Nghiên cứu của Weiss và cộng sự. (2008) cho thấy, khi bổ sung chủng *Propionibacterium* P169 và *Saccharomyces cerevisiae* vào khẩu phần, không thấy sai khác rõ rệt về năng suất sữa của bò so với đối chứng, nhưng làm giảm tiêu tốn thức ăn và tăng 4,4% hiệu quả sử dụng năng lượng.

Kết luận sơ bộ thí nghiệm 5

Kết quả nghiên cứu nội dung này cho thấy, bổ sung chế phẩm sinh học A (Best^FRumen[®]) mức 40g; chế phẩm C (Best^FRumen[®]) mức 50g vào các khẩu phần nuôi dưỡng bò $\frac{3}{4}$ HF đã làm:

- Tăng NS sữa từ 13,23 kg (lô Đối chứng) lên 14,11 – 14,53 kg sữa FCM;
- Giảm tiêu tốn TĂ (kg VCK/kg sữa tiêu chuẩn) từ 1,01 kg (lô Đối chứng) xuống 0,94 – 0,96 kg VCK/kg sữa FCM;
- Giảm hệ số sụt sữa từ 20,47% (lô Đối chứng) xuống 13,08 và 14,97%;
- Cải thiện các chỉ tiêu chất lượng sữa.

CHƯƠNG IV: KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Bổ sung chế phẩm A (Best^FRumen^①) mức 11‰ và 13‰; hoặc chế phẩm C (Best^FRumen^②) mức 13‰ và 15‰ đã làm tăng lượng khí *in vitro* sản sinh, tỷ lệ tiêu hóa chất hữu cơ và VFA so với các mức bổ sung khác.
- Bổ sung chế phẩm A mức 40g; hoặc chế phẩm C mức 50g đã làm tăng tỷ lệ phân giải VCK *in sacco*, số lượng vi khuẩn (bacteria), động vật nguyên sinh (protozoa) và nấm (fungi) ở dạ cỏ của bò ăn các khẩu phần cơ sở là rơm; cỏ Voi; cỏ khô Pangola; thân cây ngô so với mức bổ sung khác.
- Bổ sung chế phẩm A mức 40g; hoặc chế phẩm C mức 50g vào các khẩu phần cơ sở là rơm; thân cây ngô; cỏ voi; cỏ khô Pangola hoặc TMR đã làm tăng lượng TĂ và chất hữu cơ thu nhận; tăng khả năng tiêu hóa *in vivo* Protein thô, Mỡ thô, NDF, ADF, Xơ thô, Chất hữu cơ so với lô không bổ sung.
- Bổ sung chế phẩm sinh học A (Best^FRumen^①) mức 40g; hoặc chế phẩm C (Best^FRumen^②) mức 50g vào các khẩu phần nuôi dưỡng bò lai Sind đã làm tăng khối lượng từ 586,0 kg/con/ngày (lô không bổ sung) lên 0,779 – 0,902 kg ($P < 0,05$), giảm tiêu tốn TĂ (kg VCK/kg tăng KL) từ 10,92 kg (lô không bổ sung) xuống 7,80 – 8,63 kg. Tăng hiệu quả sử dụng năng lượng thức ăn của khẩu phần từ 9,53 lên 12,24 – 13,41 g tăng trọng/MJ ME
- Bổ sung chế phẩm sinh học A (Best^FRumen^①) mức 40g; hoặc chế phẩm C (Best^FRumen^②) mức 50g vào các khẩu phần nuôi dưỡng bò $\frac{3}{4}$ HF (i) làm tăng NS sữa từ 13,23 kg lên 14,53 kg sữa FCM; (ii) làm giảm tiêu tốn TĂ (kg VCK/kg sữa tiêu chuẩn) từ 1,01 kg (lô không bổ sung) xuống 0,94 – 0,96 kg VCK/kg sữa FCM (iii), làm giảm hệ số sụt sữa từ 20,47% (lô không bổ sung) xuống 13,08 và 14,97%; (iv) cải thiện các chỉ tiêu chất lượng sữa.

4.2. Đề nghị

Áp dụng bổ sung chế phẩm enzym phân giải xơ (Best^FRumen^①) liều 40g/con/ngày hoặc chế phẩm C (Best^FRumen^②) liều 50g/con/ngày vào các khẩu phần nuôi dưỡng bò lai hướng thịt và bò sữa HF

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

- Nguyễn La Anh, Đinh Mỹ Hằng, Vũ Quỳnh Hương, Nguyễn Hương Giang, Nguyễn Thị Lộc (2003). Đặc điểm chủng vi khuẩn *Lactobacillus Plantarum* có ứng dụng trong công nghệ sản xuất nước CVAS. *Tuyển tập báo cáo tại Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc năm 2003*. 159-161.
- Lê Thanh Bình, Phạm Thị Ngọc Lan, Yoshimi Benno (1999). Tác dụng tăng trưởng đối với gia cầm của chế phẩm vi sinh vật PRO 99. *Tuyển tập báo cáo tại Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc năm 1999*. 139-144.
- Vũ Ngọc Bội (2004). Nghiên cứu qui trình thủy phân protein cỏ bằng enzyme protease từ *B. subtilis* S5. *Luận án Tiến sỹ Sinh học*
- Nguyễn Thuỳ Châu (2003). Hoàn thiện công nghệ sản xuất nấm men *candida utilis* làm thức ăn gia súc từ nguyên liệu rỉ đường. Báo cáo tổng kết đề tài nhánh thuộc đề tài cấp Nhà nước mã số KC – 07-14.
- Nguyễn Thuỳ Châu, Lê Thị Thanh Xuân (2005). Phân lập và tuyển chọn các chủng xạ khuẩn ưa nhiệt sinh tổng hợp xenlulaza cao. *Tuyển tập báo cáo Hội nghị toàn quốc 2005 nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống*, tr. 872-875.
- Hoàng Chung và cộng sự. 2004. Đồng cỏ vùng núi phía Bắc Việt Nam. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- Clarke V.J, Lê Bá Lịch, Đỗ Kim Tuyên. (1996). Kết quả chuyển giao kỹ thuật vỗ béo bò bằng khẩu phần cao năng lượng dựa trên nền bột sắn với 3% urea. Trang 41-48. Báo cáo khoa học chăn nuôi thú y 1996 - 1997. Phần chăn nuôi gia súc. Hà nội, 1997.
- Vũ Chí Cương, Phạm Kim Cương, Nguyễn Thành Trung, Phạm Hùng Cường, Nguyễn Thiện Trường Giang, Lưu Thị Thi (2005). Ảnh hưởng các mức lõi ngô trong khẩu phần có hàm lượng rỉ mật cao đến tỷ lệ phân giải chất khô inssaco bông gòn, môi trường dạ cỏ và tăng trọng bò lai Sind vỗ béo. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, số 18 năm 2005 (Kỳ 2 tháng 9/2005), số xuất bản ISSN 0866-7020; trang 43-46.
- Vũ Duy Giảng, Nguyễn Xuân Bả, Lê Đức Ngoan, Nguyễn Xuân Trạch, Vũ Chí Cương, Nguyễn Hữu Văn. 2008. Dinh dưỡng và thức ăn cho bò. NXB Nông nghiệp. Tr.71.
- Nguyễn Thị Hồng Hà, Lê Thiên Minh, Nguyễn Thuỳ Châu (2003). Nghiên cứu công nghệ sản xuất chế phẩm vi khuẩn lactic probiotic. *Tuyển tập báo cáo tại Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc năm 2003*. 75-79. 251-255.

