

NGHIÊN CỨU MÔI TRƯỜNG PHA LOÃNG TINH DỊCH CHÓ BẢO TỒN Ở 5°C

ĐỖ VĂN THU, NGUYỄN ANH, NGUYỄN TUẤN ANH

Viện Công nghệ sinh học

Từ thành công đầu tiên sử dụng tinh dịch chó bảo quản lạnh để thụ tinh nhân tạo năm 1954 [3], một vài nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá các ảnh hưởng của nhiệt độ lên tinh dịch bảo quản; dải nhiệt độ 4-5°C được xác định là những điều kiện nhiệt độ tốt nhất để duy trì hoạt lực tinh dịch bằng cách giảm trao đổi chất [2, 7]. Sử dụng tinh pha loãng làm lạnh cho thụ tinh nhân tạo ở chó đã phổ biến trong hai thập kỷ gần đây. Các dạng khác nhau của môi trường đã được đánh giá khả năng cho bảo tồn lạnh tinh chó [1, 5]. Các môi trường này gồm citrate, tris, đệm phốt-phát hoặc đệm glycine, sữa làm nóng hoặc sữa khô, kem tiệt trùng với sự bổ sung hoặc không bổ sung đường, lòng đỏ trứng hoặc kháng sinh. Các môi trường có nhiệm vụ bảo vệ tinh trùng, duy trì hoạt lực và khả năng thụ tinh qua thời gian bằng cách làm ổn định màng tế bào, cung cấp các chất nền giàu năng lượng và ngăn cản các ảnh hưởng có hại của sự thay đổi pH và tính thẩm [2, 6]. Nhiều môi trường khác nhau được đề xuất nhằm bảo quản tinh dịch chó. Tuy nhiên, các kết quả thu được khi sử dụng các môi trường này thường không được như ý khi mà hầu hết chúng đều là các môi trường cho các loài khác mà không phù hợp với tinh dịch chó [4].

Để áp dụng các thành tựu khoa học về thụ tinh nhân tạo chó tại Trung tâm Huấn luyện chó nghiệp vụ (Bộ Công an), chúng tôi đã thử nghiệm ba môi trường pha loãng và đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên phẩm chất tinh dịch chó trong quá trình bảo tồn ở 5°C.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Chó giống

Tám chó đực giống Bécgie nuôi tại Trung tâm Huấn luyện chó nghiệp vụ - Bộ Công an, tuổi từ 2 đến 4 năm, trọng lượng 35 - 55 kg, đã phối giống thành thực được sử dụng làm động

vật cho tinh dịch. Chó được luyện tập cho sự thụ tinh nhân tạo, khai thác tinh một lần trong tuần. Chó được chọn dựa trên một số đặc điểm của tinh dịch (hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng $\geq 70\%$; tỷ lệ sống của tinh trùng $\geq 85\%$, tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng $\leq 20\%$). Tinh dịch từ những con chó được chọn cho những giá trị này trong tất cả các lần thu mẫu. Chó giống ăn theo khẩu phần thức ăn của Trung tâm Huấn luyện chó nghiệp vụ - Bộ Công an.

2. Thu tinh dịch

Tinh dịch được thu nhận theo phương pháp của Christiansen. Pha giàu tinh trùng của lần phóng tinh được thu nhận vào cốc thủy tinh âm, thể tích tinh dịch được ghi lại trước khi đặt tinh dịch vào trong nước àn 34°C. Tổng số 10 lần khai thác tinh dịch ở mỗi chó được thu nhận trong quá trình thí nghiệm.

3. Đánh giá chất lượng tinh trùng

Hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng được xác định nhờ kính hiển vi Olympus với độ phóng đại 100 - 400 lần, theo phương pháp của Milovanov (1962). Tỷ lệ sống của tinh trùng được tiến hành theo phương pháp (nhuộm màu với eosin/nigrosin) của Evans và Maxwell. Một lượng tổng số 500 tinh trùng được đếm trên mỗi tiêu bản ở độ phóng đại 400 lần. Tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng được xác định bởi sự đánh giá tiêu bản nhuộm tinh trùng với eosin/nigrosin dưới kính hiển vi với độ phóng đại 400 - 1000 lần.

