

UBND TỈNH LONG AN
TRƯỜNG CAO ĐẲNG NGHỀ LONG AN



GIÁO TRÌNH

MÔN HỌC/MÔ ĐUN: KỸ THUẬT TRUYỀN GIỐNG

NGHỀ: THÚ Y

TRÌNH ĐỘ: TRUNG CẤP

*Ban hành kèm theo Quyết định số: /QĐ-... ngày.....tháng....năm
..... của Hiệu trưởng trường cao đẳng nghề Long An*

Long An, năm 2019

LƯU HÀNH NỘI BỘ

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

LỜI GIỚI THIỆU

Để đáp ứng nhu cầu về tài liệu học tập cho học sinh - sinh viên và tài liệu cho giáo viên khi giảng dạy. Bộ môn Thú y trường Cao đẳng Long An đã biên soạn giáo trình **KỸ THUẬT TRUYỀN GIỐNG**. Đây là môn học trong chương trình đào tạo nghề Thú y - Trình độ trung cấp.

Tác giả đã tham khảo các tài liệu dùng cho sinh viên các trường cao đẳng, Đại học cùng nhiều tài liệu khác.

Mặc dù tác giả đã có nhiều cố gắng nhưng không tránh được những thiếu sót. Rất mong đồng nghiệp và độc giả góp ý kiến để giáo trình ngày càng hoàn thiện hơn.

Xin chân thành cảm ơn!

Long An, ngày tháng năm

Tham gia biên soạn

Lê Văn Hậu

Nguyễn Thanh Nhàn

MỤC LỤC

1	Bài 1. Huấn luyện đực giống và khai thác tinh. 1. Đại cương về các phương pháp phối giống 2. Huấn luyện đực giống 3. Khai thác tinh 4. Thực hành	
2	Bài 2: Kiểm tra phẩm chất tinh dịch 1. Đại cương về tinh dịch 2. Kiểm tra phẩm chất tinh trùng 3. Thực hành	
3	Bài 3: Pha loãng, bảo quản và vận chuyển tinh dịch 1 Giới thiệu một số môi trường hỗn hợp dùng trong pha loãng tinh 2. Tác dụng của các chất liệu tham gia vào môi trường 3. Kỹ thuật pha chế môi trường 4. Kỹ thuật pha loãng tinh dịch 5. Bảo quản tinh dịch 6. Vận chuyển và phân phối tinh 7. Thực hành	
4	Bài 4: Gieo tinh nhân tạo cho trâu bò, heo gia cầm. 1. Kỹ thuật gieo tinh nhân tạo cho trâu bò 2. Kỹ thuật gieo tinh nhân tạo heo 3. Thực hành	

GIÁO TRÌNH MÔ ĐUN

Tên mô đun:KỸ THUẬT TRUYỀN GIỐNG

Mã mô đun:MĐ 15

Thời gian thực hiện mô đun: 75 giờ (Lý thuyết: 15 giờ; Thực hành, thí nghiệm, thảo luận, bài tập: 57 giờ; Kiểm tra: 3 giờ)

I. Vị trí, tính chất của mô đun:

- Vị trí: là mô đun được học sau khi người học đã học xong các mô đun, môn học cơ sở.

- Tính chất: là mô đun nghề quan trọng trong chương trình trung cấp thú y.

II. Mục tiêu mô đun:

+ Kiến thức

- Biết cách huấn luyện đực giống nhảy giá thành thạo.

- Biết được cách khai thác tinh, bảo quản và vận chuyển tinh theo đúng quy định.

- Kiểm tra được một số chỉ tiêu về phẩm chất tinh dịch

+ Kỹ năng:

- Sử dụng thành thạo các dụng cụ phòng thí nghiệm.

- Thực hiện thành thạo thao tác gieo tinh trên thú cái.

- Xác định đúng thời điểm gieo tinh thích hợp.

- Gieo tinh đạt được tỉ lệ thụ thai cao

+ Năng lực tự chủ và trách nhiệm: cẩn thận và tỉ mỉ

III. Nội dung mô đun:

1. Nội dung tổng quát và phân bổ thời gian:

Số TT	Tên các bài trong mô đun	Thời gian (giờ)			
		Tổng số	Lý thuyết	Thực hành, thí nghiệm, thảo luận, bài tập	Kiểm tra
1	Bài 1. Huấn luyện đực giống và khai thác tinh. 1. Đại cương về các phương pháp phối giống 2. Huấn luyện đực giống 3. Khai thác tinh 4. Thực hành	6	2	4	
2	Bài 2: Kiểm tra phẩm chất tinh dịch 1. Đại cương về tinh dịch 2. Kiểm tra phẩm chất tinh trùng 3. Thực hành	10	2	8	

3	Bài 3: Pha loãng, bảo quản và vận chuyển tinh dịch 1. Giới thiệu một số môi trường hỗn hợp dùng trong pha loãng tinh 2. Tác dụng của các chất liệu tham gia vào môi trường 3. Kỹ thuật pha chế môi trường 4. Kỹ thuật pha loãng tinh dịch 5. Bảo quản tinh dịch 6. Vận chuyển và phân phối tinh 7. Thực hành	15	4	10	1
4	Bài 4: Gieo tinh nhân tạo cho trâu bò, heo gia cầm. 1. Kỹ thuật gieo tinh nhân tạo cho trâu bò 2. Kỹ thuật gieo tinh nhân tạo heo 3. Thực hành	44	7	35	2
	Cộng	75	15	57	3

Bài 1: Huấn luyện đực giống và khai thác tinh

1.1. Đại cương về các phương pháp phối giống

1.1.1. Phối giống trực tiếp

Trong tự nhiên, chúng ta thường bắt gặp hiện tượng những con đực và con cái gặp gỡ nhau, giao phối với nhau để đẻ ra động vật non. Về hình thức đó, là biểu hiện sinh lý bình thường của động vật để duy trì nòi giống. Hoạt động sinh dục để tạo ra đời sau được thực hiện dựa trên các phản xạ sinh dục mang tính chất tự nhiên và được di truyền từ thế hệ này qua thế hệ khác. Bản chất của hoạt động duy trì nòi giống đó là sự gặp gỡ và đồng hóa lẫn nhau giữa các giao tử đực và cái để tạo thành hợp tử, hợp tử sẽ phát triển thành phôi, thai và trở thành động vật non.

1.1.2. Phối giống gián tiếp (TTNT)

Truyền giống nhân tạo là quá trình đưa tinh trùng đến gặp trứng ở vị trí và thời gian thích hợp bằng các dụng cụ đặc biệt, do con người thực hiện để xảy ra quá trình thụ tinh, hoặc là đưa trứng đã được thụ tinh từ cơ thể động vật cái này chuyển sang cơ thể động vật cái khác mà làm cho trứng đó vẫn phát triển bình thường, cuối cùng sinh ra động vật non. Quá trình này được thực hiện dựa trên các học thuyết khoa học về sinh lý sinh trưởng, phát triển, sinh lý sinh sản, các học thuyết về gen, di truyền... của cơ thể con đực và con cái.

1.2. Huấn luyện đực giống

1.2.1. Nguyên tắc huấn luyện

Để lấy được tinh lợn đực cần phải có giá nhảy thích hợp. Tùy theo dụng cụ lấy tinh hoặc phương thức lấy tinh, tầm vóc của lợn đực mà thiết kế kiểu giá nhảy cho phù hợp. Yêu cầu chung của một giá nhảy là:

- Thân và chân giá phải vững chắc đảm bảo an toàn cho lợn và người khi huấn luyện cũng như là khi lợn nhảy giá.
- Có độ cao phù hợp với lợn đực để khi nhảy giá lợn có cảm giác thoải mái như nhảy lên lưng con nái thật. Độ cao có thể cố định hoặc tạo thành từng nấc ở chân giá để nâng thân giá lên hay hạ xuống một cách dễ dàng (có thể dùng kích để điều chỉnh thân giá theo ý muốn).
- Thân giá có độ dài vừa đủ để lợn đực khi nhảy giá xuất tinh có thể gác mõm lên đầu thân giá.
- Hai bên thân giá phải có chỗ cho lợn đực bám khi nhảy giá giống như bao ôm lợn cái đồng thời để tạo sự vững chắc cho lợn đực khi xuất tinh. Có thể tạo vài "mấu" ở 2 bên sườn ngang tầm vai giá nhảy. Khoảng cách mấu xa, gần khác nhau sao cho phù hợp với tầm vóc của lợn.
- Vệ sinh thuận tiện sau mỗi lần lấy tinh: dễ rửa và mau khô, không bị ám mùi hôi tanh của tinh dịch.

1.2.2 Kỹ thuật huấn luyện

Để huấn luyện lợn đực giống người ta có 4 phương pháp sau:

* *Kích thích tinh dục*

Đưa lợn đực vào phòng lấy tinh, đến cạnh giá nhảy, dùng tay kích thích bao dương vật, kết hợp với âm thanh "kích động" để dương vật cương cứng và tiết dịch ở qui đầu. Có thể dùng chất keo nhầy trong tinh dịch của một lợn đực khác hoặc dịch âm hộ của lợn nái động dục bôi vào phần sau của giá nhảy, đưa lợn đực cần huấn luyện đến người, đồng thời kích thích dương vật lợn đực để lợn đực hưng phấn và nhảy giá.

** Cường bức kích thích*

Đối với lợn nhút nhát người ta có thể huấn luyện bằng cách: một người ôm 2 bên vai lợn đực, giữ cho lợn đực ôm ghì vào giá nhảy giống như tư thế giao phối, một người khác dùng tay kích thích vào bao dương vật để lợn đực thò dương vật ra ngoài.

Sau vài lần, lợn đực mạnh dạn hơn, quen với giá nhảy và có thể tự động nhảy lên giá dễ dàng. Lúc đó, cần chuẩn bị sẵn sàng tạo điều kiện cho lợn đực xuất tinh.

** Tham quan*

Cố định lợn đực cần huấn luyện ở vị trí mà nó có thể quan sát được một lợn đực khác đã nhảy giá thành thạo và xuất tinh. Sau khi lấy tinh xong, đưa lợn đực đã nhảy giá ra khỏi phòng lấy tinh, cho lợn đực cần huấn luyện vào phòng lấy tinh quan sát giá nhảy và ngửi mùi tinh dịch của lợn đực vừa nhảy, kết hợp với kích thích bao dương vật và tạo âm thanh "kích động" cho lợn đực cần huấn luyện hưng phấn đòi giao phối.

Tiến hành cho tham quan một số lần, khi lợn đực cần huấn luyện có dấu hiệu muốn nhảy giá và cương cứng dương vật, cần tạo điều kiện để cho lợn đực xuất tinh.

** Dùng lợn nái*

Nếu các phương pháp huấn luyện trên không đạt kết quả, người ta phải dùng lợn nái để kích thích lợn đực nhảy giá (đây là phương pháp bắt buộc dĩ).

Trước hết, dùng một lợn nái nhỏ cho vào gằm giá nhảy (hoặc cho nằm lên trên lưng giá nhảy) và ép cho lợn đực tiếp cận với giá nhảy, tìm mọi cách kích thích nó trèo lên giá nhảy để lấy tinh. Phương pháp này đòi hỏi người huấn luyện phải kiên nhẫn.

Nếu như sau nhiều lần tập luyện mà lợn đực cố tình không nhảy giá, cần sử dụng lợn nái động dục để gây kích thích.

Đưa lợn nái động dục ở thời kỳ mê ý vào gằm giá nhảy, giữ cho lợn nái ổn định. Đưa lợn đực vào phòng lấy tinh. Lợn đực đến giá nhảy thấy lợn cái động dục đòi bao, ôm. Kết hợp dùng tay kích thích dương vật lợn đực, kích thích tinh dục, dương vật cương cứng, lợn đực sẽ nhảy lên giá và người huấn luyện sẽ lấy được tinh dịch của lợn huấn luyện. Tuy nhiên, không nên lạm dụng phương pháp này vì khi lợn đực đã ngửi được mùi lợn cái động dục, có thể lần sau nó tiếp tục đòi lợn cái động dục.

Phương pháp huấn luyện trâu, bò đực nhảy giá

Hiện nay, ở Việt Nam đang sử dụng 3 phương pháp huấn luyện huấn luyện bò đực nhảy giá

** Phương pháp thay thế*

Dùng bò cái động dục tự nhiên hoặc nhân tạo (bằng cách tiêm kích dục tố) đứng làm giá nhảy (giá nhảy tự nhiên) để huấn luyện bò đực lấy tinh qua âm đạo giả. Các lần sau thay bò cái động dục bằng bò cái không động dục hoặc bò đực hoặc bò đực thiến khác

Tuy nhiên, khi dùng bò thay thế nên có cùng màu sắc, tầm vóc và thuần tính. Bò đực tơ (chưa giao phối lần nào) dễ chấp nhận các điều kiện thay thế hơn so với bò đực đã giao phối tự nhiên nhiều lần.

** Phương pháp tham quan*

Cho bò đực đang trong thời gian huấn luyện đứng cách xa từ 10 -15 m để quan sát một bò đực khác nhảy giá và xuất tinh thành thạo qua âm đạo giả một số lần. Khi quan sát quá trình nhảy giá, bò đực cần huấn luyện có phản xạ cương cứng dương vật thì dẫn ngay vào gần giá nhảy để bò đực nhảy giá và xuất tinh qua âm đạo giả. 2-3 ngày sau lặp lại và tiếp tục như vậy cho đến khi thành thạo

** Phương pháp kết hợp*

Có thể kết hợp hai phương pháp tham quan và thay thế để huấn luyện đối với bò đực giống "khó tính" hoặc đối với đực giống Zêbu (*Bos indicus*)

Phương pháp huấn luyện trâu đực nhảy giá cũng tương tự như ở bò, tuy nhiên, do một số đặc điểm sinh lý sinh dục của trâu đực thường chậm và kém hơn bò đực, nên trong huấn luyện trâu đực lấy tinh cần thời gian lâu hơn, người huấn luyện phải kiên trì và linh hoạt.

1.3. Khai thác tinh

1.3.1. Nguyên tắc khai thác tinh

Khai thác tinh dịch là một khâu có ý nghĩa quan trọng trong thụ tinh nhân tạo động vật, vì nó cho phép đánh giá sức sản xuất của con đực, trên cơ sở đó để định ra chế độ chăm sóc nuôi dưỡng phù hợp, nâng cao sức sản xuất của con đực. Đồng thời khai thác tinh dịch còn tạo điều kiện thuận lợi cho các khâu tiếp theo của quá trình thụ tinh nhân tạo, đó là: kiểm tra phẩm chất, pha loãng, bảo tồn và vận chuyển tinh dịch.

1.3.2. Phương pháp khai thác tinh

1.3.2.1. Khai thác tinh bằng âm đạo giả

Nguyên lý của phương pháp này là cho con đực giao phối và xuất tinh trong một loại dụng cụ gọi là âm đạo giả có các điều kiện (nhiệt độ, áp suất, độ nhớt...) tương tự như trong đường sinh dục của con cái động dục. Đây là phương pháp khai thác tinh dịch cổ điển nhưng hiện nay vẫn đang được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu và sản xuất

Ưu điểm:

- Khai thác được toàn bộ lượng tinh dịch trong một lần xuất tinh.
- Không gây ảnh hưởng xấu đến cơ quan sinh dục đực.
- Không cần sự có mặt của con cái động dục.

Nhược điểm:

- Phương pháp này cần phải có một số dụng cụ nhất định, công tác chuẩn bị lâu, thao tác khi tiến hành khai thác phức tạp.
- Để tiến hành khai thác được tinh dịch bằng phương pháp âm đạo giả, người ta phải huấn luyện cho con đực có phản xạ nhảy giá và giao phối trong âm đạo giả.

1.3.2.2. Khai thác tinh bằng tay

Phương pháp này vẫn còn được áp dụng. Nguyên lý của phương pháp này là sử dụng áp lực cơ học tác động vào cơ quan sinh dục đực, kích thích, gây hưng phấn sinh dục cho con đực để gây nên phản xạ xuất tinh. Người khai thác nắm lấy da của bao quy đầu và thực hiện chuyển động đi lại của lòng bàn tay ở bao quy đầu. Chính sự di chuyển này kích thích những núm nhận cảm của quy đầu và bao quy đầu làm dương vật cương cứng một cách nhanh chóng. Khi sự cương cứng đạt đến điểm đỉnh và sự phóng tinh bắt đầu, dương vật thụt lùi lại phía sau, người thao tác phải giữ một áp lực đầy đủ và không đổi ở phía sau quy đầu. Bình thu nhận tinh phải được giữ ở dưới đầu tự do của dương vật và phải tránh những tiếp xúc của quy đầu với thành bình và giá nhảy vì có thể gây ra sự ức chế phóng tinh của động vật. Sự có mặt của con cái động dục sẽ kích thích hơn tính hăng sinh dục. Theo Ivanov, sự có mặt của con cái động dục có tác dụng thúc đẩy sự bắt đầu phóng tinh, tăng thời gian phóng tinh, thể tích tinh dịch và nồng độ tinh trùng.

Dựa vào nguyên lý này, năm 1974, GS. TS. Nguyễn Thiện (Viện chăn nuôi) đã đưa ra phương pháp dùng bàn tay kích thích trực tiếp vào dương vật để khai thác tinh dịch lợn. Những điều kiện cho xuất tinh là nhiệt độ, áp lực lòng bàn tay và nhu động của các ngón tay.

Các bước tiến hành của phương pháp này như sau:

- *Chuẩn bị dụng cụ:* Dụng cụ khai thác tinh dịch gồm có: găng tay bằng cao su mỏng, lọ (hay bình) hứng tinh. Rửa sạch phần bụng, sát trùng bộ phận sinh dục đực, phần mông của giá nhảy, lọ hứng tinh và găng tay cao su.

