

6. Đoàn Thị Kim Đào (2016) Nghiên cứu chiết tách, xác định thành phần hóa học trong một số dịch chiết của thân cây mật gấu ở cao bằng. Luận văn Thạc sỹ Khoa học, Đại học Đà Nẵng.
7. Nguyễn Văn Hôn và Nguyễn Thị Hồng Nhân (2012). Ảnh hưởng của các mức độ phân bón đến sinh trưởng, năng suất và thành phần hóa học của cây Anh đào gia (*Cyathococcus septimus*). Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 159: 69-76.
8. Ijeh I.I. and Ejike C.E. (2011). Current perspectives on the medicinal potentials of *Vernonia amygdalina* Del. J. Med. Plan Res, 5: 1051-61.
9. Ibrahim H. and El-Moaty A. (2009). Evaluation of the primary and secondary products of *Neptis septemcrenata* Erenb. J Nat. Pro., 2: 81-88
10. Minitab (2000) Minitab Reference Manual. PC Version. Release 13.2 Minitab Inc., State College, PA.
11. Nguyễn Thị Hồng Nhân và Mai Vũ Duy (2012) Bước đầu khảo sát khả năng sinh trưởng, năng suất của cây Dã quý (*Tithonia diversifolia*) và *Trichanthera gigantea* lai thành phố Cần Thơ. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 157: 30-37
12. Nguyễn Thị Hồng Nhân, Nguyễn Văn Hôn và Mai Vũ Duy (2012). So sánh năng suất, giá trị dinh dưỡng, khả năng thích nghi của *Leucaena leucocephala*, *Calliandra calothyrsus* và *Flemingia macrophylla* Tạp chí KHKT Chăn nuôi 159: 33-39
13. Nguyễn Hoàng Quỳnh Như (2017). Ảnh hưởng của điều kiện cao cắt lên khả năng sinh trưởng và tính năng sản xuất của cây Mendola (*Tephrosia candida*) và Indo. Khóa luận tốt nghiệp Đại học ngành Chăn nuôi, Trường Đại học Cần Thơ
14. Lê Nguyễn Nam Phương (2018). So sánh sinh trưởng và năng suất của cây Indo và Mendola (*Tephrosia candida*). Khóa luận tốt nghiệp Đại học ngành Chăn nuôi, Trường Đại học Cần Thơ.
15. Van Soest P.J., Robertson J.B. and Lewis B.A. (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition J. Dairy Sci., 74: 3583-97

ẢNH HƯỞNG CỦA SỰ THAY THẾ LÒNG ĐÓ TRỨNG BẰNG LECITHIN ĐẬU NÀNH TRONG MÔI TRƯỜNG PHA LOÃNG LÊN CHẤT LƯỢNG TINH TRÙNG CHÓ BẢO QUẢN Ở 5°C

Nguyễn Văn Vui^{1*}, Pakanit Kupittayanant² và Nguyễn Thùy Linh¹

Ngày nhận bài báo: 26/04/2020 - Ngày nhận bài phản biện: 06/05/2020

Ngày bài báo được chấp nhận đăng 08/05/2020

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện để đánh giá sự ảnh hưởng của 4 nghiệm thức (NT) là 4 mức độ khác nhau của lecithin đậu nành (1, 3, và 5%) và 20% lòng đỏ trứng (đối chứng) trong môi trường pha loãng lên chất lượng tinh trùng chó được bảo quản lạnh ở 5°C trong 10 ngày. Tinh trùng bảo quản được đánh giá chất lượng về các chỉ tiêu như hoạt lực tinh trùng, màng tế bào, màng acrosome và tiềm năng hoạt động ty thể. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng mặc dù NT lecithin đậu nành có chất lượng tinh trùng tương tự với NT lòng đỏ trứng trong 6 ngày đầu ở chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng, nhưng chất lượng tinh trùng ở các chỉ tiêu còn lại của NT lòng đỏ trứng cao nhất và khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) khi so sánh với các NT lecithin đậu nành trong suốt 10 ngày bảo quản. Ngoài ra, NT lecithin đậu nành ở nồng độ cao (5%) có tác động tiêu cực đến hoạt lực tinh trùng trong suốt thời gian bảo quản và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với các NT còn lại ($P < 0,05$). Kết luận rằng lecithin đậu nành không thể thay thế lòng đỏ trứng trong môi trường pha loãng để bảo vệ tinh trùng bảo quản lạnh ở 5°C trong 10 ngày.