- Lê Tấn Hưng, Võ Thị Hạnh, Lê Thị Bích Phượng, Trương Thị Hồng Vân, Võ Minh Sơn (2003). Nghiên cứu sản xuất chế phẩm probiotic BIO II và kết quả thử nghiệm trên ao nuôi tôm. *Tuyển tập báo cáo tại Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc năm 2003*. 75-79.
- Lê Gia Hy, Lỗ Tiến Sỹ, Phạm Kim Dung, Trương Nam Hải (2000). Nghiên cứu lên men sản xuất protease kiềm từ chủng xạ khuẩn ưa kiềm CD 2-1 phân lập ở Việt Nam, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 3/2000, tr. 12-16.
- Phạm Thị Ngọc Lan, Lê Thanh Bình (2003). Đặc điểm phân loại chủng *Lactobacillus* probiotic CH123 và CH 126 phân lập từ đường ruột của gà. *Tuyển tập báo cáo tại Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc năm 2003*. 101-105.
- Lê Viết Ly, Vũ Văn Nội, Vũ Chí Cương, Phạm Kim Cương, Nguyễn Quốc Đạt. (1995). Nuôi bê lai hướng thịt bằng thức ăn bổ sung từ nguồn phụ phẩm nông nghiệp tại miền Trung. Kết quả nghiên cứu khoa học kỹ thuật chăn nuôi 1994-1995. Nhà xuất bản Nông nghiệp 1996, trang 135-140.
- Đinh Văn Mười. (2012). Nghiên cứu xác định tỷ lệ tiêu hóa, giá trị dinh dưỡng và xây dựng phương trình chẩn đoán các giá trị này của một số loại thức ăn dùng cho gia súc nhai lại. Luận án Tiến sỹ nông nghiệp. Viện chăn nuôi. Bộ nông nghiệp và phát triển nông thôn, 2012.
- Vũ Văn Nội, Phạm Kim Cương và Đinh Văn Tuyền (1999). Sử dụng phế phụ phẩm và nguồn thức ăn sẵn có tại địa phương để vỗ béo bò. Báo cáo khoa học chăn nuôi thú y, Huế 28-30/6/1999) trang 25-29.
- TCVN 4325-2007); (TCVN 4325-2007); (TCVN 4328-2001); (TCVN 4326-2007); (TCVN 4331-2007); (TCVN 4327-2007)
- Ngô Tự Thành (2005). Tìm hiểu khả năng ứng dụng một số chế phẩm có hoạt tính protease từ *Bacillus*. *Tuyển tập báo cáo Hội nghị toàn quốc 2005 nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống*, tr. 746-749.
- Trần Đình Thanh, Hoàng Thanh Hương, Nguyễn Văn Việt, Trần Đình Toại (2000). Điều chế và nghiên cứu tính chất hóa lý của một số chế phẩm protease từ nhựa đu đủ xanh, *Tạp chí Hóa học và công nghệ hóa chất*, 6/2000. tr. 22-26.
- Võ Thị Thứ, Lã Thị Nga, Trương Ba Hùng, Nguyễn Minh Dương, Nguyễn Liều Ba (2003). Nghiên cứu tạo chế phẩm BIOCHE và đánh giá tác dụng của chế phẩm đến môi trường nước nuôi tôm cá. *Tuyển tập báo cáo tại Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc năm 2003*. 119-122.
- Phạm Hồ Trương, Phạm Văn Ty, Nguyễn Đình Quyến (1993). Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường tới khả năng phân giải ligno-xelluloza, lignin và

- hiệu suất tổng hợp protein ở nấm *Acremonium* sp. và *Sporotrichum Pulverulentum*. Tạp chí Sinh học. 1993. 15 (4): 54-59.
- Phạm Hồ Trương, Phạm Văn Ty, Nguyễn Lâm Dũng (1993). Lên men rắn nguyên liệu ligno-xelluloza bằng giống hỗn hợp. Tạp chí Sinh học. 1993. 15 (4): 27-30.
- Phạm Văn Ty, Nguyễn Lâm Dũng, Phạm Hồ Trương, Đào Huyền Lương (1993). Nghiên cứu xạ khuẩn phân giải xelluloza để xử lý phế thải đô thị. Tạp chí Sinh học. 1993. 15 (4): 50-53
- Trần Quốc Việt. (2009). Báo cáo Đề tài cấp Bộ “*Nghiên cứu sản xuất probiotic và enzyme tiêu hóa dùng trong chăn nuôi*”

Tiếng nước ngoài

- Abd El-Ghani AA (2004). Influence of diet supplementation with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance of Zaraibi goats. Small Rumin. Res. 52:223-229.
- Abdelrahman MM, Hunaiti DA (2008). The effect of dietary yeast and protected methionine on performance and trace minerals status of growing Awassi lambs. Livest. Sci. 115:235-241.
- Abe F, Ishibashi N, Shimamura S (1995). Effect of administration of *bifidobacteria* and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. J. Dairy Sci. 78:2838-2846.
- Abu-Tarboush, H.M., Al-Saiady, M.Y. & El-Din, A.H.K. (1996). Evaluation of diet containing lactobacilli on performance, fecal coliform, and lactobacilli of young dairy calves. Anim. Feed Sci. Technol. 57(1): 39-49.
- Adams, M., Luo, J., Rayward, D., King, S., Gibson, R. & Moghaddam, G. (2008). Selection of a novel direct-fed microbial to enhance weight gain in intensively reared calves. Animal Feed Science and Technology, 145(1): 41–52.
- Adesogan, A. T., N. Krueger, M. B. Salawu, D. B. Dean, and C. R. Staples. (2004). The influence of treatment with dual purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of bermudagrass. J. Dairy Sci. 87:3407-3416.
- AFRC.(1993). Energy and Protein Requirements for Ruminants. University Press, Cambridge
- Akin, D. E. (1989). Histological and physical factors affecting digestibility of forages. Agron. J. 81:17-25.
- Ali, B. R. S., L. Zhou, F. M. Graves, R. B. Freedman, G. W. Black, H. J. Gilbert and G. P. Hazlewood. (1995). Cellulases and hemicellulases of the anaerobic fungus

- Piromyces constitute a multiprotein cellulose-binding complex and are encoded by multigene families. *FEMS Microbiol. Lett.* 125:15-22.
- Alkhalf A., M. Alhaj, I. Al-Homidan. (2010). Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens, *Saudi J. Biol Sci.* 17 (2010) 219–225.
- Antunovic Z, Speranda M, Amidzic D, Seric V, Steiner Z, Doma-Cinovic N, Boli F (2006). Probiotic application in lambs nutrition. *Krmiva.* 4:175-180.
- Apás, A.L., Dupraz, J., Ross, R., González, S.N. & Arena, M.E. (2010). Probiotic administration effect on fecal mutagenicity and microflora in the goat's gut. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(5): 537–540.
- ARC. (1980). The nutrient requirements of ruminant livestock. Commonwealth Agric. Bureaux, Farnham Royal, England. pp 351
- ARC. (1984). The Nutrient Requirements for Ruminant Livestock. Suppl 1. Commonwealth Agricultural Bureau, Slough.
- Arcos-Garcia JL, Castrejon FA, Mendoza GD, Perez-Gavilan EP (2000). Effect of two commercial yeast culture with *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation and digestion in sheep fed sugar cane tops. *Livest. Prod. Sci.* 63:153-157.
- Arcos-García, J., Castrejon, F., Mendoza, G. & Pérez-Gavilán, E. (2000). Effect of two commercial yeast cultures with *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation and digestion in sheep fed sugar cane tops. *Livestock Production Science*, 63(2): 153–157.
- Avellaneda J. H., J. M. Pinos-Rodríguez, S. S. González. (2009). “Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestion of Guinea grass hay,” *Animal Feed Science and Technology*, vol. 149, no. 1-2, pp. 70–77, 2009. View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)
- Bairagi.A., K.S. Ghosh, S.K. Sen, A.K. Ray. (2002). Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts, *Aquacult. Int.* 10 (2002) 109–121.
- Baldwin, R.L. and Allison, M.J. (1983). Rumen metabolism. *J. Anim. Sci.* 57, 461-477
- Bauchop, T. (1981). The anaerobic fungi in rumen fiber digestion. *Agri environment*, N°6, pp: 339-348.
- Bauchop, T. and D. O. Mountfort. (1981). Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and the presence of rumen methanogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 42:1103-1110.
- Bayatkouhsar J, Tahmasebi AM, Naserian AA, Mokarram RR, Valizadeh R. (2013). Effects of supplementation of lactic acid bacteria on growth performance, blood

- metabolites and fecal coliform and lactobacilli of young dairy calves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 186:1-11
- Beauchemin K. A., D. Colombatto, and D. P. Morgavi. (2004). “A rationale for the development of feed enzyme products for ruminants,” *Canadian Journal of Animal Science*, vol. 84, no. 1, pp. 23–36, 2004. View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)
- Beauchemin K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi, W. Z. Yang, and L. M. Rode. (2004). “Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants,” *Canadian Journal of Animal Science*, vol. 84, no. 1, pp. 13–22, 2004. View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)
- Bechman, T., Chambers, J. & Cunningham, M. (1977). Influence of *Lactobacillus acidophilus* on performance of young dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 60: 74–75.
- Beeman K. (1985). The effect of *Lactobacillus* spp on convalescing calves. *Agri-Practice* 6:8-10.
- Beharka AA, Nagaraja TG, Morrill JL. (1991). Performance and ruminal function development of young calves fed diets with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *J. Dairy Sci.* 74:4326-4336.
- Bird, S.H. and Leng, R.A. (1985). Productivity responses to eliminating protozoa from the rumen of sheep. In R. A. Leng, J. S. F. Barker, D.B. Adam and K.J. Hutchinson (eds). *Biotechnology and recombinant DNA technology in the animal production industries*. pp 109-117, University of New England, Armidale.
- Blümmel, M. and Becker, K. (1997). The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral-detergent fibres as described by in vitro gas production and their relationship to voluntary feed intake. *British Journal of Nutrition* 77:757-768. <https://doi.org/10.1079/BJN19970073>
- Bonhomme A. 1990. Rumen ciliates: their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. *Anim. Feed Sci. Technol.* 30:203-266
- Boyd, J., West, J. & Bernard, J. (2011). Effects of the addition of direct-fed microbials and glycerol to the diet of lactating dairy cows on milk yield and apparent efficiency of yield. *Journal of Dairy Science*, 94(9): 4616–4622.
- Bruce, B. B., S. E. Gilliland, L. J. Bush and T.E. Staley, (1979). Influence of feeding cells of *Lactobacillus acidophilus* on the fecal flora of young dairy calves. *Oklahoma Anim. Sci. Res. Rep.* 207. Stillwater, OK, USA, pp. 23-35.
- Bui Van Chinh, Le Viet Ly, Nguyen Huu Tao, Pham Van Thin and Preston, T.R. (1992). Ammoniated rice straw or untreated straw supplemented with molasses-