- *Khai thác tinh dịch:* Dùng tay kích thích vào bao dương vật để lợn đực hưng phấn, nhảy lên ôm giá nhảy. Khi dương vật của lợn đực bắt đầu thò ra, dùng lòng bàn tay nắm nhẹ vào đầu dương vật (đoạn xoắn mũi khoan) và lái cho qui đầu lệch ra ngoài giá nhảy. Lúc này dương vật của lợn đực sẽ giao cấu trong lòng bàn tay. Bàn tay của người khai thác tinh cần nắm nhẹ dương vật (giữ nguyên tư thế, vị trí của lòng bàn tay), các ngón tay hơi cử động nhẹ để gây kích thích. Khi hưng phấn đạt cao độ, lợn bắt đầu xuất tinh. Người khai thác tinh dùng tay kia cầm lọ hứng tinh kê gần vào qui đầu để hứng tinh dịch chảy ra.

Chú ý: - Không nắm dương vật của lợn quá chặt làm lợn đau và sợ hãi, cũng không nên nắm quá lỏng lẻo vì có thể làm dương vật tuột ra ngoài bàn tay

- Không được để qui đầu chạm vào giá nhảy hoặc lọ hứng tinh vì dễ gây sây sát, chảy máu làm cho lợn sợ hãi, thậm chí dẫn tới ức chế phản xạ xuất tinh. Sau khi lợn xuất tinh xong cần nói lỏng lòng bàn tay nắm dương vật để lợn tự co dương vật lại và tụt khỏi giá nhảy

- Khi hứng tinh phải để cho tinh dịch chảy nhẹ theo thành lọ.

Ưu điểm:

- Không cần nhiều trang thiết bị, dụng cụ.

- Người khai thác tinh dịch có thể quan sát trực tiếp được các pha trong quá trình xuất tinh, từ đó đưa ra quyết định hứng tinh ở "pha" nào là tốt nhất, đặc biệt trong quá trình khai thác tinh dịch lợn.

Nhược điểm:

- Cần có sự luyện tập và thích ứng của động vật.

- Dễ bị nhiễm bản cơ quan sinh dục hoặc lây truyền bệnh cho người khai thác tinh dịch nếu không vô trùng tốt hoặc các dụng cụ bảo hộ không đảm bảo an toàn vệ sinh.

- Kích thích không gây khoái cảm cho con đực dễ gây ức chế khó xuất tinh và tinh dịch thu được có số lượng và chất lượng tinh trùng thấp.

Bài 2: Kiểm tra phẩm chất tinh dịch

2.1 Đại cương về tinh dịch

2.1.1. Tinh trùng

Tinh dịch là sản phẩm hoạt động của bộ máy sinh dục đực khi con đực thực hiện hoàn chỉnh một phản xạ sinh dục. Tinh dịch gồm hai thành phần: tinh trùng (tế bào sinh dục đực) và tinh thanh. Tinh trùng là sản phẩm bài tiết của các ống sinh tinh, trong khi đó tinh thanh là sản phẩm bài tiết của các tuyến sinh dục phụ. Thể tích tinh dịch của một lần phóng tinh và nồng độ tinh trùng có trong tinh dịch khác nhau giữa các loài động vật.

2.1.1.1 Cấu tạo tinh trùng

Tinh trùng là một tế bào sinh dục nhỏ và kéo dài. Cấu tạo tổ chức của nó phức tạp và chỉ quan sát rõ bằng kính hiển vi điện tử. Về kích thước, tinh trùng bò có chiều dài xấp xỉ 70μ ; ngựa: 60μ ; lợn: 50μ ; Thể tích trung bình của tinh trùng dao động từ $60-125\mu\text{m}^3$ và nhỏ hơn từ 10-20 nghìn lần so với thể tích của trứng. Về cấu tạo đại thể, tinh trùng gồm 3 phần chính: Đầu, cổ thân và đuôi. Phần đuôi được chia thành ba phần: trung đoạn, đuôi chính và đuôi phụ.

2.4.1. Đầu

Đầu là phần chính của tinh trùng, có hình dạng thay đổi theo loài: Hình dạng kéo dài ở ngựa; hình chùy ở cừu, dê và lợn; hình quả lê ở động vật ăn thịt và thỏ; hình liềm ở chuột và chim.

- Phần ngoài cùng của đầu tinh trùng là màng sinh chất được cấu tạo bởi các phân tử lipoprotein. Các phân tử này xếp xen kẽ nhau với khoảng cách 120Å

- Nhân: ngoài cùng của nhân là màng nhân, phía trước gắn với thể acrosome tạo thành mũ chóp trước, phía sau gắn với màng ngoài của tinh trùng. Thành phần của nhân chủ yếu là chromatine đặc, đồng nhất mà nó bao gồm ADN và các protit thuộc nhóm protamin.

- Thể acrosome: nằm bên trong màng sinh chất và ở phía đỉnh đầu tinh trùng, vì vậy người ta còn gọi là thể đỉnh. Màng trước của acrosome dính sát với màng ngoài của tinh trùng và màng sau dính với màng nhân làm thành mũ chóp trước của tinh trùng. Dịch chứa trong thể acrosome là một thể dịch đặc, đồng nhất trong thành phần của nó có các enzym cần thiết cho quá trình thụ tinh giữa trứng và tinh trùng. Phần phía trên của thể acrosome chứa enzym hyaluronidase có tác dụng phá hủy vành phóng xạ của tế bào trứng, trong khi đó phần sau của thể acrosome chứa enzym acrosine có vai trò trong việc chọc thủng vùng trong suốt của tế bào trứng. Ngoài ra, thể acrosome còn chứa các enzym phosphatase axit, esterase, hydrolase axit. Thể acrosome của tinh trùng rất dễ bị biến tính bởi các tác nhân lý, hóa và cơ học. Các tác nhân đó dễ làm cho màng của thể acrosome biến tính, dẫn đến dịch acrosome bị thẩm xuất ra ngoài và tinh trùng không còn khả năng thụ thai.

Do vai trò quan trọng của thể acrosome đối với quá trình thụ thai nên ngoài các

chỉ tiêu thông thường dùng để đánh giá phẩm chất tinh dịch, người ta đã sử dụng chỉ tiêu đánh giá phẩm chất thể acrosome thông qua sự phát sáng của nó trong môi trường acrota.

Cần chú ý rằng, enzym hyaluronidase không có tính đặc hiệu cho từng loài động vật, do vậy, trong pha chế, bảo tồn tinh dịch, có thể tổng hợp và cho thêm enzym này vào môi trường để ngăn ngừa sự thâm xuất của nó ra ngoài, góp phần nâng cao khả năng thụ thai. Ở một số loài động vật (loài gặm nhấm), người ta thấy enzym hyaluronidase không đóng vai trò quan trọng trong quá trình thụ thai, bởi vì khi quan sát các tế bào tinh trùng xuyên qua màng phóng xạ chúng vẫn còn nguyên thể acrosome. Điều đó chứng tỏ tinh trùng đã xuyên qua màng phóng xạ bằng chính sự vận động của nó khi những lớp keo liên kết các tế bào hạt của màng phóng xạ loãng dần ra.

Cổ - thân là vùng phức hợp do nguyên sinh chất dồn ép tạo thành. Trong phần cổ-thân có hai loại cặp hạt là: cặp hạt trung tâm và 9 cặp hạt bên. Ở động vật có vú, hạt bên có hình nón cụt, đầu tận cùng của nó mở ra bao quanh hạt trung tâm và dính với màng nucleic của nhân. Từ cặp hạt trung tâm này xuất phát ra hai sợi trục chính đi về phía đuôi.

xen kẽ nhau, đi theo hình xoắn tròn ốc về phía đuôi. Bao xung quang các sợi bên là hệ thống ty lạp thể (Mitochondrie)

Phần cổ thân của tinh trùng chứa nhiều loại enzym oxy hóa-khử giúp cho tinh trùng trao đổi chất. Các enzym này chủ yếu là: phosphatase, transferase và ATPHse.

Ngoài ra, phần cổ thân có chứa phospholipit có tác dụng cung cấp năng lượng cho tinh trùng hoạt động. Thành phần chủ yếu của phospholipit là plasmanogen và leucitin.

2.4.3. Đuôi: được chia thành 3 phần chính bao gồm:

a) *Trung đoạn (Middle piece):* bắt đầu từ các hạt bên và kết thúc ở chỗ dày lên của màng đuôi về phía dưới. Nhìn theo thiết diện ngang từ trong ra ngoài: chính giữa là 1 cặp sợi trục trung tâm, xung quanh có 9 cặp sợi trục ngoại vi (sợi bên). Bao bọc các sợi bên là những thể hạt (ty lạp thể) và một lớp nguyên sinh chất mỏng (protoplasma). Lớp ngoài cùng bao bọc phần trung đoạn là lớp màng sinh chất (cytoplasma).

Giữa các sợi bên và sợi trung tâm có các sợi tơ nhỏ liên kết chúng với nhau theo mỗi liên kết "nan hoa" và giữa các vòng xoắn của các sợi bên cũng có các sợi tơ nối chúng với nhau theo kiểu liên kết "bắt tay". Bản chất của các sợi tơ này là các sợi fibrin.

b) *Đuôi chính (Main piece):* là phần dài nhất của đuôi. Ngoài cùng là màng sinh chất, ở giữa có một cặp sợi trục trung tâm và xung quanh có chín cặp sợi trục ngoại vi (sợi bên) tạo thành hai lớp, xung quanh những cặp sợi này được bao bọc bởi một lớp ty lạp thể. Khoảng cách giữa sợi trục trung tâm và sợi bên sát nhau hơn so với phần trung đoạn.

c) *Đuôi phụ (End piece):* không có màng sinh chất bên ngoài, các sợi trục bên không tạo thành vòng xoắn nữa mà chúng được giải phóng ra thành chùm tơ đuôi giúp cho tinh trùng vận động và chuyển hướng được dễ dàng.

Cấu trúc bên trong của các sợi trục và bản chất hóa học của protein của các sợi

vẫn còn đang được nghiên cứu. Nhiều tác giả nhận thấy sự giống nhau giữa sự vận động của tinh trùng với sự co rút của cơ và giữa một vài protein của tinh trùng với những protein của myosine. Bằng những phép thử hóa tế bào đã chứng minh sự có mặt của adenosine-triphosphate ở những sợi trục, từ đó người ta khẳng định axit phosphoric tham gia vào sự trao đổi chất và vận động của tinh trùng.

2.1.1.2. Đặc điểm sinh lý tinh trùng

2.7.1. *Đặc tính chuyển động tới trước*

Tinh trùng sống luôn luôn chuyển động. Sự chuyển động của tinh trùng là nhờ phần cổ-thân và đuôi. Trong khi vận động, đuôi tinh trùng luôn uốn éo, co rút tạo áp lực cho tinh trùng tiến về phía trước. Ngoài ra, do đầu tinh trùng có hình khí động học (hình quả lê hoặc hình chùy), có khả năng xoay tròn quanh trục của thân, kết hợp với sự vận động xoay tròn của cổ-thân và đuôi tạo thành vector chuyển động tiến thẳng tới trước.

Tốc độ di chuyển tới trước của tinh trùng phụ thuộc vào các điều kiện nội tại (sức sống của tinh trùng) và ngoại cảnh, như: niêm dịch của đường sinh dục cái tiết ra nhiều hay ít; độ đặc, loãng của dịch tiết; phương thức phóng tinh của con đực; độ co bóp của các bộ phận bên trong đường sinh dục cái mà chủ yếu là sừng tử cung và ống dẫn trứng.

Tốc độ chuyển động của tinh trùng còn phụ thuộc vào nhiệt độ môi trường. Ở nhiệt độ từ 38-40°C, tinh trùng chuyển động nhanh, nhưng ở nhiệt độ sốt, tinh trùng gần như không vận động.

Ngoài ra, tốc độ vận động của tinh trùng còn phụ thuộc vào mức độ thành thực của nó. Tốc độ trung bình của tinh trùng ngựa thành thực trong cơ quan sinh dục cái là 5 mm/phút; tinh trùng bò, dê: 4 mm/phút và tinh trùng thỏ, chó: 2 mm/phút. Sự vận động của tinh trùng gắn liền với hoạt động của enzym và trao đổi chất. Ở dịch hoàn phụ, tinh trùng gần như không vận động, nhưng khi được phóng ra gặp tinh thanh, nó hoạt động ngay lập tức vì nó được hoạt hóa bởi các enzym và cơ chất có trong tinh thanh.

Ngoài hai hình thức vận động trên, tinh trùng còn có thể vận động theo kiểu "lắc lư,,", nghĩa là vị trí không gian của tinh trùng không thay đổi, chỉ có đầu và đuôi ve vẩy

Những tinh trùng loại này không có khả năng thụ thai.

2.7.2. *Đặc tính lội ngược dòng*

Tinh trùng có xu thế lội ngược dòng niêm dịch của đường sinh dục cái. Khi gặp dòng niêm dịch chảy ngược thì vận tốc của nó tăng từ 2-2,5 lần. Chính nhờ đặc tính này, khi gặp dòng niêm dịch chảy ra của đường sinh dục cái, tất cả tinh trùng đang chuyển động hỗn loạn đều vận động về cùng một hướng: tiến vào ống dẫn trứng.

Đặc tính này đã được chứng minh bởi thí nghiệm sau: người ta nhỏ 1 giọt tinh lên quan sát trên kính hiển vi. Kết quả cho thấy tất cả tinh trùng tiến về phía ngược với trọng lực của chúng.

2.7.3. *Đặc tính tiếp xúc với vật lạ*

Trong khi vận động, nếu gặp các vật lạ (như hạt bụi, bọt khí, trứng...), tinh trùng

có đặc tính là bao vây lấy vật lạ đó. Nhờ đặc tính này, khi vào đường sinh dục cái, tinh trùng luôn có xu thế bao vây lấy trứng, phá hủy các màng của tế bào trứng, đi vào nhân để kết hợp với nhân tạo thành hợp tử.

Người ta đã chứng minh đặc tính này bằng cách lấy một tế bào trứng của lợn cái động dục hoặc một hạt bụi bất kỳ đặt vào trong một giọt tinh dịch lợn. Quan sát trên kính hiển vi thấy tinh trùng bao vây lấy tế bào trứng hoặc hạt bụi và đang tiến hành công phá tế bào trứng hoặc hạt bụi

2.7.4. Đặc tính tiếp xúc với hóa chất

Trong thời gian động dục, niêm mạc ống dẫn trứng tiết ra một chất hóa học có tên là *pertilizin*. Chất này có tác dụng kích thích, gây hưng phấn cho tinh trùng, làm cho tinh trùng tập trung lại và tiến đến tế bào trứng. Đặc tính này được chứng minh bằng thí nghiệm sau: dùng tinh trùng của thỏ hoặc chó cho vào nước sinh lý có chứa dịch chiết niêm mạc ống dẫn trứng, quan sát thấy có hiện tượng tinh trùng tụ lại, nhưng nếu thay dịch niêm mạc tử cung bằng dịch chiết của tổ chức gan hoặc ruột thì không thấy có hiện tượng tụ lại của tinh trùng.

2.7.5. Đặc tính tiếp xúc với điện

Trong thời gian động dục, ống dẫn trứng và tử cung con cái có một điện thế nhất định và bản thân tinh trùng cũng mang điện, do đó có một điện thế được thiết lập giữ tinh trùng và ống dẫn trứng. Đặc tính của dòng điện là chạy từ nơi có điện thế cao đến nơi có điện thế thấp cho nên tinh trùng vận chuyển theo một hướng nhất định.

Người ta làm thí nghiệm cho một dòng điện có hiệu điện thế 3,55 Vol vào trong một cốc đựng tinh dịch. Kết quả quan sát cho thấy, tinh trùng hoạt động rất mạnh. Hiểu biết được 5 đặc tính trên của tinh trùng có ý nghĩa rất quan trọng trong pha chế, bảo tồn tinh dịch và dẫn tinh cho gia súc cái.

2.1.2. Tinh thanh

2.5.1. Chức năng của tinh thanh trong hoạt động sinh lý sinh dục

Tinh thanh là dịch tiết của phụ hoàn và các tuyến sinh dục phụ. Dịch tiết này gần như trung tính và đẳng trương. Trên phương diện sinh hóa học, tinh thanh rất cần thiết cho sự sống và hoạt động của tinh trùng. Thành phần và số lượng tinh thanh biến động theo loài động vật. Nhìn chung, tinh thanh có những chức năng chính sau đây :

- Rửa sạch ống niệu-sinh dục con đực và đường sinh dục cái trước khi phóng tinh.
- Hoạt hóa tinh trùng, làm cho tinh trùng có khả năng vận động (ở phụ hoàn tinh trùng hầu như không vận động, khi tiếp xúc với tinh thanh, tinh trùng bắt đầu hoạt động).
- Pha loãng và cung cấp chất dinh dưỡng cho tinh trùng.

2.5.2. Thành phần hóa học và vai trò của các hoạt chất sinh học trong tinh thanh.

Tinh thanh được chia thành hai phần chính là nước và vật chất khô (VCK) - Vật chất khô có trong tinh thanh gồm những thành phần vô cơ và hữu cơ khác nhau. Các thành phần vô cơ gồm có các cation như là: K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} và các anion, như : Cl^- và PO_4^{3-} . Trong khi K^+ và Mg^{2+} có tác dụng làm tăng sức sống của tinh trùng thì Ca^{2+} và kim loại nặng khác có tác dụng ngược lại.

Vật chất hữu cơ có trong tinh thanh gồm : Protein, các axit béo, các đường đơn (chủ yếu là fructose), axit xtric, lactic và các hoạt chất sinh học khác, như là: ergothionin, inositol, phosphorylcholin, glycerylphosphorylcholin (GPC) và các enzym. Thành phần và hàm lượng các chất hữu cơ có trong tinh thanh cũng khác nhau tùy theo loài động vật. Những chất hữu cơ này rất cần thiết cho sự sống và hoạt động của tinh trùng. Sự tiết các chất này được điều tiết bởi testosterone dịch hoàn. Chúng biến mất sau khi gia súc bị thiên hoạn và được xuất hiện trở lại sau khi tiêm kích tố testosterone.