Từ khóa: Lecithin đậu nành, lòng đỏ trứng, môi trường pha loãng, tinh trùng chó, bảo quản lạnh.

ABSTRACT

Effects of soybean lecithin as a replacement of egg yolk in semen extender on chilled canine sperm quality

The study was conducted to evaluate the effects of 4 treatments with different concentration of soybean lecithin (1, 3, 5%) and egg yolk (20%) in Tris buffer extender on chilled canine sperm

¹ Trường Đại học Trà Vinh

² Trường Đại học Công nghệ Suranaree, Thái Lan

* Tác giả liên hệ. TS Nguyễn Văn Vui - Trường Đại học Trà Vinh, Số 126 Nguyễn Thuần Thành - Khóm 4, Phường 5, Thành phố Trà Vinh, Tỉnh Trà Vinh. Điện thoại: 0337 721 219, Email: nvvui@tvu.edu.vn

quality during 10 days of storage. Sperm evaluation was performed for motility, plasma membrane integrity, acrosome membrane integrity and mitochondrial membrane potential. The results showed that although soybean lecithin extender was similar to egg yolk extender in the motility parameter during the first 6 days, the sperm quality in egg yolk extender was the highest and have a significant difference as compared to that in soybean lecithin extender for intact plasma membrane, intact acrosome membrane, and high mitochondrial membrane potential parameters ($P < 0.05$). In addition, soybean lecithin extender at high concentration (5%) had negative effects on sperm motility during 10 days storage, and sperm quality in this extender was lower significantly than that in the rest extenders ($P < 0.05$). In conclusion, soybean lecithin cannot replace egg yolk in extender for protecting chilled canine sperm during 10 day storage at 5°C.

Keywords: Soybean lecithin, egg yolk, extender, chilled, canine sperm.

1. BẬT VẤN ĐỀ

Pha loãng tinh dịch và gieo tinh nhân tạo ngày càng phổ biến và có vai trò quan trọng trong công tác giống trên chó. Để duy trì chất lượng tinh trùng sau khi pha loãng góp phần phục vụ cho gieo tinh nhân tạo, tinh trùng phải được bảo quản lạnh (5°C) hoặc trữ đông (-196°C) (Thomassen và ctv, 2006). Tuy nhiên, phương pháp trữ đông tinh trùng cần nhiều trang thiết bị, quá trình thực hiện phức tạp và khả năng thu thai của tinh trùng thấp hơn phương pháp bảo quản lạnh ở tủ lạnh (Linde-Forsberg, 1995). Vì vậy, phương pháp bảo quản lạnh tinh trùng được sử dụng phổ biến hơn phương pháp trữ đông tinh trùng.

Hạn chế của phương pháp bảo quản lạnh tinh trùng là chất lượng tinh trùng chỉ duy trì trong một thời gian ngắn. Để kéo dài thời gian bảo quản, tinh trùng cần phải được pha loãng với một môi trường pha loãng thích hợp để cung cấp năng lượng, duy trì áp suất thẩm thấu, pH và bảo vệ tinh trùng chống lại sự hư hại đến các thành phần của tinh trùng. Thành phần phổ biến của môi trường pha loãng tinh trùng trên chó chủ yếu dung dịch đệm Tris kết hợp với đường fructose hoặc glucose và 20% lòng đỏ trứng (Ponglowhapan và ctv, 2004). Lòng đỏ trứng là thành phần quan trọng trong việc cung cấp nguồn dinh dưỡng cho tinh trùng, các thành phần phospholipids (lecithin), cholesterol trong lòng đỏ trứng có tác dụng bảo vệ màng tế bào tinh trùng chống lại shock lạnh trong quá trình hạ lạnh và ngăn cản sự thất thoát phospholipids từ màng tế bào (Manjunath và ctv, 2002). Tuy nhiên, thành

phần và chất lượng của lòng đỏ trứng thường không ổn định. Nó có thể chứa vi khuẩn và virus gây bệnh và có thể truyền sang vật nuôi khác. Điều này làm cho việc xuất khẩu tinh trùng được pha loãng với lòng đỏ trứng thường bị hạn chế (Kasner và ctv, 2013). Do đó, việc thay thế lòng đỏ trứng bằng những sản phẩm không xuất phát từ nguồn gốc động vật là rất cần thiết.