4. Môi trường bảo quản tinh dịch

Ba môi trường sử dụng pha loãng bảo tồn tinh dịch có thành phần chủ yếu như sau:

Môi trường 1: tris 3,634 g; citric acid 1,99 g; fructose 0,50 g; lòng đỏ trứng gà 14% (v/v), penicillin 100 mg; streptomycin 100 mg; nước cất hai lần đến đủ 100 ml.

Môi trường 2: trisodium citrate dihydrate 1,1323 g; glucose 0,59466 g; fructose 0,59466g; penicillin 100 mg; streptomycin 100 mg; nước cất hai lần đến đủ 100 ml.

Môi trường 3: sữa tách chất béo 10 g; glucose 194 mg; penicillin 50 mg; streptomycin 50 mg; nước cất hai lần đến đủ 100 ml.

5. Pha loãng tinh dịch

Tinh dịch sau khi thu nhận được ủ trong nước ấm 34°C. Đánh giá phẩm chất tinh dịch, những mẫu tinh dịch có hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng $\geq 70\%$ và tỷ lệ sống của tinh trùng $\geq 85\%$, tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng $\leq 20\%$ được sử dụng trong các thí nghiệm pha loãng bảo tồn.

Những mẫu tinh dịch đủ tiêu chuẩn được pha với môi trường (nhiệt độ của môi trường 34°C). Bội số pha loãng 1: 2 (1 tinh dịch: 2 môi trường). Những thí nghiệm về chất bảo vệ lạnh, tinh dịch pha loãng với môi trường theo hai giai đoạn, giai đoạn thứ nhất pha với môi trường A (không có chất bảo vệ lạnh), giai đoạn thứ hai pha với môi trường B (có chất bảo vệ lạnh). Lọ tinh dịch pha loãng được đặt trong cốc nước ấm 34°C và chuyển vào buồng nhiệt độ 5°C. Lắc nhẹ tinh dịch pha loãng trong quá trình bảo tồn.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Nghiên cứu môi trường pha loãng tinh dịch

Bảng 1

Một số tính chất hoá - lý của các môi trường pha loãng tinh dịch

Môi trường	Áp lực thẩm thấu (miliosmol/kg)	Năng lực đậm	Tỷ trọng	Độ nhớt	pH
MT1	398,50 ± 5,45	2926 ± 144	1,026 ± 0,004	2,120 ± 0,069	6,44 ± 0,09
MT2	385,00 ± 8,08	2515 ± 109	1,021 ± 0,001	2,047 ± 0,001	6,86 ± 0,02
MT3	322,75 ± 5,74	1302 ± 141	1,029 ± 0,001	1,665 ± 0,006	6,59 ± 0,00

Môi trường pha loãng tinh dịch có áp lực thẩm thấu trong khoảng 322,75 - 398,50 miliosmol/kg, áp lực thẩm thấu của môi trường pha loãng nằm trong vùng đẳng trương. Năng lực đậm của môi trường: 11302-2926. Năng lực đậm của môi trường có khả năng duy trì sự ổn

định pH tinh dịch pha loãng trong thời gian bảo tồn. Độ nhớt của môi trường: 1,665 - 2,120. Tỷ trọng môi trường 1,021 - 1,029. pH môi trường 6,44 - 6,86. Môi trường pha loãng có một số tính chất hóa - lý học thuận lợi cho sức sống của tinh trùng trong quá trình bảo tồn ở ngoài cơ thể.