Trong các hoạt chất sinh học của tinh thành, có những hoạt chất sau đóng vai trò quan trọng trong hoạt động sống của tinh trùng:

* *Phosphorylcholin và glycerylphosphorylcholin (GPC)*.

Trên thực tế, hai sản phẩm này là hợp chất của photpho liên kết với cholin có trong tinh thanh.

GPC có rất nhiều trong tinh thanh của vật nuôi: ngựa, cừu, bò, lợn và nó chủ yếu có trong dịch tiết của phụ hoàn. Phosphorylcholin được tìm thấy trong tinh dịch người.

Tinh trùng chỉ sử dụng được GPC khi nó vào trong đường sinh dục cái, bởi vì dịch tiết của đường sinh dục con cái có enzym phân giải GPC thành các phần đơn giản (choline, phosphoglycerol và glycerin tự do). GPC là nguồn năng lượng quan trọng cung cấp cho hoạt động của tinh trùng trong đường sinh dục cái.

Hàm lượng GPC chiếm từ 1-3% VCK của tinh thanh và hàm lượng này trong tinh thanh của cừu là lớn nhất và giảm dần ở bò, ngựa, lợn.

* *Axit xitric*: là một trong những thành phần của tinh dịch bò, lợn, cừu và nhiều loài động vật khác, kể cả ở người. Hàm lượng của nó có thể thay đổi từ 50-800 mg/100 ml. Giống như fructose, axit xitric chủ yếu được sản xuất ra ở tuyến tinh nang, nó không có vai trò năng lượng, nhưng có vai trò làm đông đặc tinh dịch sau khi tiết ra ngoài cơ thể ở một vài loài động vật.

* *Fructose*: là thành phần glucit chủ yếu của tinh dịch do tuyến tinh nang và thượng dịch hoàn tiết ra, nhưng hàm lượng của nó khác nhau tùy theo loài động vật.

Ở tinh dịch bò, hàm lượng này có thể thay đổi từ một vài mg% đến 1g/100 ml.

Fructose là nguồn năng lượng chính của tinh trùng. Sự trao đổi đường fructose phụ thuộc vào số lượng tinh trùng và sức hoạt động của tinh trùng. Sự trao đổi này được thực hiện theo phản ứng Embden-Meyerhof bằng cách trải qua các giai đoạn: fructose-phosphate, triose-phosphate để tạo thành axit pyruvic. Trong điều kiện yếm khí, axit pyruvic được biến đổi thành axit lactic và sẽ được tích tụ lại làm cho pH của tinh dịch giảm nhanh chóng. Nhưng nếu được tiếp xúc với oxy, axit lactic bị oxy hóa tạo thành nước và carbonic.

Chỉ số phân giải fructose là một chỉ tiêu tốt để đánh giá phẩm chất tinh dịch.

Fructose trong tinh thanh có nguồn gốc từ glucose trong máu, nơi thực hiện sự biến đổi này là tuyến tinh nang. Thí nghiệm đã cho thấy rằng, khi cho glucose vào trong dịch chiết của tuyến tinh nang được nghiền nát, để ở 37°C sau ta thấy xuất hiện fructose.

* *Ergothionin*: là một bazơ khử, có hàm lượng lớn trong tinh dịch lợn, còn trong tinh dịch ngựa có ít hơn. Ergothionin đóng vai trò là chất bảo vệ đối với nhóm S-

H trong tế bào tinh trùng khi gặp những chất oxy hóa-khử mạnh, như: Iode, AgNO₃ mà chính nhóm S-H này giữ vai trò chủ yếu trong việc duy trì sức vận động của tinh trùng

* *Inositol*: là một thành phần hóa học có nhiều trong tinh dịch lợn, chiếm khoảng 0,2%, các loài khác ít thấy. Trong tinh dịch lợn, áp lực thẩm thấu được đảm bảo chủ yếu bởi inositol, kali xitrat và Natri xitrat. Cũng như axit xitric, inositol không được chuyển hóa bởi tinh trùng.

* *Enzym*: tinh thành có nhiều enzym tham gia vào quá trình trao đổi chất của tinh trùng, trong đó đáng chú ý là các enzym: phosphatase axit và phosphatase kiềm và tỷ lệ của các enzym này thay đổi theo loài (ví dụ: ở cừu phosphatase kiềm chiếm ưu thế hơn phosphatase axit). Ngoài ra, trong tinh thành người ta cũng phát hiện thấy những enzym phosphomonoesterase mà chủ yếu là pyrophosphatase, adenosinetriphosphatase và glycosidase.

2.2 Kiểm tra phẩm chất tinh trùng

2.2.1. Nguyên tắc kiểm tra

Kiểm tra phẩm chất tinh dịch có tầm quan trọng đặc biệt trong công tác quản lý, sử dụng đực giống. Bởi vì, kiểm tra phẩm chất tinh dịch cho phép đánh giá phẩm chất giống, sức sản xuất của con đực để định ra chế độ nuôi dưỡng chăm sóc phù hợp.

Đồng thời, kiểm tra phẩm chất tinh dịch là cơ sở để xác định mức pha loãng tinh dịch và góp phần chẩn đoán, ngăn ngừa một số bệnh của đường sinh dục

2.2.2. Phương pháp kiểm tra

Lượng tinh (ký hiệu V, đơn vị tính ml)

Lượng tinh là thể tích tinh dịch bài xuất tối đa trong một lần xuất tinh. Chỉ tiêu này cho biết sức sản xuất của đực giống. Lượng tinh ở các loài gia súc khác nhau thì khác nhau. Ví dụ, lượng tinh trung bình của một số loài gia súc, như sau: Lợn đực nội:

200-300ml; Lợn đực ngoại: 300-500ml; Bò: 4-5 ml; Ngựa: 70-100 ml; Dê, cừu: 1-2ml;

Gà trống: 0,8 ml; Gà tây: 0,3 ml; Chó: loạn; Mèo: 0,01-0,3 ml; Thỏ: 0,7-1 ml.

Lượng tinh thay đổi theo loài và ngay trong cùng một loài cũng thay đổi theo tình trạng sinh lý, cá thể, giống, tuổi, thể chất cơ thể, tình trạng vệ sinh, bệnh tật, chế độ nuôi dưỡng, chế độ sử dụng (khai thác) và kỹ thuật khai thác. Lượng tinh thu được là một chỉ tiêu để đánh giá sức sản xuất của một con đực. Ở những loài thụ tinh tử cung (ngựa, lợn, chó), lượng tinh thường nhiều và nồng độ tinh trùng thấp (tinh dịch loãng).

Trái lại, những loài thụ tinh âm đạo (bò, cừu, thỏ) thì lượng tinh ít, nồng độ tinh trùng cao (tinh dịch đậm đặc). Dưới đây, chúng ta chỉ xem xét một số yếu tố chủ yếu ảnh hưởng tới lượng tinh.

* *Giống*: Thường thì các giống ngoại, giống lai có tầm vóc cơ thể lớn hơn sản sinh ra lượng tinh cũng nhiều hơn so với các giống nội có tầm vóc cơ thể nhỏ. Ngay trong cùng một giống, thông thường những cá thể có khối lượng cơ thể lớn hơn, lượng tinh cũng nhiều hơn.

* *Tuổi*: Lượng tinh phụ thuộc vào các giai đoạn phát triển cơ thể. Ở thời kỳ hậu

bị, dịch hoàn và các tuyến sinh dục phụ chưa phát triển hoàn chỉnh nên lượng tinh ít hơn so với gia súc ở tuổi trưởng thành, khi các tuyến sinh dục phụ và dịch hoàn phát triển hoàn chỉnh.

Các kết quả thí nghiệm của Ilinscaia và M. Phrer (1975) cho thấy, lượng tinh của lợn đực ở giai đoạn 7 tháng tuổi bình quân 120 ml, nhưng ở 8 tháng tuổi là 150ml. Kết quả nghiên cứu của Trần Thế Thông và cộng sự (1976) trên lợn đực giống Móng Cái cho thấy: ở 7 tháng tuổi, lượng tinh khai thác bình quân 110 ml, nhưng ở 8 tháng tuổi lượng tinh là 144,3ml.

* *Chế độ sử dụng*: có ảnh hưởng trực tiếp tới khả năng sản xuất tinh dịch của gia súc. Với chế độ sử dụng hợp lý, lượng tinh khai thác đạt được tối đa và ngược lại, chế độ khai thác không hợp lý sẽ làm giảm rõ rệt lượng tinh.

Các kết quả nghiên cứu trên lợn của Nguyễn Thiện, Nguyễn Tấn Anh (Viện chăn nuôi) cho thấy: Chế độ lấy tinh 4-5 ngày/lần, lượng tinh đạt từ 150-200ml; 2-3 ngày/1 lần, lượng tinh đạt từ 60-100ml; lấy tinh hàng ngày (một lần/ngày), lượng tinh đạt từ 50-60ml và 2 lần/ngày, lượng tinh đạt từ 20-50ml.

* *Kỹ thuật lấy tinh*: ảnh hưởng trực tiếp tới lượng tinh trong một lần khai thác.

Yếu tố này phụ thuộc chủ yếu vào thao tác của người khai thác tinh. Muốn khai thác được tối đa sản phẩm tinh dịch thì các thao tác kỹ thuật trong khi khai thác tinh dịch phải thuần thục, chính xác, tạo cho con vật có cảm giác như đang giao phối trong điều kiện tự nhiên. Mặt khác, các dụng cụ khai thác tinh (ví dụ như âm đạo giả) cũng phải có đầy đủ các điều kiện như trong giao phối tự nhiên với con cái động dục (nhiệt độ, áp suất độ mềm, độ nhớt...).

1.1.2 . Màu sắc

Phần lớn các loài động vật, tinh dịch có màu trắng đục, trắng sữa và đôi khi có màu vàng ngà hoặc trắng sữa hơi ánh xanh (như tinh dịch trâu). Độ đục của tinh dịch phản ánh nồng độ tinh trùng trong đó. Tinh dịch có nồng độ tinh trùng loãng thường có màu sáng. Tinh dịch các loài gia súc khác nhau có màu sắc khác nhau: Tinh dịch bò có màu trắng, đặc như sữa. Cá biệt có màu vàng do Riboflavin trong thức ăn.

- Tinh dịch ngựa có màu đục mờ hoặc trắng đục và được tạo thành 3 phần: Phần đầu tiên là nước, chỉ chứa rất ít tinh trùng; phần thứ hai có màu sáng, chứa số lượng lớn tinh trùng; phần thứ ba có dạng nhầy, là sản phẩm bài tiết của tuyến tiền liệt và Cowper.

- Tinh dịch lợn có màu trắng trong hoặc trắng đục, có hàm lượng lớn gelatin, chứa một số lớn những hạt vẩn, đóng cục lớn nhỏ, có nguồn gốc từ tuyến Cowper. Những hạt vẩn này được tụ lại dưới đáy bình khi tinh dịch được để yên tĩnh. Trong giao phối tự nhiên, những hạt này được kết tụ trong âm đạo, tạo thành một khối đặc, hình nón cụt dài khoảng 15cm và thể tích khoảng 30ml. Chính khối đặc này bịt lấp cổ tử cung không cho tinh trùng chảy ra ngoài sau khi giao phối.

- Tinh dịch cừu có màu trắng sữa, đặc hơn tinh dịch bò.

Sự bất bình thường về màu sắc của tinh dịch có thể do các nguyên nhân bệnh lý hoặc thức ăn gây nên. Người ta có thể căn cứ vào màu sắc của tinh dịch để chẩn đoán tình trạng sinh lý đường sinh dục con đực. Ví dụ:

- Tinh dịch có màu hồng hoặc màu đỏ có thể là do bị nhiễm máu hoặc do uống

phenonthiazin kéo dài. Tinh dịch có màu hồng có thể do nhiễm máu, do viêm nhiễm đường sinh dục mới xảy ra. Tinh dịch có màu nâu có thể do viêm nhiễm đường sinh dục đã lâu, máu đã bị thoái hóa.

- Tinh dịch có các hạt màu vàng hoặc xanh có thể do đường sinh dục bị viêm nhiễm sinh mủ, thường xoang qui đầu bị viêm nhiễm.

- Tinh dịch có màu sắc không đồng nhất có thể do bị nhiễm nước tiểu hoặc nước lã.

- Tinh dịch có màu xanh nhạt có thể do nồng độ tinh trùng thấp hoặc do uống xanh Methylen.

Như vậy, màu sắc tinh dịch là một trong những căn cứ ban đầu để đánh giá phẩm chất tinh dịch và tình trạng bệnh lý của con đực. Tinh dịch có độ đục cao, độ đậm đặc lớn có thể sơ bộ kết luận nồng độ tinh trùng cao, ngược lại tinh dịch loãng, màu nhạt thì nồng độ tinh trùng thấp.

1.1.3. Mùi

Bình thường tinh dịch có mùi hăng hoặc tanh đặc biệt.

- Nếu có mùi khai, thường do bị lẫn nước tiểu.

- Nếu có mùi hôi thối, thường do đường sinh dục bị viêm nhiễm.

1.1.4. Độ vẩn

Trong tinh dịch, tinh trùng luôn vận động. Quá trình vận động của tinh trùng kéo sự chuyển động của các thành phần khác có trong tinh dịch như: các hạt keo protein, keo lipit... gây ra sự chuyển động hỗn độn tạo nên độ vẩn của tinh dịch (như vẩn mây).

Căn cứ vào độ vẩn của tinh dịch có thể đánh giá nồng độ tinh trùng. Người ta thường sử dụng thang điểm ký hiệu bằng dấu cộng (+) để biểu thị độ vẩn của tinh dịch. ứng với mỗi mức độ biểu thị của dấu cộng là một mức độ biểu thị nồng độ của tinh trùng.

1.1.5. Độ pH

Độ pH của tinh dịch thay đổi theo loài động vật:

Tinh dịch bò chất lượng tốt có pH giao động từ 6,5-6,8. Nó có thể đạt tới trung tính và ngay cả hơi kiềm khi chất tiết của tuyến sinh dục phụ tăng.

Ở cừu, pH trung bình của tinh dịch là 6,85. Nó trở nên kiềm ở những cá thể ít có khả năng thụ thai hoặc vô sinh. Tinh dịch có nồng độ tinh trùng cao thì độ axit cao hơn và pH có thể đạt tới 5,9.

Ở ngựa, pH của tinh dịch giao động từ: 6,2-7,8; ở lợn: 7,2-7,5; ở chó: 6,67-6,76; ở thỏ: 6,8-7,5 và ở gà: 6,8-8,4.

Sau khi ra khỏi cơ thể, nguồn năng lượng chính của tinh trùng dựa vào sự thủy phân đường. Người ta nhận thấy rằng, những mẫu tinh dịch có nồng độ tinh trùng cao và giàu fructose thể hiện sự giảm pH nhanh chóng do sự tích tụ axit lactic sau khi phân giải fructose. Như vậy, tốc độ tăng axit trong tinh dịch sau khi phóng ra có ý nghĩa để đánh giá chất lượng tinh dịch. Do đó, xác định pH có thể mang tới giá trị bổ sung để đánh giá phẩm chất tinh dịch.

Tuy nhiên, xác định giá trị pH ngay sau khi khai thác cũng có thể chẩn đoán được một số tình trạng bệnh lý và dinh dưỡng của con đực:

- Trường hợp pH quá toan so với mức chung của loài có thể do đường sinh dục bị viêm nhiễm, quá trình viêm nhiễm sẽ sinh ra nhiều ion H^+ làm cho pH giảm (phần lớn do viêm nhiễm tuyến tiền liệt).

- Ngược lại, pH quá kiềm so với mức chung của loài có thể do khẩu phần ăn có nhiều thành phần thô gây nên. Trong trường hợp này cần điều chỉnh khẩu phần ăn của con giống cho phù hợp.

1.1.6. Hoạt lực của tinh trùng (ký hiệu A)

Hoạt lực của tinh trùng là chỉ tiêu rất quan trọng để đánh giá phẩm chất tinh dịch. Chỉ tiêu này nói lên sức sống và khả năng vận động của tinh trùng sau khi ra khỏi cơ thể. Hoạt lực của tinh trùng được tính bằng tổng số tinh trùng còn khả năng vận động tiến thẳng so với tổng số tinh trùng có trong tinh dịch. Vận động tiến thẳng của tinh bao gồm: chuyển động tiến về phía trước, chuyển động xoay quanh trục thân tạo thành véc tơ hướng tới phía trước.

Để đánh giá chỉ tiêu hoạt lực của tinh trùng, người ta thường sử dụng kính hiển vi có độ phóng đại từ 400-600 lần. Nhiều nước đã sử dụng kính hiển vi đặc biệt có lắp hệ thống phóng hình lên màn ảnh để quan sát. Phương pháp này cho độ chính xác cao hơn.

Tinh dịch có phẩm chất tốt là tinh dịch có hoạt lực tinh trùng cao hay nói cách khác là tinh dịch có tỷ lệ tinh trùng tiến thẳng cao.

- Chỉ tiêu hoạt lực tinh trùng phải được tiến hành kiểm tra ngay sau khi lấy tinh 15 phút và ở nhiệt độ xấp xỉ nhiệt độ cơ thể. Nếu tinh dịch được bảo tồn ở nhiệt độ thấp hoặc khai thác trong điều kiện khí hậu lạnh (mùa đông) thì trước khi kiểm tra phải đưa nhiệt độ tinh dịch lên 37°C sau đó mới tiến hành kiểm tra.

- Đối với tinh dịch một số loài gia súc có nồng độ tinh trùng cao như trâu, bò, dê... khi tiến hành kiểm tra hoạt lực tinh trùng người ta có thể pha loãng tinh dịch trong nước muối sinh lý, rồi tiến hành kiểm tra hoặc người ta chỉ căn cứ vào mức độ rung động (chuyển động của tinh trùng trong tinh dịch tạo thành sóng) của vi trường để đánh giá. Nếu bề mặt tinh dịch rung động nhiều chứng tỏ tinh trùng hoạt động tốt, ngược lại nếu bề mặt ít rung động chứng tỏ tinh trùng hoạt động yếu.