Lecithin đậu nành là một nguồn phospholipids từ thực vật chứa phosphatidylcholine, phosphatidylinositol và phosphatidylethanolamine. Phosphatidylcholine là thành phần chính của màng tế bào, nó giúp cho cấu trúc tế bào vững chắc và duy trì hình dạng của tế bào (Aires, 2003). Do đó, lecithin đậu nành là một nguồn tiềm năng để thay thế lòng đỏ trứng trong môi trường pha loãng để bảo vệ tế bào tinh trùng. Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá sự ảnh hưởng của lecithin đậu nành thay thế lòng đỏ trứng trong môi trường pha loãng lên chất lượng tinh trùng chó bảo quản ở 5°C.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu, thời gian và địa điểm

Tổng cộng 5 con chó đực Bully Mỹ 2-5 tuổi được sử dụng để khai thác tinh dịch. Thí nghiệm được tiến hành vào tháng 5/2019-11/2019, tại Trường Đại học Công nghệ Suranaree, Thái Lan.

2.2 Chuẩn bị môi trường pha loãng tinh dịch

Các môi trường pha loãng được pha chế từ các thành phần Tris 3.025mg, axit citric 1.700mg, fructose 1.250mg, gentamycin 200mg

với sự bổ sung 20% lòng đỏ trứng (NT đôi chúng) hoặc 1, 3, và 5% lecithin đậu nành (NT thí nghiệm) và nước cất vừa đủ đến 100ml.

2.3. Quá trình thực hiện và bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên của hình thức tái đo lường với 4 nghiệm thức (NT) và 4 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại là sự pha trộn của tinh dịch được khai thác từ 5 con chó đực trong một lần lấy tinh dịch. Tinh dịch từ 5 con chó đực sau khi lấy được pha trộn lẫn nhau và chia đều cho 4 ống nghiệm tương ứng với 4 NT. Sau đó, tinh dịch được ly tâm với tốc độ 720×g trong 5 phút để tách tinh trùng và tinh thanh. Tinh trùng được tách ra và pha với 4 môi trường pha loãng với các nồng độ khác nhau của lecithin đậu nành và lòng đỏ trứng. Sau khi pha loãng mật độ tinh trùng phải đạt 100×10^6 tinh trùng/ml. Tinh trùng sau đó được hạ lạnh đến 5°C và bảo quản ở nhiệt độ 5°C đến khi đánh giá. Các chỉ tiêu được đánh giá mỗi ngày trong 4 ngày đầu và mỗi 2 ngày cho các ngày tiếp theo cho đến 10 ngày.

2.4. Chất lượng tinh trùng trong bảo quản

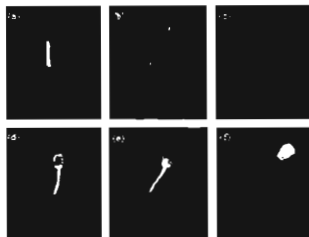
2.4.1. Đánh giá hoạt lực tinh trùng

Hoạt lực tinh trùng được đánh giá bằng hệ thống đánh giá hoạt lực tự động (CASA) phiên bản 14.0 của Mỹ. Dung dịch tinh trùng của từng NT được làm ấm lên khoảng 15 phút ở 38°C trong bể điều nhiệt trước khi đánh giá. Thể tích 5µl của dung dịch tinh trùng được nhỏ vào buồng đếm (2X-CELL) để đánh giá. Kết quả phần trăm hoạt lực tinh trùng được ghi nhận.

2.4.2. Đánh giá sự nguyên vẹn của màng tế bào, acrosome và tiềm năng hoạt động ty thể

Màng tế bào, acrosome và tiềm năng hoạt động ty thể được đánh giá thông qua nhuộm huỳnh quang kết hợp của propidium iodide (PI), Hoechst 33342 (H342), fluorescein isothiocyanate – conjugated *Pisum sativum agglutinin* (FITC-PSA) và 5,5',6,6'-tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethylbenzimidazolyl carbocyanine iodide (JC-1). Các dung dịch nhuộm được chuẩn bị theo quy trình của Celeghini và ctv (2007). Sau khi nhuộm, mỗi

