

NGHIÊN CỨU BỔ SUNG BỘT SỮA GẦY VÀ VITAMIN C TRONG MÔI TRƯỜNG BẢO QUẢN DẠNG LỎNG TINH DỊCH CHÓ PHÚ QUỐC

*Ngô Thành Trung¹, Trần Thị Chi²,
Vũ Hải Yên², Vũ Thị Loan², Nguyễn Văn Thanh¹*

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu xác định hàm lượng bột sữa gầy và vitamin C thích hợp bổ sung trong môi trường bảo quản dạng lỏng tinh dịch chó Phú Quốc. Loại môi trường bảo quản tinh chó được sử dụng là TCF. Các mức hàm lượng thử nghiệm của bột sữa gầy và vitamin C lần lượt là 0; 15; 30; 60 mg/ml và 0; 10; 20; 30 mg/ml. Nhiệt độ bảo quản tinh là 5°C, bội số pha loãng tinh là 1:5. Hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh bảo quản được đánh giá vào ngày thứ 1, 2 và 3. Tinh của 3 chó đực giống Phú Quốc ở độ tuổi từ 15 đến 24 tháng được khai thác 5 ngày một lần, lặp lại 6 lần cho mỗi thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, môi trường TCF+30 mg/ml bột sữa gầy và môi trường TCF+20 mg/ml vitamin C cho hiệu quả bảo quản tinh chó tốt hơn với hoạt lực tinh trùng trung bình vào ngày thứ 3 bảo quản đạt tương ứng $0,52 \pm 0,06$ và $0,65 \pm 0,07$ điểm; tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trung bình tương ứng là $33,2 \pm 0,68\%$ và $17,9 \pm 0,37\%$. Khi bổ sung đồng thời bột sữa gầy và vitamin C với hàm lượng tương ứng là 15 mg/ml và 20 mg/ml trong môi trường TCF cho hiệu quả bảo quản tinh tốt hơn ($0,70 \pm 0,05$ điểm hoạt lực tinh trùng và $14,9 \pm 0,63\%$ tỷ lệ tinh trùng kỳ hình vào ngày thứ 3 bảo quản).

Từ khóa: Chó Phú Quốc, tinh dịch, bảo quản tinh dịch dạng lỏng, bột sữa gầy, vitamin C.

Research on adding skim milk powder and vitamin C in liquid preservation extender for Phu Quoc dog semen

*Ngo Thanh Trung, Tran Thi Chi,
Vu Hai Yen, Vu Thi Loan, Nguyen Van Thanh*

SUMMARY

The study was conducted to access the suitable levels of skim milk powder and vitamin C adding in liquid preservation extender for Phu Quoc dog semen. This liquid preservation extender name was TCF. The test levels of skim milk powder and vitamin C supplementing in TCF were 0; 15; 30, 60 mg/ml and 0; 10; 20; 30 mg/ml, respectively. The preservation temperature for semen was 5°C, the rate of semen dilution was 1:5. The sperm motility and abnormality were evaluated on the 1st, 2nd and 3rd day after preservation. The semen samples were collected from 3 Phu Quoc male dogs at 15 to 24 months of age, every 5 days for each collecting time, in a total of 6 collecting times. The studied results showed that, the semen samples preserved in TCF extender + 30 mg/ml skim milk powder and TCF extender + 20 mg/ml vitamin C have given better preservation effectiveness with the average sperm motility values in the day 3rd reached 0.52 ± 0.06 and 0.65 ± 0.07 points, respectively and with the average sperm abnormality rate was 33.2 ± 0.68 and $17.9 \pm 0.37\%$, respectively. Adding simultaneously skim milk powder (with 15mg/1ml) and vitamin C (with 20mg/1ml) in TCF extender has given better preservation effectiveness (0.70 ± 0.05 points of sperm motility values and $14.9 \pm 0.63\%$ of sperm abnormality rate in the day 3rd of preservation).

Keywords: Phu Quoc dogs, semen, liquid preservation extender, skim milk powder, vitamin C.

