

ẢNH HƯỞNG CỦA MÙA VỤ VÀ MÔI TRƯỜNG ĐÔNG LẠNH ĐẾN CHẤT LƯỢNG TINH DỊCH TRÂU MURRAH

Lê Thị Liên*, Nguyễn Thị Thanh Huyền
Trường Đại học Khoa học – ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

03 trâu đực Murrah số hiệu 05, 06, 07, độ tuổi 5 – 7 năm, khối lượng 600 – 700 kg, khỏe mạnh được dùng vào nghiên cứu lựa chọn tinh dịch và môi trường bảo tồn tinh đông lạnh. Kết quả cho thấy, chất lượng tinh dịch trâu Murrah chịu ảnh hưởng rõ rệt của các thể. Trâu số 05 có chất lượng tinh dịch tốt nhất, thể hiện thể tích tinh dịch, hoạt lực tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng sống và tổng số tinh trùng tiến thẳng cao nhất (3,18 ml, 70,89%, 94,78%, 2,2 tỷ/lần) và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình thấp nhất (6,63%); Mùa vụ cho chất lượng tinh dịch đạt tốt nhất là mùa thu với các chỉ tiêu V, A, C, Sg và VAC lần lượt là 3,21 ml, 70,96%, 1,08 tỷ/ml, 94,82% và 2,47 tỷ/lần xuất tinh; Môi trường 2 (MT2) có tỷ lệ glycerin 7,5% cho chất lượng tinh dịch sau đông lạnh và giải đông tốt nhất với các chỉ tiêu A đạt 39,93%, K đạt 9,92% và Sg đạt 85,27%.

Từ khóa: trâu Murrah; môi trường; tinh dịch; tinh đông lạnh

Ngày nhận bài: 16/4/2020; Ngày hoàn thiện: 09/6/2020; Ngày đăng: 11/6/2020

THE INFLUENCE OF SEASONAL AND ENVIRONMENTAL CONSERVATION TO THE SEMEN QUALITY OF MURRAH BUFFALOES

Le Thi Lien*, Nguyen Thi Thanh Huyen
TNU - University of Science

ABSTRACT

03 healthy Murrah bulls numbered as 05, 06, 07 from 5 to 7 years of age, live bodyweight from 600 to 700 kg were tested in order to select high quality semen and to select preservative frozen semen solution. The results showed that, semen quality is significantly depended on individual. Bull number 05 had the best semen quality, expressed as it had better semen volume, higher sperms activity, sperm livability, and higher sperm mobility (3.18 ml, 70.89%, 94.78%, 2.2 billion/movement) and had the lowest abnormal sperm morphology (6.63%). The quality of semen is autumn showed the best with V, A, C, Sg and VAC parameters were (3.21 ml, 70.96%, 1.08 billion /movement, 94.82% and 2.47 billion / ejaculate. The solution 2 (MT2) with 7.5% glycerin showed to have higher post defrost semen quality with the sperm activity (A) was 39.93%, Abnormal sperm morphology (K) was 9.92% and sperm mobility was 85.27%.

Keywords: Murrah buffalo; solution; semen; frozen semen.

Received: 16/4/2020; Revised: 09/6/2020; Published: 11/6/2020

* Corresponding author. Email: lienlt@tnus.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Trâu Murrah là một giống trâu tốt có xuất xứ từ Ấn Độ, khối lượng lớn và sức sản xuất sữa cao, được nhập vào Việt Nam với mục tiêu lai tạo, cải tạo giống trâu nội. Tuy nhiên, do đặc điểm sinh lý sinh dục của trâu đực Murrah có nhiều điểm không phù hợp với trâu cái nội, phần lớn trâu đực Murrah không có ham muốn tinh dục với trâu cái Việt Nam (Mai Văn Sánh, 1996) [1], nên việc lai tạo bằng giao phối trực tiếp gặp nhiều khó khăn. Vì vậy việc ứng dụng thụ tinh nhân tạo là giải pháp quan trọng để lai tạo nhằm cải tạo đàn trâu nội.