mẫu tinh trùng được đánh giá bằng kính hiển vi đồng tiêu. Dưới kính hiển vi đồng tiêu, mỗi mẫu được đánh giá ít nhất 200 tinh trùng và lặp lại 3 lần. Nếu tinh trùng còn sự nguyên vẹn màng tế bào, acrosome và ty thể hoạt động tốt thì PI, FITC-PSA âm tính và H342, JC-1 dương tính. Nếu tinh trùng bị hư hại màng tế bào, acrosome và ty thể ngưng hoạt động thì PI, FITC-PSA dương tính và H342, JC-1 âm tính. PI dương tính thì đầu tinh trùng có màu đỏ. H342 dương tính thì đầu tinh trùng có màu xanh dương. FITC-PSA dương tính thì vùng acrosome có màu xanh vàng. JC-1 dương tính thì vùng ty thể của tinh trùng có màu đỏ cam. JC-1 âm tính thì vùng ty thể của tinh trùng có màu xanh lá cây. Sự phân loại tinh trùng dưới kính hiển vi đồng tiêu được thể hiện ở Hình 1.



Hình 1. Phân loại tinh trùng chó (600x)

(a) Tinh trùng nguyên vẹn màng tế bào, acrosome, ty thể hoạt động tốt; (b) Tinh trùng nguyên vẹn màng tế bào, màng acrosome bị phá vỡ, ty thể hoạt động tốt; (c) Tinh trùng nguyên vẹn màng tế bào, màng acrosome bị phá vỡ, ty thể hoạt động kém; (d) Tinh trùng bị phá vỡ màng tế bào, màng acrosome nguyên vẹn, ty thể hoạt động tốt; (e) Tinh trùng bị phá vỡ màng tế bào, màng acrosome nguyên vẹn, ty thể hoạt động kém; (f) Tinh trùng bị phá vỡ màng tế bào, màng acrosome, ty thể hoạt động kém.

2.5. Xử lý số liệu

Phân tích phương sai kết hợp hai nhân tố được sử dụng để đánh giá sự tương tác giữa hai nhân tố nghiệm thức và thời gian bảo quản bằng phần mềm SPSS 22.0. Tukey test

được áp dụng để so sánh sự khác nhau giữa các giá trị trung bình của các nhân tố (nghiệm thức, thời gian). Sự khác nhau giữa các giá trị trung bình có ý nghĩa thống kê khi $P < 0,05$. Kết quả được thể hiện giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn (Mean \pm SD).

3. KẾT QUẢ

3.1. Ảnh hưởng của lecithin đậu nành lên hoạt lực tinh trùng

Nhìn chung, hoạt lực tinh trùng ở tất cả các NT giảm dần đều từ ngày 1 đến ngày 10 và

NT lòng đỏ trứng (đôi chứng) duy trì ổn định trong suốt 10 ngày bảo quản. Trong 6 ngày đầu, hoạt lực tinh trùng của NT lòng đỏ trứng và các NT lecithin 1 và 3% tương tự nhau. Nhưng từ sau ngày 6, hoạt lực tinh trùng của NT lecithin giảm một cách đáng kể và khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) khi so sánh với NT lòng đỏ trứng. Kết quả cũng thể hiện rằng hoạt lực tinh trùng giữa các NT lecithin 1 và 3% không có sự khác nhau, nhưng NT lecithin 5% có giá trị giảm vượt bậc kể từ ngày thứ 3 và khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) khi so sánh với các NT còn lại.

Bảng 1. Ảnh hưởng của lecithin đậu nành lên hoạt lực tinh trùng

Nghiệm thức	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 6	Ngày 8	Ngày 10
LD	89,6 \pm 1,6 ^A	85,4 \pm 1,6 ^B	83,6 \pm 2,2 ^{abB}	81,1 \pm 2,6 ^{abC}	78,0 \pm 4,5 ^{abC}	74,9 \pm 4,7 ^C	65,7 \pm 4,9 ^{dD}
LC-1	90,6 \pm 2,4 ^A	87,5 \pm 0,8 ^{abB}	84,9 \pm 2,8 ^{abC}	79,5 \pm 3,3 ^C	71,9 \pm 1,4 ^{dD}	14,5 \pm 3,4 ^E	2,1 \pm 0,9 ^{FG}
LC-3	92,2 \pm 0,8 ^A	89,3 \pm 1,8 ^{ab}	85,2 \pm 2,2 ^{ab}	82,8 \pm 1,4 ^{abC}	74,1 \pm 1,8 ^C	26,6 \pm 5,0 ^{de}	5,2 \pm 2,0 ^{FG}
LC-5	89,0 \pm 3,2 ^A	85,5 \pm 5,0 ^A	78,8 \pm 3,7 ^{ab}	72,2 \pm 4,3 ^{bc}	46,8 \pm 4,9 ^{bd}	5,9 \pm 1,3 ^{de}	0,8 \pm 0,3 ^{FG}

