

BIỂU HIỆN GEN SINH CƠ Ở GÀ RI LAI VÀ LƯƠNG PHƯỢNG KHI ĐƯỢC NUÔI BẰNG CÁC KHẨU PHẦN CÓ MỨC METHIONINE KHÁC NHAU

Hồ Lê Quỳnh Châu*, Thân Thị Thanh Trà, Dương Thị Hương, Đinh Văn Dũng,
Hồ Trung Thông

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

*Tác giả liên hệ: holequynhchau@huaf.edu.vn

Nhận bài: 05/05/2021 Hoàn thành phản biện: 18/05/2021 Chấp nhận bài: 31/05/2021

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của các mức methionine khác nhau trong khẩu phần đến mức biểu hiện gen sinh cơ ở gà Ri lai và Lương Phượng 12 tuần tuổi. Tổng cộng 240 Ri lai và 240 gà Lương Phượng 1 ngày tuổi được bố trí vào thí nghiệm 2×3 yếu tố với 4 lần lặp lại trên 20 con gà. Ba khẩu phần có hàm lượng methionine khác nhau (thấp, trung bình, cao so với mức methionine khuyến cáo của Evonik (2010) cho nhóm gà lông màu) được sử dụng để nuôi gà. Khi gà đủ 12 tuần tuổi, tổng cộng 36 con gà ở 2 nhóm gà thí nghiệm được chọn lựa ngẫu nhiên để đánh giá khối lượng và tỷ lệ cơ ức, mức biểu hiện các gen myostatin, myf5, MEF2B trong cơ ức bằng kỹ thuật RT-realtime PCR. Kết quả cho thấy sử dụng khẩu phần có mức methionine cao hơn 0,08% so với mức khuyến cáo của Evonik (2010) cho gà lông màu đã làm tăng đáng kể khối lượng cơ ức ở cả 2 nhóm gà Ri lai và Lương Phượng. Tăng 0,08% methionine trong khẩu phần của gà Ri lai so với khuyến cáo của Evonik (2010) đã làm giảm biểu hiện gen myostatin và tăng biểu hiện gen MEF2B ở gà Ri lai. Ngược lại, giảm 0,08% methionine trong khẩu phần so với khuyến cáo đã không ảnh hưởng đến biểu hiện của cả 3 gen sinh cơ myostatin, myf5 và MEF2B so với khi sử dụng khẩu phần có mức methionine bằng với khuyến cáo của Evonik (2010). Trong khi đó, việc gia tăng hàm lượng methionine trong khẩu phần đã làm giảm biểu hiện gen myostatin, tăng biểu hiện gen myf5 và MEF2B ở gà Lương Phượng.

Từ khóa: Gen sinh cơ, Lương Phượng, Methionine, Ri lai

MYOGENIC GENE EXPRESSION IN RI HYBRID AND LUONG PHUONG CHICKENS FED DIETS WITH DIFFERENT INCLUSION LEVELS OF METHIONINE

Ho Le Quynh Chau*, Than Thi Thanh Tra, Duong Thi Huong, Dinh Van Dung,
Ho Trung Thong

University of Agriculture and Forestry, Hue University

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effects of methionine concentrations in diet on the expression of myogenic genes in Ri hybrid and Luong Phuong chickens at 12 weeks of age. A total of 240 Ri hybrid and 240 Luong Phuong one-day-old chickens of uniform body weight was divided into a 2 × 3 factorial arrangement of treatments with four replicate cages of 20 chicks per treatment. Six treatments were set up including 2 chicken types and three diets with low, adequate, high methionine concentrations compared to methionine level recommended by Evonik (2010) for colored chickens. At 12 weeks of age, 36 chickens from 2 groups were randomly chosen for the absolute and relative breast muscle weight calculation, and myogenic gene expression evaluation (myostatin, myf5, MEF2B) in breast muscle using RT-realtime PCR technique. The results showed that using the 0.08% higher of methionine level in diets than Evonik recommendation (2010) improved the absolute weight of breast muscle of the two colored chicken groups. The addition of methionine with 0.08% higher than Evonik recommendation (2010) decreased myostatin and increased MEF2B gene expression in Ri hybrid. On the other hand, using the 0.08% lower of methionine level in diets had no effect on gene expression of the three myogenic genes (myostatin, myf5 and MEF2B) comparing to using the adequate methionine diets. In the case of Luong Phuong chickens, the increasing methionine level in diets reduced myostatin gene expression, but increased myf5 and MEF2B gene expression.

