

KẾT QUẢ TẠO PHÔI BÒ *IN VIVO* THEO KỸ THUẬT CỦA NHẬT BẢN TẠI VIỆT NAM

Nguyễn Công Toàn¹, Sử Thanh Long¹, Nguyễn Văn Thanh¹, Nguyễn Hoài Nam¹, Đỗ Thị Kim Lành¹, Ngô Thành Trung¹ và Takeshi Osawa²

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam; ²Đại học Miyazaki, Nhật Bản

Tác giả liên hệ: Nguyễn Công Toàn. Tel: 0981044890. Email: toan.hua@gmail.com

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là ứng dụng kinh nghiệm của chuyên gia Nhật Bản trong kỹ thuật tạo phôi bò *in vivo* tại Việt Nam. Nghiên cứu được tiến hành trên 50 bò cái trong đó 35 bò sữa giống lai HF và 15 bò thịt giống Brahman, sử dụng công thức siêu bài noãn với 8 lần tiêm FSH với tổng lượng FSH cho bò sữa là 30 AU và bò thịt là 20 AU khoảng cách giữa hai lần tiêm là 12h liên tục trong 4 ngày với liều giảm dần bắt đầu từ ngày thứ 4 của quy trình. Bò cái được thụ tinh nhân tạo hai lần cách nhau 12h bắt đầu ở ngày thứ 9 của quy trình bằng tinh đông lạnh cọng rạ. Tiến hành thu phôi sau khi thụ tinh nhân tạo 7 ngày. Kết quả tổng số phôi thu được là 380 phôi, trung bình 7,6±2,3 phôi thu được/bò cái được siêu bài noãn trong đó số phôi đạt tiêu chuẩn cấy truyền là 219 phôi, trung bình 4,4±1,7 phôi/bò chiếm tỷ lệ 57,6% tổng số phôi thu được, phôi đạt tiêu chuẩn đông lạnh là 187 phôi, trung bình 3,7±1,4 phôi/bò chiếm tỷ lệ 49,2% tổng số phôi thu được. Kết quả tạo phôi của nhóm bò sữa cao hơn bò thịt với tổng số phôi thu được trung bình ở bò sữa và bò thịt lần lượt là 8,2±2,4 phôi/bò và 6,3±1,6 phôi/bò; số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền là 4,6±1,9 phôi/bò so với 3,9±1,3 phôi/bò và số phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh tương ứng là 4,0±1,4 phôi/bò và 3,2±1,1 phôi/bò. Ngoài ra, kết quả tạo phôi ở bò cái đã sinh sản cao hơn so với bê hậu bị ở cả hai nhóm bò thịt và bò sữa, với nhóm bò thịt tổng số phôi thu được ở bò cái và bê hậu bị tương ứng là 6,6±1,6 phôi/bò và 5,6±1,3 phôi/bò; số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền và đông lạnh của bò cái với bê cái lần lượt là 4,2±1,3 phôi/bò so với 3,4±1,4 phôi/bò và 3,5±1,1 phôi/bò so với 2,6±0,9 phôi/bò; nhóm bò sữa tổng số phôi thu được ở bò cái so với bê hậu bị lần lượt là 8,4±2,5 và 7,3±1,5; phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền là 4,9±1,8 phôi/bò so với 3,6±1,7 phôi/bò và phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh là 4,1±1,3 phôi/bò và 3,4±1,7 phôi/bò. Kết luận, ứng dụng kinh nghiệm tạo phôi bò *in vivo* của chuyên gia Nhật Bản có điều chỉnh số ngày tiêm FSH tăng từ 3 ngày lên 4 ngày cho bò cho phôi phù hợp với điều kiện của Việt Nam bước đầu cho kết quả tốt.

Từ khóa: Bò sữa, bò thịt, phôi bò, siêu bài noãn, sản xuất phôi *in vivo*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Kỹ thuật tạo phôi bò *in vivo* và cấy truyền phôi được tiến hành thành công trên thế giới từ thập niên 70 của thế kỷ XX. Ở nước ta kỹ thuật này cũng được các nhà khoa học thuộc Viện Chăn nuôi, Viện Công nghệ sinh học tiến hành thành công từ những năm đầu thập niên 90 của thế kỷ trước với những chú bê đầu tiên ra đời tại nước ta bằng công nghệ tạo phôi bò *in vivo* và cấy truyền phôi. Nếu kỹ thuật thụ tinh nhân tạo chỉ khai thác được tiềm năng di truyền từ con đực thì kỹ thuật cấy truyền phôi cho phép khai thác được cả tiềm năng di truyền của cả con đực và con cái. Thông qua đó làm tăng số lượng bê con sinh ra từ những bò mẹ có tiềm năng di truyền cao, cũng như năng suất sữa và thịt lớn lên rất nhiều.