¹ Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phôi tinh nhân tạo với nhiều ưu điểm vượt trội: đảm bảo được chất lượng tinh tốt trước khi phối giống, đáp ứng được yêu cầu vận chuyển tinh đi xa, tăng hiệu quả phối tinh với nhiều chó cái cùng được phối giống của cùng một cá thể chó đực giống tốt, tránh được sự lây lan của một số bệnh truyền nhiễm... Phôi tinh nhân tạo chó ngày càng được áp dụng phổ biến tại Việt Nam, đem lại hiệu quả phối giống và hiệu quả kinh tế cao cho các nhà nhân giống. Phôi tinh nhân tạo cần sử dụng các loại môi trường pha loãng và bảo quản tinh trong thời gian sau khi khai thác đến khi được đưa vào đường sinh dục của con cái. Có nhiều loại môi trường như TCF, BTS, CDE, ... với nhiều loại thành phần hoá học khác nhau được nhóm lại thành các nhóm chính: chất cung cấp năng lượng, chất điện giải, chất ổn định pH, chất kháng sinh, chất bảo vệ màng tinh trùng, chất chống choáng lạnh, chất chống oxy hoá... (Zorinkimi và cộng sự, 2017).

Bột sữa gầy (skimed milk) với nhiều thành phần tốt được nhiều nhà khoa học khuyến cáo bổ sung vào môi trường pha loãng tinh động vật như hàm lượng cao của các loại amino acid (34-37% vật chất khô) có vai trò giúp ổn định màng tế bào tinh trùng, tạo độ nhớt cho môi trường, đường lactose (49,5-52%) là chất cung cấp năng lượng, lipid (0,6-1,25%), chất khoáng như calcium, sắt, magnesium... giúp hỗ trợ vận động và khả năng thụ tinh của tinh trùng sau khi bảo quản... (Nakagata và cộng sự, 2000, Rota và cộng sự, 2001 và Dorado và cộng sự, 2007).

Vitamin C là một trong các chất chống oxy hoá, loại bỏ các gốc oxy hoá tự do có hại hình thành trong quá trình bảo quản tinh, đặc biệt là trong môi trường giàu chất dinh dưỡng (Wittayarat và cộng sự, 2012).

Thí nghiệm này được tiến hành nhằm xác định hàm lượng bột sữa gầy và vitamin C thích hợp bổ sung vào môi trường TCF để nâng cao chất lượng tinh chó bảo quản dạng lỏng ở nhiệt độ 5°C, qua đó giúp nâng cao hiệu quả sinh sản và nhân giống chó Phú Quốc bằng kỹ thuật phối tinh nhân tạo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Các mẫu tinh dịch được sử dụng trong nghiên

cứu này được khai thác từ 3 chó đực giống Phú Quốc tuổi từ 15 đến 24 tháng tuổi và nuôi dưỡng theo tiêu chuẩn đực giống, mỗi cá thể khai thác tối thiểu 6 lần, mỗi lần khai thác cách nhau 5 ngày.

Công thức môi trường TCF (theo Zorinkimi và cộng sự, 2017): 2,4 g Tris + 1,3 g acid citric + 1,0 g fructose + 100 mg penicillin + 100 mg streptomycin, nước cất đủ 100 ml.

Bột sữa gầy và vitamin C (Sigma).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tinh chó được khai thác theo phương pháp của Rita Payan-Carreira, 2011. Trong đó, tinh được khai thác bằng phương pháp massage, thu nhận phần đoạn giàu tinh và ủ trong cốc thủy tinh ở 34°C. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 6 lần, tương ứng với 6 lần khai thác tinh của mỗi chó đực.

Môi trường TCF được pha ở nhiệt độ phòng, các mức hàm lượng thử nghiệm của bột sữa gầy và vitamin C lần lượt là 0; 15; 30 và 60 mg/ml và 0; 10; 20; 30 mg/ml. Các môi trường thí nghiệm được chuẩn độ pH 6,2 ở nhiệt độ phòng. Nhiệt độ bảo quản tinh là 5°C, bội số pha loãng tinh là 1 : 5. Hoạt lực tinh trùng (điểm hoạt lực) và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%) của tinh bảo quản được đánh giá vào ngày thứ 1, 2 và 3.

Đánh giá hoạt lực tinh trùng bảo quản: các mẫu tinh bảo quản được ủ ở 37°C trong 20 phút, đảo đều và nhỏ lên lam kính, xác định tỷ lệ % tinh trùng hoạt động dưới kính hiển vi quang học.