Hiệu quả thụ tinh nhân tạo phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có chất lượng tinh dịch, mùa vụ, đặc biệt là môi trường bảo tồn tinh dịch. Tuy nhiên, kỹ thuật và môi trường đông lạnh tinh dịch có ảnh hưởng trực tiếp tới chất lượng tinh dịch trong quá trình bảo tồn, sau giải đông và dẫn tinh (Javed và cs., 2000) [2]. Theo các nghiên cứu đã công bố ở Việt Nam thì Trịnh Thị Kim Thoa và cs. (2006) [3] cho biết, chất lượng tinh dịch trâu Murrah và trâu đầm lầy trong mùa xuân và mùa thu cho chất lượng tốt hơn mùa hè và mùa đông và tác giả đã sử dụng 3 môi trường Citrat-L, Citrat-G và TCA để đông lạnh tinh trâu, hoạt lực sau giải đông của tinh đông lạnh lần lượt đạt 22,5%, 37,5% và 42,5%. Hà Minh Tuấn (2014) [4] cho biết chất lượng tinh dịch của trâu Việt Nam trong mùa thu – đông lại tốt hơn mùa xuân – hè và tác giả sử dụng 3 môi trường glycerin 6,5%, 7% và 7,5% với phương pháp đông lạnh chậm tinh trâu, hoạt lực sau giải đông của tinh đông lạnh lần lượt đạt 51,97%, 44,90% và 46,01%.

Để góp phần làm phong phú thêm các kỹ thuật và công nghệ trong sản xuất tinh đông lạnh, thụ tinh nhân tạo và áp dụng những kết quả nghiên cứu vào sản xuất, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài này.

2. Đối tượng, địa điểm và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, vật liệu và địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng: Tinh dịch của 3 trâu Murrah số hiệu 05, 06, 07 (Trâu số 05: 5 năm tuổi, khối

lượng 720 kg, trâu số 06: 6 năm tuổi, khối lượng 680 kg, trâu số 07: 7 năm tuổi, khối lượng 600 kg). Cả 3 trâu thí nghiệm đều khỏe mạnh và được chăm sóc theo quy trình của Trung tâm nghiên cứu và Phát triển chăn nuôi Miền núi – Viện Chăn nuôi.

- Vật liệu: 120 liều tinh dịch trâu Murrah và các thiết bị, hóa chất, dụng cụ dùng trong nghiên cứu.

- Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm nghiên cứu và Phát triển chăn nuôi Miền núi - Viện Chăn nuôi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Phương pháp khai thác tinh dịch:** Thực hiện bằng phương pháp dùng âm đạo giả, sử dụng trâu cái làm giá nháy. Khai thác tinh dịch vào khoảng thời gian từ 7 giờ đến 8 giờ với tần suất khai thác là 2 lần/tuần. Mỗi cá thể trâu đực được lấy tinh trong 4 mùa (Xuân, Hè, Thu, Đông) và mỗi mùa lấy 10 mẫu tinh dịch/cá thể.

- **Phương pháp xác định các chỉ tiêu chất lượng tinh dịch và tiêu chuẩn chất lượng tinh dịch làm đông lạnh:**

+ Thể tích tinh dịch (V) được xác định bằng ống nhựa có chia vạch khắc ml, đặt thẳng bằng ngang tầm mắt. Đọc kết quả theo mặt cong của mặt thoáng tinh dịch.

+ Hoạt lực tinh trùng (A): Dùng micropipet hút 0,01 ml tinh dịch + 0,09 ml dung dịch A (môi trường pha loãng tinh dịch không có glycerol) rồi nhỏ lên phiến kính chuyên dụng và được giữ ấm ở nhiệt độ 38°C. Dùng lamien khô, sạch đẩy lên giọt tinh sao cho giọt tinh dịch quét đều bốn cạnh của lamien. Đưa phiến kính lên soi dưới kính hiển vi với độ phóng đại 200 lần. Tiến hành ước lượng tỷ lệ phần trăm số tinh trùng tiến thẳng so với tổng số tinh trùng có trong vi trường mà ta quan sát được. Việc đánh giá cho điểm được tiến hành theo thang điểm 10 của Milovanov.

+ Nồng độ tinh trùng (C): Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng phương pháp xác định nồng độ tinh trùng bằng buồng đếm Newbower.

