

Kết quả đánh giá hiệu quả kinh tế cho hộ chăn nuôi chim cút đẻ (tính cho 1.000 con) được thể hiện ở bảng 5 thông qua sự cân đối các khoản thu chi trong suốt giai đoạn nuôi.

Kết quả bảng 6 cho thấy, tổng chi phí đầu tư để nuôi 1.000 chim cút đẻ là 76.183.582 đồng, trong đó chi phí thức ăn chiếm 81,8% tổng chi phí đầu tư. Lợi nhuận thu được từ nuôi 1000 cút đẻ là 3.443.028 đồng, bình quân lãi 423.497 đồng/tháng. Để thu được hiệu quả kinh tế cao trong chăn nuôi chim cút cần đạt tỷ lệ đẻ cao, ổn định và kết hợp với giá trứng cao.

4. KẾT LUẬN

Các hộ được điều tra đã có thời gian nuôi chim cút từ lâu với kinh nghiệm trung bình 8,8 năm, chim cút đóng góp 36,6% trong tổng thu nhập của các hộ. Quy mô chăn nuôi chim cút trung bình trong năm 2019 là 5.087 con/hộ.

Thời gian úm chim cút ở các hộ có quy mô <5.000 con là 24 ngày trong khi với quy mô ≥5.000 là 28 ngày và mật độ úm chim cút có sự khác biệt giữa nhóm hộ có quy mô chăn nuôi

khác nhau lần lượt là 107,9 và 102,5 con/m².

Năng suất sinh sản của đàn cút đẻ tương đối cao, tuổi đẻ quả trứng đầu tiên là 38,90-40,90 ngày tuổi, tỷ lệ đẻ trung bình của đàn chim cút trong cả giai đoạn nuôi dao động 76,05-78,50%.

Chăn nuôi chim cút đẻ trứng thương phẩm là một nghề mang lại thu nhập đáng kể cho người chăn nuôi. Chăn nuôi 1.000 chim cút đẻ mang lại lợi nhuận trung bình 423.497 đồng/tháng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bùi Hữu Đoàn** (2010). Nuôi và phòng trị bệnh cho chim cút. NXB Nông nghiệp.
2. **Bùi Hữu Đoàn và Hoàng Thanh** (2010). Đánh giá khả năng sản xuất của chim cút Nhật Bản nuôi trong nông hộ tại thị xã Từ Sơn- Bắc Ninh. Tạp chí KHPT, 8(1): 59-67.
3. **Trần Ngọc Long, Văn Ngọc Phong và Lê Đình Phùng** (2020). Ảnh hưởng của mùa vụ đến năng suất sinh sản của chim cút nuôi tại Thừa Thiên Huế. Tạp chí KHCN Nông nghiệp, 4(2):1871-77.
4. **Niên giám thống kê** (2018). NXB Thống kê, Hà Nội.
5. **Văn Ngọc Phong, Nguyễn Hữu Văn, Lê Đình Phùng, Dương Thanh Hải, Nguyễn Thị Mùi và Trần Ngọc Long** (2021). Ảnh hưởng của tỷ lệ trống mái đến năng suất sinh sản của chim cút giống nuôi tại Thừa Thiên Huế. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 263(03.21): 58-63.

CHẤT LƯỢNG TINH DỊCH VÀ ĐỘ NHIỄM KHUẨN TINH DỊCH LỢN BẢO QUẢN Ở MÔI TRƯỜNG 5°C KHÔNG CÓ KHÁNG SINH

Bùi Huy Doanh^{1}, Đinh Thị Yên¹, Đặng Thái Hải¹ và Phạm Kim Đăng¹*

Ngày nhận bài báo: 10/04/2021 - Ngày nhận bài phản biện: 10/05/2021

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 02/06/2021

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành trên 40 mẫu tinh dịch lợn nhằm đánh giá chất lượng tinh dịch cũng như mức độ nhiễm khuẩn trong môi trường không chứa kháng sinh ở 5°C. Tinh dịch sau khai thác được bảo quản trong môi trường AndroStar Premium có chứa kháng sinh ở 17°C và không chứa kháng sinh ở 5°C. Các mẫu tinh dịch được kiểm tra hoạt lực tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình và tổng số vi khuẩn hiếu khí sau 24, 72 và 120 giờ bảo quản. Kết quả cho thấy tinh dịch bảo quản ở 5°C có hoạt lực tinh trùng giảm dần qua các ngày bảo quản (P<0,05). Hoạt lực tinh trùng của mẫu tinh dịch ở 5°C không có sự sai khác so với mẫu đối chứng bảo quản ở 17°C sau 48, 72 và 120 giờ (P>0,05). Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trong mẫu tinh dịch bảo quản ở 5°C cao hơn so với mẫu bảo quản ở 17°C (P<0,05). Tổng số vi khuẩn hiếu khí trong mẫu bảo quản ở 5°C không chứa kháng sinh luôn nhỏ hơn 10³CFU/ml và không khác biệt so với tinh nguyên và các mẫu bảo quản ở 17°C.