- urea block for growing Sindhi x Local cattle in Vietnam. *Livestock Research for Rural Development*. Vol 4, Num 3, 12/1992.
- Burton, R. A. M. J. Gidley, and G. B. Fincher. (2010). "Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls," *Nature Chemical Biology*, vol. 6, no. 10, pp. 724–732, 2010. View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)
- Candyrine, S. C. L., Jahromi, M. F., Ebrahimi, M., Liang, J. B., Goh, Y. M. and Abdullah, N. (2017). In vitro rumen fermentation characteristics of goat and sheep supplemented with polyunsaturated fatty acids. *Animal Production Science* 57:1607-1612. <https://doi.org/10.1071/AN15684>
- Carlsson J, Iwami Y, Yamada T. (1983). Hydrogen peroxide excretion by oral streptococci and effect of lactoperoxidase thiocyanate-hydrogen peroxide. *Inf. Immunol.* 40:70-80.
- Casey PG, Gardiner GE, Casey G, Bradshaw B, Lawlor PG, Lynch PB, Leonard FC, Stanton C, Ross RR, Fitzgerald GF, Colin H. (2007). A five-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in pigs challenged with *Salmonella enteric* Serovar typhimurium. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:1858-1863.
- Ceslovas J, Vigilius J, Almantas S. (2005). The effect of probiotic and phytobiotics on meat properties and quality in pigs. *Vet. Zootechnol.* 29:80-84.
- Chang, J. S., E. M. Harper, and R. E. Calza. (1999). Fermentation extract effects on the morphology and metabolism of the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* EB188. *J. Appl. Microbiol.* 86:389-398
- Chaucheryras, F., G. Fonty, G. Bertin, and P. Gouet. (1995b). *In vitro* utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an Archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Micro.* 61:3466-3467.
- Chaucheyras F, Fonty G, Bertin G, Salmon JM, Gouet P. (1995). Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Can. J. Microbiol.* 42:927-933.
- Chaucheyras, F., G. Fonty, G. Bertin, J. M. Salmon, and P. Gouet. (1995c). Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Can. J. Microbiol.* 42:927-933.
- Chaucheyras-Durand F, Chevaux E, Martin C, Forano E. (2012). Use of Yeast Probiotics in Ruminants: Effects and Mechanisms of Action on Rumen pH, Fiber Degradation, and Microbiota According to the Diet In: *Probiotic in animals*. Chapter 7.

- Chaucheyras-Durand F, Fonty G. (2001). Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentation activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077. *Reprod. Nutr. Dev.* 41:5768.
- Chaucheyras-Durand F, Fonty GG. (2002). Influence of a probiotic yeast (*Saccharomyces cerevisiae* CNC I-1077) on microbial colonization and fermentation in the rumen of newborn lambs. *Microb. Ecol. Health Dis.* 14:30-36.
- Chaucheyras-Durand F, Walker ND, Bach A. (2008). Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145(1-4):5-26.
- Cheng, K.J., C. W. Forsberg, H. Minato and J. W. Costerton. (1991). Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen. In: *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants* (Ed. T. Tsuda, Y. Sasaki and R. Kawashima). Academic Press, New York, pp. 595-624.
- Cheng, K.J., C. W. Forsberg, H. Minato and J. W. Costerton. (1991). Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen. In: *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants* (Ed. T. Tsuda, Y. Sasaki and R. Kawashima). Academic Press, New York, pp. 595-624.
- Chiofalo V, Liotta L, Chiofalo B. (2004). Effects of the administration of lactobacilli on body growth and on the metabolic profile in growing Maltese goat kids. *Reprod. Nutr. Dev.* 44:449-457.
- Chiquette J, Allison MJ, Rasmussen MA. (2008). *Prevotella bryantii* 25A used as a probiotic in early-lactation dairy cows: Effect on ruminal fermentation characteristics, milk production, and milk composition. *J. Dairy Sci.* 91(9):3536-3543.
- Chiquette J. (2009). The role of probiotics in promoting dairy production. *WCDS Adv. Dairy Technol.* 21:143-157.
- Chung YH, Walker ND, McGinn SM, Beauchemin KA. (2011). Differing effects of 2 active dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strains on ruminal acidosis and methane production in non-lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:2431-2439.
- Cochran, R.C. and Galyean, M.L. (1994). Measurement of *in vivo* forage digestion by ruminants. *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. Madision, Wincosin, USA. pp 613-643.
- Coleman, G. S. (1986). The metabolism of rumen ciliate protozoa. *FEMS Microbiol. Rev.* 39:321-344.

- Coleman, G.S. (1988). In: The role of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion. Eds: J. V. Nolan, R.A Leng and D.I Demeyer. pp 13-28. Penambull Book, Armidale, Australia
- Collado MC, Meriluoto J, Salminen S (2007). Measurement of aggregation properties between probiotics and pathogens: *In vitro* evaluation of different methods. J. Microbiol. Meth. 71:71-74. PMID:17719109.
- Colombatto, D., Beauchemin, K.A., (2003). A proposed methodology to standardize the determination of enzymic activities present in enzyme additives used in ruminant diets. Can. J. Anim. Sci. 83, 559–568.
- Cruywagen CW, Jordaan I, Venter L (1996). Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation of milk replacer on preweaning performance of calves. J. Dairy Sci. 79:483-486.
- Dawson, K.A., Neuman, K.E., and Boling, J.A. (1990). Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities J. Anim. Sci. 68 (10):3392-3398
- Decamp O., D.J.W. Moriarty. (2006). Probiotics as alternative to antimicrobials: Limitations and potential, *World Aquaculture*, 37 (2006) 60–62.
- Dehority, B. A. (1993). Microbial ecology of cell wall fermentation. In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility (Ed. H. G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield and J. Ralph). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc. and Soil Science Society of America. Inc., Madison WI, pp. 425-453.
- Demeyer, D.I. (1988). In: The role of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion. Eds: J. V. Nolan, R.A Leng and D.I Demeyer. pp 171-180. Penambull Book, Armidale, Australia
- Denev, S.A. (2006). Role of *Lactobacilli* in Gastrointestinal Ecosystem. Bulg. J. Agric. Sci.12(1):63-114.
- Desnoyers M, Giger-Reverdin S, Bertin G, Duvaux-Ponter C, Sauvant D (2009). Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. J. Dairy Sci. 92:1620-1632.
- Dicks LMT, Botes M (2010). Probiotic lactic acid bacteria in the gastrointestinal tract: Health benefits, safety and mode of action. Benef. Microb. 1:11-29.
- Dierick NA, Vervaeke IJ, Demeyer DI and Decuyper JA. (1989). Approach to the energetic importance of fibre digestion in pigs. I. Importance of fermentation in the overall energy supply. Animal Feed Science and Technology 23, 141–167.

- Dijkstra, J. and S. Tamminga. 1995. Simulation of the effects of diet on the contribution of rumen protozoa to degradation of fibre in the rumen. *Br. J. Nutr.* 74:617-634.
- Diler A, Kocyigit R, Yanar M and Aydin R. (2014). Effect of feeding direct-fed microbials plus exogenous feed enzymes on milk yield and milk composition of holstein friesian cows. *Veterinarija Ir Zootechnika* 2014;65(87):11-16.
- Doerner K. C. and B. A. White. (1990). Assessment of the endo- β -1, 4-glucanase components of *Ruminococcus flavefaciens* FD1. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:1844-1850.
- Duffield, T., Plaizier, J., Fairfield, A., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., Wilson, J., Aramini, J. & McBride, B. (2004). Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(1): 59–66.
- Dutta, T.K., Kundu, S.S and Kumar M. (2009). Potential of direct-fed on lactation performance in ruminats – a critical review. *Livestock Research Development*, 2009;21(10):160.
- Elam NA (2003). Effects of live cultures of *Lactobacillus acidophilus* Series A. 53:170-173.
- El-Waziry Ahmed M and Ibrahim Hisham R . (2007). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* of Yeast on Fiber Digestion in Sheep Fed Berseem (*Trifolium alexandrinum*) Hay and Cellulase Activity. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(4): 379-385, 2007 ISSN 1991-8178.
- Erasmus LJ, Botha PM, Kistner A (1992). Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75:3056-3065.
- Feng, P., C. W. Hunt, G. T. Pritchard, and W. E. Julien. (1996). Effect of enzyme preparations on *in situ* and *in vitro* degradation and *in vivo* digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. *J. Anim. Sci.* 74:1349–1357.
- Fiems LO. (1994). The use of yeast in practical diets for ruminants. In *Microorganisms and enzyme preparations in animal nutrition*(Castanon J.I.R., ed.). Directorate-General for Agriculture, EuropeanCommunion, Brussels, pp. 159-173.
- Flint, H. J., J. X. Zhang and J. Martin. (1994). Multiplicity and expression of xylanases in the rumen cellulolytic bacterium *Ruminococcus flavefaciens*. *Curr. Microbiol.* 29:139-143.