Lắp lamelle kính đã được làm sạch, khô lên mặt buồng đếm. Dùng ống pha loãng hồng cầu để hút tinh dịch đến vạch 0,5 sau đó hút tiếp dung dịch NaCl 3% đến vạch 11. Chú ý: không được để có bọt khí trong ống pha loãng hồng cầu trong quá trình hút. Nếu có bọt khí phải súc rửa sạch ống pha loãng và làm lại. Bịt hai đầu ống pha loãng bằng ngón tay cái và ngón tay giữa, lắc nhẹ từ 5-6 lần cho tinh dịch trộn đều với dung dịch NaCl. Mức độ pha loãng 200 lần. Bỏ đi vài giọt dung dịch ở phần ống phía dưới, nhỏ hỗn hợp này vào trong buồng đếm sau đó đưa lên kính hiển vi có độ phóng đại 200-400 lần để đếm.

+ Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K): Được xác định như sau:

Phết tiêu bản: Lấy một phiến kính A khô sạch, không có vết xước trên mặt. Ghi số hiệu đực giống, ngày kiểm tra ở một đầu phiến kính, lấy một giọt tinh dịch kéo ngang trên phiến kính. Đặt chiều rộng lam kính B trùng khít với cạnh ngang tinh dịch và nghiêng phiến kính A một góc 45°, kéo xuôi nhẹ một lần sao

cho tinh dịch dàn đều trên phiến kính A.

Cố định: Để phiến kính có tinh dịch dàn đều tự khô trong không khí hoặc hơi nhẹ trên ngọn lửa đèn cồn để tinh trùng dính chặt trên lam kính, cố định 2 - 3 phút sau đó cho vào nước chảy nhẹ vào lam kính (tránh tinh trùng bị trôi mất), vẩy khô.

Nhuộm: Dùng Methylen 5% hoặc đá Fucxin 5% hoặc Rosa bengad 5% nhỏ lên phiến kính để trong 5 phút, sau đó từng giọt nước trôi thật nhẹ nhàng trên lam kính bằng nước sạch, vẩy khô.

Quan sát trên kính hiển vi và đếm: Đặt phiến kính lên kính hiển vi với độ phóng đại 400 lần, đếm số tinh trùng kỳ hình và tổng số tinh trùng có trong vi trường.

Đếm hết tinh trùng trong vi trường này xong mới chuyển sang vi trường khác cho đủ tổng số tinh trùng trong khoảng 300 - 500. Nếu vi trường có tinh trùng quá dày thì chọn vi trường khác để đếm.

Công thức tính như sau:

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

+ Tỷ lệ tinh trùng sống (Sg): Xác định bằng cách nhỏ 1 giọt tinh dịch lên lam kính lõm và 2 giọt Eosin 5%, đảo nhẹ, sau đó nhỏ 4 giọt Nigrosin 10%, đảo nhẹ, để ấm 37°C trong 30 giây. Lấy 1 giọt tinh dịch đã nhuộm phết kính dàn mỏng đều đưa lên kính hiển vi với độ phóng đại 400 lần. Đếm tổng số 500 tinh trùng gồm cả tinh trùng sống và tinh trùng chết (tinh trùng chết là những tinh trùng bắt màu đỏ Eosin). Tính tỷ lệ tinh trùng sống bằng công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ tinh trùng sống (\%)} = \frac{\text{Số lượng tinh trùng sống}}{500} \times 100$$

+ Tổng số tinh trùng tiến thẳng (VAC): là tích số của thể tích tinh dịch khai thác được (V - ml) với hoạt lực (A) và nồng độ (C - tỷ/ml).

+ Những lô tinh dịch đạt các chỉ tiêu: $A \geq 70\%$, $K \leq 15\%$, $Sg \geq 70\%$ và C cao nhất sẽ làm đông lạnh. Mật độ tinh trùng làm đông lạnh đạt 50 triệu/cọng rạ.

- Môi trường đông lạnh và cân bằng tinh dịch:

+ Môi trường đông lạnh tinh dịch: Môi trường pha loãng, đông lạnh tinh dịch được dùng trong thí nghiệm là môi trường Tris của Nhật Bản với 3 mức glycerin là 6,5, 7,5 và 8,5%.