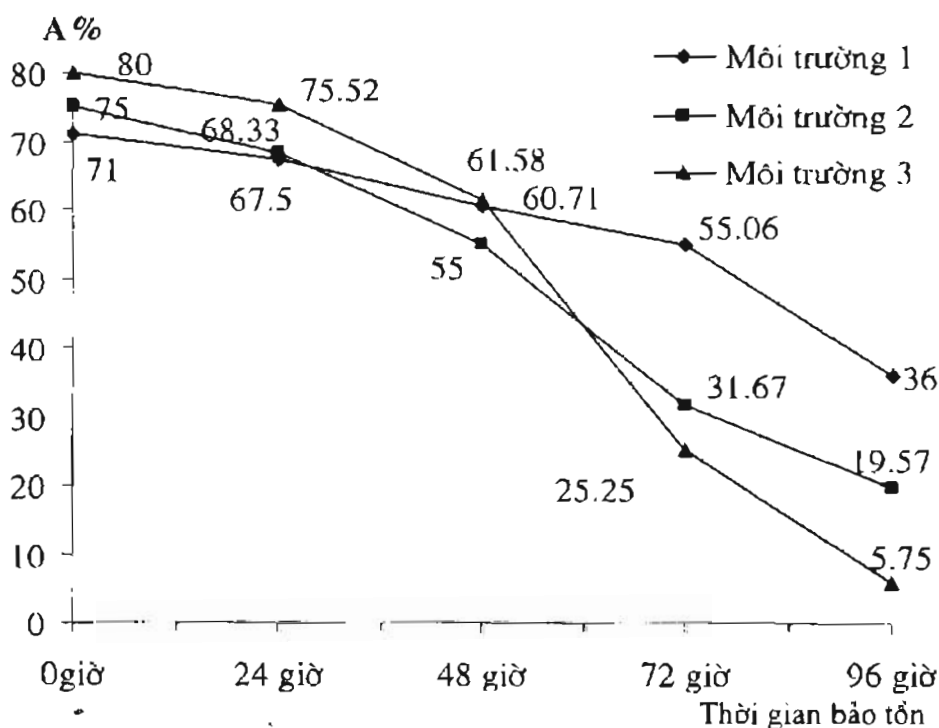
Bảng 2

Ảnh hưởng của môi trường pha loãng tinh dịch lên phẩm chất tinh dịch trong quá trình bảo tồn ở 5°C

Thời gian (giờ)	Hoạt lực tiến thẳng (%) của tinh trùng			Tỷ lệ kỳ hình (%) của tinh trùng			Tỷ lệ sống (%) của tinh trùng		
	MT1	MT2	MT3	MT1	MT2	MT3	MT1	MT2	MT3
0	71,00 ± 8,50	75,00 ± 7,07	80,00 ± 6,52	17,65 ± 2,35	17,65 ± 2,16	18,92 ± 1,53	85,55 ± 7,63	84,82 ± 5,67	87,64 ± 7,25
24	67,50 ± 7,07	68,33 ± 5,77	75,52 ± 7,50	19,93 ± 1,56	20,24 ± 1,79	20,15 ± 3,27	77,8 ± 8,54	78,30 ± 4,40	91,18 ± 5,37
48	60,71 ± 7,73	55,00 ± 8,66	61,58 ± 8,55	23,92 ± 4,74	24,83 ± 3,18	26,48 ± 5,26	74,4 ± 6,81	73,34 ± 1,64	88,98 ± 4,73
72	55,06 ± 14,51	31,67 ± 29,30	25,25 ± 11,27	24,87 ± 6,22	25,73 ± 5,26	27,85 ± 7,15	61,7 ± 13,36	56,73 ± 11,75	53,93 ± 8,91
96	36,00 ± 19,80	19,57 ± 4,56	5,75 ± 2,41	26,01 ± 7,00	26,35 ± 3,74	29,03 ± 6,07	56,3 ± 4,50	45,65 ± 5,76	23,68 ± 8,53

Tinh dịch được pha loãng với ba môi trường và bảo tồn ở 5°C, kết quả nhận được cho thấy cả ba môi trường pha loãng đều có khả năng duy trì hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng còn khả năng thụ tinh sau 48 giờ bảo tồn. Môi trường 1 và 3 có khả năng duy trì sức sống của tinh trùng cao hơn so với môi trường 2. Sau 72 giờ bảo tồn, môi trường 1 có ảnh hưởng duy trì sức sống tốt hơn so với môi trường 2 và 3. Sau 96 giờ bảo tồn, môi trường 1 cho kết quả hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng cao nhất (36%), trong khi đó môi trường 2 có hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng là 19,57%, môi trường 3 là 5,75%. Môi trường 3 có khả năng bảo vệ cấu trúc của tinh trùng kém hơn so với môi trường 1 và môi trường 2. Vì vậy, sau 48 giờ bảo tồn, tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng ở môi trường 1 và 2 thấp hơn môi trường 3. Sau 96 giờ bảo tồn tinh dịch với môi trường 3, tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng (29,03%) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tinh dịch pha loãng với môi trường 1 (26,01%) hoặc môi trường 2 (26,35%). Tỷ lệ sống của

