

ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ CẤY CHUYỂN PHÔI BÒ SỮA CAO SẢN TẠI TÂY NGUYÊN

LÊ THỊ CHÂU, NGUYỄN THỊ PHƯƠNG MAI, HÀ THANH TÙNG

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

NGUYỄN ĐẮC CƯỜNG, TỔNG THỊ THƯƠNG

Công ty Cổ phần sữa Đà Lạt

QUẢN XUÂN HỮU, LÊ VĂN TY, NGUYỄN VĂN HẠNH

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

NGUYỄN HỮU ĐỨC

Học viện Nông nghiệp Việt Nam

HOÀNG NGHĨA SƠN

Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

CAO NGỌC MINH TRANG

Trường Đại học Văn Lang, TP Hồ Chí Minh

Những kết quả của đề tài “Ứng dụng công nghệ cấy chuyển phôi bò sữa cao sản tại Tây Nguyên” (mã số TN3/C02) thuộc Chương trình Tây Nguyên 3 đã góp phần nâng cao năng suất của toàn đàn bò sữa Tây Nguyên, hướng tới phát triển đàn bò sữa Việt Nam đến năm 2020 đạt 500.000 con. Công nghệ tạo phôi in vivo và cấy chuyển phôi của đề tài đã được chuyển giao thành công cho Công ty Cổ phần sữa Đà Lạt (Dalatmilk) để ứng dụng tại Lâm Đồng.

Mục tiêu của ngành nông nghiệp nước ta về phát triển đàn bò sữa là đến năm 2020 đạt 500.000 con. Tuy nhiên, theo số liệu thống kê của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, tính đến ngày 1.4.2014, số lượng bò sữa mới đạt khoảng 200.400 con. Vì vậy, cần có những giải pháp khác nhau để có thể đạt được mục tiêu trên, có thể kể đến như: lai tạo, nhập bò, cấy phôi, trong đó, cấy phôi là giải pháp đang được quan tâm. Với mục tiêu nhân nhanh đàn bò sữa cao sản, nâng cao chất lượng con giống bò sữa tại Tây Nguyên trên cơ sở ứng dụng công nghệ cấy chuyển phôi với đàn bò sữa hiện có tại Lâm Đồng và đào tạo, chuyển giao công nghệ cho địa phương, đề tài “Ứng dụng công nghệ cấy chuyển phôi bò sữa cao sản tại Tây Nguyên” (mã số TN3/C02) thuộc Chương trình Tây Nguyên 3 đã được triển khai tại Tây Nguyên từ tháng 10.2011. Đến nay, đề tài đã kết thúc và đạt được những kết quả đáng ghi nhận. Sau đây là một số kết quả nổi bật của đề tài.

Tạo phôi in vivo

Đánh giá trạng thái buồng trứng

Bằng 2 phương pháp đánh giá trạng thái buồng trứng là khám qua trực tràng và siêu âm, đã ước tính được số lượng nang >10 mm đáng tin cậy với những buồng trứng có 1-4 nang. Kết quả cho thấy, có sự thay đổi về kích thước trong ngày ($p < 0,05$) trong số các nang 1-3 mm, có sự thay đổi kích thước tối đa của nang được chọn ($p < 0,05$) 1 hoặc 2 ngày trước khi xuất hiện sóng mới, sau 3-4 ngày nang chi phối đầu tiên được phát hiện có kích thước 6 mm, lúc các nang 3-4 mm đạt số lượng tối đa ($p < 0,05$). Việc ứng dụng siêu âm đánh giá trạng thái buồng trứng bò cho phôi trước khi xử lý siêu bài noãn đã cho hiệu quả tốt rõ rệt so với việc xử lý ngẫu nhiên các bò cho phôi.

Gây siêu bài hoãn với FSH và PMSG

Bảng 1: Kết quả gây siêu bài hoãn với hoóc môn sinh sản FSH và huyết thanh ngựa PMSG

Các thông số	PMSG (IU)		FSH (mg)
Liều (n)	2000	3000	50 (50 AU)
Số bò (n)	3	3	23
Số thể vàng (n, SSTĐ)	5,2 ± 1,0	9,7 ± 2,1	11,1
Số phôi thu được (n)	3	4,3	5,5
Số phôi có thể cấy chuyển (n)	2,7	3,0	4,2

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, xử lý với FSH cho kết quả cao hơn so với xử lý PMSG, tránh được hiện tượng làm phì đại buồng trứng. Đây là cách tốt nhất để bảo vệ tài nguyên buồng trứng các bò kỷ lục cũng như giúp cho việc tái sử dụng bò cho phôi có thể tiến hành sau khoảng 30 ngày kế tiếp.

