

ẢNH HƯỞNG CỦA LÒNG ĐỎ TRỨNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG TINH TRÙNG THỎ ĐEN VIỆT NAM BẢO QUẢN Ở 15°C

Nguyễn Nhật Tân, Trần Thị Thanh Khương*

Phòng Thí nghiệm Tế bào gốc, Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ

TÓM TẮT

Quản thể thỏ đen Việt Nam đang sụt giảm một cách nhanh chóng do sự xâm nhập của quản thể thỏ ngoại lai. Gieo tinh nhân tạo được xem là kỹ thuật giúp phát triển đàn nhanh chóng và an toàn. Bảo quản tinh dịch ở dạng lỏng là một phương pháp hiệu quả để bảo quản tinh trùng trong một khoảng thời gian ngắn và hỗ trợ cho kỹ thuật gieo tinh nhân tạo. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của lòng đỏ trứng gà bổ sung vào môi trường bảo quản Tris Citrate Glucose và thời gian bảo quản đến chất lượng tinh trùng trong quá trình bảo quản. Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức tương ứng với 4 nồng độ lòng đỏ trứng (0%; 5%; 10%; 15%), mỗi nghiệm thức lặp lại 8 lần. Mẫu tinh dịch thỏ sau khi thu nhận được pha loãng với môi trường bảo quản theo tỷ lệ 1:10 và bảo quản ở nhiệt độ 15°C. Chất lượng tinh trùng được đánh giá tại các mốc thời gian 0, 6, 12, 24, 48 và 72 giờ. Chất lượng tinh trùng được đánh giá trực tiếp qua kính hiển vi. Số liệu được thu thập và xử lý bằng phương pháp Linear mixed model analysis of variance. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tinh trùng thỏ sau khi được bảo quản lạnh đạt chất lượng tốt nhất khi bổ sung 10% lòng đỏ trứng ($P < 0,05$). Cụ thể, sau 24 giờ bảo quản, tỷ lệ di động tổng số, di động tiến tới, tỷ lệ sống và tính toàn vẹn màng tế bào lần lượt là 63,44%, 40,24%, 67,50% và 53,11%. Nghiên cứu cho thấy lòng đỏ trứng có khả năng cải thiện chất lượng tinh trùng thỏ đen Việt Nam trong quá trình bảo quản ở 15°C.

Từ khóa: Bảo quản lỏng, gieo tinh nhân tạo, lòng đỏ trứng, tinh trùng, thỏ đen Việt Nam.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Thỏ đen địa phương hay còn gọi là thỏ đen có nguồn gốc ở Việt Nam và đang sụt giảm một cách nhanh chóng do sự xâm nhập của quản thể thỏ ngoại lai. Giống thỏ đen Việt Nam này có màu lông và mắt đen tuyền, đầu và mõm nhỏ, cổ không vạm vỡ nhưng thân hình chắc chắn, thịt ngon, khối lượng trưởng thành từ 3,2–3,5 kg/con. Giống thỏ này mắn đẻ, mỗi năm đẻ 7 lứa, mỗi lứa 6–7 con (5–5,5 con/lứa, mỗi lứa 5,5–6 con) tỷ lệ nuôi sống từ sơ sinh đến cai sữa đạt 85%. Đặc điểm nổi bật của giống thỏ đen là sức chống chịu với bệnh tật tốt, thích nghi tốt với điều kiện nuôi dưỡng thấp, khí hậu ở các vùng trong cả nước Việt Nam (Thu và Đông, 2009). Đây là nguồn gen quý cần được bảo tồn.