Xác định tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh bảo quản: làm tiêu bản cố định mẫu tinh bảo quản trong dung dịch formol citrate 4% 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.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá chất lượng tinh chó Phú Quốc bảo quản trong môi trường TCF có bổ sung các hàm lượng bột sữa gầy khác nhau

Chi tiêu hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình là hai chỉ tiêu quan trọng nhất đối với việc

đánh giá chất lượng tinh trùng bảo quản, đánh giá khả năng chịu đựng của tinh trùng của động vật nói chung và ở chó nói riêng, đồng thời quyết định khả năng thụ tinh của liệu tinh pha loãng. Kết quả đánh giá 2 chỉ tiêu chất lượng này của các mẫu

tinh bảo quản trong môi trường TCF được bổ sung bột sữa gầy với các mức hàm lượng thử nghiệm là 0; 15; 30 và 60 mg/ml tại thời điểm ngay sau khi pha loãng (ngày 0) và ngày thứ nhất, thứ hai và thứ ba bảo quản ở 5°C được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Hoạt lực tinh chó Phú Quốc bảo quản trong môi trường TCF có bổ sung các mức hàm lượng bột sữa gầy khác nhau

Đơn vị tính: điểm hoạt lực

Thời gian Môi trường	Chỉ tiêu đánh giá	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3
		Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE
TCF + 0 mg/ml bột sữa gầy	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,65 ± 0,07 ^a	0,55 ± 0,05 ^a	0,45 ± 0,07 ^a	0,31 ± 0,06 ^a
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	21,2 ± 0,63 ^a	24,3 ± 0,65 ^a	29,2 ± 0,81 ^a	33,7 ± 0,75 ^{ab}
TCF + 15 mg/ml bột sữa gầy	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,68 ± 0,08 ^{ab}	0,61 ± 0,07 ^a	0,54 ± 0,08 ^b	0,45 ± 0,08 ^b
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	20,8 ± 0,54 ^a	23,9 ± 0,59 ^a	28,9 ± 0,86 ^a	34,0 ± 0,63 ^a
TCF + 30 mg/ml bột sữa gầy	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,70 ± 0,07 ^{ab}	0,65 ± 0,07 ^b	0,61 ± 0,09 ^b	0,52 ± 0,06 ^b
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	21,3 ± 0,45 ^a	24,1 ± 0,75 ^a	28,7 ± 0,63 ^a	33,2 ± 0,68 ^b
TCF + 60 mg/ml bột sữa gầy	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,75 ± 0,08 ^b	0,55 ± 0,08 ^a	0,39 ± 0,07 ^a	0,28 ± 0,08 ^a
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	20,9 ± 0,51 ^a	24,0 ± 0,45 ^a	29,2 ± 0,82 ^a	33,9 ± 0,83 ^{ab}

Ghi chú: Trên cùng một cột, ở cùng một chỉ tiêu đánh giá, các giá trị có chữ cái bên trên khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$; SE = Standard Error (sai số chuẩn).

Kết quả cho thấy, hoạt lực tinh trùng được pha trong các công thức môi trường đều giảm dần theo thời gian bảo quản, trong đó mức độ giảm hoạt lực tinh trùng bảo quản ít nhất là trong môi trường TCF được bổ sung 30 mg/ml bột sữa gầy, ở hàm lượng bột sữa gầy bổ sung là 15 mg/ml có mức giảm hoạt lực cao hơn. Ở mức hàm lượng 60 mg/ml bột sữa gầy, hoạt lực tinh trùng giảm mạnh nhất, giảm mạnh hơn so với trong môi trường đối chứng (0 mg/ml bột sữa gầy). Điều này chứng tỏ, với mức hàm lượng 60 mg/ml, bột sữa gầy được bổ sung gây ra áp lực thẩm thấu cao làm ảnh hưởng tới hoạt động và chất lượng của tinh trùng trong thời gian bảo quản, do trong bột sữa gầy có mặt rất nhiều các loại chất tan khác nhau như amino acid, đường, các chất điện giải... (theo Watson và cộng sự năm 2000, Farstad và cộng sự năm 2010, Namula và cộng sự năm 2012, Guo Bo Quan và cộng sự năm 2016 và Rahman và cộng sự năm 2018). Đây là những chất phân ly trong nước tạo ra áp lực thẩm thấu mạnh ở phía ngoài màng tế bào tinh trùng. Mặc dù tế bào tinh trùng