Tinh dịch được coi là có chất lượng tốt phải có ít nhất 65-75% số tinh trùng vận động tiến thẳng. Khi các lần phóng tinh liên tiếp, vận động của tinh trùng ở lần phóng tinh thứ 2 thường tốt hơn lần phóng tinh thứ nhất.

1. 2. Các chỉ tiêu kiểm tra định kỳ

1.2.1 . Sức kháng của tinh trùng (ký hiệu R)

Đây là chỉ tiêu đánh giá sức đề kháng của tinh trùng trong điều kiện môi trường bất lợi (điều kiện môi trường xấu).

Cơ sở khoa học để đánh giá sức đề kháng của tinh trùng là độ bền màng lipoprotein của tinh trùng dưới tác động của dung dịch NaCl ưu trương. Thông thường để kiểm tra chỉ tiêu này người ta sử dụng dung dịch NaCl 1 %.

Theo Milovanop (1963), sức kháng của tinh trùng được kiểm tra bằng việc thêm dần dung dịch muối NaCl 1% vào trong tinh dịch đến khi tinh trùng ngừng hoạt động, khi đó sức kháng được đánh giá bằng công thức:

Trong đó: R: sức kháng của tinh trùng.

V: thể tích dung dịch NaCl 1% làm chết tinh trùng (ml) .

v: thể tích tinh dịch sử dụng để kiểm tra (ml)

Dựa vào đặc điểm tinh dịch từng loài gia súc, người ta có các phương pháp kiểm tra sức kháng sau:

* *Phương pháp hai lọ (áp dụng với tinh dịch lợn)*

Phương pháp kiểm tra như sau: dùng ống hút hút 0,01 ml tinh dịch nguyên cho vào lọ I đã chứa sẵn 5 ml NaCl 1% , dùng đũa thủy tinh sạch khuấy nhẹ, lắc đều. Như vậy, tinh dịch ở lọ thứ nhất đã được pha loãng 500 lần. Hút 0,5 ml dung dịch ở lọ I cho vào lọ II đã chứa sẵn 0,5 ml NaCl 1%, sau đó dùng đũa thủy tinh khuấy nhẹ, lắc đều ở lọ II tinh dịch được pha loãng 1000 lần. Lấy một giọt dung dịch ở lọ II đưa lên kính hiển vi để quan sát. Nếu thấy tinh trùng vẫn còn hoạt động thì ta lại cho thêm 0,1 ml NaCl 1% vào trong lọ II, lắc nhẹ, khuấy đều, rồi lại lấy 1 giọt dung dịch ở lọ II đưa lên kính hiển vi quan sát. Nếu thấy tinh trùng vẫn còn hoạt động, thì tiếp tục cho thêm 0,1 ml NaCl 1% vào lọ II và các bước thao tác được làm như trên cho đến khi tất cả tinh trùng ngừng hoạt động thì dừng lại. Lúc đó, sức kháng của tinh trùng được tính theo công thức: $R = r_0 + n$.

Trong đó: r_0 là mức pha loãng tinh trùng tại thời điểm kiểm tra đầu tiên r là mức pha loãng sau mỗi lần cho thêm 0,1 ml dung dịch NaCl 1% .

1.2.2. *Sức kháng thẩm thấu của tinh trùng (R_o)*

Nguyên tắc xác định R_o là dựa trên sự đánh giá sức chịu đựng của tinh trùng đối với dung dịch NaCl nhược trương trong 3 giờ, nếu sức hoạt động còn tốt, chứng tỏ chất lượng tinh dịch tốt

Đối với tinh dịch lợn dùng NaCl 0,8%, với tinh dịch bò dùng NaCl 0,6%.

Để xác định R_o , trước hết cần xác định "Tổng hoạt lực" (ΣA) của tinh trùng trong NaCl nhược trương bảo tồn sau 3 giờ và đánh giá, phân loại chất lượng tinh dịch theo R_o .

Để kiểm tra R_o của tinh dịch lợn người ta dùng 1 ml tinh dịch nguyên mới khai thác pha trong 4 ml dung dịch NaCl 0,8% (mức pha loãng 1 :4), bảo tồn ở ôn độ phòng, kiểm tra hoạt lực qua các thời điểm: 0, 1, 2, 3 giờ. Cộng 4 giá trị A tại các thời điểm kiểm tra lại ta được (ΣA) , đối chiếu với bảng tính sẵn sau để có R_o .

1.2.3. *Nồng độ tinh trùng (ký hiệu là C)*

Nồng độ tinh trùng là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá phẩm chất tinh dịch. Đối với đực giống trong cùng một giống, tinh dịch của cá thể nào có nồng độ tinh trùng cao thì phẩm chất tinh dịch tốt và ngược lại.

Có nhiều phương pháp xác định nồng độ tinh trùng, trong đó phổ biến nhất là phương pháp: sử dụng buồng đếm hồng, bạch cầu, ống Karas và máy so màu quang điện.

1. 2.4. *Tỷ lệ kỳ hình (K%)*

Tinh trùng kỳ hình là những tinh trùng có hình thái không bình thường, ví dụ:

Tinh trùng bị cụt đầu, cụt đuôi, bẹp đầu, hai đầu... Những tinh trùng kỳ hình không có khả năng thụ thai.

Để đánh giá về tỷ lệ kỳ hình, người ta phân vi trường thành ô để đếm và tính tỷ lệ kỳ hình ít nhất trên 500 tinh trùng đếm được.

1.2.5. *Kiểm tra phẩm chất thể acrosome*

Thể acrosome có ý nghĩa rất quan trọng trong quá trình thụ tinh, là nhân tố quyết định quá trình phân giải các màng của tế bào trứng, đưa tinh trùng đến gặp nhân của tế bào trứng.

Đặc tính của thể acrosome là rất dễ bị biến tính bởi các yếu tố ngoại cảnh như:

Nhiệt độ, hoá chất và các tác động cơ giới.

1.2.6. Khả năng làm phai màu xanh metylen

Trong quá trình hô hấp, enzym dehydrogenase của tinh trùng sinh ra H nguyên tử có khả năng làm phai màu xanh metylen. Tinh dịch có nồng độ tinh trùng cao và sức hoạt động mạnh có tốc độ làm phai màu xanh metylen nhanh hơn so với tinh dịch có nồng độ tinh trùng loãng và sức hoạt động yếu. Vì vậy, chỉ tiêu làm phai màu xanh metylen chỉ áp dụng cho tinh dịch trâu, bò, dê, cừu... không áp dụng cho tinh dịch ngựa, lợn.

Phương pháp kiểm tra: dùng phiến kính lõm (hoặc đĩa lõm) hỗn hợp 0,2 ml tinh dịch nguyên mới khai thác với 0,2 ml xanh metylen 0,1%. Dùng một ống mao dẫn có đường kính 0,5 mm, dài 10 cm, hút hỗn hợp trên vào lòng ống mao dẫn (tránh có bọt khí trong lòng ống mao dẫn). Gắn 2 miệng ống bằng pHraphin. Đặt ống nằm ngang trên tờ giấy trắng, dưới ánh sáng tán quang và nhiệt độ phòng. Dùng đồng hồ bấm giây để theo dõi thời gian phối màu xanh metylen. Hiện tượng phai màu xảy ra từ 2 đầu miệng ống và lan dần vào giữa ống.

1.2.7. Tổng số tinh trùng tiến thẳng trong một liều xuất tinh (VAC)

Chỉ tiêu này dùng đánh giá khái quát chất lượng tinh dịch và năng lực sản xuất tinh trùng của một đực giống. Chỉ tiêu này là tích số của V,A,C. VAC càng cao thì sức sản xuất tinh trùng và chất lượng tinh dịch càng tốt. Ví dụ: VAC đối với lợn đực giống từ 30 tỷ trở lên; đối với bò đực từ 4 tỷ trở lên; đối với trâu đực từ 3 tỷ trở lên... là tốt

1.2.8. Đánh giá tỷ lệ sống, chết của tinh trùng

Chỉ tiêu này được đánh giá dựa trên khả năng thấm thuốc nhuộm hay không thấm thuốc nhuộm của màng tinh trùng.

Bài 3: Pha loãng, bảo quản và vận chuyển tinh dịch

3.1 Giới thiệu một số môi trường hỗn hợp dùng trong pha loãng tinh

3.1. Môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch heo ở dạng lỏng

3.1.1. Môi trường đơn giản

* *Sữa bò tươi*: sữa được vắt từ những con bò cái khỏe mạnh, không mắc bệnh truyền nhiễm, đem hấp cách thủy trong nước sôi từ 20-30 phút, để nguội xuống 35- 40oC, dùng 3- 4 lớp vải gạc khô để lọc váng sữa, bổ sung thêm kháng sinh. Môi trường sữa tươi nên dùng trong ngày.

* *Sữa bột 10%*: dùng sữa bột chất lượng tốt pha trong nước cất 2 lần, khuấy cho tan đều, không có vón, hấp cách thủy trong nước sôi 10- 15 phút, để nguội xuống 35oC, dùng 3 - 4 lớp vải gạc khô đã khử trùng lọc váng sữa, bổ sung thêm kháng sinh. Môi trường sữa bột 10% chỉ nên dùng trong ngày.

* *Sữa bột cải tiến*: Thành phần: Dung dịch sữa bột 10%: 2 phần; dung dịch glucose 4,6%: 6 phần; lòng đỏ trứng gà tươi: 2 phần; penicilline và streptomisine mỗi thứ 500.000 UI/lít. Cụ thể: Để pha 1 lít môi trường sữa bột cải tiến cần:

- Dung dịch sữa bột 10%
- Dung dịch glucose 4,6%
- Lòng đỏ trứng gà tươi 200ml
- Penicilline 500.000 UI
- Streptomisine 500.000 UI

Môi trường sữa bột cải tiến có thể bảo tồn tinh trùng còn khả năng thụ thai tới 30-40 giờ (riêng sữa bột 10% chỉ có thể bảo tồn tinh trùng còn thụ thai trong vòng 10 - 15 giờ) .

* *Dung dịch nước sinh lý NaCl 0,85%* được bổ sung penicilline và streptomisine (mỗi thứ 500.000 UI/lít). Môi trường này có ưu điểm là chuẩn bị nhanh, rẻ tiền, thường được dùng làm chất đẩy tinh dịch vào sâu trong đường sinh dục con cái (phương pháp dẫn tinh 2 pha).

3.1.2 . Môi trường tổng hợp

Đây là môi trường gồm nhiều hóa chất phối hợp với nhau. Hiện nay trên thị trường Việt Nam thường sử dụng một số môi trường sau:

Chất liệu	Tên môi trường							
	Liên xô II	Kiev	Zoleso	Modena	Butvir	BL-1	BTS	IVT cải
Glucose	60,0	60,0	11,5	27,5	35,0	27,0	37,0	3,0
Na Xitrat.2H ₂ O	1,78	3,7	-	-	-	-	-	24,28
Na Xitrat.5H ₂ O	-	-	1 1 ,65	6,9	6,9	10,0	6,0	-
Na bicacbonat	0,60	1,20	1,75	1,00	1 ,00	2,00	1,25	2.40
EDTA	1,85	3,70	2,35	2,35	2.25	-	1,25	-
Tris	-	-	6,50	5,65	5,65	-	-	-
Axit xitric	-	-	4,10	2,90	3.15	-	-	-
Xystein	-	-	0,070	-	0,054	-	-	-
KCl	-	-		-		013	0,75	0,3
BSA	-	-	~5	-	3	-	-	-

Ghi chú: - Môi trường IVT cần bão hòa CO₂ và bảo quản ở nhiệt độ phòng

- Các môi trường cần bổ sung kháng sinh tố: Penicilline và streptomisine mỗi thứ 500.000 UI/ lít môi trường hoặc Tetracycline 0,05 g/ lít môi trường

- Khi bảo tồn ở nhiệt độ < 15°C Có thể bổ sung 3% lòng đỏ trứng gà

Ngoài các môi trường hỗn hợp có thể cân trực tiếp như trên, người ta có thể dùng một trong các môi trường hỗn hợp đóng gói sẵn hiện đang có trên thị trường và sử dụng theo hướng dẫn trên bao bì, như: BTS, Androhep, Merck (Đức); AHRI, NIAH, TH5, VCN (Việt Nam).

3.2. Môi trường pha loãng và bảo tồn tinh dịch bò

3.2.1. Giới thiệu một số môi trường bảo tồn ở dạng lỏng

Tùy theo điều kiện cơ sở vật chất kỹ thuật, phạm vi phục vụ, yêu cầu về thời gian bảo quản có thể áp dụng một số công thức môi trường dưới đây:

* *Sữa bò tươi:* Sữa bò tươi được vắt bò cái khỏe mạnh, phẩm chất tốt (chọn sữa có tỷ lệ mỡ sữa/bơ thấp càng tốt), đem hấp cách thủy bằng phương pháp PHsteur trong 30 phút, hớt váng mỡ, lọc kỹ. Sau khi làm nguội xuống 37oC, bổ sung thêm penicilline 500 UI/ml + streptomisine 500 µg/ml

* *Dung dịch sữa bột 10%:* Công thức:

Sữa bột 10g

Nước cất 90 ml

Penicilline 500 UI/ml

Streptomisine 500µg/ml

Cách làm: dùng sữa bột có phẩm chất tốt, còn thời hạn sử dụng. Rót một ít nước cất vừa đủ thấm ướt sữa bột, khuấy đều và nhuyễn, sau đó rót hết phần nước cất còn lại Tiếp tục khuấy

đều cho tan hết, hấp vô trùng 70oC trong 30 phút, lọc váng sữa và hạ nhiệt độ đến 37oC, bổ sung kháng sinh.

* *Môi trường sữa bột - lòng đỏ trứng:*

Công thức: Dung dịch sữa bột 10%

Lòng đỏ trứng 20%

Penicilline 500-1000 UI/ml môi trường

Streptomycine 500- 1000 µg/ml môi trường

Cách Pha: Dung dịch sữa bột được chuẩn bị như trên. Dùng trứng gà tươi (để 1 - 2 ngày) vỏ sạch, không bị dập vỡ, khử trùng trước khi đập vỏ, bỏ hết lòng trắng và màng lòng đỏ, đánh kỹ với bi thủy tinh (tránh sủi bọt) sao cho các hạt lòng đỏ càng nhỏ càng tốt. Sau đó pha với dung dịch sữa bột 10% theo tỷ lệ trên và bổ sung kháng sinh vào

* *Môi trường xitrat - lòng đỏ trứng*

Công thức: Dung dịch Na Xitrat (2,9%)

Lòng đỏ trứng gà 25ml

Penicilline 500-1000 UI/ml môi trường

Streptomycine 500- 1000 µg/ml môi trường

* *Môi trường Milovanop:*

Công thức: Glucose 5g

Lòng đỏ trứng gà 30ml

Penicilline 500-1000 UI/ml môi trường

Streptomycine 500- 1000 µg/ml môi trường

Nước cất 2 lần 1000ml

Cách pha: pha Na Xitrat với nước cất cùng glucose, sau đó hấp khử trùng bằng phương pháp PHsteur. Để nguội 40oC và bổ sung kháng sinh.

3.2.2. *Một số môi trường bảo tồn ở dạng đông lạnh (Frozen semen)*

Bảng 4.2. Công thức một số môi trường bảo tồn ở dạng đông lạnh cho kết quả tốt

Thành phần	ĐVT	Công thức 1	Công thức 2	Công thức 3
Đườnglactose 11%	%	75	--	--
Lòng đỏ trứng gà	%	20	25	20
Glyxerin	%	5,0	7,5	7,5
Dung dịch Na Xitrat 2,9%	%	--	67,5	72,5
Penicilline	UI/ml môi trường	500	500	500
Streptomycine	µg/ml môi trường	500	500	500

Ngoài các công thức môi trường trên có thể cân trực tiếp, trên thị trường cũng có các môi trường hỗn hợp sẵn như: Laiciphos B (Pháp), Triladyl (Đức)...

3.3. Môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch trâu

3.3.1. Một số môi trường pha loãng, bảo tồn ở dạng lỏng

Để bảo quản tinh dịch trâu ở nhiệt độ 0-5°C trong thời gian từ 48-72 giờ vẫn đạt tỷ lệ thụ thai cao, có thể dùng một trong các môi trường sau đây:

Bảng 4.3. Các công thức môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch trâu ở dạng lỏng

Thành phần	ĐVT	công thức 1	công thức 2	công thức 3	công thức 4
Nước cất	ml	-	60	100	100
Glucose	g	-	2,2	-	-
Na Xitrat.5H ₂ O	g	-	0,50	1,76	1,56
Glycocoll	g	-	-	0,75	-
Trường	g	-	-	0,196	-
Sữa bò tươi	ml	100	-	-	-
Lòng đỏ trứng gà	ml	43	40	20	20
Penicilline	UI/ml môi trường	500-1000	500-1000	500-1000	500-1000
Streptomycine	µg/ml môi trường	500-1000	500-1000	500-1000	500-1000

3.3.2. Một số môi trường bảo tồn tinh dịch trâu ở dạng đông lạnh

Để bảo tồn tinh dịch trâu ở nhiệt độ -196°C với thời gian dài mà vẫn đạt hiệu quả thụ thai cao người ta có thể sử dụng một trong các môi trường sau:

Công thức 1 : Dung dịch đường lactose 11% 75%

Lòng đỏ trứng gà 20%

Glyxerin 5%

Penicilline (UI/ml môi trường) 500

Streptomycine µg/ml môi trường) 500

Ngoài ra có thể dùng các môi trường pha loãng, bảo tồn ở dạng đông lạnh của tinh dịch bò theo công thức 2 và 3 (xem phần môi trường pha loãng, bảo tồn ở dạng đông lạnh tinh dịch bò)

3.4. Môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch ngựa

Tinh dịch ngựa thường được bảo tồn ở dạng lỏng. Một số môi trường thường được sử dụng pha loãng tinh dịch ngựa, như sau:

* *Môi trường Enelt -1995* + huyết thanh ngựa chữa khử hoạt tính (20 ml) +

Glucose (5,5 g trong 100 ml nước cất)

* *Môi trường chứa lòng đỏ trứng và photphat*, gồm: KH_2PO_4 (0,2g), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (2,0g), Dextrose (10g), Nước cất 2 lần (100ml), lòng đỏ trứng (20ml)

3.5. Môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch dê

Tinh dịch dê thường được bảo tồn ở dạng lỏng. Một số môi trường thường dùng để bảo tồn tinh dịch dê, như sau:

* *Môi trường IVT*, gồm: 90 ml dung dịch đệm + 10 ml lòng đỏ trứng + 50.000 UI Penicilline + 0,50 g Streptomycine.