Trong chăn nuôi thỏ, ngoài nhân giống tự nhiên thì hiện nay gieo tinh nhân tạo cũng là một phương pháp hiệu quả đang được ứng dụng rộng rãi trên thế giới có lợi thế khi không cần sự tiếp xúc giữa cá thể đực và cái, giúp ích trong việc nhân giống khi hai cá thể cần thụ tinh có khoảng cách về mặt địa lý (Zhao, 2009). Nhu cầu dự trữ tinh dịch để sử dụng trong trên vật nuôi ngày càng tăng cao (Di *et al.*, 2014) khiến cho việc kéo dài khoảng thời gian lưu trữ tinh dịch lỏng hơn 48 giờ hoặc đông lạnh tinh dịch trở thành một trong những mục tiêu chính của ngành nghề chăn nuôi thỏ. Tinh dịch không thể được lưu trữ ở trạng thái lỏng trong thời gian dài nên việc tìm ra được môi trường bảo quản tinh trùng thỏ có nồng độ pha loãng phù hợp giúp cho khả năng sống sót, chất lượng tinh trùng không bị ảnh hưởng là vấn đề cấp thiết.

Tuy nhiên, hiện nay ở nước ta các nghiên cứu về gieo tinh nhân tạo trên thỏ vẫn còn khá ít và chưa có nhiều nghiên cứu về việc cải thiện môi trường bảo quản tinh dịch thỏ giúp tăng hoạt lực tinh trùng, bảo vệ tính toàn vẹn của màng acrosome cũng như tỷ lệ thụ thai thành công. Nhằm mang lại hiệu quả cao trong công tác nhân giống, việc tìm được môi trường pha loãng phù hợp để bảo quản tinh dịch cần được tiến hành. Việc sử dụng môi trường TCG (Tris- Citrate- Glucose) là cơ sở thường được sử dụng để bảo quản tinh trùng thỏ (Sang *et al.*, 2019). Trứng gà còn là nguyên liệu dễ mua, giá thành hợp lý nên tiết kiệm được nhiều chi phí. Lòng đỏ trứng gà đã được sử dụng trong việc bảo quản đông lạnh tinh trùng thỏ (Khuong *et al.*, 2023a). Vì vậy, cần phải xác định được nồng độ lòng đỏ trứng gà phù hợp, thời gian bảo quản tối ưu để tinh trùng giữ chất lượng tốt nhất sau bảo quản. Mục đích chính trong nghiên cứu là khảo sát ảnh hưởng của các nồng độ lòng đỏ trứng gà và thời gian bảo quản đến tinh trùng thỏ đen Việt Nam.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Nghiên cứu này sử dụng thỏ đen bản địa đực có nguồn gốc từ các vùng khác nhau của Đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam. Thỏ được tập trung tại Trang trại chăn nuôi thí nghiệm của Phòng Thí nghiệm Tế bào gốc,

Trường Đại học Cần Thơ. Tổng cộng 6 con thỏ đen bản địa có độ tuổi từ 12-18 tháng và nặng từ 2,5-3,5 kg được đưa vào nghiên cứu. Các con vật được nhốt riêng trong các lồng sàn phẳng và được cung cấp đủ nước uống. Khẩu phần ăn của thỏ được xây dựng nhằm đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của thỏ được trưởng thành (NRC, 1977). Tất cả vật nuôi đều được tiêm phòng đầy đủ các bệnh tan máu và ký sinh trùng. Mẫu tinh dịch được thu nhận 2 lần/tuần đối với mỗi con thỏ.

Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức tương ứng với 4 nồng độ khác nhau của lòng đỏ trứng lần lượt là: 0%, 5%, 10%, 15% và khảo sát ở 6 mốc thời gian: 0, 6, 12, 24, 48 và 72 giờ với 3 lần lặp lại trên mỗi nghiệm thức.

Mẫu tinh dịch thỏ đen được pha loãng tỷ lệ 1:10 với môi trường bảo quản TCG có bổ sung lòng đỏ trứng và được bảo quản ở 15°C. Các mốc thời gian đánh giá gồm 0, 6, 12, 24, 48 và 72 giờ. Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng tinh trùng gồm tỷ lệ sống, tỷ lệ di động, di động tiến tới, tỷ lệ toàn vẹn màng theo hướng dẫn của WHO (2010).