tinh trùng ở cả ba môi trường khác nhau không đáng kể sau thời điểm kiểm tra 0 giờ. Tinh dịch pha loãng sau 24 và 48 giờ bảo tồn, tỷ lệ sống của tinh trùng cao hơn có ý nghĩa thống kê khi tinh dịch pha loãng với môi trường 3 so với tinh dịch pha loãng với môi trường 1 hoặc môi trường 2. Tinh dịch bảo tồn đến 72 giờ và 96 giờ thì nhận thấy môi trường 1 và môi trường 2 có khả năng duy trì tỷ lệ sống của tinh trùng tốt hơn so với môi trường 3. Tỷ lệ sống của tinh trùng ở môi trường 1 và 2 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với môi trường 3 sau thời gian bảo tồn 72 giờ và 96 giờ. Tinh dịch pha loãng với môi trường 1 có tỷ lệ sống của tinh trùng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với môi trường 2 và 3. Với kết quả nhận được, cho thấy các môi trường pha loãng tinh dịch có khả năng tương tự duy trì sức sống của tinh trùng sau 48 giờ bảo tồn. Thời gian bảo tồn tinh dịch đến 72 giờ và 96 giờ thì môi trường 1 có khả năng duy trì sức sống của tinh trùng tốt hơn so với môi trường 2 hoặc môi trường 3.



Hình 1. Ảnh hưởng của môi trường pha loãng lên hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng trong quá trình bảo tồn

Kết quả nhận được từ thí nghiệm pha loãng tinh dịch với ba môi trường cho thấy môi trường 1 có khả năng duy trì sức sống của tinh trùng trong thời gian bảo tồn tốt hơn so với môi trường 2 hoặc môi trường 3. Vì vậy, trong thí

nghiệm này, trên cơ sở thành phần của môi trường 1, chúng tôi so sánh ảnh hưởng của tỷ lệ (14% và 20%) lòng đỏ trứng gà lên phẩm chất tinh dịch pha loãng trong quá trình bảo tồn ở 5°C.

Ảnh hưởng của tỷ lệ lòng đỏ trứng gà có trong môi trường pha loãng lên phẩm chất tinh dịch

Thời gian (giờ)	Hoạt lực tiến thẳng (%) của tinh trùng		Tỷ lệ kỳ hình (%) của tinh trùng		Tỷ lệ sống (%) của tinh trùng	
	MT1 (14% lòng đỏ trứng)	MT1 (20% lòng đỏ trứng)	MT1 (14% lòng đỏ trứng)	MT1 (20% lòng đỏ trứng)	MT1 (14% lòng đỏ trứng)	MT1 (20% lòng đỏ trứng)
0	75,15 ± 7,58	75,26 ± 8,94	15,07 ± 1,74	16,57 ± 2,73	88,35 ± 8,50	87,83 ± 5,82
24	70,33 ± 10,41	68,00 ± 8,66	15,95 ± 4,43	17,68 ± 3,25	84,03 ± 4,48	85,88 ± 5,39
48	65,00 ± 14,14	60,70 ± 10,0	17,55 ± 7,45	18,50 ± 3,68	80,03 ± 5,35	79,85 ± 1,56
72	60,25 ± 8,52	55,85 ± 7,83	18,37 ± 3,69	19,24 ± 2,47	75,84 ± 7,08	71,58 ± 4,57
96	42,50 ± 10,61	40,50 ± 10,61	21,83 ± 3,85	23,84 ± 2,59	67,24 ± 10,35	59,79 ± 4,16