Cách chuẩn bị dung dịch đệm: Hòa tan 3 g glucose, 20 g Na Xitrat, 0,4 g KCl và 3 g Sulfanilamid vào trong 200 ml nước cất, lọc sạch cặn bẩn.

* *Môi trường MTI* của Viện chăn nuôi Quốc gia, gồm: Glucose, sữa bột tách bơ và các chất kháng khuẩn.

Các môi trường trên có thể bảo tồn tinh dịch dê trong thời gian từ 2-3 ngày ở nhiệt độ 40C vẫn cho khả năng thụ thai tốt.

3.6. Môi trường pha loãng tinh dịch chó

* *Môi trường sữa*

Sữa được tiệt trùng theo phương pháp Pasteur và được làm nóng từ từ tới 920C trong 10 phút, rồi làm nguội ở nhiệt độ môi trường tạo thành một dung dịch pha loãng rất tốt. Tinh dịch chó được pha loãng trong dung dịch sữa này với tỷ lệ 1/8, rồi bảo tồn ở 40C. Môi trường pha loãng này có thể bảo tồn tinh dịch trong nhiều ngày vẫn còn khả năng thụ thai.

* *Môi trường dựa trên Natri xitrat và lòng đỏ trứng*

Thành phần môi trường gồm:

Natri xitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 27%

Nước cất 2 lần 100 ml

Lòng đỏ trứng 10%

Pha loãng ở tỷ lệ 1/4.

Người ta cho thêm những kháng sinh quen thuộc vào các môi trường trên, như: penicilline và streptomycine.

3. 7. Môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch gia cầm

Tinh dịch gia cầm, thủy cầm thường được bảo tồn ở dạng lỏng. Một số công thức môi trường pha loãng thường được dùng trong sản xuất là:

* *Dung dịch nước muối sinh lý*: dùng chung cho cả gia cầm và thủy cầm, nước muối NaCl 0,85 g/100 ml nước cất.

* *Môi trường Lorenz* dùng cho gà nhà và ngan. Thành phần: Glycocol: 0,65 g; NaCl: 0,56 g; Nước cất: 100 ml

* *Môi trường Ringer*: dùng cho gà nhà, gà tây. Thành phần: NaCl: 0,68 g; KCl: 0,1733 g; CaCl_2 : 0,0642 g; MnSO_4 : 0,025 g; NaHCO_3 : 0,0245 g; nước cất: 100 ml.

* *Môi trường Tyrode*: dùng cho gà nhà và gà tây. Thành phần: Glucose|Fructose: 10g Na₂HPO₄: 0,005g; NaHCO₃: 0,1g; NaCl: 0,8g; KCl: 0,02g; CaCl₂: 0,02g; MnSO₄: 0,01g; nước cất: 100 ml.

* *Môi trường Leik*: dùng cho gà nhà, gà tây. Thành phần: K xitrat: 0,128 g; Na Axetat: 0,513 g; Na Glutamat: 1,92 g; Glucose/Fructose: 1g; MnCl₂: 0,0676 g; nước cất: 100 ml.

* *Môi trường dùng cho ngan*: Natri bicacbonat: 0,027 g; Natri xitrat: 0,03 g; Glucose: 0,058 g; Trilon B: 0,025 g; nước cất: 100 ml.

* *Môi trường dùng cho ngỗng*: Có thể dùng một trong các môi trường sau:

+ Na Glutamat: 2 g; Natri xitrat: 0,57 g; Glucose: 0,5 g; nước cất: 100 ml

+ Glucose: 2 g; NaCl: 0,6 g; KH₂PO₄: 0,1 g; NaHCO₃ 0,2 g; nước cất: 100 ml.

+ Glucose: 1 g; NaHCO₃: 0,15 g; Na Axetat: 0,8 g; Saccharose: 4 g; Axit axetic 10%: 0 15 ml; nước cất: 100 ml.

+ Natri Glutamat: 2,8 g; nước cất: 100 ml

+ Natri Glutamat: 1,67g; Na xitrat: 0,57 g; Glucose: 0,3 g; nước cất: 100 ml.

3.2. Tác dụng của các chất liệu tham gia vào môi trường

2.1. Chất cung cấp năng lượng

Các chất cung cấp năng lượng trong môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch thường là các loại đường đơn, như: glucose, fructose, trong đó glucose được sử dụng nhiều nhất. Trong môi trường, glucose có thể thẩm thấu qua màng nguyên sinh chất vào bên trong tế bào, ở đó diễn ra quá trình đường phân yếm khí để tạo ra chất cung cấp năng lượng cho tinh trùng hoạt động (ATP).

Nghiên cứu về vai trò của glucose trong môi trường, Pôiarocôp. E.F (1917) nhận thấy, glucose có tác dụng giảm tính dẫn điện của môi trường, nhờ vai trò này đã tránh cho tinh trùng không bị tụ dính thành từng đám dẫn tới mất điện tích bề mặt. Ngoài ra, glucose còn có khả năng kích thích sự hoạt động của một số chất kháng thể, do đó hạn chế sự phát sinh một số vi khuẩn và đương nhiên nó có vai trò bảo vệ tinh trùng.

Theo Nguyễn Thiện (1993), đường trong môi trường còn đóng vai trò là chất chống ôxy hoá, giữ cho kháng ngưng kết tố (antiaglutinine) của tinh dịch không bị ôxy hoá.

2.2. Chất đệm

Chất đệm thường được sử dụng trong môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch là các muối kim loại kiềm của axit hữu cơ yếu như. Natri xitrat, Natri bicarbonat, Kali tartrat.

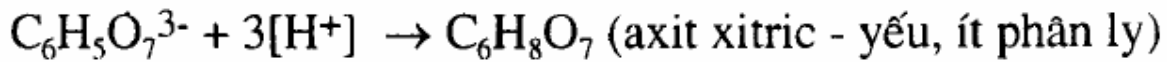
Rodin và CS (1976) đã giải thích cơ chế đệm như sau:

Axit mạnh + Muối của axit yếu → Muối của axit mạnh + axit yếu

2.2.1. Natri xitrat (Na₃C₆H₅O₇)

Natri xitrat có vai trò làm chậm quá trình trương phồng coloít của màng tinh trùng dưới tác dụng của các chuẩn đa hoá trị (Minovanop. VK 1962) và nó còn có tác dụng hạn chế tình trạng tự ngộ độc do những sản phẩm toan tính được sinh ra trong quá trình phân giải đường.

Theo Xomolopscaia.II (1965), Natri xitrat đóng vai trò duy trì năng lực đệm của môi trường pha loãng theo cơ chế:



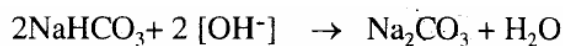
Muối thường được sử dụng rộng rãi làm chất đệm trong môi trường pha loãng tinh dịch là Natri xitrat ngậm 5 phân tử nước ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Đối Với môi trường pha loãng tinh dịch heo, Nguyễn Thiện và Nguyễn Tấn Anh (1993) nhận thấy, hỗn hợp Natri xitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) với 3,5% axit xitric làm chất đệm cho môi trường có tác dụng nâng cao năng lực đệm của môi trường, do hình thành một cặp đệm xitrat.

2.2.2. Natri bicarbonat (NaHCO_3)

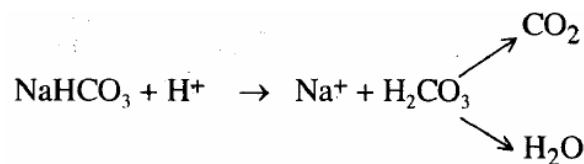
Sự Có mặt Natri bicarbonat trong môi trường tạo nên hệ đệm bicarbonat, có tác dụng hỗ trợ cho hệ đệm xitrat nhằm điều hoà phản ứng toan, kiềm xảy ra trong quá trình bảo tồn tinh dịch.

Cơ chế đệm của hệ đệm bicarbonat:

- Khi nồng độ kiềm trong môi trường tăng, kiềm sẽ tác dụng với phần axit của đôi đệm:



- Khi nồng độ axit tăng, axit sẽ tác dụng với phần kiềm của đôi đệm:



Ngoài ra, người ta có thể sử dụng các hệ đệm tự nhiên, như lòng đỏ trứng gà mà vai trò đệm chủ yếu của nó là của hệ đệm photphat và hệ đệm protein:

- Hệ đệm photphat: $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$
- Hệ đệm protein: H.Protein/Na.Protein

2.3. Chất chống choáng lạnh ("shock" nhiệt độ)

Chất chống choáng lạnh được sử dụng trong môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch là glycerin và lòng đỏ trứng. Vai trò chống choáng lạnh của lòng đỏ trứng là nhờ leucitin - một dạng photpholipit có trong lòng đỏ.

Lipit của lòng đỏ trứng có cấu tạo phức tạp. Theo Romanop.AL (1968) trong thành phần lòng đỏ trứng gà lipit chiếm tới 32,6% trong đó glyxerit chiếm 62,3%, photpholipit chiếm 32,8%, sterol chiếm 4,9%. Trong photpholipit có 8,6% là leucitin.

Phân tích thành phần trong lòng đỏ trứng đã sấy khô, Maxuda.Y, Hoài (1937) nhận thấy có tới 96% là photpholipit. . .

Khả năng chống choáng lạnh của lòng đỏ trứng do gốc glyxerin quyết định.

Glyxerin có điểm đông đặc và điểm bay hơi cách nhau khá xa so với nước Trong môi trường có chứa hợp chất của glyxerin, một phần nước trong tế bào bị thay thế bằng hợp chất này và chính gốc glyxerin có trong hợp chất ngăn cản sự đóng băng, tạo thành tinh thể trong tế bào tinh trùng và giữ cho tinh trùng sống trong quá trình bảo tồn ở nhiệt độ thấp:

Những kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thiện, Nguyễn Tấn Anh (1993) cho thấy, bổ sung 5% lòng đỏ trứng gà vào môi trường môi trường pha loãng tinh dịch heo cho kết quả bảo tồn tốt nhất và được thể hiện ở một số mặt sau:

- Áp suất của môi trường tăng 0,15 atm, sự tăng này không đáng kể và không gây ảnh hưởng xấu tới cấu trúc cũng như quá trình trao đổi chất của tinh trùng.

- pH của môi trường giảm 0,14 đơn vị do lòng đỏ trứng có chứa nhiều anion hơn chuẩn (nhiều hơn từ 2-10 lần - Milôvanôp, 1962). pH lòng đỏ trứng thường toan tính

(pH = 6,0 -6,7), nên khi cho một lượng lòng đỏ vào dung dịch muối Nam xitra vốn rất kiềm) có thể làm giảm pH môi trường xuống hơi toan tính, thích hợp cho đời sống tinh trùng trong điều kiện bảo tồn

- Tăng cường năng lực đệm của môi trường bởi vì bản thân lòng đỏ trứng chứa nhiều anion PO₄-3, đây chính là gốc để tạo nên hệ đệm photphat.

- Lòng đỏ trứng không làm thay đổi tỷ trọng của môi trường.

- Độ nhớt của môi trường tăng rõ rệt do sự có mặt của leucitin trong lòng đỏ trứng gà. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thiện và Nguyễn Tấn Anh (1993) cũng cho thấy: có thể dùng lòng đỏ trứng vịt thay cho lòng đỏ trứng gà trong môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch mà không ảnh hưởng tới kết quả bảo tồn.

Những kết quả nghiên cứu của viện sĩ Ivanop cho thấy, tỷ lệ lòng đỏ trứng gà thích hợp trong môi trường pha loãng và bảo tồn tinh dịch heo là 6%.

Người ta cũng nhận thấy, những sự thay đổi về thành phần của lòng đỏ trứng gà có thể làm hỏng môi trường pha loãng và làm kết dính tinh trùng. Hiện tượng này chủ yếu xảy ra khi sử dụng trứng gà nuôi với khẩu phần thiếu caroten (Jahrel). Do vậy, tốt nhất là sử dụng những quả trứng còn tươi.

2.4. Chất chống vi khuẩn

Tinh dịch gia súc khi ra khỏi cơ thể là môi trường thích hợp cho nhiều loại vi khuẩn xâm nhập và phát triển. Các vi khuẩn trong quá trình hoạt động bài tiết ra độc tố gây chết tinh

trùng và một số loài vi sinh vật còn sử dụng tinh trùng làm thức ăn. Sử dụng tinh dịch đã nhiễm khuẩn để dẫn tinh còn có thể gây viêm nhiễm đường sinh dục của gia súc cái.

Để hạn chế tác hại của vi khuẩn, ngoài việc thực hiện nghiêm ngặt các qui định về vệ sinh thú y đối với đực gì (vệ sinh trong khai thác, phát hiện điều trị bệnh cho đực giống...), người ta đã sử dụng một số chất kháng khuẩn để bổ sung vào môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch. Các chất kháng khuẩn thường được sử dụng là: penicilline, streptomycine, tetracycline, sulfamide...

2.4.1. Nhóm penicilline

Penicilline có tác dụng ức chế sự tổng hợp các mucoprotein của vỏ tế bào vi khuẩn. Vi khuẩn, trong quá trình sinh trưởng sẽ lớn lên về kích thước, vỏ tế bào mỏng ra ở một số điểm để chuẩn bị cho sự phân chia tế bào. Tại các điểm cực đó, penicilline sẽ phong bế enzym chuyển hóa peptit và làm cho vỏ tế bào vi khuẩn không được bổ sung và cấu trúc bị thiếu sót. Trong khi đó, thể tích nguyên sinh chất ở bên trong vẫn tăng lên gây ra áp lực ngày càng cao ở bên trong màng tế bào (vì quá trình sinh tổng hợp protein của vi khuẩn bên trong màng không bị penicilline ức chế), do đó vỏ tế bào vi khuẩn bị dung giải một phần sẽ vỡ tung ra (dưới áp lực bên trong), tế bào vi khuẩn bị dung giải và vi khuẩn bị hủy diệt.

Penicilline có tác dụng đối với các vi khuẩn Gram+, vì trong cấu trúc của vỏ vi khuẩn Gram+ có tới 60% là mucoprotein, trong khi đó, các vi khuẩn Gram chỉ có 10% mucoprotein trong vỏ tế bào nên không miễn cảm với penicilline.

2.4.2. Nhóm streptomycine

Streptomycine làm tổn hại tới các ARN thông tin làm cho nó chọn nhầm axit quan trọng trong quá trình sinh tổng hợp thoát. Quá trình này tạo ra một đa peptit không đặc hiệu, vô nghĩa và do đó trực tiếp hay gián tiếp giết chết vi khuẩn. Nhóm streptomycine có vai trò gián tiếp trong việc tiêu diệt vi khuẩn và người ta thấy rằng nó có tác dụng chủ yếu đối với các vi khuẩn Gram-.

2.4.3. Tetracycline

Tetracycline có tác dụng cản trở các axit quan trọng đến được ribosome. Vì ở ribosome không có sẵn axit quan trọng, nên quá trình sinh tổng hợp protein của vi khuẩn không thực hiện được và như vậy, cơ thể vi khuẩn mới không được hình thành.

Tetracycline có phổ kháng khuẩn rộng, nó có tác dụng đối với tất cả các vi khuẩn Gram+ và Gram-. Các dạng thường gặp của nhóm này là: Chlortetracycline, oxytetracycline..

Qua thực tế nghiên cứu vai trò của các chất kháng khuẩn trong môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch, các tác giả Nguyễn Thiện, Nguyễn Tấn Anh (1993) đã nhận thấy, tetracycline có nhiều ưu điểm hơn so với các chất kháng khuẩn khác trong cơ chế diệt khuẩn, thể hiện ở một số mặt: Phổ kháng khuẩn rộng, ít độc tính và ổn định hoạt tính trong môi trường... Cũng theo kết quả nghiên cứu của các tác giả trên thì mức bổ sung tetracycline vào môi trường để cho kết quả bảo tồn tốt nhất là 0,05g/1000ml môi trường. Ngoài ra, một ưu thế nữa của nhóm này là dễ tìm, dễ bảo quản đồng thời giá cả lại không cao, vì thế chúng được sử dụng rộng rãi trong thực tế sản xuất.

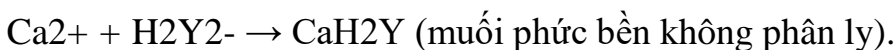
2.5. Chất rửa sạch môi trường (Trilon B)

Trong tinh dịch có các con kim loại nặng đa hoá trị như: Ca^{2+} , Fe^{2+} , Al^{3+} ... gây độc cho tinh trùng trong quá trình bảo tồn. Chính vì vậy, cần phải bổ sung vào trong môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch những chất làm sạch môi trường. Chất làm sạch môi trường là những chất có khả năng liên kết các Ion kim loại đa hóa trị có trong tinh dịch tạo thành phức vô hại đối với tinh trùng, Trilon B là một chất có khả năng đó Trilon B còn gọi là muối natrium diamino ethane tetra axetat, nó còn có một số tên gọi khác như: EDTA, xelecton B2, selaplex, complexion III.

Công thức phân tử của Trilon B:

Công thức rút gọn: $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$, khối lượng phân tử: 372,24.