Cải tiến quy trình gây siêu bài hoãn có bổ sung GnRH

Phương pháp gây siêu bài hoãn bổ sung hoóc môn sinh sản GnRH cho tỷ lệ phôi cao nhất, đạt 8,1 phôi/lần thu với số phôi có thể cấy chuyển đạt 6,8 phôi (83,4%).

Bảng 2: đánh giá ảnh hưởng của mùa vụ

Chỉ tiêu theo dõi	Mùa khô	Mùa mưa
Số bò xử lý (n)	7	8
Số bò có biểu hiện động dục (n, %)	7 (100)	8 (100)
Số bò có rụng trứng (tỷ lệ %)	85,7	100
Số thể vàng (n, SSTĐ)	14,5 ± 4,2	13,63 ± 5,6
Số trứng/phôi (n, SSTĐ)	8,3 ± 2,7	8,0 ± 2,2
Phôi có thể cấy chuyển (n, %)	7,3 ± 2,0 (83,6 ± 16,1)	6,8 ± 1,8 (81,4 ± 21,3)

Bảng 2 cho thấy, mùa vụ không ảnh hưởng đến kết quả gây siêu bài hoãn trên bò sữa, thể hiện ở số phôi trung bình thu được trong mùa khô và mùa mưa không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (8,3 so với 8,0 phôi).

Tạo phôi in vitro

Môi trường nuôi phôi được sử dụng là: TC199, 10% FCS và TC199, 10% FCS + tế bào biểu mô ống

dẫn trứng (với nguồn trứng thu từ lò mổ); CR1aa, 5% FCS và môi trường CR1aa, 5% FCS + tế bào cumulus (với nguồn trứng thu bằng kỹ thuật OPU) (bảng 3).

Bảng 3: ảnh hưởng của môi trường nuôi phôi với tỷ lệ phát triển phôi

Môi trường nuôi phôi	Số trứng xử lý (n)	Phôi 2-4 tế bào (%)	Phôi 4-8 tế bào (%)	Phôi đầu - Phôi nang (%)
TC199, 10% FCS	245	69,39 (170/245)	38,0 (93/245)	6,5 (16/245)
TC199, 10% FCS + tế bào biểu mô ống dẫn trứng	236	70,34 (166/236)	37,7 (89/236)	11,4 (27/236)
CR1aa, 5% FCS	42 (OPU)	54,8 (23/42)	35,7 (15/42)	7,1 (3/42)
CR1aa, 5% FCS + tế bào cumulus	38 (OPU)	57,9 (22/38)	50,0 (19/38)	10,5 (4/38)

Nuôi phôi thụ tinh *in vitro* kết hợp với đơn lớp tế bào cumulus, tế bào ống dẫn trứng bò cải thiện tỷ lệ phôi phát triển đến giai đoạn phôi nang, đạt 10,5% so với 7,1% trong lô có và không có tế bào cumulus và 11,4% so với 6,5% trong lô có và không có tế bào ống dẫn trứng.

Bảo quản phôi bằng đông lạnh

Dùng 2 phương pháp bảo quản phôi bằng đông lạnh, đó là đông lạnh chậm và đông lạnh cực nhanh dựa trên kỹ thuật thủy tinh hóa cải tiến (*vitrification*) với môi trường đông lạnh có nồng độ cao các hợp chất chống đông (Glycerol, Ethylene Glycol, Sucrose). Kết quả cho thấy, cả 2 phương pháp đều có thể bảo quản phôi tốt, tuy nhiên phương pháp đông lạnh cực nhanh dựa trên kỹ thuật thủy tinh hóa cải tiến để áp dụng khi đi triển khai ngoài thực địa.

Kết quả thử nghiệm môi trường nuôi phôi cho thấy, không có sự khác nhau nhiều về tỷ lệ phôi có thể cấy chuyển giữa hai lô phôi xử lý qua môi trường đông lạnh Glycerol và Ethylene glycol (đạt 91,67% và 90,3%); không có sự khác nhau về các chỉ số theo dõi giữa hai lô phôi xử lý bằng tổ hợp Glycerol + 0,2M sucrose và Ethylene glycol + 0,2M sucrose.