Bảng 3 cho thấy, tỷ lệ lòng đỏ trứng gà 14% và 20% (theo thể tích) trong môi trường pha loãng tinh dịch ảnh hưởng không có ý nghĩa lên hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng tại thời điểm 0 giờ. Sau 48 và 72 giờ bảo tồn tinh dịch pha loãng với môi trường có 14% lòng đỏ trứng gà, hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với môi trường có 20% lòng đỏ. Tuy nhiên, sau 96 giờ bảo tồn, ảnh hưởng của tỷ lệ lòng đỏ trứng gà trong môi trường pha loãng lên phẩm chất tinh dịch là không đáng kể. Tỷ lệ 14% và 20% lòng đỏ trứng gà trong môi trường pha loãng tinh dịch, ảnh hưởng không có

ý nghĩa thống kê lên tỷ lệ sống của tinh trùng trong thời gian bảo tồn từ 0 giờ đến 72 giờ. Sau 96 giờ bảo tồn, tinh dịch pha với môi trường có 14% lòng đỏ trứng gà, tỷ lệ sống của tinh trùng cao hơn có ý nghĩa thống kê so với môi trường có 20% lòng đỏ. Tinh dịch pha với môi trường có 14% lòng đỏ trứng gà cho tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng thấp hơn không đáng kể so với pha tinh dịch trong môi trường có 20%. Qua phân tích kết quả, cho thấy nên sử dụng 14% (v/v) lòng đỏ trứng gà trong môi trường 1 pha loãng tinh dịch chớ bảo tồn ở 5°C.

Bảng 4

Ảnh hưởng của một số loại đường trong môi trường lên phẩm chất tinh dịch trong quá trình bảo tồn ở 5°C

Thời gian (giờ)	Hoạt lực tiến thẳng (%) của tinh trùng			Tỷ lệ kỳ hình (%) của tinh trùng			Tỷ lệ sống (%) của tinh trùng		
	Tris-Fructose	Tris-Glucose	Tris-Raffinose	Tris-Fructose	Tris-Glucose	Tris-Raffinose	Tris-Fructose	Tris-Glucose	Tris-Raffinose
0	77,01 ± 2,35	76,60 ± 3,03	76,52 ± 2,15	15,72 ± 1,65	16,62 ± 1,78	16,52 ± 1,85	87,58 ± 2,05	88,57 ± 2,46	87,84 ± 2,48
24	75,73 ± 3,46	72,50 ± 3,54	70,27 ± 2,55	16,67 ± 2,25	17,54 ± 1,73	17,84 ± 2,69	86,14 ± 0,847	87,12 ± 1,54	85,36 ± 1,63
48	69,5 ± 3,54	65,75 ± 3,48	60,72 ± 3,21	18,83 ± 1,82	18,99 ± 1,83	19,53 ± 1,57	83,69 ± 1,561	82,12 ± 2,85	78,92 ± 2,68
72	65,37 ± 3,64	56,7 ± 2,74	48,65 ± 7,36	19,36 ± 1,35	19,79 ± 1,58	20,45 ± 2,60	75,63 ± 0,00	73,93 ± 1,50	70,38 ± 1,57
96	48,79 ± 3,51	41,07 ± 2,36	36,28 ± 3,68	21,39 ± 2,62	22,71 ± 1,57	22,59 ± 1,85	68,62 ± 1,73	66,95 ± 1,42	64,82 ± 1,63

Môi trường 1 được sử dụng pha loãng tinh dịch trong thí nghiệm, nhưng các loại đường được bổ sung vào môi trường là fructose, glucose, raffinose. Kết quả về phẩm chất tinh

dịch pha loãng bảo tồn trong các môi trường có loại đường khác nhau được trình bày ở bảng 4.

Các loại đường fructose, glucose, raffinose ảnh hưởng không có ý nghĩa lên hoạt lực tiến

thăng của tinh trùng ở thời điểm 0 giờ. Sau 48 - 72 giờ bảo tồn, tinh dịch pha loãng với môi trường có thành phần fructose hoặc glucose có hoạt lực tiến thăng của tinh trùng cao hơn có ý nghĩa so với môi trường có thành phần là đường raffinose. Môi trường có đường fructose ảnh hưởng lên hoạt lực tiến thăng của tinh trùng tốt hơn so với môi trường có thành phần glucose. Sau 96 giờ bảo tồn, tinh dịch pha loãng với môi trường fructose có hoạt lực tiến thăng của tinh trùng 48,79%, trong khi tinh dịch pha với môi trường glucose có hoạt lực tiến thăng của tinh trùng đạt 41,07%. Các loại đường trong môi trường pha loãng tinh dịch ảnh hưởng không

