



ISO 9001 : 2008

TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH
HỘI ĐỒNG KHOA HỌC

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP TRƯỜNG

**ẢNH HƯỞNG CỦA LÁ KHOAI MÌ (*Manihot*
Esculenta Crantz) TRONG KHẨU PHẦN LÊN
TỈ LỆ TIÊU HÓA VÀ SINH KHÍ MÊ TAN
TRÊN BÒ LAI SIND**

Chủ nhiệm đề tài : ThS. TRƯƠNG VĂN HIỂU
Chức vụ : GIÁM ĐỐC
**Đơn vị : Trung tâm Nghiên cứu Thích ứng Biến đổi
khí hậu và Hỗ trợ Phát triển Cộng đồng.**

Trà Vinh, ngày 09 tháng 03 năm 2014



ISO 9001 : 2008

TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH
HỘI ĐỒNG KHOA HỌC

BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP TRƯỜNG

**ẢNH HƯỞNG CỦA LÁ KHOAI MÌ (*Manihot*
Esculenta Crantz) TRONG KHẤU PHẦN LÊN
TỈ LỆ TIÊU HÓA VÀ SINH KHÍ MÊ TAN
TRÊN BÒ LAI SIND**

Xác nhận của cơ quan chủ quản

Chủ nhiệm đề tài

Trương Văn Hiếu

Trà Vinh, ngày 09 tháng 03 năm 2014

TÓM LƯỢC

Thí nghiệm in vitro được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 4 nghiệm thức và 5 lần lặp lại. Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức (LMK-0, LMK-10, LMK-20 và LMK-30) là 4 mức độ bổ sung LMK (0, 10; 20 và 30%) trong khẩu phần thức ăn cỏ voi. Kết quả tỉ lệ tiêu hóa chất OM cao nhất tại thời điểm 72h của ở nghiệm thức LMK-10 là 55,8%, kể đến LMK-0 là 55,4%, LMK-20 là 54,6% và thấp nhất LMK-30 là 51,6. Khí mê tan sinh ra (ml/g OM) của các nghiệm thức giảm dần theo mức độ bổ sung LMK trong khẩu phần, sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$); cao nhất ở nghiệm thức LMK-0 là 40,5 ml, kể đến LMK-10 là 39,8 ml và thấp nhất LMK-20 là 36,9 ml và LMK-30 là 36,6 ml.

Thí nghiệm in vivo được bố trí theo thể thức hình vuông latin (4 x 4) với 04 nghiệm thức, 4 giai đoạn và 4 con bò cái lai Sind, có trọng lượng trung bình là 140 ± 5 kg. Mỗi giai đoạn thí nghiệm gồm 21 ngày, với 14 ngày nuôi thí nghi và 7 ngày lấy mẫu. Thí nghiệm bổ sung LMK (0, 10, 20 và 30%) trong khẩu phần cỏ voi tương ứng là LMK-0, LMK-10, LMK-20 và LMK-30. Kết quả lượng thức ăn ăn vào và tỉ lệ tiêu hóa DM, OM, CP, NDF ở các nghiệm thức tăng dần theo mức độ bổ sung LMK trong khẩu phần, cao nhất ở nghiệm thức LMK-20 và LMK-30; sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Sự phát thải khí mê tan (lít/ngày) và (lít/kg DMI; OMI) của các nghiệm thức giảm dần theo mức độ bổ sung LMK trong khẩu phần, sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Khí mê tan phát thải trên bò tính theo (lít/kg OMI) cao nhất ở nghiệm thức LMK-0 là 38,34 lít, kể đến LMK-10 là 34,40 lít, nhưng thấp nhất LMK-20 là 28,86 lít và LMK-30 là 29,28 lít. Vậy bổ sung LMK 20% trong khẩu phần là tối ưu, không ảnh hưởng đến lượng thức ăn ăn vào, tỉ lệ tiêu hóa DM, OM và giảm phát thải khí mê tan sinh ra.

Từ khóa: lá mì, con bò, tỉ lệ tiêu hóa, khí mê tan.

MỤC LỤC

Phần mở đầu.....	1
1. Tính cấp thiết của đề tài	1
2. Mục tiêu đề tài.....	1
3. Nội dung thực hiện	2
4. Phương pháp nghiên cứu.....	2
Nội dung I: Ảnh hưởng của lá khoai mì trong khẩu phần cỏ voi lên tỉ lệ tiêu hoá và sự sinh khí CH ₄ bằng phương pháp <i>in vitro</i>	3
Chương 1: Tổng quan tài liệu	3
1.1 Xác định tỉ lệ tiêu hóa bằng phương pháp <i>in vitro</i>	3
1.1.1 Mô tả chung	3
1.1.2 Nguyên lý sinh khí.....	3
1.1.3 Phương pháp <i>in vitro</i> sinh khí	4
1.1.4 Vai trò của phương pháp <i>in vitro</i> sinh khí.....	4
1.1.5 Dự đoán tỉ lệ tiêu hóa thức ăn.....	4
1.1.6 Dự đoán khí mê tan thải ra bằng phương pháp sinh khí <i>in vitro</i>	5
1.2. Một số thực liệu thức ăn dùng trong thí nghiệm	5
1.2.1 Cỏ Voi.....	5
1.2.2 Bột lá khoa mì.....	5
1.3. Một số kết quả nghiên cứu trên <i>in vitro</i>	6
Chương 2: Ảnh hưởng của lá khoai mì trong khẩu phần cỏ voi lên tỉ lệ tiêu hoá và sự sinh khí CH ₄ bằng phương pháp <i>in vitro</i>	8
2.1 Mục đích nghiên cứu.....	8
2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu.....	8
2.3. Kết quả nghiên cứu.....	11
2.3.1 Tỉ lệ tiêu hóa vật chất khô và chất hữu cơ trên <i>in vitro</i>	11
2.3.2 Sự sinh khí mê tan trên <i>in vitro</i>	12
2.4 Kết luận	13
Nội dung II: ảnh hưởng của lá khoai mì trong khẩu phần cỏ voi lên tỉ lệ tiêu hoá và sự sinh khí CH ₄ trên bò lai Sind	14
Chương 1: Tổng quan tài liệu	14
1.1 Sơ lược về cây khoai mì	14
1.2 Sự sinh khí mê tan trong dạ cỏ	15

1.3 Một số nghiên cứu về giảm phát thải khí mê tan trên gia súc	16
1.4 Một số nghiên cứu sử dụng lá khoai mì lên tỉ lệ tiêu hóa trên gia súc.....	18
Chương 2: Ảnh hưởng của lá khoai mì trong khẩu phần cỏ voi lên tỉ lệ tiêu hoá và sự sinh khí CH_4 trên bò lai Sind	19
2.1. Mục đích nghiên cứu	19
2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu	19
2.3. Kết quả nghiên cứu.....	22
2.3.1 Lượng thức ăn, dưỡng chất ăn vào trên bò của các nghiệm thức	22
2.3.2 Tỉ lệ tiêu hóa dưỡng chất thức ăn trên bò của các nghiệm thức	24
2.3.3 Ảnh hưởng của LKM khô lên sự sinh khí mê tan trên bò	26
2.4. Kết luận	27
Tài liệu tham khảo.....	28
Phụ chương	33

DANH MỤC BẢNG

Bảng	Tựa bảng	Trang
1	Xơ trung tính (NDF), tannin tổng số (TT), nồng độ khí CH ₄ và tiềm năng giảm sinh khí CH ₄ (MRP) trên một số cây thực vật	6
2	Thành phần hóa học của cỏ voi, LM khô dùng trong thí nghiệm <i>in vitro</i> (DM, %)	8
3	Ảnh hưởng của lá khoai mì khô lên tỉ tiêu hóa trên <i>in vitro</i>	11
4	Ảnh hưởng của LKM khô trong khẩu phần lên sự sinh khí mê tan trên <i>in vitro</i>	12
5	Thành phần hóa học của thức ăn sử dụng trong thí nghiệm <i>in vivo</i> (%DM)	19
6	Sơ đồ bố trí bò thí nghiệm	20
7	Thức ăn và dưỡng chất trong khẩu phần thí nghiệm dự kiến (% DM)	20
8	Lượng thức ăn, dưỡng chất ăn vào (kgDM/con/ngày) trên bò của các nghiệm thức	22
9	Tỉ lệ tiêu hóa dưỡng chất thức ăn (%) trên bò của các nghiệm thức	24
10	Sự sinh khí mê tan trên bò của các nghiệm thức	26

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Chữ viết đầy đủ
CPI	Protein thô ăn vào
DMI	Vật chất khô ăn vào
LM	Lá khoai mì
LMK	Lá khoai mì khô
LW	Khối lượng gia súc
MEI	Năng lượng trao đổi ăn vào
NDFI	Xơ trung tính ăn vào
OMI	Chất hữu cơ ăn vào

PHẦN MỞ ĐẦU

1. TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI

Theo Tổng cục thống kê đàn bò đồng bằng sông Cửu Long năm 2012 là 665.700 con trong đó tỉnh Trà Vinh có số lượng đàn bò là 131.3900 con, tăng 919 con so với năm 2012; do giá thịt bò năm 2013 tăng người chăn nuôi mua bò nuôi nhiều. Chăn nuôi bò cung cấp lượng thịt, sữa đáp ứng nhu cầu con người. Tuy nhiên con bò cũng thải ra môi trường lượng khí CO₂, CH₄ rất lớn góp phần gây hiệu ứng nhà kính. Vũ Duy Giảng và ctv (2008) gia súc nhai lại đóng góp 15-20% tổng lượng khí mê tan sinh ra trên trái đất từ lên men trong dạ cỏ và phân. Vì vậy việc xây dựng khẩu phần nuôi dưỡng mới, đây là vấn đề cần quan tâm nghiên cứu nhằm hạn chế các khí thải này.

Một số nghiên cứu ở Cannada, Úc, Mỹ trên khẩu phần ăn của bò làm giảm phát thải khí CH₄ như: bổ sung chất ion hóa, mỡ, tannin, cỏ chất lượng cao và thức ăn hạt ngũ cốc. Khi bổ sung tannin với mức độ 25,2 g/kg vật chất khô vào khẩu phần ăn của cừu làm giảm 13 % khí metan (CH₄) so với nghiệm thức đối chứng (Carulla, 2005). Theo Cuzin & Labat (1992) đã chứng minh rằng có thể ngăn chặn hoạt động lên men của vi sinh vật sinh khí CH₄ ở dạ cỏ bằng cyanur ở liều lượng 6mg/lít dịch dạ cỏ. Điều này có thể cho thấy rằng việc nghiên cứu sử dụng lá mì có thể ngăn cản hoạt động sinh khí mê tan trên gia súc nhai lại và tăng năng suất. Xuất phát từ vấn đề trên chúng tôi thực hiện đề tài “*Ảnh hưởng của lá khoai mì (Manihot esculenta Crantz) trong khẩu phần lên tỉ lệ tiêu hóa và sinh khí mê tan trên bò lai Sind*”.

2. MỤC TIÊU CỦA ĐỀ TÀI

- Xác định ảnh hưởng của lá khoai mì trong khẩu phần lên tỉ lệ tiêu hoá thức ăn và sự sinh khí CH₄ bằng phương pháp *in vitro*.
- Xác định ảnh hưởng của lá khoai mì trong khẩu phần lên tỉ lệ tiêu hoá thức ăn và sự sinh khí CH₄ trên bò lai Sind.

3. NỘI DUNG THỰC HIỆN

- Xây dựng khẩu phần thí nghiệm: xác định thành phần dinh dưỡng của thức ăn thí nghiệm, công thức khẩu phần thí nghiệm.
- Xác định tỉ lệ tiêu hóa thức ăn và sự sinh khí CH₄ của khẩu phần thí nghiệm bằng phương pháp *in vitro* sinh khí.
- Thực hiện thí nghiệm nuôi dưỡng trên bò lai Sind nhằm xác định tỉ lệ tiêu hóa thức ăn và đo khí CH₄ bò thải ra môi trường.
- Thu thập và phân tích số liệu thí nghiệm.
- Hội thảo chuyên đề nuôi bò và sự phát thải khí CH₄ ra môi trường.

4. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Phương pháp phân tích thành phần dinh dưỡng thức ăn, phân bò theo phương pháp AOAC (1990) và xơ trung tính (NDF) theo phương pháp của Goering and Van Soest (1970).

- Xác định lượng khí sinh ra CH_4 của khẩu phần thí nghiệm bằng phương pháp *in vitro* sinh khí theo Menke et al. (1979). Theo đề nghị của Thu and Udén (2003), sau khi ủ mẫu tiến hành phân tích lại vật chất khô để tính tỉ lệ tiêu hóa.

- Xác định tỉ lệ tiêu hóa dưỡng chất các thí nghiệm trên bò được mô tả chung nhất theo phương pháp của McDonald *et al.* (2002).

- Phương pháp thu mẫu và đo khí CH_4 thí nghiệm *in vitro* gas production theo mô của Soliva and Hess (2007).

- Đo khí CH_4 : Đo nồng độ khí CH_4 sinh ra bằng máy Gasmeter DX 4030 dựa theo nguyên tắc mô tả chung của (Mc Ginn *et al.*, 2004). Mỗi con bò được nuôi nhốt trong buồng đo khí CH_4 kín có thể tích 1,5m x 3,0m x 2,5 m. Mỗi buồng đo khí có đường ống dẫn không khí vào trong và một đường ống dẫn khí ra ngoài khỏi buồng đo khí. Tại đường ống dẫn không khí ra, có lắp đặt thiết bị đo lưu lượng không khí đi ra và đo nồng độ khí CH_4 .

PHẦN NỘI DUNG

NỘI DUNG 1: ẢNH HƯỞNG CỦA LÁ KHOAI MÌ TRONG KHẨU PHẦN CỎ VOI LÊN TỈ LỆ TIÊU HOÁ VÀ SỰ SINH KHÍ CH₄ BẰNG PHƯƠNG PHÁP *IN VITRO*

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1 XÁC ĐỊNH TỈ LỆ TIÊU HÓA BẰNG PHƯƠNG PHÁP *IN VITRO*

Phương pháp *in vitro* sinh khí ra đời dựa trên nền tảng của *in vitro* Tilley & Terry (1963), sự tiêu hóa vi sinh vật dạ cỏ có thể quan sát được trong điều kiện ống nghiệm dưới sự tham gia của vi sinh vật dạ cỏ trong môi trường nước bọt nhân tạo của McDougall (1948). Kết quả của sự lên men này có thể được quan sát ở phương pháp *in vitro* sinh khí của Menke *et al.*, (1979).