Ghi chú: LD: lòng đỏ trứng; LC-1: lecithin 1%; LD-3: lecithin 3%; LD-5: lecithin 5%. Số liệu được thể hiện: giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn. Các ký tự a, b, hoặc c trong cùng cột thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$); các ký tự A, B, C, D, E, F, hoặc G trong cùng hàng thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

3.2. Ảnh hưởng của lecithin lên màng tế bào, acrosome và tiềm năng hoạt động ty thể

Bảng 2 thể hiện tỷ lệ phần trăm sự nguyên vẹn màng tế bào, acrosome và tiềm năng hoạt động ty thể của tinh trùng. Tương tự như chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng, giá trị của các chỉ tiêu này ở tất cả các NT giảm dần đều trong suốt 10 ngày bảo quản. Đặc biệt, NT lòng đỏ trứng có giá trị cao nhất từ ngày thứ 2 trở đi ở tất cả

các chỉ tiêu và khác nhau có ý nghĩa thống kê với các NT còn lại ($P < 0,05$). Đối với chỉ tiêu sự nguyên vẹn màng tế bào, không có sự khác nhau giữa các NT lecithin trong quá trình bảo quản, ngoại trừ ngày thứ 4. Tuy nhiên, đối với các chỉ tiêu sự nguyên vẹn màng acrosome và tiềm năng hoạt động của ty thể, NT lecithin ở mức độ 5% có giá trị giảm nhanh và thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) khi so sánh với NT lecithin ở mức thấp (1%).

Bảng 2. Ảnh hưởng của lecithin đậu nành lên màng tế bào, acrosome và tiềm năng hoạt động ty thể

Chỉ tiêu	NT	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 6	Ngày 8	Ngày 10
Màng tế bào (%)	LD	49,5 \pm 4,3 ^A	43,6 \pm 7,0 ^{ab}	38,6 \pm 6,4 ^{ab}	34,5 \pm 4,1 ^{abC}	30,7 \pm 5,0 ^{abC}	27,2 \pm 5,5 ^{abD}	22,5 \pm 8,7 ^{ad}
	LC-1	45,0 \pm 3,7 ^A	31,5 \pm 2,8 ^{ab}	29,1 \pm 1,7 ^{ab}	27,3 \pm 2,7 ^{abB}	20,8 \pm 5,6 ^{bc}	4,5 \pm 2,1 ^{bd}	1,3 \pm 0,4 ^{bd}
	LC-3	46,0 \pm 1,2 ^A	29,0 \pm 3,3 ^{ab}	25,5 \pm 2,7 ^{abC}	22,1 \pm 2,3 ^{bc}	19,1 \pm 3,7 ^{bc}	4,0 \pm 1,6 ^{bd}	0,6 \pm 0,3 ^{bd}
	LC-5	42,7 \pm 2,1 ^A	27,7 \pm 2,8 ^{ab}	25,7 \pm 3,7 ^{ab}	16,8 \pm 3,9 ^C	12,2 \pm 1,7 ^C	2,5 \pm 0,8 ^{bd}	0,1 \pm 0,0 ^{bd}
	LD	47,7 \pm 4,9 ^A	42,0 \pm 4,6 ^{ab}	37,9 \pm 4,0 ^{ab}	32,2 \pm 5,3 ^{bc}	27,1 \pm 4,1 ^C	23,1 \pm 1,9 ^{dD}	17,0 \pm 4,2 ^{de}
Màng acrosome (%)	LC-1	44,9 \pm 4,2 ^A	31,9 \pm 3,8 ^{ab}	28,2 \pm 3,5 ^{ab}	25,7 \pm 5,5 ^{ab}	20,0 \pm 3,3 ^{bc}	19,1 \pm 3,2 ^C	9,6 \pm 4,7 ^{abD}
	LC-3	44,2 \pm 3,6 ^A	25,2 \pm 5,3 ^{bc}	20,6 \pm 4,6 ^{bc}	17,0 \pm 5,8 ^{bc}	8,9 \pm 1,8 ^{cd}	6,8 \pm 1,8 ^{de}	3,2 \pm 1,7 ^{de}
	LC-5	43,6 \pm 3,3 ^A	20,3 \pm 3,5 ^{bc}	14,6 \pm 3,9 ^C	11,5 \pm 3,1 ^{cd}	8,0 \pm 2,5 ^{cd}	5,7 \pm 3,3 ^{de}	3,6 \pm 2,5 ^{de}
	LD	62,5 \pm 5,9 ^A	54,2 \pm 4,4 ^{ab}	49,1 \pm 2,1 ^{ab}	42,8 \pm 1,8 ^{bc}	39,3 \pm 2,0 ^{bcD}	36,5 \pm 2,3 ^{abD}	22,0 \pm 2,4 ^{de}
	LC-1	58,0 \pm 6,7 ^A	44,5 \pm 4,6 ^{ab}	36,8 \pm 3,2 ^{bc}	32,6 \pm 4,8 ^{bcD}	29,2 \pm 3,5 ^{cd}	10,2 \pm 2,2 ^{de}	4,4 \pm 2,2 ^{de}
Tiềm năng hoạt động ty thể (%)	LC-3	58,9 \pm 5,2 ^A	34,6 \pm 3,1 ^{ab}	28,9 \pm 1,9 ^{bc}	25,3 \pm 3,4 ^{bc}	19,2 \pm 2,3 ^{cd}	5,6 \pm 1,7 ^d	2,2 \pm 0,8 ^{de}
	LC-5	58,7 \pm 4,0 ^A	25,2 \pm 4,3 ^{ab}	17,0 \pm 2,5 ^{bc}	10,3 \pm 1,7 ^{cd}	6,3 \pm 1,5 ^{cd}	2,6 \pm 3,4 ^{de}	0,8 \pm 0,7 ^{de}