Keywords: Luong Phuong, Methionine, Myogenic gene, Ri hybrid

1. MỞ ĐẦU

Methionine là thành phần thiết yếu trong trao đổi protein, cung cấp nhóm methyl cho tổng hợp choline và betaine (Corzo và cs., 2006; Wen và cs., 2014). Ngoài ra, methionine cũng có vai trò trong sinh tổng hợp carnitine, từ đó ảnh hưởng đến quá trình trao đổi lipid bằng cách thúc đẩy oxy hóa các acid béo (Nukreaw và cs., 2011). Methionine là amino acid giới hạn thứ nhất trong hầu hết thức ăn nuôi gia cầm. Việc cung cấp đầy đủ methionine trong khẩu phần đóng vai trò rất quan trọng nhằm tối ưu hóa sinh trưởng và năng suất thịt ở gia cầm (Wen và cs., 2017). Các dữ liệu về nồng độ methionine trong khẩu phần cho gà thịt theo khuyến cáo hiện nay thông thường là mức methionine tối thiểu nhằm đáp ứng hoạt động sản xuất nói chung (Wen và cs., 2017). Trong khi đó, các nhóm gà có tốc độ sinh trưởng khác nhau có thể có thể có nhu cầu methionine khác nhau. Do đó, chúng có thể có những phản ứng khác nhau với hàm lượng methionine trong khẩu phần (Wen và cs., 2017).

Các yếu tố điều hòa sinh cơ bao gồm myoD1 (yếu tố biệt hóa sinh cơ 1), myf5 (yếu tố sinh cơ 5), myogenin, MRF4 (yếu tố điều hòa cơ 4) và MEF2 (yếu tố tăng cường tế bào cơ 2), myostatin có vai trò rất quan trọng trong phát triển cơ vân (Hennebry và cs., 2009; Townley-Tilson và cs., 2010; Wen và cs., 2017). Một số kết quả nghiên cứu cho thấy dinh dưỡng có tác động đến sự biểu hiện của các yếu tố điều hòa sinh cơ ở người (Drummond và cs., 2009) và động vật (Alami-Durante và cs., 2011). Kết quả nghiên cứu của Wang và McPherron (2011) cho thấy myostatin là yếu tố điều hòa âm đối với sự tăng trưởng của cơ vân; ức chế myostatin sẽ giúp cơ vân tăng trưởng. Ngoài

ra, việc gia tăng hàm lượng methionine trong khẩu phần nuôi gà thịt giúp tăng khối lượng cơ ức có liên quan đến sự biểu hiện của các gen myostatin, myf5 và MEF2B (Wen và cs., 2014). Tuy nhiên, cho đến nay thông tin về mối liên quan giữa methionine và sự biểu hiện của các gen mã hóa cho các yếu tố điều hòa sinh cơ vẫn còn ít. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm so sánh ảnh hưởng của việc bổ sung các mức methionine trong khẩu phần đến biểu hiện gen sinh cơ ở hai nhóm gà thịt lông màu Ri lai và Lương Phượng đang được nuôi phổ biến ở miền Trung, từ đó làm cơ sở cho việc xây dựng khẩu phần phù hợp cho hai nhóm gà này ở Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Động vật và thức ăn thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành tại trang trại Halifarm, xã Hương Long, huyện Hương Trà, tỉnh Thừa Thiên Huế và các phòng thí nghiệm của trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế. Tổng cộng 480 con gà 1 ngày tuổi (240 Ri lai và 240 Lương Phượng) được bố trí ngẫu nhiên vào 24 ô chuồng. Thí nghiệm được tiến hành với 6 nghiệm thức (2 nhóm gà và 3 khẩu phần). Mỗi nghiệm thức được tiến hành với 4 lần lặp lại trên 20 con gà. Ba khẩu phần có hàm lượng methionine khác nhau (thấp, trung bình, cao so với mức methionine khuyến cáo của Evonik (2010) cho nhóm gà lông màu) được sử dụng để nuôi gà. Khẩu phần thí nghiệm với mức methionine trung bình (MA) được thiết lập bằng mức methionine khuyến cáo của Evonik (2010) cho gà lông màu các giai đoạn 1-14, 15-30, 31-45 và từ 46 ngày tuổi đến kết thúc thí nghiệm. Các khẩu phần với mức methionine thấp (ML) và cao (MH) được thiết kế dựa trên khẩu phần thí nghiệm

với mức methionine trung bình $\pm 0,08\%$ methionine.

