

KÍCH THƯỚC CỦA QUẦN THỂ NANG NGUYÊN THỦY VÀ PHẢN ỨNG TRẢ LỜI SỰ KÍCH THÍCH GÂY RỤNG NHIỀU TRỨNG Ở TRÂU VÀ BÒ

LÊ VĂN TY

Viện Công nghệ sinh học

HOÀNG NGHĨA SON

Viện Sinh học nhiệt đới

NGUYỄN MỘNG HÙNG

Trường đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG HN

Ưu thế của việc tạo phôi bằng phương pháp gây rụng nhiều trứng thể hiện ở đặc tính là các phôi này có sức sống gần giống như phôi do rụng trứng tự nhiên: trong điều kiện cấy phôi tươi đồng pha, tỷ lệ cấy phôi đạt gần với tỷ lệ thụ tinh nhân tạo (xấp xỉ 70%); phôi thu được do gây rụng nhiều trứng cũng có khả năng sống tương tự như phôi thu được do rụng trứng tự nhiên, sau khi đông lạnh và giải đông. Nếu đối với bò, việc tạo phôi bằng gây rụng nhiều trứng có thể đáp ứng được các chương trình cải tạo giống bằng cấy phôi thì ở trâu, câu trả lời vẫn còn để ngỏ.

Việc phát hiện các sóng nang trong chu kỳ sinh dục của trâu và của bò cho phép người ta rút ngắn khoảng cách tái sử dụng động vật cho việc gây rụng nhiều trứng và thu phôi. Điều này đã được chứng minh rất hữu ích trên bò. Cùng có quy luật phát triển nang kiểu sóng như bò nhưng hiệu quả của việc gây rụng nhiều trứng ở trâu vẫn chưa được khẳng định.

Điều gì tạo cho trâu các khác biệt như vậy? Ở các công trình trước, khi so sánh quần thể nang, chúng tôi thấy rằng trâu có số nang có xoang chỉ bằng 20% so với bò [1]. Ngoài ra, ở bò, người ta phát hiện thấy về mặt số lượng, quần thể nang có xoang tỷ lệ thuận với quần thể nang nguyên thủy [2]. Tuy nhiên, theo lứa tuổi, quần thể nang nguyên thủy của buồng trứng có biến động rất lớn, hiệu ứng tuổi có thể làm lu mờ hiệu ứng cá thể hoặc hiệu ứng loài. Việc nghiên cứu quần thể nang nguyên thủy của buồng trứng trâu và bò ở giai đoạn phát triển bào thai (từ 2 tháng đến 9 tháng tuổi), giai đoạn sớm nhất của quá trình hình thành và phát triển, một mặt xoá đi khoảng trống trong hiểu biết của chúng ta về quần thể

nang của trâu ở giai đoạn này, mặt khác, so sánh về mặt định lượng, sẽ là hữu ích cho việc tìm ra nguyên nhân phản ứng thấp ở trâu trong việc trả lời các hoóc-môn gây rụng trứng.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Buồng trứng của bào thai trâu và bò được thu một cách ngẫu nhiên trong 2 năm tại lò mổ Vissan ở tp. Hồ Chí Minh. Khi giết mổ trâu và bò, nếu thấy có bào thai, thì tiến hành mổ lấy bào thai. Nếu là bào thai cái, tiến hành đo chiều dài của thân bào thai, rồi mổ bào thai để lấy buồng trứng và đánh số, rồi nhấn chìm vào dung dịch cố định Boin-Holland; mẫu chỉ được xử lý sau ít nhất là một tháng. Tuổi của bào thai được xác định căn cứ vào chiều dài của thân bào thai [3] (các bảng 1 và 2).

Buồng trứng được xử lý theo phương pháp nghiên cứu tổ chức học thông thường [4], được mô tả ngắn gọn như sau: sau thời gian cố định, ít nhất là 1 tháng, toàn bộ buồng trứng được làm khô bằng các nồng độ cồn tăng dần từ 40°, 70°, 90° rồi đến cồn tuyệt đối, thời gian đối với mỗi nồng độ ít nhất là trong 1 giờ. Từ đây buồng trứng được chuyển qua dung môi to-lu-en 2 lần, toluene + pa-ra-phin 50%, toluene + pa-ra-phin 80% rồi chuyển vào pa-ra-phin để đúc khối. Ở dạng này, buồng trứng có thể bảo quản được lâu cho đến khi tiến hành cắt mẫu.

Cắt toàn bộ buồng trứng bằng máy cắt mẫu sao cho các lát cắt dày 7 μ tạo thành băng liên tục. Các băng này được ủ ở 37°C trong 2-4 ngày. Cứ 6 lát cắt liên tục lại lấy một lát đưa lên lam kính, loại bỏ pa-ra-phin, nhuộm bằng haemtoxylin và phân tích dưới kính hiển vi.

