TẠP CHÍ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ CHĂN NUÔI
Số 151 (6/2025): 84 - 94

JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE AND TECHNOLOGY
No. 151 (6/2025): 84 - 94

ISSN
1859 - 0802

DOI: 10.70408/nias.i151-y2025-645

Ảnh hưởng của môi trường pha loãng đến chất lượng tinh dê đông lạnh dạng cọng rạ

Lương Anh Dũng[1], Phùng Thế Hải[1], Đào Văn Lập[1], Phạm Vũ Tuân[1], Lê Thị Loan[1], Nguyễn Thị Thu Hòa[1], Phan Văn Hải[1], Man Thị Hồng Biên[1], Vũ Trung Hiếu[1] và Đặng Thị Thúy Yên[2]

[1]Trung tâm Giống gia súc lớn Trung ương; [2] Khoa Nông Lâm - Đại học Tây Bắc

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của môi trường pha loãng tinh dịch đến chất lượng tinh dê đông lạnh dạng cọng rạ, thí nghiệm được tiến hành trên 120 mẫu tinh dịch của 10 dê đực giống (05 dê đực giống Boer và 05 dê đực giống Saanen) có độ tuổi từ 14 - 19 tháng tuổi, được chăm sóc, nuôi dưỡng tại Trạm Moncada, dê đực giống được khai thác tinh dịch bằng âm đạo giả vào sáng sớm. Tinh dịch được pha loãng với ba môi trường pha loãng khác nhau (TNK; TRIS và VNE). Kết quả nghiên cứu cho thấy, môi trường VNE cho kết quả chất lượng tinh sau giải đông là tốt nhất trong ba môi trường pha loãng tinh dịch (P<0,05). Các chỉ tiêu về chất lượng tinh dê đông lạnh dạng cọng rạ sau giải đông với ba môi trường pha loãng VNE, TRIS và TNK lần lượt là: Hoạt lực tinh trùng đạt 50,18%; 44,71% và 40,76%; Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình là 17,60%; 18,86% và 19,23%.

Từ khóa: *Tinh dê, môi trường pha loãng, sau giải đông, hoạt lực tinh trùng, tinh trùng kỳ hình.*

Đặt vấn đề

Dê là gia súc nhai lại nhỏ được nuôi ở hầu hết khắp các nước trên thế giới và được coi là con bò của người nghèo. Dê cũng là loài vật nuôi truyền thống có ảnh hưởng mạnh mẽ đến đời sống kinh tế - xã hội của con người, đặc biệt là ở khu vực nông thôn và các vùng kém phát triển. Dê là gia súc thuộc loài nhai lại do vậy chúng có khả năng chuyển đổi các nguồn nguyên liệu thức ăn thô chất lượng thấp (thức ăn thô xanh, phụ phẩm trồng trọt...) không thể sử dụng bởi con người thành các loại thực phẩm chất lượng cao (Mahendra và Dilip, 2020).

Trên thế giới việc ứng dụng thụ tinh nhân tạo (TTNT) vào chăn nuôi dê phát triển mạnh từ đầu thế kỷ XX nhất là ở các nước Nga, Mỹ, Anh, Pháp, Đan Mạch và Hà Lan. Cho đến nay ở Pháp trên 90% đàn dê được TTNT bằng tinh đông lạnh cọng rạ. Kỹ thuật TTNT cho dê bằng tinh đông lạnh cọng rạ là cuộc cách mạng trong công tác lai tạo giống vật nuôi, tạo ra giống dê cao sản. Công nghệ đông lạnh lưu giữ tinh trùng lâu dài trong nitơ lỏng (-196°C) góp phần khai thác triệt để tiềm năng sinh sản của đực giống, nhất là đực giống cao sản; mở rộng phạm vi thụ tinh; góp phần lưu giữ quỹ gen và tính đa dạng sinh học các giống dê, giúp cho xuất nhập khẩu và thương mại giống dễ dàng (Đinh Văn Bình *và cs*., 2008).

Ở Việt Nam hiện nay, nhân giống dê chủ yếu bằng phương pháp nhảy trực tiếp. Dê đực giống chưa được tuyển chọn và thiếu đực giống để luân chuyển dẫn tới hiện tượng đồng huyết, ảnh hưởng tới chất lượng giống của đàn dê. Để giải quyết vấn đề này cần áp dụng kỹ thuật Thụ tinh nhân tạo (TTNT). Nhân giống bằng kỹ thuật thụ tinh nhân tạo mang lại hiệu quả rất lớn trong chăn nuôi, ngoài quản lý được đực giống, tránh lây lan các bệnh qua đường sinh dục, TTNT còn

Tác giả liên hệ: Lương Anh Dũng; Tel: 0386355164
*Email: dungvinalica@gmail.com

giúp cải tạo, nâng cao năng suất, chất lượng đàn dê nhanh nhất do sử dụng tinh đông lạnh của các đực giống chất lượng cao đã được tuyển chọn kỹ lưỡng, đồng thời giảm chi phí trong chăn nuôi do không cần sử dụng nhiều dê đực giống.