¹ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

* Tác giả liên hệ: TS. Bùi Huy Doanh, Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Điện thoại: 0984803818; Email: bhdoanh@vnua.edu.vn

Do đó, tinh dịch bảo quản ở nhiệt độ thấp có ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng nhưng vẫn đảm bảo cho TTNT, đồng thời góp phần hạn chế việc sử dụng kháng sinh trong môi trường pha loãng.

Từ khóa: *Tinh dịch, bảo quản, chất lượng tinh, nhiệt độ, vi khuẩn.*

ABSTRACT

Sperm quality and bacterial contamination of boar semen preserved in antibiotic-free extender at 5°C

This study was conducted on 40 boar semen samples to evaluate the effect of hypothermic preservation strategy on semen quality as well as the bacterial growth in antibiotic-free extender at 5°C. Boar semen was diluted and stored in AndroStar Premium extender at 17°C with antibiotic and at 5°C without antibiotic. The functional spermatozoa parameters, bacteriological characteristics after 24 hours, 72hrs and 120hrs preservation were evaluated. The results showed that boar semen preserved in antibiotic-free AndroStar Premium extender at 5°C was reduced motility during these days of storage ($P<0.05$). The sperm motility of the sample stored at 5°C did not significantly differ from the control stored at 17°C in an extender containing antibiotic after 48, 72 and 120hrs ($P<0.05$). The proportion of abnormal spermatozoa in semen samples stored at 5°C was higher than samples stored at 17°C ($P<0.05$). The number of aerobic bacteria in semen samples stored at 5°C in an antibiotic-free extenders was lower than 10^3 CFU/ml after 24, 72 and 120 hours preservation, and did not differ significantly with raw semen and samples stored at 17°C in containing antibiotic extender. Therefore, preserved semen in antibiotic-free extender at low temperatures could affect sperm quality but still qualified for artificial insemination. It also contributes to restriction the use of antibiotics in preservation extenders.

Keywords: *Semen, preservation, semen quality, temperature, bacteria.*

1. MỞ ĐẦU

Quá trình khai thác và bảo quản tinh dịch rất dễ bị nhiễm khuẩn. Vi khuẩn có thể xâm nhập và ảnh hưởng đến chất lượng của tinh trùng khi bảo quản dài ngày, dẫn đến tỷ lệ thụ thai giảm. Vi khuẩn có mặt trong tinh dịch sẽ gây ra những tác hại: ảnh hưởng đến khả năng vận động của tinh trùng và tạo ra những bất thường về mặt hình thái của tinh trùng (Úbeda và ctv, 2013), tạo ra sự kết dính giữa các tinh trùng, khả năng sống sót thấp và tính toàn vẹn của acrosome giảm đi đáng kể (El-Mulla và ctv, 1996; Sepúlveda và ctv, 2014) trong quá trình bảo quản dạng lỏng. Vi khuẩn còn thải các độc tố ra môi trường, lấy chất dinh dưỡng của tinh trùng, đồng thời làm giảm khả năng bảo quản của tinh dịch, giảm tỷ lệ thụ thai hoặc có thể gây quái thai. Vi khuẩn trong tinh dịch có thể lây lan sang nhiều con cái khác trong quá trình thụ tinh. Hơn nữa, vi khuẩn cũng có thể làm giảm sức khỏe và khả năng thụ thai của con cái bằng cách gây viêm nội mạc tử cung và gây chết phôi, thai (Payne và ctv, 2008; Martín và ctv,

2010). Vi khuẩn có thể có trong tinh dịch khi còn trong dịch hoàn do lợn đực mắc phải một số bệnh truyền nhiễm lây lan qua đường sinh dục, hoặc do quá trình viêm nhiễm đường sinh dục chưa phát hiện kịp thời. Ngoài ra, có thể do khâu vệ sinh cơ quan sinh dục không tốt, hoặc nhiễm từ người khai thác... Từ những tác hại của vi khuẩn đối với tinh dịch thì việc bổ sung kháng sinh vào môi trường pha loãng và bảo quản tinh dịch lợn là hết sức cần thiết. Kháng sinh có tác dụng kìm hãm, ức chế sự phát triển của vi khuẩn và một số có tác dụng diệt khuẩn. Tuy nhiên việc bổ sung kháng sinh vào môi trường cũng có nhiều ảnh hưởng (Speck và ctv, 2014, Schulze và ctv, 2017). Bên cạnh đó, việc bảo quản tinh ở nhiệt độ thấp cũng làm kìm hãm khả năng phát triển của vi khuẩn nhằm duy trì số lượng vi khuẩn dưới ngưỡng tới hạn, vì vượt quá ngưỡng đó sẽ gây bất lợi cho chất lượng tinh trùng và có thể gây viêm nhiễm đường sinh dục cái (Althouse và ctv, 2000). Tuy nhiên, việc bảo quản ở nhiệt độ thấp quá cũng ảnh hưởng xấu đến chất lượng tinh trùng do tinh trùng rất mẫn cảm với nhiệt độ: nhiệt độ cao quá hay thấp quá