- Fonty G, Senaud J, Jouany P, Gouet P (1987). Establishment of the microflora and anaerobic fungi in the rumen of lambs. *J. Gen. Microbiol.* 133:1835-1843.
- Fooks LJ, Gibson GR (2002). Probiotics as modulators of the gut flora. *Br. J. Nutr.* 88:S39-S49.
- Forsberg, C. W. and K.-J. Cheng. (1992). Molecular strategies to optimize forage and cereal digestion by ruminants. In: *Biotechnology and Nutrition* (Ed. D. D. Bills and S.-D. Kung). Butterworth Heinmann, Stoneham, UK. pp. 107-147.
- Forsberg, C.W. and Lam, K. (1977). *Use of adenosine 5'- triphosphats as an indicator of the microbiotabiomass in rumen contents.* *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 528-537.
- Frizzo, L., Zbrun, M., Soto, L. & Signorini, M. (2011). Effects of probiotics on growth performance in young calves: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Animal Feed Science and Technology*, 169(3): 147–156.
- Fuller R (1992). The effect of probiotics on the gut micro-ecology of farm animals. In: *The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*, 1:171–192. (BJB Wood, editor). Cambridge: Elsevier Science Publishers Ltd.
- Fuller R. (1999). Probiotics for farm animals. *Probiotics: A Critical Rev.* 15-8:15-22.
- Fuller, R., (1989). Probiotics in man and animals. A review. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-378.
- Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int J Food Microbiol* 141:S15–S28
- Galyean M (1989). Laboratory procedures in animal nutrition research. Department of Animal and Life Science. New Mexico State University, USA
- Getachew, G.; Blümmel, M.; Makkar, H. and Becker, K. (1998). *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology* 72:261-281. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00189-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00189-2)
- Ghazanfar, S., Anjum, M., Azim, A. & Ahmed, I. (2015). Effects of dietary supplementation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on growth performance, blood parameters, nutrient digestibility and fecal flora of dairy heifers. *Journal of Animal and Plant Science*, 25(1): 53–59.
- Ghorbani, G.; Morgavi, D.; Beauchemin, K. and Leedle, J. (2002). Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 80:1977-1985.

- Gibson, G. R., Probert, H. M., van Loo, J. A. E., Rastall, R. A. and Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* 17: 259-275.
- Giger-Reverdin S., N. Bezault, D. Sauvant, G. Bertin. (1996). Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants: Interaction with dietary nitrogen level, *Anim. Feed Sci. Technol.* 63 (1996) 149–162.
- Gilbert, H. J., G. P. Hazlewood, J. I. Laurie, C. G. Orpin and G. P. Xue. (1992). Homologous catalytic domains in a rumen fungal xylanase-evidence for gene duplication and prokaryotic origin. *Mol. Microbiol.* 6:2065-2072.
- Girard ID (1996). Characterization of stimulatory activities from *Saccharomyces cerevisiae* on the growth and activities of ruminal bacteria. PhD Dissertation, University of Kentucky.
- Goering, H.K., and Van Soest, P.J. (1970). Forage fibre analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications) ARS Agric. Handbook 397. Washington, DC.
- Gollop, N.; Zakin, V. and Weinberg, Z. G. (2005). Antibacterial activity of lactic acid bacteria included in inoculants for silage and in silages treated with these inoculants. *Journal of Applied Microbiology* 98:662-666. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02504.x>
- Gomez-Basauri J, de Ordanza MB, Siciliano-Jones J (2001). Intake and milk production of dairy cows fed lactic acid bacteria and mannanoligosaccharide. *J. Dairy Sci.* 84(Suppl. 1):283 (Abstract).
- Gozho, G., Plaizier, J., Krause, D., Kennedy, A. & Wittenberg, K. (2005). Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. *Journal of Dairy Science*, 88(4): 1399–1403.
- Guillot JF (2003). Probiotic feed additives. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 26:52-55.
- Haddad SG, Goussous SN. (2005). Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. *J. Anim. Feed Sci. Technol.* 118:343-348.
- Harrison, G. A., R. W. Hemken, K. A. Dawson, R. J. Harmon and K. B. Barker, (1988). Influence of addition of yeast culture to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J. Dairy Sci.*, 71: 2967- 2975
- Harrison, G. A., R. W. Hemken, K. A. Dawson, R. J. Harmon and K. B. Barker, (1988). Influence of addition of yeast culture to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J. Dairy Sci.*, 71: 2967- 2975

- Holzapfel WH, Geisen R, Schillinger U. (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and foodgrade enzymes. *Int.J.Food Microbiol.*24:343-362.
- Hristov, A., Varga, G., Cassidy, T., Long, M., Heyler, K., Karnati, S., Corl, B., Hovde, C. & Yoon, I. (2010). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal fermentation and nutrient utilization in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(2): 682–692.
- Hughes J (1988). The effect of a high strength yeast culture in the diet of early weaned calves. *Anim. Prod.* 46:526.
- Hungate, R.E. (1966). *The rumen and its microbes*. Academic Press, New York and London.
- Hussain F.M.A, Islam M.M, Ara A and Iliyas N. (2014). Supplementing probiotics (*Saccharomyces cerevisiae*) in multiparous crossbred cows ration proveke milk yield and composition. *Online journal of animal and feed research*, 2014;4(2):18-24
- INRA (1989). *Ruminant Nutrition recommended allowance and Feed Tables*, INRA, Paris, 1989
- Isolauri E, Sutas Y, Kankaanpaa P, Arvilommi H, Salminen S (2001). Probiotics: Effects on immunity. *Am. J. Clin. Nutr.* 73:444-450. PMID:11157355.
- Iwaasa, A. D., L. M. Rode, K. A. Beauchemin, and S. Eivemark. (1997). Effect of fibrolytic enzymes in barley-based diets on performance of feedlot cattle and *in vitro* gas production. *Joint Rowett Res. Inst.—Inst. Natl. de Recherche Agronomique Rumen Microbiol. Symp.*, Aberdeen, Scotland, Poster 39.
- Jamot, J. and Grenet, E. (1991). Microscopic investigation of changes in histology and digestibility in the rumen of a forage grass and forage legume during the first growth stage. *Repro. Nutr. Dev.*31: 441-450.
- Jang D, Oh Y, Kyong Piao H, Guo Choi L, Bong Yun H, Hyeon Kim J, Yong Y (2009). Evaluation of Probiotics as an Alternative to Antibiotic on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Occurrence of Diarrhea and Immune Response in Weaning Pigs. *J. Anim. Sci.Tech.* 51:751-759.
- Jatkauskas, J. & Vrotniakiene, V. (2010). Effects of probiotic dietary supplementation on diarrhoea patterns, faecal microbiota and performance of early weaned calves. *Veterinari Medicina*, 55(10): 494–503.
- Jiao, P. X.; Liu, F. Z.; Beauchemin, K. A. and Yang, W. Z. (2017). Impact of strain and dose of lactic acid bacteria on *in vitro* ruminal fermentation with varying

- media pH levels and feed substrates. *Animal Feed Science and Technology* 224:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.11.005>
- Joblin, K. N., G. E. Naylor and A. G. Williams. (1990). Effect of *Methanobrevibacter smithii* on xylanolytic activity of anaerobic ruminal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:2287-2295.
- Jordan RM, Johnston L (1990). Yeast culture supplemented lamb diets. *J. Anim. Sci.* 68(Suppl 1):493.
- Jung H. G. and M. S. Allen. (1995). "Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants," *Journal of Animal Science*, vol. 73, no. 9, pp. 2774–2790, 1995. View at: [Google Scholar](#)
- Kahi AK, Rewe TO (2008). Biotechnology in livestock production: overview of possibilities for Africa. *Afr J Biotechnol* 7(25):4984–4991
- Karmali, M.A., Gannon, V. & Sargeant, J.M. (2010). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Veterinary Microbiology*, 140(3): 360–370.
- Kawano. Y., Y. Nagawa, H. Nakanishi, H. Nakajima, M. Matsuo, T. Higashihara. (1997). Production of thiotropocin by a marine bacterium, *Caulobacter* sp. and its antimicrobial activities, *J. Marine Biotechnol.* 5 (1997) 225–229.
- Kearl. L. C. (1982). Nutrient Requirements of Ruminants in Developing Countries. International Feedtuffs Institute. Utah Agricultural Experiment Station. Utah State University, Logan.
- Khalid MF, Shahzad MA, Sarwar M, Rehman AU, Sharif M, Mukhtar N (2011). Probiotics and lamb performance: A review. *Afr. J. Agric. Res.* 6(23):5198-5203.
- Khandelwal M. and A. H. Windle. (2013). "Self-assembly of bacterial and tunicate cellulose nanowhiskers," *Polymer*, vol. 54, no. 19, pp. 5199–5206, 2013. View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)
- Klieve, A., Hennessy, D., Ouwerkerk, D., Forster, R., Mackie, R. & Attwood, G. (2003). Establishing populations of *Megasphaera elsdenii* YE 34 and *Butyrivibrio fibrisolvens* YE 44 in the rumen of cattle fed high grain diets. *Journal of Applied Microbiology*, 95(3): 621–630.
- Klieve, A., O’Leary, M., McMillen, L. & Ouwerkerk, D. (2007). *Ruminococcus bromii*, identification and isolation as a dominant community member in the rumen of cattle fed a barley diet. *Journal of Applied Microbiology*, 103(6): 2065–2073.
- Klieve, A.V., McLennan, S.R. & Ouwerkerk, D. (2012). Persistence of orally administered *Megasphaera elsdenii* and *Ruminococcus bromii* in the rumen of beef cattle fed a high grain (barley) diet. *Animal Production Science*, 52(5): 297–304.