Cùng với sự phát triển của khoa học và công nghệ, công nghệ trong tạo phôi bò *in vivo* và cấy truyền phôi cũng ngày càng cải tiến nhằm nâng cao hiệu quả nhờ vào việc sử dụng hormone sinh sản ngày càng trở lên phổ biến với chất lượng cao cũng như các công thức, quy trình tạo phôi bò ngày một cải tiến nhằm nâng cao hiệu quả trong công tác sản xuất và cấy truyền phôi bò. Nhật Bản là một nước có ngành chăn nuôi bò phát triển cả mảng bò sữa và bò thịt với những sản phẩm từ bò nổi tiếng như thịt bò Kobe, sữa Meiji,... nhờ áp dụng các công nghệ

cao trong chăn nuôi bò trong đó có công nghệ tạo phôi bò *in vivo* và cấy truyền phôi được ứng dụng rất rộng rãi ở Nhật Bản.

Mục tiêu nghiên cứu của chúng tôi là ứng dụng các kỹ thuật mới dưới sự hướng dẫn của chuyên gia Nhật Bản để hoàn thiện quy trình sản xuất phôi bò *in vivo* phù hợp với điều kiện của Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành trên 50 bò cái cho phôi được chọn lọc đạt tiêu chuẩn của bò cái cho phôi trong đó bao gồm 35 bò sữa giống lai HF với tỷ lệ máu HF trên 80% và bò thịt giống Brahman.

Bò cái được nuôi nhốt trong chuồng, bò sữa được vắt sữa 2 lần/ngày. Các bò sử dụng thức ăn thô xanh là các loại cỏ, thức ăn ủ chua, thức ăn tinh hỗn hợp và cho uống nước sạch tự do.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 8/2018 đến tháng 9/2019

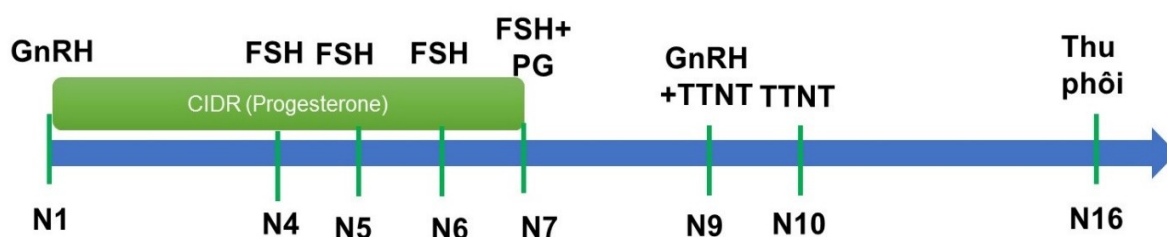
Địa điểm nghiên cứu: Tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam và các trang trại bò thuộc Trung tâm nghiên cứu Bò và Đồng cỏ Ba Vì, Hà Nội.

Phương pháp nghiên cứu

Gây siêu bài noãn cho bò cái cho phôi

Chúng tôi sử dụng hormone FSH (Antril R10, công ty Kyoritsu Seiyaku Corporation, Tokyo, Nhật Bản) để gây siêu bài noãn cho bò cái cho phôi. Bên cạnh FSH là hormone chính để gây siêu bài noãn thì chúng tôi còn sử dụng các hormone khác (tổ hợp các hormone) nhằm đồng bộ hóa hoạt động của buồng trứng (Hình 1), đồng bộ quá trình động dục và rụng trứng nhằm cho hiệu quả siêu bài noãn là cao nhất.

Cụ thể công thức gây siêu bài noãn với bò cho phôi như sau:



Hình 1. Công thức gây siêu bài noãn với bò cho phôi

Ngày 1, Ngày 4, Ngày 5,...(N1, N4, N5,...)

Thụ tinh nhân tạo (TTNT)

Các hormone dùng để gây siêu bài noãn cho bò cái cho phôi bao gồm: FSH (Antril R10, công ty Kyoritsu Seiyaku Corporation, Tokyo, Nhật Bản); GnRH (Ovurelin, công ty Bayer, Đức sản xuất), PGF_{2α} (Ovuprost, công ty Bayer, Đức sản xuất) Progesterone (dạng vòng tằm đặt âm đạo-CIDR, công ty Zoetis, New Zealand)

Công thức gây siêu bài noãn cho bò thịt:

GnRH (Gonadotropin releasing hormone): GnRH được tiêm bắp thịt thành 2 lần: lần 1 vào 7h sáng ngày thứ nhất và lần 2 vào 7h sáng ngày thứ 9 của quy trình siêu bài noãn; Lượng Gonadorelin là 200µg/bò/lần;

CIDR (Controlled Internal Drug Release) chứa 1,38g progesterone được nhập khẩu từ New Zealand; vòng tằm progesterone được đặt vào âm đạo của bò cái bằng dụng cụ chuyên dụng trong thời gian là 7 ngày; vòng được đặt vào 7h sáng ngày thứ nhất và được rút ra vào 7h chiều ngày thứ 7 của quy trình gây siêu bài noãn cho bò cái cho phôi.

