

TÁC ĐỘNG CỦA TRẠNG THÁI BUỒNG TRỨNG LÊN KẾT QUẢ SIÊU BÀI NOÃN BÒ

Hoàng Nghĩa Sơn^{1*}, Nguyễn Văn Hạnh², Quãn Xuân Hữu³, Lê Thị Châu⁴

¹Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *hoangnghiason@itb.ac.vn

²Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

³Viện Chăn nuôi quốc gia, Hà Nội

⁴Viện Nghiên cứu khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: Mục đích của nghiên cứu này là sử dụng siêu âm để phân loại buồng trứng nhằm đánh giá ảnh hưởng của trạng thái buồng trứng bò đến kết quả xử lý siêu bài noãn. Tổng số 30 bò sữa Holstein heifers (HF) thuần cố tiềm năng di truyền cao đã được siêu âm 5 lần để đánh giá biến động của trạng thái buồng trứng. Chọn 15 bò buồng trứng không có thể vàng để xử lý siêu bài noãn. Bò có buồng trứng xuất hiện nhiều nang nhỏ hơn 6 mm được xử lý bằng hocmon (FSH) kích thích nang trứng (nhóm 1) và huyết thanh ngựa chửa (PMSG) (nhóm 2), một nhóm bò có nang trứng lớn hơn 6 mm được xử lý bằng FSH (nhóm 3). Kết quả cho thấy, số phôi thu được ở nhóm 1 cao hơn ở nhóm 3 ($13,00 \pm 3,22$ và $6,60 \pm 4,22$) ($p < 0,05$). Phương pháp xử lý bằng FSH (nhóm 1 và 3) cũng cho lượng phôi cao hơn so với khi xử lý bằng PMSG (nhóm 2) ($13,00 \pm 3,22$ và $8,80 \pm 2,04$). Những kết quả thu được cho thấy việc siêu âm tại thời điểm bắt đầu gây siêu bài noãn có thể dự đoán được khả năng đáp ứng của buồng trứng bò. Phương pháp gây siêu bài noãn bằng FSH đạt hiệu quả cao nhất ở nhóm bò có nhiều nang trứng nhỏ.

Từ khóa: Bò sữa, buồng trứng, nang trứng, siêu âm, siêu bài noãn.

MỞ ĐẦU

Năng suất sinh sản là một trong những yếu tố quan trọng nhất tác động đến hiệu quả kinh tế của chăn nuôi bò. Ngày nay, việc áp dụng thành công những công nghệ việc hỗ trợ sinh sản đã góp phần làm cải thiện đặc tính di truyền và năng suất chăn nuôi của đàn bò ở Việt Nam. Các kỹ thuật như thụ tinh nhân tạo, gây động dục đồng loạt, tạo phôi trong ống nghiệm, cấy truyền phôi, gây siêu bài noãn ngày càng được sử dụng rộng rãi. Trước đây, các nghiên cứu gây siêu bài noãn thường đề cập đến xử lý dựa vào khám trực tràng và tiến hành xử lý vào ngày thứ 8-12 sau động dục [11]. Tuy nhiên, kết quả thường chỉ đạt 59,09% có phản ứng với kích thích và chỉ 76,14% bò cho phôi có thể cấy truyền. Những năm gần đây, nhờ ứng dụng kỹ thuật siêu âm để đánh giá trạng thái buồng trứng trước khi gây siêu bài noãn đã thu được số trứng, phôi cao hơn [14]. Kohram & Poorhamdollah (2012) [6] đã thông báo việc ứng dụng siêu âm để lựa chọn trạng thái buồng trứng của bò cho phôi đem lại hiệu quả cao khi ứng dụng kết hợp với phương pháp siêu bài noãn sử dụng hormone FSH.

Ở trạng thái bình thường, trong một chu kỳ

sinh dục buồng trứng bò thường có hai đến 3 đợt sóng nang [13]. Đợt sóng đầu tiên xuất hiện ngay sau khi bò động dục, đợt sóng nang này xuất hiện ở cả hai buồng trứng. Khoảng vào ngày thứ 3 của chu kỳ, bắt đầu đã có nang được lựa chọn trở thành nang ưu thế (nang có kích thước > 6 mm) [1]. Nang ưu thế phát triển tiếp cho đến ngày thứ 6, trong khi đã xuất hiện đợt sóng nang thứ 2, các sóng nang tiếp tục phát triển cho đến khi nang ưu thế được lựa chọn cho rụng trứng [4]. Tuy nhiên, trong quá trình siêu bài noãn, mục đích là tạo được nhiều nang trứng có thể phát triển lên trạng thái nang ưu thế mà không bị loại thải nên các hormone phải được liên tục bổ sung [7]. Khi các nang trứng đạt kích thước 3-6 mm nếu được bổ sung hormone FSH sẽ tiếp tục phát triển đạt trạng thái thành thục và rụng khi bổ sung hormone LH [6].