Bảng 1

Số mẫu buồng trứng của bào thai trâu được phân tích tổ chức học

Chiều dài của thân bào thai (cm)	Tuổi của bào thai (tháng)	Số mẫu (n)
8-14	≤ 3	4
15-20	4	1
23-26	5	5
34-47	6	6
50-60	7	5
63-70	8	3
80-85	9	3
89	10	1
Cộng:		28

Bảng 2

Số mẫu buồng trứng của bào thai bò được phân tích tổ chức học

Chiều dài thân bào thai (cm)	Tuổi của bào thai (tháng)	Số mẫu (n)
12	2,5	1
18-19	3	3
24-26	4-5	4
34-38	6	3
45-47	7	5
55-57	8	4
65	9	1
Cộng:		21

Để xác định số nang nguyên thủy của các buồng trứng của bào thai trâu và bò, tiến hành đếm số nang khi nhìn thấy nhân của tế bào trứng, cứ 60 lát cắt, lại tiến hành đếm 1 lần, số nang nguyên thủy của mỗi buồng trứng được tính theo công thức:

$$P = A \times M/L + M$$

Trong đó: P. số nang buồng trứng; A. tổng số nang đếm được; M. độ dày của lát cắt; L. đường kính của nhân tế bào trứng.

Đối với mỗi buồng trứng, cần đếm lặp lại 2 lần; kết quả cuối cùng là trung bình cộng của 2 lần đếm này.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ở buồng trứng của bào thai trâu, các dấu hiệu phân bào giảm phân chỉ bắt đầu quan sát được khi bào thai bắt đầu chuyển sang tháng phát triển thứ 3, thứ 4; tuy vậy, phân bào nguyên phân chỉ hoàn toàn ngừng vào cuối tháng thứ 6. Quần thể nang nguyên thủy hình thành chính vào giai đoạn này. Vào tháng thứ 4, đã quan sát thấy xuất hiện các nang có xoang, tuy nhiên có nhiều nang chỉ chứa rất ít tế bào nang và nhanh chóng thoái hoá. Nang có xoang xuất hiện nhiều và có cấu trúc đặc trưng từ tháng thứ 6 trở đi. Cũng từ tháng thứ 6 trở đi, quần thể nang nguyên thủy có xu thế giảm dần theo tuổi của bào thai ở trâu (bảng 3), cũng như ở bò (bảng 4).

Bảng 3

Sự hình thành quần thể nang trong buồng trứng trâu

L (cm)	T (tháng)	n	MI	ME	Dự trữ nang	Thoái hóa nang (%)	NCX
4-8	3	4	+++	+/-			
15-20	4	1	++	++			
23-26	5	5	+/-	++	863.380*		
34-47	6	6		+++	151.250 ± 86.340	35,2 ± 11,4	+/-
50-60	7	5			159.540 ± 94.930	27,6 ± 9,8	+
63-70	8	3			94.500 ± 30.150	11,8 ± 5,2	++
80-85	9	3			61.130 ± 34.020	14,0 ± 8,4	++
89	10	1			56.350	8,2 ± 2,5	+++

Ghi chú: *. chỉ đếm được 1 mẫu; L. chiều dài của bào thai; T. tuổi của bào thai; MI. nguyên phân; ME. giảm phân; NCX. nang có xoang; n. số mẫu.

Bảng 4

Sự hình thành quần thể nang trong buồng trứng bò

L (cm)	T (tháng)	n	MI	ME	Dự trữ nang	Thoái hóa nang (%)	NCX
12	2,5	1	+++	+/-	**		
18-19	3	3	++	++	**		
24-26	4-5	4	+/-	++	1.743.000 ± 353.000*		
34	6	3		+++	648.000 ± 260.000		+/-
45-47	7	5			341.260 ± 110.050	38,6 ± 11,5	+
55-57	8	4			169.550 ± 64.130	15,0 ± 8,5	++
65	9	1			153.270		+++

Ghi chú: **. không đếm được; *. chỉ đếm được 2 mẫu; L. chiều dài của bào thai, T. tuổi của bào thai; MI. nguyên phân; ME. giảm phân; NCX. nang có xoang; n. số mẫu.

Nếu tỷ lệ thoái hoá của nang ở bào thai trâu và ở bào thai bò là xấp xỉ bằng nhau và cùng có xu hướng giảm đi theo tuổi của bào thai thì kích thước của quần thể nang nguyên thủy của buồng trứng trâu luôn nhỏ hơn so với buồng trứng bò ở mọi thời điểm. So sánh bất đối xứng giữa quần thể nang của trâu và quần thể nang của bò, thấy rõ ràng điều này: ở tháng thứ 7 là 159.540 ± 94.930 so với 341.260 ± 110.050 , ($P = 0,05$) và ở tháng thứ 8 là: 94.500 ± 30.150 so với 169.550 ± 64.130 ($P < 0,05$).