có khả năng chịu đựng một khoảng nhất định của áp lực thẩm thấu của môi trường, tuy nhiên, khi áp lực thẩm thấu của môi trường quá cao gây mất cân bằng điện giải, ảnh hưởng tới hình dạng bình thường của tế bào, làm tổn thương cấu trúc và hoạt động sinh hóa của tế bào.

Đối với chỉ tiêu tỷ lệ tinh trùng kỳ hình, theo thời gian bảo quản, các mẫu tinh bảo quản đều có xu hướng tăng lên do cấu trúc của tế bào tinh trùng bị biến đổi theo thời gian, nguyên nhân là do các sản phẩm trao đổi chất và năng lượng của tinh trùng, các chất oxy hóa được hình thành gây ra các biến dạng ở phần đầu và thể đỉnh (biến dạng hoặc bong mất thể đỉnh), phần cổ (gãy, gập cổ), phần đuôi (gãy đuôi hoặc xoắn, gập) (theo Almquist và cộng sự năm 1954). Các tinh trùng có hình dạng bất thường này đều không có khả năng tiến tới trứng để thụ tinh. Kết quả thí nghiệm cho thấy tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của các mẫu tinh bảo quản trong các môi trường có bổ sung các mức hàm lượng bột sữa gầy khác nhau ở cùng một ngày bảo

quản không có sự sai khác rõ rệt. Mức tăng tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trung bình từ trên 20% vào ngày đầu tiên khai thác và pha loãng, bảo quản, lên trên 30% vào ngày thứ 3 bảo quản. Mức độ này phù hợp với các nghiên cứu của Nakagata và cộng sự, 2000, Rota và cộng sự, 2001 và Dorado và cộng sự, 2007, Zorinkimi và cộng sự, 2017 và có thể chấp nhận để sử dụng các mẫu tinh trong nghiên cứu này trong phối tinh nhân tạo nếu hoạt lực đạt trên 60% (khoảng 0,5 đến 0,7 điểm hoạt lực tinh trùng trở lên).

Như vậy, có thể kết luận mức hàm lượng 30 mg/ml của bột sữa gầy là mức thích hợp để bổ sung vào môi trường bảo quản lỏng tinh chó (môi trường TCF) cho hiệu quả bảo quản tinh tốt, tốt hơn so với môi trường không bổ sung bột sữa gầy.

3.2. Đánh giá chất lượng tinh chó bảo quản trong môi trường TCF có bổ sung vitamin C

Một số ít các nghiên cứu về việc bổ sung vitamin C trong môi trường bảo quản tinh chó (Balla và cộng sự, 2001) và một số nghiên cứu của các nhà khoa học khác khi tiến hành trên các loài động vật khác đã chỉ ra rằng, việc bổ sung vitamin C trong quá trình pha loãng và bảo quản tinh trùng cho những tác dụng rất đáng mong đợi. Với bản chất là một chất chống oxi-hóa giúp loại bỏ những gốc tự do trong quá trình hoạt động của tinh trùng gây ra trong môi trường bảo quản, từ đó có tác động tới khả năng hoạt động của tinh trùng. Nghiên cứu của Jabbar và cộng sự (2015) về ảnh hưởng của nồng độ acid ascorbic khác nhau đến chất lượng tinh dịch và khả năng nở của gà bản địa. Tinh của 20 gà trống Aseel được bảo quản trong môi trường Ringer bổ sung nồng độ acid ascorbic với hàm lượng 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5% w/v bảo quản ở 4°C và theo dõi trong 0, 6, 12, 24 giờ. Việc bảo vệ acid ascorbic chống lại stress oxy hóa đã được chứng minh trong vòng 6 giờ nhờ cải thiện khả năng vận động của tinh dịch (69% trong 1% axit ascorbic so với 63% trong mẫu đối chứng ($p < 0,05$)). Tương tự, đối với tỷ lệ sống của tinh trùng, sự khác biệt trở nên rõ ràng trong vòng 6 giờ (80% cho 0,75, 1, 1,25% so với 72% đối với môi trường đối