đều ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng. Nguyên nhân có thể do thành phần cấu tạo của màng tinh trùng có hàm lượng cholesterol thấp và tỷ lệ axit béo không bão hòa/axit béo bão hòa cao trong thành phần cấu tạo của lớp phospholipid màng (Yeste, 2017). Ở Việt Nam hiện nay, tinh dịch lợn được bảo quản ở nhiệt độ 17–20°C và chưa có nhiều nghiên cứu về ứng dụng bảo quản tinh lợn ở nhiệt độ thấp nhằm giảm sự phát triển của vi khuẩn để loại bỏ việc sử dụng kháng sinh. Vì vậy, việc xác định ảnh hưởng của nhiệt độ thấp trong bảo quản tinh dịch lợn đến chất lượng tinh dịch cũng như sự phát triển của vi khuẩn trong môi trường không chứa kháng sinh là điều hết sức cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Tổng số 40 mẫu tinh nguyên được khai thác từ 08 lợn đực giống Yorkshire khỏe mạnh, 2-4 năm tuổi, có hoạt lực tối thiểu là 70% và hình thái tinh trùng bình thường trên 75% nuôi tại Công ty CP Giống gia súc Hà Nội từ tháng 5/2020 đến tháng 12/2020. Tinh dịch dạng lỏng được bảo quản trong môi trường AndroStar Premium (AndPre) được cung cấp bởi Công ty Minitube (Tiefenbach, CHLB Đức).

Các đực giống đều được nuôi dưỡng chăm sóc trong cùng điều kiện. Thức ăn của đực giống là thức ăn công nghiệp theo đơn đặt hàng của Công ty với công ty Phavico với khẩu phần 2,3-2,5 kg/con/ngày. Mỗi đực giống được nuôi trong một ô chuồng riêng có máng ăn, nước uống riêng. Đực giống được tiêm vacxin định kỳ như: vacxin tụ dậu, vacxin lở mồm long móng, vacxin dịch tả lợn, vacxin PRRS và định kỳ tiêm bổ sung các vitamin A, D, E. Ngoài ra, chuồng trại được phun thuốc tiêu độc khử trùng thường xuyên theo quy trình của Công ty, khai thác 3-5 ngày/lần.

Tinh dịch sau khi khai thác được kiểm tra chất lượng tinh dịch trước khi pha loãng trong môi trường bảo quản. Kết quả từ 40 mẫu tinh nguyên của 08 lợn đực (Bảng 1) cho thấy: chất lượng tinh dịch đạt yêu cầu cho thụ tinh nhân

tạo (TTNT) và phù hợp với tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9111:2011 về giống lợn ngoại - Yêu cầu kỹ thuật.

Bảng 1. Phẩm chất tinh dịch lợn (n = 40)

Chỉ tiêu	Mean±SD	CV (%)
V (ml)	246,25±46,17	18,74
A (%)	85,90±4,09	4,76
C (triệu/ml)	331,12±55,82	16,85
VAC (tỷ/lần)	69,72±17,43	24,36
K (%)	6,93±1,35	19,45

2.2. Phương pháp

Tinh dịch lợn sau khi pha loãng và bảo quản ở 5°C và 17°C được kiểm tra chất lượng tinh dịch thông qua các chỉ tiêu tiêu: hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau 24, 48, 72 và 120 giờ bảo quản. Tổng số vi khuẩn hiếu khí của tinh nguyên và tinh dịch bảo quản ở 5°C và 17°C cũng được kiểm tra sau 24, 72 và 120 giờ bảo quản.

Thể tích tinh dịch (V, ml) được đo bằng cốc đong có vạch chia thể tích.

Hoạt lực tinh trùng (A, $0\% \leq A \leq 100\%$) được xác định bằng hệ thống phân tích tinh dịch tự động (Computer assisted sperm analysis, AndroVision® (Minitube, Đức)), sử dụng lam kính bốn buồng đếm với độ sâu 20µm (Leja, Nieuw Venneep, Netherlands) với kính hiển vi có độ phóng đại 100 lần.

Nồng độ tinh trùng (C, triệu/ml) được xác định bằng buồng đếm Neubauer trên kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần.