Cơ chế rửa sạch môi trường:



Ngoài ra khi bổ sung vào môi trường, Trilon B còn có tác dụng:

- Kìm hãm hoạt động của vi khuẩn và một số enzym có hại cho tinh trùng như desoxyribonuclease.
- Hạn chế sự trao đổi chất của tinh trùng trong tinh dịch, đặc biệt quá trình phân giải đường.
- Duy trì hàm lượng ATP và ADP ở mức cao, duy trì trạng thái tiềm sinh của tinh trùng, nhờ đó có vai trò bảo vệ thể acrosome của tinh trùng không bị phá huỷ. Nguyễn Thiện và Nguyễn Tấn Anh (1993) nhận thấy, hàm lượng Trilon B thích hợp trong môi trường pha loãng và bảo tồn tinh dịch heo là 1,85g/1000ml môi trường.

3.3. Kỹ thuật pha chế môi trường

3.4. Kỹ thuật pha loãng tinh dịch

3.4.1. Mục đích pha loãng tinh dịch

- Tinh dịch trước khi đem loãng chế phải được kiểm tra và đạt yêu cầu kỹ thuật về các chỉ tiêu: A, R, C, K, mùi, màu sắc...
- Thời gian tiến hành kiểm tra càng sớm càng tốt, nên kiểm tra ngay sau khi lấy được tinh
- Các hoá chất sử dụng để pha chế môi trường phải tinh khiết, cân đo, đong, đếm chính xác.
- Các thao tác trong quá trình pha loãng phải nhẹ nhàng, chính xác, đảm bảo quy trình kỹ thuật cũng như vệ sinh thú y. Chỉ được rót môi trường vào tinh dịch, tuyệt đối không làm ngược lại. Khi rót phải rót từ từ để cho môi trường chảy theo thành bình, không được rót mạnh.

Ngay sau khi pha loãng, phải tiến hành kiểm tra lại các yêu cầu kỹ thuật của tinh dịch đặc biệt là hoạt lực tinh trùng (A) và phẩm chất thể acrosome.

3.4.2. Kỹ thuật pha loãng

- Môi trường pha loãng cần chuẩn bị ít nhất 60 phút trước khi sử dụng. Khoảng thời gian này là cần thiết để ổn định độ pH và áp lực thẩm thấu của môi trường.

- Nếu khai thác tinh dịch bằng tay chỉ hứng phần đậm đặc và pha loãng ngay sau khi lấy tinh từ 10 - 15 phút, vì hiện tượng giảm tốc độ hoạt động của tinh trùng chứa nhiều tinh thanh lớn hơn nhiều so với tinh trùng chứa ít tinh thanh.

- Thao tác pha loãng phải nhẹ nhàng, từ từ để giảm hiện tượng "choáng" ban đầu của tinh trùng. Nguyên tắc pha là rót từ từ môi trường vào tinh dịch theo thành bình, không làm ngược lại. Để tránh hiện tượng choáng của tinh trùng nên áp dụng quy trình pha loãng theo 2 giai đoạn:

+ Giai đoạn 1 : dùng lượng môi trường pha loãng bằng với lượng tinh dịch nguyên, từ từ rót môi trường vào tinh dịch theo thành bình, để hỗn hợp này cân bằng trong vòng 5 - 10 phút.

+ Giai đoạn 2: Sau khi pha loãng đợt 1 được 5 - 10 phút, rót nốt lượng môi trường còn lại vào tinh dịch theo nguyên tắc trên. Sau khi đã pha loãng xong có thể san qua san lại 1-2 lần sang bình thứ 2 để tinh dịch được hỗn hợp đều với môi trường. Sau đó tiến hành kiểm tra lại hoạt lực của tinh trùng trước khi phân liều.

Phân liều tinh dịch: dụng cụ đựng tinh để phân liều có nhiều loại: lọ thủy tinh đục hoặc màu, lọ nhựa trung tính có nút xoáy, túi nhựa dày có vòi đập... Khi phân liều cũng phải rót tinh dịch từ từ theo thành lọ hoặc túi. Nên rót đầy đến nắp, tránh tạo ra các bọt khí trong liều tinh. Nút đập liều tinh yêu cầu phải chặt. Sau khi nút chặt cần nhỏ pHraphin quanh nút cho tinh dịch không dò rỉ ra được. Không dùng nút bắc đập lọ đựng tinh dịch.

Thể tích một liều tinh tùy theo số lượng tinh dịch cần thiết cho 1 lần thụ thai của heo nái. Cụ thể là: Nái ngoại: 90-100 ml/liều; Nái lai (ngoại x nội): 50-60 ml/liều; Nái nội: 30-50 ml/liều. Đồng thời phải đảm bảo số lượng tinh trùng tiến thẳng trong một liều phối, như sau: Đối với heo cái nội, một liều phối phải có từ 0,5- 1 tỷ tinh trùng, heo cái lai (ngoại x nội) phải có 1- 1,5 tỷ, heo cái ngoại phải có từ 1,5-2 tỷ tinh trùng.

Mỗi liều tinh cần dán nhãn ghi rõ ràng, cụ thể: giống heo, số hiệu con đực, ngày khai thác, người khai thác, thời hạn sử dụng, các chỉ tiêu kỹ thuật khác: A, C, R, K...

4.3. Bội số pha loãng

Để nâng cao sức sản xuất của đực giống, trong thụ tinh nhân tạo, người ta phải pha loãng tinh dịch. Căn cứ xác định bội số pha loãng là số lượng và phẩm chất tinh dịch (chủ yếu dựa vào các chỉ tiêu V, A, C).

4.3.1. Đối với heo

Bội số pha loãng được xác định bằng công thức:

$$B = \frac{A.C.L}{m} - 1$$

Trong đó:

B: bội số pha loãng

A: hoạt lực tinh trùng.

C: nồng độ tinh trùng (tỷ/ml)

L: thể tích một liều dẫn tinh (ml)

m: tổng số tinh trùng tiến thẳng trong một liều dẫn tinh (tỷ)

$$=0.7*0.25*$$

Sau khi tính toán được bội số pha loãng, chúng ta có thể tính được lượng môi trường cần thiết sử dụng để pha loãng tinh dịch, như sau:

$$M = B.V = \left(\frac{A.C.L}{m} - 1 \right).V$$

Trong đó :

M: thể tích môi trường cần dùng (ml)

B: bội số pha loãng

V: lượng tinh một lần xuất tinh (một lần khai thác được) (ml)

Ví dụ: Cho số liệu thu được sau khi khai thác tinh dịch ở một đực giống:

$$V = 250\text{ml}, A = 0,7, C = 0,25. 10^9, m = 0,6. 10^9, L = 30\text{ml}$$

áp dụng công thức tính ta có:

4.3.2. Đối với trâu, bò

Căn cứ xác định tỷ lệ pha loãng được dựa trên:

- Yêu cầu số lượng tinh trùng cần thiết cho 1 lần thụ thai: theo lý thuyết kết hợp với kết quả thực nghiệm thụ tinh nhân tạo cho trâu, bò. Ở Việt Nam, yêu cầu số tinh trùng tiến thẳng cho 1 lần thụ thai cần tối thiểu 20-25 triệu tinh trùng/ml.

- Phẩm chất tinh nguyên với chỉ tiêu quan trọng như nồng độ tinh trùng tối thiểu phải đạt 500 triệu/ml và hoạt lực A từ 0,7 trở lên.

- Thể tích một liều phối đối với tinh dịch bảo tồn ở dạng lỏng là 5 ml. Đối với tinh dịch bảo tồn . Ở dạng đông lạnh thì tùy theo thể tích của cọng rạ

- Nhu cầu phục vụ do Trung tâm hoặc Trạm thụ tinh nhân tạo đảm nhiệm, như: số lượng trâu, bò cái cần phối giống, mùa vụ phối giống trong năm...

Ví dụ: Tinh dịch nguyên của 1 trâu, bò đực giống có nồng độ tinh trùng 500 triệu/ml và hoạt lực là 0,8 thì mức pha loãng tối thiểu là 1 :9 và tối đa là 1 :25

4.3.3. Đối với ngựa

Tinh dịch ngựa trước khi đem pha loãng phải đạt được một số chỉ tiêu tối thiểu sau: màu trắng xám, nồng độ tinh trùng 150 triệu/ml, hoạt lực $A \geq 0,5$, độ pH: 7 - 7,6. Mức pha loãng tối thiểu là 1 : 1 và tối đa là 1 : 3.

4.3.4. Đối với dê, cừu

Các chỉ tiêu tối thiểu cần đạt trước khi pha loãng tinh dịch dê, cừu là: màu trắng sữa; nồng độ từ 2 tỷ/ml trở lên; hoạt lực đạt 0,8. Mức pha loãng tối thiểu là 1 : 1 và tối đa là 1:3.

4.3.5. Đối với gia, thủy cầm

Nếu màu sắc của tinh dịch bình thường và chỉ số VAC của. tinh dịch đái: 1 -2 tỷ (gà nhà); 0,2-0,5 tỷ (gà tây); 0,01-0,02 tỷ (ngỗng); 1-3 tỷ (ngan ngoại); 0,5-1,2 tỷ (ngan nội) và 1 -2 tỷ (vịt) thì tỷ lệ pha loãng có thể từ 1 : 1 đến 1 : 5

3.5. Bảo quản tinh dịch

3.5.1. Bảo quản ở nhiệt độ 0 – 5 °C

5.2.1. Bảo tồn ở dạng lỏng bằng nhiệt độ thấp

Nguyên lý của phương pháp này là dùng nhiệt độ thấp nhưng chưa tới mức làm cho tinh dịch đông lạnh để hạn chế hoạt động của tinh trùng.

Đối với tinh dịch heo , nhiệt độ bảo tồn thích hợp từ 10- 15°C. Ở nhiệt độ dưới 1 °C và trên 20°C kết quả bảo tồn kém . Trong trường hợp pha loãng tinh dịch để sử dụng ngay thì có thể bảo tồn ở nhiệt độ bình thường từ 20-25°C (có thể không cần bổ sung lòng đỏ trứng).

Đối với tinh dịch trâu bò, nhiệt độ bảo tồn thấp hơn so với tinh dịch heo. Nhiệt độ thích hợp nhất là từ 0 - 5°C và thông thường người ta bảo tồn trong phích lạnh.

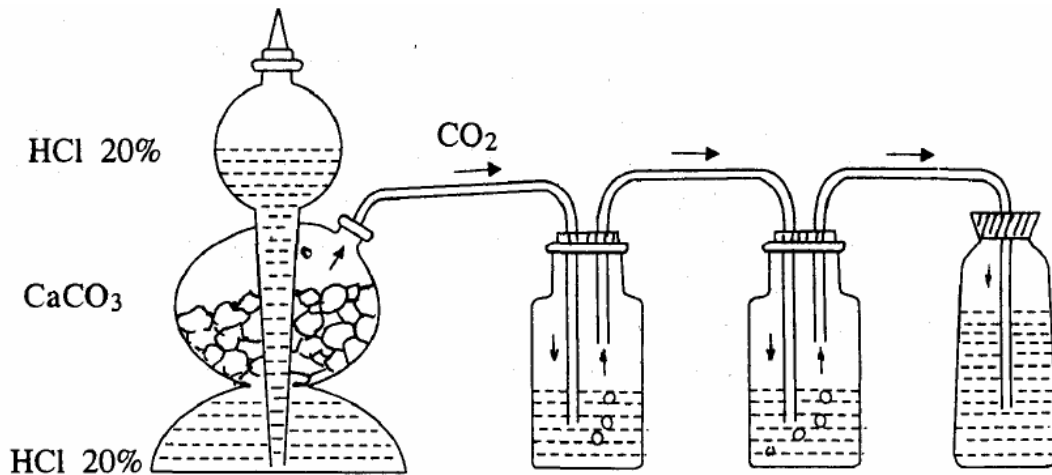
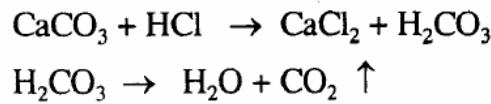
3.5.2. Bảo quản ở nhiệt độ 10 – 20 °C

Phương pháp này được áp dụng trong phòng có máy điều hòa nhiệt độ duy trì nhiệt độ ổn định từ 20-22°C. Chỉ cần đặt lọ tinh vào nơi không có ánh nắng và tia cực tím. Hàng ngày đảo nhẹ lọ tinh từ 1-2 lần.

Nguyên lý của phương pháp này là sử dụng hoá chất để ức chế hoạt động trao đổi chất của tinh trùng. Một trong các phương pháp đó là: sử dụng khí CO₂ để ức chế hoạt động của tinh trùng. Phương pháp dựa trên việc cho khí CO₂ lội vào trong môi trường pha loãng tinh dịch đến khi bão hoà, sau đó tiến hành pha loãng và bảo tồn tinh dịch.

Phương pháp này có thể cho phép bảo tồn tinh dịch ở nhiệt độ bình thường từ 20-22°C.

* *Cách tiến hành:* Sử dụng hệ thống bình sinh khí CO₂ thường là hệ thống bình Kijp (như hình vẽ). Đáy của bình Kijp chứa axit clohydric 20%, phần bầu ở giữa bình chứa phân trắng hoặc đá vôi (CaCO₃). Trong bình sẽ xảy ra phản ứng hoá học:



Sơ đồ hệ thống bình Kiip

Khí CO₂ sinh ra được dẫn qua bình thứ nhất chứa dung dịch NaOH 15% (để trung hoà axit bay theo khí CO₂) sau đó, khí CO₂ tiếp tục được dẫn qua bình thứ hai chứa dung dịch KMnO₄ 3% với mục đích làm sạch khí CO₂. Cho khí CO₂ sục vào bình chứa môi trường cho đến khi bão hoà trước khi pha loãng tinh dịch (chú ý không nên cho kháng sinh, lòng đỏ trứng trước khi làm bão hoà môi trường bằng khí CO₂). Thời gian cần thiết để làm bão hoà khí CO₂ Phụ thuộc lượng môi trường nhiều hay ít.

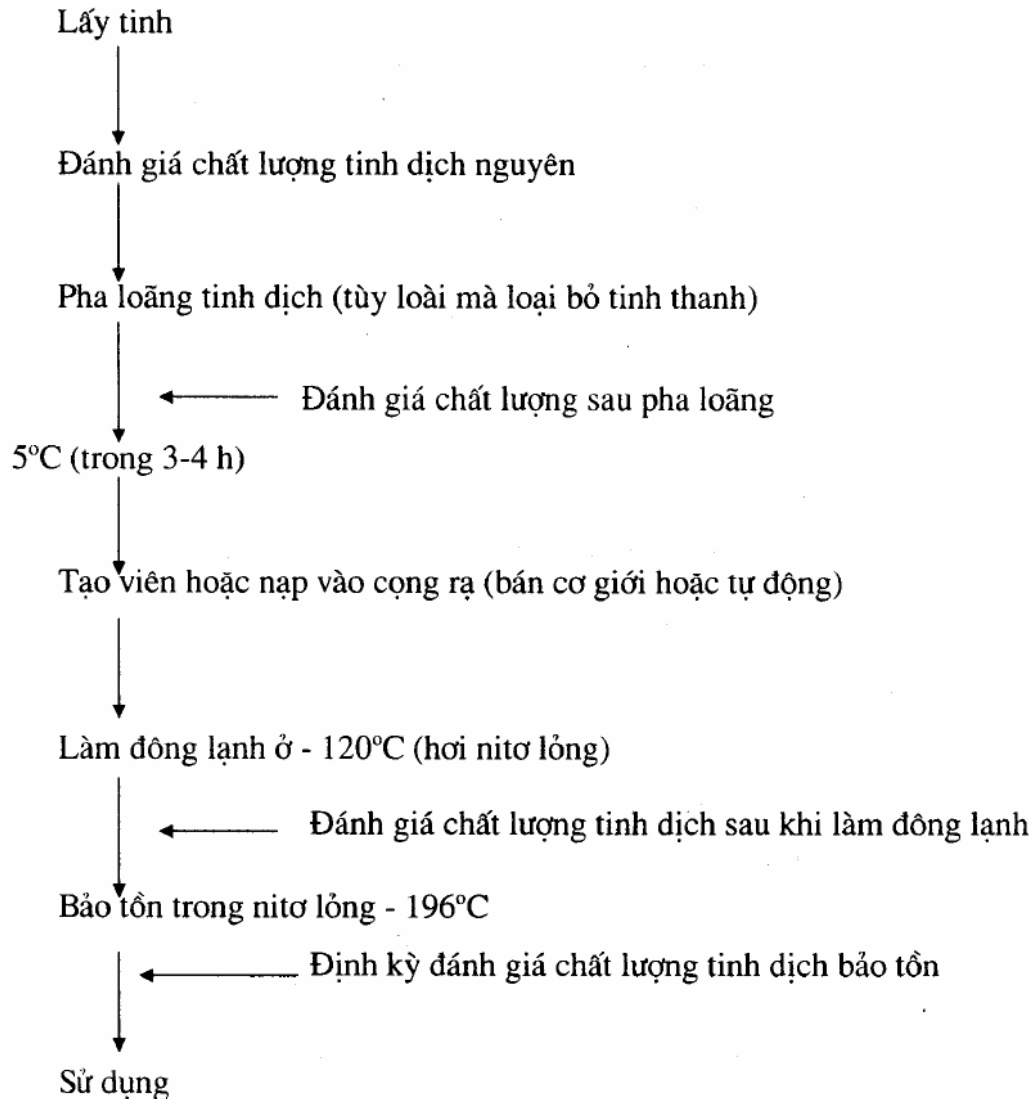
Thông thường, cứ 500ml môi trường người ta cho khí CO₂ sục vào trong khoảng thời gian từ 5 - 8 phút là đạt yêu cầu.

Quá trình bão hoà bằng khí CO₂ thường làm cho pH môi trường giảm đi, khi pH môi trường giảm xuống còn 6,4-6,5 thì dừng quá trình bão hoà lại, sau đó cho kháng sinh, lòng đỏ trứng vào và tiến hành pha loãng ngay với tinh dịch.