Một trong những yếu tố quyết định đến thành công của TTNT là chất lượng tinh đông lạnh sau giải đông. Tuy nhiên, so với các loài gia súc khác như bò hoặc trâu, tinh dịch dê có đặc tính sinh học riêng, đặc biệt là tính nhạy cảm cao với các yếu tố lý - hóa học trong quá trình bảo quản lạnh, dẫn đến giảm khả năng sống, di động và thụ tinh sau giải đông. Trong môi trường pha loãng tinh dịch dê có nhiều thành phần, nhưng các thành phần quan trọng và được quan tâm nhiều là glycerol, raffinose và lòng đỏ trứng gà. Các tác giả (Leboeuf *và cs*., 2000; Purdy, 2006; Chetna Gangwar *và cs*., 2016; Anakkul, 2013; Sharma *và cs*., 2020) đều cho rằng glycerol có tác dụng là chất bảo vệ đông lạnh có thể thấm qua màng tinh trùng. Raffinose ($C_{18}H_{22}O_{16}.5H_2O$) giống như các loại đường khác có vai trò bảo vệ lạnh bằng cách tương tác với lipid và protein màng, giảm nguy cơ hình thành tinh thể băng nội bào, gây mất nước thẩm thấu tế bào, giúp duy trì áp suất thẩm thấu trong quá trình bảo quản lạnh (Theo Salamon *và cs*., 2000; Tuncer *và cs*., 2010; Naing *và cs*. 2010; Bucak *và cs*., 2013; Hu *và cs*., 2009; Yimer *và cs*., 2021). Phospholipid có trong lòng đỏ trứng không đi vào màng để thay đổi nồng độ phospholipid mà có thể tạo thành một lớp màng bảo vệ xung quanh tế bào để ngăn ngừa sự hình thành các tinh thể băng nội bào và bảo vệ màng tinh trùng khỏi bị hư hỏng cơ học trong quá trình đông lạnh hoặc rã đông (Simpson *và cs*., 1987; Zhang *và cs*., 2009).

Như vậy chúng ta có thể thấy, trong sản xuất tinh đông lạnh cọng rạ, môi trường pha loãng tinh dịch có vai trò rất quan trọng, không chỉ cung cấp chất dinh dưỡng, môi trường còn giúp bảo vệ tinh trùng khỏi các tổn thương trong các quá trình đông lạnh và giải đông. Thành phần và tính chất của môi trường pha loãng tinh dịch như nguồn gốc protein, chất bảo vệ lạnh, chất chống oxy hóa và hệ đệm pH... có thể ảnh hưởng rõ rệt đến chất lượng tinh trùng sau đông lạnh. Nhằm đánh giá ảnh hưởng của môi trường pha loãng đến chất lượng tinh dê đông lạnh cọng rạ, từ đó xác định môi trường thích hợp pha loãng tinh dịch dê góp phần nâng cao chất lượng tinh dê đông lạnh dạng cọng rạ tại Việt Nam, chúng tôi tiến hành nghiên cứu "*Ảnh hưởng của môi trường pha loãng đến chất lượng tinh dê đông lạnh dạng cọng rạ"*.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Thí nghiệm được tiến hành trên 120 mẫu tinh dịch của 10 dê đực giống (05 dê đực giống Boer và 05 dê đực giống Saanen) có độ tuổi từ 14 - 19 tháng tuổi, khối lượng trung bình của dê Boer là 45,36 kg, dê Saanen là 35,24 kg.

Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Trạm Nghiên cứu và Sản xuất tinh đông lạnh Moncada (Tản Lĩnh, Ba Vì, Hà Nội), thuộc Trung tâm Giống gia súc lớn Trung Ương.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 04/2024 đến 08/2024

Nội dung nghiên cứu

Đánh giá một số chỉ tiêu tinh dịch của dê trước pha loãng môi trường

Đánh giá một số chỉ tiêu tinh dịch của dê sau pha loãng môi trường (sau làm mát và cân bằng)

Đánh giá một số chỉ tiêu tinh dịch của dê sau đông lạnh.

Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm

Đàn dê đực giống được nuôi nhốt theo từng ô cá thể, chế độ vận động, chăm sóc quản lý theo quy trình đối với dê đực giống. Thức ăn cỏ xanh, cỏ khô, thức ăn tinh và khoáng được cho ăn tại chuồng ngày 2 lần vào buổi sáng và chiều tối. Khẩu phần ăn của đàn dê được tính sẵn cho từng cá thể, dựa theo tiêu chuẩn NRC (2007).

Công thức các môi trường pha loãng tinh dịch dê:

Bảng 1. Công thức môi trường pha loãng tinh dịch dê

Thành phần môi trường	Loại môi trường		
	TNK	Tris	VNE
Tris	2,54g	2,42g	1,363g
Acid Citric	0,78g	1,34g	0,762g
Fructose	0,7g	1,0g	0,375g
Methionine	0,05g		
Lactose			1,5 g
Peniciline		0,06 g	100.000 UI
Streptomycin		0,10mg	100mg
Glycerol	6%	7 ml	6,5%
Raffinose			2,7g
Lòng đỏ trứng gà	15%	18 ml	20%
Nước cất (vừa đủ) (ml)	100	100	100

Trong đó:

TNK là môi trường theo nghiên cứu của Tuncer - Thổ Nhĩ Kỳ (Tuncer *và cs*., 2010)

Tris là môi trường chứa Tris (Memon *và cs*., 2013).

VNE là môi trường của Việt Nam do Trung tâm Giống gia súc lớn Trung Ương - Viện Chăn nuôi pha chế.

Các môi trường trên có tính chất lý, hoá đảm bảo sức sống tinh trùng dê trong quá trình đông lạnh (pH ≈ 6,8 - 7; áp suất thẩm thấu ≈ 290 ± 5 Osm/kg).

