

Qui Trình Khoa Học Sử Dụng Khi Đánh Giá Dẫn Tinh Quản Absolute Σ UI™ So Với Dẫn Tinh Quản Đầu Bông Truyền Thống

Nghiên cứu viên:

PGS. Kampon Kaeoket, DVM, MSc, PhD (Sinh sản heo)

E-mail: vskkk@mahidol.ac.th

TS. Dusit Laohasinnarong, DVM E-mail: vsdlh@mahidol.ac.th

Khoa Khoa học Thú y, Đại học Mahidol, Salaya, Phutthamonthon, Nakorn-pathom,
Thailand 73170

Tel: 66 02 4415242 ext 1526 Fax: 66 02 4410937

Mục tiêu

- So sánh sự phân bố tinh trùng tại đoạn nối ống tử cung (UTJ) và ống dẫn trứng (so sánh giữa AI và IUI)
- So sánh tỷ lệ thụ tinh (so sánh giữa AI và IUI)
- So sánh tỷ lệ mang thai (so sánh giữa AI và IUI)
- So sánh tỷ lệ đẻ (so sánh giữa AI và IUI)
- So sánh số con sinh ra trong ổ (so sánh giữa AI và IUI)
- So sánh liều gieo tinh (1.5 so với 3.0×10^9 tinh trùng)

Thiết kế thí nghiệm

60 con nái được phân vào 4 nhóm (15 nái mỗi nhóm). Chúng được mua từ một trại heo thương phẩm và được nuôi tại trường Đại học Mahidol.

Nhóm-A (15 nái): được gieo bằng **dẫn tinh quản đầu bông** với **1.5×10^9** tinh trùng/liều tinh.

Nhóm-A1 (5 nái): mổ khảo sát để xem sự phân bố tinh trùng trong tử cung và ống dẫn trứng (5-6 giờ sau khi gieo tinh)

Nhóm-A2 (5 nái): mổ khảo sát để xem tỷ lệ thụ tinh (3 ngày sau khi gieo tinh)

Nhóm-A3 (5 nái): xem tỷ lệ mang thai, tỷ lệ đẻ và số con sinh ra

Nhóm-B (15 nái): được gieo bằng **dẫn tinh quản đầu bông** với **3.0×10^9** tinh trùng/liều tinh.

Nhóm-B1 (5 nái): mổ khảo sát để xem sự phân bố tinh trùng trong tử cung và ống dẫn trứng (5-6 giờ sau khi gieo tinh)

Nhóm-B2 (5 nái): mổ khảo sát để xem tỷ lệ thụ tinh (3 ngày sau khi gieo tinh)

Nhóm-B3 (5 nái): xem tỷ lệ mang thai, tỷ lệ đẻ và số con sinh ra

Group-C (15 nái): được gieo bằng **dẫn tinh quản mới (Absolute Σ UI™)** với

1.5×10^9 tinh trùng/liều tinh.

Nhóm-C1 (5 nái): mổ khảo sát để xem sự phân bố tinh trùng trong tử cung và ống dẫn trứng (5-6 giờ sau khi gieo tinh)

Nhóm-C2 (5 nái): mổ khảo sát để xem tỷ lệ thụ tinh (3 ngày sau khi gieo tinh)

Nhóm-C3 (5 nái): xem tỷ lệ mang thai, tỷ lệ đẻ và số con sinh ra

Nhóm-D (15 nái): được gieo bằng **dẫn tinh quản mới (Absolute Σ UI™)** với

3.0×10^9 tinh trùng/liều tinh.

Nhóm-D1 (5 nái): mổ khảo sát để xem sự phân bố tinh trùng trong tử cung và ống dẫn trứng (5-6 giờ sau khi gieo tinh)

Nhóm-D2 (5 nái): mổ khảo sát để xem tỷ lệ thụ tinh (3 ngày sau khi gieo tinh)

Nhóm-D3 (5 nái): xem tỷ lệ mang thai, tỷ lệ đẻ và số con sinh ra

Vật liệu và Phương pháp

Phát hiện lên giống và theo dõi sự rụng trứng

Phát hiện lên giống được thực hiện bằng việc kiểm tra âm hộ xem có dấu hiệu đỏ và sưng không (giai đoạn tiền động dục) cũng như phát hiện dấu hiệu chịu được đứng yên (giai đoạn động dục) khi có sự hiện diện của con đực. Phát hiện lên giống thực hiện hai lần mỗi ngày. Tiếp theo là theo dõi sự rụng trứng cứ mỗi 8 giờ sau bằng siêu âm trực tràng theo mô tả trước đó (Kaeoket và ctv, 2002; Kaeoket và ctv, 2005).