1.1.1 Mô tả chung

Nguyên lý hoạt động của *in vitro* sinh khí cũng tương tự như phương pháp *in vitro* Tilley & Terry (1963). Thức ăn được ủ trong môi trường dịch dạ cỏ có chất đệm yếm khí ở 39°C, sẽ được tiêu hóa bởi vi sinh vật dạ cỏ. Sau khi bắt đầu ủ, thức ăn được tiêu hóa sinh ra các acid béo bay hơi (ABBH) và một lượng khí là CO₂, CH₄, H₂. ABBH giải phóng kích thích chất đệm sinh khí và đo lường được trong hệ thống *in vitro* sinh khí.

Lượng khí sinh ra trong hệ thống sinh khí *in vitro* có thể được ghi nhận qua một hay nhiều thời điểm khác nhau. Sự sinh khí này được xem như là sản phẩm hoạt động tiêu hóa thức ăn của vi sinh vật dạ cỏ và phản ánh được khả năng tiêu hóa của mỗi loại thức ăn.

1.1.2 Nguyên lý sinh khí

Khi thức ăn được ủ với dịch dạ cỏ trong môi trường *in vitro* sinh khí, vi sinh vật sẽ lên men thức ăn thành các acid béo bay hơi, chất khí CO₂, CH₄, H₂ và tế bào vi sinh vật. Trong môi trường *in vitro* sinh khí có chất đệm bicarbonate, khi acid béo bay hơi sinh ra lập tức CO₂ được giải phóng để ổn định pH. Như vậy, lượng khí sinh ra trong hệ thống *in vitro* sinh khí bao gồm khí sinh ra trực tiếp từ sự lên men là CO₂, CH₄, H₂ và khí sinh ra gián tiếp từ sự lên men là CO₂. Đối với thức ăn thô, khoảng 50% khí sinh ra từ chất đệm và phần còn lại là lượng khí sinh ra trực tiếp từ quá trình lên men (Blummel & Orskov, 1993).

Đặc biệt lượng khí sinh ra có mối tương quan cao với ABBH và từ đó người ta xem lượng khí sinh ra như là một chỉ thị để đo lường sản phẩm sinh ra từ quá trình lên men trong kỹ thuật *in vitro* sinh khí (Blummel & Orskov, 1993). Lượng khí sinh ra còn phụ thuộc vào thành phần dưỡng chất của thức ăn, thức ăn chứa nhiều carbohydrate có lượng khí sinh ra cao. Trong khi sự lên men của chất đạm giải

phóng khí chỉ với lượng nhỏ, còn khí sinh ra từ sự lên men chất béo thì không đáng kể (Makkar, 2003).

1.1.3 Phương pháp *in vitro* sinh khí

Đo lượng khí sinh ra trong quá trình tiêu hoá thức ăn *in vitro* gọi là kỹ thuật *in vitro* sinh khí, nó được chuẩn hoá và đề xuất ở Đức (Menke *et al.*, 1979). Trong phương pháp của Menke *et al.* (1979) và Menke & Steingass (1988) quá trình lên men được thực hiện trong ống tiêm thủy tinh 100 ml có chứa thức ăn gia súc, dịch dạ cỏ và dung dịch đệm. Khí được sản sinh ra khi ủ trong điều kiện yếm khí 200 mg vật chất khô thức ăn với 20 ml dung dịch ủ và 10 ml dịch dạ cỏ, ủ ở nhiệt độ 38°C, sau khi ủ 24 giờ.

Cải tiến phương pháp *in vitro* gas production: Phương pháp của Menke *et al.* (1979) đã được sửa đổi bởi Blummel & Orskov (1993) trong thức ăn đó được ủ trong water bath thay vì trong rotor điện. Makkar *et al.* (1995) và Blummel *et al.* (1997) thay đổi phương pháp bằng cách tăng khối lượng của mẫu 200-500 mg và tăng số lượng của dung dịch đệm hai lần. Theo Gerson *et al.* (1987), kích thước mẫu nghiền phù hợp 1-2 mm.

1.1.4 Vai trò của phương pháp *in vitro* sinh khí

Phương pháp *in vitro* sinh khí đã được sử dụng rộng rãi để ước lượng giá trị dinh dưỡng thức ăn. Phương pháp *in vitro* sinh khí được sử dụng để dự đoán nhiều chỉ tiêu khác nhau trong đánh giá thức ăn. Menke *et al.*, (1979) lần đầu tiên đề xuất và sử dụng *in vitro* sinh khí để dự đoán tỉ lệ tiêu hóa *in vitro* và năng lượng trao đổi (ME). Gần đây hơn người ta quan tâm nhiều đến hiệu quả sử dụng thức ăn thô cho gia súc. Cho nên kỹ thuật *in vitro* sinh khí được nghiên cứu để ứng dụng trong việc xác định động lực tiêu hóa thức ăn với ưu điểm nhanh và tiện nghi hơn. Tham số quan trọng hơn cả để diễn tả khả năng sử dụng thức ăn là mức tiêu thụ thức ăn, tham số này cũng có thể được dự đoán từ *in vitro* sinh khí (Getachew *et al.*, 1998). Phương pháp *in vitro* sinh khí còn được dùng để dự đoán các chất khoáng dưỡng có trong thức ăn (Makkar, 2003). Dựa vào kết quả lượng khí sinh ra có mối liên hệ rất gần với acid béo bay hơi, người ta thiết lập được phương trình hồi quy để dự đoán lượng acid béo bay hơi trong dạ cỏ (Blummel *et al.*, 1999).

Nhìn chung phương pháp *in vitro* sinh khí như là một công cụ hữu hiệu để dự đoán các chỉ số dinh dưỡng thức ăn gia súc nhai lại, phương pháp này dự đoán được nhiều tham số phản ánh được giá trị dinh dưỡng của các loại thức ăn khác nhau.

1.1.5 Dự đoán tỉ lệ tiêu hóa thức ăn

Việc dự đoán tỉ lệ tiêu hóa thức ăn từ thành phần hóa học thông qua các hàm hồi qui trước đây đã được sử dụng rộng rãi. Sau đó có nhiều phương pháp phân tích khác được ra đời như tỉ lệ tiêu hóa *in vitro*, *in situ*, *vi vitro* sinh khí... các phương pháp này đã được đánh giá và phân tích trong nhiều báo cáo khoa học và cho thấy

chúng dự đoán được các tham số trên thí nghiệm *in vitro* xác thực hơn phương pháp phân tích hóa học (López et al., 2000).

Đặc biệt phương pháp *in vitro* sinh khí của Menke et al., (1979) rất hữu hiệu trong việc dự đoán tỉ lệ tiêu hóa thức ăn (Makkar, 2003).

1.1.6 Dự đoán khí mê tan thải ra bằng phương pháp *in vitro* sinh khí

Trong quá trình tiêu hóa thức ăn trong dạ cỏ, ngoài các sản phẩm chính tạo ra là các acid béo bay hơi và protein vi sinh vật có vai trò cung cấp năng lượng và đạm cho gia súc còn tạo ra thêm một số sản phẩm phụ khác như CO₂, CH₄, H₂... Trong đó đáng lưu ý nhất là khí CH₄, nó làm ô nhiễm môi trường khi được bài thải ra ngoài qua sự ợ hơi. Người ta ước lượng thấy rằng sự bài thải mê tan trong tiêu hóa loài nhai lại đã làm tổn thất 2-12 % năng lượng của thức ăn (Wilkerson *et al.*, 1995). Trong truyền thống, sự bài thải mê tan từ gia súc nhai lại được xác định từ trong điều kiện thú sống, điều này đã làm tốn nhiều kinh phí trong đánh giá.

Trong một trắc nghiệm gần đây, Getachew *et al.* (2005) thấy rằng *in vitro* sinh khí có thể dùng để xác định khí mê tan thải ra từ sự tiêu hóa. Trên thực tế đã có một số nghiên cứu sử dụng *in vitro* sinh khí để dự đoán mê tan trong quá trình tiêu hóa thức ăn của vi sinh vật dạ cỏ để đưa ra các chiến lược làm giảm khí mê tan và cho kết quả rất tiềm năng.

1.2. MỘT SỐ THỰC LIỆU THỨC ĂN DÙNG TRONG THÍ NGHIỆM

1.2.1 Cỏ Voi

Theo Viện Chăn nuôi (2000), protein thô của cỏ voi là 8,1%, xơ thô là 33,72% và khoáng tổng số 10,2%. Tương tự, tài liệu của Vũ Duy Giảng *et al.* (2008), cỏ voi có năng suất chất xanh 100-300 tấn/ha/năm. Protein đạt 10% sau 6 tuần tái sinh, tỉ lệ tiêu hóa *in vitro* của lá cỏ là 68-78%, giá trị NDF là 63%.

1.2.2 Bột lá khoa mì

Bột LMK: có protein thô 22,8%, xơ thô 15,5, khoáng tổng số 7,9% (Viện Chăn nuôi, 1995). Kết quả này thấp hơn nghiên cứu của Wanapat (1997) protein thô LM 25%, tỉ lệ tiêu hóa vật chất khô 71%, lá mì khô ăn tự do 3,1% khối lượng bò. Theo khuyến cáo của Vũ Duy Giảng *et al.* (2008), ngọn LM có protein thô 18-20%, tuy nhiên có chứa độc tố cyanoglucoside làm gia súc chậm lớn, có thể chết khi ăn nhiều. Ủ chua LM làm giảm đáng kể hàm lượng HCN và khuyến cáo sử dụng ở mức 10-20% DM trong khẩu phần nuôi gia súc.

1.3. MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU TRÊN *IN VITRO*

Theo Đoàn Đức Vũ *et al.* (2000), tỉ lệ tiêu hóa vật chất khô bằng *in sacco* trên bò của cỏ voi tại thời điểm 24h là 42,69%. Tiếp theo, nghiên cứu của Bùi Quang Tuấn (2005), khảo sát ảnh hưởng của tuổi thu hoạch cỏ lên tỉ lệ tiêu hóa bằng phương pháp *in vitro*. Cỏ voi 40 ngày tuổi, có protein thô là 11,85%, có tỉ lệ tiêu

hóa (%) chất hữu cơ bằng phương pháp *in vitro* tại thời điểm 24h là 43,91%. Tương tự, nghiên cứu của Lê Hoa & Bùi Quang Tuấn (2009) protein thô của cỏ voi là 9,8% và tỉ lệ tiêu hóa vật chất khô ở *in vitro* cỏ voi là 53,2%. Kết quả trên thấp hơn so với nghiên cứu của Babayemi (2007), protein thô của cỏ voi là 11,4%. Tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ bằng phương pháp *in vitro* sinh khí của cỏ voi là 66,68% và thể tích khí mê tan (ml/200 mg DM) là 18 ml.

Nghiên cứu của Hồ Quảng Đồ *et al.* (2012) trên LMK bằng phương pháp *in vitro* cho kết quả nồng độ khí CH₄ (%) và thể tích khí CH₄ (ml) tại thời điểm 24h lần lượt là 18,4% và 43,5 ml/g DM.

Trong nghiên cứu của Jayanegara *et al.* (2009) khảo sát ảnh hưởng của tannin trong một số cây thực vật lên sự sinh khí CH₄ ở *in vitro* tại thời điểm 24h, được trình bày qua bảng sau:

Bảng 1: Xơ trung tính (NDF), tannin tổng số (TT), nồng độ khí CH₄ và tiềm năng giảm sinh khí CH₄ (MRP) trên một số cây thực vật

Thực liệu	NDF, g/kg DM	TT, g/kg DM	CH ₄ , %	MRP, %
<i>Tanacetum vulgare</i>	462,3	5,7	15,8	15,1
<i>Salix alba</i>	322	35,5	12,5	12,1
<i>Peltiphyllum peltatum</i>	191	146,8	5,7	60,0
<i>Rhenum undulatum</i>	227,7	55,7	0	100
<i>Serratula centauroides</i>	625,8	46,0	18,6	0

Ghi chú: Tiềm năng giảm sinh khí CH₄ (MRP) so với khẩu phần đối chứng 100% cỏ khô

Qua bảng 1 cho thấy chất tannin của một số cây trong thực vật làm giảm sự sinh khí CH₄, tuy nhiên chất tannin trong một số cây thực vật không ảnh hưởng đến sự sinh CH₄. Tương tự, trong nghiên cứu của Hess *et al.* (2003) trên thí nghiệm *in vitro* cho thấy bổ sung 100 mg/g từ vỏ trái cây *Sapindus saponaria* chứa chất tannin thô 120mg/g. Kết quả bổ sung chất tannin không làm ảnh hưởng đến số lượng vi khuẩn tổng số và vi khuẩn sinh khí CH₄, nhưng làm giảm số lượng protozoa và giảm phát thải khí CH₄.

Tương tự, nghiên cứu của Sangkhom *et al.* (2011), thực hiện thí nghiệm *in vitro* xác định thể tích khí CH₄ (ml/g DM) sinh ra tại thời điểm 48 h của bột LMK là 65,8 ml tương đương với bột lá cây *Mimosa pigra* (66,5 ml).

Những nghiên cứu trên *in vitro* cho thấy HCN trong LM không ảnh hưởng đến sự sinh khí CH₄. Trong nghiên cứu của Cuzin & Labat (1992) mô phỏng sự tiêu hóa của dạ cỏ tại phòng thí nghiệm cho thấy, khi bổ sung vỏ khoai mì vào dạ cỏ thì vi sinh vật lên men làm phóng thích HCN vào dịch dạ cỏ, do vỏ khoai mì chứa enzyme thủy phân linamarin phóng thích HCN và đồng thời phóng thích enzyme β-cyanoalanine nhằm duy trì nồng độ HCN trong dịch dạ cỏ không ảnh hưởng đến vi sinh vật sinh khí CH₄. Khi bổ sung KCN là 5, 10 và 25 mg/lít dịch dạ cỏ thì ức chế sự sinh khí CH₄, nhưng khi nồng độ HCN trong dịch dạ cỏ dưới 6 mg/lít thì sự sản

xuất khí CH₄ bắt đầu hồi phục. Vậy vi sinh vật sinh khí CH₄ nhạy cảm với HCN, nhưng chấp nhận ở nồng độ dưới 6 mg/lít dịch dạ cỏ. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Fallon *et al.* (1991) cho rằng vi khuẩn sinh khí CH₄ có lợi do quá trình thủy phân HCN theo phương trình sau: $\text{HCN} + 2 \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{HCOO}^- + \text{NH}_4^+$.

Tương tự, Trong nghiên cứu của Outhen *et al.* (2011) tiến hành thí nghiệm *in vitro* trên khẩu phần gồm rỉ mật đường 73% + bột LM khô/tươi là 25% và urê 2% nhằm xác định nồng độ khí CH₄ (%) và thể tích khí CH₄ (ml) sinh ra tại thời điểm 43h lần lượt là nghiệm thực bổ sung LMK là 21%, lá mì tươi là 19,9% và thể tích khí CH₄ (ml/g DM) của LMK là 72,6 ml, lá mì tươi là 67,6 ml. Kết quả thí nghiệm cho thấy nồng độ và thể tích khí CH₄ của LM tươi và LM khô tương đương nhau. Vậy HCN trong LM không ảnh hưởng đến sự sinh khí CH₄ ở *in vitro*.