Chú ý: Tinh dịch sau khi được pha loãng trong môi trường bão hoà khí CO₂ đem đóng vào các lọ có nút kín hoặc trong các chai thủy tinh gắn kín miệng để khí CO₂ không thoát được ra ngoài.

3.5.3. Bảo quản ở nhiệt độ – 196 °C

Nguyên lý của phương pháp này là dùng nhiệt độ rất thấp đến mức làm cho tinh dịch bị đóng băng để bảo tồn. Ở nhiệt độ rất thấp, quá trình trao đổi chất của tinh trùng bị ức chế gần như hoàn toàn, tinh trùng sống ở trạng thái tiềm sinh.



3.6. Vận chuyển và phân phối tinh

Trong công tác thụ tinh nhân tạo, người ta vận chuyển, đưa tinh dịch của gia súc từ nơi này đến nơi khác. Khoảng cách vận chuyển có thể gần, xa khác nhau, song yêu cầu đặt ra là tinh dịch phải còn khả năng thụ thai. Để đảm bảo được yêu cầu trên, trong khi vận chuyển, tinh dịch phải được bảo quản trong điều kiện nhiệt độ không đổi, giống như khi đang bảo tồn tại cơ sở khai thác, tránh sóc lắc, đổ vỡ, ướt nhãn, nhầm lẫn liều tinh. Thông thường, tinh dịch được đựng và chèn chặt trong một số dụng cụ chuyên dùng, như: phích lạnh, hộp xốp, bình như lỏng ...

** Một số dụng cụ sử dụng để vận chuyển tinh dịch*

- Phích đá hay hộp xốp: cho đá vào trong phích lạnh hay hộp xốp, xếp các lọ tinh lên trên lớp đá. Tinh dịch được bảo quản trong khi vận chuyển ở nhiệt độ 10- 15°C.

Chú ý: không được để các lọ tinh dịch tiếp xúc trực tiếp với đá lạnh, nên sử dụng một vài lớp vải sạch phủ lên trên bề mặt lớp đá rồi mới xếp tinh dịch vào.

- Dùng axit axetic đóng băng cho vào phích lạnh để bảo tồn tinh dịch trong khi vận chuyển. Axit axetic tan chảy ở nhiệt độ toạc nên giữ được ôn độ cho tinh dịch luôn ở 10- 10C trong khi vận chuyển .
- Sử dụng bình chứa như lỏng để vận chuyển tinh dịch. Đây là phương pháp tốt nhất để ổn định nhiệt độ môi trường trong quá trình vận chuyển. Tuy nhiên, cần chú ý kiểm tra và giữ cho các liều tinh luôn luôn ngập trong nảo lỏng.
- Ở những nơi không có nước đá, có thể dùng NH_4Cl Và nước lã cho vào phích lạnh. Quá trình hoà tan của NH_4Cl trong nước sẽ thu nhiệt làm cho nhiệt độ môi trường hạ thấp xuống ở nhiệt độ 15-20oC. Phương pháp này có thể cho phép vận chuyển tinh dịch trong thời gian từ 6-8 h ở thời tiết mùa hè. Hoặc kẹp tinh dịch vào giữa các lớp của bẹ chuối tươi để giữ nhiệt độ thấp khi vận chuyển.

Bài 4: Gieo tinh nhân tạo cho trâu bò, heo, gia cầm

4.1. Kỹ thuật gieo tinh nhân tạo cho trâu bò

2.2.1. Đặc điểm chu kỳ động dục của bò cái

Chu kỳ động dục của bò cái trung bình 21 ngày, dao động trong khoảng từ 17-24 ngày. Thời gian động dục 30 giờ, dao động trong khoảng từ 18-36 giờ. Thời gian chịu đực trung bình 15 giờ sau động dục, dao động trong khoảng 12- 18 giờ. Thời gian rụng trứng trung bình từ 12-14 giờ sau khi kết thúc chịu đực, dao động từ 6- 18 giờ sau khi kết thúc chịu đực. Tuy nhiên, các đặc điểm về chu kỳ động dục của bò cái cũng phụ thuộc vào các yếu tố chăm sóc, nuôi dưỡng, phẩm giống, lứa đẻ và các yếu tố ngoại cảnh khác.

2.2.2. Biểu hiện động dục ở bò cái

Để phát hiện bò cái động dục người ta căn cứ vào các triệu chứng lâm sàng được biểu hiện ra bên ngoài và các biến đổi bên trong cơ quan sinh dục của bò cái.

2.2.3. Thời điểm động dục ở bò cái

Có tới 68% số bò cái xuất hiện động dục vào ban đêm, từ 18 giờ ngày hôm trước đến 6 giờ sáng ngày hôm sau. Đặc biệt có tới 43% số bò cái xuất hiện động dục vào nửa đêm tới sáng sớm. Do đó, để phát hiện được bò cái động dục người ta phải tăng tần số quan sát đàn bò, kể cả sau khi bò đã về chuồng nghỉ ngơi qua đêm. Tỷ lệ bò động dục được phát hiện trong đàn phụ thuộc vào tinh thần trách nhiệm của người theo dõi và tần số theo dõi trong ngày.

* *Phương pháp lâm sàng*: Tiến hành theo dõi, quan sát đàn bò nhiều lần trong ngày. Căn cứ vào các biểu hiện toàn thân và cục bộ của cơ quan sinh dục, kết hợp với kiểm tra niêm dịch và theo dõi qua sổ sách để xác định chính xác bò cái có động dục thật sự hay không và xác định thời điểm phối giống thích hợp. Ở thời điểm chịu đực, bò cái có biểu hiện thích gần con đực hoặc con khác, cho con khác nhảy lên lưng, có biểu hiện mê ì, sẵn sàng cho giao phối; âm hộ bết sũng, hơi thâm, se, có vết nhăn nhỏ, dính cỏ, rác; niêm dịch đặc, keo dính, màu nửa đục nửa trong và có thể kéo dài tới 7- 10 cái; khi phiết kính niêm dịch soi lên ánh nắng mặt trời thấy có hình cây dương xỉ.

Thời điểm này thường nằm trong khoảng thời gian từ 18- 19 giờ sau động dục, nghĩa là sau 2/3 thời gian động dục.

* *Phương pháp dùng đực thí tình*

Phương pháp này thường áp dụng cho các cơ sở chăn nuôi tập trung. Trong điều kiện chăn nuôi nông hộ, quy mô nhỏ thì phương pháp này không kinh tế. Có thể thả đực thí tình tự do trong đàn hoặc một ngày thả đực hai lần. Đực thí tình có vai trò phát hiện và nhanh chóng và chính xác kể cả những bò cái động dục thềm lặng. Tuy nhiên, phương pháp này cũng có nhược điểm là bò đực thí tình không phát hiện hết được tất cả các bò cái động dục trong cùng ngày, ngoài ra, một số bò đực thí tình chỉ bám theo một số con cái nhất định mà bỏ qua những con khác.

* *Phương pháp dùng dùng đực thí tình kết hợp với chất chỉ thị màu*

Một số cơ sở chăn nuôi tập trung với số lượng gia súc lớn, người ta có thể phát hiện bò động dục bằng cách gắn vào vùng xương sống đuôi những bò cái chưa có chửa một túi chỉ thị. Túi chỉ thị là một túi làm bằng polyetylen mỏng, dễ vỡ, bên trong có chứa khoảng 50 - 100 ml

chất chỉ thị màu đỏ hoặc màu xanh. Khi phát hiện bò cái động dục, bò đực thí tình nhảy lên lưng, đê vỡ túi làm cho phần mông con vật có màu của chất chỉ thị, giúp dẫn tinh viên dễ dàng phát hiện những con động dục. Nhược điểm của phương pháp này là nhiều khi thiếu chính xác vì túi chỉ thị có thể vỡ ra do những va chạm khác.

* *Phương pháp kiểm tra buồng trứng qua trực tràng:* Kỹ thuật viên có thể dùng tay đưa qua trực tràng khám bộ phận sinh dục và buồng trứng của bò cái, xác định bò cái có động dục thật không. Nếu tử cung to hơn bình thường, sừng tử cung cong và cứng hơn bình thường, cổ tử cung mở, có niêm dịch chảy ra, buồng trứng có nang trứng phát triển. Căn cứ vào mức độ căng của noãn bao, hoặc vết lõm trên buồng trứng mà người ta xác định thời điểm dẫn tinh thích hợp

2.2.5. Kỹ thuật dẫn tinh cho bò

* *Các khâu chuẩn bị trước khi dẫn tinh*

Để dẫn tinh được thuận lợi, công việc đầu tiên là cố định chắc chắn con vật trong giá dẫn tinh. Đối với một số bò cái đã dẫn tinh nhiều lần hoặc với những con bò hiền lành, hoặc với những con dẫn tinh viên đã quen biết thì có thể cố định bằng cách thít một vòng dây thừng qua hông và bụng của con vật. Đối với bò tơ thì cách này không có hiệu quả. Việc cố định bò vào giông không những bảo đảm an toàn cho dẫn tinh viên và con vật mà còn làm cho quá trình dẫn tinh được thuận lợi hơn. Giông dẫn tinh nên đặt nơi sạch sẽ, rộng rãi, tốt nhất là nên có mái che mưa nắng.

Những dụng cụ cần thiết trong khi dẫn tinh như bình đựng tinh, găng tay, súng bắn tinh, kéo, bình đựng nước nâng nhiệt độ, giấy vệ sinh đều được để ở vị trí thuận lợi cho việc sử dụng, bảo đảm an toàn và tránh sự chiếu sáng trực tiếp của ánh sáng mặt trời.

Chuẩn bị dẫn tinh quản hoặc súng bắn tinh: Nếu là tinh đông lạnh dạng viên thì trước khi giải đông bằng nước sinh lý, nên nắm lọ đựng dung dịch này chừng 15-20 giây trong lòng bàn tay (trước khi đưa tinh dịch vào dẫn tinh quản). Nếu là tinh đông lạnh dạng cọng rạ thì nên ngâm cọng tinh vào nước ấm 34-35°C trong vòng 30 giây.

Trong trường hợp không có nước nóng có thể xoa cọng tinh trong lòng bàn tay khoảng 15-20 giây trước khi lắp cọng rạ vào súng bắn tinh. Khi lấy cọng tinh ra khỏi bình như không được nâng cọng đựng tinh quá khỏi miệng bình và quá trình thao tác không quá 7 giây. Khi đặt cọng rạ vào bình nước để nâng nhiệt độ cần lưu ý để đầu kẹp của cọng rạ lên trên mực nước khoảng 1cm để đề phòng khi đầu kẹp hở, nước có thể tràn vào cọng rạ. Dùng tranh kẹp hoặc tay lấy cọng tinh ra và dùng giấy vệ sinh lau khô cọng tinh. Sau khi lau khô lắp cọng tinh vào súng bắn tinh. Công việc này được tiến hành như sau:

Tay trái dẫn tinh viên cầm súng bắn tinh theo tư thế thẳng đứng. Điều chỉnh sao cho piston của súng cách đầu trên của súng một vài centimet. Tay phải cầm đầu kẹp của cọng tinh từ từ đưa cọng tinh vào ruột piston theo tư thế thẳng đứng. Khi cọng tinh nằm gần hết trong ruột piston thì dùng kéo cắt đầu kẹp cọng tinh tới hết phần chứa không khí. Khi cắt nên lưu ý cắt đúng tiết diện của cọng tinh chứ không cắt vát. Tiếp theo là lắp vỏ nhựa của súng dẫn tinh và cuối cùng là khoá lại.

* *Thao tác dẫn tinh cho bò*

Hiện nay, có 2 phương pháp dẫn tinh cho bò là: Phương pháp dùng mỏ vịt bọc lộ cổ tử cung và phương pháp cố định cổ tử cung qua trực tràng (phương pháp trực tràng tử cung)

+ Phương pháp dùng mỏ vịt bọc lộ cổ tử cung (áp dụng với tinh dịch bảo tồn ở dạng lỏng):

Người dẫn tinh dùng mỏ vịt đưa qua âm đạo để bộc lộ cổ tử cung, dùng đèn soi để kiểm tra độ mở của cửa tử cung. Nếu cổ tử cung đã mở hoàn toàn, người ta đưa dẫn tinh qua mỏ vịt vào sâu trong cổ tử cung và bơm tinh.

+ Phương pháp cố định tử cung qua trực tràng (phương pháp trực tràng- tử cung): (áp dụng với tinh đông lạnh)

Người dẫn tinh dùng bàn tay đã đeo găng ngon (hoặc cao su mỏng) đã được bôi trơn bằng nước xà phòng hoặc vazơlin từ từ đưa vào trực tràng, móc hoặc kích thích cho bò thải hết phân ra. Sau đó vệ sinh phần ngoài cơ quan sinh dục bằng nước muối hoặc nước xà phòng. Dẫn tinh viên đứng ở tư thế chân trái bước lên, hai vai thẳng với đường cột sống bò, dùng một tay (thông thường là tay trái) đã nằm trong trực tràng cố định cổ tử cung qua trực tràng. Tay kia từ từ đưa dẫn tinh quản hoặc súng bắn tinh vào âm đạo qua âm hộ, chéch lên trên một hướng 30o so với phương nằm ngang. Dùng ngón tay cắt qua trực tràng xác định lỗ cổ tử cung, kết hợp với tay phải hướng đầu súng bắn tinh vào lỗ cổ tử cung. Khi đầu súng bắn tinh đã nằm trong lỗ cổ tử cung thì lắc nhẹ lỗ cổ tử cung về bốn hướng. Lỗ cổ tử cung có nhiều nấc nên mỗi lần đầu súng bắn tinh đi qua một nấc ta có cảm giác thấy một tiếng “sật”. Trong khi lắc có thể dùng ngón tay trở của bàn tay nằm trong trực tràng để kiểm tra đầu cuối cổ tử cung xem đầu súng bắn tinh đã qua hết cổ tử cung hay chưa

Về vị trí bơm tinh, người ta thường đưa dẫn tinh quản đến tận góc sừng tử cung và bơm hết lượng tinh vào đó. Để xác định đầu súng bắn tinh đã đi đến góc sừng tử cung chưa, người ta đặt ngón tay trở của tay nằm trong trực tràng ở điểm giao nhau giữa góc 2 sừng tử cung và thân tử cung. Khi đầu súng bắn tinh chạm vào đầu ngón tay trở nằm trong trực tràng, tại vị trí đó tiến hành bơm tinh. Thời gian thao tác dẫn tinh không quá 15 phút kể từ khi giải đông đến khi kết thúc.

Để đảm bảo kết quả thụ thai cao, nên tiến hành phối kếp, lần sau cách lần trước 10 - 12 giờ

4.2. Kỹ thuật gieo tinh nhân tạo heo

2.1.1. Đặc điểm chu kỳ động dục của lợn cái

Chu kỳ động dục của lợn cái trung bình là 21 ngày, dao động từ 19-22 ngày tùy theo giống, tuổi và cá thể. Thời gian động dục trung bình là 3-4 ngày (đối với lợn nội), 4-5 ngày (đối với lợn ngoại và lợn lai), 1-2 ngày (đối với lợn nái hậu bị).

Thời gian động dục cũng như chịu đực nhìn chung càng dài khi con vật động dục càng sớm sau cai sữa.

2.1.2. Biểu hiện động dục và cách phát hiện

Biểu hiện động dục ở lợn cái thể hiện rất rõ: Giai đoạn đầu lợn kêu rít, phá chuồng, thích nhảy lên lưng con khác nhưng không cho con khác nhảy lên lưng mình.

Nếu người sờ mó vào lợn, nó sẽ né tránh hoặc bỏ chạy. Cuối giai đoạn, các biểu hiện hưng phấn giảm dần. Ở cuối ngày thứ hai sang đầu ngày thứ ba, lợn cái thường không chạy nhảy nữa, đứng hoặc nằm một chỗ, mắt có vệt quầng thâm, dáng mệt mỏi, buồn bã.

Biểu hiện cục bộ ở cơ quan sinh dục: âm hộ sưng huyết, sưng to và mọng đỏ, sau chuyển dần sang bợt sưng, se, hơi thâm và có các vết nhăn mờ. Dịch chảy từ âm hộ giảm, hơi đặc và keo dính (âm hộ lợn cái thường thấy dính rơm, cỏ rác).

2.1.3. Cách xác định thời điểm phối giống thích hợp

Người ta có nhiều phương pháp xác định thời điểm phối giống thích hợp cho lợn cái Các phương pháp thường được dùng nhiều trong sản xuất là: phương pháp quan sát triệu trứng lâm sàng, dùng đực thí tình, dùng feromon và dùng âm thanh. Sau đây, chúng tôi xin giới thiệu

phương pháp quan sát triệu trứng lâm sàng - phương pháp dùng phổ biến trong chăn nuôi lợn ở Việt Nam

- *Giai đoạn trước chịu đực*: lợn nái thường có biểu hiện bị kích thích, hay đi lại, kêu rít, muốn nhảy chuồng ra ngoài. Kém ăn hoặc bỏ ăn. Gặp lợn khác thích nhảy lên bao ôm, nhưng không chịu cho con khác nhảy lên (kể cả lợn đực). Nếu người sờ mó thì nó có phản xạ tránh né hoặc bỏ chạy.

Âm hộ sưng mọng, đỏ hồng, có nước nhờn chảy ra ngoài âm hộ nhưng còn lỏng, trong suốt, độ keo dính kém. Nếu lấy một ít nước nhờn này đặt vào giữa 2 đầu ngón tay để kéo dài ra thì dễ đứt, không kéo thành sợi được.

- *Giai đoạn chịu đực*: lợn bắt đầu yên tĩnh hơn, ít kêu rít, biểu hiện trầm lặng, thỉnh thoảng thích nhảy lên lưng con khác nhưng vẫn chưa chịu để con khác bao ôm.