Đánh giá tỷ lệ di động của tinh trùng

Mẫu được xem dưới kính hiển vi với độ phóng đại 40×, sự di động của tinh trùng được đánh giá và phân loại như sau:

- Di động tiến tới: Tinh trùng bơi và di chuyển khắp nơi trong thị trường.
- Di động tại chỗ: Tinh trùng cử động nhưng không bơi, chỉ ở một vị trí cố định.
- Bất động: Tinh trùng nằm im, không cử động.

Số lượng tinh trùng di động theo từng loại được đếm trực quan và tỷ lệ di động từng loại được tính như sau:

$$\text{- Tỷ lệ tinh trùng di động từng loại (\%)} = \frac{\text{Số tinh trùng di động theo phân loại}}{\text{Tổng số tinh trùng đếm được}} \times 100$$

$$\text{- Tỷ lệ di động tổng số} = \text{Tỷ lệ di động tiến tới} + \text{Tỷ lệ di động tại chỗ}$$

Đánh giá tỷ lệ sống của tinh trùng

Khả năng sống của tinh trùng được kiểm tra bằng phương pháp nhuộm Eosin-Nigrosin. Tinh trùng chết sẽ bắt màu thuốc nhuộm, trong khi tinh trùng sống thì không bắt màu (Hình 1).

$$\text{Tỷ lệ sống của tinh trùng (\%)} = \frac{\text{Số tinh trùng sống}}{\text{Tổng số tinh trùng đếm được}} \times 100$$



Hình 1. Tinh trùng được nhuộm Eosin-Nigrosin

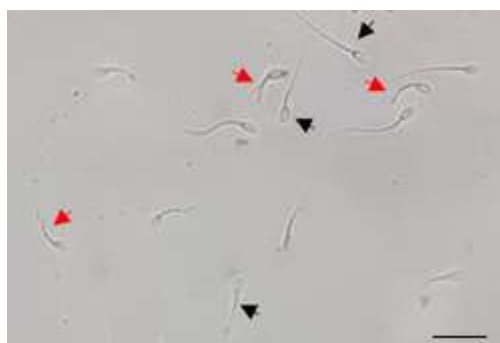
Tinh trùng sống không bắt màu thuốc nhuộm (mũi tên trắng), tinh trùng chết bắt màu thuốc nhuộm (mũi tên đen).

Thanh tỷ lệ = 50µm

Đánh giá tính toàn vẹn màng tế bào

Tính toàn vẹn của màng tinh trùng được đánh giá bằng xét nghiệm độ trương giảm thẩm thấu (HOS). Tinh trùng có màng tế bào toàn vẹn thể hiện phản ứng cuộn tròn đuôi, trong khi tinh trùng có màng tế bào bị tổn thương thì không có phản ứng (Hình 2).

$$\text{Tỷ lệ toàn vẹn màng của tinh trùng (\%)} = \frac{\text{Số tinh trùng cuộn tròn đuôi}}{\text{Tổng số tinh trùng đếm được}} \times 100$$



Hình 2. Tinh trùng được xét nghiệm HOS

Tinh trùng có màng tế bào toàn vẹn thể hiện phản ứng cuộn tròn đuôi (mũi tên đỏ), tinh trùng có màng tế bào bị tổn thương thì không có phản ứng (mũi tên đen). Thanh tỷ lệ = 50 μ m.

Phân tích thống kê

Số liệu được ghi nhận bằng phần mềm Excel (2016). Mô hình hỗn hợp tuyến tính (Linear Mixed Model) ANOVA được sử dụng để phân tích dữ liệu, sau đó so sánh giá trị trung bình giữa các nghiệm thức bằng phương pháp Tukey trong phần mềm R.4.3.1. Nồng độ lòng đỏ trứng gà và thời gian bảo quản là những ảnh hưởng cố định (Fixed Effect), lần thu mẫu và cá thể thỏ là những ảnh hưởng ngẫu nhiên (Random Effect). Các kết quả được trình bày dưới dạng trung bình \pm sai số chuẩn (SE). Ý nghĩa thống kê được đặt ở $p < 0,05$ cho thấy mức độ tin cậy cao đối với kết quả thu được.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Chất lượng tinh trùng tươi