Trong nghiên cứu của Le Thuy Binh Phuong *et al.* (2012) thực hiện thí nghiệm *in vitro* khảo sát ảnh hưởng của LM ở trạng thái tươi, khô lên sự sinh khí CH₄. Kết quả thí nghiệm LM tươi và LM khô cho thấy nồng độ khí CH₄ (%) lần lượt là 21,7% và 22,5%; thể tích khí CH₄ (ml/g DM) lần lượt là 53,9 ml và 63,5 ml, sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$). Mặc dù lá khoai tươi chứa hàm lượng HCN là 696 mg/kg DM cao hơn gần 2 lần LMK (hàm lượng HCN là 330 mg/kg DM). Vậy HCN trong LM không làm giảm phát thải khí CH₄ ở *in vitro*.

CHƯƠNG 2: ẢNH HƯỞNG CỦA LÁ KHOAI MÌ TRONG KHẨU PHẦN CỎ VOI LÊN TỈ LỆ TIÊU HOÁ VÀ SỰ SINH KHÍ CH₄ BẰNG PHƯƠNG PHÁP *IN VITRO*

2.1 MỤC ĐÍCH NGHIÊN CỨU

Xác định ảnh hưởng của LMK trong khẩu phần lên tỉ lệ tiêu hoá thức ăn và sự sinh khí CH₄ bằng phương pháp *in vitro*.

2.2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1 Địa điểm và thời gian

Thí nghiệm *in vitro* tiến hành tại phòng thí nghiệm, Bộ môn Chăn nuôi, Khoa Nông nghiệp & Sinh học ứng dụng, Đại học Cần Thơ.

Thời gian thực hiện thí nghiệm từ tháng 4 - 6/2013.

2.2.2 Vật liệu thí nghiệm

Thức ăn thí nghiệm: Cỏ voi thu hoạch tái sinh lúc 35 ngày tuổi và LMK là thu hoạch 50 cm phần ngọn cây khoai mì vào lúc 3 tháng tuổi, cắt ngắn 1-2 cm đem phơi nắng đến khi đạt DM \geq 85% và nghiền mịn qua lưới có kích thước 1- 2 mm.

Dịch dạ cỏ lấy trực tiếp từ dạ cỏ bò tại lò mổ thuộc thị xã Dĩ An, Bình dương. Dịch dạ cỏ được đựng trong bình thủy nước để giữ ấm, đem về phòng thí nghiệm tiến hành lọc qua lớp vải muselin vào bình thủy tinh, ủ ấm ở nhiệt độ 38°C, bơm khí CO₂ rồi đậy kín tạo yếm khí và sử dụng ủ mẫu thí nghiệm.

2.2.3 Thành phần dinh dưỡng của thức ăn thí nghiệm

Thức ăn thí nghiệm bao gồm cỏ voi, LM khô được trồng ở phường Linh Trung, quận Thủ Đức, TP. Hồ Chí Minh. Giá trị dinh dưỡng của cỏ voi LM khô được trình bày qua bảng 2:

Bảng 2: Thành phần hóa học của cỏ voi, LM khô dùng trong thí nghiệm *in vitro* (DM, %)

Mẫu	DM	OM	CP	NDF	ADF	Ash
Cỏ voi	18,3	88,0	10,70	62,2	56,1	12,0
LMK	16,9	86,1	21,2	44,0	57,4	13,9

2.2.4 Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 4 nghiệm thức và 5 lần lặp lại. Những nghiệm thức là 4 mức độ bổ sung LM khô (0, 10; 20 và 30%) trong khẩu phần thức ăn cỏ voi.

+ Nghiệm thức thí nghiệm:

- Nghiệm thức 1 (LMK-0): 100% Cỏ voi
- Nghiệm thức 2 (LMK-10): 90% Cỏ voi + 10% LM khô
- Nghiệm thức 3 (LMK-20): 80% Cỏ voi + 20% LM khô
- Nghiệm thức 4 (LMK-30): 70% Cỏ voi + 30% LM khô

2.2.5 Dụng cụ và hóa chất

Dụng cụ: Ống tiêm thủy tinh 100 ml, water bath, máy đo khí CH₄, cân điện tử 4 số lẻ, tủ sấy, tủ nung, hệ thống Kjeldahl, crucible và một số dụng cụ phòng thí nghiệm.

Hóa chất: Hóa chất chất dùng phân tích thành dưỡng chất thức ăn: H₂SO₄ đậm đặc, NaOH 50%, H₂SO₄ 0,1N, chất xúc tác, chất chỉ thị màu.

Hóa chất thực hiện *in vitro* sinh khí: dung dịch đa lượng, dung dịch vi lượng, dung dịch đệm, dung dịch Resazurin, dung dịch khử.

2.2.6 Các bước thực hiện thí nghiệm *in vitro*

Bước 1: Cân khoảng 0,2g mẫu (mẫu đã được nghiền ở kích thước 1mm) cho vào ống tiêm thủy tinh 100 ml.

Bước 2: Hút 20 ml dung dịch đệm và 10 ml dịch dạ cỏ vào ống tiêm đã có mẫu.

Bước 3: Các ống tiêm này được ủ trong water bath ở 39-40⁰C trong khoảng thời gian thí nghiệm và theo dõi sự sinh khí.

Bước 4: Ghi nhận lại kết quả lượng khí sinh ra tại thời điểm thí nghiệm, các ống tiêm này được lấy ra khỏi water bath, đồng thời thu lượng khí sinh ra và thực hiện đo xác định nồng độ khí CH₄.

Bước 5: Chuyển toàn bộ vật chất trong ống tiêm sau khi ủ mẫu vào cốc lọc (crucible) và để rửa mẫu bằng nước nóng với acetone.

Bước 6: Sấy cốc lọc ở 105⁰C trong khoảng 12 giờ và cân trọng lượng. Tiếp tục đem cốc lọc đi nung ở 500⁰C trong 2 giờ và cân trọng lượng.

Bước 7: Tính kết quả tỉ lệ tiêu hóa và thể tích khí CH₄.

2.2.7 Chỉ tiêu thí nghiệm

+ Tỉ lệ tiêu hóa vật chất khô (DM) *in vitro* của thức ăn:

Mẫu thức ăn được nghiền mịn, cân khoảng 200 mg mẫu thức ăn với 20 ml dung dịch đệm và 10 ml dịch dạ cỏ cho vào ống tiêm thủy tinh 100 ml, trong điều kiện yếm khí và đem mẫu ủ ở nhiệt độ 38⁰C - 39⁰C theo mô tả của Menke & Steingass (1988). Theo đề nghị của Thu and Udén (2003), sau khi ủ mẫu tiến hành phân tích lại vật chất khô để tính tỉ lệ tiêu hóa tại thời điểm 24h, 72h. Cách tính tỉ lệ tiêu hóa vật chất khô ở *in vitro* của thức ăn như sau:

$$\text{DMD, \%} = \frac{\text{DM mẫu} - \text{DM sau ủ}}{\text{DM mẫu}} \times 100$$

+ **Đo lượng khí CH₄ sinh ra trong tiêu hóa *in vitro*:**

Đo lượng khí CH₄ sinh ra của mẫu thức ăn sau khi đem ủ với dịch dạ cỏ bò theo mô tả của Menke & Steingass (1988). Cách tính lượng khí CH₄ sinh ra ml/gOM ở *in vitro* tại thời điểm 24h và 72h:

$$VCH_4, \text{ ml/gOM} = \frac{VCH_4, \text{ ml}}{\text{OM, g}}$$

.2.2.8 Xử lý số liệu

Số liệu thô được xử lý sơ bộ bằng phần mềm Microsoft Excel 2003. Sau đó được xử lý thống kê bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) theo mô hình tuyến tính tổng quát (General Linear Model) trên chương trình Minitab 15.0. Khi có sự khác biệt giữa các nghiệm thức sẽ dùng phép thử Tukey ở mức độ ý nghĩa 5% để tìm sự khác biệt từng cặp nghiệm thức.

2.3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

2.3.2 Tỷ lệ tiêu hóa *in vitro* vật chất khô và chất hữu cơ

Ảnh hưởng của LM khô trong khẩu phần cỏ voi lên tỷ lệ tiêu hóa *in vitro* vật chất khô và chất hữu cơ bằng dịch dạ cỏ bò, kết quả được trình bày qua bảng 3:

Bảng 3: Ảnh hưởng của lá khoai mì khô lên tỷ tiêu hóa *in vitro*

Chỉ tiêu	Nghiệm thức				SEM	P
	LMK-0	LMK-10	LMK-20	LMK-30		
DMD _{24h} , %	31,3	33,6	33,9	29,7	1,42	0,197
DMD _{72h} , %	56,5	56,4	56,7	53,3	0,86	0,069
OMD _{24h} , %	26,5	28,0	29,6	24,2	1,59	0,181
OMD _{72h} , %	55,4 ^a	55,8 ^a	54,6 ^{ab}	51,6 ^b	0,81	0,024

Ghi chú: Các chữ ^{a, b} khác nhau trên cùng một hàng là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Qua bảng 3 cho thấy tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô bằng phương pháp *in vitro* sinh khí tại thời điểm 24h của các nghiệm thức dao động từ 29,7 - 33,9%, sự khác biệt của các nghiệm thức không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$). Kết này thấp hơn so với các nghiên cứu khác, do khác nhau về phương pháp xác định tỷ lệ tiêu hóa. Theo Đoàn Đức Vũ *et al.* (2000) tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô bằng *in sacco* trên bò của cỏ voi tại thời điểm 24h là 42,69%. Tương tự, tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô theo phương pháp *in vitro* bằng dung dịch men pepsin và men cellulaza, tại thời điểm 24h của cỏ voi là 53,2%, do cỏ voi thu hoạch lúc 30 ngày tuổi (Lê Hoa & Bùi Quang Tuấn, 2009).

Tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô bằng phương pháp *in vitro* sinh khí tại thời điểm 72h của các nghiệm thức dao động từ 53,3 - 56,5%, sự khác biệt của các nghiệm thức không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$). Vậy bổ sung LM khô từ 0 - 30% trong khẩu phần cỏ voi không ảnh hưởng đến tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô bằng phương pháp *in vitro* sinh khí.

Tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ bằng phương pháp *in vitro* sinh khí tại thời điểm 24h của các nghiệm thức dao động từ 24,2 - 29,6%, sự khác biệt của các nghiệm thức không ý nghĩa về mặt thống kê ($P>0,05$). Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Bùi Quang Tuấn (2005), tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ theo phương pháp *in vitro* bằng dung dịch men pepsin và men cellulaza, tại thời điểm 24h của cỏ voi là 43,91%.

Tiếp theo, tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ bằng phương pháp *in vitro* sinh khí tại thời điểm 72h của các nghiệm thức dao động từ 51,6 - 55,8%, sự khác biệt của các nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P<0,05$). Nghiệm thức LMK-20 có tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ tương đương với nghiệm thức LMK-0 và thấp nhất ở nghiệm thức LMK-30. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Wanapat (1997) sự tiêu hóa CP của LM khô ở dạ cỏ thấp, do tạo thành phức hợp tannin-protein bypass rất cao. Vậy nghiệm thức LMK-30 có TLTH thấp nhất, có thể do chất tannin của LMK làm giảm tỉ lệ tiêu hóa.

2.3.2 Sự sinh khí mê tan trên *in vitro*

Ảnh hưởng của LM khô trong khẩu phần cỏ voi lên sự sinh khí mê tan trên *in vitro* bằng dịch dạ cỏ bò, kết quả được trình bày qua bảng 4.

Bảng 4: Ảnh hưởng của LMK trong khẩu phần lên sự sinh khí mê tan trên *in vitro*

Chỉ tiêu	Nghiệm thức				SEM	P
	LMK-0	LMK-10	LMK-20	LMK-30		
Vgas_24h, ml	19,3 ^{ab}	19,6 ^a	18,3 ^b	16,9 ^c	0,257	0,001
Vgas_72h, ml	41,7 ^a	40,1 ^{ab}	37,8 ^{bc}	36,4 ^c	0,609	0,001
CH ₄ _24h, %	18,8	18,4	18,0	18,7	0,295	0,300
CH ₄ _72h, %	17,2	17,5	17,2	17,6	0,189	0,330
VCH ₄ _24h, ml	3,62 ^a	3,59 ^a	3,30 ^{ab}	3,15 ^b	0,04	0,011
VCH ₄ _72h, ml	7,16 ^a	7,01 ^{ab}	6,48 ^{bc}	6,41 ^c	0,129	0,007
VCH ₄ /gOM_24h, ml	20,5 ^a	20,3 ^a	18,7 ^{ab}	18,0 ^b	0,475	0,014
VCH ₄ /gOM_72h, ml	40,5 ^a	39,8 ^{ab}	36,9 ^b	36,6 ^b	0,722	0,010

Ghi chú: Các chữ ^{a, b, c} khác nhau trên cùng một hàng là có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$).

Qua bảng 4 cho thấy thể tích (ml/0,2g) khí tổng số sinh ra sau khi ủ mẫu bằng phương pháp *in vitro* sinh khí tại thời điểm 0-24h và 0-72h giảm theo mức độ bổ sung LM khô vào khẩu phần cỏ voi. Nghiệm thức bổ sung LM khô 20 – 30% trong khẩu phần cỏ voi có sự khác biệt giữa các nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P<0,05$). Tốc độ sinh khí của các nghiệm thức từ 0-24h lúc đầu rất nhanh, nhưng thời gian trở về sau từ 24-72h cho thấy sự sinh khí càng chậm do các dưỡng chất cần thiết được vi sinh vật dạ cỏ sử dụng lên men giảm dần theo thời gian, phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Thu và Nguyễn Thị Kim Đông (2010); vậy lượng khí sinh ra chủ yếu ở 24h đầu, điều này chứng tỏ sự lên men tiêu hóa thức ăn chủ yếu xảy ra 0-24h.

Nồng độ khí CH₄ (%) đo được tại thời điểm 0-24h và 0-72h của các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P>0,05$). Vậy bổ sung LM khô từ 0- 30% trong khẩu phần cỏ voi bằng phương pháp *in vitro* sinh khí, không ảnh hưởng đến nồng độ khí CH₄. Nồng độ khí CH₄ (%) đo được tại thời điểm 0-24h dao động từ 18 -18,7%, kết quả này tương đương với nghiên cứu của Hồ Quảng Đồ *et al.* (2012) bột LM khô có nồng độ khí CH₄ là 18,4%, kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Outhen *et al.* (2011) đo tại thời điểm 43h là 21%, sự khác biệt này do khẩu phần có rỉ mật đường và urê.