chứng ($P < 0,05$). Sau 24 giờ, các mẫu trong mỗi trường có nồng độ 1% acid ascorbic càng có sự khác biệt rõ ràng và tốt hơn về hoạt lực, tỷ lệ sống và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình. Và nghiên cứu của Daramola (2015) với đề tài bảo quản lạnh tinh trùng dê trong môi trường Tris-egg yolk có bổ sung vitamin C, đã đưa ra kết luận rằng vitamin C có ảnh hưởng tích cực đến chất lượng tinh trùng bảo quản, làm tăng hoạt lực cũng như giảm tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh dịch. Tinh dịch thu được pha loãng với tỷ lệ bổ sung 0, 2, 4, 6 mM vitamin C và bảo quản đông lạnh sau 30 ngày rồi đánh giá về đặc tính chất lượng tinh trùng. Kết quả cho thấy rằng, việc bổ sung 8mM vitamin C cho hoạt lực tinh trùng cao hơn, và lượng bạch cầu đã giảm rõ rệt so với các mẫu tinh trong môi trường đối chứng khác.

Trong nghiên cứu này, kết quả đánh giá hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh trùng chó với mức hàm lượng bổ sung của vitamin C khác nhau theo thời gian bảo quản được thể hiện trong bảng 2.

Kết quả cho thấy, hoạt lực tinh trùng trong các mẫu tinh được bảo quản trong các môi trường có bổ sung các mức hàm lượng vitamin C khác nhau đều cho kết quả cao hơn so với các mẫu đối chứng ở tất cả các mốc thời gian bảo quản. Trong đó, với mức hàm lượng 20 mg/ml của vitamin cho kết quả cao nhất, ở ngày thứ ba bảo quản, hoạt lực vẫn đạt $0,65 \pm 0,07$ điểm so với $0,74 \pm 0,08$ điểm ở ngày đầu tiên lấy tinh. Ở mức hàm lượng cao hơn (30 mg/ml), hoạt lực thấp hơn so với mức 20 mg/ml, có lẽ do với mức hàm lượng cao hơn, độ pH môi trường giảm thấp (xuống khoảng độ pH 5) dẫn tới phải bổ sung một lượng NaOH để chuẩn độ pH lên 6,2, là độ pH thích hợp cho tinh trùng chó, điều này làm tăng áp lực thẩm thấu, ảnh hưởng tới sức sống và độ ổn định cấu trúc của tinh trùng. Kết quả đánh giá tỷ lệ tinh trùng kỳ hình cho thấy, vitamin C có tác dụng rõ rệt giúp bảo vệ cấu trúc tế bào tinh trùng, với tỷ lệ tinh trùng kỳ hình tuy có tăng theo thời gian bảo quản nhưng mức độ tăng thấp hơn rất nhiều so với đối chứng. Trong đó, ở mức hàm lượng 20 mg/ml của vitamin C trong môi trường TCF ở ngày thứ ba bảo quản đạt thấp nhất ($17,9 \pm 0,37\%$). Kết quả này rất phù hợp với các công bố của các tác giả nói trên.

Bảng 2. Hoạt lực tinh chó bảo quản trong môi trường có vitamin C*Đơn vị tính: điểm hoạt lực*

Thời gian Môi trường	Chỉ tiêu đánh giá	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3
		Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE
TCF + 0 mg/ml vitamin C	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,75 ± 0,07 ^a	0,63 ± 0,08 ^a	0,58 ± 0,06 ^a	0,45 ± 0,07 ^a
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	16,7 ± 0,55 ^a	17,3 ± 0,72 ^a	19,2 ± 0,85 ^a	21,1 ± 0,81 ^a
TCF + 10 mg/ml vitamin C	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,76 ± 0,07 ^a	0,72 ± 0,06 ^b	0,64 ± 0,07 ^{ab}	0,56 ± 0,07 ^b
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	16,5 ± 0,58 ^a	17,0 ± 0,58 ^a	17,8 ± 0,55 ^b	18,7 ± 0,61 ^b
TCF + 20 mg/ml vitamin C	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,74 ± 0,08 ^a	0,73 ± 0,09 ^b	0,70 ± 0,07 ^b	0,65 ± 0,07 ^c
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	16,6 ± 0,63 ^a	16,9 ± 0,42 ^a	17,2 ± 0,53 ^c	17,9 ± 0,37 ^c
TCF + 30 mg/ml vitamin C	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,76 ± 0,08 ^a	0,68 ± 0,08 ^{ab}	0,61 ± 0,09 ^a	0,49 ± 0,10 ^{ab}
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	16,5 ± 0,81 ^a	17,3 ± 0,80 ^a	17,9 ± 0,61 ^b	18,3 ± 0,62 ^{bc}