3.3. Tỷ lệ tinh trùng khỏe có 3 chỉ tiêu màng tế bào, acrosome và tiềm năng hoạt động ty thể

Tinh trùng khỏe là tinh trùng có cả 3 chỉ tiêu màng tế bào, acrosome, và tiềm năng hoạt động ty thể đều tốt. Kết quả tỷ lệ phần trăm tinh trùng khỏe của các NT được trình bày ở Bảng 3. Kết quả chỉ ra rằng số lượng tinh

trùng khỏe ở NT lỏng đo trung cao hơn có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$) so với các NT lecithin từ ngày thứ 2 trở đi. Nghiệm thức lecithin 1% có tỷ lệ tinh trùng khỏe tốt hơn có ý nghĩa ($P<0,05$) so với NT lecithin 3 và 5% ở ngày 2 và ngày 3 của quá trình bảo quản. Nhưng sau ngày 4, không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các NT lecithin ($P>0,05$).

Bảng 3. Tinh trùng khỏe với cả 3 chỉ tiêu màng tế bào, acrosome và tiềm năng hoạt động ty thể

Nghiệm thức	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 10
LD	42,2±0 ^a	32,9±2 ^{ab}	28,4±3 ^{0ab}	22,2±5 ^{0c}	13,6±3 ^{2c}	11,4±2 ^{0c1}	3,4±1,8 ¹
LC-1	39,6±7,4 ^b	18,8±12 ⁷	14,5±1,6 ^{0p}	8,1±1,3 ⁸	1,3±0,5 ^{0c}	0,2±0,1 ^{0c}	0,0±0,0 ^{0c}
LC-3	40,2±4,0 ^a	12,9±1,8 ⁷	7,7±1,3 ^{0c}	2,7±0,7 ^{0c}	1,3±0,5 ^{0c}	0,1±0,0 ^{0c}	0,0±0,0 ^{0c}
LC-5	39,8±4,5 ^a	9,0±1,4 ⁷	4,5±0,8 ^{0c}	2,4±1,2 ^{0c}	0,7±0,2 ^{0c}	0,1±0,0 ^{0c}	0,0±0,0 ^{0c}