Thể tích khí CH₄ (ml/0,2g DM) sinh ra sau khi ủ mẫu bằng phương pháp *in vitro* sinh khí tại thời điểm 0-24h dao động từ 3,15 - 3,62 ml giảm tỉ lệ nghịch với mức độ bổ sung LM khô vào khẩu phần cỏ voi, sự khác biệt giữa các nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P<0,05$). Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Lee *et al.* (2003) trên cỏ Alfalfa khô là 6,02 ml/0,2gDM.

Tiếp theo, thể tích khí CH₄ (ml/g OM) sinh ra sau khi ủ mẫu bằng phương pháp *in vitro* sinh khí tại thời điểm 0-72h giảm tỉ lệ nghịch với mức độ bổ sung LM khô vào khẩu phần cỏ voi. Sự sinh khí CH₄ (ml/g OM) giảm ở nghiệm thức bổ sung LM khô 20 – 30% trong khẩu phần cỏ voi, sự khác biệt giữa các nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P<0,05$). Vậy dưỡng chất trong LM làm giảm sinh CH₄ có thể là chất tannin. Do hàm lượng chất tannin trong LMK là 3,92%, tương đương với kết quả phân tích của Khúc Thi Hue *et al.*, (2012) hàm lượng tannin trong LM dao động từ 3,5 - 5,5% và không có sự khác biệt nhau giữa các giống khoai mì. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Jayanegara *et al.* (2009) cho thấy chất tannin trong một số cây thực vật như *Tanacetum vulgare*, *Rhenum undulatum* làm giảm sự sinh khí CH₄. Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Viên (2011) trên *in vitro* cho thấy nghiệm thức vỏ măng cụt (chất tannin 3,7%) làm giảm sinh khí 48% so với nghiệm thức đối chứng (tannin tổng hợp). Tương tự, trong nghiên cứu trên *in vitro* của Hess *et al.* (2003) cho thấy bổ sung chất tannin 12 mg/g DM từ vỏ trái cây *Sapindus saponaria* làm giảm số lượng protozoa và giảm phát thải khí CH₄. Do vi khuẩn mê tan và protozoa có liên quan đến sự sinh khí CH₄ trong dạ cỏ từ 9-25% (Newbold *et al.*, 1995).

Bên cạnh đó, những nghiên cứu trên *in vitro* cho thấy HCN trong LM không ảnh hưởng đến sự sinh khí CH₄ (Outhen *et al.*, 2011; Le Thuy Binh Phuong *et al.*, 2012); Kết quả thí nghiệm cho thấy nồng độ khí CH₄ (%) và thể tích khí CH₄ (ml) của nghiệm thức bổ sung LM tươi và LM khô tương nhau. Mật dù lá khoai tươi chứa hàm lượng HCN là 696 mg/kg DM cao hơn gần 2 lần LM khô (hàm lượng HCN là 330 mg/kg DM). Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu của Cuzin & Labat (1992) nồng độ HCN dưới 6 mg/lít dịch dạ cỏ không ảnh hưởng đến vi khuẩn sinh khí CH₄. Ngoài ra, vi khuẩn mê tan sẽ thủy phân HCN thành chất có lợi (Fallon *et al.*, 1991).

2.4 KẾT LUẬN

Khi bổ sung LMK là 20% trong khâu phân cỏ voi là tối ưu, không ảnh hưởng đến tỉ lệ tiêu hóa DM và OM trên *in vitro* và giảm thể tích khí mê tan sinh ra

NỘI DUNG II. ẢNH HƯỞNG CỦA LÁ KHOAI MÌ TRONG KHẤU PHẦN CỎ VOI LÊN TỈ LỆ TIÊU HOÁ VÀ SỰ SINH KHÍ CH₄ TRÊN BÒ LAI SIND

CHƯƠNG 3: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

3.1 SƠ LƯỢC VỀ CÂY KHOAI MÌ

Khoai mì có tên khoa học *Manihot esculenta crantz*, thuộc chi *Manihot*, họ *Euphorbiaceae*. Tên thường gọi: Manioc (Pháp), Cassava (Anh), Tapioca (Ấn Độ), sắn hoặc khoai mì (Việt Nam). Khoai mì được trồng phổ biến ở Việt Nam chủ yếu lấy củ làm lương thực cho con người, thức ăn cho gia súc, nguyên liệu cho công nghiệp chế biến và xuất khẩu. Người ta phân loại khoai mì thành hai nhóm: Nhóm khoai mì ngọt gồm các giống như: mì gòn Sông Bé, CY5, mì gòn Long Thành, mì gòn Bình Định.... Các giống khoai mì này có hàm lượng HCN thấp (dưới 50mg/kg tươi), thường sử dụng ăn củ và chế biến bột mì. Nhóm khoai mì đắng gồm các giống như: mì Nhật, mì Ấn, KM 60, KM 94, KM 95, KM 98... dùng cho chế biến bột mì, chế biến thức ăn cho gia súc và cung cấp nguyên liệu cho các ngành công nghiệp khác, các giống khoai mì này thường có hàm lượng HCN rất cao. Các giống khoai mì trồng phổ biến ở Việt Nam có năng suất củ rất cao như: KM 60, KM 95, SM 937-26; KM 98-5, KM 98, KM 140, KM 94 và đạt năng suất củ khoai mì trung bình từ 28 – 34 tấn, hàm lượng tinh bột từ 28% - 30%, hình dạng cây gọn, thời gian thu hoạch sau khi trồng 9-12 tháng (Trần Công Khanh, 2010).

Bên cạnh đó, cây khoai mì cũng cung cấp sản lượng LM rất lớn cho ngành chăn nuôi. Trong nghiên cứu Nguyen Thi Thu Hong *et al.* (2003) năng suất LMK là 7,9 tấn/ha với quá trình thu hoạch được chia ra làm 5 lần/năm; Kế đến, nghiên cứu của Ahmad (1973) năng suất LMK thu hoạch lần đầu tiên lúc 3 tháng tuổi, mỗi lần thu hoạch cách nhau 6 tuần, sau 5 lần thu hoạch đạt 7,5 tấn/ha, nhưng năng suất củ khoai mì chỉ đạt 50%. Kết này cao hơn so với nghiên cứu của Duong Nguyen Khang (2004) là 4,57 tấn/ha. Trong nghiên cứu của Normanha (1962) năng suất LMK thu hoạch 2 lần/năm là 9 tấn/ha và năng suất củ khoai mì giảm 30%; cao hơn so với nghiên cứu của Ravindran and Rajaguru (1988) là 4,64 tấn/ha. Ngược lại, Gomez and Valdivieso (1984) năng suất LMK là 1,2 - 1,8 tấn/ha, được thu hoạch cùng lúc với thu hoạch củ khoai mì. Điều này có thể giải thích cây khoai mì có khả năng tái sinh lá rất cao, thu hoạch 2-5 lần/năm cho năng suất lá cao hơn thu hoạch 1 lần/năm; tuy nhiên năng suất củ thì giảm 30-50%. Nhìn chung năng suất LM thu hoạch 1 đợt là 2,1-5,3 tấn/ha, thu hoạch 4-5 đợt năng suất có thể lên 7,9 tấn/ha, khả năng tái sinh lá nhanh 45 ngày/đợt. Đây là nguồn thức ăn rất tiềm năng bổ sung protein thô trong chăn nuôi gia súc.

Ngoài ra, năng suất LM phụ thuộc vào chế độ bón phân. Theo Carsky and Toukourou (2003) bón phân N-P-K cho cây khoai mì làm tăng sản lượng LM là

21%. Mặt khác, sản lượng LMK khác nhau giữa các giống khoai mì KM94 và KM98-7 (Khuc Thi Hue *et al.*, 2012). Vậy, năng suất LM thay đổi một cách đáng kể phụ thuộc vào tuổi trưởng thành, mật độ cây, độ phì nhiêu của đất, mùa vụ, khí hậu và giống.

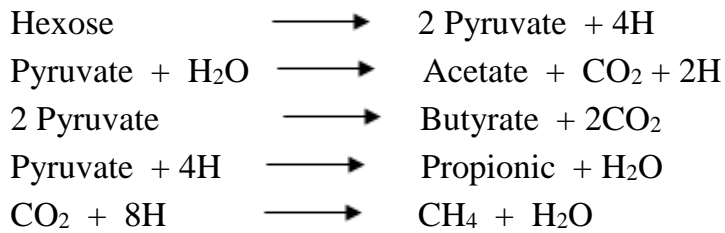
LMK là nguồn thức ăn chăn nuôi rất giàu chất dinh dưỡng như: protein thô của LM dao động từ 19,2 - 24,9% và tương đương nhau giữa các giống khoai mì (Khuc Thi Hue *et al.*, 2012; Nguyen Ba Mui *et al.*, 2010; Du Thanh Hằng & Preston, 2005). Theo Wanapat (2000) LMK có protein thô chiếm 25% và có đầy đủ các acid amin thiết yếu tương đương với khô dầu đậu nành. Ngoài ra, LMK cũng rất giàu các chất khoáng thiết yếu (Fasuji, 2005). LMK có NDF dao động rất lớn từ 34,4 - 67,7% do khác nhau về giống khoai mì, lứa tuổi thu hoạch, thời gian tái sinh và chiều dài thu hoạch ngọn LM (Duong Nguyen Khang, 2004; Khuc Thi Hue *et al.*, 2012; Khonglalien *et al.*, 2007). Hàm lượng tannin trong LMK dao động từ 3,5 - 5,5% và không có sự khác biệt nhau giữa các giống khoai mì (Khuc Thi Hue *et al.*, 2012); LM khô, ủ chua chất tannin thấp hơn LM tươi và LM non chất tannin thấp hơn LM già (Duong Nguyen Khang, 2004). Tuy nhiên, hàm lượng HCN trong ngọn LM tươi rất cao, có thể gây chết cho vật nuôi khi cho ăn nhiều LM tươi (Vũ Duy Giảng và ctv, 2008; Humphreys, 1988). LM tươi có hàm lượng HCN cao và dao động từ 880 – 1736 mg/kg có sự khác biệt nhau giữa các giống khoai mì (Du Thanh Hằng & Preston, 2005; Khuc Thi Hue *et al.*, 2012). Hàm lượng HCN của LM thay đổi theo cách chế biến, cách sử dụng là khoai mì. Chẳng hạn, LM tươi chứa hàm lượng HCN cao nhất, nhưng giảm xuống rất thấp khi LM phơi khô hoặc ủ chua 146 - 350 mg/kg DM (Đào Lan Nhi *et al.*, 2001; Wanapat *et al.*, 2000).

3.2 SỰ SINH KHÍ MÊ TAN TRONG DẠ CỎ

Thể tích khí sinh ra trong dạ cỏ bò sau khi ăn có thể vượt hơn 30 lít/giờ. Thành phần khí trong dạ cỏ gồm khí CO₂ chiếm 50-60%, khí CH₄ chiếm 30-40%, khí H₂ chiếm 5% và lượng nhỏ khí khác N₂, O₂. Sự hình thành khí CH₄ từ quá trình khử CO₂ bằng H₂ và một ít chuyển hóa từ acid formate. Ngoài ra, sự sinh tổng hợp khí CH₄ là quá trình kết hợp giữa acid folic và vitamin B₁₂. Ước tính cứ tiêu hóa 100 g carbohydrate sản sinh khoảng 4,5g khí CH₄ và gia súc nhai lại tiêu hao khoảng 7% GEI cho sự sinh khí CH₄ (McDonal *et al.*, 1995).

Khí mê tan được cho là sản xuất thông qua các hoạt động của các loài vi sinh vật khác nhau, với bước cuối cùng được thực hiện bởi vi khuẩn sinh tổng hợp khí CH₄ (Moss *et al.*, 2000). Khí CH₄ được sinh ra có mối quan hệ giữa vi sinh vật sinh khí H₂ trong quá trình lên men và sự nhận H₂ trong quá trình sinh tổng hợp CH₄ (Yasuo Kobayashi, 2010).

Phương trình tóm tắt quá trình lên men carbohydrate tạo thành các acid béo bay hơi và khí CO₂, CH₄ (France & Dijkstra, 2005):



Vậy sự hình thành acid propionic làm giảm H₂ tự do trong dịch dạ cỏ, sẽ hạn chế vi khuẩn sinh tổng hợp khí CH₄ do thiếu H₂ tự do.

3.3 MỘT SỐ NGHIÊN CỨU VỀ GIẢM PHÁT THẢI KHÍ MÊ TAN TRÊN GIA SÚC

Sự thải khí CH₄ trên bò sữa ra môi trường theo nghiên cứu của Vũ Chí Cường *et al.* (2010) Trong điều kiện cho ăn duy trì, một ngày bò cái tơ lỡ lai 75% HF có khối lượng 290-360 kg, thức ăn ăn vào là 6,71 kg vật chất khô tạo ra 44,6 MJ nhiệt; thải ra ngoài môi trường 2.067,8 lít CO₂ và 207,5 lít CH₄ hoặc 148,2 g CH₄.

Sự thải khí CH₄ trên gia súc nhai lại bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như DMI, thành phần hóa học của thức ăn, cách chế biến thức ăn và công thức khẩu phần. Trong nghiên cứu của Shibata *et al.* (1993) ước tính sự phát thải khí CH₄ trên gia súc nhai lại dựa trên vật chất khô ăn vào. Kết quả cho thấy sự sinh khí CH₄ trên gia súc nhai lại tương quan rất chặt chẽ với vật chất khô ăn vào ($r^2 = 0,96$), với phương trình tương quan là $Y = -17,766 + 42,793X - 0,849X^2$, trong đó Y là thể tích khí CH₄ (lít/ngày), X là vật chất khô ăn vào (kg/ngày). Tương tự, nghiên cứu của Molano & Clark (2008) khảo sát ảnh hưởng của vật chất khô ăn vào lên sự phát thải khí CH₄ trên cừu. Kết quả sự phát thải khí CH₄ hàng ngày trên cừu tương quan chặt chẽ với vật chất khô ăn vào ($r^2 = 0,82$), trung bình cừu phát thải khí CH₄ (g/kg DMI) là 22,9-23,7g.

Ngoài ra, nghiền thức ăn thô xanh trước khi cho bò ăn, cũng làm giảm sinh khí CH₄, do tăng tỷ lệ tiêu hóa và dòng chảy thức ăn qua đường tiêu hoá, do đó hạn chế thời gian sản sinh khí CH₄ trong dạ cỏ (Johnson & Johnson, 1995).