Các nghiên cứu về gây siêu bài noãn trên bò đã được triển khai ở Việt Nam từ lâu [14]. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào đánh giá tương quan giữa trạng thái buồng trứng trước khi xử lý siêu bài noãn với số phôi thu được. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp siêu âm để đánh giá phân loại bò dựa vào trạng thái buồng trứng sau đó tiến hành xử lý gây siêu

bài noãn bằng phương pháp sử dụng hai loại hocmon khác nhau. Nghiên cứu này giúp tìm ra thời điểm và phương pháp xử lý tối ưu để kích thích nhằm thu được lượng trứng, phôi tốt nhất trong phương pháp tạo trứng, phôi *in vivo*.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Động vật thí nghiệm

Bò được lựa chọn cho thí nghiệm là những bò cao sản, đủ đáp ứng về điều kiện thú y phòng dịch, có năng suất cho sữa từ 5000 kg/chu kỳ trở lên, đang trong độ tuổi sinh sản và đều có hệ sinh dục và buồng trứng bình thường khi khám qua trực tràng. Bò thí nghiệm được nuôi theo tiêu chuẩn một ngày cho ăn 40 kg cỏ tươi và 4 kg thức ăn tinh, nuôi nhốt tại trại chăn nuôi ở Lâm Đồng. Bò đảm bảo được cung cấp đủ nước sạch, bổ sung các khoáng chất và được chăm sóc nuôi dưỡng tốt.

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Đánh giá biến đổi trạng thái buồng trứng trong chu kỳ động dục bằng siêu âm. Bò sinh sản được tiến hành siêu âm để đánh giá trạng thái buồng trứng đồng thời đối chiếu phiếu theo dõi để xác định ngày trong chu kỳ. Theo Twagiramungu et al. (1995) [13], khoảng thời gian theo chu kỳ được xác định để theo dõi trạng thái buồng trứng là ngày thứ 5, 10, 15 và 20 kể từ ngày kết thúc động dục (ngày 0). Sau khi siêu âm buồng trứng bò được chia thành 3 dạng trạng thái: buồng trứng có nhiều nang < 6 mm, buồng trứng có nang > 6 mm (nang ưu thế) và buồng trứng có thể vàng.

Thí nghiệm 2: Tác động của phương pháp siêu bài noãn. Trong thí nghiệm này, sau khi siêu âm buồng trứng, những bò không có thể vàng được dùng để gây siêu bài noãn và số bò này được chia thành 3 nhóm, mỗi nhóm 5 bò. Nhóm 1: buồng trứng có nhiều nang nhỏ được xử lý gây siêu bài noãn bằng FSH; Nhóm 2: buồng trứng có nhiều nang nhỏ như nhóm 1 nhưng được xử lý bằng PMSG; Nhóm 3: bò có nang > 6mm, được xử lý siêu bài noãn bằng FSH như nhóm 1. Kết quả được đánh giá bằng số thể vàng, số phôi và số phôi tốt có thể cấy chuyển thu được.

Phương pháp siêu bài noãn

Đối với lô xử lý bằng FSH, ngay sau khi siêu âm buồng trứng, tiến hành tiêm FSH liều (200 mg) hai mũi sáng, chiều ở ngày thứ -10, -8, -4, -2 của phương pháp (FSH, Nhật Bản). Ở ngày 0, tiêm một mũi Prostaglandin 5 ml (Lutalyse, Intervet, Hà Lan). Sau 24 giờ, bò bắt đầu động dục, thụ tinh 3 lần, chiều ngày thứ 2, sáng và chiều ngày thứ 3. Phôi được thu vào ngày thứ 9 của phương pháp. Đối với lô xử lý bằng PMSG, tiêm 2500 IU PMSG (Intervet, Hà Lan) ở ngày thứ 2 của phương pháp, các xử lý sau đó tương tự với phương pháp xử lý bằng FSH.

Phương pháp quan sát buồng trứng bằng siêu âm

Phương pháp quan sát bằng siêu âm được thực hiện theo Sartori et al. (2009) [10]. Cố định bò thu trứng, lấy sạch phân, sát trùng âm hộ và vùng xung quanh bằng cồn và dung dịch iodine. Buồng trứng bò được kiểm tra bằng hệ thống siêu âm chẩn đoán theo thời gian thực (real-time linear scanning ultrasound diagnostic system (Ls-300-A: Tokyo Keiki Co., Tokyo, Nhật Bản; 7.5 MHz Transducer). Quan sát buồng trứng và đánh giá trạng thái có nhiều nang nhỏ hơn 6 mm, có nang trứng lớn hơn 6 mm và buồng trứng có thể vàng.