PGF_{2α} (Cloprostenol) 500 µg/lần (tiêm bắp) 2 lần: Lần 1 vào 7h chiều ngày thứ 7 của liệu trình và lần 2 vào 7h sáng ngày thứ 8 của liệu trình.

FSH được tiêm cho bò cho phôi theo liều giảm dần liên tục trong 4 ngày, mỗi ngày tiêm 2 lần cách nhau 12 giờ (buổi sáng tiêm lúc 7h sáng và buổi chiều tiêm lúc 7h chiều). Tổng lượng FSH cho bò thịt là 20 AU/con; cho bò sữa là 30 AU/con.

Bảng 1. Thời gian, liều lượng và đường đưa thuốc của FSH với bò cho phôi

Giống bò Ngày	Bò thịt		Bò sữa		Đường đưa thuốc
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	
Ngày thứ 1	4 AU	4 AU	6 AU	6 AU	Tiêm bắp cổ
Ngày thứ 2	3 AU	3 AU	5 AU	5 AU	Tiêm bắp cổ
Ngày thứ 3	2 AU	2 AU	3 AU	3 AU	Tiêm bắp cổ
Ngày thứ 4	1 AU	1 AU	1 AU	1 AU	Tiêm bắp cổ

Thụ tinh nhân tạo cho bò cái

Phương pháp thụ tinh nhân tạo cho bò cái chúng tôi áp dụng phương pháp cố định cổ tử cung thông qua trực tràng. Tinh dịch bò đực sử dụng là tinh đông lạnh dạng cọng rạ và được bảo quản trong nitơ lỏng ở -196°C. Cụ thể phương pháp như sau:

Thời điểm dẫn tinh cho bò cái vào 7 giờ chiều ngày thứ 9 của quy trình và 7 giờ sáng ngày thứ 10 của quy trình (2 lần).

Tiêm GnRH (200µg/bò) vào thời điểm trước khi dẫn tinh lần thứ 1 (7giờ chiều ngày thứ 9 của quy trình) cho bò (tiêm bắp) nhằm kích thích trứng rụng.

Phôi 2 liều tinh cọng rạ (mỗi liều chứa 25 triệu tinh trùng) cho một lần dẫn tinh (vì bò cái được gây siêu bài noãn số lượng trứng rụng nhiều hơn bình thường rất nhiều và trứng rụng rải rác) và phối 2 lần cách nhau 12 giờ.

Thu phôi bò in vivo

Phương pháp thu phôi chúng tôi sử dụng là phương pháp thu phôi không phẫu thuật thông qua giội rửa sừng tử cung của bò cái cho phôi bằng dung dịch giội rửa là dung dịch Ringer Lactat có bổ sung thêm 0,5% (v/v) BSA (Sigma-Aldrich, Mỹ)

Sau khi thu phôi xong tiêm bắp 500 μ g PGF_{2 α} bò cho phôi để gây tiêu biến thể vàng, giúp buồng trứng bò dần dần trở lại trạng thái sinh lý bình thường.

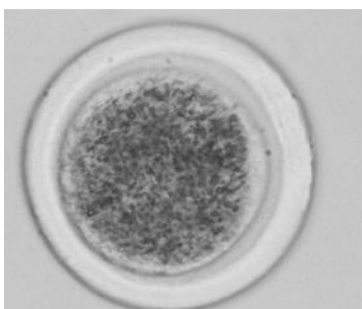
Dùng catheter bơm vào bên trong tử cung của bò cái 20ml dung dịch Iodine 2% phòng viêm tử cung bò cho phôi.

Đánh giá, phân loại phôi bò in vivo

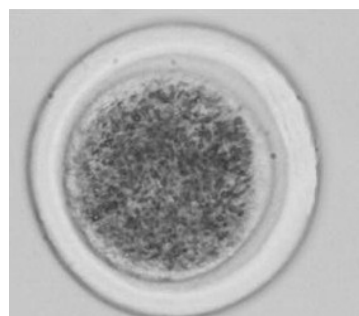
Phôi bò được phân loại bằng kính hiển vi soi nổi dựa trên hệ thống đánh giá IETS (International Embryo Transfer Society) mã hóa các giai đoạn phát triển phôi (1 đến 9) và chất lượng phôi (1 đến 4).