Bảng 2. Sơ đồ bố trí thí nghiệm: Nghiên cứu môi trường pha loãng tinh dê

Nội dung	Môi trường		
	TNK	Tris	VNE
Số lần khai thác tinh thí nghiệm	40	40	40
Thời điểm lấy mẫu đánh giá	- Kết thúc thời gian làm mát - Kết thúc thời gian cân bằng (trước đông lạnh) - Sau đông lạnh 24 giờ		
Các chỉ tiêu đánh giá	- Hoạt lực tinh trùng - Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình		

Dê đực giống được khai thác tinh dịch bằng âm đạo giả vào đầu buổi sáng với tần suất 2 lần/tuần. Sau khi tinh dê được khai thác, đánh giá các chỉ tiêu, các mẫu tinh dịch đạt V ≥ 0,5 ml; A ≥ 70%; C ≥ 2,0 tỷ/ml thì được đưa vào thí nghiệm. Tinh dịch sẽ được pha loãng với từng loại môi trường theo cùng một quy trình như sau:

Giai đoạn *Làm mát* (pha loãng tinh dịch lần thứ nhất): Pha loãng lần thứ nhất với từng loại môi trường (không có glycerol) theo tỷ lệ 1:2,5 ở nhiệt độ 35°C làm đều rồi đặt vào trong tủ bảo ôn ở 4°C trong thời gian 120 phút, đồng thời dán tem đánh dấu môi trường.

Giai đoạn *Cân bằng* (pha loãng lần thứ hai) và nạp hàn: Tiến hành pha loãng lần hai trong tủ

bảo ôn 4°C sau khi nhiệt độ của tinh dịch đã pha loãng lần thứ nhất đạt 4°C. Pha loãng với phần còn lại của từng loại môi trường (có glycerol) theo kiểu cho nhỏ giọt và sau đó tiến hành nạp hàn, tổng thời gian cân bằng là 240 phút (cân bằng glycerol).

Tinh cọng rạ sau thời gian cân bằng được đông lạnh theo quy trình được lập trình sẵn trên phần mềm của máy đông lạnh (Minitube - Đức) và bảo quản trong nitơ lỏng -196°C.

Phương pháp xác định các chỉ tiêu đánh giá

Hoạt lực tinh trùng (A%) ở các thời điểm kết thúc làm mát, cân bằng, và 24h sau đông lạnh được xác định theo phương pháp CASA trên phần mềm Androvision (Minitube - Đức).

Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K %): Sử dụng Eosin 5% nhuộm tinh trùng từ 5 đến 7 phút, phết lam kính và soi trên kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần. Đếm số lượng tinh trùng kỳ hình và không kỳ hình, tổng số 500 tinh trùng rồi tính toán bằng phép tính số học thông thường theo công thức sau:

$$K\ (\%) = \frac{\text{Số lượng tinh trùng kỳ hình}}{500} \times 100$$

Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2007 (Microsoft, Redmond, WA) để xử lý sơ bộ các số liệu thu thập được. Số liệu hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình có bản chất là phần trăm được chuyển dạng số liệu theo hàm căn bậc 2 và hàm đối sin (arcsine). Các số liệu được xử lý thống kê và phân tích phương sai một nhân tố (ANOVA) trong phần mềm Minitab 16. Sự sai khác giữa các giá trị trung bình được so sánh theo phương pháp Tukey.

Kết quả và thảo luận

Một số chỉ tiêu chính chất lượng tinh dịch trước thí nghiệm

Tinh dịch dê sau khi khai thác tiến hành đánh giá một số chỉ tiêu chính về số lượng, chất lượng tinh nhằm chọn lọc các mẫu tinh đạt yêu cầu để tiến hành pha loãng tinh dịch. Kết quả một số chỉ tiêu chính chất lượng tinh dịch dê trước khi đưa vào thí nghiệm được thể hiện tại Bảng 3.

Bảng 3. Một số chỉ tiêu chính chất lượng tinh dịch dê trước khi đưa vào thí nghiệm

Môi trường pha loãng	n	Hoạt lực tinh trùng (A%)		Mật độ tinh trùng (C, tỷ/ml)		Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K%)	
		Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
TNK	40	88,34	0,34	3,81	0,10	9,23	0,23
TRIS	40	88,98	0,39	3,67	0,09	9,65	0,25
VNE	40	87,91	0,37	3,53	0,09	10,06	0,26
Trung bình		88,41	0,22	3,67	0,06	9,65	0,14

Kết quả Bảng 3 cho thấy các chỉ tiêu chính về chất lượng tinh dịch của dê đực giống trước khi đưa vào thí nghiệm ở 3 môi trường là tương đương nhau. Hoạt lực tinh trùng và mật độ tinh trùng ở các lần khai thác trung bình đạt 88,41% và 3,67 tỷ/ml; thấp nhất ở môi trường VNE đạt 87,91% và 3,53 tỷ/ml; hoạt lực cao nhất ở môi trường TRIS đạt 88,98%; mật độ tinh trùng cao nhất ở môi trường TNK đạt 3,81 tỷ/ml. Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trung bình đạt 9,65%; cao nhất ở môi trường VNE là 10,06% và thấp nhất ở môi trường TNK là 9,23%. Các chỉ tiêu về chất lượng tinh dịch sai khác không có ý nghĩa thống kê (P>0,05).

Một số chỉ tiêu chính chất lượng tinh dê sau khi kết thúc thời gian làm mát

Kết thúc thời gian làm mát (120 phút) chúng tôi tiến hành lấy mẫu tinh kiểm tra hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình. Kết quả một số chỉ tiêu chính chất lượng tinh dê sau thời gian làm mát được thể hiện tại Bảng 4.

Bảng 4. Một số chỉ tiêu chính chất lượng tinh dê sau thời gian làm mát ở các môi trường pha loãng

Môi trường pha loãng	n	Hoạt lực tinh trùng (A%)		Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K%)	
		Mean	SE	Mean	SE
TNK	40	69,39^{c}	0,39	10,36	0,24
TRIS	40	79,85^{b}	0,41	11,01	0,25
VNE	40	83,80^{a}	0,37	11,07	0,25

Ghi chú: Trong cùng một cột, những giá trị trung bình có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa thống kê (P < 0,05).