Thành phần hóa học của thức ăn cũng ảnh hưởng đến sự sinh khí CH₄ trên dạ cỏ. Trong nghiên cứu Tiemann *et al.* (2008) khảo sát ảnh hưởng chất tannin của cây thức ăn *Calliandra calothyrsus* và *Flemingia macrophylla* lên sự phát thải khí CH₄ trên cừu. Kết quả thí nghiệm cho thấy ở nghiệm thức bổ sung cây *Calliandra* hoặc cây *Flemingia* với 300g/kg DM trong khẩu phần ăn của cừu làm giảm phát thải khí CH₄ lần lượt là 15,4% - 18,6% so với nghiệm thức cho ăn cỏ không có chất tannin. Vật chất tannin làm giảm phát thải khí CH₄ trên cừu, do cây *Calliandra calothyrsus* và *Flemingia macrophylla* có chứa hàm lượng tannin g/kg DM là 175g và 111g. Tuy nhiên, tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ, CP và NDF, ADF ở nghiệm thức giàu chất tannin thấp hơn so với nghiệm thức cho ăn cỏ (P<0,05).

Tương tự, Trong thí nghiệm của Puchala *et al.* (2005) khảo sát ảnh hưởng chất tannin của cây *sericea lespedeza* và hỗn hợp cỏ *crabgrass/tall fescue* lên sự phát thải khí CH₄ trên dê. Kết quả nghiên cứu cho thấy dê cho ăn khẩu phần cây *sericea lespedeza* giảm phát thải khí CH₄ là 57% so với khẩu phần cỏ *crabgrass/tall fescue*. Do cây *sericea lespedeza* có chứa chất tannin là 17,7% cao hơn cỏ *crabgrass/tall fescue* chứa tannin là 0,5%. Tuy nhiên, tỉ lệ tiêu hóa DM trên dê cho ăn khẩu phần cây *sericea lespedeza* là 64% thấp hơn so với khẩu phần ăn cỏ *crabgrass/tall fescue* là 76%.

Tương tự, thí nghiệm của Bhatta *et al.* (2013) cho thấy khi bổ sung tannin 2,8 - 5,6g/kg DM từ cây *Mimosa spp.* trong khẩu phần thức ăn lên sự phát thải khí CH₄ trên dê. Kết quả thí nghiệm cho thấy ở nghiệm thức bổ sung tannin 5,6g/kg DM thì các dưỡng chất thức ăn vào tương đương nhau giữa các nghiệm thức, nhưng tỉ lệ tiêu hóa DM, OM, CP, NDF giảm 10-15% và sự phát thải khí CH₄ (g/100kg LW) giảm 28,3% so với nghiệm thức đối chứng.

Tiếp theo, Trong nghiên cứu của Ngamsaeng (2005) nuôi bò cho ăn bổ sung vỏ măng cụt (chứa chất tannin là 3,8%) là 150g DM/ngày. Kết quả tăng số lượng vi khuẩn tổng số, nhưng làm giảm số lượng protozoa trong dạ cỏ. Tương tự, theo Morgavi *et al.* (2010) cho thấy loại bỏ protozoa trong dạ cỏ là giảm phát thải khí CH₄ trên gia súc nhai lại.

Tiếp theo, thí nghiệm của Lila *et al.* (2005) nuôi bò cho ăn khẩu phần bổ sung chất Sarsaponin 0%, 0,5% và 1%DM. Kết quả cho thấy khi bổ sung chất Sarsaponin trong khẩu phần làm giảm hàm lượng NH₃ dịch dạ cỏ, giảm số lượng protozoa và giảm phát thải khí CH₄. Tiếp theo, trong nghiên cứu của Mao *et al.* (2010) nuôi cừu cho ăn khẩu phần bổ sung chất tannin 3g/ngày từ lá trà làm giảm số lượng protozoa và giảm phát thải khí CH₄.

Tương tự, thí nghiệm của Liu *et al.* (2011) nuôi cừu cho ăn khẩu phần bổ sung chất tannin từ hạt dẻ 10g hoặc 30g/kg DM. Kết quả cho thấy bổ sung tannin làm giảm số lượng protozoa và giảm phát thải khí CH₄, nhưng không ảnh hưởng đến năng suất trên cừu.

Công thức khẩu phần thức ăn cũng ảnh hưởng đến sự phát thải khí CH₄. Trong nghiên cứu của Tran Hiep *et al.* (2010) thực hiện thí nghiệm trên bò thịt cho ăn các khẩu phần như: cỏ voi 100%; Rơm ủ bổ sung LMK (1% khối lượng bò); Cỏ voi ăn tự do bổ sung LMK và bột khoai mì (0,5%+0,5% khối lượng bò); LMK ăn tự do và bổ sung urê – ri mật đường (1% khối lượng bò) lên sự phát thải khí CH₄. Kết quả thí nghiệm cho thấy bổ sung LMK vào khẩu phần ăn trên bò làm giảm phát thải khí mê tan 7,1 - 21,9% so với khẩu phần cỏ voi.

3.4 MỘT SỐ NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG LÁ KHOAI MÌ LÊN TỈ LỆ TIÊU HÓA TRÊN GIA SÚC

Trong thực tế sản xuất, những nghiên cứu sử dụng LMK trong chăn nuôi trâu cho thấy, khi bổ sung LMK 30 - 75% DM vào khẩu phần thức ăn rơm hoặc cỏ. Kết quả cho thấy TLTH các dưỡng chất thức ăn tăng cao hơn so với lô đối chứng (Phengvilaysouk & Wanapat, 2008; Trịnh Văn Trung và Mai Văn Sánh, 2006; Chanjula *et al.*, 2004; Foiklang *et al.*, 2010; Yuangklang *et al.*, 2001). Tiếp theo, trong nghiên cứu trên trâu của Joomjantha & Wanapat (2008) cho thấy nghiệm thức LMK có TLTH protein thô và sự tổng hợp protein của VSV dạ cỏ cao hơn so với nghiệm thức rơm ủ urê, đậu lá lớn và dây khoai lang. Tương tự, nghiên cứu trên cừu của Marjuki *et al.* (2008) cho thấy TLTH protein thô tăng theo mức độ bổ sung LM ủ chua 1,5% DM/LW. Do protein thô của LMK có TLTH protein thô cao là 71-74% (Eggum, 1970). Qua kết quả cho thấy nguồn nitơ trong khẩu phần kích thích hoạt động VSV dạ cỏ tăng tiêu hóa thức ăn (McDonal *et al.*, 1995). Điều này cũng phù hợp với những nghiên cứu trên bò và cừu cho thấy bổ sung urê liên tục làm tăng số lượng thức ăn ăn vào, tăng TLTH thức ăn, cân bằng nitơ và tăng năng suất (Preston & Leng, 1987).

Tương tự, nghiên cứu trên cừu của Khuc Thi Hue *et al.* (2008) cho thấy nghiệm thức LMK (59% DM) trong khẩu phần có TLTH protein thô cao hơn nghiệm thức lá mít, do khẩu phần sử dụng lá mít có hàm lượng tannin ăn vào là 25,7g/ngày cao nhất. Theo Bhatta *et al.* (2013) bổ sung chất tannin 5,6g/kg DM từ cây *Mimosa spp.* trong khẩu phần thức ăn của dê có TLTH dưỡng chất thức ăn thấp hơn so với lô đối chứng. Tương tự, theo báo cáo của Barry & McNabb (1999) những lá cây chứa hàm lượng tannin cao sẽ kết hợp với protein tạo thành hợp chất không tiêu hóa và làm giảm năng suất trên vật nuôi.

Tỉ lệ tiêu hóa dưỡng chất thức ăn trên bò được cải thiện khi tăng mức độ bổ sung LMK vào khẩu phần rơm khô hoặc cỏ xanh. Kết quả cho thấy TLTH dưỡng chất thức ăn tăng theo mức độ bổ sung LMK 0,6 – 2 kg/con/ngày trong khẩu phần ăn của bò, do tăng hàm lượng NH₃ trong dạ cỏ (Đoàn Đức Vũ và ctv, 2002; Vongsamphanh & Wanapat, 2004; Granum *et al.*, 2007). Khi cho ăn khẩu phần thiếu hụt protein thì NH₃ trong dịch dạ cỏ sẽ thấp dưới 50mg/lít và sự phát triển của vi sinh vật dạ cỏ sẽ thấp dẫn đến sự tiêu hóa carbohydrate chậm lại. Ngược lại, khi bổ sung protein vào khẩu phần thì hàm lượng NH₃ trong dịch dạ cỏ tăng lên và kích thích hoạt động VSV dạ cỏ tiêu hóa thức ăn nhanh hơn (McDonal *et al.*, 1995).

CHƯƠNG 4: ẢNH HƯỞNG CỦA LÁ KHOAI MÌ TRONG KHẨU PHẦN LÊN TỈ LỆ TIÊU HOÁ VÀ SỰ SINH KHÍ CH₄ TRÊN BÒ LAI SIND

4.1. MỤC ĐÍCH NGHIÊN CỨU

Xác định ảnh hưởng của LM khô trong khẩu phần lên tỉ lệ tiêu hoá thức ăn và sự sinh khí CH₄ trên bò lai Sind.

4.2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

+ Địa điểm và thời gian

Thí nghiệm tiến hành tại trại thực nghiệm, trường Đại học Nông Lâm – TP. HCM.

Thời gian thực hiện thí nghiệm từ tháng 7 - 12/2013.

+ **Đối tượng thí nghiệm:** Thí nghiệm trên 4 con bò cái, giống lai Sind, có khối lượng trung bình bắt đầu thí nghiệm là 140 ± 5 kg. Các bò này được tẩy sán lá gan, tẩy ký sinh trùng bằng Ivermectin và tiêm vaccin phòng bệnh lở mồm long móng trước 15 ngày thí nghiệm.

+ **Chuồng trại:** Bò thí nghiệm được nuôi trên chuồng sàn, mặt sàn cách nền 0,5m để dễ dàng thu phân và nước tiểu. Mỗi ô chuồng nhốt 01 con bò, có máng ăn, máng uống riêng biệt để tiện theo dõi thức ăn.

+ **Thức ăn:** Cỏ voi được cắt ngắn 3-5 cm, thu hoạch ngọn lá khoai mì khoảng 0,5 m, cắt ngắn phơi khô và nghiền thành bột trộn với cỏ cho bò ăn. Thức ăn cho bò được chia làm 2 phần cho bò thí nghiệm ăn 2 lần/ngày lúc 8 giờ và 15 giờ trong ngày. Thức ăn thí nghiệm cho ăn tự do theo khẩu phần dự kiến thí nghiệm và cho bò uống nước tự do.

Thành phần dinh dưỡng của các loại thức ăn dùng trong thí nghiệm được trình bày qua bảng 5.

Bảng 5: Thành phần hóa học của thức ăn sử dụng trong thí nghiệm *in vivo* (%DM)

Thực liệu	DM, %	ME, (MJ/kg DM) ¹	Tannin, %	HCN, mg/kg	Thành phần hóa học thức ăn, %DM			
					OM	CP	NDF	Ash
Cỏ voi	91,61	8,69	-	-	88,94	10,82	58,17	11,06
LMK	88,30	11,32	3,92	358	90,90	17,65	42,72	9,10

Ghi chú: ¹: Trích số liệu của Viện Chăn nuôi (2001).

+ **Bố trí thí nghiệm và khẩu phần thí nghiệm 2:** Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hình vuông Latin (4 x 4) với 4 nghiệm thức. Bốn nghiệm thức là 4 mức độ sử dụng LM khô: (0, 10; 20 và 30%) trong khẩu phần thức ăn cỏ voi. Sơ đồ bố trí thí nghiệm được trình bày qua bảng 6.

Bảng 6: Sơ đồ bố trí bò thí nghiệm

Giai đoạn	Nghiem thức			
	LMK-0	LMK-10	LMK-20	LMK-30
Giai đoạn 1	Bò 1	Bò 2	Bò 3	Bò 4
Giai đoạn 2	Bò 4	Bò 1	Bò 2	Bò 3
Giai đoạn 3	Bò 3	Bò 4	Bò 1	Bò 2
Giai đoạn 4	Bò 2	Bò 3	Bò 4	Bò 1

+ **Giai đoạn thí nghiệm:** Mỗi giai đoạn thí nghiệm là 21 ngày trong đó 14 ngày nuôi bò thích nghi với khẩu phần thí nghiệm và 07 ngày lấy mẫu phân liên tục và đo khí CH₄ liên tục 03 ngày cuối mỗi giai đoạn thí nghiệm.

Công thức và thành phần dưỡng chất của các khẩu phần thức ăn thí nghiệm được trình bày qua bảng 7. Thí nghiệm gồm có 04 nghiệm thức với 04 mức độ bổ sung LMK (0, 10, 20 và 30%) trong khẩu phần cỏ voi.

Bảng 7: Thức ăn và dưỡng chất trong khẩu phần thí nghiệm dự kiến (% DM)

Thực liệu, % DM	Nghiem thức			
	LMK-0	LMK-10	LMK-20	LMK-30
Cỏ voi	100	90	80	70
LMK	0	10	20	30
CP, %	10,82	11,50	12,19	12,87
ME (MJ/kgDM)	8,69	8,95	9,22	9,48

+ **Thu mẫu:**

- Ghi nhận lượng thức ăn ăn vào: cân thức ăn cho ăn và thức ăn thừa hàng ngày. Mẫu thức ăn cho ăn và thức ăn thừa sẽ được lấy liên tục 07 ngày cuối giai đoạn thí nghiệm theo từng nghiệm thức, sau đó sấy ở 55⁰C, nghiền mịn 1 mm và phân tích vật chất khô, protein thô, khoáng tổng số, xơ trung tính.

- Ghi nhận lượng phân thải ra trong 24h của 07 ngày cuối mỗi giai đoạn thí nghiệm. Lấy 10 % lượng phân trong 24h của 03 ngày cuối mỗi giai đoạn thí nghiệm, trộn đều và lấy mẫu phân đại diện đến phòng thí nghiệm phân tích vật chất khô, protein thô, chất khoáng tổng số và xơ trung tính.