Bước 1: Phân loại phôi dựa vào tuổi phôi (Bó, G. A và Mapletoft, R. J., 2013)

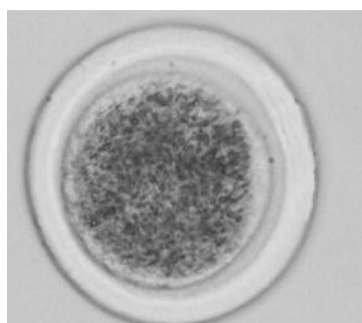
Các giai đoạn phát triển phôi để xác định tuổi của phôi được quy định từ 1 (trứng không được thụ tinh hoặc 1 tế bào) cho đến 9 (tế bào phôi đã thoát màng).



1. Trứng chưa được thụ tinh

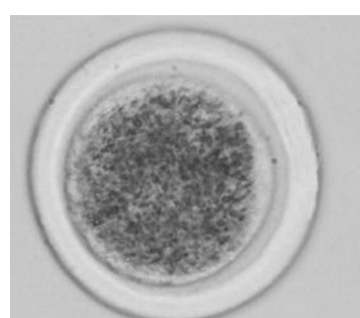


2. Hợp tử phân chia



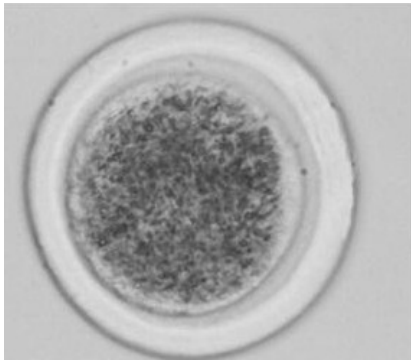
3. Phôi dâu

Nhân gồm một khối gồm ít nhất 16 tế bào, khó phân biệt các phôi bào riêng rẽ với nhau. Khối phôi bào chiếm hầu hết lượng vật chất trong phôi



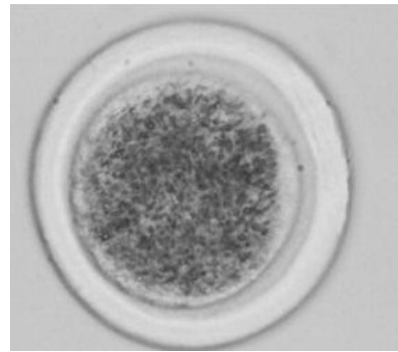
4. Phôi dâu nén chặt

Các phôi bào liên kết với nhau, hình thành khối kết đặc nên được gọi là phôi nang nén chặt. Khối phôi chiếm 60 - 70% lượng vật chất trong phôi



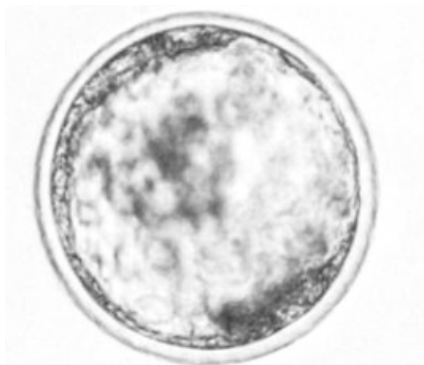
5. Phôi nang giai đoạn sớm

Phôi hình thành xoang phôi, trong xoang chứa dịch lỏng nhìn giống như vòng nhẫn. Lượng phôi bào chiếm 70 - 80% vật chất trong phôi. Khối phôi bào bên trong từ lá nuôi phôi khó phân biệt



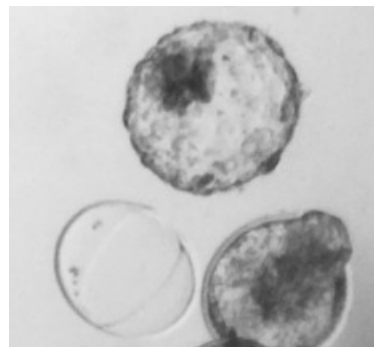
6. Phôi nang

Xoang phôi mở rộng hơn, chiếm phần lớn vùng quanh noãn hoàng. Lớp lá phôi ngoài, màu đen, kết đặc hơn so với khối tế bào bên trong khác nhau rõ rệt



7. Phôi nang mở rộng

Xoang phôi được mở rộng, lớp trong suốt loãng 1-3 lần so với độ đặc sệt ban đầu



8 & 9. Phôi nang đang và đã thoát màng

Lớp màng trong suốt giải phóng 1 phần hay hoàn toàn. Phôi thoát màng hình cầu hoặc méo mó. Phôi thoát màng xuất hiện hình vòng nhẫn

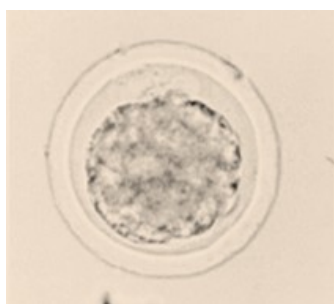
Bước 2: Phân loại theo chất lượng phôi

Ngoài trứng không thụ tinh, phôi chết, thoái hóa, số phôi có thể sử dụng thông thường được chia ra làm bốn loại: A, B, C, D hoặc rất tốt, tốt, trung bình và kém.