Để thiết lập các khẩu phần thí nghiệm, các loại nguyên liệu thức ăn được mua một lần trước khi bắt đầu thí nghiệm, sau đó trộn thật đồng đều ngay trong cùng một loại nguyên liệu, lấy mẫu đại diện để phân tích thành phần dinh dưỡng tổng số theo AOAC (1990). Sau đó đối chiếu thành phần dinh dưỡng của nguyên liệu thí nghiệm với loại thức ăn tương ứng có giá trị

dinh dưỡng tương đương trong cơ sở dữ liệu AMINODAT 4.0 của Evonik (2010) để tham khảo và sử dụng các giá trị SID amino acid, năng lượng trao đổi ME nhằm xây dựng các khẩu phần thí nghiệm (bảng 1). Thành phần nguyên liệu và giá trị dinh dưỡng của các khẩu phần được trình bày ở bảng 2. Ngoại trừ CP, EE và CF, các thành phần dinh dưỡng còn lại ở bảng 1 và bảng 2 đều là giá trị ước tính dựa vào cơ sở dữ liệu của Evonik (2010).

Bảng 1. Giá trị dinh dưỡng của các nguyên liệu thức ăn

Thành phần dinh dưỡng	Đơn vị (nguyên trang)	Ngô	Khô dầu đậu tương	Bột cá	Đậu tương nguyên dầu
ME	Kcal/kg	3225	2414	2827	3277
CP	%	7,65	47,19	64,60	36,40
EE	%	3,80	1,80	5,30	18,70
CF	%	2,10	3,10	0,70	5,80
SID Lys	%	0,174	2,672	3,810	1,960
SID Met	%	0,137	0,582	1,349	0,428
SID Cys	%	0,144	0,562	0,378	0,436
SID Thr	%	0,217	1,564	1,870	1,151
SID Trp	%	0,044	0,580	0,447	0,415
SID Arg	%	0,321	3,202	2,758	2,405
SID Ile	%	0,227	1,921	2,095	1,414
SID Leu	%	0,850	3,214	3,601	2,397
SID Val	%	0,311	1,968	2,385	1,456
SID His	%	0,195	1,135	0,923	0,852
SID Phe	%	0,318	2,128	1,927	1,567

Bảng 2. Thành phần nguyên liệu và giá trị dinh dưỡng của các khẩu phần thí nghiệm