Phân tích số liệu

Các số liệu được xử lý bằng Excel gồm các chỉ số: giá trị trung bình (Mean), sai số chuẩn (SEM). Các giá trị a, b, c dùng để chỉ sự sai khác giữa các nhóm giá trị có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

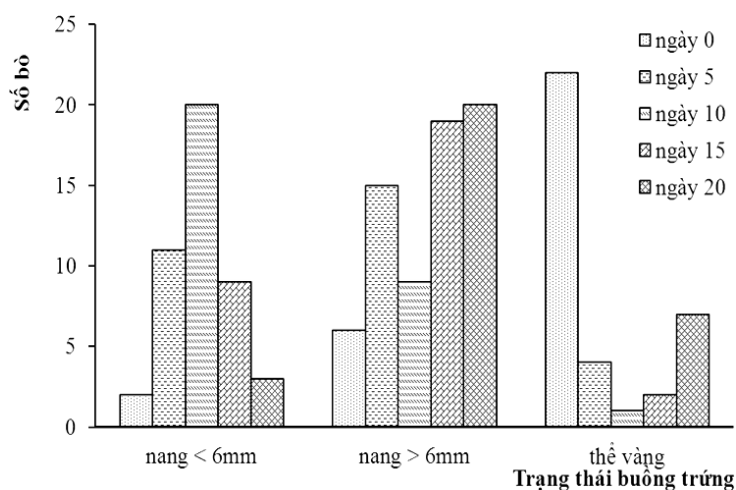
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Biến động trạng thái buồng trứng khi quan sát bằng siêu âm

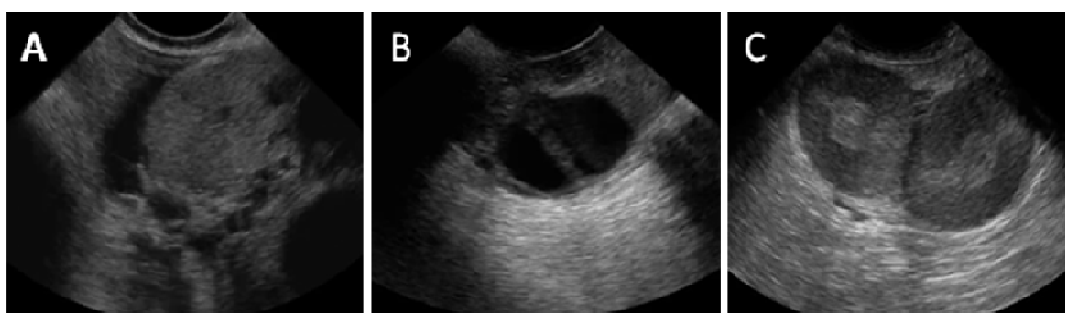
Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, buồng trứng có nhiều nang trứng có đường kính nhỏ hơn 6 mm tăng nhanh từ ngày thứ 5 (11/30) và cao nhất ở ngày thứ 10 của chu kỳ (20/30). Trạng thái buồng trứng có nang > 6 mm xuất hiện khá cao ở ngày thứ 5 (15/30), tuy nhiên, sau đó giảm xuống ở ngày thứ 10 của chu kỳ (9/30) và đạt cao nhất vào ngày thứ 20 (20/30). Theo Wiltbank et al. (2011) [15], khi quan sát bằng siêu âm thì kích thước của các nang lớn cho kết quả phát hiện chính xác hơn. Tỷ lệ buồng trứng ở các trạng thái thu được tương

ứng với các sóng nang của chu kỳ trên bò sữa như trong thông báo của Butler et al. (2006) [2]. Kết quả nghiên cứu của Butler et al. (2006) [2] cho thấy, chỉ 17/55 bò thí nghiệm chiếm 31% có trứng rụng xuất phát từ nang trứng phát triển trong đợt sóng nang đầu tiên sau khi sinh, trong khi 24 trong số 55 (44%) bò nghiên cứu có nang chi phối từ đợt sóng nang đầu tiên bị thoái hóa.

Hình ảnh buồng trứng bò thể hiện ba trạng thái quan sát được bằng siêu âm thể hiện trong hình 2. Biến động của trạng thái buồng trứng quan sát bằng siêu âm được thể hiện trong hình 1. Trong số năm lần quan sát, ở ngày 0 của chu kỳ, hầu hết buồng trứng (22/30) cho thấy có hình ảnh thể vàng, điều này phù hợp với thực tế vì bò vừa có động dục và rụng trứng.