Tổng số tinh trùng tiến thẳng (VAC, tỷ/lần) được xác định bằng tích của 3 chỉ tiêu V, A và C.

Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K, %) được xác định bằng số tinh trùng kỳ hình trên tổng số 200 tinh trùng trong dung dịch 4% formol citrate trên kính hiển vi có độ phóng đại 1000 lần với vật kính soi đầu. Hình thái bất thường của tinh trùng được xác định thông qua việc kiểm tra hình thái của đầu, màng acrosome, cổ và đuôi tinh trùng. Phần đầu tinh trùng: tinh trùng kỳ hình đầu; acrosome bị hỏng: bong màng, màng không cân đối, màng quá mỏng; sự có mặt của các giọt bào tương ở phần đầu.

Phần cổ tinh trùng: tinh trùng kỳ hình cổ và sự có mặt của các giọt bào tương ở cổ. Phần thân tinh trùng: tinh trùng kỳ hình thân và sự có mặt của các giọt bào tương ở thân. Phần đuôi tinh trùng: tinh trùng kỳ hình đuôi và sự có mặt của các giọt bào tương ở đuôi.

Tinh nguyên được pha theo 2 nhóm nhiệt độ để bảo quản: (1) Môi trường AndPre có kháng sinh (0,25 mg/ml gentamicin sulphate) bảo quản ở 17°C và (2) Môi trường AndPre không có kháng sinh bảo quản ở 5°C. Tinh dịch được pha trong 5 liều (90ml/liều, 20 triệu tinh trùng/ml) dùng phân tích hoạt lực, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trong các ngày khác nhau và sự phát triển của vi khuẩn. Các tủ lạnh ổn nhiệt có hệ thống điều khiển và theo dõi nhiệt độ.

Mẫu tinh dịch bảo quản ở 17°C được để ở nhiệt độ phòng (25°C) trong 2 giờ trước khi cho vào tủ bảo quản ở 17°C. Các mẫu tinh dịch bảo quản ở 5°C được để ở nhiệt độ phòng (25°C) trong 2 giờ sau đó để 3 giờ ở 10°C và được chuyển vào tủ bảo quản 5°C.

Hoạt lực tinh trùng của các mẫu tinh dịch pha loãng được đánh giá (24, 48, 72 và 120 giờ) sau khi bảo quản. Tinh trùng của các mẫu tinh dịch được đánh giá qua kiểm tra sự tổn thương màng acrosome, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (phần đầu, phần cổ, phần thân và đuôi) sau 24, 48, 72 và 120 giờ bảo quản.

Việc kiểm tra sự phát triển của vi khuẩn hiếu khí trong tinh dịch lợn được tiến hành tại Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ sinh học Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Tổng số vi khuẩn hiếu khí được xác định trên môi trường thạch thường ở 37°C/24 giờ theo tiêu chuẩn quốc gia TCVN 4884-1:2015.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm MS Excel 2019 và Graphpad Prism 6. Kết quả đưa ra ở trung bình (\bar{X}) độ lệch chuẩn (SD). So sánh sự sai khác giữa các giá trị trung bình bằng phép thử Tukey phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) hai nhân tố sử dụng mô hình tuyến tính tổng quát (GLM): $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha_i \beta_j) + \varepsilon_{ijk}$. Trong đó: μ : trung bình chung; α_i : ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản; β_j :

ảnh hưởng của thời gian bảo quản; $(\alpha_i \beta_j)$: tương tác giữa nhiệt độ bảo quản và thời gian bảo quản; ε_{ij} : sai số ngẫu nhiên.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chất lượng tinh dịch lợn bảo quản ở nhiệt độ thấp