	1-14 ngày tuổi			15-30 ngày tuổi			31-45 ngày tuổi			Từ 46 ngày tuổi		
	ML	MA	MH	ML	MA	MH	ML	MA	MH	ML	MA	MH
Thành phần nguyên liệu (%)												
Ngô	48,7	48,6	48,5	54,6	54,5	54,5	56,6	56,5	56,5	62,3	62,2	62,17
Khô dầu đậu tương	0	2	4	6	8	0	7	9	1	4	6	20,00
Bột cá	32,0	32,0	32,0	27,2	27,2	27,2	21,1	21,1	21,1	20,0	20,0	20,00
Đậu tương nguyên	0	0	0	5	5	5	0	0	0	0	0	-
Đậu tương nguyên	-	-	-	0,80	0,80	0,80	0,40	0,40	0,40	-	-	-
Dầu thực vật	11,5	11,5	11,5	9,50	9,50	9,50	15,0	15,0	15,0	10,4	10,4	10,40
DCP 19%	4	4	4	4,50	4,50	4,50	4,05	4,05	4,05	4,70	4,70	4,70
Bột đá vôi	4,08	4,08	4,08	1,50	1,50	1,50	0,90	0,90	0,90	0,81	0,81	0,81
L-Lysine.HCl	1,50	1,50	1,50	1,30	1,30	1,30	1,43	1,43	1,43	1,32	1,32	1,32
DL-Methionine	0,18	0,18	0,18	0,01	0,01	0,01	-	-	-	-	-	-
L-Threonine	0,14	0,22	0,30	0,07	0,15	0,23	0,04	0,12	0,20	0,00	0,08	0,17
Broiler 500*	0,10	0,10	0,10	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,03	0,03
Muối	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Tổng	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Thành phần dinh dưỡng (nguyên trạng)												
ME, kcal/kg	3039	3037	3034	3106	3103	3100	3156	3153	3151	3201	3198	3195
CP, %	22,6	22,5	22,7	20,2	20,1	21,2	19,9	19,9	19,8	17,2	17,3	17,4
EE, %	7,21	7,53	7,39	7,75	7,12	7,88	6,47	6,41	6,49	7,69	7,51	7,91
CF, %	2,38	2,38	2,37	2,53	2,71	2,41	3,01	3,29	3,17	2,94	3,13	3,13
SID Lys, %	1,31	1,31	1,31	1,05	1,05	1,05	0,97	0,97	0,97	0,85	0,85	0,85
SID Met, %	0,44	0,52	0,60	0,35	0,43	0,51	0,31	0,39	0,47	0,25	0,33	0,41
SID Cys, %	0,30	0,30	0,30	0,28	0,28	0,28	0,27	0,27	0,27	0,25	0,25	0,25
SID Met+Cys, %	0,74	0,82	0,90	0,63	0,71	0,78	0,57	0,65	0,73	0,49	0,57	0,66
Ca, %	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,90	0,90	0,90	0,80	0,80	0,80
P, %	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,35	0,35	0,35	0,30	0,30	0,30

ML: khẩu phần methionine thấp, MA: khẩu phần methionine trung bình, MH: khẩu phần methionine cao.

* 1kg Broiler-500 chứa: 6.000.000 UI vitamin A, 17.000mg vitamin E, 1.460mg vitamin K, 1.500mg vitamin B1, 80mg biotin, 40.000-44.000mg Zn, 90.000-98.000mg Mn, tá dược

2.2. Nuôi gà và các chỉ tiêu theo dõi

Tách chiết RNA tổng số

Trong giai đoạn 0 đến 12 tuần tuổi, gà được cho ăn tự do. Khi gà thí nghiệm đủ 12 tuần tuổi, 36 con gà (18 Ri lai và 18 Lương Phượng) được chọn lựa ngẫu nhiên để thu mẫu cơ ức. Tỷ lệ trống/mái ở mỗi nhóm là 1/1. Gà được nhốt riêng trước một ngày, không ăn mà chỉ được uống nước (Nguyễn Bá Mùi và cs., 2012). Tiến hành mổ khảo sát theo Bùi Quang Tiến (1993) để đánh giá khối lượng và tỷ lệ cơ ức. Ngoài ra, toàn bộ 36 mẫu cơ ức từ 2 nhóm gà thí nghiệm được sử dụng để nghiên cứu mức độ biểu hiện các gen sinh cơ myostatin, myf5, MEF2B bằng kỹ thuật RT-realtime PCR.

Các mẫu cơ ức sau khi được tách ra khỏi cơ thể gà thí nghiệm được bảo quản ở -35°C. RNA tổng số của các mẫu cơ ức được tách bằng Total RNA Purification kit (Cat. #17200, Norgen, Biotek, Canada) theo quy trình của nhà sản xuất. Nồng độ và độ tinh sạch của RNA được đo bằng máy quang phổ Nanodrop (Thermo Scientific, USA).

Tiến hành tổng hợp cDNA

Các mẫu RNA tổng số được sử dụng làm khuôn mẫu để tổng hợp cDNA bằng thông qua phản ứng phiên mã ngược. Kit được sử dụng là iScript™ cDNA synthesis kit (Biorad, USA). Thành phần phản ứng bao gồm: 4μl 5× iScript reaction mix, 1μl iScript reverse transcriptase và 15μl dung dịch RNA (chứa 0,2-1μg). Tổng thể tích phản ứng là 20μl. Các ống chứa dung dịch phản ứng được cho vào máy luân nhiệt Mastercycler Nexus (Eppendorf, Đức) để tổng hợp cDNA với chu trình nhiệt là gắn primer ở 25°C trong 5 phút; phiên mã ngược ở 46°C trong 20 phút; bất hoạt phiên mã ngược ở 95°C trong 1 phút; lưu giữ ở 4°C/∞. Pha loãng các mẫu cDNA với tỉ lệ 1/10 để

sử dụng làm khuôn mẫu cho PCR theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