đáng kể lên tỷ lệ sống của tinh trùng trong thời gian bảo tồn, tuy nhiên tinh dịch pha loãng với môi trường có fructose hoặc glucose có tỷ lệ sống của tinh trùng cao hơn so với môi trường có raffinose. Các loại đường fructose, glucose, raffinose ảnh hưởng không có ý nghĩa thống kê lên tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng trong quá trình bảo tồn. Sau 72 giờ bảo tồn tinh dịch trong môi trường có fructose, glucose, raffinose cho tỷ lệ kỳ của tinh trùng tương ứng là 19,36%, 19,79%, 20,45%. Với kết quả nhận được, chúng tôi thấy sử dụng đường fructose hoặc glucose trong môi trường pha loãng tinh dịch cho phẩm chất tinh dịch tốt hơn sử dụng môi trường có raffinose.

Bảng 5

Ảnh hưởng của glycerol và dimethyl sulfoxide lên phẩm chất tinh dịch bảo tồn ở 5°C

Thời gian (giờ)	Hoạt lực tiến thăng (%) của tinh trùng			Tỷ lệ kỳ hình (%) của tinh trùng			Tỷ lệ sống (%) của tinh trùng		
	Gly	DMSO	Gly + DMSO	Gly	DMSO	Gly + DMSO	Gly	DMSO	Gly + DMSO
0	73,58 ± 2,05	73,66 ± 1,05	71,88 ± 2,36	16,03 ± 1,87	16,39 ± 1,13	16,64 ± 1,79	88,55 ± 2,96	88,46 ± 2,07	88,22 ± 0,49
24	68,29 ± 2,35	63,12 ± 2,02	59,10 ± 2,72	18,37 ± 2,08	18,15 ± 2,08	18,86 ± 2,10	81,50 ± 5,06	79,35 ± 4,50	76,18 ± 5,55
48	62,45 ± 4,36	58,02 ± 4,24	52,13 ± 4,98	20,25 ± 2,53	19,79 ± 2,51	20,75 ± 2,66	74,08 ± 3,93	72,39 ± 4,21	67,82 ± 3,00
72	56,33 ± 4,18	52,34 ± 4,51	42,13 ± 8,66	22,28 ± 2,63	22,38 ± 2,19	22,46 ± 2,15	69,28 ± 3,12	64,78 ± 3,32	60,16 ± 3,66
96	41,58 ± 3,58	43,15 ± 3,65	34,57 ± 5,24	23,18 ± 2,52	23,49 ± 2,46	23,60 ± 2,14	65,37 ± 3,58	60,51 ± 3,53	56,72 ± 3,65

Môi trường (thành phần cơ bản là tris - citric acid - fructose - lòng đỏ trứng gà 14% - chất kháng khuẩn) sau khi pha loãng được chia 3 phần và bổ sung chất bảo vệ lạnh: hoặc glycerol (Gly) hoặc dimethyl sulfoxide (DMSO) hoặc glycerol kết hợp với dimethyl sulfoxide (Gly + DMSO). Kết quả về phẩm chất tinh dịch bảo quản trong ba môi trường có thành phần chất bảo vệ lạnh khác nhau được trình bày ở bảng 5.

Ở thời điểm 0 giờ, hoạt lực tiến thăng của tinh trùng khác nhau không có ý nghĩa khi pha tinh dịch với môi trường có chất bảo vệ lạnh là glycerol hoặc dimethyl sulfoxide hoặc kết hợp glycerol với dimethyl sulfoxide. Sau thời gian bảo tồn từ 24 - 96 giờ, tinh dịch pha với môi trường có chất bảo vệ lạnh là glycerol hoặc