+ Pha chế môi trường và cân bằng tinh dịch:

Phương pháp pha loãng tinh dịch: Môi trường pha loãng, bảo tồn tinh dịch được chia thành 2 phần A và B, trong đó phần A không có glycerin và phần B được bổ sung glycerin với 3 mức khác nhau.

Bảng 1. Thành phần môi trường pha loãng, đông lạnh tinh dịch

TT	Thành phần	ĐVT	MT1	MT2	MT3
1	Tris	g	1,363	1,363	1,363
2	Axit Citric	g	0,762	0,762	0,762
3	Fructose	g	0,375	0,375	0,375
4	Lactose	g	1,5	1,5	1,5
5	Raffinose	g	2,7	2,7	2,7
6	Penicillin G	UI/ml	100.000	100.000	100.000
7	Streptomycin	mg/ml	100	100	100
8	Glycerin	%	6,5	7,5	8,5
9	Lòng đồ trứng gà	%	20	20	20
10	Nước cất để vừa đủ 100 ml				

Cân bằng tinh dịch theo 2 bước:

+ Bước 1: Tinh dịch thu được sau khai thác được pha loãng lần 01 ở nhiệt độ 15°C với phần A cho đến thể tích bằng 1/2 thể tích cuối cùng cần đạt được (cân bằng lần 1), rồi hạ nhiệt độ tinh dịch được pha loãng lần 01 từ 15°C xuống đến 5°C trong thời gian 1,5 h.

+ Bước 2: Cho dung dịch phần B (có glycerin) vào dung dịch pha loãng ở bước 1, lắc nhẹ tinh dịch trộn đều, tiếp tục cân bằng ở 5°C trong 4 giờ. Sau đó nạp tinh vào cọng rạ.

Nạp tinh vào cọng rạ và đông lạnh tinh dịch: Tinh dịch sau khi đã được cân bằng bước 2 được nạp vào các cọng rạ bằng phương pháp thủ công. Sau khi nạp tinh xong dùng sáp dẻo hoặc viên bi để bịt đầu cọng rạ. Sau đó đem cọng rạ đông lạnh trong hơi nitơ lỏng (-80 đến -90°C) ở 10 phút, rồi hạ nhiệt xuống -140°C trong 5 phút, cọng rạ được tiếp tục đông lạnh sâu ở -196°C (Ansari và cs, 2011) [5].

- Phương pháp đông lạnh tinh dịch và giải đông:

+ Đông lạnh tinh dịch: Các cọng rạ chứa tinh dịch được làm đông lạnh trên hơi nitơ lỏng (-80°C) trong thời gian 20 phút; sau đó được đông lạnh sâu ở nitơ lỏng (-196°C).

+ Giải đông: cọng rạ chứa tinh dịch đông lạnh ở -196°C được giải đông ở nhiệt độ là 37°C trong 30 giây.

- Phương pháp đánh giá hoạt lực tinh trùng sau giải đông: Dùng micropipet lấy 0,23 µl

tinh dịch sau giải đông (đã được pha loãng bằng môi trường MTS) nhỏ lên phiến kính chuyên dụng (dùng riêng cho phần mềm Sperm Vision 3.0) có nhiệt độ ổn định 37°C và đánh giá hoạt lực bằng phần mềm Sperm Vision 3.0, máy PhotometerSDM5 (hãng Minitub, Đức). Chỉ số hiện trên máy là nồng độ tinh trùng (tỷ/ml).

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

- Các số liệu có bản chất là phần trăm như hoạt lực tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình, tỷ lệ tinh trùng sống được chuyển dạng số liệu theo công thức $y = \arcsin[\sqrt{x/100}]$ trước khi đưa vào xử lý thống kê. Sau khi tính toán xong, giá trị trung bình (Mean) và độ lệch chuẩn (SD) của các chỉ tiêu này được chuyển dạng trở lại công thức $x = [\sin(y)]^2 \times 100$ (Nguyễn Văn Đức và Lê Thanh Hải, 2002).

- Các số liệu về số lượng, chất lượng tinh dịch trâu (thể tích tinh dịch, hoạt lực tinh trùng, nồng độ tinh trùng, tổng số tinh trùng tiến thẳng, pH, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình, tỷ lệ tinh trùng sống) được phân tích phương sai (ANOVA) một nhân tố, sử dụng phương pháp kiểm tra Tukey trong phần mềm Minitab 16 nhằm đánh giá sự sai khác giá trị trung bình của các chỉ tiêu theo từng cá thể và theo từng mùa vụ trong năm ($P < 0,05$).