- Ghi nhận lượng khí CH₄: Xác định tổng lượng khí CH₄ thải ra trên bò thông qua hệ thống phân tích khí mê tan nối với buồng hô hấp. Buồng hô hấp có cấu tạo là một buồng kín có 02 lỗ cho không khí lưu thông nằm ở 02 góc buồng, 1 lỗ để dẫn không khí sạch từ bên ngoài vào và 1 lỗ dẫn không khí từ bên trong buồng hô hấp thoát ngoài. Ngoài ra, bên trong buồng hô hấp có lắp đặt quạt đảo không khí bên trong buồng, để cho hỗn hợp không khí thoát ra được đồng nhất. Không khí bên trong buồng hô hấp chỉ được lưu thông theo 1 chiều, nhờ máy hút không khí gắn kết với lỗ thoát khí ra. Hệ thống này thổi không khí đi qua thiết bị đo lưu lượng không

khí để xác định tổng lượng không khí được hút ra khỏi buồng hô hấp. Không khí trong buồng hô hấp được lấy mẫu 30 phút/lần và được dự trữ trong túi nylon. Tiếp theo, dùng máy đo nồng độ khí mê tan Gasmeter DX 4030 phân tích nồng độ khí CH₄ trong từng buồng hô hấp. Dựa vào số liệu ghi chép của máy đo lưu lượng không khí và máy phân tích nồng độ khí CH₄, từ đó tính tổng lượng khí mê tan của bò thải ra trong 1 ngày đêm. Tổng lượng khí mê tan của bò thải ra được xác định trong 3 ngày liên tục/bò/giai đoạn thí nghiệm và tính trung bình.

+ **Chỉ tiêu theo dõi thí nghiệm**

- Xác định tỷ lệ tiêu hóa các dưỡng chất (DC): vật chất khô (DM), protein thô (CP) và xơ trung tính (NDF).

$$\text{Tỷ lệ tiêu hóa (\%)} = \frac{\text{DC ăn vào} - \text{DC trong phân}}{\text{DC ăn vào}} \times 100$$

- Tổng lượng khí CH₄ thải ra trong ngày

$$\text{VCH}_4 \text{ (l/ngày)} = V \times (C_1 - C_0)$$

Trong đó: V: thể tích không khí thải ra khỏi buồng hô hấp trong 24h

C₀: Nồng độ khí CH₄ trong không khí

C₁: Nồng độ khí CH₄ trong buồng hô hấp

4.3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

4.3.1 Lượng thức ăn, dưỡng chất ăn vào trên bò của các nghiệm thức

Lượng thức ăn ăn vào, lượng dưỡng chất và năng lượng trao đổi ăn vào của các nghiệm thức thí nghiệm trên bò được trình bày qua bảng 8:

Bảng 8: Lượng thức ăn, dưỡng chất ăn vào (DM) trên bò của các nghiệm thức

Chỉ tiêu	Nghiệm thức				SEM	P
	LMK-0	LMK-10	LMK-20	LMK-30		
Cỏ voi, kgDM	2,74 ^b	2,68 ^b	2,55 ^b	2,27 ^a	0,05	0,003
LMK, kgDM	0,00 ^a	0,30 ^b	0,64 ^c	0,83 ^d	0,03	0,000
LMK, %	0,00 ^a	10,02 ^b	20,13 ^c	26,63 ^d	0,27	0,000
DM, kg/ngày	2,74 ^a	2,98 ^{ab}	3,18 ^b	3,10 ^b	0,07	0,020
DM, %LW	1,84 ^a	1,98 ^{ab}	2,12 ^b	2,09 ^{ab}	0,05	0,036
OM, kg/ngày	2,43 ^a	2,65 ^{ab}	2,85 ^b	2,77 ^b	0,07	0,017
CP, kg/ngày	0,29 ^a	0,34 ^b	0,39 ^c	0,39 ^c	0,01	0,001
CP, g/100kg LW	199 ^a	227 ^{ab}	257 ^{bc}	264 ^c	7,30	0,002
NDF, kg/ngày	1,59	1,68	1,76	1,67	0,04	0,117
ME, MJ/ngày	23,8 ^a	26,7 ^{ab}	29,4 ^b	29,1 ^b	0,68	0,004

Ghi chú: Các chữ ^{a, b, c, d} khác nhau trên cùng một hàng là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Lượng thức ăn ăn vào của bò trong thí nghiệm cho thấy, khi tăng mức độ bổ sung LM từ 0 – 26,63% DM trong khẩu phần và lượng cỏ voi ăn vào giảm dần qua các nghiệm thức, sự tăng giảm này cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

Vật chất khô ăn vào (DMI) của nghiệm thức LMK-0% là 2,74 kg/con/ngày tăng dần đến nghiệm thức LMK-20 là 3,18 kg/con/ngày, sự khác biệt giữa các nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Vậy DMI tăng dần theo mức độ bổ sung lá khoai mì khô vào khẩu phần cỏ voi, điều này phù hợp với nghiên cứu trên trâu của (Dao Lan Nhi *et al.*, 2001; Trịnh Văn Trung và ctv, 2007). Do protein và năng lượng trao đổi của LMK cao đã cải thiện chất lượng của khẩu phần thức ăn và môi trường dạ cỏ. Bổ sung LM ủ chua vào khẩu phần rơm tươi ủ ure trên bò, làm tăng DMI, nồng độ NH_3 và số lượng vi khuẩn tổng số trong dạ cỏ (Dương Nguyên Khang, 2004). Tương tự, nghiên cứu trên trâu của Phengvilaysouk & Wanapat (2008) cho ăn bổ sung LMK 1kg/con/ngày trong khẩu phần rơm khô, làm tăng DMI và hàm lượng NH_3 dịch dạ cỏ.

Vật chất khô ăn vào của bò tính trên 100 kg khối lượng cơ thể, cũng tăng dần theo mức độ bổ sung LMK vào khẩu phần, sự khác biệt giữa các nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Kết quả DMI (% , LW) của nghiệm thức LMK-0%

thấp nhất là 1,84% và nghiệm thức LMK-20 cao nhất là 2,12%. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trên trâu của Foiklang *et al.* (2010) bổ sung LMK là 30% trong khẩu phần bánh dinh dưỡng có DMI là 2,18%. Tương tự, nghiên cứu trên trâu của Chanjula *et al.* (2004) bổ sung LMK là 20% trong khẩu phần rơm ủ urê có DMI là 2,1% LW. Tiếp theo, nghiên cứu trên bò của Wora-anu *et al.* (2007) cho ăn khẩu phần LM tươi hoặc LMK đều có DMI là 2,1% LW. Tiếp theo, nghiên cứu trên bò của Vongsamphanh & Wanapat (2004) cho ăn bổ sung LMK từ 0 - 600g/con/ngày trong khẩu phần rơm khô có DMI là 2,2 - 2,6% LW. Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu trên bò của Granum *et al.* (2007) bổ sung LMK là 20% trong khẩu phần cỏ tự nhiên có DMI là 1,5% LW. Theo McDonald *et al.* (1995) DMI của bò thịt là 2,2% LW, số lượng thức ăn ăn vào hàng ngày phụ thuộc vào khối lượng bò, loại thức ăn và chất lượng thức ăn.

Vật chất hữu cơ ăn vào (OMI) giữa các nghiệm thức cũng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Khi bổ sung LMK vào khẩu phần thức ăn đã cải thiện tốt môi trường dạ cỏ, làm tăng lượng thu nhận thức ăn và tăng chất hữu cơ ăn vào. OM cũng có xu hướng tăng dần theo mức độ bổ sung LMK, thấp nhất là nghiệm thức LMK-0 (2,43 kg/con/ngày) và cao nhất ở nghiệm thức LMK-20 (2,85 kg/con/ngày). Do LMK có hàm lượng các chất dinh dưỡng như ME là 11,32 MJ/kg DM và CP là 17,65% cao hơn so với cỏ voi lần lượt là 8,69 MJ/kg DM và 10,82%.

Lượng protein tiêu thụ (CPI) của bò tính trên 100 kg khối lượng thể trọng, tăng dần qua các nghiệm thức từ 199g - 264g/ngày và sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Do hàm lượng CP của LMK là 17,65% cao hơn cỏ voi là 10,82%, khi tăng mức độ bổ sung LMK vào khẩu phần thì CP ăn vào cũng tăng theo. Vậy CP của LMK trong khẩu phần đã cải thiện DMI, kết quả này phù hợp với nghiên cứu trên bò của Ho Thanh Tham *et al.* (2008) là 195 - 296g CP/100kg thể trọng trong khẩu phần gồm LMK, rơm khô, urê, rỉ mật đường, CPI tăng tỉ lệ thuận với DMI và tăng trọng. Tương tự, DMI tăng theo mức độ CPI từ 140-230g CP/100kg thể trọng (Nguyễn Văn Thu, 2010). Theo tài liệu của Preston & Leng (1987) minh chứng, khi khẩu phần thiếu dinh dưỡng thì DMI giảm, chất dinh dưỡng hạn chế đầu tiên có thể là NH_3 và các acid amin thiết yếu cho gia súc nhai lại. Khi bổ sung protein vào khẩu phần thiếu protein thì tăng DMI và tăng năng suất vật nuôi.

Lượng xơ trung tính ăn vào (NDFI) giữa các nghiệm thức dao động từ 1,59 - 1,76kg/con/ngày, sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$).

Năng lượng trao đổi ăn vào (MEI) cao nhất ở nghiệm thức LMK-30 và LMK-20, kế đến nghiệm thức LMK-10 và thấp nhất ở nghiệm thức LMK-0. Do LMK giàu ME là 11,32 MJ/kg DM cao hơn cỏ voi là 8,69 MJ/kg DM, khi tăng mức độ bổ sung LMK từ 0 - 30% trong khẩu phần cỏ voi, thì MEI tăng từ 23,78 - 29,4 MJ/con/ngày, sự khác biệt này có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Kết quả này phù hợp với nhu cầu dinh dưỡng của bò theo tiêu chuẩn NRC (1984), khối lượng bò

150 kg, tăng trọng dưới 500g/ngày, nhu cầu ME là 21 - 33 MJ/con/ngày (Viện Chăn Nuôi, 1984).

Mặt khác, LMK có hàm lượng HCN là 358 mg/kg DM, kết quả này tương đương so với nghiên cứu của Wanapat *et al.* (2000) là 350 mg/kg DM. Vậy hàm lượng chất HCN bò ăn vào ở nghiệm thức LMK-30% là 2mg/kg LW, với hàm lượng này không ảnh hưởng đến sức khỏe trên gia súc. Theo tài liệu của Humphreys (1988) thì liều gây độc tối thiểu của HCN trên động vật là 2 -2,3 mg/kg LW. Tương tự, Duong Nguyen Khang (2004) nuôi bò cho ăn LM ủ chua, có hàm lượng HCN ăn vào là 5,2 mg/kg LW thì không ảnh hưởng đến tăng trọng.

Kết quả trên cho thấy LMK có tính ngon miệng đối với bò, khi bổ sung LMK ở mức 20%DM trong khẩu phần thì DMI cao nhất so với nghiệm thức đối chứng. Do hàm lượng CP của LMK làm tăng hàm lượng CP trong khẩu phần, cải thiện môi trường dạ cỏ và tăng lượng DMI.

4.3.2 Tỷ lệ tiêu hóa dưỡng chất thức ăn trên bò của các nghiệm thức

Tỷ lệ tiêu hóa các dưỡng chất thức ăn như vật chất khô (DM), chất hữu cơ (OM), protein thô (CP) và của xơ trung tính (NDF) của các nghiệm thức thí nghiệm trên bò được trình bày qua bảng 9.

Bảng 9: Tỷ lệ tiêu hóa dưỡng chất thức ăn (%) trên bò của các nghiệm thức

Tỷ lệ tiêu hóa, %	Nghiệm thức				SEM	P
	LMK-0	LMK-10	LMK-20	LMK-30		
DM	53,23 ^a	56,78 ^b	60,05 ^c	59,09 ^{bc}	0,58	0,001
OM	55,25 ^a	58,11 ^b	61,71 ^c	61,46 ^c	0,56	0,000
CP	64,80 ^a	68,48 ^b	71,46 ^c	72,39 ^c	0,43	0,000
NDF	55,10 ^a	56,44 ^{ab}	57,75 ^b	57,05 ^{ab}	0,48	0,036

Ghi chú: Các chữ ^{a, b, c} khác nhau trên cùng một hàng là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Khi bổ sung LMK trong khẩu phần cỏ voi thì tỷ lệ tiêu hóa các dưỡng chất tăng theo mức độ bổ sung LMK từ 0 – 30%. Khi bổ sung LMK trên 20% trong khẩu phần thì DMI và TLTH DM có khuynh hướng giảm.

Tỷ lệ tiêu hóa vật chất khô tăng theo mức độ bổ sung LMK trong khẩu phần, dao động từ 53,23 – 60,05%, sự khác biệt giữa các nghiệm thức có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trên bò của Vongsamphanh & Wanapat (2004) bổ sung LMK từ 0 - 600g/con/ngày, có tỷ lệ tiêu hóa DM là 55,1 – 58,3%. Tương tự, nghiên cứu trên trâu của Trịnh Văn Trung và ctv (2007) bổ sung LMK từ 0 – 1,5 kg/con/ngày có tỷ lệ tiêu hóa DM là 53,56 – 62,23%; bổ sung LMK là 1 kg/con/ngày có tỷ lệ tiêu hóa DM là 58,4% (Phengvilaysouk & Wanapat, 2008). Kết quả cho thấy bổ sung CP từ LMK với mức độ hợp lý sẽ làm tăng tỷ lệ tiêu hóa DM Điều này phù hợp với tài liệu của McDonal *et al.* (1995) việc bổ sung protein

sẽ điều chỉnh sự thiếu hụt protein trong khẩu phần và làm tăng tỉ lệ tiêu hóa thức ăn. Tương tự, những nghiên cứu trên bò cho thấy bổ sung urê liên tục trong ngày đã điều chỉnh sự thiếu hụt nitơ trong khẩu phần, làm tăng số lượng thức ăn ăn vào và tăng tỉ lệ tiêu hóa thức ăn (Leng & Preston, 1987).

Tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ tăng theo mức độ bổ sung LMK trong khẩu phần. Tất cả các nghiệm thức cho ăn LMK có tỉ lệ tiêu hóa cao hơn so với lô đối chứng, sự khác biệt giữa các nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Yuangklang *et al.* (2001) tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ trên Trâu của ngọn lá khoai mì khô là 62% và thấp hơn so với nghiên cứu của Phengvilaysouk & Wanapat (2008) tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ trên trâu cho ăn khẩu phần rơm khô bổ sung bột lá khoai mì khô 1 kg/con/ngày là 59,8%. Kết quả này cũng cao hơn so với nghiên cứu Siton *et al.* (2007) tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ trên bò vàng cho ăn khẩu phần rơm khô bổ sung bột lá khoai mì khô 1 kg/ngày là 55% và thấp hơn so với nghiên cứu Ngô Văn Mận & Wiktorsson (2001) cho bò ăn khẩu phần 70% cỏ sả và 30% ngọn lá khoai mì ủ chua có tỉ lệ tiêu hóa chất hữu cơ 59,9%. Do LMK rất giàu chất hữu cơ và chất khoáng thiết yếu, điều này phù hợp với nghiên cứu của Wanapat (2000) LMK có protein thô chiếm 25% và có đầy đủ các acid amin thiết yếu. Ngoài ra, LMK cũng rất giàu các chất khoáng thiết yếu (Fasuji, 2005). Theo tài liệu của Preston & Leng (1987) các chất cần thiết cho sự tổng hợp tế bào của vi sinh vật dạ cỏ như chất hữu cơ (glucose, protein,...) và chất khoáng thiết yếu. Theo McDonal *et al.* (1995) cho thấy nguồn nitơ trong khẩu phần kích thích hoạt động VSV dạ cỏ và tăng tỉ lệ tiêu hóa thức ăn.