Chất lượng tinh trùng ban đầu là yếu tố quan trọng quyết định đến chất lượng mẫu trong quá trình thí nghiệm. Kết quả đánh giá đại thể được thể hiện ở Bảng 1

Bảng 1. Kết quả đánh giá đại thể tinh trùng sau khi thu mẫu

Chỉ tiêu đánh giá	Kết quả
Màu sắc	Trắng đục
pH	6,98 \pm 0,04
Thể tích (mL)	0,76 \pm 0,06
Nồng độ ($\times 10^9$ tế bào/mL)	1,36 \pm 0,03

Kết quả Bảng 1 cho thấy các chỉ tiêu đánh giá chất lượng tinh trùng tươi ở thỏ đen với màu sắc của tinh dịch là trắng đục, pH là 6,98, thể tích 0,76mL và có nồng độ tế bào là $1,36 \times 10^9$ tế bào/mL. Các chỉ tiêu của mẫu đều đạt tiêu chuẩn về các giá trị màu sắc, thể tích, pH, nồng độ tinh dịch của thỏ theo chỉ tiêu khảo sát đại thể (Khuong *et al.*, 2023b). Mẫu có giá trị đạt chuẩn và phù hợp với chỉ tiêu khảo sát của thí nghiệm.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ lòng đỏ trứng và thời gian đến chất lượng bảo quản tinh trùng

Tỷ lệ di động của tinh trùng trong 4 nghiệm thức sau 72 giờ bảo quản được thể hiện ở Bảng 2 và Bảng 3.

Bảng 2. Tỷ lệ di động tổng số của tinh trùng theo từng mốc thời gian bảo quản

Chỉ tiêu khảo sát	Mốc thời gian	Nồng độ Lòng đỏ trứng được bổ sung vào môi trường TCG			
		0%	5%	10%	15%
Di động tổng số (%)	0 giờ	76,11 ^c \pm 0,17	77,06 ^c \pm 0,32	80,40 ^a \pm 0,19	78,22 ^b \pm 0,23
	6 giờ	71,39 ^c \pm 0,21	73,11 ^b \pm 0,26	76,28 ^a \pm 0,21	73,78 ^b \pm 0,22
	12 giờ	66,40 ^c \pm 0,16	68,56 ^b \pm 0,17	71,83 ^a \pm 0,25	69,44 ^b \pm 0,17
	24 giờ	55,83 ^d \pm 0,24	58,67 ^c \pm 0,38	63,44 ^a \pm 0,34	60,72 ^b \pm 0,45
	48 giờ	42,44 ^d \pm 0,19	45,03 ^c \pm 0,27	53,11 ^a \pm 0,28	47,67 ^b \pm 0,27
	72 giờ	31,83 ^d \pm 0,31	36,61 ^c \pm 0,33	45,72 ^a \pm 0,19	40,01 ^b \pm 0,33

^{a, b, c, d}Trong cùng một hàng, các giá trị có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

CÔNG NGHỆ TẾ BÀO

Bảng 3. Tỷ lệ di động tiến tới của tinh trùng theo từng mốc thời gian bảo quản

Chi tiêu khảo sát	Mốc thời gian	Nồng độ Lòng đờ trứng được bổ sung vào môi trường TCG			
		0%	5%	10%	15%
Di động tiến tới (%)	0 giờ	57,83 ^a ±0,26	58,35 ^a ±0,29	59,84 ^a ±0,37	59,14 ^a ±0,29
	6 giờ	47,76 ^d ±0,24	51,50 ^c ±0,36	56,36 ^a ±0,25	53,66 ^b ±0,35
	12 giờ	40,10 ^d ±0,25	43,70 ^c ±0,45	49,43 ^a ±0,19	45,69 ^b ±0,18
	24 giờ	29,70 ^d ±0,19	33,22 ^c ±0,34	40,23 ^a ±0,25	36,10 ^b ±0,25
	48 giờ	4,36 ^d ±0,31	8,40 ^c ±0,28	18,68 ^a ±0,22	14,24 ^b ±0,18
	72 giờ	2,17 ^c ±0,33	3,94 ^c ±0,26	13,94 ^a ±0,34	8,86 ^b ±0,24

a, b, c, d Trong cùng một hàng, các giá trị có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$)