Tiến hành PCR

Kỹ thuật PCR bán định lượng được tiến hành trên các mẫu cDNA, các cặp primer đặc hiệu với Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master mix kit (Thermo Scientific) trên hệ thống Real-timePCR QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific). PCR được tiến hành trên các gen sinh cơ myostatin, myf5 và MEF2B và gen tham chiếu GAPDH. Trình tự và kích thước các cặp primer được trình bày ở Bảng 3.

PCR được thực hiện với các thành phần phản ứng sau: 6μl Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master mix (2×); 0,1μM mỗi loại primer, 1μl dung dịch cDNA. Tổng thể tích phản ứng là 12μl.

Bảng 3. Các cặp primer đặc hiệu

Gen	Mã số trên Gene bank	Trình tự primer (5' – 3')	Kích thước sản phẩm (bp)
Myostatin	NM_001001461	GGGACGTTATTAAGCAGC ACTCCGTAGGCATTGTGA	153
Myf5	NM_001030363	CTTCGAGGCGGGCTACTG AGAGAGGCGGTCCACGAT	106
MEF2B	XM_430389	CACAGCCTCACTGGTTTCCC GACACCCGCTCTGACTTGATG	230
GAPDH	NM_204305	AGAACATCATCCCAGCGTCC CGGCAGGTCAGGTCAACAAC	133

Chu trình nhiệt của phản ứng: 95°C/30''; 40× (95°C/5'', 60°C/31''); tiếp theo là giai đoạn phân ly cuối cùng (95°C/15''; 60°C/1'; 95°C/15''; 60°C/15''). Mỗi phản ứng được tiến hành với 2 lần lặp lại. Mức độ biểu hiện gen sinh cơ trên các mẫu cơ ức được tính toán theo phương pháp 2^{-ΔΔCt} (Livak và Schmittgen, 2001). Lượng mRNA của mỗi gen sinh cơ trên gà Lương Phượng được nuôi bằng khẩu phần có mức methionine bằng với khuyến cáo của Evonik (2010) được gán giá trị 1 (đơn vị bất kỳ).

2.3. Xử lý thống kê

Số liệu thí nghiệm được xử lý sơ bộ bằng Microsoft Excel 2016 và phân tích thống kê theo phương pháp thống kê sinh

viết học trên phần mềm Minitab 16. Tukey test được sử dụng để so sánh giá trị trung bình với độ tin cậy 95%. Các giá trị trung bình được coi là khác nhau có ý nghĩa thống kê khi p ≤ 0,05.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy khối lượng cơ ức của gà Ri lai cao nhất ở nghiệm thức MH (167g) và sai khác có ý nghĩa thống kê so với hai nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ cơ ức của gà Ri lai giữa 3 nghiệm thức. Trong khi đó, khối lượng và tỷ lệ cơ ức của gà Lương Phượng cao nhất ở nghiệm thức MH và sai khác có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức MA và ML. Điều này cho thấy việc gia tăng methionine

trong khẩu phần cao hơn 0,08% so với mức khuyến cáo của Evonik (2010) đã làm tăng khối lượng tuyệt đối của cơ ức của gà Ri lai và gà Lương Phượng thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu của Ahmed và Abbas (2011)

cũng đã chỉ ra rằng việc gia tăng 120% và 130% hàm lượng methionine trong khẩu phần đã làm tăng khối lượng tương đối và khối lượng tuyệt đối của cơ ức gà broiler so với đối chứng.