Tương tự tỉ lệ tiêu hóa CP cũng tăng dần theo mức độ bổ sung LMK trong khẩu phần. Tăng mức độ bổ sung LMK từ 0 – 30% trong khẩu phần, làm tăng tỉ lệ tiêu hóa CP từ 64,80 - 72,39%, sự khác biệt giữa nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trên bò của Granum *et al.* (2007) và nghiên cứu trên trâu của Phengvilaysouk & Wanapat (2008) thì nghiệm thức bổ sung LMK 1 kg/con/ngày có tỉ lệ tiêu hóa CP cao hơn nghiệm thức đối chứng. Tương tự, thí nghiệm trên trâu của Chanjula *et al.* (2004), tỉ lệ tiêu hóa CP tăng từ 46,4 - 71,4% theo mức độ sử dụng LMK trong khẩu phần. Do LMK có tỉ lệ tiêu hóa CP là 70-75% (Eggum, 1970); Ngoài ra, khi tăng mức độ bổ sung CP trong khẩu phần từ 140 – 230 g/100kg thể trọng bò, thì tỉ lệ tiêu hóa CP cũng tăng theo mức độ CP (Nguyễn Văn Thu, 2012).

Khi tăng mức độ bổ sung LMK từ 0- 30% trong khẩu phần thì tỉ lệ tiêu hóa chất xơ trung tính cũng tăng theo từ 55,1% - 57,75%, sự khác biệt giữa các khẩu phần thí nghiệm có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trên trâu của Chanjula *et al.* (2004), tỉ lệ tiêu hóa NDF là 51,8 - 56,3%, các nghiệm thức bổ sung LMK đều cao hơn so với nghiệm thức đối chứng. Thức ăn cho bò chủ yếu là cỏ, rơm và các phụ phẩm nông nghiệp, có hàm lượng chất xơ cao. Đối với bò chất xơ được tiêu hóa nhờ vi sinh vật trong dạ cỏ lên men cung cấp các

chất dinh dưỡng (axít béo bay hơi) cho vật chủ và vi sinh vật. Những nghiên cứu trên bò thấy khi bổ sung LMK và LM ủ chua trong khẩu phần làm tăng số lượng VSV tổng số so với lô đối chứng (Duong Nguyen Khang & Wiktorsson, 2004; Vongsamphanh & Wanapat, 2004). Do hàm lượng NDF của thức ăn tỉ lệ nghịch với tỉ lệ tiêu hóa thức ăn, chẳng hạn cỏ tự nhiên có NDF cao hơn cây họ đậu, thì cỏ tự nhiên có tỉ lệ tiêu hóa thấp hơn cây họ đậu (McDonald *et al.*, 1995). Vậy bổ sung LMK-20% là phù hợp nhất trong khẩu phần và cho tỉ lệ tiêu hóa chất NDF tốt nhất.

Ngoài ra, chất tannin của LMK bổ sung 1%DM trong khẩu phần không ảnh hưởng đến tỉ lệ tiêu hóa dưỡng chất thức ăn. Kết quả này phù hợp với của Beauchemin *et al.* (2007) bổ sung chất tannin của cây Quebracho 1%DM không ảnh hưởng đến TLTH dưỡng chất thức ăn.

Vậy bổ sung LMK-20% trong khẩu phần cỏ voi có tỉ lệ tiêu hóa dưỡng chất thức ăn cao nhất. Kết quả này phù hợp với khuyến cáo của Vũ Duy Giảng *et al.* (2008) bổ sung LM ủ chua 10 - 20% trong khẩu phần nuôi gia súc là thích hợp nhất. Tương tự, nghiên cứu trên bò sữa của Wanapat (2000), thay thế TĂHH bằng LM khô 0,6 - 1,7kg/con trong khẩu phần thức ăn thô sẽ không ảnh hưởng đến năng suất sữa.

4.3.3 Ảnh hưởng của LMK lên sự sinh khí mê tan trên bò

Sự phát thải khí mê tan trên bò trung bình trong 24h của các nghiệm thức thí nghiệm được trình bày quan bảng 10.

Bảng 10: Sự sinh khí mê tan trên bò của các nghiệm thức

Chỉ tiêu	Nghiệm thức				SEM	P
	LMK-0	LMK-10	LMK-20	LMK-30		
Tổng CH ₄ (L/ngày)	93,12 ^a	91,27 ^a	82,02 ^b	80,91 ^b	1,40	0,002
CH ₄ (L/kg DMI)	34,10 ^a	30,67 ^a	25,78 ^b	26,19 ^b	0,72	0,001
CH ₄ (L/kg OMI)	38,34 ^a	34,40 ^a	28,86 ^b	29,28 ^b	0,81	0,000

Ghi chú: Các chữ ^{a, b} khác nhau trên cùng một hàng là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả cho thấy tính trung bình trong 01 ngày đêm (24h), bò ở nghiệm thức LMK-0 thải khí mê tan cao nhất là 93,12 lít, kế đến bò ở nghiệm thức LMK-10 thải khí mê tan là 91,27 lít, thấp nhất là bò ở nghiệm thức LMK-30 thải khí mê tan là 80,91 lít và bò ở nghiệm thức LMK-20 thải khí mê tan là 82,02 lít. Tính trung bình tổng lượng khí mê tan thải ra trong 24h, sự sai khác nhau giữa các nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Khi tính khí mê tan thải ra trung bình trong 24h trên đơn vị DMI, OMI; sự khác nhau giữa các nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Tính sự phát thải khí mê tan trên bò thí nghiệm so với nghiệm thức LMK-0, thì tỉ lệ phần trăm (%) lượng khí mê tan sản sinh ở nghiệm thức LMK-10 là 90%; nghiệm thức LMK-20 và LMK-30 là 75 - 76%. Như vậy kết quả thí nghiệm cho thấy bổ sung LMK từ 20 trong khẩu phần làm giảm đáng kể sự phát thải khí mê

tan. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trên bò của Tran Hiep *et al.* (2010) bổ sung LMK trong khẩu phần làm giảm phát thải khí mê tan so với khẩu phần cỏ voi.

Ảnh hưởng của LMK trong khẩu phần đến việc giảm phát thải khí mê tan trên bò có thể do hàm lượng chất tannin trong LMK làm giảm số lượng protozoa và giảm sinh khí mê tan. Theo Morgavi *et al.*, (2010) cho thấy loại bỏ protozoa trong dạ cỏ, làm giảm phát thải khí CH₄ trên gia súc nhai lại; có thể do protozoa sản xuất H₂ cung cấp cho vi khuẩn mê tan sản xuất khí CH₄ trong dạ cỏ.

Hàm lượng chất tannin của LMK là 3,92%, kết quả này nằm trong khoảng 3,8 - 4,2% (Duong Nguyen Khang, 2004; Granum *et al.*, 2007; Khuc Thi Hue *et al.*, 2012). Vậy hàm lượng chất tannin của nghiệm thức LMK-20 và LMK-30 dao động từ 7,9 – 10,5g/kg DM thức ăn. Theo Duong Nguyen Khang & Wiktorsson (2004) nuôi bò cho ăn khẩu phần bổ sung LM ỏ chua có chất tannin là 6,7 – 20,2g/ngày, làm giảm số lượng protozoa. Tương tự, nghiên cứu trên trâu của Chanjula *et al.* (2004) cho ăn bổ sung LMK là 20%DM trong khẩu phần, làm giảm số lượng protozoa. Tiếp theo, nghiên cứu trên bò sữa của Khampa (2009) cho ăn bổ sung LMK là 30%DM trong khẩu phần, làm giảm số lượng protozoa. Do tannin trong LMK đóng vai trò quan trọng trong giảm số lượng protozoa; kết quả này cũng phù hợp với báo cáo trước đây của Yuangklang *et al.* (2001). Ngoài ra, vi khuẩn mê tan và protozoa có liên quan đến sự sinh khí CH₄ trong dạ cỏ từ 9-25% (Newbold *et al.*, 1995).

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trên bò của Ngamsaeng (2005) bổ sung vỏ măng cụt (chứa chất tannin là 3,8%) là 150g DM/ngày làm giảm số lượng protozoa trong dạ cỏ. Tiếp theo, nghiên cứu trên cừu của Liu *et al.* (2011) bổ sung chất tannin từ hạt dẻ 10g hoặc 30g/kg DM làm giảm số lượng protozoa và giảm phát thải khí CH₄. Tiếp theo, nghiên cứu trên dê của Bhatta *et al.* (2013) cho thấy nghiệm thức bổ sung chất tannin là 2,8 - 5,6g/kg DM làm giảm phát thải khí CH₄. Tiếp theo, nghiên cứu trên cừu của Mao *et al.* (2010) cho ăn bổ sung chất tannin 3g/ngày từ lá trà làm giảm số lượng protozoa và giảm phát thải khí CH₄. Tương tự, thí nghiệm trên bò của Lila *et al.* (2005) bổ sung chất Sarsaponin 0%, 0,5% và 1%DM làm giảm số lượng protozoa và giảm phát thải khí CH₄. Do cholesterol trong màng tế bào của protozoa nhạy cảm với chất saponin (Bangham & Horne, 1962).

4.4. KẾT LUẬN

Khi tăng mức độ bổ sung LMK là 20% trong khẩu phần cỏ voi trên bò đã làm tăng mức tiêu thụ thức ăn, các dưỡng chất thức ăn ăn vào và tỉ lệ tiêu hóa dưỡng chất thức ăn như DM, OM, CP và NDF.

Bổ sung LMK ở mức 20% vào khẩu phần cỏ voi là tối ưu, do làm giảm đáng kể sự phát thải khí mê tan trên bò.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- AOAC, 1990. Official methods of analysis of AOAC international. 15th edition. Association of official analytical chemist, Washington D. C.
- Ahmad M.I. (1973). Potential fodder and tuber yields of two varieties of tapioca. *Malaysian Agricultural Journal*, Vol. 49. pp. 166-174.
- Babayemi O. J. (2007). *In vitro* fermentation characteristics and acceptability by West African goats of some dry season forages. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 6 (10). pp. 1260-1265.
- Bangham A. D. and R. W. Horne, 1962. Action of saponin on biological cell membranes. *Nature London*, Vol.196, pp. 952.
- Barry T.N. and McNabb W.C. (1999). The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *Brit. J. Nut.*, Vol 81. pp.263-272.
- Beauchemin K. A., S. M. McGinn, T. F. Martinez and T. A. McAllister (2007). Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.*, Vol. 85, pp. 1990-1996.
- Bhatta R., O. Enishi, Y. Yabumoto, I. Nonaka, N. Takusari, K. Higuchi, K. Tajima, A. Takenaka and M. Kurihara (2013). Methane reduction and energy partitioning in goats fed two concentrations of tannin from *Mimosa* spp. *Journal of Agricultural Science*, Vol. 151. pp. 119–128.
- Blümmel M. and E. R. Ørskov (1993). Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, Vol. 40, pp. 109-119.
- Blümmel M., H. P. S. Makkar and K. Becker (1997). *In vitro* gas production: a technique revisited. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, Vol. 77, pp. 24-34.
- Blümmel M., A. Schröder, K-H. Südekum and K. Becker (1999). Estimating ruminal microbial efficiencies in silage-fed cattle: comparison of an *in vitro* method with a combination of *in situ* and *in vivo* measurements. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, Vol. 81, pp. 57–67.
- Bùi Quang Tuấn (2005). Ảnh hưởng của tuổi thu hoạch đến năng suất và chất lượng thức ăn cỏ voi (*Pennisetum purpureum*), cỏ sả (*Panicum maximum*) trồng tại Đan Phượng, Hà Tây. Tạp chí khoa học và phát triển, Số 3, Đại học Nông nghiệp – Hà Nội.
- Carsky R. J. and M. A. Toukourou (2003). Cassava leaf litter estimation in on-farm trials. *Expl Agric.*, Vo. 40. pp. 315–326.
- Chanjula P., M. Wanapat, C. Wachirapakorn and P. Rowlinson (2004). Effect of level of cassava hay and urea-treated rice straw on rumen ecology and digestibility in swamp buffaloes. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, Vol. 17. pp. 663-669.
- Cuzin N. & M. Labat (1992). Reduction of cyanide levels during anaerobic digestion of cassava. *International Journal of Food Science and Technology* (1992) 27, 329-336.
- Carulla J.E., M. Kreuzer, A. Machmuller, and H.D. Hess (2005). Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, Vol. 56, pp. 961-970.
- Dao Lan Nhi, Mai Van Sanh and Le Viet Ly (2001). Supplementing cassava root meal and cassava processed leaves to diets based on natural grasses, maize stover and rice straw for fattening young swamp buffaloes. <http://www.mekarn.org/procbuf/nhi.htm>.
- Dao Lan Nhi, Mai Van Sanh and Le Viet Ly (2001). Supplementing cassava root meal and cassava processed leaves to diets based on natural grasses, maize stover and rice straw for

