

ĐÁNH GIÁ ĐẶC TÍNH SINH HỌC VÀ HIỆU QUẢ BẢO QUẢN TINH CHÓ BULLY TRONG MÔI TRƯỜNG CHỨA ASCORBIC ACID VÀ LÒNG ĐÓ TRỨNG GÀ Ở 5°C

*Ngô Thành Trung¹, Nguyễn Văn Thanh², Nguyễn Đức Trường²,
Trần Thị Chi¹, Nguyễn Chí Cường¹, Nguyễn Thị Hà¹*

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định ảnh hưởng của việc bổ sung lòng đỏ trứng gà và ascorbic acid vào trong môi trường TCG ở nhiệt độ 5°C để nâng cao hiệu quả bảo quản tinh trùng của giống chó Bully nuôi tại Việt Nam. Hàm lượng lòng đỏ trứng và ascorbic acid bổ sung vào môi trường bảo quản tinh trùng lần lượt là 0, 5, 10, 15, 20% v/v và 0, 1, 2, 3% w/v. Mẫu tinh trùng có chất lượng tốt được lấy từ 3 cá thể chó đực thuộc giống Bully nuôi tại Trại thí nghiệm động vật, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Các chỉ tiêu tinh trùng bảo quản được đánh giá sau khi pha loãng bao gồm hoạt lực tinh trùng (điểm) và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%).

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung ascorbic acid với hàm lượng 2% w/v hoặc lòng đỏ trứng gà với hàm lượng 15% v/v vào trong môi trường lỏng bảo quản tinh ở 5°C đã giúp hoạt lực của tinh trùng sau 72 giờ bảo quản tăng khoảng 10% so với trong môi trường đối chứng và cao hơn so với các môi trường có bổ sung ascorbic acid hoặc lòng đỏ trứng gà với các tỷ lệ khác; Đồng thời cũng giúp làm giảm tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trong quá trình bảo quản. Khi bổ sung đồng thời lòng đỏ trứng gà với hàm lượng 15% v/v và ascorbic acid với hàm lượng 2% w/v vào môi trường TCG đã làm tăng trên 10% hoạt lực tinh trùng, giảm rõ rệt tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau 72 giờ bảo quản.

Từ khóa: chó Bully, đặc tính tinh dịch, môi trường bảo quản, lòng đỏ trứng gà, Ascorbic acid

Assessment of biological characteristics and effect of Bully dog semen preservation in extender adding ascorbic acid and chicken egg yolk at 5°C

*Ngo Thanh Trung, Nguyen Van Thanh, Nguyen Duc Truong,
Tran Thi Chi, Nguyen Chi Cuong, Nguyen Thi Ha*

SUMMARY

The objective of this study aimed at determining the influence of adding ascorbic acid and chicken egg yolk in TCG extender at 5°C for improvement of semen preservation effect of Bully dog breed raising in Viet Nam. The contents of chicken egg yolk and ascorbic acid adding in TCG extender were 0, 5, 10, 15, 20% v/v, and 0, 1, 2, 3% w/v, respectively. Good quality sperm samples were collected from three individual Bully male dogs raising in the Experimental Animal Farm, Viet Nam National University of Agriculture. The preserved semen quality parameters including sperm activity (ratio of progressive sperms) and the rate of abnormal sperm (%) were evaluated at four preserved durations: 0, 24, 48 and 72 hours.

The studied result showed that semen extenders adding 2% w/v ascorbic acid or 15% v/v chicken egg yolk, at 5°C had given the motility of sperm increasing 10% higher than that of the control ones and the extenders adding other ascorbic acid or chicken egg yolk contents,

¹ Khoa CNSH, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

also decreasing the abnormal sperms during period of conservation. The result also showed that simultaneous addition of 2% w/v ascorbic acid and 15% v/v chicken egg yolk in extender had increased the sperm motilities at least 10% more and decreased the abnormal sperms apparently.