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Chất lượng tinh dịch của trâu Murrah

Bảng 2. Chất lượng tinh dịch trâu Murrah sau khai thác

Số hiệu trâu	Số lần khai thác	V (ml)	A (%)	C (tỷ/ml)	K (%)	Sg (%)	VAC (tỷ)
		Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
05	40	3,18 ^a $\pm$ 0,21	70,89 ^a $\pm$ 1,45	0,99 ^a $\pm$ 0,11	6,63 ^b $\pm$ 1,67	94,78 ^a $\pm$ 0,67	2,20 ^a $\pm$ 0,48
06	40	3,04 ^b $\pm$ 0,23	70,65 ^b $\pm$ 1,40	1,02 ^a $\pm$ 0,08	7,17 ^a $\pm$ 0,25	94,09 ^b $\pm$ 1,22	2,18 ^a $\pm$ 0,25
07	40	3,08 ^b $\pm$ 0,21	70,52 ^b $\pm$ 1,06	1,01 ^a $\pm$ 0,08	7,41 ^a $\pm$ 0,39	94,66 ^a $\pm$ 0,60	2,19 ^a $\pm$ 0,30

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị Mean có chữ cái khác nhau là có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Số liệu bảng 2 cho thấy, thể tích tinh dịch của 3 trâu nghiên cứu đạt trung bình 3,1 ml, dao động từ 3,08 ml (ở trâu 07) đến 3,18 ml (ở trâu 05), trong đó trâu số 05 có thể tích tinh dịch cao rõ rệt so với trâu 06, 07 ($P < 0,05$). Kết quả thu được của chúng tôi là phù hợp với các kết quả nghiên cứu của các tác giả đã công bố: Tạ Văn Cần (2006) [6] cho biết, thể tích tinh dịch trâu Murrah biến động 2,35 - 3,5 ml. Trịnh Thị Kim Thoa (2006) [3] nhận thấy, thể tích tinh dịch trâu Murrah trung bình đạt khoảng 2,93 ml.

Hoạt lực trung bình của tinh trùng trâu Murrah đạt 70,69%, biến động trong khoảng từ 70,65% đến 70,89%. Trâu số 05 có hoạt lực tinh trùng cao hơn rõ rệt so với trâu số 06 và số 07 ($P < 0,05$) (Bảng 2). Alavi-Shoushtari và cs (2006) [7] nhận thấy, trâu Azarbaijani có hoạt lực tinh trùng đạt 75,85%. Theo Tạ Văn Cần (2006) [6], tinh trâu Murrah có hoạt lực từ 72 - 73%. Nhưng kết quả của chúng tôi cao hơn công bố của Trịnh Thị Kim Thoa (2006) [3], khi tác giả cho biết hoạt lực tinh trùng của trâu Murrah đạt 68,40%. Sự khác biệt về giá trị hoạt lực tinh trùng trong các nghiên cứu nêu trên có thể là do sự khác nhau về các điều kiện nghiên cứu như giống, độ tuổi, môi trường sống...

Bảng 2 cũng cho thấy, nồng độ tinh trùng trung bình của 3 trâu đạt 1 tỷ/ml (dao động từ 0,99 - 1,02 tỷ/ml). Tuy nhiên, không có sự khác nhau đáng kể nào giữa các trâu thí nghiệm ($P > 0,05$). Kết quả này là phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Trịnh Thị Kim Thoa (2006) [3] cũng cho biết, nồng độ tinh trùng trâu Murrah nuôi tại Việt Nam đạt 1,03 tỷ/ml.

Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trung bình của 3 trâu trong thí nghiệm là 7,07%, trong đó trâu số 05 có tỷ lệ tinh trùng kỳ hình thấp nhất (6,63%) và thấp hơn rõ rệt so với trâu số hiệu 06 và 07 ($P < 0,05$). Tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng trâu cũng biến động qua các nghiên cứu. Trâu Murrah nuôi tại Ấn Độ có tỷ lệ tinh trùng kỳ hình là 12,57% (Shukla và Misra, 2005) [8]. Trịnh Thị Kim Thoa (2006) [3] cho biết, tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của trâu đầm lầy là 7,48% và của trâu Murrah là 7,93%.