Chất lượng phôi được xác định bằng cách đánh giá trực quan đặc điểm hình thái phôi. Các đặc điểm được sử dụng để xác định chất lượng của một phôi nhất định bao gồm tính đồng nhất của phôi (kích thước, màu sắc, hình dạng), sự nguyên vẹn vật chất trong phôi và đặc điểm màng trong suốt.

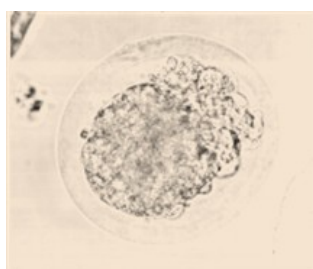
Bảng 2. Bảng phân loại chất lượng phôi bò

Phân loại		Đặc điểm của phôi
Rất tốt	1	Phôi điển hình cho giai đoạn phát triển không có bất cứ khiếm khuyết nào
Tốt	2	Đúng với giai đoạn phát triển, màu sắc của tế bào đẹp, có một vài tế bào tách rời.
Trung bình	3	Hình thái không đặc trưng, số tế bào tách rời nhiều, màu sắc không đặc trưng.
Kém	4	Hình thái không tốt, nhiều tế bào rời, sự liên kết không chặt chẽ, không đặc trưng cho giai đoạn phát triển, màu sắc không đều.



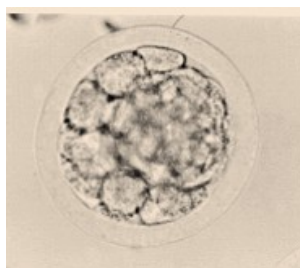
Loại 1: Phôi rất tốt, giai đoạn phôi dâu nén chặt

Khối vật chất trong phôi đối xứng, các phôi bào phải có sự đồng nhất về mật độ, kích cỡ và màu sắc. Ít nhất 85% vật chất trong phôi nguyên vẹn. Màng trong suốt trơn mượt, không lồi lõm.



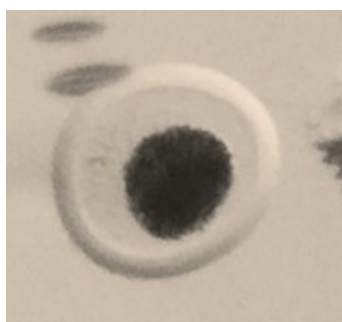
Loại 2: Phôi tốt, giai đoạn phôi dâu nén chặt

Phôi có độ đối xứng và sự đồng nhất về mật độ, kích cỡ và màu sắc của các phôi bào bình trung bình. Ít nhất 50% vật chất tế bào còn nguyên vẹn.



Loại 3: Phôi trung bình, giai đoạn phôi dâu

Mức độ bất thường chính về hình thái của khối phôi hoặc mật độ, kích thước và màu sắc của phôi bào thấp. Ít nhất có 25% vật chất tế bào còn nguyên vẹn, có khả năng thành khối phôi.



Loại 4: Phôi kém (phôi chết hoặc thoái hóa)

Gồm phôi chết, tế bào trứng không được thụ tinh hoặc phôi 1 tế bào.

Xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2013.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả gây siêu bài noãn bằng tổ hợp các hormone sinh sản và thu phôi với 50 bò cái cho phôi bao gồm: 35 bò sữa, và 15 bò thịt được trình bày ở Bảng 3:

Bảng 3. Kết quả sản xuất phôi bò *in vivo* trên bò nghiên cứu

	Bò thịt (n=15)		Bò sữa (n=35)		Tổng số (1+3)	Trung bình chung	Tỷ lệ (%)
	Tổng số (1)	Trung bình (2)	Tổng số (3)	Trung bình (4)			
Số phôi thu được	94	6,3±1,6	286	8,2±2,4	380	7,6±2,3	100
Phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền (Mean ± SD)	59	3,9±1,3	160	4,6±1,9	219	4,4±1,7	57,6
Phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh (Mean ± SD)	48	3,2±1,1	139	4,0±1,4	187	3,7±1,4	49,2
Phôi thoái hóa (Mean ± SD)	9	0,6±0,6	53	1,5±0,9	62	1,3±0,9	16,3
Trứng không được thụ tinh (Mean ± SD)	26	1,7±0,6	73	2,1±1,3	99	2,0±1,1	26,1

Qua Bảng 3 cho thấy thông qua việc gây siêu bài noãn cho 50 bò gồm cả bò thịt và bò sữa thu được tổng số 380 phôi trong đó phôi đủ tiêu chuẩn cho cấy truyền là 219 phôi chiếm tỷ lệ 57,6%, ngoài ra phôi bào không đủ tiêu chuẩn cấy truyền là 161 phôi chiếm tỷ lệ 42,3% tổng số phôi bào thu được bao gồm 62 phôi thoái hóa (16,3%) và 99 trứng không được thụ tinh (26,1%).