Keywords: Bully dog, semen characteristics, semen extender, chicken egg yolk, Ascorbic acid

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ xa xưa, chó luôn là loài gần gũi và gắn bó với con người nhất trong tất cả các loài động vật. Nhờ các đặc điểm nổi bật hơn các loài vật khác, chó được sử dụng trong rất nhiều lĩnh vực phục vụ con người. Ngày nay, một số giống chó đã được nhập ngoại, trong đó có giống chó Bully, một giống chó mới được lai tạo vào những năm 90 từ rất nhiều các loại chó, mang nhiều đặc điểm ưu việt khác nhau. Đây là sự kết hợp những đặc tính trội của 2 giống pitbull là: *American pitbull* & *American Staffordshire Terrier* và mang những đặc tính tốt của 2 loài chó nói trên. Khi được nuôi trong các gia đình, chúng được “giao nhiệm vụ” trong việc bảo vệ, trông nhà và làm cảnh. Tuy nhiên, chúng bị lai tạp khá nhiều và không được chọn lọc do việc nhân giống tự phát của người dân. Xét về số lượng, đàn chó Bully nước ta có số lượng nhỏ, ngoài ra do chưa có một hệ thống nhân giống theo quy hoạch nên đã làm lai tạp, mất đi nhiều đặc điểm quý báu và khả năng vốn có của giống chó này. Thụ tinh nhân tạo hay phối tinh nhân tạo là phương pháp tối ưu để sử dụng có hiệu quả đực giống tốt, đem lại hiệu quả thụ thai cao, nhằm cải tạo giống, giảm số lượng đực giống. Cùng với công nghệ gen di truyền, thụ tinh nhân tạo đã đưa lĩnh vực nghiên cứu và ứng dụng công nghệ sinh sản đạt nhiều thành tựu ấn tượng.

Hiện nay, ở nước ta việc thụ tinh nhân tạo và bảo quản tinh dịch chó còn là vấn đề mới và ít được quan tâm, kể cả các Trung tâm Huấn luyện chó nghiệp vụ vẫn sử dụng hình thức phối tự nhiên. Mục đích nghiên cứu của chúng tôi nhằm xác định đặc tính sinh học của tinh dịch và tinh

trùng của giống chó Bully và ảnh hưởng của việc bổ sung ascorbic acid và lòng đỏ trứng gà trong môi trường Tris-Citrate-Glucose (TCG) đến chất lượng tinh chó Bully bảo quản dạng lỏng ở 5°C.

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nội dung nghiên cứu

- Xác định đặc tính sinh học của tinh dịch và tinh trùng của giống chó Bully (thể tích tinh dịch trong một lần khai thác nhân tạo (ml), nồng độ tinh trùng (triệu tinh trùng/ml), hoạt lực tinh trùng (điểm), tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%), độ pH tinh dịch, tổng số tinh trùng tiến thẳng/ lần khai thác (triệu tinh trùng/ lần khai thác)

- Xác định ảnh hưởng của việc bổ sung các thành phần lòng đỏ trứng gà và ascorbic acid trong môi trường TCG nhằm giúp nâng cao hiệu quả bảo tồn tinh của giống chó Bully nuôi tại Việt Nam ở nhiệt độ bảo quản 5°C.

2.2 Thời gian, địa điểm nghiên cứu

Thời gian: Từ tháng 1/2016 đến 6/2016.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm và chuồng trại nuôi chó thí nghiệm thuộc Trại thực nghiệm động vật, Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.3 Vật liệu nghiên cứu

- Ba cá thể đực giống thuộc giống chó American Bully được nhập từ Mỹ và Thái Lan, hiện đang được nuôi thuần hóa và chăm sóc tại Trại thực nghiệm động vật, Khoa Công nghệ Sinh học - Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Ba chó này đều trong độ tuổi sinh sản tốt nhất (từ 18 đến 24 tháng tuổi), được cho ăn và chăm sóc cùng một chế độ chuyên dụng cho chó đực giống, được tiêm chủng vacxin phòng bệnh và đạt trạng thái sức khỏe tốt nhất. Các cá thể đực giống được huấn luyện và khai thác tinh nhân tạo bởi cùng một kỹ thuật viên. Tần suất khai thác tinh từ 4 đến 6 ngày một lần.

- Dụng cụ, hóa chất phòng thí nghiệm vi sinh vật, glycerol, lòng đỏ trứng gà, ascorbic acid,...

2.4 Phương pháp nghiên cứu

- Nghiên cứu đặc tính sinh học của tinh dịch, tinh trùng của các cá thể đực giống

Xác định các chỉ tiêu đánh giá chất lượng tinh dịch, tinh trùng đối với tinh nguyên các mẫu tinh của các cá thể chó đực giống nghiên cứu gồm: thể tích tinh dịch giai đoạn giàu tinh (V - ml), độ pH của tinh dịch, nồng độ tinh trùng (C - triệu tinh trùng/ml), hoạt lực tinh trùng (A - điểm), tổng số tinh trùng tiến thẳng/lần khai thác (VAC - triệu tinh trùng/lần khai thác) và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K - %).

- Đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung ascorbic acid trong môi trường pha loãng đến hiệu quả bảo quản tinh chó

+ Môi trường đối chứng: TCG.

+ Bổ sung hàm lượng ascorbic acid ở các hàm lượng khác nhau là: 0 (đối chứng); 1%; 2%; và 3%.

+ Bội số pha loãng: 1 thể tích tinh dịch giai đoạn giàu tinh : 4 thể tích môi trường.

+ Nhiệt độ bảo quản: 5°C.

+ Đánh giá chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng (điểm) và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%) tại 3 mức thời gian 0, 24, 48 và 72 giờ sau pha loãng.

- Đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung lòng đỏ trứng gà trong môi trường pha loãng

đến hiệu quả bảo quản tinh chó

+ Môi trường đối chứng: TCG.

+ Bổ sung lòng đỏ trứng ở các hàm lượng khác nhau là: 0% (đối chứng); 5%; 10%; 15% và 20%.

+ Bội số pha loãng: 1 thể tích tinh dịch giai đoạn giàu tinh : 4 thể tích môi trường.

+ Nhiệt độ bảo quản: 5°C

+ Đánh giá chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng (điểm) và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%) tại 4 mức thời gian 0, 24, 48 và 72 giờ sau pha loãng.

- Đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung kết hợp lòng đỏ trứng gà và ascorbic acid trong môi trường pha loãng đến hiệu quả bảo quản tinh chó

+ Các môi trường pha loãng:

- TCG (đối chứng tuyệt đối).

- TCG + hàm lượng lòng đỏ trứng gà tốt nhất => đối chứng 1.

- TCG + hàm lượng ascorbic acid tốt nhất => đối chứng 2.

- TCG + hàm lượng lòng đỏ trứng gà tốt nhất + hàm lượng ascorbic acid tốt nhất => môi trường thí nghiệm.

+ Bội số pha loãng: 1 thể tích tinh dịch giai đoạn giàu tinh : 4 thể tích môi trường.

+ Nhiệt độ bảo quản: 5°C.

+ Đánh giá chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng (điểm) và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%) tại 4 mức thời gian 0, 24, 48 và 72 giờ sau pha loãng.

+ So sánh chỉ tiêu hoạt lực và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh pha loãng trong các công thức môi trường tại các mốc thời gian bảo quản nhằm xác định hiệu quả của việc bổ sung đồng thời lòng đỏ trứng gà và ascorbic acid trong môi trường pha loãng đến chất lượng tinh bảo quản ở 5°C.

- Phương pháp khai thác tinh chó

Áp dụng phương pháp massage bằng tay để kích thích và nắm giữ dương vật chó giúp chó phóng tinh.

- Phương pháp xác định pH của tinh dịch

Sử dụng máy đo pH (pH meter) theo phương pháp của Đào Đức Thà (2006).

Chuẩn độ pH meter trước khi sử dụng bằng hai thang pH chuẩn là 4,0 và 7,0.

- Phương pháp xác định nồng độ tinh trùng

Áp dụng phương pháp của Milovanov (1972) dẫn theo Đào Đức Thà (2006).

Lấy 50 μ l tinh nguyên trộn đều trong 9950 μ l dung dịch NaCl 10% (tỷ lệ pha loãng 1 : 200), lắc đều, tra mẫu vào 2 phía của buồng đếm hồng cầu Neubauer \rightarrow đếm số lượng tinh trùng ở hai phía \rightarrow xác định nồng độ.

- Phương pháp xác định hoạt lực tinh trùng

Hoạt lực của tinh trùng được xác định theo phương pháp của Herrick và Self (1962) dẫn theo Đào Đức Thà (2006):

- Xác định hoạt lực tinh trùng đối với tinh nguyên: quan sát trên kính hiển vi, ước lượng mức độ vận động của tinh trùng (tính bằng điểm với thang điểm từ 0 đến 1 với quy ước: 0 điểm hoạt lực tương ứng với không có tinh trùng vận động, 0,1 điểm hoạt lực tương ứng với tỷ lệ tinh trùng tiến thẳng đạt từ 5 đến 15%, 0,2 điểm hoạt lực tương ứng với tỷ lệ tinh trùng tiến thẳng đạt từ 15 đến 25%...)