Tỷ lệ tinh trùng sống của 3 trâu nghiên cứu đạt trung bình là 94,51% (biến động trong phạm vi hẹp, từ 94,09 - 94,78%). Kết quả này cao hơn so với một số các nghiên cứu ở nước ngoài đã công bố nhưng thấp hơn so với một số kết quả nghiên cứu trong nước. Herdis và cs (1999) [9] cho biết, tỷ lệ tinh trùng sống của trâu đầm lầy Indonesia chỉ đạt 78,67%; trâu Azarbaijani có tinh trùng sống là 73,2% và trâu Ai Cập có là 70,9% (Alavi-Shoushtari và cs, 2006) [7]. Trái lại, Trịnh Thị Kim Thoa (2006) [3] lại cho biết, tỷ lệ tinh trùng sống của trâu đầm lầy đạt 95,78% và của trâu Murrah nuôi tại Việt Nam đạt 96,36%.

Bảng 2 cũng cho biết, tổng số tinh trùng tiến thẳng trung bình đạt 2,19 tỷ/lần xuất tinh (biến động từ 2,18 - 2,2 tỷ/lần xuất tinh). Tuy nhiên, không có sự khác nhau đáng kể nào về chỉ tiêu này giữa các trâu nghiên cứu ($P > 0,05$). Các nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra, tổng số tinh trùng tiến thẳng/lần xuất tinh biến động lớn giữa các giống trâu. Tỷ lệ tinh trùng tiến thẳng/lần xuất tinh của trâu Murrah nuôi tại Ấn Độ chỉ đạt 2,56 tỷ (Bhakat và cs, 2011) [10].

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường sống đến chất lượng tinh dịch trâu Murrah

Bảng 3. Số lượng và chất lượng tinh dịch trâu Murrah qua các môi trường sống khác nhau

Môi trường sống theo mùa vụ	Số lần khai thác	V (ml) Mean $\pm$ SD	A (%) Mean $\pm$ SD	C (tỷ/ml) Mean $\pm$ SD	K (%) Mean $\pm$ SD	Sg (%) Mean $\pm$ SD	VAC (tỷ) Mean $\pm$ SD
Xuân	30	3,21 ^a $\pm$ 0,19	70,17 ^b $\pm$ 0,62	0,91 ^c $\pm$ 0,08	7,09 ^c $\pm$ 0,14	94,52 ^{ab} $\pm$ 0,42	2,05 ^c $\pm$ 0,21
Hè	30	2,92 ^c $\pm$ 0,24	70,28 ^b $\pm$ 1,31	0,96 ^b $\pm$ 0,06	7,18 ^{bc} $\pm$ 0,33	94,21 ^b $\pm$ 1,01	1,97 ^c $\pm$ 0,21
Thu	30	3,21 ^a $\pm$ 0,13	70,96 ^a $\pm$ 0,87	1,06 ^a $\pm$ 0,04	7,29 ^{ab} $\pm$ 0,29	94,82 ^a $\pm$ 0,61	2,47 ^a $\pm$ 0,08
Đông	30	3,05 ^b $\pm$ 0,12	71,00 ^a $\pm$ 1	1,08 ^a $\pm$ 0,06	7,47 ^a $\pm$ 0,36	94,23 ^a $\pm$ 0,72	2,26 ^a $\pm$ 0,15

Bảng 4. Chất lượng tinh dịch của trâu Murrah sau giải đông

Môi trường	Chỉ tiêu (n = 10)		
	A (%) Mean $\pm$ SD	K (%) Mean $\pm$ SD	Sg (%) Mean $\pm$ SD
MT1	39,85 ^b $\pm$ 2,67	10,69 ^b $\pm$ 0,61	84,77 ^b $\pm$ 0,85
MT2	42,30 ^a $\pm$ 2,23	9,92 ^c $\pm$ 0,98	85,27 ^a $\pm$ 1,68
MT3	40,19 ^b $\pm$ 2,83	11,13 ^a $\pm$ 0,48	84,66 ^b $\pm$ 1,02