Theo dõi quá trình phát triển cá thể của trâu và sự biến động của kích thước quần thể nang cho thấy quần thể này khá ổn định trong giai đoạn chuyển tiếp từ đời sống phôi sang giai đoạn nghé, sau đó thì giảm rất nhanh từ giai

đoạn nghé đến giai đoạn trưởng thành. Quy luật này cũng quan sát thấy ở bò.

Việc nghiên cứu định lượng quần thể nang nguyên thủy của trâu và bò ở giai đoạn đời sống phôi cho phép khẳng định là: kích thước của quần thể nang nguyên thủy của buồng trứng trâu là nhỏ hơn so với kích thước quần thể nang nguyên thủy của buồng trứng bò, ngay trong giai đoạn đời sống bào thai. Mặc dù có sự dao động cá thể rất lớn, số nang xác định được trong buồng trứng bò là phù hợp với những công bố trước đây [5]. Trong khi đó, số nang trung bình trong buồng trứng của trâu ở các tháng cuối của giai đoạn đời sống bào thai, giai đoạn nghé và đặc biệt giai đoạn trưởng thành, thấp hơn rất nhiều so với của bò ở các giai đoạn tương ứng.

Điều này cho phép kết luận là ngay từ khi hình thành, quần thể nang của buồng trứng trâu đã ít hơn so với của bò.

Ở trâu và bò trưởng thành, đều tìm thấy tương quan đồng biến giữa quần thể nang nguyên thủy với quần thể nang có xoang [2]. Điều này có nghĩa là một quần thể nang nguyên thủy lớn tương ứng với một quần thể nang có xoang lớn. Điều này không chỉ đúng với mỗi cá thể trong phạm vi một loài mà cũng đúng nếu so sánh giữa hai loài trâu và bò. Số nang có xoang của bò lớn gấp 5 lần số nang có xoang của trâu, tương ứng với quần thể nang nguyên thủy của bò cũng lớn hơn nhiều so với của trâu. Lý thuyết này được kiểm nghiệm khi nghiên cứu định lượng trực tiếp quần thể nang trâu bò ở giai đoạn bào thai.

Căn cứ vào thực tế gây siêu bài noãn ở hai loài động vật này cho thấy: trâu có số nang có xoang chỉ bằng 1/5 số nang có xoang của bò. Với nguồn huy động nang từ dự trữ nang nguyên thủy thấp hơn nhiều so với bò, trâu cho số trứng rụng và số phôi tương ứng trong mỗi lần xử lý siêu bài noãn như hiện trạng là hoàn toàn hợp lý. Suy luận này cũng cho phép đặt dấu chấm cho các cố gắng cải tiến kỹ thuật siêu bài noãn nhằm cải tạo di truyền đàn trâu.

Điều lý thú là cho dù kích thước của quần thể nang nguyên thủy giảm đi theo tuổi, ở cả trâu và bò, số lượng nang có xoang là khá ổn định [6]; điều này cho phép suy ra là có một số nang nguyên thủy ổn định được huy động vào

quá trình khởi lớn nang, hay nói cách khác số nang tham gia vào các sóng nang luôn ổn định. Sự khác biệt về số nang có xoang giữa trâu và bò có bản chất di truyền, do vậy với các công thức gây rụng nhiều trứng bằng hoóc-môn như hiện nay, thì việc triển khai cấy phôi để cải tạo con trâu là không khả thi. Điều này cũng gợi ý tầm quan trọng của việc tạo phôi *in vitro* đối với con trâu.

III. KẾT LUẬN

Quần thể nang nguyên thủy của buồng trứng trâu nhỏ hơn quần thể nang nguyên thủy của buồng trứng bò ngay ở giai đoạn hình thành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Le Van Ty et al.**, 1989: Anim. Reprod. Sci., 19: 171-178.
2. **Lê Văn Ty và cs.**, 1995: Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học: 186-194. Hà Nội.
3. **Abbel-Raouf and El Nagggar**, 1974: J. Reprod. Fert, 41: 478-483.
4. **Monniaux D. et al.**, 1983: Theriogenology, 19: 51-81.
5. **Erickson B. H.**, 1966: J. Anim. Sci., 25: 800-825.
6. **Le Van Ty et al.**, 1994: Anim. Reprod. Sci., 35: 191-199.

THE SIZE OF THE PRIMORDIAL FOLLICULAR POPULATION AND THE SUPEROVULATION RESPONSE IN BUFFALOES AND COWS

LE VAN TY, HOANG NGHIA SON, NGUYEN MONG HUNG

SUMMARY

28 ovaries of swamp buffalo foetus and 21 ovaries of local yellow cow foetus in Vietnam have been collected, fixed in Boin-Holland and analysed by routine histologic technique. The pool of primordial follicles of the ovaries have been determined and compared. The size of the pool of primordial follicles of the ovaries of buffaloes was smaller than that of the cows in every recorded foetal development periods.

That indicated the faible response of the superovulation in buffalo. It could be a consequence of poor population of the antral follicles due to small pool of primordial follicles.

Ngày nhận bài: 31-1-2007