- Xác định hoạt lực tinh trùng đối với tinh pha loãng và bảo quản trong 5°C: đảo đều mẫu tinh bảo quản, hút khoảng 2 ml tinh pha loãng cho vào ống nghiệm thủy tinh dung tích 5 ml, ủ ống nghiệm trong bể ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút, quan sát trên kính hiển vi, ước lượng mức độ vận động của tinh trùng tương tự như với tinh nguyên.

- Phương pháp xác định tinh trùng kỳ hình

Thực hiện theo phương pháp của Waberski (2007) dẫn theo Ngô Thành Trung (2010).

Làm tiêu bản cố định và quan sát trên kính hiển vi với độ phóng đại 1000 lần, đếm số tinh trùng kỳ hình trong tổng số 200 tế bào đã quan sát được. Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình được tính bằng tổng số tinh trùng kỳ hình đếm được chia cho 200 tổng số tinh trùng được đếm.

- Phương pháp pha loãng và bảo quản tinh trùng

- Chuẩn bị các môi trường thí nghiệm, ủ ấm ở 34°C ít nhất 30 phút trước khi pha loãng tinh.

- Tinh chó ngay sau khi khai thác nhanh chóng được pha loãng với môi trường.

- Lắc đều môi trường, pha tỷ lệ 1 : 1, sau đó tăng dần rồi lên thể tích đến khi đạt tỷ lệ 1 thể tích tinh : 4 thể tích môi trường.

- Cân bằng 90 phút ở nhiệt độ phòng để tinh trùng có thể thích nghi với môi trường mới và hạ dần nhiệt độ, sau đó cho mẫu tinh pha vào bảo quản trong tủ bảo ôn ở 5°C.

- Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Excel, phân tích thống kê bằng phần mềm SAS version 9.1.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**3.1 Kết quả đánh giá đặc tính sinh học của tinh dịch, tinh trùng của các cá thể chó đực giống**

Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Chỉ tiêu thể tích tinh dịch của các cá thể chó đực giống Bully thí nghiệm

Theo Salisbury (1987) (dẫn theo Đỗ Văn Thu, 2001), lượng tinh dịch là chỉ tiêu kiểm tra đánh giá chất lượng tinh trùng trong thụ tinh. Lượng tinh dịch có liên quan tới khả năng thụ

Bảng 1. Kết quả đánh giá đặc tính sinh học của tinh dịch, tinh trùng của các cá thể chó đực giống Bully thí nghiệm (n=6)

Tên cá thể chó Các chỉ tiêu	Messi	Cooper	Jackie	Trung bình các cá thể
	Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE
Màu sắc tinh dịch	Trắng sữa	Trắng sữa	Trắng sữa	Trắng sữa
Thể tích tinh dịch (V-ml)	10,70 ± 0,34 ^a	9,67 ± 0,3 ^a	10,17 ± 0,3 ^{ab}	10,18 ± 0,21
Hoạt lực tinh trùng (A- điểm)	0,9 ± 0,0 ^a	0,87 ± 0,02 ^{ab}	0,88 ± 0,02 ^b	0,88 ± 0,01
Nồng độ tinh (C-triệu tinh trùng/ml)	237,33 ± 3,88 ^a	224,64 ± 5,70 ^a	233,94 ± 4,73 ^a	127,94 ± 2,98
Tổng số tinh trùng tiến thẳng/lần khai thác (VAC-triệu tinh trùng/lần khai thác)	2863,6±84,0 ^a	1883,6±96,6 ^{ab}	2057,6±70,6 ^b	1154 ± 59,85
Độ pH tinh dịch	6,25 ± 0,42 ^a	6,25 ± 0,42 ^a	6,27 ± 0,03 ^a	6,25 ± 0,00
Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K - %)	11,60 ± 0,3 ^a	11,92 ± 0,55 ^a	11,50 ± 0,52 ^a	11,67 ± 0,09

Ghi chú: Mean = Giá trị trung bình mẫu, SE (Standard Error) = Sai số chuẩn.

Trên cùng một hàng, các giá trị có chữ cái bên trên khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

thai vì nó có liên quan đến số lượng và chất lượng tinh trùng. Lượng tinh dịch phụ thuộc vào tuổi, phương pháp lấy tinh, tính dục con đực và dụng cụ lấy tinh như: nhiệt độ, áp lực... Mùa vụ, thời tiết ảnh hưởng đến lượng tinh dịch của đực giống, vào mùa sinh sản, lượng tinh dịch của chó cao hơn mùa không sinh sản (theo Chemineau, 1991; Evans, 1987); điều này có thể là do trong mùa sinh sản lượng testosterone tăng, kích thích các tuyến sinh dục phụ tiết tinh nhanh. Ngoài ra, lượng tinh dịch còn chịu ảnh hưởng của chế độ quản lý, nuôi dưỡng...