Kết quả Bảng 4 cho thấy, hoạt lực tinh trùng đã có sự thay đổi sau thời gian làm mát, ở môi trường VNE cho hoạt lực tinh trùng sau thời gian làm mát tốt nhất đạt 83,80%; tiếp theo làm môi trường TRIS cho hoạt lực tinh trùng đạt 79,85%, với môi trường TNK hoạt lực chỉ còn 69,39%. Sự khác nhau về hoạt lực tinh trùng dê sau thời gian làm mát ở các môi trường là có ý nghĩa thống kê (P<0,05). Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình ở các môi trường pha loãng là tương đương nhau, sự sai khác không có ý nghĩa thống kê (P>0,05). Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau thời gian làm mát ở cả 3 môi trường đều cao hơn không đáng kể so với thời điểm trước khi pha với môi trường, điều này cho thấy quá trình pha chế môi trường lần 1 và làm mát không có tác động đáng kể đến hình thái của tinh trùng.

Nhìn chung thời gian làm mát là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến chất lượng tinh đông lạnh và hiệu quả của quá trình đông lạnh tinh dịch. Trong giai đoạn này nhằm giúp tinh trùng thích nghi dần với nhiệt độ thấp, giảm thiểu hiện tượng sốc nhiệt và tổn thương màng tế bào do thay đổi nhiệt độ đột ngột.

Một số chỉ tiêu chất lượng tinh dê sau khi kết thúc thời gian cân bằng

Ngay sau khi kết thúc thời gian cân bằng (240 phút) chúng tôi tiến hành lấy mẫu kiểm tra hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình. Kết quả được trình bày tại Bảng 5.

Bảng 5. Một số chỉ tiêu chính chất lượng tinh dê sau thời gian cân bằng ở các môi trường pha loãng

Môi trường pha loãng	n	Hoạt lực tinh trùng (A%)		Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K%)	
		Mean	SE	Mean	SE
TNK	40	58,96^{c}	0,35	12,46	0,25
TRIS	40	68,83^{b}	0,40	13,58	0,27
VNE	40	73,35^{a}	0,42	12,24	0,24

Ghi chú: Trong cùng một cột, những giá trị trung bình có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa thống kê (P<0,05).

Bảng 5 cho thấy, hoạt lực tinh trùng đã có sự thay đổi, chất lượng tinh tốt nhất ở môi trường VNE với hoạt lực tinh trùng sau thời gian cân bằng đạt 73,35% thấp nhất ở môi trường TNK tương ứng đạt 58,96% (P < 0,05). Sự chênh lệch về kết quả hoạt lực tinh trùng sau thời gian cân bằng là rất lớn giữa các môi trường, điều nay cho thấy sau thời gian cân bằng thì chất lượng môi trường có ảnh hưởng lớn đến hoạt lực tinh trùng dê. Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình ở các môi trường pha loãng là tương đương nhau, thấp nhất ở môi trường VNE đạt 12,24% đến môi trường TNK là 12,46% và môi trường TRIS đạt 13,58%; sai khác không có ý nghĩa thống kê (P > 0,05). Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau thời gian cân bằng ở cả 3 môi trường đều cao hơn một chút so với thời điểm sau làm mát, điều này có thể do quá trình pha chế môi trường lần 2 theo phương pháp nhỏ giọt và khuấy từ có tác động đến tinh trùng làm tăng tỷ lệ tinh trùng kỳ hình.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của các tác giả Cao Thị Hoa (2006) cho thấy, tinh dịch dê được pha loãng với ba môi trường Tris, Citrate và sữa tách chất béo bảo tồn ở nhiệt độ 5°C, cho kết quả hoạt lực tinh trùng lần lượt đạt 54,2%, 50,8% và 57,5%. Mohammed *và cs*. (2012) cho biết ảnh hưởng của 4 loại môi trường pha loãng tinh dịch dê cho kết quả hoạt lực tinh trùng trước khi đông lạnh của môi trường Na. Citrate, Tris và Na. Bicarbonate và môi trường sữa trung bình đạt 75,81%. Tác giả Anakkul *và cs*. (2013) nghiên cứu về môi trường pha loãng tinh dịch dê có chứa 7%; 10% và 14% glycerol cho thấy, tỷ lệ sống của tinh trùng sau cân bằng lần lượt đạt 65,4%; 66,5% và 61,09%. Nghiên cứu của Nisfimawardah *và cs*. (2023) về 3 môi trường pha loãng tinh dịch dê Tris-egg yolk, AndroMed và OviXcell cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau cân bằng lần lượt đạt 53,0; 56,0; 60,0%.

Trong khi đó nghiên cứu của tác giả Yodmingkwan *và cs*. (2016) cho biết, ảnh hưởng của 3 loại môi trường pha loãng tinh dê TFC, TFCSL và TFCEY cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau cân bằng đạt 8,11 - 40,22%. Adeyanju *và cs*. (2018) cho thấy, môi trường pha loãng tinh dê bổ sung sữa đậu lành ở các mức khác nhau cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau giải đông đạt 11,00 - 22,00%. Souza *và cs*. (2022) cho biết môi trường pha loãng tinh dê có chứa Tris-casein ở các nồng độ khác nhau kết hợp với 5% glycerol cho kết quả hoạt lực tinh trùng đạt 31,39 - 36,11%.

Các kết quả nghiên cứu trên cho thấy sự khác nhau rất lớn về hoạt lực tinh trùng sau cân bằng giữa 3 loại môi trường có thể được giải thích do sự khác nhau về thành phần các chất trong mỗi môi trường pha loãng.