Bảng 4. Khối lượng và tỷ lệ cơ ức của gà thí nghiệm

Chỉ số	Ri lai				Lương Phượng				Pmức methionine x nhóm gà
	ML	MA	MH	p	ML	MA	MH	p	
Khối lượng giết mổ (g)	1260,5 ^b	1268,2 ^b	1376,5 ^a	0,00	1823,7 ^b	1852,3 ^a	1861,0 ^a	0,00	0,12
Khối lượng thân thịt (g)	845,7 ^b	862,5 ^b	952,3 ^a	0,00	1278,3	1284,8	1290,2	0,56	0,98
Khối lượng cơ ức (g)	149,0 ^b	151,5 ^b	167,0 ^a	0,01	239,8 ^b	236,2 ^b	265,8 ^a	0,00	0,02
Tỉ lệ cơ ức (%)	17,61	17,55	17,53	0,99	18,74 ^b	18,37 ^b	20,62 ^a	0,00	0,06

Các giá trị trung bình trong cùng một hàng có ít nhất một chữ cái giống nhau thì sự sai khác không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$

Sau khi tách chiết RNA tổng số từ 36 mẫu cơ ức của gà thí nghiệm (18 mẫu gà Ri lai và 18 mẫu gà Lương Phượng) bằng Total RNA Purification kit (Cat. #17200, Norgen, Biotek, Canada), nồng độ và độ tinh sạch của các dung dịch RNA được xác định bằng máy quang phổ Nanodrop (Thermo Scientific, USA). Kết quả cho thấy các dung dịch RNA tổng số có nồng độ từ 23,6 - 37,8 ng/ μ l. Tỉ lệ A260/A280 dao động từ 1,71 - 1,92. Như vậy có thể thấy rằng các dung dịch RNA tổng số có độ tinh sạch khá tốt, có thể sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả tính toán lượng mRNA tương đối trong các mẫu cơ ức của hai nhóm gà lông màu thí nghiệm theo phương pháp $2^{-\Delta\Delta Ct}$ được trình bày ở bảng 5 và bảng 6. Nhóm gà và mức methionine trong khẩu phần đều có ảnh hưởng đến biểu hiện gen myostation, myf5 và MEF2B (bảng 5). Đối với gen myostatin, lượng mRNA ở cơ ức gà Ri lai thấp nhất ở nghiệm thức MH và sai khác có ý nghĩa thống kê so với hai nghiệm thức còn lại. Điều này cho thấy khi tăng 0,08% methionine trong khẩu phần của gà

Ri lai so với mức khuyến cáo của Evonik (2010) đã làm giảm biểu hiện gen myostatin ở nhóm gà này. Ngược lại, việc giảm 0,08% methionine so với mức khuyến cáo đã không gây ảnh hưởng đến biểu hiện gen myostatin ở gà Ri lai. Trong khi đó, khi gia tăng hàm lượng methionine trong khẩu phần đã làm giảm mức biểu hiện gen myostatin ở gà Lương Phượng. Mức biểu hiện gen myostatin thấp nhất là ở gà Lương Phượng được nuôi bằng khẩu phần có hàm lượng methionine cao hơn 0,08% so với mức khuyến cáo của Evonik (2010). Kết quả này tương tự với các kết quả nghiên cứu của Liu và cs. (2010), Wen và cs. (2014). Kết quả nghiên cứu của Liu và cs. (2010) khi bổ sung 0,61% methionine vào khẩu phần nuôi gà broiler trong giai đoạn 4-8 tuần tuổi đã cho thấy sự suy giảm mức biểu hiện mRNA myostatin ở cơ xương trên gà 55 ngày tuổi so với khi nuôi bằng khẩu phần bổ sung 0,21% methionine. Kết quả nghiên cứu của Wen và cs. (2014) cũng cho thấy khi gia tăng hàm lượng methionine trong khẩu phần đã làm giảm lượng mRNA của myostatin trên cơ ức của gà broiler.

Bảng 5. Lượng mRNA tương đối trong cơ ức của gà thí nghiệm

Nhóm gà × mức methionine		Myostatin	Myf5	MEF2B
Ri lai	ML	1,65 ^a	0,62 ^c	0,64 ^d
	MA	1,74 ^a	0,63 ^c	0,65 ^d
	MH	0,78 ^d	0,71 ^c	0,81 ^c
Lương Phượng	ML	1,48 ^b	0,95 ^b	0,79 ^c
	MA	1,00 ^c	1,00 ^b	1,00 ^b
	MH	0,54 ^e	1,18 ^a	1,21 ^a
SEM		0,05	0,04	0,04
P _{mức methionine}		<0,001	0,01	<0,001
P _{nhóm gà}		<0,001	<0,001	<0,001
P _{mức methionine × nhóm gà}		<0,001	0,02	0,15

Các giá trị trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ cái giống nhau thì sự sai khác không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$