Đến cuối ngày thứ 2, âm hộ đã giảm độ sưng, ít căng bóng, màu hơi thâm tái, có các nếp nhăn mờ xuất hiện. Trong âm đạo có màu hồng nhạt và ít trơn bóng như ngày đầu. Nước nhờn đã bắt đầu keo dính, có thể kéo thành sợi dài 2-3 cm, có màu trắng đục. Do vậy, ở hai bên mông, ở trong khâu đuôi và mép ngoài âm hộ có vết dính, có thể dính với cỏ, rác. Lúc này, nếu có lợn đực đến gần, lợn cái sẽ quay phần mông về phía lợn đực, sẵn sàng cho giao phối. Khi lợn đực (hoặc lợn khác) nhảy lên lưng thì đứng yên, lợn cái chụm 2 chân sau, né đuôi về một bên để lộ âm hộ. Hai mép âm hộ có những co rút nhẹ, hé mở, thỉnh thoảng đá dắt. Người ta có thể dùng tay ấn hoặc cuời lên lợn nái, nó vẫn đứng yên. Dùng que kích thích ngoài vùng âm hộ, lợn nái cong đuôi lên và xoay mông về phía que kích thích. Các biểu hiện như vậy gọi là triệu trứng "mê ì" của lợn nái, là biểu hiện đặc trưng dễ nhận biết và chuẩn xác để cho phối giống hoặc dẫn tinh thích hợp.

- *Giai đoạn sau chịu đực*: tính tình lợn nái trở lại bình thường và đã ăn chút ít. Âm hộ khô và teo lại, nước nhờn màu trắng sữa, bã đậu và không dính. Trạng thái "mê ì" giảm dần, càng về cuối giai đoạn này lợn nái không thích gần lợn đực nữa, đuôi không chéch về một bên mà luôn luôn cụp vào âm hộ.

Như vậy, bằng quan sát lâm sàng cho thấy, thời điểm phối giống hoặc dẫn tinh thích hợp nhất đối với lợn nái thường vào cuối ngày thứ 2 đến đầu ngày thứ 3 sau khi động dục. Biểu hiện đặc trưng lâm sàng của thời kỳ động dục là trạng thái "mê ì" thời kỳ chịu đực cao độ.

Tuy nhiên, thời gian chịu đực khá biến động (từ 24-48 giờ sau động dục), phụ thuộc vào lứa đẻ (nái tơ hay nái rạ), chế độ dinh dưỡng, phẩm giống. Thường lợn nái nội thời gian chịu đực sớm hơn nái lai (ngoại x nội) và nái ngoại 1 ngày; nái tơ sớm hơn nái rạ khoảng 1 ngày.

2.1.3. Kỹ thuật dẫn tinh

* Dụng cụ dẫn tinh

Gồm dẫn tinh quản (loại ống cao su trơn hoặc loại ống plastic có đầu xoắn hoặc không xoắn) và bộ phận chứa tinh dịch (bằng lọ thủy tinh hoặc plastic). Xi lanh dùng để đựng và bơm tinh dịch (trong trường hợp lọ đựng tinh bằng thủy tinh). Những dụng cụ này được làm bằng các chất liệu không độc cho tinh trùng.

* Thao tác dẫn tinh

Bước 1 : Trước khi dẫn tinh cho lợn nái, cần quan sát triệu chứng động dục, xác định thời điểm dẫn tinh thích hợp. Thời điểm dẫn tinh, xác định từ lúc bắt đầu động dục, được coi là thích hợp như sau:

Lợn nái nội: cuối ngày thứ hai sang đầu ngày thứ ba.

Lợn nái lai (ngoại x nội) và lợn ngoại: cuối ngày thứ ba sang đầu ngày thứ tư.

Bước 2: Chuẩn bị dụng cụ:

- Vô trùng dụng cụ dẫn tinh: Dụng cụ dẫn tinh được luộc trong nước sạch, sôi trong 15 phút. Sau đó vẩy ráo nước. Dùng 5-10ml dung dịch nước sinh lý NaCl 0,85%, hoặc 3-5 ml tinh dịch đã pha loãng, hoặc môi trường pha loãng để tráng lại lòng dẫn tinh quản. Dùng vazolin hoặc glyxerin bôi 2/3 mặt ngoài phía đầu dẫn tinh quản.

Bước 3 : Chuẩn bị tinh dịch đảm bảo về thể tích và số lượng tinh trùng tiến thẳng trong 1 liều dẫn, như sau:

- Nâng dần nhiệt độ lọ tinh bằng cách cầm nắm trong lòng bàn tay (đến khi lọ tinh không còn lạnh là được). Nếu có kính hiển vi, nên kiểm tra lại hoạt lực của tinh trùng trước khi dẫn tinh.

- Quy định về thể tích và số tinh trùng có hoạt động tiến thẳng cần thiết cho một liều dẫn tinh như sau:

- Đối với lợn nái nội: 30ml tinh pha, trong đó đảm bảo 0,5 - 1,0 tỷ tinh trùng tiến thẳng.

- Đối với lợn nái lai (ngoại x nội) : 60ml tinh pha, trong đó đảm bảo 1,0- 1,5ml tỷ tinh trùng tiến thẳng.

- Lợn nái ngoại: 90ml tinh pha trong đó đảm bảo 1,5-2,0 tỷ tinh trùng tiến thẳng (Nếu sử dụng xi lanh thì rót tinh dịch từ từ vào xi lanh theo thành ống, tuyệt đối không lấp xi lanh vào dẫn tinh quản rồi hút tinh dịch, làm sạch tinh dịch, ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng).

Bước 4: Vệ sinh lợn nái: Rửa sạch vùng sinh dục lợn nái bằng nước sạch, nếu có điều kiện dùng thuốc tím 0,1% để rửa. Sau khi rửa xong, lau khô bằng vải sạch, sau đó bôi một ít vazolin vào mép âm đạo.

- Dẫn tinh: Giữ cho lợn cái đứng yên bằng cách gãi nhẹ vùng mông hoặc kích thích âm hộ lợn cái. Có thể dùng bàn chân chà nhẹ lên lưng hoặc bơm một ít tinh dịch vào phan mũi lợn cái để gây hưng phấn. Dùng ngón cái và ngón trỏ vạch hai mép âm hộ ra và nhẹ nhàng đưa dẫn tinh quản về phía trước hơi chéch lên phía trên. Vừa đưa vừa xoay nhẹ đầu dẫn tinh quản cho đến khi vào sâu trong âm đạo lợn cái khoảng 15- 20cm. Tiếp tục đẩy dẫn tinh quản vào sâu trong cổ tử cung (hình 5.5): Khi dẫn tinh viên cảm thấy đầu dẫn tinh quản không thể vào sâu được nữa thì từ từ bơm tinh. Tốt nhất nâng lọ đựng tinh hoặc xi lanh dẫn tinh lên cao để tinh dịch tự động từ từ chảy vào tử cung.

Khi đưa dẫn tinh quản vào âm đạo nên làm động tác rút ra, đút vào nhẹ nhàng để kích thích lợn. Động tác kích thích rất quan trọng bởi vì nó hỗ trợ tử cung thúc đẩy tinh trùng tiến về phía ống dẫn trứng. Sau khi bơm tinh xong, rút dẫn tinh quản ra một cách từ từ sao cho phần tiếp xúc của ống dẫn tinh với âm hộ luôn cao hơn so với âm hộ con lợn.

Chú ý: Có một số lợn cái, nhất là lợn cái tơ không chịu đứng yên khi dẫn tinh. Trong trường hợp này cần dồn lợn vào một góc để nó không chạy được. Nếu lợn cái nằm bẹp xuống và dí âm hộ sát mặt đất, lúc đó để có thể dẫn tinh, người dẫn tinh phải dùng một tay kéo đuôi nâng mông lợn lên.

Sau khi dẫn tinh, nếu kỹ thuật viên "cảm thấy" hài lòng thì chỉ cần dẫn tinh một lần. Nếu ngược lại, nên lặp lại lần dẫn tinh thứ hai sau lần 1 từ 10- 12 giờ. Riêng nái ngoại cần phối hai lần trong một chu kỳ động dục.

Bước 5 : Sau khi dẫn tinh xong, phải vệ sinh dụng cụ sạch sẽ bằng nước xà phòng, nước nóng bằng cách bơm thụt nhiều lần. Cuối cùng rửa lại bằng nước sạch và lau khô bằng khăn sạch.

Bước 6: Sau khi dẫn tinh 21-25 ngày, phải kiểm tra kết quả thụ thai, phát hiện những lợn cái động dục lại để kịp thời dẫn tinh. Những lợn cái thụ thai ở kỳ động dục nào ghi vào kết quả thụ thai của kỳ động dục ấy.

4.3. Kỹ thuật gieo tinh nhân tạo cho gia cầm

Thụ tinh nhân tạo gà được áp dụng trong những trường hợp sau đây:

- Gà mái nuôi trên lồng tầng cần lấy trứng để ấp.
- Gà mái cần được phối giống theo dòng, theo cá thể, hoặc theo gia đình để tạo giống.
- Đánh giá chất lượng tinh dịch con trống.

2.6.1. Cấu tạo cơ quan sinh dục gà mái

Cơ quan sinh dục của gà mái gồm buồng trứng, ống dẫn trứng (gồm tuyến tiết lòng trắng và tuyến tiết lòng đỏ) và tận cùng là lỗ huyết (hình 5.10)

2.6.2. Dụng cụ và kỹ thuật dẫn tinh cho gà

* *Dụng cụ:* Dụng cụ dẫn tinh cho gà thường dùng là xi lanh thủy tinh 2-5ml có lắp vòi dẫn tinh nhựa.

* *Kỹ thuật dẫn tinh:* Nếu là gà mái nuôi trên tổng tầng thì chỉ cần một người thao tác dẫn tinh. Thông thường khi có người đến dẫn tinh, gà mái thường hay nằm xẹp xuống và sẵn sàng cho dẫn tinh. Người dẫn tinh dùng tay trái vuốt ngược lông đuôi gà mái lên phía trên, lúc này phần bên trong lỗ huyết gà mái lòi ra. Trong trường hợp lỗ huyết không lòi ra, người ta có thể bóp nhẹ hai mép lỗ huyết cho phần bên trong lỗ huyết gà mái lòi ra, người dẫn tinh chỉ việc cho dẫn tinh vào phần ổ nhóp nằm lệch bên trái lỗ huyết rồi bơm tinh vào. Liều dẫn từ 0,01 - 0,02 ml tinh dịch nguyên hoặc 0,1 - 0,3 ml tinh dịch đã pha loãng. Tổng số tinh trùng cần thiết cho một liều dẫn ở gà từ 120-150 triệu tinh trùng. Khoảng cách dẫn tinh thích hợp cho gà mái là 3-4 ngày/lần. Thời điểm dẫn tinh thuận lợi nhất là vào buổi chiều (16 - 18 h) khi gà mái đã đẻ hết trứng. Để có tỷ lệ phôi cao chỉ nên thu trứng để ấp vào ngày thứ ba kể từ sau khi dẫn tinh.

Khi áp dụng kỹ thuật thụ tinh nhân tạo một con trống có thể phụ trách từ 35-45 con mái. Một người có thể dẫn tinh cho 50-70 gà mái tét trong vòng một giờ.

2.7. Thụ tinh nhân tạo ngỗng

Thụ tinh nhân tạo ngỗng có hiệu quả trong điều kiện chăn nuôi công nghiệp hoặc chăn nuôi tập trung với số lượng lớn. Kỹ thuật này rất quan trọng đối với đàn ngỗng cao sản bởi vì tỷ lệ phôi của những ngỗng này rất thấp (quãng 20 - 30%) trong giao phối tự nhiên. Ngoài ra, luôn luôn có một tỷ lệ ngỗng mang tính chất chọn phối (tức là một số ngỗng đực chỉ giao phối với một số con cái nhất định) mà thụ tinh nhân tạo mới giải quyết được vấn đề này.

2.7.1. Chuẩn bị dẫn tinh cho ngỗng mái

Dẫn tinh nhân tạo cho ngỗng cái được áp dụng cho ngỗng đã đẻ một trứng hoặc có độ rộng háng từ 5 cái trở lên. Thời điểm dẫn tinh thích hợp là sau 8 giờ sáng khi phần lớn ngỗng cái đã đẻ trứng. Khoảng cách dẫn tinh thích hợp là 3 - 4 ngày/lần.

* *Dụng cụ dẫn tinh*

- Xi lanh 2ml có vòi dẫn 10-12cm. Vòi dẫn cần có đầu tròn nhẵn, đường kính 2- 4mm.
- Giá gỗ hoặc bàn con thấp.
- Găng tay ngon mỏng.
- Vazolin đã hấp khử trùng hỗn hợp với furazolidon 2%.
- Cồn 75%.
- Hỗn hợp tinh dịch pha loãng đã được kiểm tra hoạt lực tinh trùng (A) trước và sau khi dẫn tinh.

* *Kỹ thuật dẫn tinh*

Dùng lưới chắn dồn ngỗng mái vào một góc. Người giúp việc bắt ngỗng nhẹ nhàng rồi để ngỗng nằm trên giá gỗ hoặc bàn con. Bàn tay phải của kỹ thuật viên phải sạch sẽ, sát trùng bằng cồn 75o và đeo găng tay ngon mỏng, mềm sạch. Bôi trơn ngón tay trở của bàn tay phải

bằng vazolin và đưa ngón tay này vào lỗ huyết ngỗng cái dò tìm ống dẫn trứng (ống dẫn trứng nằm phía bên trái vào sâu trong lỗ huyết 1 - 2 cm).

Khi ngón tay trở đã nằm bên trong ống dẫn trứng ở độ sâu 3 - 4 chỉ qua đoạn eo thắt thì bàn tay trái đưa dẫn tinh quản dọc theo ngón tay đã nằm trong ống dẫn trứng. Khi dẫn tinh quản ở độ sâu 4 - 5 cm thì rút ngón tay ra một chút (khoảng 1 cho rồi bơm 0,4 - 0,6 ml tinh dịch đã pha loãng. Chú ý rút ngón tay chéch lên phía trên lỗ huyết 30 – 350 để tinh dịch không chảy ra ngoài. Rút ngón tay trở ra trước và rút dẫn tinh quản ra sau.

Dùng ngón tay cái và ngón út bóp nhẹ lỗ huyết, đồng thời nâng dẫn tinh quản lên trong khoảng thời gian từ 3-5 giây.

Trong trường hợp có mặt của trứng trong ống dẫn trứng thì lách dẫn tinh quản vào bên cạnh quả trứng rồi bơm tinh. Chú ý không nên lách dẫn tinh quản qua quả trứng để tránh xây xát và đập vỡ trứng. Thao tác dẫn tinh cần nhẹ nhàng, nhanh để tránh sự co bóp của ống dẫn trứng và sự sợ hãi của con vật. Người ta có thể ứng dụng kỹ thuật thụ tinh nhân tạo ngỗng trong việc tạo ra con lai giữa ngan và vịt bằng cách lấy tinh ngan đực để phối giống cho vịt cái.

CÂU HỎI, BÀI TẬP, THẢO LUẬN

1. Bài tập tình huống:

Khi khai thác 1 con đực Yorkshire thu được 420 ml tinh nguyên. Sau khi lọc bỏ keo phèn nhận thấy thể tích tinh dịch chiếm 80% thể tích tinh nguyên (keo phèn chiếm 20%). Khi lấy 1 ml tinh dịch để đo nồng độ thì máy hiển thị kết quả 261 triệu tinh trùng. Khi đánh giá hoạt lực dưới kính hiển vi thì thấy tinh trùng có hoạt động tiến thẳng chiếm tỷ lệ khoảng 80%.

- a) Thể tích tinh dịch trong lần khai thác này là bao nhiêu ml?
- b) Tổng số tinh trùng tiến thẳng trong lần khai thác này là bao nhiêu tỷ?
- c) Nếu mỗi lọ tinh sau khi pha chứa 2,5 tỷ tinh trùng tiến thẳng thì lần khai thác này ta pha được bao nhiêu liều tinh?
- d) Nếu mỗi lọ tinh sau khi pha có thể tích 100 ml thì với số liều pha như trên ta cần phải sử dụng thể tích môi trường là bao nhiêu ml?

NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ

1. Nội dung:

- Kiến thức:

Mô tả được tính chất sinh lý của tinh dịch, tinh trùng, kỹ thuật khai thác, pha loãng và bảo quản tinh.

- Kỹ năng:

- Huân luyện được gia súc nhảy giá thành thạo.

- Thực hiện được việc lấy, kiểm tra, pha loãng, bảo quản tinh dịch đúng yêu cầu kỹ thuật

- Phát hiện được gia súc động dục và xác định được thời điểm phối giống thích hợp.

- Thụ tinh nhân tạo cho trâu bò, heo, gia cầm đạt được tỉ lệ thụ thai cao.

- Năng lực tự chủ và trách nhiệm:

- Chấp hành nội quy học tập mô-đun

- Tuân thủ nghiêm ngặt về an toàn, vệ sinh môi trường

- Chăm thận trọng việc bảo quản và thụ tinh.

2. Phương pháp:

* Kiến thức:

- Đánh giá bằng hình thức kiểm tra viết.

* Kỹ năng:

- Thực hiện được các kỹ năng theo mục tiêu của mô-đun.

- Đánh giá các bài thực hành của mô-đun đạt điểm trung bình trở lên.

* Thái độ:

- Nghiêm túc học tập các kiến thức, thực hiện đầy đủ các kỹ năng của mô-đun.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Nguyễn Tấn Anh (2003). “*Thụ tinh nhân tạo cho gia súc gia cầm*” NXB Lao Động Hà Nội.
- [2]. Trần Tiến Dũng, Dương Đình Long, Nguyễn Văn Thanh, (2002). “*Sinh sản gia súc*”. NXB Nông nghiệp.
- [3]. Nguyễn Đức Hùng, Nguyễn Mạnh Hà, Trần Huệ Viên, Phan Văn Kiêm (2003). “*Giáo trình truyền giống nhân tạo vật nuôi*”. NXB Nông nghiệp Hà Nội.
- [4]. Nguyễn Văn Thanh, (2004). “*Bài giảng môn công nghệ sinh sản*”. Trường Đại học Nông nghiệp 1 Hà Nội.