- Koenen M.E., R. van der Hulst, M. Leering, S.H. Jeurissen, W.J. Boersma. Development and validation of a new *in vitro* assay for selection of probiotic bacteria that express immune-stimulating properties in chickens *in vivo*, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 40 (2004) 119–127.
- Kowalski ZM, Gorka P, Schlagheck A, Jagusiak W, Micek P, Strzetelski J. (2009). Performance of Holstein calves fed milk-replacer and starter mixture supplemented with probiotic feed additive. *J. Anim. Feed Sci.* 18:399-411.
- Kowalski ZM, Gorka P, Schlagheck A, Jagusiak W, Micek P, Strzetelski J. (2009). Performance of Holstein calves fed milk-replacer and starter mixture supplemented with probiotic feed additive. *J. Anim. Feed Sci.* 18:399-411.
- Krause, D. O.; McSweeney, C. S. and Forster, R. J. (1999). Molecular ecological methods to study fibrolytic ruminal bacteria: phylogeny, competition and persistence. p.15-19. In: Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology.
- Kritas SK, Govaris A, Christodoulopoulos G, Burriel AR. (2006). Effect of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* supplementation of ewe's feed on sheep milk production and young lamb mortality. *J. Vet. Med. Series A.* 53:170-173.
- Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, Lukas M, Fixa B, Kascak M, Kamm MA, Weismueller J, Beglinger C, Stolte M, Wolff C, Schulze J. (2004). Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *E. coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut.* 53:1617-1623. PMID: 15479682.
- Kumar B, Sirohi SK (2013). Effect of isolate of ruminal fibrolytic bacterial culture supplementation on fibrolytic bacterial population and survivability of inoculated bacterial strain in lactating Murrah buffaloes. *Vet. World* 6:14-17.
- Kumar U., V.K. Sareen, S. Singh. (1994). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast culture supplement on ruminal metabolism in buffalo calves given a high concentrate diet, *Anim. Prod.* 59 (1994) 209.
- Kung L Jr, Hession AO (1995). Preventing *in vitro* lactic acid accumulation in ruminal fermentations by inoculation with *Megasphaera elsdenii*. *J. Anim. Sci.* 73:250-256.
- Le, O., Dart, P., Harper, K., Zhang, D., Schofield, B., Callaghan, M., Lisle, A., Klieve, A. & McNeill, D. (2016). Effect of probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* strain H57 on productivity and the incidence of diarrhoea in dairy calves. *Animal Production Science*, in press.
- Le, O., McNeill, D., Klieve, A., Dart, P., Ouwerkerk, D., Schofield, B. and Callaghan, M. (2014). Probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* Strain H57 Improves the

- Performance of Pregnant and Lactating Ewes Fed a Diet Based on Palm Kernel Meal. In: ISNH/ISRP International Conference, Canberra, Australia.
- Lee RW, Botts RL (1988). Evaluation of single oral dosing and continuous feeding of *Streptococcus faecium* M74 (Syntabac) on performance of incoming feedlot cattle. J. Anim. Sci. 66(Suppl 1):460.
- Lee YK, Puong KY, Ouwehand AC, Salminen S (2003). Displacement of bacterial pathogens from mucus and Caco-2 cell surface by lactobacilli. J. Med. Microbiol. 52:925-930.
- Lehloenya KV, Krehbiel CR, Mertz KJ, Rehberger TG, Spicer LJ (2008). Effects of propionibacteria and yeast culture fed to steers on nutrient intake and site and extent of digestion. J. Dairy Sci. 91:653-662.
- Lehloenya KV, Stein DR, Allen DT, Selk GE, Jones DA, Aleman MM, Rehberger TG, Mertz KJ, Spicer LJ (2007). Effect of feeding yeast and *propionibacteria* to dairy cows on milk yield and components, and reproduction. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 92:190-202
- Leng, R.A. (1982a). Modification of rumen fermentation. In J. B. Hacker (ed.) Nutritional limits to animal production from Dastures. pp. 427-453, CAB, Farnham Royal, UK.
- Leng, R.A. (1982b). Dynamics of protozoa in rumen of sheep. Br.J.Nutr. 1-3, 399-415.
- Lettat, A., Nozière, P., Silberberg, M., Morgavi, D.P., Berger, C. & Martin, C. (2012). Rumen microbial and fermentation characteristics are affected differently by bacterial probiotic supplementation during induced lactic and subacute acidosis in sheep. BMC Microbiology, 12(1): 142.
- Lin S.P., I. Loira Calvar, J. M. Catchmark, J.R. Liu, A. Demirci and K.C. Cheng. (2013). "Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose," *Cellulose*, vol. 20, no. 5, pp. 2191–2219, 2013. View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)
- Loh, T. C.; Thanh, N. T.; Foo, H. L.; Hair-Bejo, M. and Azhar, B. K. (2010). Feeding of different levels of metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, fecal microflora, volatile fatty acids and villi height in broilers. Animal Science Journal 81:205-214. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2009.00701.x>
- Lynch HA, Martin SA (2002). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* Live Cells on In Vitro Mixed Ruminant Microorganism Fermentation. J. Dairy Sci. 85(10):2603-2608.

- Lynd L. R., P. J. Weimer, W. H. van Zyl, and I. S. Pretorius, (2002). "Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology," *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 66, no. 3, pp. 506–577, 2002. View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)
- Malburg, L. M. and C. W. Forsberg. (1993). Fibrobacter succinogenes possesses at least nine distinct glucanase genes. *Can. J. Microbiol.* 39:882-891.
- Marden, J., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R. & Bayourthe, C. (2008). How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *Journal of Dairy Science*, 91(9): 3528–3535.
- Martin C, Fonty G, Michalet-Doreau B. (2002). Factors affecting the fibrolytic activity of the digestive microbial ecosystems in ruminants. In: Martin SA (ed.) *Gastrointestinal Microbiology in Animals*. Trivandrum: Research Signpost; 2002. p1-17
- Martin SA, Nisbet DJ (1990). Effects of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on fermentation of amino acids and starch by mixed ruminal microorganisms in vitro. *J. Anim. Sci.* 68:2142-2149. PMID: 2384404.
- McAllister, T. A. and K.-J. Cheng. (1996). Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grains. *Anim. Feed Sci. Technol.* 62:29-36.
- McAllister, T. A., H. D. Bae, G. A. Jones and K.J. Cheng. (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci.* 72:3004-3018.
- McDonald P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, C. A. Morgan, L. A. Sinclair and R. G. Wilkinson, (2010). *Animal Nutrition*. Pearson Books.
- McNeill, D., Le, O., Schofield, B., Dart, P., Callaghan, M., Lisle, A., Ouwerkerk, D. & Klieve, A. (2016). Production responses of reproducing ewes to a byproduct-based diet inoculated with the probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* strain H57. *Animal Production Science*, in press.
- Menke, K.H. and Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vivo gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28, 7-12
- Michalet-Doreau B, Morand D (1996). Effect of yeast culture, *Saccharomyces cerevisiae*, on ruminal fermentation during adaptation to high concentrate feeding. *Ann. Zootechnol.* 45(Suppl1):337.
- Minitab 16.0 (USA)
- Mir, Z. & Mir, P. (1994). Effect of the addition of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth and carcass quality of steers fed high-forage or high-grain