Một số chỉ tiêu chính chất lượng tinh dê sau giải đông

Hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau giải đông là các chỉ tiêu chính, quan trọng để đánh giá chất lượng tinh đông lạnh cọng rạ; hai chỉ tiêu này quyết định chất lượng và tỷ lệ thụ thai của tinh đông lạnh cọng rạ. Sau khi đông lạnh 24 giờ, chúng tôi tiến hành lấy mẫu 2-3 cọng rạ cho mỗi lô sản xuất để đánh giá chất lượng tinh sau giải đông. Kết quả chất lượng tinh sau giải đông thể hiện tại Bảng 6.

Bảng 6. Chất lượng tinh dê đông lạnh cọng rạ ở các môi trường pha loãng khác nhau

Môi trường pha loãng	n	Hoạt lực tinh trùng sau giải đông (A%)		Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau giải đông (K%)	
		Mean	SE	Mean	SE
TNK	40	40,76^{c}	0,43	19,23^{a}	0,22
TRIS	40	44,71^{b}	0,48	18,86^{a}	0,25
VNE	40	50,18^{a}	0,47	17,60^{b}	0,21

Ghi chú: Trong cùng một cột, những giá trị trung bình có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa thống kê (P<0,05).

Bảng 6 cho thấy, hoạt lực tinh trùng sau giải đông trung bình của môi trường VNE cho kết quả cao nhất đạt 50,18%; tiếp theo môi trường TRIS với kết quả đạt 44,71% và thấp nhất là môi trường TNK đạt 40,76% sai khác có ý nghĩa thống kê (P<0,05). Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau giải đông ở cả 3 môi trường đều tăng cao so với các thời điểm tinh nguyên, sau giai đoạn làm mát và sau giai đoạn cân bằng. Điều này chứng tỏ khi đông lạnh và giải đông tinh cọng rạ thì các quá trình đông lạnh (đóng băng) và giải đông (tan băng) đã có tác động lớn đến hình thái và cấu trúc của tinh trùng, làm tăng đáng kể tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau giải đông.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cao hơn nghiên của Yodmingkwan *và cs*. (2016) khi nghiên cứu các môi trường pha loãng tinh dịch dê trong sản xuất tinh dê đông lạnh cho kết quả hoạt lực tinh trùng dê sau đông lạnh đao động 9,56% - 12,18%. Theo Afroz *và cs*. (2008); Rahman *và cs*. (2018) cho biết môi trường pha loãng tinh dịch chứa Tris cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau giải đông đạt 6,00% - 6,67% và 14,83%. Nghiên cứu của Isnaini *và cs*. (2019) cho biết, môi trường pha loãng tinh dê Tris có bổ sung chiết xuất của vỏ măng cụt (MPE) cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau giải đông đạt 23,5-28,0%, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình là 17,7 - 20,1%. Tác giả Sharma *và cs*. (2020) cho biết, môi trường Tris có tỷ lệ glycerol từ 6-8% cho hoạt lực tinh trùng; và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau giải đông tương ứng đạt 29,00 - 35,18% và 7,93 - 9,90%. Theo Mohammed *và cs*. (2012) cho thấy, hoạt lực tinh trùng sau giải đông trung bình đạt 23,85% (dao động từ 19,64% - 27,04%). Nghiên cứu của Nisfimawardah *và cs*. (2023) về 3 môi trường pha loãng tinh dịch dê: Tris-egg yolk, AndroMed và OviXcell cho kết quả hoạt lực tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng sống sau đông lạnh lần lượt đạt 42,0; 39,0; 40,0% và 73,27; 58,53; 53,90%. Tác giả Rimi *và cs*. (2023) nghiên cứu môi trường pha loãng tinh dịch dê có bổ sung các chất Triladyl, Andromed và Tris cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau giải đông lần lượt đạt 42,50%, 34,67% và 28,71%.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Đỗ Văn Thu *và cs*. (2001) cho biết, môi trường pha loãng tinh dịch dê có chứa Glycerol và DMSO cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau đông lạnh tương ứng đạt 39,37% và 37,37%; tỷ lệ tinh trùng kỳ hình là 24,74% và 23,53%. Tác giả Nor-Ashikin và Abdullah (2011) nghiên cứu trên môi trường pha loãng tinh dịch dê cho biết, tinh dịch của dê được bảo quản đông lạnh trong môi trường TCAYE cho kết quả tốt nhất về hoạt lực tinh trùng 49,67 - 53,20% Tác giả Qureshi *và cs*. (2013) nghiên cứu ảnh hưởng của 11 môi trường đông lạnh tinh dịch dê cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau giải đông dao động 30,9 - 42,3%. Salmani *và cs*. (2013) cho biết, môi trường pha loãng tinh dịch dê có chứa Tris và sữa đậu nành cho kết quả tỷ lệ tinh trùng kỳ hình là 25,55% và 29,13%. Tác giả Nisfimawardah *và cs*. (2023) nghiên cứu trên môi trường (AndroMed và OviXcell) cho biết, hoạt lực tinh trùng sau đông lạnh đạt 46,0 - 48,5 %. Akourki *và cs*. (2018) nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường Tris có bổ sung chất bảo vệ lạnh cho thấy, cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau đông lạnh đạt 48,75%. Tác giả Nisfimawardah *và cs*. (2023) tại Indonesia nghiên cứu 3 môi trường pha loãng tinh dịch dê cho kết quả, hoạt lực tinh trùng sau giải đông của tinh dê Saanen đạt 41,00 - 48,50%.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự kết quả nghiên cứu của một số tác giả về môi trường pha loãng tinh dịch có bổ sung Raffinose. Tác giả Beltran *và cs*. (2013) nghiên cứu môi trường pha loãng tinh dê Tris có chứa Raffinose cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau giải đông đạt 30,83- 59,58%. Küçük *và cs*. (2014) cho biết môi trường pha loãng tinh dê có bổ sung sữa bột gầy có hoạt