Một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng tinh dịch đó là hoạt lực tinh trùng, nếu chỉ tiêu này thấp thì tỷ lệ thụ thai sẽ giảm đặc biệt trong công tác TTNT. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hoạt lực tinh trùng chịu ảnh hưởng của thời gian bảo quản ($P < 0,05$). Hoạt lực tinh trùng cao nhất ở các mẫu sau 24 giờ bảo quản sau đó giảm dần và thấp nhất ở 120 giờ bảo quản ($P < 0,05$) (Bảng 2). Tinh dịch bảo quản ở 17°C có hoạt lực tinh trùng sau 24, 48, 72 và 120 giờ lần lượt là 85,08; 81,63; 78,78 và 76,08%. Các mẫu tinh dịch bảo quản trong môi trường không chứa kháng sinh ở 5°C, hoạt lực tinh trùng cũng có sự giảm mạnh sau các ngày bảo quản ($P < 0,05$): 82,18% sau 24 giờ, 79,75% sau 48 giờ, tuy nhiên, sau 72 giờ (77,05%) và 120 giờ (75,73%) hoạt lực tinh trùng không có sự sai khác ($P > 0,05$). Hoạt lực tinh trùng qua các ngày bảo quản ở 17 và 5°C trong nghiên cứu đều đáp ứng được tiêu chuẩn dùng trong TTNT (Waberski và ctv, 2019b). Sau 24 giờ bảo quản, hoạt lực tinh trùng ở 17°C cao hơn so với mẫu tinh dịch bảo quản ở 5°C ($P < 0,001$). Tuy nhiên, sau 48, 72 và 120 giờ bảo quản, nhiệt độ bảo quản không ảnh hưởng đến hoạt lực tinh trùng ($P > 0,05$). Sự sai khác sau 24 giờ bảo quản có thể giải thích do, trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ thấp đã làm ảnh hưởng đến chất lượng tinh dịch do tinh trùng bị shock lạnh làm giảm hoạt lực. Tinh trùng lợn được coi là dễ mất cảm với nhiệt độ, đặc biệt là nhiệt độ thấp nên hầu hết các môi trường bảo quản hiện nay đều bảo quản ở 15-18°C (Yeste, 2015). Jäke và ctv (2021a) cho biết: khi hoạt lực tinh trùng giảm từ 87,2% ở 24 giờ xuống 85,4% ở 144 giờ đối với tinh dịch bảo quản ở 17°C; 5°C, hoạt lực tinh trùng giảm xuống 60,0% sau 144 giờ bảo quản. Đồng thời, hoạt lực tinh trùng ở 5°C cũng thấp hơn so với tinh dịch bảo quản

CHĂN NUÔI ĐỘNG VẬT VÀ CÁC VẤN ĐỀ KHÁC

ở 17°C (Jäkel và ctv, 2021a). Paschoal và ctv (2020), cũng cho thấy chất lượng tinh dịch bảo quản ở 5°C vẫn đảm bảo được yêu cầu cho thụ tinh nhân tạo sau 144 giờ bảo quản (Paschoal và ctv, 2020). Kết quả nghiên cứu này thấp hơn so với nghiên cứu của Waberski và ctv (2019a) trên cùng môi trường bảo quản AndroStar Premium ở hai nhiệt độ 17°C và 5°C tại Đức. Tác giả cho biết, ở 17°C sau 24 và 72 giờ, hoạt lực tinh trùng lần lượt là 92,6 và 89,9%; ở 5°C lần lượt là 84,7 và 85,6% (Waberski và ctv, 2019a). Trong đó có sự sai khác sau 24 giờ bảo quản ($P<0,05$) và không sai

khác sau 72 giờ bảo quản cũng tương tự như kết quả của chúng tôi. Chất lượng tinh dịch ở 17°C cao hơn so với tinh dịch bảo quản ở 5°C, tuy nhiên hoạt lực tinh trùng sau 144 giờ bảo quản vẫn trên 82% (Jäkel và ctv, 2021b). Điều đó cho thấy, bảo quản trong môi trường Androstar Premium không chứa kháng sinh ở 5°C chất lượng tinh trùng có thể giảm sau 24 giờ bảo quản nhưng vẫn đảm bảo cho TTNT. Kết quả phân tích phương sai hai nhân tố cho thấy có sự tương tác giữa nhiệt độ bảo quản và thời gian bảo quản đến hoạt lực tinh trùng ($P<0,05$).

Bảng 2. Hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình qua các ngày bảo quản (% , n=40)

Thời gian bảo quản	Hoạt lực tinh trùng		Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình	
	17°C	5°C	17°C	5°C
24h	85,08 ^{Aa} ±3,21	82,18 ^{Ba} ±2,46	7,38 ^{Aa} ±2,18	9,09 ^{Ba} ±1,53
48h	81,63 ^{Ab} ±3,22	79,75 ^{Ab} ±2,60	8,33 ^{Aab} ±2,01	9,39 ^{Ba} ±1,71
72h	78,78 ^{Ac} ±4,04	77,05 ^{Ac} ±4,04	8,62 ^{Ab} ±2,14	9,65 ^{Ba} ±2,07
120h	76,08 ^{Ad} ±3,98	75,73 ^{Ac} ±3,58	8,87 ^{Ab} ±1,79	9,98 ^{Ba} ±2,15

Ghi chú: Trong cùng chỉ tiêu, các chữ cái in hoa khác nhau cùng hàng là sự sai khác có ý nghĩa giữa nhiệt độ bảo quản ($P<0,05$), các chữ cái in thường khác nhau cùng cột là sự sai khác có ý nghĩa giữa thời gian bảo quản ($P<0,05$).