- diets and on feed digestibility and in situ degradability. *Journal of Animal Science*, 72(3): 537–545.
- Mohamed M.I., Maareck Y.A., Soha Abdel-Magid S., Awadalla I.M. (2009). Feed intake, digestibility, rumen fermentation and growth performance of camels fed diets supplemented with a yeast culture or zinc bacitracin. *Animal Feed Science and Technology* Volume 149, Issues 3–4, 16 March 2009, Pages 341-345.
- Mohamed M.I., Y.A. Maareck, S. Abdel-Magid Soha, I.M.Awadalla. (2009). Feed intake, digestibility, rumen fermentation and growth performance of camels fed diets supplemented with a yeast culture or zinc bacitracin, *Anim. Feed Sci.Technol.* 149 (2009) 341–345.
- Moloney, A. & Drennan, M. (1994). The influence of the basal diet on the effects of yeast culture on ruminal fermentation and digestibility in steers. *Animal Feed Science and Technology*, 50(1): 55–73.
- Moore K. J. and H. J. Jung. (2001). “Lignin and fiber digestion,” *Journal of Range Management*, vol. 54, no. 4, pp. 420–430, 2001.View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)
- Moriarty D.J.W, Decamp O, Lavens.P. (2005) Probiotics in aquaculture, *AQUA Culture Asia Pacific Magazine* (2005) 14–16.
- Moseley G and Jones JR (1984). The physical digestion of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens*) in the foregut of sheep. *British Journal of Nutrition* 52, 381–390.
- Mosoni P, Chaucheyras-Durand F, Béra-Maillet C, Forano E (2007). Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen osheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: Effect of a yeast additive. *J. Appl. Microbiol.*103:2676-2685.
- Mountfort, D. O., R. A. Asher and T. Bauchop. (1982). Fermentation of cellulose to methane and carbon dioxide by a rumen anaerobic fungus in triculture with *Methanobrevibacter* sp. Strain RA1 and *Methanosarcina barkeri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:128-134.
- Mountzouris KC, Tsistsikos P, Kalamara E, Nitsh S, Schatzmayr G and Fegeros K (2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poult. Sci.* 86:309317.

- Moya D, Calsamiglia S, Ferret A, Blanch M, Fandino JI, Castillejos L, Yoon I. (2009). Effects of dietary changes and yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on rumen microbial fermentation of Holstein heifers. *J. Anim. Sci.* 87:2874-2881.
- Mpofu, I. D. & Ndlovu, L. (1994). The potential of yeast and natural fungi for enhancing fibre digestibility of forages and roughages. *Animal Feed Science and Technology*, 48(1): 39–47.
- Musa HH, We SL, Zhu CH, Seri HI, Zhu GQ (2009). The potential benefits of probiotics in animal production and health. *J. Anim. Vet. Adv.* 8:313-321.
- Nagaraja TG (2012). A microbiologist's view on improving nutrient utilization in ruminants. In: 23rd annual Florida nutrition symposium proceeding, Gainesville, Florida, 31 Jan–1 Feb 2012, pp 135–161
- Naviner M., J.P. Bergé, P. Durand, H. Le Bris. (1999). Antibacterial activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural pathogens, *Aquaculture*, 174 (1999) 15–24.
- Newbold, C. J., R. Brock and R. J. Wallace, (1991). Influence of autoclaved or irradiated *Aspergillus oryzae* fermentation extract on fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec). *J. Agric. Sci., Camb.* 116: 159-162.
- Newbold, C. J., R. J. Wallace, and F. M. McIntosh. (1996). Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *Brit. J. Nutr.* 76:249.
- Nocek JE, Kautz WP (2006). Direct-fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of pre- and postpartum dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:260-266.
- Nocek JE, Kautz WP, Leedle JAZ, Allman JG (2002). Ruminal supplementation of direct-fed microbials on diurnal pH variation and in situ digestion in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:429-433.
- Nocek, J. E.; Kautz, W. P.; Leedle, J. A. Z. and Allman, J. G. (2002). Ruminal supplementation of direct-fed microbials on diurnal pH variation and in situ digestion in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 85:29-433. [https://doi.org/10.3168/jds.S00220302\(02\)74091-5](https://doi.org/10.3168/jds.S00220302(02)74091-5)
- NRC (1984). The nutrient requirements of beef cattle,. Washington DC.
- NRC (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Washington DC
- Oetzel GR, Emery KM, Kautz WP, Nocek JE (2007). Direct-fed microbial supplementation and health and performance of pre- and postpartum dairy cattle: A field trial. *J. Dairy Sci.* 90:2058-2068.

- Ohya, T., Marubashi, T. & Ito, H. (2000). Significance of fecal volatile fatty acids in shedding of *Escherichia coli* O157 from calves: experimental infection and preliminary use of a probiotic product. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(11): 1151–1155.
- Orskov, E.R. and McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weight according to the rate of passage. *J.Agric.Sci.* 92, 499-503
- Orskov, E.R. and Ryle, M. (1990). Energy nutrition in ruminants. Elsevier applied science, London and New York, pp 44
- Orskov, E.R., Deb Hovell, F.D. and Mould, F. (1980). The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Trop.Anim.Prod*, 5, 195-213.
- Owens, F., Secrist, D., Hill, W. & Gill, D. (1998). Acidosis in Cattle: A Review1. *Journal of Animal Science*, 76: 275–286.
- Oyetayo VO, Oyetayo FL (2005). Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. *Afr. J.Biotech.* 4:123-127.
- Paloheimo M., J. Piironen, and J. Vehmaanperä. (2010). “Xylanases and cellulases as feed additives,” in *Enzymes in Farm Animal Nutrition*, M. R. Bedford and G. G. Partridge, Eds., pp. 12–53, CAB International, London, UK, 2nd edition, 2010. View at: [Google Scholar](#)
- Pancheniak E., C.R. Soccol. (2005). Isolation, selection, biochemical characterization for production and evaluation of proBiotic potential of *L. reuteri* LPB P01-001 in swines, *PhD Thesis*, Food Technology Program, Federal University of Parana, Curitiba, Brazil (2005) (in Portuguese).
- Panda A.K., S.V.R. Rao, M.V.L. Rafu, S.R. Sharma. (2006). Dietary supplementation of *Lactobacillus sporogenes* on performance and serum biochemico-lipid profile of broiler chickens, *J. Poultry Sci.* 43 (2006) 235–240.
- Paravez S, Malik KA, Ah-Kang S, Kim HY (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J. Appl. Microbiol.* 100:1171-1185.
- Paryad A and Rashidi. M. (2009). Effect of Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on Apparent Digestibility and Nitrogen Retention of Tomato Pomace in Sheep. *Pakistan Journal of Nutrition*. Year: 2009 | Volume: 8 | Issue: 3 | Page No.: 273-278.
- Pelicano ERL, Souza PA, Souza HJBA, Oba A, Boiago MM, Zeola NMBL, Scatolini AM, Bertanha VA, Lima TMA (2005). Carcass and cut yield and meat qualitative traits of broilers and fed diets containing probiotics and prebiotics. *Br. J. Poul. Sci.* 7:169-175.

- Pérez Guerra N., P. Fafando Bernárdez, J. Méndez, P. Cachaldora, L. Pastrana Castro. (2007). Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets, *Anim. Feed Sci. Technol.* 134 (2007) 89–107.
- Perry, T.W, (1990). Dietary nutrient allowance for beef cattle. Feedstuffs- Reference issue, 62, 31: 46-56.
- Peterson RE, Klopfenstein TJ, Erickson GE, Folmer J, Hinkley S, Moxley RA, Smith DR (2007). Effect of *Lactobacillus acidophilus* strain NP51 on *E. coli* O157:H7 fecal shedding and finishing performance of beef feedlot cattle. *J. Food Protect.* 70:287-291.
- Phillips WA, von Tungeln DL (1985). The effect of yeast culture on the post stress performance of feeder calves. *Nutr. Rep. Int.* 32: 287-294.
- Plaizier, J., Krause, D., Gozho, G. & McBride, B. (2008). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Veterinary Journal*, 176(1): 21–31.
- Plata FP, Mendoza GD, Barcena-Gama JR, Gonzalez SM (1994). Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 49:203-210.
- Poppy, G., Rabiee, A., Lean, I., Sanchez, W., Dorton, K. & Morley, P. (2012). A meta-analysis of the effects of feeding yeast culture produced by anaerobic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* on milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(10): 6027–6041.
- Prabhu, R., Altman, E. & Eiteman, M. A. (2012). Lactate and acrylate metabolism by *Megasphaera elsdenii* under batch and steady-state conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(24): 8564–8570.
- Præsteng KE, Pope PB, Cann IKO, Mackie RI, Mathiesen SD, Folkow LP (2013). Probiotic dosing of *Ruminococcus flavefaciens* affects rumen microbiome structure and function in reindeer. *Microb. Ecol.* 66:840-849.
- Preston, T.R., Willis, M.B. and Elias, A. (1967). Intensive Beef Production from Sugar Cane.
- Putnam DE, Schwab CG, Socha MT, Whitehouse NL, Kierstead NA, Garthwaite BD (1997). Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. *J. Dairy Sci.* 80:3743-3754.