Kết quả thể hiện ở bảng 1 cho thấy thể tích tinh dịch ở cả 3 cá thể chó đực giống Messi, Cooper và Jackie không có sự sai khác nhau. Trong đó Messi có thể tích tinh dịch cao nhất là: $10,70 \pm 0,34$ ml; Cooper và Jackie có thể tích tinh dịch lần lượt là: $9,67 \pm 0,3$ ml; $10,17 \pm 0,3$ ml. So sánh với kết quả công bố của Ruben (2014) về chỉ tiêu thể tích tinh dịch của giống chó American Bully nuôi tại Mỹ đạt 6,7 ml thì các cá thể đực giống Bully trong nghiên cứu này

đạt cao hơn, điều đó chứng tỏ các cá thể đực giống thí nghiệm rất thích nghi với điều kiện khí hậu tại Việt Nam, chế độ chăm sóc về dinh dưỡng, thú y và kỹ thuật khai thác tinh đã được thực hiện rất tốt.

Chỉ tiêu nồng độ tinh trùng của tinh nguyên các cá thể chó đực giống Bully thí nghiệm

Nồng độ tinh trùng là chỉ tiêu đánh giá chất lượng và số lượng của tinh dịch. Salisbury (1987) (dẫn theo Đỗ Văn Thu, 2001) cho rằng nồng độ tinh trùng là chỉ tiêu quan trọng trong thực tiễn TTNT, nó liên quan mật thiết với tỷ lệ thụ thai và số con đẻ ra. Nồng độ tinh trùng liên quan mật thiết và thường tỷ lệ thuận với hoạt lực tiến thẳng và hoạt tính của enzym dehydrogenase. Hazop (1945) (dẫn theo Đỗ Văn Thu, 2001) cho rằng nồng độ và sức kháng của tinh trùng là những chỉ tiêu có ý nghĩa cho khả năng thụ tinh của tinh trùng. Vì vậy để có được tinh dịch thích hợp cần phải lưu ý tới hai chỉ tiêu này. Nồng độ tinh trùng trong tinh pha loãng có ảnh hưởng đến kết quả bảo tồn tinh dịch. Corteelz (1977)

(dẫn theo Đỗ Văn Thu, 2001; Dương Đình Long, 1996) cho rằng lượng tinh dịch tỷ lệ nghịch với nồng độ tinh trùng. Nghĩa là lượng tinh dịch lớn thì nồng độ tinh trùng giảm. Nồng độ tinh trùng là chỉ tiêu về sức sản xuất sinh học nên phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: khoảng cách giữa hai lần lấy tinh, phương pháp lấy tinh, tần số phối giống và chế độ chăm sóc nuôi dưỡng, sự thay đổi mùa vụ lấy tinh, trong mùa sinh sản, nồng độ tinh trùng cao hơn. Ngoài ra, nhiệt độ, độ ẩm, lứa tuổi... cũng đều ảnh hưởng tới nồng độ tinh trùng.

Kết quả bảng 1 cho thấy nồng độ tinh trùng trung bình của các chó đực sử dụng trong thí nghiệm này là rất cao: đối với chó Messi trung bình là $237,33 \pm 3,8$ triệu tinh trùng/ml, ở chó Cooper là $224,64 \pm 5,70$ triệu tinh trùng/ml, còn chó Jackie là $233,94 \pm 4,73$ triệu tinh trùng/ml. Chemineau và Caynie (1991) nhận thấy nồng độ tinh trùng chó đạt 220 triệu/ml, kết quả thí nghiệm cao hơn chứng minh chất lượng tinh dịch và khả năng thụ tinh cao của các mẫu tinh trùng chó đực giống thí nghiệm, đồng thời chứng tỏ kỹ thuật khai thác, bảo quản và vận chuyển tinh dịch từ cơ sở sản xuất về tới phòng thí nghiệm là rất tốt.

Chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng của tinh nguyên các cá thể chó đực giống thí nghiệm

Hoạt lực là sức sống hay còn gọi là sức vận động của tinh trùng. Đây là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng tinh dịch, nó cho biết khả năng thụ thai của tinh dịch. Hoạt lực này phải đạt tối thiểu 0,7 điểm thì tinh dịch mới đạt tiêu chuẩn để sử dụng cho thí nghiệm pha loãng. Trong nghiên cứu này, kết quả chỉ tiêu hoạt lực trung bình của các giống chó tương đối cao: chó Messi đạt $0,9 \pm 0,0$ điểm, chó Cooper đạt $0,87 \pm 0,02$ điểm, chó Jackie đạt $0,88 \pm 0,02$ điểm. Kết quả này phù hợp với kết quả của các nhà khoa học khác đã công bố như theo Feldman & Nelson (1996) và Günzel-Apel (1994) tinh dịch chó bình thường có chứa ít nhất

0,7 điểm tinh trùng di chuyển được.

Chỉ tiêu pH của tinh dịch các cá thể chó đực giống thí nghiệm

pH của tinh dịch ảnh hưởng tới sức sống và khả năng thụ thai của tinh trùng, bởi vì pH có quan hệ tới quá trình trao đổi chất của tinh trùng thông qua hệ thống enzyme của chúng. Kết quả ở bảng 1 cho thấy pH của chó hơi toan và không có sự sai khác giữa các cá thể chó đực giống, cụ thể: Messi là $6,25 \pm 0,42$, Cooper là $6,25 \pm 0,42$, còn đối với Jackie là $6,27 \pm 0,03$. Kết quả này cho thấy độ pH đo trong giai đoạn giàu tinh, do đó khả năng thụ tinh cao của các mẫu tinh trùng của các chó đực giống thí nghiệm.

Chỉ tiêu tinh trùng kỳ hình của các cá thể chó đực giống thí nghiệm

Tinh trùng kỳ hình là tinh trùng có hình thái không bình thường ở đầu, cổ, thân, đuôi. Chúng không có khả năng thụ tinh. Đây là chỉ tiêu quan trọng nhằm đánh giá chất lượng tinh tại thời điểm kiểm tra chất lượng tinh trùng. Nếu tỷ lệ tinh trùng kỳ hình quá cao đồng nghĩa với tỷ lệ tinh trùng có khả năng thụ tinh thấp thì liều tinh đó sẽ bị loại bỏ. Qua kết quả của bảng 1 cho thấy tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của các mẫu tinh kiểm tra tương đối cao và có sự khác nhau có ý nghĩa (độ tin cậy $P \geq 0,05$) giữa các giống: chó Messi là $11,06 \pm 0,30\%$, ở chó Cooper là $11,92 \pm 0,55\%$, ở chó Jackie là $11,50 \pm 0,52\%$.

3.2 Ảnh hưởng của việc bổ sung ascorbic acid vào môi trường pha loãng đến hiệu quả bảo quản tinh chó dạng lỏng ở 5°C

Chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng được coi là chỉ tiêu quan trọng nhất đối với việc đánh giá chất lượng tinh trùng bảo quản, thể hiện khả năng thụ tinh của liều tinh pha loãng. Kết quả đánh giá chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng của các liều tinh pha loãng bằng 4 môi trường thí nghiệm bổ sung ascorbic acid được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Hoạt lực tinh trùng bảo quản ở 5°C trong các môi trường TCG có bổ sung ascorbic acid (n=18)

Đơn vị tính: điểm

Môi trường	Thời gian bảo quản	0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ
		Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE
Môi trường TCG		0,88 ± 0,01 ^a	0,82 ± 0,01 ^a	0,71 ± 0,01 ^a	0,51 ± 0,01 ^a
TCG + 1% ascorbic acid		0,88 ± 0,01 ^a	0,82 ± 0,01 ^b	0,70 ± 0,01 ^a	0,55 ± 0,01 ^b
TCG + 2% ascorbic acid		0,89 ± 0,01 ^a	0,88 ± 0,01 ^b	0,76 ± 0,01 ^b	0,61 ± 0,01 ^c
TCG + 3% ascorbic acid		0,89 ± 0,01 ^a	0,86 ± 0,01 ^b	0,71 ± 0,01 ^a	0,56 ± 0,01 ^{ab}

Ghi chú: Mean = Giá trị trung bình mẫu, SE (Standard Error) = Sai số chuẩn.