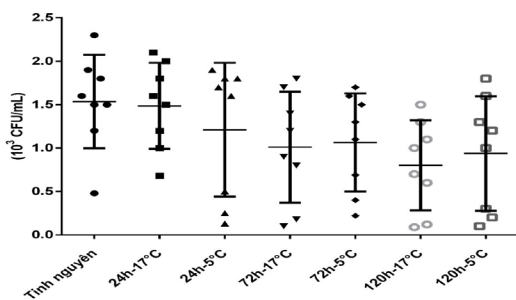
Hình thái tinh trùng cũng là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng tinh dịch trước và sau khi bảo quản. Tinh trùng có hình thái nguyên vẹn sau khi bảo quản mới có khả năng thụ tinh. Màng nguyên sinh chất và màng acrosome nguyên vẹn đảm bảo cho quá trình xâm nhập vượt qua các hàng rào xung quanh trứng để có thể kết hợp với trứng tạo phôi. Kết quả bảng 2 cho thấy, nhiệt độ bảo quản có ảnh hưởng đến tỷ lệ tinh trùng kỳ hình ($P<0,05$). Tuy nhiên, so sánh với yêu cầu về tỷ lệ tinh trùng kỳ hình cho TTNT ở Đức và Mỹ thì kết quả trong nghiên cứu này vẫn đáp ứng được cho TTNT ở lợn (tối đa 25% ở Đức và 30% ở Mỹ) (Waberski và ctv, 2019b). Tinh dịch bảo quản ở 17°C có tỷ lệ tinh trùng kỳ hình thấp hơn so với tinh trùng bảo quản ở 5°C ($P<0,05$) qua các ngày bảo quản. Ở 17°C, tỷ lệ kỳ hình tăng dần từ 7,38% ở 24 giờ lên 8,87% ở 120 giờ ($P<0,05$), không có sự sai khác giữa ngày thứ nhất và ngày thứ 2, tương tự ở ngày thứ 3 và ngày thứ 5 về tỷ lệ tinh trùng kỳ hình. Ở 5°C, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình cũng tăng lên từ

9,09% sau 24 giờ lên 9,98% sau 120 giờ, tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$). Kết quả phân tích thống kê cũng cho thấy, có sự tương tác giữa thời gian bảo quản và nhiệt độ bảo quản đến tỷ lệ tinh trùng kỳ hình ($P<0,05$).

Nhiệt độ là yếu tố quan trọng có ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng bảo quản, không chỉ ảnh hưởng đến hoạt lực tinh trùng mà còn ảnh hưởng đến tính thẩm thấu của màng, sự trao đổi canxi (Schmid và ctv, 2013a). Chức năng của ty thể giảm khi ở nhiệt độ thấp dẫn đến suy giảm lượng ATP, ảnh hưởng đến quá trình trao đổi chất, là nguyên nhân giảm hoạt lực của tinh trùng (Nguyen và ctv, 2016; Nesci và ctv, 2020). Nhiệt độ thấp cũng tác động tới cấu trúc của màng, làm thay đổi tính chất của lớp phospholipid kép và tính thẩm thấu của màng (Schmid và ctv, 2013a). Tinh thanh có vai trò quan trọng trong việc bảo vệ màng và duy trì khả năng thụ tinh. Sự pha loãng và bảo quản tinh dịch có ảnh hưởng lớn đến môi trường sống của tinh trùng. Do

vậy, quá trình bảo quản tinh dịch cũng như nhiệt độ bảo quản cần đảm bảo thành phần và áp suất thẩm thấu để giảm thiểu sự tác động đến tinh trùng. Tuy nhiên, các nghiên cứu trên môi trường AndroStar Premium bảo quản ở 5°C cho thấy, chất lượng tinh dịch bảo quản ở 5°C chỉ sai khác sau 1-2 ngày bảo quản về các chỉ tiêu: hoạt lực, tính nguyên vẹn của màng, sau 3 và 6 ngày bảo quản thì không có sự sai khác về các chỉ tiêu trên (Waberski và ctv, 2019a; Paschoal và ctv, 2020; Jäkel và ctv, 2021b). Kết quả thụ tinh nhân tạo từ tinh dịch bảo quản trong môi trường không kháng sinh ở 5°C cũng cho thấy không có sự sai khác so với tinh dịch bảo quản ở 17°C (Schmid và ctv, 2013b; Jäkel và ctv, 2021b).