4. THẢO LUẬN

Kết quả thí nghiệm chỉ ra rằng NT lecithin kem hơn NT lỏng đo trung ở tất cả các chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng, màng tế bào, acrosome, tiềm năng hoạt động ty thể, và tinh trùng khỏe. Kết quả này phù hợp với các công trình nghiên cứu trước đó trên cừu (Ustuner và ctv, 2016) và trên bò (Crespilho và ctv, 2012). Các tác giả này khẳng định rằng lỏng đo trung thì có nhiều ưu điểm hơn lecithin đầu nành trong bảo quản tinh trùng trên cừu và bò. Điều này có thể giải thích rằng cả lỏng đo trung và lecithin đầu nành đều chứa lipoprotein mật độ thấp. Tuy nhiên, lipoprotein mật độ thấp ở lecithin đầu nành chỉ có phospholipid, còn ở lỏng đo trung có cả phospholipid và protein. Protein có khả năng làm cho phospholipid dễ hòa tan và tiếp xúc với màng tế bào của tinh trùng. Điều này làm cho lipoprotein mật độ thấp ở lỏng đo trung dễ tương tác với màng tế bào và góp phần bảo vệ màng tế bào tránh thất thoát phospholipid (Belala và ctv, 2016).

Kết quả cũng chỉ ra rằng mặc dù NT lecithin có các giá trị thấp hơn NT lỏng đo trung ở các chỉ tiêu, nhưng ở chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng thì NT lecithin có giá trị tương tự với NT lỏng đo trung trong suốt 6 ngày đầu. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Beccaglia và ctv (2009) trên tinh trùng chó. Tác giả đã tìm ra rằng không có sự ảnh hưởng khác nhau giữa môi trường lecithin và lỏng

đo trung lên hoạt lực tinh trùng và khả năng phá vỡ màng trứng của tinh trùng trong thời gian bảo quản 4 ngày. Ngoài ra, một vài công trình nghiên cứu đã chứng minh rằng lecithin đầu nành có khả năng thay thế lỏng đo trung trong môi trường pha loãng tinh trùng trên các đối tượng vật nuôi như dê (Chelucci và ctv, 2015), bò (El-sisy và ctv, 2016) và cừu (Masoudi và ctv, 2016). Có sự khác nhau giữa kết quả nghiên cứu của chúng tôi và các công trình nghiên cứu trước đó có thể giải thích rằng vì có sự khác nhau về nguồn lecithin đầu nành sử dụng, quá trình chuẩn bị môi trường lecithin và nồng độ lecithin sử dụng. Paz và ctv (2010) đã chứng minh rằng sự khác nhau nguồn lecithin đầu nành sẽ có thành phần hợp chất cũng khác nhau và có tác động khác nhau đến chất lượng tinh trùng. Ngoài ra, lecithin đầu nành có đặc tính lưỡng cực nên rất khó hòa tan vào môi trường pha loãng và hình thành nên các phân tử có kích thước lớn hơn khác nhau sau khi pha loãng. Do đó, lecithin sẽ hạn chế tiếp xúc với màng tế bào để bao vệ tinh trùng trong suốt quá trình bảo quản.

Kết quả nghiên cứu này cũng tìm ra lecithin ở nồng độ cao có tác động tiêu cực đến chất lượng tinh trùng chó trong quá trình bảo quản. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Salmani và ctv (2014). Điều này có thể giải thích rằng lecithin nồng độ cao có thể làm tăng độ sét của môi trường sẽ ngăn cản quá

trình di chuyển và làm giảm năng lượng hoạt động của tinh trùng. Ngoài ra, Dalmazzo và ctv (2018) đưa ra giải thích rằng ở môi trường pha loãng chứa nhiều lecithin sẽ làm tăng nồng độ phosphatidylcholine ngoại sinh trong ty thể sẽ làm mất cân bằng giữa nội bào và ngoại bào, dẫn đến giảm hoạt động của ty thể và hoạt lực của tinh trùng.