Trên cùng một cột, các giá trị có chữ cái bên trên khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Ngay sau khi pha loãng bằng các môi trường bổ sung ascorbic acid thì tinh trùng của tất cả các liều tinh sau phân liều đều có hoạt lực tương đương với hoạt lực tinh nguyên và đều đạt yêu cầu kỹ thuật cho dẫn tinh phối cho chó cái (phối trong ngày).

Kết quả trình bày ở bảng 2 cho thấy hoạt lực của tinh trùng giảm dần theo thời gian: sau 24 giờ bảo quản (ngày thứ nhất sau khai thác và bảo quản tinh), hoạt lực tinh trùng của các liều tinh được bảo quản trong các môi trường TCG, TCG + 1% , + 2% , + 3% ascorbic acid không có sự sai khác giữa các môi trường. Hoạt lực tinh trùng khi bảo quản trong môi trường TCG không bổ sung ascorbic acid có sự sai khác giữa các môi trường còn lại. Ở 24 giờ, hoạt lực tinh trùng bảo quản của các môi trường TCG, TCG + 1% , + 2% , + 3% ascorbic acid lần lượt là $0,82 \pm 0,01$; $0,82 \pm 0,01$; $0,88 \pm 0,01$ và $0,8 \pm 0,01$ điểm. Tại thời điểm bảo quản 48 giờ, hoạt lực tinh trùng được bảo quản trong môi trường TCG, TCG + 1% , + 3% ascorbic acid thấp hơn so với trong môi trường TCG + 2% ascorbic acid. Hoạt lực tinh trùng của các mẫu tinh được bảo quản bằng các môi trường sau 72 giờ bảo quản đều thấp hơn 0,6 điểm, trừ môi trường TCG + 2% ascorbic acid, nhưng đều đủ tiêu chuẩn thụ tinh nhân tạo. Như vậy, từ 24 giờ đến 72 giờ sau pha loãng và bảo quản trong nhiệt độ 5°C, tinh trùng chó được bảo quản trong môi trường có hàm lượng ascorbic

acid bổ sung là 2 % w/v có hoạt lực tốt hơn so với trong các mẫu môi trường khác.

Ảnh hưởng của ascorbic acid trong môi trường đến tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh

Tinh trùng kỳ hình là những tinh trùng có hình dạng khác thường như mất đầu, mất đuôi, đuôi cong, tinh trùng dính nhau, hay có bọc màng sinh chất... khác so với tinh trùng bình thường. Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình cao thì chất lượng tinh kém, ảnh hưởng đến khả năng thụ thai, chỉ có tinh trùng khỏe mạnh bình thường mới tham gia vào quá trình thụ tinh. Tinh dịch có tỷ lệ tinh trùng kỳ hình dưới 20% mới được sử dụng trong phối tinh nhân tạo hay sử dụng được giống trong giao phối tự nhiên. Do vậy, việc đánh giá tỷ lệ tinh trùng kỳ hình là rất quan trọng, bảng 3 đánh giá tỷ lệ % tinh trùng kỳ hình của các mẫu tinh dịch pha loãng, bảo quản bằng 4 môi trường thí nghiệm.

Kết quả bảng 3 cho thấy tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của các mẫu tăng theo thời gian bảo quản. Ngay sau khi pha loãng, tỷ lệ chưa có sự sai khác, đều đạt tỷ lệ thấp (<12%), cụ thể ở môi trường TCG, TCG + 1% , + 2% , + 3% ascorbic acid có tỷ lệ tinh trùng kỳ hình lần lượt là $11,61 \pm 0,24\%$; $11,33 \pm 0,36\%$; $11,19 \pm 0,29\%$; $11,17 \pm 0,43\%$. Sau 24 giờ bảo quản, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình tăng nhẹ ở tất cả các môi trường thí nghiệm, môi trường TCG tăng mạnh nhất 1,81%. Sau 48 giờ, tỷ lệ này vẫn theo chiều

Bảng 3. Ảnh hưởng của ascorbic acid trong môi trường đến tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh bào quản ở 5°C (n=18)

Đơn vị tính: %

Thời gian bảo quản Môi trường	0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ
	Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE
Môi trường TCG	11,61 ± 0,24 ^a	13,42 ± 0,24 ^a	14,16 ± 0,25 ^a	18,54 ± 0,52 ^a
TCG + 1% ascorbic acid	11,33 ± 0,36 ^a	12,33 ± 0,25 ^b	13,03 ± 0,21 ^b	14,94 ± 0,42 ^{ab}
TCG + 2% ascorbic acid	11,19 ± 0,29 ^a	11,94 ± 0,29 ^b	12,83 ± 0,20 ^b	17,53 ± 0,40 ^{ac}
TCG + 3% ascorbic acid	11,17 ± 0,43 ^a	11,92 ± 0,32 ^b	12,50 ± 0,29 ^c	17,22 ± 0,33 ^c

Ghi chú: Mean = Giá trị trung bình mẫu, SE (Standard Error) = Sai số chuẩn.