- Qiao GH, Shan AS, Ma N, Ma QQ, Sun ZW (2009). Effect of supplemental bacillus cultures on rumen fermentation and milk yield in Chinese Holstein cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 94:429-436.
- Rajan, S. K. (1990). *Nutritional Value of Animal Feeds and Feeding of Animals*, ICAR, New Dehli.
- Roa, M., Bárcena-Gama, J., Gonziilez, S., Mendoza, G., Ortega, M. & Garcia, C. (1997). Effect of fiber source and a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* 1026) on digestion and the environment in the rumen of cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 64(2): 327–336.
- Rolfe RD (2002). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.* 130:396S-402S.
- Romulo, B. (1986). Studies on the role of supplemental and of manipulation of protozoa population in the rumen and productivity of sheep given straw based diets. Unpublished Ph. D. Thesis, University of New England, Armidale.
- Roos TB, Tabeleão VC, Dümmer LA, Schwegler E, Goulart MA, Moura SV, Corrêa MN, Leite FPL, Gil-Turnes C (2010). Effect of *Bacillus cereus* var. Toyoi and *Saccharomyces boulardii* on the immune response of sheep to vaccines. *Food Agric. Immunol.* 21:113-118.
- Russell JB (2002). *Rumen Microbiology and Its Role in Ruminant Nutrition*: Cornell University.
- Russell JB, Wilson DB (1996). Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH. *J. Dairy Sci.* 79:1503-1510.
- Santini C., L. Baffoni, F. Gaggia, M. Granata, R. Gasbarri, D. Di Gioia, B. Biavati. Characterization of probiotic strains: An application as feed additives in poultry against *Cam-pylobacter jejuni*, *Int. J. Food Microbiol.* (Suppl. 1), 141 (2010) 98–108.
- Sargeant, J., Amezcua, M., Rajic, A. & Waddell, L. (2007). Pre-harvest interventions to reduce the shedding of *E. coli* O157 in the faeces of weaned domestic ruminants: a systematic review. *Zoonoses and Public Health*, 54(6-7): 260–277.
- Scheller H. V. and P. Ulvskov. (2010). “Hemicelluloses,” *Annual Review of Plant Biology*, vol. 61, no. 1, pp. 263–289, 2010. View at: [Publisher Site](#) | [Google Scholar](#)
- Seo JK, Kim S, Kim MH, Upadhaya SD, Kam DK, Ha JK (2010). Directfed Microbials for Ruminant Animals. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 23(12):1657-1667.
- Shu Q, Lin H, Rutherford KJ, Fenwick SG, Prasad J, Gopal PK, Gill HS (2000). Dietary *Bifidobacterium lactis* (HN019) enhances resistance to oral *Salmonella typhimurium* infection in mice. *Microbiol. Immunol.* 144:213-222.

- Silva, A.T. and Orskov, E.R. (1984). Effect of three different rumen environments on the rate and extent of the rumen degradability of untreated straw, ammonia-treated straw and hay. *Proc.Nutr.Soc.* 43, 11A.
- Singh, S.; Gupta, A.; Singh, B. B., (2016). Effect of foliage supplementation to *Heteropogon contortus* based diets on nutrients digestibility, gas and metabolites production in sheep and goat inoculums. *Anim. Nutr. Feed Technol.*, 16(3): 439-450
- Soriano, A. P.; Mamuad, L. L.; Kim, S.H.; Choi, Y. J.; Jeong, C. D.; Bae, G. S.; Chang, M. B. and Lee, S. S. (2014). Effect of *Lactobacillus mucosae* on in vitro rumen fermentation characteristics of dried brewers grain, methane production and bacterial diversity. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 27:1562-1570. <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14517>
- Stein DR, Allen DT, Perry EB, Bruner JC, Gates KW, Rehberger TG, Mertz K, Jones D, Spicer LJ (2006). Effects of feeding *propionibacteria* to dairy cows on milk yield, milk components, and reproduction. *J. Dairy Sci.* 89(1):111-125.
- Stella, A., Paratte, R., Valnegri, L., Cigalino, G., Soncini, G., Chevaux, E., Dell'Orto, V. & Savoini, G. (2007). Effect of administration of live *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, milk composition, blood metabolites, and faecal flora in early lactating dairy goats. *Small Ruminant Research*, 67(1): 7–13.
- Sun P, Wang JQ, Zhang HT (2010). Effects of *Bacillus subtilis natto* on performance and immune function of preweaning calves. *J. Dairy Sci.* 93:5851-5855.
- Taiz L. and E. Zeiger, (2006). “Compuestos fenólicos,” in *Fisiología Vegetal*, pp. 542–557, Publicaciones de la Universitat Jaume I de Castellón, Castellón, Spain, 2006. View at: [Google Scholar](#)
- Teunissen, M. J., E. P. W. Kets and H. J. M. Op den Camp. (1992). Effect of co-culture of anaerobic fungi isolated from ruminants and non-ruminants with methanogenic bacteria on cellulolytic and xylanolytic enzyme activities. *Arch. Microbiol.* 157:176-182.
- Thanh, N. T.; Chwen, L. T.; Foo, H. L.; Hair-Bejo, M. and Kasim, A. B. (2010). Inhibitory activity of metabolites produced by strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from Malaysian fermented food. *International Journal of Probiotics and Prebiotics* 5:37.
- Thrune M, Bach A, Ruiz-Moreno M, Stern MD, Linn JG (2009). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows: Yeast supplementation on rumen fermentation. *Livest. Sci.* 124:261-265.

- Thu, T. V.; Loh, T. C.; Foo, H. L.; Yaakub, H. and Bejo, M. H. (2011b). Effects of liquid metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, faeces characteristics, intestinal morphology and diarrhoea incidence in postweaning piglets. *Tropical Animal Health and Production* 43:69-75.
- Tournut J (1989). Applications of probiotics to animal husbandry. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 8:551-556.
- Trinci, A. P. J., D. R. Davies, K. Gull, M. I. Lawrence, B. B. Nielsen, A. Rickers and M. K. Theodorou. (1994). Anaerobic fungi in herbivorous animals. *Mycol. Res.* 98:129-152
- Umberger SH, Notter DR (1989). Evaluation of *lactobacillus* inoculants on feedlot lamb performance. *J. Anim. Sci.* 8:40-45.
- Uyeno Y, Shigemori S, Shimosato T (2015). Effect of Probiotics/Prebiotics on Cattle Health and Productivity: Mini review. *Microbs. Environ.* 30(2):126-132.
- Van Soest P. J., (1994) *Nutritional Ecology of the Ruminants*, Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, 1994.
- Van Soest, P. J. (1982). *Nutritional ecology of the ruminant* (second edition). Cornell University. P: 139.
- Vandenbergh PA (1993). Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiol. Rev.* 12:221-238.
- Verschuere L, G. Rombaut, P. Sorgeloos, W. Verstraete. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture, *Microb. Mol. Biol. Rev.* 64 (2000) 655–671.
- Vibhute VM, Shelke RR, Chavan SD and Nage SP. (2011). Effect of Probiotic Supplementation on Performance of Lactating Crossbred Cows. *Veterinary World*, 2011;4(12):557-561.
- Wallace RJ, Newbold CJ (1992). Probiotics for Ruminants. In: *Probiotics: The Scientific Basis*. (Fuller R, ed) Chapman and Hall, London, 317-353
- Wallace RJ, Newbold CJ (1993). Rumen fermentation and its manipulation: The development of yeast culture as feed additives. In: *Biotechnology in the Feed Industry*, Lyons, T.P. (ed.). Alltech Technical Publications, Kentucky, pp. 173-192.
- Ware DR, Read PL, Manfredi ET (1988). Pooled summary of eight feedlot trials evaluating performance and carcass characteristics of steers fed *Lactobacillus acidophilus* strain BT1386. *J. Anim. Sci.* 66:436-441.
- Weinberg, Z. G.; Chen, Y. and Gamburg, M. (2004). The passage of lactic acid bacteria from silage into rumen fluid, in vitro studies. *Journal of Dairy Science* 87:3386-3397. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73474-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73474-8)

- Weiss WP, Wyatt DJ, McKelvey TR (2008). Effect of feeding *propionibacteria* on milk production by early lactation dairy cows. J. Dairy Sci. 91: 646-652.
- Whitley NC, Cazac D, Rude BJ, Jackson-O'Brien D, Parveen S (2009). Use of commercial Probiotics supplement in meat goat. J. Anim. Sci. 87:723-728.
- Williams PEV, Newbold CJ (1990). Rumen probiotics: The effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: Recent Advances in Animal Nutrition 1990 (Eds.: Haresign, W., and Cole, D.J.A.). Butterworths, London, pp. 211-227.
- Williams, A. G., and G. S. Coleman. (1988). The rumen protozoa. In: The Rumen Microbial Ecosystem (Ed. P. N. Hobson). Elsevier Science Publishing Co., New York, NY. p 77.
- Wisener, L., Sargeant, J., O'Connor, A., Faires, M. & Glass-Kaasta, S. (2014). The use of direct-fed microbials to reduce shedding of *Escherichia coli* O157 in beef cattle: a systematic review and meta-analysis. Zoonoses and Public Health, 62: 75-89.
- Wubah, D. A., D. E. Akin and W. S. Borneman. (1993). Biology, fiber-degradation, and enzymeology of anaerobic zoospore fungi. Crit. Rev. Microbiol. 19:99-115.
- Yang W Z, Beauchemin K A, Rode L M (2002). Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on site and extent of digestion. J Dairy Sci. 2002 Aug; 85(8):1958-68. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74272-0
- Yanke, L. J., L. B. Selinger and K.-J. Cheng. (1995). Comparison of cellulolytic and xylanolytic activities of anaerobic rumen fungi. Proceedings, 23rd Biennial Conf Rumen Function, Chicago, IL. p.32.
- Yasuda, K., Hashikawa, S., Sakamoto, H., Tomita, Y., Shibata, S. and Fukata, T. (2007). A new synbiotic consisting of *Lactobacillus casei subsp. casei* and dextran improves milk production in Holstein dairy cows. J. Vet. Med. Sci. 69: 205-208.
- Yoon IK, Stern MD (1995). Influence of direct-fed microbials on ruminal microbial fermentation and performance of ruminants: A review. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 8:533-555.
- Yörük M.A., M. Gül, A. Hayirli, M. Macit. (2004). The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens, *Poultry Sci.* 83 (2004) 84–88.
- Zhang, Z., and E.T. Kornegay, (1999). Phytase effects on ileal amino acid digestibility and nitrogen balance in finishing pigs fed a low-protein plant-based diet. J. Anim. Sci. 77 (1): 175.