Khi gia tăng hàm lượng methionine trong khẩu phần đã không ảnh hưởng đến lượng mRNA tương đối của gen myf5 trên cơ ức của gà Ri lai ($p > 0,05$). Không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về lượng mRNA của gen myf5 trên cơ ức của gà Lương Phượng giữa hai nghiệm thức MA và ML ($p > 0,05$). Trong khi đó, khi tăng 0,08% methionine trong khẩu phần so với mức khuyến cáo của Evonik (2010) đã làm tăng 18,0 - 24,2% lượng mRNA tương đối của gen myf5 trên cơ ức của gà Lương Phượng so với hai nghiệm thức còn lại.

Đối với gen MEF2B, không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về lượng mRNA tương đối trên cơ ức của gà Ri lai ở hai nghiệm thức MA và ML. Mức biểu hiện gen MEF2B ở gà Ri lai cao nhất ở nghiệm thức MH (cao hơn 24,6 - 26,6% so với nghiệm thức MA và ML). Trong khi đó, việc gia tăng hàm lượng methionine trong khẩu phần đã làm tăng đáng kể biểu hiện gen MEF2B ở gà Lương Phượng. Khi sử dụng khẩu phần MH để nuôi gà, mức biểu hiện gen MEF2B trên cơ ức của gà Lương Phượng tăng 21,0-53,2% so với hai nghiệm thức còn lại.

Bảng 6. Lượng mRNA tương đối trong cơ ức của gà theo giới tính

Gen	Ri lai				Lương Phượng			
	Trống	Mái	SEM	p	Trống	Mái	SEM	p
Myf5	0,66	0,65	0,03	0,93	1,05	1,03	0,02	0,27
MEF2B	0,70	0,69	0,03	0,75	1,01	0,99	0,04	0,55
Myostatin	1,38	1,40	0,04	0,69	1,00	1,02	0,04	0,64

Kết quả ở Bảng 6 cho thấy không có sự sai khác thống kê ($p > 0,05$) về mức biểu hiện các gen myf5, MEF2B và myostatin theo giới tính trong mỗi nhóm gà. Nhìn chung, mức biểu hiện gen myf5 và MEF2B trên cơ ức của gà Ri lai thấp hơn so với ở gà Lương Phượng. Kết quả nghiên cứu của Wen và cs. (2017) cũng cho thấy khi sử dụng khẩu phần với hàm lượng methionine cao đã làm tăng mức mRNA của các gen myf5 và MEF2B ở nhóm gà có tốc độ sinh trưởng cao; và làm tăng mức mRNA

myostatin ở nhóm gà có tốc độ sinh trưởng thấp. Ngoài ra, Wen và cs. (2014) cũng đã chỉ ra rằng việc bổ sung methionine vào khẩu phần nuôi gà thịt đã làm tăng mức độ biểu hiện ở mức mRNA của myf5 và MEF2B và làm suy giảm sự biểu hiện của myostatin, từ đó giúp cơ vân tăng trưởng. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu ở Bảng 4 (khối lượng cơ ức ở gà Ri lai và Lương Phượng ở nghiệm thức MH đều cao hơn đáng kể so với hai nghiệm thức còn lại).