Ngoài ra, cũng theo Bảng 3 thì số phôi thu được, số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền và số phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh trung bình ở bò sữa cao hơn bò thịt, cụ thể tổng số phôi thu được/bò tương ứng ở bò sữa và bò thịt là $8,2 \pm 2,4$ phôi/bò so với $6,3 \pm 1,6$ phôi/bò; trung bình số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền tương ứng là $4,6 \pm 1,9$ phôi/bò so với $4,0 \pm 1,4$ phôi/bò và số phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh là $3,9 \pm 1,3$ phôi/bò ở bò sữa so với $3,2 \pm 1,1$ phôi/bò ở bò thịt.

Theo tác giả Andrés Tribulo và cs. (2011) khi nghiên cứu tạo phôi *in vivo* trên bò Angus đố bằng FSH cho kết quả thu được trung bình là $12,3 \pm 1,5$ (phôi/bò) trong đó trứng được thụ tinh là $7,2 \pm 1,1$ (phôi/bò) và phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền là $4,9 \pm 0,8$ (phôi/bò). Tại Nhật Bản (2007) khi so sánh hai cách sử dụng FSH gây siêu bài noãn trên bò đen Nhật tác giả Koji Kimura và cộng sự thu được kết quả khá tốt đó là tổng số phôi thu được là $9,3 \pm 1,7$ (phôi/bò) và số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền là $8,0 \pm 1,8$ (phôi/bò). Theo tác giả Andrés Tribulo và cs. (2012) nghiên cứu tại Argentina gây siêu bài noãn bằng Folltropin-V trên bò thịt lai giữa hai giống Simmental và Angus cho kết quả thu được tổng số phôi và trứng là $10,2 \pm 1,8$ /bò và $6,7 \pm 1,3$ (phôi/bò) trong đó số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền là $4,0 \pm 0,8$ (phôi/bò).

Để đánh giá so sánh hiệu quả sản xuất phôi giữa bê cái hậu bị và bò đã sinh sản (Lứa 1-Lứa 3), chúng tôi chia các bò cái cho phôi thành các nhóm theo bê cái hậu bị và bò cái (Lứa 1-Lứa 3). Kết quả được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả ảnh hưởng của lứa đẻ lên khả năng sản xuất phôi bò *in vivo*

	Bò thịt (n=15)		Bò sữa (n=35)	
	Bê hậu bị (n=5)	Bò cái (n=10)	Bê hậu bị (n=8)	Bò cái (n=27)
Phôi thu được (Mean±SD)	$5,6 \pm 1,3$	$6,6 \pm 1,6$	$7,3 \pm 1,5$	$8,4 \pm 2,5$
Phôi đủ tiêu cấy truyền (Mean±SD)	$3,4 \pm 1,4$	$4,2 \pm 1,3$	$3,6 \pm 1,7$	$4,9 \pm 1,8$
Phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh (Mean±SD)	$2,6 \pm 0,9$	$3,5 \pm 1,1$	$3,4 \pm 1,7$	$4,1 \pm 1,3$
Phôi thoái hóa (Mean±SD)	$0,6 \pm 0,5$	$0,6 \pm 0,5$	$1,4 \pm 0,4$	$1,8 \pm 0,9$
Trứng không được thụ tinh (Mean±SD)	$1,6 \pm 0,5$	$1,8 \pm 0,6$	$2,3 \pm 1,2$	$2,1 \pm 1,3$

Qua Bảng 4 cho thấy trong cùng nhóm bò thì số lượng phôi thu được trung bình và số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền ở bò cái cao hơn so với bê hậu bị: trung bình ở nhóm bò thịt tổng số phôi thu được ở bò cái là $6,6 \pm 1,6$ phôi/bò cao hơn ở bê hậu bị là $5,6 \pm 1,3$ phôi/bò, số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền trung bình là $4,2 \pm 1,3$ phôi/bò so với $3,4 \pm 1,4$ phôi/bò và phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh là $3,5 \pm 1,1$ phôi/bò so với $2,6 \pm 0,9$ phôi/bò ở bê hậu bị; nhóm bò sữa cũng tương tự với trung bình số phôi thu được ở bò cái là $8,4 \pm 2,5$ phôi/bò ở bò cái so với $7,3 \pm 1,5$ phôi/bò ở bê hậu bị và phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền là $4,9 \pm 1,8$ phôi/bò so với $3,6 \pm 1,7$ phôi/bò, phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh là $4,1 \pm 1,3$ phôi/bò so với $3,4 \pm 1,7$ phôi/bò.