- fattening young swamp buffaloes. <http://www.mekarn.org/procbuf/nhi.htm>
- Du Thanh Hang and T R Preston (2005). The effects of simple processing methods of cassava leaves on HCN content and intake by growing pigs. *Livestock Research for Rural Development*, Vol. 17. No. 9.
- Duong Nguyen Khang (2004). Cassava foliage as a protein source for cattle in Vietnam. Doctoral thesis Swedish university of Agricultural sciences.
- Duong Nguyen Khang and Hans Wiktorsson (2004). Effects of ensiled cassava tops on rumen environment parameters, thyroid gland hormones and liver enzymes of cows fed urea treated fresh rice straw. *Asian-Aus. J. anim. Sci.*, Vol. 17. pp. 936-941.
- Eggum R. O. (1970). The protein quality of cassava leaves. *Br. J. Nutr.*, Vol. 24. pp. 761-768.
- Fallon R.D., Cooper E.D., Speece R. & Henson M.(1991). Anaerobic biodegradation of cyanide under methanogenic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 57, pp. 1656-1662.
- Fasuyi A. O. (2005). Nutrient composition and processing effects on cassava leaf (*Manihot esculenta*, Crantz) antinutrients. *Pakistan Journal of Nutrition*, Vol. 4. No. 1. pp. 37-42.
- Foiklang S., M. Wanapat and W. Toburan (2010). Effect of various plant protein sources in high-quality feed block on dry matter intake, digestibility and rumen fermentation in swamp buffalo. *Journal of animal and veterinary advances*, Vol. 9. No. 20. pp. 2593-2599.
- France J. and Dijkstra (2005). Volatile fatty acid production. CABI Publishing, Cambridge, USA. pp. 157-175.
- Gerson T., A. S. D. King, K. E. Kelly and W. J. Kelly (1987). Influence of particle size and surface area on in vitro rates of gas production, lipolysis of triacylglycerol and hydrogenation of linoleic acid by sheep rumen digesta or *Ruminococcus flavefaciens*. *J. agric. Sci.*, Vol. 110, pp. 31-37.
- Getachew G., M. Blummel, H.P.S. Makkar and K. Bekker (1998). In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, Vol. 72, pp. 261-281.
- Gomez G. and Valdivieso M. (1984). Cassava for animal feeding: effect of variety and plant age on production of leaves and roots. *Animal Feed Science and Technology*, Vol.11. pp. 49-55.
- Goering H. K., Van Soest P. J. (1970). Forage fiber analyses. *Agricultural Handbook 379*, Washington D. C., USA.
- Granum G., M. Wanapat, P. Pakdee, C. Wachirapakorn and W. Toburan (2007). A comparative study on the effect of cassava hay supplementation in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) and cattle (*Bos indicus*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, Vol. 20. No. 9. pp. 1389 – 1396.
- Hess H.D., M. Kreuzer, T.E. Díaz, C.E. Lascano, J.E. Carulla, C.R. Soliva, A. Machmüller (2003). Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Animal Feed Science and Technology*, Vol. 109. pp.79-94.
- Ho Quang Do, Tran Duy Khoa, Trinh Phuc Hao and T R Preston (2012). Protein solubility in different forages and methane production in an in vitro incubation. *Proceedings of the International Conference Livestock-Based Farming Systems, Renewable Resources and the Environment 6-9 June 2012, Dalat, Vietnam.*
- Ho Thanh Tham, Ngo Van Man and T R Preston (2008). Performance of young cattle fed rice straw sprayed with mixture of urea and molasses supplemented with different levels of cassava leaf meal. *Livestock Research for Rural Development*, Vol. 20.
- Johnson K. A. and D. E. Johnson (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, vol. 73, no. 8, pp. 2483–2492.
- Joomjantha S. and M. Wanapat (2008). Effect of supplementation with tropical protein-rich feed

- resources on rumen ecology, microbial protein synthesis and digestibility in swamp buffaloes. Livestock Research for Rural Development, Vol. 20.
- Khampa S. (2009). Effects of malate level and cassava hay in high-quality feed block on rumen ecology and digestibility of nutrients in lactating dairy cows raised under tropical condition. International Journal of Livestock Production, Vol. 1. pp. 6-11.
- Khuc Thi Hue, Do Thi Thanh Van and Inger Ledin (2008). Effect of supplementing urea treated rice straw and molasses with different forage species on the performance of lambs. Small Ruminant Research. Elsevier, Vol. 78. pp. 134–143.
- Khuc Thi Hue, Do Thi Thanh Van, Inger Ledin, Ewa Wredle, and Eva Spörndly (2012). Effect of Harvesting Frequency, Variety and Leaf Maturity on Nutrient Composition, Hydrogen Cyanide Content and Cassava Foliage Yield. Asian-Aust. J. Anim. Sci., Vol. 25. No. 12. pp. 1691-1700.
- Lê Hoa và Bùi Quang Tuấn (2009). Năng suất, chất lượng một cây thức ăn gia súc (*Pennisetum purpureum*, *Panicum maximum*, *Brachiaria ruziriensis*, *Stylosanthes guianensis*) trồng tại Đắk Lắk. Tạp chí khoa học và phát triển, số 3, Đại học Nông nghiệp – Hà Nội.
- Le Thuy Binh Phuong, T R. Preston and R A. Leng (2012). Effect of foliage from “sweet” and “bitter” cassava varieties on methane production in *in vitro* incubation with molasses supplemented with potassium nitrate or urea. Livestock Research for Rural Development 24, (10).
- Lee H. J, S. C. Lee, J. D. Kim, Y. G. Oh, B. K. Kim¹, C. W. Kim¹, K. J. Kim (2003). Methane Production Potential of Feed Ingredients as Measured by In Vitro Gas Test. Asian-Aust. J. Anim. Sci., Vol 16, No. 8, pp. 1143-1150.
- Lila Z. A., N. Mohammed, S. Kanda, M. Kurihara and H. Itabashi (2005). Sarsaponin effects on ruminal fermentation and microbes. methane production, digestibility and blood metabolites in steers. Asian-Aust. J. Anim. Sci., Vol 18. No. 12. pp. 1746-1751.
- Liu H., V. Vaddella and D. Zhou (2011). Effects of chestnut tannins and coconut oil on growth performance, methane emission, ruminal fermentation and microbial populations in sheep. J Dairy Sci., Vol. 94. No. 12. pp. 6069-77.
- Lopéz S., J. Dijkstr and J France (2000). Prediction on energy supply in ruminant with emphasis on forage, Forage Evaluatino in Ruminant Nutritive. CABI, pp. 63-94.
- Makkar H. P. S. (2003). Recent advances in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. FAO, Pub. Sci. J. Con. Proc.
- Makkar H., P.S. Blummel and M. K. Becker (1995). Formation of complexea between polyvinyl pyrrolidone and polyethylene glycol with tannins and their implications in gas production and true digestibility in in vitro techniques. Br. J. Nutr., Vol. 73, pp. 897-913.
- Mao Hui-Ling, Jia-Kun Wang, Yi-Yi Zhou and Jian-Xin Liu (2010). Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. Livestock Science, Vol. 129. pp. 56–62.
- Marjuki, H E. Sulistyoy, D W. Rini, I. Artharini, Soebarinoto and R. Howeler (2008). The use of cassava leaf silage as a feed supplement in diets for ruminants and its introduction to smallholder farmers. Livestock Research for Rural Development, Vol. 20.
- McDonald P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh and C.A. Morgan (1995). Animal nutrition (5th edition). Longman Singapore publisher Ltd..
- McDonald P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh, C.A. Morgan, L.A. Sinclair and R.G. Wilkinson (2002). Animal nutrition (7th edition). Longman Singapore publisher Ltd..
- McDougall E. I (1948). Studies on ruminant saliva. The composition and output of sheeps saliva. Biochem. J., Vol. 43, pp. 99-109.
- Menke K. H. and H. Steingass (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from

- chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, Volume 28. pp. 7-55.
- Menke K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J. agric. Sci.*, Vol. 93, pp. 217-222.
- Molano G. and H. Clark (2008). The effect of level of intake and forage quality on methane production by sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Vol. 48, No. 2, pp. 219-222.
- Morgavi D. P., E. Forano, C. Martin and C. J. Newbold (2010). Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal J.*, Vol. 4. No.7. pp. 1024–1036.
- Newbold C.J., B. Lassalas and J.P. Jouany (1995). The importance of methanogens associated with ciliate protozoa in ruminal methane production in vitro. *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 21. No. 4. pp. 230–234.
- Ngamsaeng A. (2005). Effects of supplementing local plants on rumen fermentation, microbial protein synthesis, digestibility and voluntary feed intake in beef cattle steers. Masteral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Nguyen Ba Mui, Đàng Thai Hai, Bui Huy Doanh and T R Preston (2010). Effect of supplementation with cassava leaf hay on growth rate of indigenous (Co) goats and F1 (Bach Thao x Co) crossbred goats kept under a free ranging system. <http://www.mekarn.org/workshops/pakse/html/mui.hua.htm>.
- Nguyen Thi Thu Hong, M. Wanapat, C. Wachirapakorn, P. Pakdee and P. Rowlinson (2003). Effects of timing of initial cutting and subsequent cutting on yields and chemical compositions of cassava hay and its supplementation on lactating dairy cows. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, Vol 16. No. 12. pp. 1763-1769.
- Nguyễn Văn Thu (2012). Sự đáp ứng về sự tiêu hóa thức ăn, các thông số dạ cỏ và sự tích lũy đạm của bò lai Sind đến các mức độ đậm thô trong khẩu phần bằng bổ sung bánh đa dinh dưỡng. Hội nghị khoa học Nông nghiệp CAAB, pp. 159-166.
- Nguyễn Viên (2011). Bước đầu nghiên cứu sự ảnh hưởng của tannin lên sự sinh khí trong in vitro. LVTN – ĐHCT.
- Ngô Văn Mận and Hans Wiktorsson (2001). The effect of molasses on quality, feed intake and digestibility by heifers of silage made from cassava tops, *International Workshop on Current Research and Development on Use of Cassava as Animal Feed*. <http://www.mekarn.org/procKK/man.htm>.
- Normanha E. S. (1962). Meal of stalks and leaves of cassava. *Agronomica Venezuela*. Vol. 14. pp. 16-19.
- Outhen Phommasack, T R Preston and R A Leng (2011). Effect of supplementation with urea or calcium nitrate and cassava leaf meal or fresh cassava leaf in an in vitro incubation using a basal substrate of sugar cane stalk, *Livestock Research for Rural Development*, Vol. 23 (2), <http://www.lrrd.org/lrrd23/2/outh23023.htm>
- Phengvilaysouk A. and M. Wanapat (2008). Effect of coconut oil and cassava hay supplementation on rumen ecology, digestibility and feed intake in swamp buffaloes. *Livestock Research for Rural Development*, Vol. 20. No 6.
- Phommasack Outhen, T R. Preston and R A. Leng (2011). Effect of supplementation with urea or calcium nitrate and cassava leaf meal or fresh cassava leaf in an in vitro incubation using a basal substrate of sugar cane stalk. *Livestock Research for Rural Development*, Vol. 23, No. 2.
- Preston T.R. and R.A. Leng (1987). Các hệ thống chăn nuôi gia súc nhai lại dựa trên nguồn tài

- nguyên sản có ở vùng nhiệt đới và á nhiệt đới. NXB. Nông nghiệp-Hà Nội.
- Puchala R., B.R.Min, A. L. Goetsch, and T. Sahl (2005). The effect of a condensed tannin containing forage on methane emission by goats. *Journal Animal Science*, Vol. 83, pp. 182-186.
- Ravindran V. and Rajaguru A. S. B. (1988). Effect of stem pruning on cassava root yield and leaf growth. *Sri Lankan Journal of Agricultural Science*, Vol. 25. pp. 32-37.
- Sangkhom Inthapanya, T R. Preston, Duong Nguyen Khang and R A. Leng (2012). Effect of potassium nitrate and urea as fermentable nitrogen sources on growth performance and methane emissions in local “Yellow” cattle fed lime (Ca(OH)₂) treated rice straw supplemented with fresh cassava foliage. *Livestock Research for Rural Development* , Vol.24 (2).
- Shibata M., Terada F, Kurihara M, Nishida T, Iwasaki K. (1993). Estimation of methane production in ruminants. *Animal Science and Technology*, Vol. 64, pp. 790–796.
- Siton K., P. Ammaly, V. Phanthavong, K. Soukanh, P. Vanthong and Wanapat (2007). Effect of salt (NaCl) addition to fresh cassava foliage on ruminal ecology, digestibility and rice straw intake in native cattle. *Matching Livestock Systems with Available Resources*, Mekarn conference. <http://mekarn.org/workshops/prohan/siton.htm>.
- Terry JMA and R.A. Telly (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.*, Vol. 18, pp. 104-111
- Tiemann T. T., C. E. Lascano, H. R. Wettstein, A. C. Mayer, M. Kreuzer and H. D. Hess (2008). Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. *Animal J.*, Vol. 2, No. 5, pp. 790–799.
- Trần Công Khanh (2010). Kỹ trồng khoai mì, Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm giống Hưng Lộc. Viện Khoa học nông nghiệp Miền Nam.
- Trần Hiệp, Đặng Vũ Hòa, Vũ Chí Cương and Nguyễn Xuân Trạch (2010). Prediction and evaluation of methane emission of growing cattle diets in Vietnam based on fecal near infrared reflectance spectroscopy. *Proceedings of MEKARN Conference on Live stock production, climate change and resource depletion, held on 9 - 11 November 2010 in Pakse, Laos.*
- Trịnh Văn Trung và Mai Văn Sán (2006). Ảnh hưởng của bột lá sắn trong khẩu phần đến khả năng thu nhận và phân giải thức ăn trong dạ cỏ trâu. *Tạp chí khoa học Chăn nuôi*, số 3.
- Viện Chăn nuôi (2001). Thành phần và giá trị dinh dưỡng thức ăn gia súc, gia cầm Việt Nam. NXB. Nông nghiệp-Hà Nội.
- Vongsamphanh P. and M. Wanapat (2004). Comparison of cassava hay yield and chemical composition of local and introduced varieties and effects of levels of cassava hay supplementation in native beef cattle fed on rice straw. *Livestock Research for Rural Development*, Vol. 16. No. 8.
- Vũ Chí Cương, Lê Minh Linh, Đinh Văn Tuyền, Nguyễn Việt Đôn và Nguyễn Thiện Trường Giang (2010). Ước tính lượng CO₂, CH₄ thải ra môi trường ở bò tơ lơ hướng sữa lai 75% HF bằng phương pháp trực tiếp. *Báo cáo khoa học năm 2010, Viện Chăn nuôi.*
- Vũ Duy Giảng, Nguyễn Xuân Bả, Lê Đức Ngoan, Nguyễn Xuân Trạch, Vũ Chí Cương và Nguyễn Hữu Văn (2008). *Dinh dưỡng và thức ăn cho bò*. NXB. Nông nghiệp - Hà Nội.
- Wanapat M, Puramongkon T and Siphuak W (2000). Feeding of cassava hay for lactating dairy cows during the dry season. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, Vol. 13. pp. 478-482.
- Wanapat M. (2001). Role of cassava hay as animal feed in the tropics. *International Workshop on Current Research and Development on Use of Cassava as Animal Feed.*

<http://www.mekarn.org/procKK/wana3.htm>

Wilkerson V. A., D. P. Casper and D. R. Mertens (1995). The prediction of methane production of holstein cows by several equations. *J. Dairy Sci.*, Vol. 78, pp. 2402–2414.

Yasuo Kobayashi (2010). Abatement of Methane Production from Ruminants: Trends in the Manipulation of Rumen Fermentation. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, Vol. 23, No. 3 : pp. 410 – 416

Yuangklang C., S. Wora-anu, M. Wanapat, N. Nontaso and C. Wachirapakorn (2001). Effects of roughage source on rumen microbes, feed intake and digestibility in swamp buffaloes. Use of Cassava as Animal Feed. <http://www.mekarn.org/procKK/yuan.htm>.