lực tinh trùng sau đông lạnh đạt 55,63%. Zhang *và cs*. (2022) nghiên cứu môi trường pha loãng tinh dịch dê có bổ sung chất chống oxy hóa proline ở các mức khác nhau có tác dụng bảo vệ tinh trùng khỏi ảnh hưởng của stress, kết quả cho thấy, hoạt lực của tinh trùng sau đông lạnh đạt 37,93 - 52,55%. Sun *và cs*. (2020) cho biết môi trường pha loãng tinh dịch dê có chứa 2% sữa đậu nành và 20% lòng đỏ trứng cho kết quả hoạt lực tinh trùng sau giải đông đạt 57,44%. Mekonnen *và cs*. (2021) nghiên cứu môi trường pha loãng tinh dê có bổ sung Glycerol (6%) cho kết quả hoạt lực tinh trùng 55-60 %. Rizk *và cs*. (2022) cho biết môi trường pha loãng tinh dê có bổ sung nước cốt dừa cho kết quả hoạt lực tinh trùng đạt 50%

Các tác giả (Leboeuf *và cs*., 2000; Purdy, 2006; Chetna Gangwar *và cs*., 2016; Anakkul, 2013; Sharma *và cs*., 2020) đều cho rằng glycerol có tác dụng là chất bảo vệ đông lạnh thấm qua màng tinh trùng. Có nhiều nghiên cứu cho rằng nồng độ glycerol tối ưu để pha loãng tinh dịch của dê 5 - 7% glycerol sẽ mang lại tỷ lệ sống cao nhất và duy trì hoạt lực tinh trùng tốt nhất sau giải đông (Alcay *và cs*., 2019; Sarlós *và cs*., 2020). Tác giả Roushdy *và cs*. (2014), Sikarwar *và cs*. (2015) cho rằng nồng độ glycerol trong môi trường pha loãng tinh dịch vượt quá 7% không có lợi ích rõ ràng, có thể gây độc, làm giảm hoạt lực và khả năng sống sau khi rã đông của tế bào tinh trùng ở dê và gà trống.

Theo Salamon S *và cs*. (2000), Tuncer *và cs*. (2010), Naing *và cs*. (2010), Bucak *và cs*. (2013), Hu *và cs*. (2009), Yimer *và cs*. (2021) cho biết, Raffinose ($C_{18}H_{22}O_{16}.5H_2O$) giống như các loại đường khác có vai trò bảo vệ lạnh bằng cách tương tác với lipid và protein màng, giảm nguy cơ hình thành tinh thể băng nội bào, gây mất nước thẩm thấu tế bào, giúp duy trì áp suất thẩm thấu trong quá trình bảo quản lạnh. Các đặc tính bảo vệ tinh trùng của nhiều loại đường chống lại các tổn thương do đông lạnh, rã đông đã được ghi nhận ở nhiều loại tế bào. Ngoài ra, raffinose còn có tác dụng liên quan đến stress oxy hóa đã được coi là tác dụng gián tiếp của tín hiệu đường và kích hoạt sản xuất các phản ứng oxy hóa (ROS) cụ thể như chất hydroxyl.

Ngoài ra, một khả năng khác cũng được nhiều nhà nghiên cứu chấp nhận rộng rãi là phospholipid có trong lòng đỏ trứng không đi vào màng để thay đổi nồng độ phospholipid mà có thể tạo thành một lớp màng bảo vệ xung quanh tế bào để ngăn ngừa sự hình thành các tinh thể băng nội bào và bảo vệ màng tinh trùng khỏi bị hư hỏng cơ học trong quá trình đông lạnh hoặc rã đông (Simpson *và cs*., 1987; Zhang *và cs*., 2009). Điều đó cho thấy, môi trường pha loãng tinh dịch VNE chứa lòng đỏ trứng, glycerol và được bổ sung raffinose có tác dụng chống oxy hóa cao, giúp bảo vệ lạnh cho tinh trùng, làm tăng đáng kể hoạt lực tinh trùng sau giải đông nên chất lượng tinh trùng sau giải đông đạt kết quả cao.

Kết luận và đề nghị

Kết luận

Môi trường pha loãng tinh dịch có ảnh hưởng rõ ràng đến chất lượng tinh dê đông lạnh cọng rạ ($P<0,05$). Trong ba môi trường nghiên cứu (VNE, TNK và TRIS) thì môi trường VNE cho chất lượng tinh dê đông lạnh cọng rạ tốt nhất.

Đề nghị

Sử dụng môi trường pha loãng tinh dịch VNE do Trung tâm Giống gia súc lớn Trung ương pha chế để sản xuất tinh dê đông lạnh dạng cọng rạ. Sử dụng tinh dê đông lạnh được sản xuất theo môi trường trên ứng dụng TTNT vào thực tiễn sản xuất để đánh giá tỷ lệ thụ thai.

Tài liệu tham khảo

Tiếng Việt

Đinh Văn Bình, Chu Đức Tụy, Đỗ Văn Thu và Lê Thành Đô. 2008. Ảnh hưởng của một số yếu tố kỹ thuật đến kết quả thụ tinh nhân tạo cho dê bằng tinh đông lạnh cọng rạ. Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi, số 14, tháng 10/2008.