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị Mean có chữ cái khác nhau là có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$)

Qua số liệu của bảng 3 cho thấy, ở mùa vụ khác nhau ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng và số lượng tinh dịch của trâu Murrah. Thể tích tinh dịch của mùa xuân và mùa thu cao (3,21 ml) cao hơn so với mùa hè và mùa đông. Hoạt lực và nồng độ tinh trùng của mùa đông cao nhất và mùa xuân là thấp nhất (lần lượt 71% và 1,08 tỷ/ml so với 70,17% và 0,91 tỷ/ml). Tỷ lệ tinh trùng sống và tổng số tinh trùng tiến thẳng/lần xuất tinh ở mùa thu (94,82% và 2,47 tỷ) cao hơn các mùa còn lại. Tỷ lệ kỳ hình ở mùa đông cao nhất (7,47%) và thấp nhất là mùa xuân (7,09%).

Manik và Mudgal (1984) [11] công bố, thể tích xuất tinh của trâu Murrah ở mùa thu dao động từ 3,48 - 4,38 ml và ở mùa đông từ 3,88 - 4,02 ml. Mandal và cs. (2000) [12] cho biết, ở mùa hè, tinh dịch trâu Murrah có hoạt lực tinh trùng đạt 63,86%, sang mùa mưa và mùa đông, hoạt lực tinh trùng trâu tăng lên tương ứng là 67,66% và 67,99%.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường đông lạnh đến chất lượng tinh dịch trâu Murrah

Từ kết quả nghiên cứu chất lượng tinh dịch của từng cá thể trâu Murrah (Bảng 2), chúng tôi nhận thấy, trâu đực số 05 có các chỉ tiêu chất lượng tinh dịch tốt hơn so với các trâu đực số 06 và 07, cụ thể là chỉ tiêu V và Sg cao hơn rõ rệt, chỉ tiêu A và VAC có xu hướng

cao hơn và chỉ tiêu K thấp hơn rõ rệt so với trâu đực số 06, 07, chỉ có chỉ tiêu C là tương đương trâu 06, 07. Do vậy, chúng tôi quyết định chọn tinh dịch của trâu số 05 được khai thác vào mùa thu để thực hiện nghiên cứu lựa chọn môi trường đông lạnh thích hợp. Kết quả đánh giá các chỉ tiêu chất lượng tinh dịch sau đông lạnh được trình bày tại bảng 4.

Số liệu của bảng 4 cho thấy, hoạt lực của tinh trùng sau giải đông dao động (từ 39,85 – 42,30%). Tuy nhiên, tỷ lệ tinh trùng sống và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình sau giải đông có biến động rõ rệt giữa các môi trường đông lạnh. Môi trường MT2 có tỷ lệ tinh trùng sống cao hơn hẳn môi trường MT1 và MT3 (85,27 so với 84,77 và 84,66%) ($P < 0,05$) và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình lại thấp hơn rõ rệt môi trường MT1 và MT3 (9,92 so với 10,6 và 11,13%) ($P < 0,05$). Điều đó cho thấy môi trường MT2 là phù hợp hơn trong bảo tồn tinh ở dạng đông lạnh.

Các nghiên cứu ở nước ngoài cho biết hoạt lực của tinh trùng sau giải đông biến động trong phạm vi rộng. Andrabi và cs (2009) [13] cho biết, hoạt lực tinh trùng trâu sau giải đông đạt 43,7%.

Một vài nghiên cứu ở Việt Nam cho thấy, hoạt lực của tinh trùng sau giải đông như sau: Theo Trịnh Thị Kim Thoa (2006) [3] sử dụng

môi trường TCA làm đông lạnh chậm tinh trâu đầm lầy cho biết, hoạt lực sau giải đông đạt 42,5%. Hà Minh Tuấn (2014) [4] cho biết, sử dụng môi trường glycerin 6,5% bằng phương pháp đông lạnh chậm tinh trâu Việt Nam cho biết, hoạt lực sau giải đông đạt 51,97%.

Sự sai khác về chất lượng tinh trùng sau giải đông giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến môi trường, kỹ thuật và điều kiện bảo tồn tinh dịch cũng như phương pháp giải đông trong các nghiên cứu.