Kết quả từ Bảng 2 và Bảng 3 cho thấy, khả năng di động của tinh trùng giảm dần theo thời gian bảo quản và giảm mạnh trong khoảng thời gian từ 24-48 giờ. Tỷ lệ di động tổng số và di động tiến tới ở nồng độ lòng đờ trứng 10% cho kết quả tốt nhất ở các mốc thời gian sau 6 giờ và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại ($P<0,05$). Cụ thể sau 24 giờ bảo quản, tỷ lệ di động tổng số và di động tiến tới ở nghiệm thức bổ sung 10% lòng đờ trứng lần lượt là 63,44% và 40,23% trong khi tỷ lệ di động tổng số và di động tiến tới ở nghiệm thức không bổ sung lòng đờ trứng cho kết quả thấp nhất (55,83% và 29,70%).

Kết quả từ Bảng 4 cho thấy, tỷ lệ sống của tinh trùng giảm dần theo thời gian bảo quản. Nghiệm thức sử dụng nồng độ lòng đờ trứng 10% cho kết quả tỷ lệ sống của tinh trùng tốt nhất ở các mốc thời gian. Cụ thể sau 24 giờ bảo quản, nghiệm thức sử dụng nồng độ lòng đờ trứng 10% có tỷ lệ sống của tinh trùng là 67,50% trong khi nghiệm thức sử dụng nồng độ lòng đờ trứng 0% có tỷ lệ sống của tinh trùng thấp nhất (61,05%), sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$).

Tỷ lệ sống của tinh trùng theo thời gian bảo quản được thể hiện ở Bảng 4

Bảng 4. Tỷ lệ sống của tinh trùng theo từng mốc thời gian bảo quản

Chi tiêu khảo sát	Mốc thời gian	Nồng độ Lòng đờ trứng được bổ sung vào môi trường TCG			
		0%	5%	10%	15%
Tỷ lệ sống (%)	0 giờ	80,66 ^c ±0,51	81,50 ^{bc} ±0,47	84,05 ^a ±0,43	82,83 ^{ab} ±0,39
	6 giờ	75,72 ^c ±0,42	77,27 ^{bc} ±0,31	80,38 ^a ±0,44	78,33 ^b ±0,46
	12 giờ	71,44 ^c ±0,54	72,88 ^{bc} ±0,27	76,55 ^a ±0,49	74,38 ^b ±0,43
	24 giờ	61,05 ^c ±0,54	63,11 ^b ±0,44	67,50 ^a ±0,54	64,72 ^b ±0,40
	48 giờ	47,66 ^d ±0,19	50,05 ^c ±0,47	57,66 ^a ±0,37	53,11 ^b ±0,25
	72 giờ	37,55 ^d ±0,38	42,27 ^c ±0,52	51,44 ^a ±0,43	45,77 ^b ±0,33

a, b, c, d Trong cùng một hàng, các giá trị có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$)

Bảng 5. Tỷ lệ toàn vẹn màng của tinh trùng theo từng mốc thời gian bảo quản

Chi tiêu khảo sát	Mốc thời gian	Nồng độ Lòng đờ trứng được bổ sung vào môi trường TCG			
		0%	5%	10%	15%
Toàn vẹn màng (%)	0 giờ	61,77 ^c ±0,24	62,72 ^{bc} ±0,32	65,12 ^a ±0,33	63,61 ^b ±0,44
	6 giờ	56,55 ^d ±0,23	58,11 ^c ±0,43	61,61 ^a ±0,28	59,66 ^b ±0,32
	12 giờ	52,27 ^d ±0,19	53,88 ^c ±0,27	58,38 ^a ±0,30	55,94 ^b ±0,46
	24 giờ	45,83 ^d ±0,41	47,72 ^c ±0,36	53,11 ^a ±0,47	49,50 ^b ±0,39
	48 giờ	37,50 ^d ±0,35	39,16 ^c ±0,46	45,70 ^a ±0,45	41,50 ^b ±0,37
	72 giờ	30,88 ^d ±0,28	35,38 ^c ±0,38	41,02 ^a ±0,37	35,38 ^b ±0,42