3.2. Tổng số vi khuẩn hiếu khí trong tinh dịch lợn



Hình 1. Sự phát triển của vi khuẩn trong tinh nguyên trước khi pha loãng và tinh dịch bảo quản trong môi trường AndroStar Premium có chứa kháng sinh ở 17°C và không chứa kháng sinh ở 5°C sau 24, 72 và 120 giờ bảo quản (10³CFU/ml, n = 8)

Việc lạm dụng hoặc sử dụng kháng sinh không khoa học trong chăn nuôi đã và đang gây xuất hiện kháng kháng sinh ở nhiều nước trên thế giới. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xác định sự phát triển của tổng số vi khuẩn hiếu khí và chất lượng tinh dịch trong môi trường bảo quản không có kháng sinh ở 5°C và môi trường có kháng sinh ở 17°C. Vi khuẩn xuất hiện trong tinh dịch có thể có từ các nguồn khác nhau: bản thân đực giống, vệ sinh và môi trường trong chuồng nuôi, nơi khai thác cũng như quá trình pha loãng và

bảo quản tinh dịch. Kết quả kiểm tra cho thấy tổng số vi khuẩn hiếu khí trong tinh nguyên là $1,54 \times 10^3$ CFU/ml. Trong các môi trường bảo quản sau 24, 72 và 120 giờ ở 17°C và 5°C, lượng vi khuẩn tổng số đều có xu hướng giảm và thấp hơn so với lượng vi khuẩn trong tinh nguyên, nhưng sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê (Hình 1). Trong môi trường bảo quản có chứa kháng sinh ở 17°C: lượng vi khuẩn tổng số lần lượt là $1,49 \times 10^3$ CFU/ml; $1,01 \times 10^3$ CFU/ml và $0,80 \times 10^3$ CFU/ml sau 24, 72 và 120 giờ. Trong môi trường không chứa kháng sinh bảo quản ở 5°C thì xu hướng này cũng lặp lại tương tự $1,21 \times 10^3$ CFU/ml; $1,06 \times 10^3$ CFU/ml và $0,94 \times 10^3$ CFU/ml sau 24, 72 và 120 giờ và không có sự sai khác thống kê ($P > 0,05$). Một số kết quả nghiên cứu cho thấy tổng số vi khuẩn hiếu khí dao động trong khoảng 10^3 - 10^7 không ảnh hưởng lớn đến chất lượng tinh trùng (Althouse và ctv, 2000; Jäkel và ctv, 2021b). Trong nghiên cứu này tổng số vi khuẩn hiếu khí trong tinh nguyên thấp hơn so với các công bố trên. Thậm chí có mẫu tinh dịch lượng vi khuẩn tổng số lên đến hơn 2×10^4 CFU/ml (Jäkel và ctv, 2021b) hay 80 - 370×10^6 CFU/ml (Gączarzewicz và ctv, 2016). Bảo quản ở 5°C trong môi trường không chứa kháng sinh, lượng vi khuẩn cũng có xu hướng giảm từ $2,2 \times 10^3$ CFU/ml sau 24 giờ xuống dưới 10^3 CFU/ml sau 144 giờ (Paschoal và ctv, 2020). Tổng số vi khuẩn hiếu khí sau các ngày bảo quản có xu hướng thấp hơn so với tinh nguyên có thể giải thích do trong tinh dịch bảo quản ở 17°C có chứa kháng sinh (Gentamicine sulphate) đã hạn chế sự phát triển của vi khuẩn còn trong tinh dịch bảo quản ở 5°C nhiệt độ thấp cũng đã làm cho vi khuẩn không phát triển được. Tuy nhiên, một nghiên cứu khác cũng cho thấy sau 72 giờ bảo quản ở 5°C, lượng vi khuẩn tổng số giữ nguyên hoặc giảm 2-20 lần, trong khi lượng vi khuẩn tăng lên gần 2 lần khi bảo quản ở 17°C (Waberski và ctv, 2019a). Điều này có thể giải thích có thể ở 17°C, một số loại vi khuẩn có độ mẫn cảm thấp với kháng sinh nên chúng vẫn phát triển được trong môi trường bảo quản. Tổng số vi khuẩn hiếu khí trong tinh nguyên

thấp hơn so với một số nghiên cứu trước có thể liên quan đến vấn đề vệ sinh khu chuồng nuôi lợn đực, khu lấy tinh và pha chế tinh. Nếu các khu được vệ sinh sạch sẽ và quy trình khai thác và pha loãng đảm bảo cũng sẽ hạn chế được sự xâm nhập của vi khuẩn.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy chất lượng tinh dịch lợn đực được bảo quản trong môi trường không chứa kháng sinh ở 5°C có sự sai khác so với tinh dịch bảo quản ở 17°C ở chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng sau 24 giờ bảo quản. Tuy nhiên, sau 48 giờ bảo quản thì hoạt lực tinh trùng không có sự sai khác. Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh dịch lợn đực bảo quản ở 5°C bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ và cao hơn so với tinh dịch bảo quản ở 17°C. Đặc biệt, tổng số vi khuẩn hiếu khí trong môi trường bảo quản ở 5°C không chứa kháng sinh không có sự khác biệt so với môi trường bảo quản ở 17°C có chứa kháng sinh và trong tinh nguyên. Do đó, có thể bảo quản tinh dịch lợn đực ở 5°C trong môi trường không chứa kháng sinh nhưng vẫn đảm bảo được các yêu cầu với tinh dịch TTNT. Tuy nhiên, các nghiên cứu tiếp theo cần có các thử nghiệm phối giống so sánh hiệu quả của tinh dịch bảo quản ở 5°C để có thể kết luận việc bảo quản ở nhiệt độ 5°C đối với tinh dịch lợn nhằm loại bỏ việc sử dụng kháng sinh trong môi trường pha loãng