Kết quả của chúng tôi cũng khá tương đồng với các kết quả nghiên cứu của tác giả Larson và cs. (2010) về sản xuất phôi bò *in vivo* trên bò thịt giống Angus thuần chủng tại Mỹ cho thấy tổng số phôi thu được trung bình là 10,9 phôi và số phôi có đủ chất lượng tiêu chuẩn cho cấy truyền trung bình là 5,9 phôi. Tác giả Baruselli và cs. (2006) khi gây siêu bài noãn cho bò thịt giống Nelore tại Argentina có sử dụng vòng tẩm progesterone (CIDR) cho kết quả tổng số phôi thu được trung bình là $8,2 \pm 0,9$ phôi, số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền là $4,3 \pm 0,7$ phôi và số phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh là $2,9 \pm 0,6$ phôi.

Đối với bò sữa theo nghiên cứu của tác giả Kaimio và cs. (2013) khi nghiên cứu trên tổng số 1.487 lần thu phôi của bò sữa trong đó có 633 bò Holstein và 854 bò giống Ayrshire thì cho kết quả với bê hậu bị tổng số phôi thu được trung bình là 11,4 phôi, trong đó có 7,2 phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền, với bò cái thì số phôi trung bình thu được là 13,0 phôi và số phôi đủ tiêu chuẩn cho cấy truyền trung bình là 9,1 phôi/lần thu phôi. Tương tự theo kết quả nghiên cứu của Peippo và cs. (2009) tại Phần Lan về sản xuất phôi bò *in vivo* với bò sữa giống HF thì cho kết quả số phôi thu được trung bình ở bê là $8,6 \pm 6,5$ phôi trong đó có $5,5 \pm 5,4$ phôi đủ tiêu chuẩn cho cấy truyền; với bò cái số phôi thu được trung bình là $9,4 \pm 6,7$ phôi trong đó số phôi đạt tiêu chuẩn cấy truyền là $6,3 \pm 5,7$ phôi.

KẾT LUẬN

Kết quả tạo phôi bò *in vivo* cho thấy:

Tổng số phôi thu được trung bình ở cả bò sữa và bò thịt là $7,6 \pm 2,3$ phôi/bò trong đó ở bò sữa cao hơn so với bò thịt (tương ứng $8,2 \pm 2,4$ phôi/bò so với $6,3 \pm 1,6$ phôi/bò).

Số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền trung bình là $4,4 \pm 1,7$ phôi/bò chiếm tỷ lệ 57,6% tổng số phôi thu được trong đó bò sữa trung bình là $4,6 \pm 1,9$ và bò thịt là $3,9 \pm 1,3$

Số phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh trung bình là $3,7 \pm 1,4$ phôi/bò, ở bò sữa ($4,0 \pm 1,4$ phôi/bò) cao hơn bò thịt ($3,2 \pm 1,1$ phôi/bò).

Trong cùng nhóm bò thì các chỉ tiêu như tổng số phôi bò thu được, số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền, số phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh ở bò cái cao hơn so với bò hậu bị:

Bò thịt: Tổng số phôi thu được ở bò cái so với bò thịt lần lượt là $6,6 \pm 1,6$ so với $5,6 \pm 1,3$; số phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền là $4,2 \pm 1,3$ phôi/bò so với $3,4 \pm 1,4$ phôi/bò và phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh là $3,5 \pm 1,1$ phôi/bò so với $2,6 \pm 0,9$ phôi/bò.

Bò sữa: Tổng số phôi thu được ở bò cái so với bò hậu bị lần lượt là $8,4 \pm 2,5$ và $7,3 \pm 1,5$; phôi đủ tiêu chuẩn cấy truyền là $4,9 \pm 1,8$ phôi/bò so với $3,6 \pm 1,7$ phôi/bò và phôi đủ tiêu chuẩn đông lạnh là $4,1 \pm 1,3$ so với $3,4 \pm 1,7$.