a, b, c, d Trong cùng một hàng, các giá trị có ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$)

Kết quả Bảng 5 cho thấy nồng độ lòng đờ trứng 10% đã cải thiện chất lượng màng tinh trùng, tỷ lệ toàn vẹn cao nhất trong số 4 nghiệm thức và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các mức nồng độ còn lại ở tất cả các mốc thời gian ($P<0,05$). Cụ thể, môi trường TCG bổ sung 10% lòng đờ trứng ghi nhận kết quả tỷ lệ toàn vẹn màng cao

nhất là 53,11% trong khi môi trường TCG bổ sung 0% lòng đỏ trứng ghi nhận kết quả tỷ lệ toàn vẹn màng thấp nhất là 45,83% sau 24 giờ bảo quản.

Thảo luận

Sau quá trình bảo quản lạnh, điều quan trọng là vấn đề bảo quản lượng tinh dịch có hiệu quả tối ưu, giúp tinh trùng duy trì được khả năng thụ tinh tốt và đảm bảo chất lượng tinh trùng. Quá trình bảo quản lạnh sẽ dẫn đến các tổn thương trên màng tế bào, thiếu chất dinh dưỡng, những vấn đề trên sẽ gây ra ảnh hưởng tiêu cực đến tỷ lệ sống chết, khả năng di động, đặc biệt là khả năng di động tiến tới và toàn vẹn màng tế bào của tinh trùng. Mức độ giảm các thông số của chất lượng tinh trùng còn phụ thuộc vào việc sử dụng phương pháp bảo quản lạnh, nhiệt độ bảo quản hoặc nồng độ chất bảo quản lạnh khác nhau.

Kết quả cho thấy môi trường bảo quản có bổ sung lòng đỏ trứng có thể giúp cải thiện chất lượng tinh trùng sau bảo quản. Nồng độ lòng đỏ trứng 10% được chọn là nồng độ tối ưu nhất trong nghiên cứu, khi tăng nồng độ lòng đỏ trứng lên 15% thì tỷ lệ di động và các chỉ tiêu khác của tinh trùng giảm xuống. Điều này chứng tỏ khi tăng nồng độ lòng đỏ trứng lên quá cao sẽ gây ảnh hưởng xấu đến khả năng vận động và chức năng của tinh trùng thỏ. Khi sử dụng nồng độ lòng đỏ trứng 10% để bảo quản tinh trùng thỏ, sau 24 giờ các chỉ tiêu vẫn đạt chuẩn tốt hơn so với môi trường bảo quản Tris-Citrate-Glucose (TCG) đã được chứng minh trong thí nghiệm của Lê (2022) là bảo quản hiệu quả nhất trong khoảng thời gian tương đối ngắn là 6 giờ.

Khi sử dụng nồng độ lòng đỏ trứng 10% để bảo quản tinh trùng thỏ sau 24 giờ, tỷ lệ di động tổng số của tinh trùng là 63,44% và tỷ lệ di động tiến tới của tinh trùng là 40,23%. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung lòng đỏ trứng nồng độ 10% vào môi trường bảo quản TCG sẽ giúp cải thiện đáng kể chất lượng tinh trùng, điều này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Sang và đồng tác giả (2019), khi kết quả của nghiên cứu khảo sát kết luận rằng việc bổ sung thêm lòng đỏ trứng nồng độ 10% đem lại ảnh hưởng tích cực nhất trong bảo quản lạnh tinh trùng thỏ.