dimethyl sulfoxide, có hoạt lực tiến thăng của tinh trùng cao hơn có ý nghĩa so với môi trường có chất bảo vệ lạnh glycerol kết hợp với dimethyl sulfoxide. Sau 72 giờ bảo tồn tinh dịch pha với môi trường có chất bảo vệ lạnh là glycerol hoặc dimethyl sulfoxide, hoạt lực tiến thăng của tinh trùng tương ứng là 56,33% và 52,34%. Môi trường có chất bảo vệ lạnh là glycerol kết hợp với dimethyl sulfoxide có hoạt lực tiến thăng của tinh trùng 42,13%. Tinh dịch bảo tồn ở 5°C là nhiệt độ có ảnh hưởng đến cấu trúc cũng như sự trao đổi chất của tinh trùng trong quá trình bảo tồn, việc bổ sung glycerol vào môi trường pha loãng đã có ảnh hưởng tích cực bảo vệ tinh trùng. Tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng tăng dần trong quá trình bảo tồn tinh dịch. Các chất bảo vệ lạnh có vai trò bảo vệ cấu trúc

hình thái của tinh trùng. Trong thí nghiệm này cho thấy thành phần các chất bảo vệ lạnh được bổ sung vào môi trường pha loãng ảnh hưởng không đáng kể lên tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng trong thời gian bảo tồn. Chất bảo quản lạnh trong môi trường ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê lên tỷ lệ sống của tinh trùng trong thời gian bảo tồn. Môi trường có glycerol ảnh hưởng lên tỷ lệ sống của tinh trùng tốt hơn so với môi trường có dimethyl sulfoxide hoặc môi trường có glycerol kết hợp với dimethyl sulfoxide. Tinh dịch pha

với môi trường có glycerol kết hợp với dimethyl sulfoxide cho tỷ lệ sống của tinh trùng thấp nhất. Trên cơ sở kết quả nhận được, cho thấy: môi trường có chất bảo vệ lạnh là glycerol có ảnh hưởng tốt lên khả năng duy trì sức sống của tinh trùng trong thời gian bảo tồn. Sự bổ sung kết hợp glycerol với dimethyl sulfoxide vào môi trường pha loãng không cho kết quả tiến bộ về duy trì sức sống của tinh trùng trong thời gian bảo tồn tinh dịch pha loãng ở 5°C.

Bảng 6

Ảnh hưởng của phương pháp pha loãng môi trường (có glycerol) với tinh dịch lên phẩm chất tinh pha loãng bảo tồn ở 5°C

Thời gian theo dõi (giờ)	Hoạt lực tiến thẳng (%) của tinh trùng		Tỷ lệ kỳ hình (%) của tinh trùng		Tỷ lệ sống (%) của tinh trùng	
	0 giờ	Sau 2 giờ	0 giờ	Sau 2 giờ	0 giờ	Sau 2 giờ
0	74,87 ± 1,42	74,53 ± 2,19	17,26 ± 1,83	17,13 ± 1,60	87,28 ± 2,83	87,41 ± 1,06
24	66,19 ± 1,83	70,13 ± 1,25	19,75 ± 1,57	20,53 ± 1,24	80,00 ± 4,77	80,11 ± 3,77
48	60,19 ± 2,68	68,70 ± 2,26	22,63 ± 0,98	23,21 ± 0,41	75,51 ± 3,45	74,12 ± 2,99
72	53,57 ± 5,50	60,73 ± 3,62	23,37 ± 1,25	24,23 ± 1,40	67,79 ± 4,44	70,90 ± 2,10
96	40,35 ± 3,62	46,83 ± 2,85	25,65 ± 2,57	25,48 ± 1,53	60,84 ± 4,51	68,62 ± 3,45

Với kết quả thí nghiệm nhận được glycerol là chất bảo vệ lạnh có ưu điểm hơn so với dimethyl sulfoxide. Vấn đề đặt ra là thời điểm thích hợp bổ sung phần môi trường có glycerol vào tinh dịch. Chúng tôi đã thực hiện bổ sung môi trường có glycerol vào tinh dịch ở hai thời điểm: 0 giờ (sau lấy tinh) và sau 2 giờ ủ tinh dịch với môi trường không có glycerol (nhiệt độ ủ 5°C). Kết quả thể hiện ở bảng 6.