Ghi chú: Trên cùng một cột, ở cùng một chỉ tiêu đánh giá, các giá trị có chữ cái bên trên khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$; SE = Standard Error (sai số chuẩn).

3.3. Đánh giá chất lượng tinh chó bảo quản trong môi trường TCF có bổ sung bột sữa gầy và vitamin C

Trong thí nghiệm này, mức hàm lượng vitamin C được sử dụng bổ sung trong môi trường TCF là

20 mg/ml, kết hợp thử nghiệm với các mức hàm lượng của bột sữa gầy là 0; 15; 30 và 60 mg/ml. Kết quả đánh giá chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của các mẫu tinh chó theo thời gian bảo quản của thí nghiệm này được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Hoạt lực tinh chó bảo quản trong môi trường có bột sữa gầy và vitamin C*Đơn vị tính: điểm hoạt lực*

Thời gian Môi trường	Chỉ tiêu đánh giá	Ngày 0	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3
		Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE	Mean ± SE
TCF	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,85 ± 0,07 ^a	0,82 ± 0,08 ^a	0,70 ± 0,08 ^a	0,61 ± 0,07 ^a
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	12,1 ± 0,51 ^a	13,2 ± 0,37 ^a	15,1 ± 0,39 ^a	16,3 ± 0,48 ^a
TCF + 15 mg/ml bột sữa gầy + 20 mg/ml vitamin C	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,84 ± 0,07 ^a	0,86 ± 0,05 ^b	0,81 ± 0,06 ^b	0,75 ± 0,08 ^b
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	12,2 ± 0,37 ^a	12,8 ± 0,50 ^b	14,5 ± 0,51 ^b	15,0 ± 0,59 ^b
TCF + 30 mg/ml bột sữa gầy + 20 mg/ml vitamin C	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,64 ± 0,06 ^b	0,43 ± 0,04 ^c	0,19 ± 0,03 ^c	0,0 ± 0,00 ^c
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	13,1 ± 0,23 ^b	19,6 ± 0,13 ^c	25,1 ± 0,82 ^b	30,5 ± 0,38 ^c
TCF + 60 mg/ml bột sữa gầy + 20 mg/ml vitamin C	Hoạt lực tinh trùng (điểm)	0,32 ± 0,28 ^c	0,12 ± 0,02 ^d	0,0 ± 0,00 ^d	0,0 ± 0,00 ^c
	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	12,8 ± 0,17 ^{ab}	21,3 ± 0,36 ^d	26,4 ± 0,67 ^b	33,1 ± 0,64 ^d

Ghi chú: Trên cùng một cột, ở cùng một chỉ tiêu đánh giá, các giá trị có chữ cái bên trên khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$; SE = Standard Error (sai số chuẩn).

Kết quả cho thấy với mức hàm lượng cao của bột sữa gầy kết hợp với vitamin C với hàm lượng

20 mg/ml đều cho kết quả hoạt lực tinh trùng các mẫu tinh rất kém và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình rất

cao. Đây là kết quả ảnh hưởng của áp lực thẩm thấu quá cao đến sức sống và hình dạng của tế bào tinh trùng. Có thể kết luận, nên bổ sung vào môi trường TCF kết hợp giữa hàm lượng vitamin C là 20 mg/ml với bột sữa gầy với mức hàm lượng 15 mg/ml để thu được hiệu quả bảo quản tinh chó dạng lỏng ở nhiệt độ 5°C cao hơn, góp phần nâng cao hiệu quả sử dụng tinh chó áp dụng trong quy trình nhân giống bằng phối tinh nhân tạo.