4. KẾT LUẬN

Sử dụng khẩu phần có mức methionine cao hơn 0,08% so với mức khuyến cáo của Evonik (2010) cho gà lông màu đã làm tăng đáng kể khối lượng cơ ức ở cả 2 nhóm gà Ri lai và Lương Phượng. Khi tăng 0,08% methionine trong khẩu phần của gà Ri lai so với mức khuyến cáo của Evonik (2010) đã làm giảm biểu hiện gen myostatin và tăng biểu hiện gen MEF2B. Ngược lại, khi giảm 0,08% methionine trong khẩu phần so với khuyến cáo đã không ảnh hưởng đến biểu hiện của cả 3 gen sinh cơ myostatin, myf5 và MEF2B ở gà Ri lai so với khi sử dụng khẩu phần có mức methionine bằng với mức khuyến cáo của Evonik (2010). Trong khi đó, việc gia tăng hàm lượng methionine trong khẩu phần đã làm giảm biểu hiện gen myostatin, tăng biểu hiện gen myf5 và MEF2B ở gà Lương Phượng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện trong khuôn khổ đề tài KH&CN cấp Đại học Huế với mã số DHH2019-02-116. Chúng tôi chân thành cảm ơn Đại học Huế đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Bá Mùi, Nguyễn Chí Thành, Lê Anh Đức, Nguyễn Bá Hiếu. (2012). Đặc điểm ngoại hình và khả năng cho thịt của gà địa phương lông cảm tại Lục Ngạn, Bắc Giang. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 10(7), 978 - 985.
- Bùi Quang Tiến. (1993). Phương pháp mô khảo sát gia cầm. *Thông tin KHKT Chăn nuôi*, (4), 1 - 5.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Ahmed, M. E. and Abbas, T. E. (2011). Effects of dietary levels of methionine on broiler performance and carcass characteristics. *International Journal of Poultry Science*, 10(2), 147 - 151.
- Alami-Durante, H., Cluzeaud, M., Bazin, D., Mazurais, D., and Zambonino-Infante, J. L. (2011). Dietary cholecalciferol regulates the recruitment and growth of skeletal muscle fibers and the expressions of myogenic regulatory factors and the myosin heavy chain in European sea bass larvae. *Journal of Nutrition*, 141(2), 2146 - 2151.
- AOAC (1990). *Official methods of analysis. Fifteenth edition*. Published by the Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington-Virginia-USA. 1223pp.
- Corzo, A., Kidd, M., Dozier, W., Shack, L. and Burgess, S. (2006). Protein expression of pectoralis major muscle in chickens in response to dietary methionine status. *British Journal of Nutrition*, 95(4), 703 - 708.
- Drummond, M. J., Glynn, E. L., Fry, C. S., Dhanani, S., Volpi, E., and Rasmussen, B. B. (2009). Essential amino acids increase microRNA-499, -208b, and -23a and downregulate myostatin and myocyte enhancer factor 2C mRNA expression in human skeletal muscle. *Journal of Nutrition*, 139(12), 2279 - 2284.
- Evonik (2010). *AMINODat 4.0*. In: Redshaw, M. S., Fickler, J., Fontaine, J., Heimbeck, W., Hess, V., Reinmann, I. (Eds.), Evonik Industries, Evonik Degussa GmbH, Hanau-Wolfgang, Germany.
- Hennebry, A., Berry, C., Siriott, V., O'Callaghan, P., Chau, L., Watson, T., Sharma, M., & Kambadur, R. (2009). Myostatin regulates fiber-type composition of skeletal muscle by regulating MEF2 and MyoD gene expression. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 296(3), C525 - C534.
- Liu, G., Zong, K., Zhang, L., and Cao, S. (2010). Dietary methionine affect meat quality and myostatin gene exon 1 region methylation in skeletal muscle tissues of broilers. *Agricultural Sciences in China*, 9(9), 1338 - 1346.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data

- using realtime quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*, 25(4), 402 - 408.
- Nukreaw, R., Bunchasak, C., Markvichitr, K., Choothesa, A., Prasanpanich, S., and Loongyai, W. (2011). Effects of methionine supplementation in low-protein diets and subsequent re-feeding on growth performance, liver and serum lipid profile, body composition and carcass quality of broiler chickens at 42 days of age. *Japan Poultry Science*, 48(4), 229 - 238.
- Townley-Tilson, W. H. D., Callis, T. E., and Wang, D. (2010). MicroRNAs 1, 133, and 206: Critical factors of skeletal and cardiac muscle development, function, and disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 42(8), 1252 - 1255.
- Wang, Q., & McPherron, A. C. (2012). Myostatin inhibition induces muscle fibre hypertrophy prior to satellite cell activation. *Journal of Physiology*, 590(9), 2151 - 2165.
- Wen, C., Chen, X., Chen, G. Y., Wu, P., Chen, Y. P., Zhou, Y. M., & Wang, T. (2014). Methionine improves breast muscle growth and alters myogenic gene expression in broilers. *Journal of Animal Science*, 92(3), 1068 - 1073.
- Wen, C., Jiang, X., Ding, L., Wang, T., & Zhou, Y. (2017). Effects of dietary methionine on breast muscle growth, myogenic gene expression and IGF-I in fast- and slow-growing. *Scientific Reports*, (7). DOI:10.1038/s41598-017-02142-z.