Tuy nhiên, càng kéo dài thời gian ở trong môi trường nhược trương, những thay đổi về thành phần nội bào, cấu trúc và chức năng màng do stress áp lực thẩm thấu thấp càng ảnh hưởng mạnh đến sự sống của tinh trùng biểu hiện bằng tỷ lệ tinh trùng chết ngày càng tăng ở những thời điểm về sau. Việc bổ sung lòng đỏ trứng ở nồng độ 10% vào môi trường bảo quản đã làm cải thiện tỷ lệ sống cũng như tỷ lệ toàn vẹn màng, cụ thể tỷ lệ sống của nghiệm thức có bổ sung lòng đỏ trứng 10% sau 72 giờ bảo quản chỉ giảm khoảng 23% và tỷ lệ tinh trùng toàn vẹn màng giảm khoảng 24% trong khi các nghiệm thức khác sau 72 giờ bảo quản tỷ lệ sống đã giảm khoảng 35 - 40% và tỷ lệ toàn vẹn màng giảm khoảng 30 - 35%. Kết quả của nghiên cứu này cũng hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Ferdinand và đồng tác giả (2014) khi nghiên cứu sự ảnh hưởng của các nồng độ lòng đỏ trứng bổ sung vào môi trường bảo quản trên tinh trùng bò. Thời gian bảo quản 24 giờ được khuyến nghị sử dụng đối với nghiên cứu này vì tinh trùng thỏ vẫn giữ được chất lượng ở mức tối thiểu để đảm bảo việc thụ tinh diễn ra thành công, tương tự nghiên cứu của Khuong và đồng tác giả (2023b).

Nhìn chung, chất lượng tinh trùng thỏ sẽ giảm dần theo thời gian bảo quản. Sự giảm khả năng vận động, tỷ lệ sống hay tính toàn vẹn màng của tinh trùng là do những tổn thương trên màng tế bào và sự sốc lạnh gây ra. Việc bổ sung lòng đỏ trứng có khả năng bảo vệ màng tinh trùng, giảm tổn thương đến màng tinh trùng trong quá trình bảo quản lạnh. Các thành phần trong lòng đỏ trứng, đặc biệt là cholesterol, axit béo, phospholipid chuyên cung cấp năng lượng, cung cấp nguồn protein cho tinh trùng và lipoprotein góp phần to lớn trong việc bảo vệ màng tinh trùng. Theo Perumal (2018), lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL) trong lòng đỏ trứng là thành phần mang vai trò chính trong việc bảo vệ tinh trùng giảm sốc lạnh trong quá trình bảo quản lạnh. Lòng đỏ trứng là sự lựa chọn tốt vì những lợi ích nó đem lại trong quá trình bảo quản tinh dịch ở dạng lỏng, duy trì khả năng sống sót cao hơn so với môi trường bảo quản thông thường (Mariana *et al.*, 2020). Ngoài ra, lòng đỏ trứng là một chất dễ tìm, dễ mua, giá thành rẻ có thể tiết kiệm chi phí cho những người chăn nuôi.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy lòng đỏ trứng có thể làm tăng khả năng bảo quản tinh dịch thỏ đen Việt Nam trong quá trình bảo quản lỏng ở 15°C. Môi trường TCG có bổ sung 10% lòng đỏ trứng giúp giữ được tinh trùng có chất lượng tối ưu nhất sau khi bảo quản và thời gian thích hợp để bảo quản các mẫu tinh trùng là 24 giờ.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ một phần bởi Trường Đại học Cần Thơ. Mã số: T2022-133.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Di IM, Manchisi A, Rocco M, Chrenek P, Laffaldano N (2014). Comparison of different extenders on the preservability of rabbit semen stored at 5°C for 72 hours. *Italian Journal of Animal Science*, 13: 710-714.
- Ferdinand N, Ngwa TD, Augustave K, Dieudonné BPH, Willington BO, D'Alex TC, Pierre K and Joseph T (2014). Effect of Egg yolk Concentration in Semen Extender, pH Adjustment of Extender and Semen Cooling Methods on Bovine Semen Characteristics. *Global Veterinaria*, 12 (3): 292-298.