Trên cùng một hàng, các giá trị có chữ cái bên trên khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

hướng tăng nhẹ, nhưng sau 72 giờ bảo quản thì tăng mạnh, cụ thể là ở 4 môi trường trên, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình lần lượt là $18,54 \pm 0,52\%$; $14,94 \pm 0,42\%$; $17,53 \pm 0,40\%$; $17,22 \pm 0,33\%$, đều thấp hơn so với giá trị 20%. Như vậy, ở 4 môi trường nghiên cứu đều cho tỷ lệ tinh trùng kỳ hình đạt so với yêu cầu, thấp hơn 20% ở tất cả các mốc thời gian bảo quản. Như vậy, có thể kết luận: việc bổ sung ascorbic acid trong môi trường bảo quản đã thể hiện vai trò một chất chống oxy hóa, làm giảm sự hình thành các gốc oxy hóa, làm chậm quá trình oxy hóa bên trong tế bào tinh trùng, giúp kéo dài sự sống của tinh trùng và khả năng vận động của tinh trùng trong quá trình bảo quản (Franco, 2013, Sohail, 2015 và Jabbar, 2015). Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với công bố của Franco và cs (2013) khi nghiên cứu trên tinh ngựa; Sohail và cs (2015) khi nghiên cứu trên tinh bò và Jabbar và cs (2015) khi nghiên cứu trên tinh gà. Và trong nghiên cứu này, việc bổ sung ascorbic acid với hàm lượng 2% w/v trong môi trường bảo quản lỏng ở 5°C đã giúp hoạt lực của tinh trùng sau 72 giờ bảo quản tăng khoảng 10% và cao hơn so với các môi trường có hàm lượng 1 và 3% w/v. Tuy vậy, nếu bổ sung ascorbic acid với hàm lượng quá cao (từ 3% w/v) sẽ làm thay đổi tính chất lý-hóa của môi trường, dẫn tới làm ảnh hưởng không tốt tới sức sống của tinh trùng trong quá trình bảo quản.

3.3 Ảnh hưởng của việc bổ sung lòng đỏ trứng gà trong môi trường pha loãng đến hiệu quả bảo quản tinh chó dạng lỏng ở 5°C

Kết quả được thể hiện ở bảng 4 và 5.

Ở nhiệt độ 5°C, ngay sau khi pha loãng bằng các môi trường bổ sung lòng đỏ trứng, hoạt lực tinh trùng của tất cả các liều tinh sau phân liều đều tương đương với hoạt lực tinh nguyên và đều đạt yêu cầu kỹ thuật cho dẫn tinh phối cho chó cái (phối trong ngày).

Tại các mốc thời gian khác nhau cho thấy hoạt lực của tinh trùng giảm dần theo thời gian. Tại 24 giờ bảo quản, hoạt lực tinh trùng của các môi trường trên lần lượt là $0,82 \pm 0,01$; $0,85 \pm 0,01$; $0,87 \pm 0,01$; $0,88 \pm 0,01$; $0,86 \pm 0,01$ điểm. Tại 48 giờ, hoạt lực tinh trùng của môi trường TCG + 15% đạt cao nhất là $0,77 \pm 0,01$ điểm, còn đối với các môi trường TCG + 5%, + 10%, + 20% lòng đỏ trứng lần lượt là: $0,71 \pm 0,01$; $0,71 \pm 0,01$; $0,71 \pm 0,01$ điểm. Sau 72 giờ bảo quản, hoạt lực tinh trùng đều lớn hơn 0,5 điểm, đủ tiêu chuẩn thụ tinh nhân tạo. Theo kết quả bảng 4 cho thấy môi trường TCG có bổ sung lòng đỏ trứng gà thích hợp sử dụng trong môi trường pha loãng ở nhiệt độ 5°C, hàm lượng tốt nhất cho bảo quản tinh trùng là 15%.

Ảnh hưởng của lòng đỏ trứng trong môi trường đến tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh. Kết quả được thể hiện ở bảng 5.