Hình 1. Biến động trạng thái nang buồng trứng được quan sát bằng siêu âm



Hình 2. Hình ảnh trạng thái buồng trứng đặc trưng:

A. buồng trứng có nhiều nang nhỏ; B. buồng trứng có nang ưu thế; C. buồng trứng có thể vàng.

Ảnh hưởng của trạng thái buồng trứng lên kết quả siêu bài noãn

Kết quả gây siêu rụng trứng trên bò bằng các phương pháp xử lý ở các trạng thái buồng trứng khác nhau được thể hiện trong bảng 1. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy số lượng nang trứng phát triển tới giai đoạn rụng trứng cao nhất ở nhóm xử lý bằng FSH giai đoạn buồng trứng nhiều nang <6 mm và kết quả

này tương tự với nhiều nghiên cứu khác [4, 6]. Tuy nhiên, theo Stock et al. (1995) [12], khi kích thích bằng FSH trên bò thì nang ưu thế không tác động nhiều đến kết quả phát triển của các nang trứng khác, nhưng nó ảnh hưởng đến quá trình rụng trứng. Với kết quả bò có phản ứng đạt từ 80-100% là tương đương với kết quả siêu rụng trứng được công bố trong các nghiên cứu khác [3, 9, 16]. Điều này được giải

thích vì các nghiên cứu này mặc dù không có chọn lọc nang trước khi xử lý nhưng phương pháp xử lý bò được bắt đầu thực hiện trong khoảng ngày 8-12 [6].

Bảng 1. Biến động trạng thái buồng trứng trước và sau khi xử lý hormone

Phương pháp xử lý	Trạng thái buồng trứng	Số bò xử lý	Tỷ lệ bò phản ứng (%)	Số thể vàng Mean \pm SEM	Số phôi thu được Mean \pm SEM	Số phôi có thể cấy Mean \pm SEM
FSH	Nhiều nang nhỏ (3-6mm)	5	100	15,00 \pm 4,05 ^a	13,00 \pm 3,22 ^a	10,40 \pm 3,50 ^a
FSH	Có nang ưu thế (>6mm)	5	80	6,40 \pm 4,18 ^c	4,60 \pm 4,22 ^c	3,40 \pm 3,98 ^c
PMSG	Nhiều nang nhỏ (3-6mm)	5	100	12,00 \pm 2,61 ^b	8,80 \pm 2,04 ^b	6,20 \pm 1,33 ^b

Kết quả đáp ứng với liều FSH trong nghiên cứu này cũng tương tự như công bố của Nilchuen et al. (2012) [8] (số phôi thu được: 14,25 \pm 3,21 và số phôi có thể cấy: 9,75 \pm 3,01). Đối với nhóm xử lý bằng PMSG, số thể vàng và số phôi thu được ít hơn đối với nhóm FSH. Tuy nhiên, kết quả này vẫn cao hơn so với công bố của Gonzalez et al. (1994) [5] (số thể vàng trung bình đạt 8,60 \pm 1,80). Theo Silva et al. (2009) [11], khi xử lý bằng PMSG thường cho đáp ứng phụ thuộc cá thể cao, nhưng ở một mức độ nào đó liều tiêm vẫn quyết định tỷ lệ phản ứng.

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy buồng trứng có thể vàng tập trung ở ngày 0 của chu kỳ trong khi buồng trứng có nhiều nang nhỏ và buồng trứng có nang lớn hơn 6 mm xuất hiện ở ngày 5 và ngày 15 của chu kỳ. Kết quả xử lý siêu bài noãn bằng FSH ở bò có buồng trứng ở trạng thái có nhiều nang nhỏ đã thu được lượng phôi lớn hơn rõ ràng so với những bò có nang lớn hơn 6 mm hoặc có nhiều nang nhỏ nhưng xử lý siêu bài noãn bằng PMSG.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được cung tài trợ về kinh phí bởi đề tài: “Ứng dụng công nghệ cấy chuyên phôi bò sữa cao sản tại Tây Nguyên”, thuộc Chương trình Tây nguyên 3.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adams G. P., Kot K., Ginther O. J., 1993. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 30: 259-271.
- Butler S. T., Pelton S. H., Butler W. R., 2006. Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *J. Dairy. Sci.*, 89: 2938-2951.
- Calder M., Rajamahendran R., 1992. Follicular growth, ovulation and embryo recovery dairy cows given FSH at the beginning or middle of the estrous cycle. *Theriogenology*, 38: 1163-1174.
- Ginther O. J., Kastelic J. P., and Knopf L., 1989. Intraovarian relationships among dominant and sub ordinate follicles and the corpus luteum in heifers. *Theriogenology*, 32(5): 787-795.
- Gonzalez A., Wang H., Carruthers T.D., Murphy B. D., Mapletoft R. J., 1994. Superovulation in the cow with pregnant mare serum gonadotrophin: Effects of dose and antipregnant mare serum gonadotrophin serum. *Can. Vet. J.*, 35: 158-162.
- Kohram H., Poorhamdollah M., 2012. Relationships between the ovarian status and superovulatory responses in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 131: 123-128.
- Malhi P. S., Adams G. P., Mapletoft R. J., Singh J., 2008. Superovulatory response in a bovine model of reproductive aging. *Anim. Reprod. Sci.*, 109(1-4): 100-109.
- Nilchuen P., Chomchai S., Rattanabtimtong S., 2012. Superovulation with different doses of follicles stimulating