Kết quả cấy phôi bò

Kết quả đánh giá 2 quy trình gây động dục CIDR-PGF2a và PGF2a-GnRH cho thấy, không có sự khác nhau về các chỉ số như tỷ lệ động dục, tỷ lệ rụng trứng và tỷ lệ đậu thai giữa hai quy trình này.

Cấy phôi bò HF vào bò lai, bò vàng: qua theo dõi thấy không có sự sai khác nhiều giữa bò HF và bò vàng. Tuy nhiên, giống bò vàng có tỷ lệ biểu hiện động dục sớm hơn so với bò HF khi xử lý gây động dục đồng loạt đạt cao nhất (52,38%) ở 48 giờ sau tiêm, trong khi bò HF đạt tỷ lệ cao nhất (51,52%) ở 72 giờ sau tiêm, nhưng tỷ lệ chung biểu hiện không có sự sai khác đáng kể giữa hai nhóm.



Bê HF sinh ra từ bò lai, bò vàng

Cấy phôi giới tính tạo bê cái: sau khi tạo được phôi giới tính, thực hiện quy trình cấy phôi giống với phôi thường, bê giới tính sinh ra phát triển bình thường.



Bê HF cái sinh ra từ cấy phôi bò HF 669 được thụ tinh với tinh bò giới tính

Kiểm tra năng suất, chất lượng của bò, bê cấy phôi

Kết quả phân tích tương quan di truyền giữa kiểu gen PIT-1E2 và PIT-1E6 với năng suất sữa cho thấy, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các cá thể mang các kiểu gen khác nhau với tính trạng năng suất sữa ($p < 0,05$), trong đó bò có kiểu gen AA cho năng suất sữa cao nhất, hai kiểu gen AB và BB có năng suất sữa thấp hơn (bảng 4). Kết quả nghiên cứu này cho thấy tiềm năng sử dụng đa hình PIT-1E2 trong chọn giống bò có năng suất cao ở tính trạng sản lượng sữa. Từ nghiên cứu này cũng cho thấy, chọn các bò cho phôi có năng suất sữa cao,

chất lượng sữa tốt và có đa hình AA của gen PIT-1E2 đảm bảo các bê cấy phôi cho năng suất cao. Mặt khác, phân tích PCR-RFLP các mẫu da tai của bê mới sinh cũng có thể chọn ra các bê mang PIT-1E2 có đa hình AA để phát triển cho đàn hậu bị cho năng suất cao, bán hoặc chuyển ra vùng ngoại vi những bê có đa hình AB hoặc BB.

Bảng 4: mối tương quan giữa kiểu gen của PIT-1 với năng suất sữa

Gen	Kiểu gen	Số lượng (n)	Năng suất sữa (lít/ngày) (Mean $\pm$ SD)	Giá trị p	p
PIT-1E2 (n = 106)	AA	48	17,5 $\pm$ 2,95	0,037	0,28
	AB	30	15,1 $\pm$ 3,56		
	BB	28	15,7 $\pm$ 2,16		
PIT-1E6 (n = 112)	TT	4	16,4 $\pm$ 1,58	0,977	0,001
	TG	28	16,5 $\pm$ 2,83		
	GG	80	16,7 $\pm$ 2,96		

Kết luận

Qua hơn 3 năm thực hiện, đề tài đã thành công trong việc tạo phôi từ bò sữa cao sản HF bằng kỹ thuật gây siêu bài noãn và cấy chuyển phôi bò HF vào bò vàng, bò lai, tạo bò HF cấy phôi cao sản giá rẻ, cấy phôi giới tính sản xuất bê HF cái cao sản, góp phần quan trọng nâng cao năng suất của toàn đàn bò sữa Tây Nguyên. Thông qua thực hiện đề tài, đã áp dụng kỹ thuật chủ động gây động dục cho bò sữa, bò thịt để chủ động dẫn tinh và rút ngắn khoảng cách giữa hai lần đẻ, tăng hiệu quả sử dụng đàn bò nền cũng như hiệu quả chăn nuôi bò sữa, bò thịt. Đề tài đã dùng chỉ thị phân tử PIT-E2 để chọn đàn bò cho phôi cao sản, phân loại đàn bê HF hậu bị, qua đó giảm được chi phí đầu tư cho đàn bê kém chất lượng. Công nghệ tạo phôi in vivo và cấy chuyển phôi của đề tài đã được chuyển giao thành công cho Công ty Cổ phần sữa Đà Lạt (Dalatmilk) để ứng dụng tại Lâm Đồng.