- Khuong TTT, Duy NLK, Hang NT, Ngoc PK, Tuyen DN (2023a). Improving indigenous Vietnamese Black Rabbit frozen sperm quality: The role of glycine and sperm selection methods. *World Rabbit Science*, 31: 229-236.
- Khuong TTT, Nga TT, Duy NLK, Trung TT (2023b). Improving rabbit sperm quality during cold storage preservation through cyteine supplementation. *Journal of Animal Husbandry Sciences and Technics*, 291: 11-18
- Lễ NQ , 2022. Khảo sát hiệu quả bảo quản tinh trùng thỏ của môi trường pha loãng. *Luận văn tốt nghiệp đại học. Viện Công nghệ sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ, Thành phố Cần Thơ.*
- Mariana LB, Edita YT, Teodosio H, Deborah N, Maria IC (2020). Comparison of extenders with the addition of egg yolk for cooling alpaca sperm obtained from deferent ducts. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 597954.
- NRC (1977). Nutrient Requirements of Rabbits, 2th ed. *National Academy of Sciences*. Washington DC, US.
- Perumal P (2018). Low density lipoprotein in cryopreservation of semen. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 7(3): 103-116.
- Sang HK, Eo Y, Seong GB, Min GO, Chan HP, Jong TY (2019). Effect of Extenders with TCG and DMSO on the Viability of Rabbit Sperm. *J Anim Reprod Biotechnol 2019*, 34: 100-105.
- Thu NV, Đông NTK (2009). Giáo trình chăn nuôi thỏ. *Khoa Chăn nuôi, Trường Nông Nghiệp, Đại Học Cần Thơ, Thành phố Cần Thơ.*
- ZhaoBT, Han D, Xu CL, Luo MJ, Chang ZL, Tan JH (2009). Protocol optimization for long-term liquid storage of goat semen in a chemically defined extender. *Reproduction in Domestic Animals*, 44: 865-872.
- WHO (2010). World Health Organization laboratory manual for the Examination and processing of human semen, 5th ed. *World Health Organization*

INFLUENCE OF EGG YOLK ON VIETNAMESE BLACK RABBIT SPERM QUALITY STORED AT 15°C

Nguyen Nhat Tan, Tran Thi Thanh Khuong*

Stem cell laboratory, Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University

SUMMARY

Vietnam's black rabbit population is rapidly decreasing due to the invasion of non-native rabbit populations. Artificial insemination is considered a technique to help develop herds quickly and safely. Preserving semen in liquid form is an effective method to preserve sperm for a short period of time and supports artificial insemination techniques. This study was conducted to evaluate the effects of chicken egg yolk added to Tris Citrate Glucose storage medium and storage time on sperm quality during storage. The experiment included 4 treatments corresponding to 4 egg yolk concentrations (0%; 5%; 10%; 15%), each treatment was repeated 8 times. After being collected, rabbit semen samples were diluted with storage medium at a ratio of 1:10 and stored at 15°C. Sperm quality was assessed at time points of 0, 6, 12, 24, 48 and 72 hours. Sperm quality is assessed directly through a microscope. Data are collected and processed using the Linear mixed model analysis of variance method. Research results showed that rabbit sperm after storage achieves the best quality when supplemented with 10% egg yolk (P<0.05). Specifically, after 24 hours of storage, the rates of total mobility, progressive mobility, survival rate and cell membrane integrity were 63.44%, 40.24%, 67.50% and 53.11%, respectively. Research shows that egg yolk has the ability to improve the quality of Vietnamese black rabbit sperm during storage at 15°C.

Keywords: Liquid storage, artificial insemination, egg yolk, sperm, Vietnamese black rabbit.

* Author for correspondence: Tel: 0901.002.285; Email: tttkhuong@ctu.edu.vn