Cao Thị Hoa. 2006. Nghiên cứu một số chỉ tiêu sinh học và bảo tồn tinh dịch dê. Luận văn Thạc sỹ Nông nghiệp, Viện Công nghệ sinh học

Đỗ Văn Thu. 2001. Nghiên cứu sinh học tinh dịch và công nghệ bảo quản tinh dê nhằm góp phần phát triển đàn dê nuôi ở Việt Nam. Luận án tiến sỹ sinh học, Trung tâm KHTN và CNQG, Hà Nội.

Tiếng nước ngoài

Adeyanju, S.O., James, I.J, and Oyeyemi, M.O. 2018. Comparative effects of egg yolk and soybean lecithin-based extenders on cryopreserved West African Dwarf buck semen. Journal of Veterinary Medicine and Animal Health. 2018;10(5), pp. 123-128. doi:10.5897/JVMAH$_{2017}$.0635

Afroz, S., Rashedul Islam, Md., Yahia Khandoker, M.A.M., and Quzi Sharmin, Akter. 2008. Cryopreservation of Black Bengal buck semen: Effects of diluents and freezing on sperm motility and morphology. Animal Science.

Akourki, A., Mondal, M., Karunakaran, M., and Pal, P. 2018. Effect of soybean lecithin extender on post-thaw semen quality of Bengal Buck. Indian Journal of Animal Health, 57(2), pp. 153-164. Available at: http://ijah.in/upload/snippet/55_106.pdf

Alcay, S., Ustuner, B., and Nur, Z. 2019. The effect of different cryoprotectants on post-thaw quality of Angora buck semen. Cryobiology; 86, pp. 33-38. doi:10.1016/j. cryobiol.2018.12.005

Anakkul, N., Vongpralub, T., Thongkittidilok, C., and Boonkum, W. 2013. Effects of different extenders and storage temperatures on the quality of goat semen. Thai Journal of Veterinary Medicine. 2013;43(1), pp. 63-69.

Beltran, M.A.G., Aceron, R.G., and Venturina, H.V. 2013. Comparison of egg yolk and soya lecithin-based extenders on the quality of chilled-stored goat semen. Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences. 2013;39(1), pp. 45-52.

Bucak, M.N., Nazan Keskin, Mehmet Taspınar, Kenan Coyan, Nuri Baspınar, Mihai C. Cenariu, Ali Bilgili, Caner Ozturk, and Ahmet Nuri Kursunlu. 2013. Raffinose and hypotaurine improve the post-thawed Merino ram sperm parameters. Cryobiology 67 (2013), pp. 34-39

Chetna Gangwar, Kharche, S.D., Satish Kumar and Jindal, S.K. 2016. Cryopreservation Of Goat Semen: Status and Prospects. Indian Journal of Small Ruminants 2016, 22(1), pp. 1-10

Hu, J.H., Li, Q.W., Zan, L.S., Jiang, Z.L., Wang, H.B., and Gong, X.Y. 2009. The cryoprotective effect of trehalose supplementation in extender on goat semen quality. Small Ruminant Research. 2010;89(1), pp. 36-39. doi:10.1016/j.smallrumres.2009.11.002

Isnaini, N., Ihsan, M.N., and Wahjuningsih, S. 2019. Mangosteen peel extract in tris-egg yolk extender improves fertility of Crypreserved goat sperm. Livestock Research for Rural Development, 31(4): 53. Available at: http://www.lrrd.org/lrrd31/4/nuruli31053.html

Koray, T., Bostancı, Z., Akçay, E., and Yüce, A. 2016. The effects of different extenders on post-thaw microscopic and oxidative stress parameters of Angora goat semen. Turk J Vet Anim Sci., 40(6), pp. 705-710. doi:10.3906/vet-1603-52

Küçük, N., Melih Aksoy, Ug˘ur Uçan, Ejaz Ahmad, Zahid Naseer, Ahmet Ceylan, and Ilker Serin. 2014. Comparison of two different cryopreservation protocols for freezing goat semen. Cryobiology, 68, pp. 327-331

Leboeuf, B., Restall, B., and Salamon, S. 2020. Production and storage of goat semen for artificial insemination. Anim Reprod Sci., 62(1-3), pp. 113-141. doi:10.1016/S$_{0378}$-4320(00)00156-1

Mahendra, S., and Dilip, K. 2020. Goats as efficient converters of low-quality roughages into high-value food products. Int J Livest Res., 10(12), pp. 15-21.

Mekonnen, A., Assefa, A., and Tadesse, F. 2021. Effect of different cryoprotectants and extenders on post-thaw semen quality of Boer bucks under tropical conditions. Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry, 9(2), 105.

Memon, A.A., Wahid, H., Rosnina, Y., Goh, Y.M., Ebrahimi, M., and Nadia, F.M. 2013. Effect of semen extenders on the quality of Boer goat semen stored at 5°C. Anim Reprod Sci., 139(1-4), pp. 17-23.

Mohammed, K.M., Khalil, M.H. and Al-saef, A.M. 2012. Effect of genetic group, semen diluents and freezing regimens on sperm freezability and goats reproductivity. Assiutvet. med. j. vol. 58 no. 135 october 2012

Naing, S.W., Wahid, H., Mohd Azam, K., Rosnina, Y., Zuki, A.B., Kazhal, S., Bukar, M.M., Thein,

M., Kyaw, T., and San, M.M. 2010. Effect of sugars on characteristics of Boer goat semen after cryopreservation. Animal Reproduction Science / 122(1-2)

Nisfimawardah, L., Firmawati, A., Ihsan, M.N., Susilawati, T., and Wahjuningsih, S. 2023. Semen Cryopreservation Quality and Sperm Kinematics of Saanen Goats using Different Diluents. World Vet. J., 13 (2), pp. 300-309. DOI: https://dx.doi.org/10.54203/scil.2023.wvj32

Nor-Ashikin, M.N.K., and Abdullah, R.B. 2011. Comparison between tris-citric acid yolk, yolk albumin citrate and skimmed milk extenders on sperm motility, livability and mass movement in frozen-thawed goat sperm. Biomedical Research (2011) Volume 22, Issue 3.