LỜI CẢM ƠN

Trân trọng cảm ơn Dự án "Đẩy mạnh đổi mới sáng tạo thông qua nghiên cứu khoa học và công nghệ" – Dự án FIRST đã tài trợ kinh phí để nhóm nghiên cứu thuộc Bộ môn Ngoại Sản, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam thực hiện thành công nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Baruselli, P., Sá Filho, M., Martins, C., Nasser, L., Nogueira, M., Barros, C. et al. 2006. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 2006;65, pp. 77–88.
- Kaimio, I., Mikkola, M., Lindeberg, H., Heikkinen, J., Hasler, J. F. and Taponen J. 2013. Embryo production with sex-sorted semen in superovulated dairy heifers and cows. *Theriogenology* 30 (2013), pp. 1-5
- Larson, J. E., Lamb, G. C., Funnell, B. J., Bird, S., Martins, A. and Rodgers, J. C. 2010. Embryo production in superovulated Angus cows inseminated four times with sexed-sorted or conventional, frozen-thawed semen. *Theriogenology* 73 (2010), pp. 698–703
- Peippo, J., Vartia, K., Kananen-Anttila, K., Raty, M., Korhonen, K., Hurme, T., Myllymaki, H., Sairanen, A. and Maki-Tanila, A. 2009. Embryo production from superovulated Holstein-Friesian dairy heifers and cows after insemination with frozen-thawed sex-sorted X spermatozoa or unsorted semen. *Animal Reproduction Science* 111 (2009), pp. 80–92
- Koji Kimura, Makoto Hirako, Hisataka Iwata, Mari Aoki, Mamoru Kawaguchi and Makoto Seki. 2007. Successful superovulation of cattle by a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel. *Theriogenology* 68 (2007), pp. 633–639
- Andrés Tribulo, Dragan Rogan, Humberto Tribulo, Ricardo Tribulo, Roxana V. Alasino, Dante Beltramo, Ismael Bianco, Reuben J. Mapletoft and Gabriel A. Bó. 2011. Superstimulation of ovarian follicular development in beef cattle with a single intramuscular injection of Folltropin-V. *Animal Reproduction Science* Volume 129, Issues 1–2, November 2011, pp. 7-13
- Andrés Tribulo, Dragan Rogan, Humberto Tribulo, Ricardo Tribulo, Reuben J. Mapletoft and Gabriel A. Bó. 2012. Superovulation of beef cattle with a split-single intramuscular administration of Folltropin-V in two concentrations of hyaluronan. *Theriogenology* 77 (2012), pp. 1679–1685

ABSTRACT

The results of *in vivo* embryo production in cattle based on Japanese techniques in Vietnam

The objective of this study is to apply Japanese technology to produce *in vivo* embryos in cattle in Vietnam. The study was conducted on 50 cows included 35 crossbred Holstein Friesian cows and 15 Brahman cows, using the Japanese superovulation protocol include 8 FSH injections with a total of 30 AU of FSH for one dairy cows and 20 AU for one beef cow, the interval between two injections is 12 hours in 4 days with the dose gradually decreasing from day 4 of the procedure. The cows were artificially inseminated twice in 12 hours intervals beginning on day 9 of the procedure using straw frozen semen. Embryo collection was conducted after artificial insemination 7 days. The total number of embryos collected was 380, with average was 7.6 ± 2.3 of the collected embryos /cow, transferable embryo was 219, with average of 4.4 ± 1.7 embryo/cow (57.6% of the total number of embryos collected); total freezable embryo was 187 embryos, an average of 3.7 ± 1.4 embryos/cow (49.2% of the total number of embryo collected). The results of superovulation in dairy donor cow group were higher than

that of beef donor cow group with average embryo collected was 8.2 ± 2.4 and 6.3 ± 1.6 , respectively and transferable embryo was 4.6 ± 1.9 compared to 3.9 ± 1.3 ; freezable embryo was 4.0 ± 1.4 and 3.2 ± 1.1 , respectively. In addition, superovulation results in cows were higher than that in heifers in both beef and dairy donor cattle groups. In beef donor cow group with the total number of embryos collected in cows and heifers was 6.6 ± 1.6 embryo/cow and 5.6 ± 1.3 embryo/cow respectively; transferable and freezable embryos of cows and heifers were 4.2 ± 1.3 versus 3.4 ± 1.4 and 3.5 ± 1.1 compared to 2.6 ± 0.9 respectively. This trend was the same in group of dairy donor cow with average embryos collected in cows compared to heifers were 8.4 ± 2.5 and 7.3 ± 1.5 , respectively; transferable embryos was 4.9 ± 1.8 compared to 3.6 ± 1.7 and freezable embryos was 4.1 ± 1.3 and 3.4 ± 1.7 , respectively. In conclusion, the application of Japanese expert's experiences in *in vivo* embryo production modified to suit Vietnam conditions by prolonging the time of FSH injection from 3 days to 4 days initially gave good results.

Keywords: *Dairy cattle, beef cattle, superovulation, in vivo embryo production*

Ngày nhận bài: 12/10/2019

Ngày phản biện đánh giá: 20/9/2019

Ngày chấp nhận đăng: 25/10/2019

Người phản biện: *TS. Nguyễn Văn Hạnh*