IV. KẾT LUẬN

Hàm lượng bột sữa gầy thích hợp bổ sung trong môi trường TCF bảo quản tinh chó dạng lỏng ở 5°C là 30 mg/ml.

Hàm lượng vitamin C thích hợp bổ sung trong môi trường TCF bảo quản tinh chó dạng lỏng ở 5°C là 20 mg/ml.

Môi trường TCF bảo quản tinh chó dạng lỏng ở 5°C có bổ sung đồng thời bột sữa gầy và vitamin C với hàm lượng lần lượt là 15 mg/ml và 20 mg/ml cho hiệu quả bảo quản tốt nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Almquist JO, Flipse RJ, Thacker DL (1954). Diluters for bovine semen. IV. Fertility of bovine spermatozoa in heated homogenized milk and skim milk. *J Anim Sci* 13, 1303–1307.
2. Amy Zorinkimi, F.A. Ahmed and K. Lalrintluanga. (2017). Effect of Different Extenders on the Quality of Mongrel Dog Semen Preserved at 5°C on the Basis of Hypo-Osmotic Sperm Swelling Test (HOSST). *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* (2017) 6(12): 961-964.
3. Balla BA, Medinab V, Gravanca CG, Baumbera J. (2001). Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5°C. *Theriogenology*. 56(4), 577-589.
4. Daramola, J.O. and Adekunle, E.O. (2015). Cryosurvival of goat spermatozoa in Tris-egg yolk extender supplemented with vitamin C, *Arch. Zootec.* 64 (247): 261-268. Donoghue, A.M., Donoghue, D.J., 1997. Effects of water- and lipid-soluble antioxidants on turkey sperm viability, membrane integrity and motility during liquid storage. *Poult. Sci.* 76 Ž10., 1440–1445.
5. Dorado J, Rodriguez I, Hidalgo M. (2007). Cryopreservation of goat spermatozoa: comparison of two freezing extenders based on post-thaw sperm quality and fertility rates after artificial insemination. *Theriogenology* 68, 168–177.
6. Farstad W.K. (2010). Artificial insemination in dogs,

In BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology, 2nd edition, England G. and von Heimendahl A. (Eds.). British Small Animal Veterinary Association ISBN 978-1905319190, Gloucester, UK.

7. Guo Bo Quan, Guo Quan Wua, Ya Jing Wang , Dong Jiang Li , Yuan Maa, Qiong Hua Hong. (2016). Effects of the Tris, Tes, or skim milk based extender on in vitro parameters of ram spermatozoa during liquid storage, *Small Ruminant Research* 134, p.14–21.
8. Jabbar A, W. Abbass , A. Riaz, A. Sattar and M. Akram. (2015). Effect of different concentrations of ascorbic acid on semen quality and hatchability of indigenous aaseel chicken, *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 25(5), page 1222-1226.
9. Mahmood Reza Amini, Hamid Kohram, Ahmad Zare Shahaneh, Mahdi Zhandi, Hossein Sharideh, Mohammad Mehdi Nabi (2015). The effects of different levels of vitamin E and vitamin C in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. *Cell Tissue Bank.* 2015 Dec;16(4):587-92. doi: 10.1007/s10561-015-9506-9. Epub 2015 Mar 17.
10. Nakagata N. (2000). Cryopreservation of mouse spermatozoa. *Mamm Genome* 11, 572–576.
11. Namula Z., Risa kodama, Fuminori Tanihara, Yasuhiro Morita, Yoko Sato, Manita Wittayarat, Masayasu Taniguchi and Takeshige Otoi. (2012). Effects of skim-milk supplementation on the quality and penetrating ability of boar semen after long-term preservation at 15°C, *Acta Veterinaria Hungarica* 62, page 106–116.
12. Rahman M.S , M. R. Gofur, M. M. Rahman , F. Y. Bari and N. S. Juyena. (2018). Effect of Skim Milk and Tris-citrate Extenders to Preserve the Semen of Indigenous Ram of Bangladesh, *Asian Journal of Biology* 5(2): 1-11, 2018.
13. Rita Payan-Carreira, Sonia Miranda and Wojciech Nizanski (2011). Artificial Insemination in Dogs, InTech ISBN 978-953-307-312-5.
14. Rota A, Frishling A, Vannozi I, Camillo F, Romagnoli S. (2001). Effect of the inclusion of skimmed milk in freezing extenders on the viability of canine spermatozoa after thawing. *J Reprod Fertil Suppl* 2001; 57: 377–381.
15. Watson PF. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci* 60-61, 481 – 492.
16. Wittayarat M, Kimura T , Kodama R , Namula Z , Chatdarong K , Techakumphu M , Sato Y, Taniguchi M , Otoi T. (2012). Long-term preservation of chilled canine semen using vitamin C in combination with green tea polyphenol. 2012 Jul-Aug;33(4):318-26.