- hormone in Kamphaeng Saen Beef cattle. *J. Anim. Vet. Adv.*, 11(5): 676-680
9. Pietro S. B., Manoel F. d. S. F., Claudiney M. M., Luiz F. N., Marcelo G. N., Ciro F. M. B., Gabriel A. B., 2006. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, 65: 77-88.
 10. Sartori R., Baruselli P. S., Souza A. H., Cunha A. P., Wiltbank M. C., 2009. Recent advances in ovulation synchronization and superovulation in dairy cattle. *Anim. Reprod.*, 6(1): 194.
 11. Silva J. C. C., Alvarez R. H., Zanenga C. A., Pereira G. T., 2009. Factors affecting embryo production in superovulated Nelore cattle. *Anim. Reprod.*, 6: 440-445.
 12. Stock A. E., Ellington J. E., Fortune J. E., 1995. A dominant follicle does not affect follicular recruitment by superovulatory doses of FSH in cattle but can inhibit ovulation. *Theriogenology*, 45:1091-1102.
 13. Twagiramungu H., Guilbault L. A., Dufour J. J., 1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *J. Anim. Sci.*, 73: 3141-3151.
 14. Uoc N. T, Long D. D., Nguyen B. X., 1992. Superovulation response in Holstein, Holstein-Zebu and yellow cattle and Swamp buffaloes under tropical conditions. 12th International Congress on Animal Reproduction. The Netherlands, the Hague: 2010-2012.
 15. Wiltbank M. C., Sartori R., Herlihy M. M., Vasconcelos J. L. M., Nascimento A. B., Souza A. H., Ayres H., Cunha A. P., Keskin A., Guenther J. N., Gumen A., 2011. Advances in Bovine Reproduction and Embryo Technology Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 76: 1568-1582.
 16. Wubishet A., Graves C. N., Spahr S. L., Kesler D. J., Favero R. J., 1986. Effect of GnRH treatment on superovulatory responses of dairy cows. *Theriogenology*, 25: 423-427.

EFFECT OF BOVINE OVARIAN STATUS ON SUPEROVULATION

Hoang Nghia Son^{1*}, Nguyen Van Hanh², Quan Xuan Huu³, Le Thi Chau⁴

¹Institute of Tropical Biology, VAST,

²Institute of Biotechnology, VAST,

³National Institute of Animal Husbandry, Hanoi

⁴Tay Nguyen Institute for Scientific Research, VAST

SUMMARY

The goal of this study is using ultrasonic observations to evaluate effects of cow ovary status on superovulation results. The total of 30 dairy HF cows with high genetic productivity was ultrasonic screened for ovarian status, in which 15 ones without corpora lutea were chosen for superovulation. The cows with cystic ovaries having many follicles less than 6 mm were treated with FSH (Group 1) and PMSG (Group 2), whereas a group of cows with follicles larger than 6 mm was treated with FSH (Group 3). It is shown that Groups 1 had more embryos recovered than Group 3 (13.00 ± 3.22 and 6.60 ± 4.22 , respectively) ($P < 0.05$). In Group treated by FSH (Group 1 and 3), the embryos collected higher quality than groups treated by PMSG (Group 2) (13.00 ± 3.22 and 8.80 ± 2.04 for group 1 & 3 and group 2, respectively). These results indicate that ultrasonic screening prior to superovulation might help predict the response of cow ovary. Superovulation using FSH is the most effective in cows with only small follicles.

Keywords: Dairy cattle, ovaries, follicles, superovulation, ultrasonic.

Ngày nhận bài: 12-9-2012