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Công ty Minitube (Tiefenbach, CHLB Đức) và Công ty Giống Gia súc Hà Nội đã hỗ trợ để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Althouse G.C., Kuster C.E., Clark S.G. and Weisiger R.M. (2000). Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology*, 53(5): 1167-76.
2. El-Mulla K.F., Köhn F.M., Dandal M., El Beheiry A.H., Schiefer H.G., Weidner W. and Schill W.B. (1996). In vitro effect of *Escherichia coli* on human sperm acrosome reaction. *Arc. Androl.*, 37(2): 73-8.
3. Gączarzewicz D., Udała J., Piasecka M., Błaszczuk B. and Stankiewicz T. (2016). Bacterial Contamination of Boar

Semen and its Relationship to Sperm Quality Preserved in Commercial Extender Containing Gentamicin Sulfate. *Pol. J. Vet. Sci.*, 19(3): 451-59.

4. Jäkel H., Henning H., Luther A.-M., Rohn K. and Waberski D. (2021a). Assessment of chilling injury in hypothermic stored boar spermatozoa by multicolor flow cytometry. *Cytometry Part A*. 10.1002/cyto.a.24301.
5. Jäkel H., Scheinpflug K., Mühldorfer K., Gianluppi R., Lucca M.S., Mellagi A.P.G., Bortolozzo F.P. and Waberski D. (2021b). In vitro performance and in vivo fertility of antibiotic-free preserved boar semen stored at 5 °C. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 12(1): 9.
6. Nesci S., Spinaci M., Galeati G., Nerozzi C., Pagliarani A., Algieri C., Tamanini C. and Bucci D. (2020). Sperm function and mitochondrial activity: An insight on boar sperm metabolism. *Theriogenology*. 144: 82-88.
7. Nguyen Q.T., Wallner U., Schmicke M., Waberski D. and Henning H. (2016). Energy metabolic state in hypothermically stored boar spermatozoa using a revised protocol for efficient ATP extraction. *Biology Open*. 10.1242/bio.017954.
8. Paschoal A.F.L., Luther A.-M., Jäkel H., Scheinpflug K., Mühldorfer K., P Bortolozzo F. and Waberski D. (2020a). Determination of a cooling-rate frame for antibiotic-free preservation of boar semen at 5°C. *PLoS One*. 15(6): e0234339-39.
9. Schmid S., Henning H., Oldenhof H., Wolkers W.F., Petrunkina A.M. and Waberski D. (2013a). The specific response to capacitating stimuli is a sensitive indicator of chilling injury in hypothermically stored boar spermatozoa. *Andrology*, 1(3): 376-86.
10. Schmid S., Henning H., Petrunkina A.M., Weitze K.F. and Waberski D. (2013b). Response to capacitating stimuli indicates extender-related differences in boar sperm function. *J. Ani. Sci.*, 91(10): 5018-25.
11. Sepúlveda L., Bussalleu E., Yeste M. and Bonet S. (2014). Effects of different concentrations of *Pseudomonas aeruginosa* on boar sperm quality. *Ani. Rep. Sci.*, 150(3-4): 96-06.
12. Úbeda J.L., Ausejo R., Dahmani Y., Falceto M.V., Usan A., Malo C. and Perez-Martinez F.C. (2013). Adverse effects of members of the Enterobacteriaceae family on boar sperm quality. *Theriogenology*, 80(6): 565-70.
13. Waberski D., Luther A.-M., Grünther B., Jäkel H., Henning H., Vogel C., Peralta W. and Weitze K.F. (2019a). Sperm function in vitro and fertility after antibiotic-free, hypothermic storage of liquid preserved boar semen. *Sci. Rep.*, 9(1): 14748.
14. Waberski D., Riesenbeck A., Schulze M., Weitze K.F. and Johnson L. (2019b). Application of preserved boar semen for artificial insemination: Past, present and future challenges. *Theriogenology*, 137: 2-7.
15. Yeste M. (2015). Recent Advances in Boar Sperm Cryopreservation: State of the Art and Current Perspectives. *Rep. Dom. Ani.*, 50(Suppl 2): 71-79.