4. Kết luận

- Chất lượng tinh dịch trâu Murrah chịu ảnh hưởng rõ rệt của cá thể. Trong 3 trâu nghiên cứu, trâu số 05 có thể tích tinh dịch, hoạt lực tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng sống và tổng số tinh trùng tiến thẳng cao nhất (3,18 ml, 70,89%, 94,78%, 2,2 tỷ/lần) và tỷ lệ tinh trùng kỳ hình thấp nhất (6,63%).

- Mùa vụ có ảnh hưởng rõ rệt tới chất lượng tinh dịch. Tinh dịch trâu Murrah ở mùa thu cho chất lượng tốt nhất.

- Môi trường 2 (MT2) có tỷ lệ glycerin 7,5% cho chất lượng tinh dịch sau đông lạnh và giải đông tốt nhất với các chỉ tiêu A đạt 39,93%, K đạt 9,92% và Sg đạt 85,27%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1]. V. S. Mai, "The ability to grow, reproduce, milk, meat of Murrah buffalo raised in Be river and result in crossbreeding with domestic buffalo," Doctoral thesis in agricultural sciences, National Institute of Animal Science, Hanoi, 1996.
- [2]. M. T. Javed, A. Khan, and R. Kausar, "Effect of age and season on some semen parameters of Nili-Ravi buffalo (*Bubalus bubalis*) bulls," *Vet. Arhiv.*, vol. 70, pp. 83-94, 2000.
- [3]. T. K. T. Trinh, *Research and development of frozen semen technology in artificial buffalo fertilization*, Summary report on the task, Institute of Biotechnology, IBT, 2006.
- [4]. M. T. Ha, "Research on producing frozen semen straws of Vietnamese buffalo," Doctoral thesis in agricultural sciences, National Institute of Animal Science, Hanoi, 2014.
- [5]. M. S. Ansari, B. A. Rakha, S. M. Andrabi, and S. Akhter, "Effect of straw size and thawing time on quality of cryopreserved buffalo (*Bubalus bubalis*) semen," *Reprod. Biol.*, vol. 11, no. 1, pp. 49-54, 2011.
- [6]. V. C. Ta, "Studying and breeding Murrahi bulls with local female buffaloes and assessing the growth ability of F1 crossbreds reared at households," Doctoral thesis in agricultural sciences, Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, 2006.
- [7]. S. M. Alavi-Shoushtari, and B. Babazadeh Habashi, "Seasonal variation in the characteristics of the Azarbaijani buffalo (*Bubalus bubalis*) semen," *Iranian Journal of Veterinary Research*, vol. 7, no. 1, pp. 49-54, 2006.
- [8]. M. K. Shukla, and A. K. Misra, "Correlation between seminal characteristics in Murrah bulls," *Indian Journal of Animal Sciences*, vol. 75, no. 3, pp. 263-266, 2005.
- [9]. B. P. Herdis, I. Supriatna, and I. G. Putu, "Integrity of swamp buffalo sperm on a variety of semen freezing process," *Jurnal Ilmu Ternakdan Veteriner*, vol. 4, no. 1, pp. 7-12, 1999.
- [10]. M. Bhakat, T. K. Mohanty, V. S. Raina, A. K. Gupta, and H. M. Khan, "Frozen semen production performance of Murrah buffalo bulls," *Buffalo Bulletin*, vol. 30, no. 2, pp. 157-162, 2011.
- [11]. R. S. Manik, and V. D. Mudgal, "Monthly and seasonal variation in physico-chemical and biochemical attributes of buffalo semen," *World Rev. Anim. Prod.*, vol. 4, pp. 45-50, 1984.
- [12]. D. K. Mandal, P. K. Nagpaul, and A. K. Gupta, "Seasonal variation in seminal attributes and sexual behaviour of Murrah buffalo bulls," *Indian J. Dairy Sci.*, vol. 53, pp. 278-283, 2000.
- [13]. S. M. H. Andrabi, "Factors Affecting the Quality of Cryopreserved Buffalo (*Bubalus bubalis*) Bull Spermatozoa," *Reprod. Dom. Anim.*, vol. 44, pp. 552-569, 2009.