Phương pháp bổ sung môi trường có glycerol vào tinh dịch pha loãng có ảnh hưởng lên hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng trong quá trình bảo tồn. Hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng cao hơn có ý nghĩa thống kê trong trường hợp bổ sung môi trường có glycerol sau 2 giờ ủ tinh dịch pha loãng so với bổ sung môi trường có glycerol ở 0 giờ. Sau 24 giờ bảo tồn tinh dịch, hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng cao hơn có ý nghĩa thống kê trong trường hợp bổ sung môi trường có glycerol sau 2 giờ ủ tinh dịch ở 5°C (70,13%) so với bổ sung môi trường có glycerol ở thời điểm 0 giờ (66,19%). Phương pháp bổ sung môi trường có glycerol vào tinh dịch ảnh hưởng không có ý nghĩa thống kê lên tỷ lệ sống và tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng trong quá trình bảo tồn ở 5°C. Bổ sung phần môi trường có

glycerol vào tinh dịch sau 2 giờ ủ ở 5°C có tính ưu việt hơn so với bổ sung glycerol ở thời điểm ngay sau lấy tinh.

III. KẾT LUẬN

1. Môi trường 1 (thành phần cơ bản là tris) có khả năng duy trì sức sống của tinh trùng chớ bảo tồn ở nhiệt độ 5°C tốt hơn so với môi trường 2 hoặc môi trường 3.

2. Bổ sung 14% lòng đỏ trứng gà vào môi trường có ảnh hưởng lên phẩm chất tinh dịch bảo tồn ở 5°C tốt hơn so với bổ sung 20% lòng đỏ trứng gà.

3. Sử dụng đường fructose hoặc glucose trong môi trường pha loãng tinh dịch cho phẩm chất tinh dịch tốt hơn sử dụng môi trường có raffinose.

4. Glycerol có ảnh hưởng tốt lên khả năng duy trì sức sống của tinh trùng trong thời gian bảo tồn. Bổ sung kết hợp glycerol với dimethyl sulfoxide vào môi trường pha loãng không cho kết quả tiến bộ về duy trì sức sống của tinh trùng trong thời gian bảo tồn tinh dịch pha loãng ở 5°C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bouchard G. F. et al., 1990: Theriogenology, 34: 147-157.
2. Brown R. M., 1992: Probl. Vet. Med., 4: 445-452.
3. Harp A. E., 1954: Vet. Rec., 110: 194-196.
4. Iguer-ouada M., Verstegen J. P., 2001: Theriogenology, 55: 671-684.
5. Rota A., Strom B., Linde-Frosberg C., 1995: Theriogenology, 44: 885-900.
6. Rota A. et al., 1999: Theriogenology, 51: 1045-1058.
7. Province C. A. et al., 1984: Theriogenology, 22: 409-415.

RESEARCH ON THE DILUENT FOR LIQUID STORAGE AT 5°C FOR DOG SEMEN

DO VAN THU, NGUYEN ANH, NGUYEN TUAN ANH

SUMMARY

Semen was obtained from 8 beagle dogs ranging from 2 to 4 year of age and 35 - 55 kg of weight at dog professional research center - Ministry of Public Security. Dogs were exercised for semen collection. Semen was collected once weekly by massage method. Only the sperm-rich-fraction of each ejaculate was used in this study. Only semen samples showed progressive motility $\geq 75\%$, proportion of live spermatozoa $\geq 85\%$ and proportion of abnormal spermatozoa $\leq 20\%$ were used for storage. Three extenders were used to preserve dog semen. Extender No.1 contained Tris (hydroxymethyl) aminomethane, citric acid, fructose, egg yolk, and antibacterian agents. Extender No.2: trisodium citrate, dehydrate, glucose, fructose and antibacterian agents. Extender No.3: low-fat milk, glucose, antibacterian agents. Semen was diluted and then stored at 5°C. The results showed that extender No.1 was able to maintain semen quality better than the others two. The extender with 14% egg yolk had a positive influence on semen quality, compared to which with 20% egg yolk. The addition of fructose or glucose into extender resulted in better semen quality, compared to raffinose. Glycerol showed the ability to prevent spermatozoa from being damaged during cooling and freezing processes. No positive influence on semen quality was obtained when glycerol was used in combination with dimethyl sulfoxide.

Ngày nhận bài: 25-10-2007