5. KẾT LUẬN

Lecithin đậu nành không thể thay thế lỏng đông trùng trong môi trường pha loãng tinh trùng để bảo quản tinh trùng chó ở nhiệt độ 5°C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aires V. (2003) *In vitro* và *in vivo* comparison of egg yolk-based và soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*, 60(2): 269-79
- Axnér E. and Lageron E. (2016) Cryopreservation of Dog Semen in a Tris Extender with 1% or 2% Soya Bean Lecithin as a Replacement of Egg Yolk. *Rep Dom Ani*, 51(2) 262-68.
- Beccaglia M., Anastasi P., Chigioni S. and Lovoni G.C. (2009). Tris-lecithin extender supplemented with antioxidant catalase for chilling of canine semen. *Repr. Dom Ani*, 44(Sup 2): 345-49.
- Belala R., Delay J., Amirat L., Ropers M.-H., Guillou J. Le, Anton M., Schmitt E., Thorin C., Michaud S. and Kaidi R. (2016) The benefits of liposomes for chilling canine sperm for 4 days at 4°C. *Ani. Rep. Sci*, Elsevier B.V, 168 100-09
- Celeghini E.C.C., De Arruda R.P., De Várade A.F.C., Nascimento J. and Raphael C.F. (2007). Practical techniques for bovine sperm simultaneous fluorimetric assessment of plasma, acrosomal and mitochondrial membranes. *Rep Dom Ani*, 42(5) 479-88.
- Chelucci S., Pasciu V., Succu S., Addis D., Leoni G.G., Manca M.E., Naitana S. and Berlinguer F. (2015) Soybean lecithin-based extender preserves spermatozoa membrane integrity và fertilizing potential during goat semen cryopreservation. *Theriogenology*, Elsevier Inc., 83(6): 1064-74.
- Crespilho A.M., Sá Filho M.F., Dell'Aqua J.A., Nichi M., Monteiro G.A., Avanzi B.R., Martins A. and Papa F.O. (2012) Comparison of *in vitro* và *in vivo* fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or new

- lecithin based extenders. *Liv Sci*, Elsevier Inc., 149(1-2): 1-6
- Dalmazzo A., Losano J.D.A., Rocha C.C., Tsunoda R.H., Angrimani D. de S.R., Mendes C.M., Assumpção M.E.O.D., Nichi M. and Barnabe V.H. (2018) Effects of Soy Lecithin Extender on Dog Sperm Cryopreservation. *Ani. Biot*, Taylor & Francis, 29(3): 174-82.
- El-sisy G.A., El-nattat W.S., El-sheshawy R.I. and El-maaty A.M.A. (2016). Substitution of egg yolk with different concentrations of soybean lecithin in tris-based extender during bulls' semen preservability. *Asian Pac J. Rep*, Elsevier B.V, 5(6): 514-18
- Kasner E., Hunter C.A., Ph D., Kariko K. and Ph D. (2013) The avian và mammalian host range of highly pathogenic avian H5N1 influenza. *Nat Ins Health*, 70(4): 646-56.
- Linde-Forsberg C. (1995). Artificial insemination with fresh, chilled extended, và frozen-thawed semen in the dog. *Seminars in Vet Med Sur (Small Animal)*, 10(1): 48-58
- Manjunath P, Nauc V, Bergeron A. and Menard M. (2002). Major proteins of bovine seminal plasma bind to the low-density lipoprotein fraction of hen's egg yolk. *Bio Rep*, 67(4): 1250-58
- Masoudi R., Sharafi M., Zareh Shahneh A., Towhidi A., Kohram H., Esmaceli V., Shahverdi A. and Davachi N.D. (2016). Fertility và flow cytometry study of frozen-thawed sperm in cryopreservation medium supplemented with soybean lecithin. *Cryobiology*, 73(1): 69-72
- Paz P. de., Estes M.C., Alvarez M., Mata M., Chamorro C.A. and Anel L. (2010) Development of extender based on soybean lecithin for its application in liquid ram semen. *Theriogenology*, Elsevier Inc , 74(4): 663-71
- Ponglowhapan S., Essén-Gustavsson B. and Linde Forsberg C. (2004). Influence of glucose và fructose in the extender during long-term storage of chilled canine semen. *Theriogenology*, 62(8) 1498-17
- Salmani H., Towhidi A., Zhvái M., Bahreini M. and Sharafi M. (2014) *In vitro* assessment of soybean lecithin và egg yolk based diluents for cryopreservation of goat semen. *Cryobiology*, Elsevier Inc, 68(2): 276-80.
- Thomassen R., Sanson G., Krogenæs A., Fougner J.A., Berg K.A. and Farstad W. (2006). Artificial insemination with frozen semen in dogs: A retrospective study of 10 years using a non-surgical approach. *Theriogenology*, 66(6-7) 1645-50.
- Ustuner B., Alcay S., Toker M.B., Nur Z., Gokce E., Sonat F.A., Gul Z., Duman M., Ceniz C. and Uslu A. (2016). Effect of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) seminal plasma on the post-thaw quality of ram semen cryopreserved in a soybean lecithin-based or egg yolk-based extender. *Ani. Rep Sci*, Elsevier B.V, 164 97-04