PHỤ LỤC

PHỤ LỤC 1:

Qui trình thí nghiệm sinh khí *in-vitro* gas production (Menker và Steingass, 1988)

* Chuẩn bị mẫu

- Nghiền mẫu đến 1mm.
- Khối lượng mẫu cho một xilanh: 200 ± 5 mg. Mẫu đặt vào phần cuối của xilanh.
- Bôi trơn pít tông bằng vasolin và đẩy pít tông sát đến mẫu sau đó đẩy xilanh
- Xilanh chứa mẫu phải đặt trong tủ ẩm ở $38-39^{\circ}\text{C}$ qua đêm và tiếp tục để trong tủ ẩm ở 38°C cho đến khi lấy dịch dạ cỏ và chuẩn bị xong dung dịch đệm.

* Vị trí của xilanh

- Xi lanh không chứa mẫu (blank) và mẫu chuẩn, cần phải đặt vào đầu, giữa và cuối của giá xi lanh khi thí nghiệm.
- Mẫu nghiền cứu cần lần nhắc lại 3 lần và phải đặt tách biệt ở đầu, giữa và cuối của giá ống nghiệm.

* Các dung dịch cần có

Dung dịch khoáng đa lượng

5,7 g Na_2HPO_4

6,2 g KH_2PO_4

0,6 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Hoà với nước cất thành 1 lit dung dịch

Dung dịch đệm 1

35 g NaHCO_3

4 g $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$

Hoà với nước cất thành 1 lit dung dịch

Chuẩn bị dung dịch đệm 2

474 ml nước cất

0,12 ml dung dịch khoáng vi lượng

237 ml dung dịch đệm 1

237 ml dung dịch khoáng đa lượng

1,22 ml dung dịch resazurin

Dung dịch khoáng vi lượng

13,2g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

10 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

1 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

0,8 g $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Hoà với nước cất thành 100 ml

Dung dịch Resazurin

100 mg resazurin

Hoà với nước cất thành 100 ml

Dung dịch khử

2 ml NaOH 1N

285 mg $\text{Na}_2\text{S} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

47,5 ml nước cất

*** Dung dịch đệm**

- Từng phần của dung dịch đệm cần phải được chuẩn bị trước khi tiến hành thí nghiệm.
- Chuẩn bị dung dịch đệm 2 (dung dịch tươi ngay trước khi làm thí nghiệm) cho mỗi lần thí nghiệm (trộn các dung dịch đã được chuẩn bị vào bình tam giác).

*** Cách pha dung dịch đệm 2**

Dung dịch (ml)	Lượng dung dịch cần tạo ra (ml)								
	500	750	1000	1200	1300	1400	1500	1700	2000
Nước cất	237,5	356	475	570	617,5	665	712,5	831	950
DD đệm 1	120	180	240	288	312	336	360	420	480
Đa khoáng	120	180	240	288	312	336	360	420	480
Vi khoáng	0,06	0,090	0,12	0,144	0,156	0,168	0,180	0,210	0,240
Resazurin	0,61	0,92	1,22	1,46	1,59	1,71	1,83	2,14	2,44
<i>Dung dịch khử</i>									
Nước cất	23,8	35,7	47,5	57,1	61,9	66,6	71,3	83,2	95
NaOH 1N	1,0	1,5	2,0	2,4	2,6	2,8	3,0	3,5	4,0
Na ₂ S.9 H ₂ O	0,168	0,252	0,336	0,360	0,437	0,470	0,504	0,588	0,672

Tuỳ theo số xilanh mà quyết định số lượng dung dịch đệm 2 cần pha

Lưu ý: Dung dịch đệm 2 chỉ trộn trước khi tiến hành mỗi lần thí nghiệm

- Làm ấm đến 38°C sau đó cho dung dịch khử vào
- Đặt bình tam giác có dung dịch đệm vào bể nước có khuấy từ ổn định nhiệt 39°C trong 25-30 phút sau đó cho dung dịch khử vào, sục khí CO₂ vào dung dịch cho đến khi mẫu dung dịch chuyển sang màu hồng sau đó sáng.
- pH của dung dịch nên là 7-7,3.

*** Dịch dạ cỏ**

- Dịch dạ cỏ từ 2 bò được đổ vào 1 bình, dịch phải được giữ ấm 38-39⁰ C.
- Lọc bỏ những hạt thức ăn lớn bằng vải xô.
- Tỷ lệ dung dịch đệm 2: dịch dạ cỏ là: 2: 1. Dịch hỗn hợp của 2 bò với số lượng tương đương được trộn đều và cho vào bình tam giác với dung dịch đệm 2 theo tỷ lệ 2:1.
- Bình tam giác phải giữ trong bình nước ấm 38-39⁰C, liên tục sục khí CO₂ và khuấy đều cho đến khi đã chuẩn bị xong xilanh. pH nên: 7-7,3.

* *Chuẩn bị thí nghiệm.*

- Lấy 2 lần, mỗi lần 30 ml bằng pipet để bỏ đi nhằm đảm bảo không có không khí trong bề mặt xilanh.
- Lấy 30 ml hỗn hợp dịch dạ cỏ và dung dịch đệm cho vào xilanh đã có mẫu đặt ở 39°C, giữ xilanh đầy không khí ra ngoài một cách nhẹ nhàng, đặt xilanh vào tủ ấm có quạt đối lưu hoặc Water Bath đảm bảo nhiệt độ luôn là 39°C.
- Ghi chép số ml trên xilanh ở thời điểm bắt đầu 0 giờ.
- Ghi chép số ml khí trên xilanh ở các thời điểm thích hợp.
- Cho khí thoát ra nếu lượng khí trong xi lanh >60 ml.

Thời gian đọc có thể được lập kế hoạch như sau:

Thời điểm đọc (giờ) Ngày giờ

0	9 giờ sáng ngày thứ nhất
3	12 giờ trưa ngày thứ nhất
6	15 giờ chiều ngày thứ nhất
12	21 giờ tối ngày thứ nhất
24	9 giờ sáng ngày thứ hai
48	9 giờ sáng ngày thứ ba
72	9 giờ sáng ngày thứ tư
96	9 giờ sáng ngày thứ năm

Tính toán:

1. B_{mr} : trung bình của mẫu trắng (blank) mỗi lần đọc.
2. G_h : Gas sản xuất do tiêu hoá mẫu ở các thời điểm khác nhau.
3. G_{hr} : Gas đọc tại các thời điểm.
4. G_{hr-1} : Gas đọc tại các thời điểm trước khi xác định G_{hr} .

$$G_h = G_{hr} - G_{h0r} - B_{mr} + G_{hr-1}$$

Sau khi loại bỏ khí khỏi xilanh thì tính toán như sau:

5. G_{hr} = Gas sản xuất tại lúc đọc - Giá trị đọc sau khi loại bỏ khí lần đọc cuối cùng.
6. B_{mr} : Giống như G_{hr} ; $G_h = G_{hr} - B_{mr} + G_{hr-1}$

**CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

-----&&-----

1. **Phạm Ngọc Thạch, Phạm Kim Cuong, Mai Văn Sánh, Lê Văn Hùng, Chu Mạnh Thắng và Nguyễn Thiện Trường Giang. (2020).** Ảnh hưởng của việc bổ sung các enzyme phân giải xơ đến khả năng sinh khí *in vitro* của một số loại thức ăn giàu cellulose làm thức ăn cho gia súc nhai lại. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật chăn nuôi, số 259 – tháng 9 năm 2020. Trang 24 – 34.
2. **Phạm Ngọc Thạch, Phạm Kim Cuong, Mai Văn Sánh, Lê Văn Hùng, Chu Mạnh Thắng và Nguyễn Thiện Trường Giang. (2020).** Ảnh hưởng của bổ sung enzyme phân giải xơ đến khả năng phân giải *in sacco* của một số loại thức ăn giàu cellulose làm thức ăn cho gia súc nhai lại. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật chăn nuôi, số 260 – tháng 10 năm 2020. Trang 53 – 62