Purdy, PH.2006. A review on goat sperm cryopreservation. Small Rumin Res, 63(3):215-225.

Qureshi, M.S., Daulat Khan, and Afrid, S. 2013. Effect of extenders, postdilution intervals, and seasons on semen quality in dairy goats. Published 1 January 2013 Biology. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences.

Rahman, A.N.M.A., Abdullah, R.B., Khadijah, W.E.W., Noordin, M.M., and Jilung, L. 2018. Effects of different extenders on cryopreservation of Boer goat semen. Asian Pacific Journal of Reproduction;7(2), pp. 103-107. doi:10.4103/2305-0500.226200

Rimi, M.A., Akter, T., Akhtar, M.M., and Khandoker, M.A.M.Y. 2023. Effect of diluters on frozen semen production of Black Bengal Goat. Bangladesh Journal of Animal Science 52(4), pp. 105- 113

Rizk, M. A., El-Sayed, M. I., and Abd El-Hamid, I. S. 2022. Assessment of coconut milk-based extenders on cryopreservation quality of buck semen. Small Ruminant Research, 212, 106675.

Roushdy, M., El-Nattat, W.S., El-Sheshtawy, R.I., and El-Badry, D.A. 2014. The effect of different glycerol concentrations on the cryopreservation of goat semen. Global Veterinaria, 13(2), pp. 199-204.

Salamon, S., and Maxwell, M.C. 2000. Storage of ram semen. Anim. Reprod. Sci. 62, pp. 77-111.

Salmani, H., Towhidi, A., Zhandi, M., Bahreini, M., and Sharaf, M. 2014. In vitro assessment of soybean lecithin and egg yolk based diluents for cryopreservation of goat semen. Cryobiology, 68, pp. 276-280

Sarlós, P., Szabó, F., Gáspárdy, A., Solti, L., Reiczigel, J., and Nagy, S. 2020. Comparative evaluation of post-thaw spermatozoa characteristics in cryopreserved buck semen using glycerol, ethylene glycol or dimethylformamide. Acta Vet Hung. 68(3), pp. 243-25

Souza, J.V.D., Monteiro, M.M., Seal, D., Trevisan, M., Arruda, L., and Guerra, M. 2022. Chemically defined diluent based on Tris-casein in freezing goat semen. Agricultural and Food Sciences, Chemistry, Research, Society and Development,7 September 2022

Simpson, A.M., Swan, M.A., and White, I.G. 1987. Susceptibility of epididymal boar sperm to cold shock and protective action of phosphatidylcholine. Gamete Res., 17, pp. 355-373.

Sikarwar, A., Ansari, M.S., Rakha, B.A., Ullah, N., and Andrabi, S.M.H. 2015. Effects of varying concentrations of glycerol on cryopreservation of Beetal buck semen. Journal of Animal and Plant Sciences. 25(4), pp. 921-926

Sharma and Pankaj Sood. 2020. Caprine Semen Cryopreservation and the Factors Affecting it: An Overview. Veterinary Sciences: Research and Reviews, 6(1), pp. 46-57

Tuncer, Bucak, M.N., Sariözkan, S., Sakin, F., Yeni, D., Ciğerci, I.H., Ateşşahin, A., Gündoğan, M., and Büyükleblebici, O. 2010. The effect of reffinose and methionine on frozen/thawed Angora buck (Capra hircus ancryrensis) semen quality, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity Cryobiology, 61, pp. 89-93

Yimer, N., Mohammed, N., and Khan, D.R. 2021. Comparison of soybean lecithin-based and egg yolk-based extenders on the quality of cryopreserved buck semen. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances., 16(2), pp. 81-88.

Yodmingkwan, P., Somchit Guntaprom, Juggrid Jaksamrit, and Krittiya Lertchunhakiat. 2016. Effects of Extenders on Fresh and Freezing Semen of Boer Goat. Agriculture and Agricultural Science Procedia 11, pp. 125 - 130.

Zhang, S.S., Hu, J-H., Li, Q.W., Jiang, Z.-L., and Zhang, X.-Y. 2009. The cryoprotective effects of soybean lecithin on boar spermatozoa quality.

Zhang Weijing, Min, L., Li, Y., Lang, Y., Hoque, S.A.M., Adetunji, A.O., and Zhu, Z. 2022. Beneficial Effect of Proline Supplementation on Goat Spermatozoa Quality during Cryopreservation. Animals, 12, 2626. https://doi.org/10.3390/ ani12192626.

ABSTRACT
Effect of dilution medium on the quality of frozen goat semen

The study was conducted to evaluate the effects of semen extenders on the quality of frozen goat semen straw, an experiment was conducted on 120 semen samples collected from 10 goats (5 Boer and 5 Saanen), aged 14 - 19 months. Semen was collected using an artificial vagina in the early morning. The ejaculates were diluted with three different extenders (TNK, TRIS, and VNE). The results showed that the VNE extender provided the best post-thaw semen quality among the three extenders tested ($P<0.05$). Post-thaw quality parameters of frozen goat semen in straws with VNE, TRIS, and TNK extenders were as follows: sperm motility 50.18%, 44.71%, and 40.76%, while the proportion of abnormal spermatozoa was 17.60%; 18.86% and 19.23%.

Keywords: *Goat semen, dilution medium, thawing, sperm motility, abnormal sperm.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Đức Chuyên