Ngày nhận 24-4-2019

Ngày phản biện 5-5-2019

Ngày đăng 1-6-2019

Nâng cao - tham khảo

NHỮNG VẤN ĐỀ LIÊN QUAN ĐẾN CHU KỲ LÊN GIỐNG VÀ CÁCH XÁC ĐỊNH THỜI ĐIỂM RỤNG TRỨNG

Trịnh Thị Cẩm Vân

Phòng khám Thú y Chợ Lớn

Đặc điểm sinh sản của loài chó khác hẳn với các loài động vật có vú khác về tuổi thành thục, chu kỳ động dục, hành vi động dục và giao phối... đã góp phần tác động không nhỏ đến việc chọn lọc, nhân giống và lai tạo giống chó. Sự thành công của việc nhân giống chọn lọc phụ thuộc vào nhiều yếu tố từ chó đực lẫn chó cái, bao gồm các yếu tố về di truyền, thể chất, phương thức nuôi dưỡng, bệnh tật bẩm sinh hoặc mắc phải, yếu tố nội tiết, phương thức phối giống (tự nhiên hay nhân tạo), thời điểm phối giống ...

I. NHỮNG VẤN ĐỀ LIÊN QUAN ĐẾN CHU KỲ LÊN GIỐNG CỦA CHÓ CÁI

Một chu kỳ động dục bình thường trên chó cái gồm 4 pha: trước động dục (proestrous) kéo dài khoảng 9 ngày, giai đoạn động dục (estrous) kéo dài khoảng 7 ngày, giai đoạn sau động dục (diestrous) kéo dài khoảng 60 ngày, giai đoạn nghỉ ngơi (anestrous) kéo dài khoảng 5 tháng và tiếp tục đi vào chu kỳ tiếp theo.

Các dấu hiệu và hành vi của chó cái trong giai đoạn động dục tiến triển như sau :

Âm hộ sưng phồng, màu hơi hồng

Máu chảy từ âm hộ từ đỏ sẫm – hồng – nhạt dần

Chó cái liếm âm hộ liên tục

Có những hành vi lạ như dễ kích động, sủa, hung hãn, đôi lúc có vẻ như muốn tấn công đối

tượng trước mặt

Có những hành vi gợi tình đối với chó đực như nhảy chồm, ve vãn

Đuôi chó cái chuyển qua một phía biểu lộ tư thế sẵn sàng giao tình

Chu kỳ lên giống của chó cái chịu sự điều hoà bởi kích thích tố estrogen và progesterone do buồng trứng tiết ra dưới sự kiểm soát của kích thích tố tuyến não thùy FSH (Follicle stimulating hormone) và LH (Luteum hormone) và dưới tác động của kích thích tố phân tiết từ vùng dưới đồi GnRH (Gonadotropin – releasing hormone).

Do vậy, những bất thường có liên quan đến các yếu tố nội tiết, di truyền, bệnh tật... đều ảnh hưởng trực tiếp đến chu kỳ lên giống của chó cái.

1.1. Yếu tố nội tiết

Cường androgen (hyperandrogenism)

- Nhiễm trùng âm đạo (vaginitis)
- Chu kỳ động dục bất thường
- Giai đoạn nghỉ ngơi trong chu kỳ động dục của chó cái kéo dài gây ra hiện tượng không có dấu hiệu động dục (lack of heat)
- Hiện tượng nam hoá trên chó cái (virilization)
- Phi đại âm vật
- Tính dục bất thường