Gieo tinh và mổ khảo sát

Tất cả các con nái được gieo hai lần với cùng một dẫn tinh viên vào lúc 24 giờ và 36 giờ sau khi có dấu hiệu lên giống đứng yên với liều tinh gộp chung (từ hai con đực có tinh được kiểm tra khả năng thụ tinh), chứa 1.5×10^9 hoặc 3×10^9 tinh trùng trong 100 ml BTS (Beltsville Thawing Solution; Pursel và Johnson, 1976). Sau khi pha loãng, tinh được trữ ở nhiệt độ 16-18°C và được sử dụng trong vòng 48 giờ, gieo bằng dẫn tinh quản đầu bông và dẫn tinh quản Absolute. Heo nái được bố trí **mổ khảo sát ở các nhóm khác nhau**.

Nhóm-A (15 nái): được gieo bằng **dẫn tinh quản đầu bông** với **1.5×10^9** tinh trùng/liều tinh.

Nhóm-A1 (5 nái): mổ khảo sát để xem sự phân bố tinh trùng trong tử cung và ống dẫn trứng (5-6 giờ sau khi gieo tinh)

Nhóm-A2 (5 nái): mổ khảo sát để xem tỷ lệ thụ tinh (3 ngày sau khi gieo tinh)

Nhóm-B (15 nái): được gieo bằng **dẫn tinh quản đầu bông** với **3.0×10^9** tinh trùng/liều tinh.

Nhóm-B1 (5 nái): mổ khảo sát để xem sự phân bố tinh trùng trong tử cung và ống dẫn trứng (5-6 giờ sau khi gieo tinh)

Nhóm-B2 (5 nái): mổ khảo sát để xem tỷ lệ thụ tinh (3 ngày sau khi gieo tinh)

Nhóm-C (15 nái): được gieo bằng **dẫn tinh quản mới (Absolute Σ UI™)** với

1.5 x 10⁹ tinh trùng/liều tinh.

Nhóm-C1 (5 nái): mổ khảo sát để xem sự phân bố tinh trùng trong tử cung và ống dẫn trứng (5-6 giờ sau khi gieo tinh)

Nhóm-C2 (5 nái): mổ khảo sát để xem tỷ lệ thụ tinh (3 ngày sau khi gieo tinh)

Nhóm-D (15 nái): được gieo bằng **dẫn tinh quản mới (Absolute Σ UI™)** với **3.0 x 10⁹** tinh trùng/liều tinh.

Nhóm-D1 (5 nái): mổ khảo sát để xem sự phân bố tinh trùng trong tử cung và ống dẫn trứng (5-6 giờ sau khi gieo tinh)

Nhóm-D2 (5 nái): mổ khảo sát để xem tỷ lệ thụ tinh (3 ngày sau khi gieo tinh)

Các cơ quan sinh sản được cắt ngay sau khi mổ. Đếm số lượng hoàng thể.

Hồi phục noãn và tinh trùng lấy ra từ ống dẫn trứng

Kỹ thuật rửa cho phép xác định chính xác hơn số lượng và sự phân bố của tinh trùng trong ống dẫn trứng so với quan sát tại chỗ bằng kính hiển vi điện tử quét (Mburu và ctv, 1996). Vì lý do đó, đoạn nối ống tử cung UTJ (1 cm của đầu sừng tử cung và 1 cm của đoạn hẹp) được rửa hai lần với 0.5 ml và đoạn hẹp và đoạn rộng của ống dẫn trứng được rửa riêng hai lần với 10 ml dung dịch phosphate buffer saline (PBS) ở 37°C (cả hai bên). Tất cả nước rửa ra được cho trực tiếp vào lọ nhựa Eppendorf (đối với UTJ) hoặc đĩa petri (đối với đoạn hẹp và đoạn rộng ống dẫn trứng). Tinh trùng lấy từ đoạn nối ống tử cung được cố định trong dung dịch formal-saline và đếm số lượng dưới kính hiển vi sử dụng buồng đếm hồng cầu (Buồng đếm Bürker, độ phóng đại x400). Noãn được hồi phục dưới kính hiển vi lập thể và được xem bằng kính hiển vi ngược pha (độ phóng đại x200) tìm sự hiện diện của tinh trùng trong vùng trong suốt của noãn. Ống dẫn trứng (đoạn hẹp và đoạn rộng) cũng được rửa để làm hồi phục noãn.

Hồi phục noãn không được thụ tinh và noãn đã có sự phân chia lấy ra từ sừng tử cung

Sừng tử cung (20 cm từ phía đầu sừng tử cung) được rửa hai lần với 20 ml dung dịch phosphate buffer saline (PBS) ở 37°C và nước rửa được cho vào đĩa petri. Sau đó noãn được tách ra và khảo sát hình thái cũng như giai đoạn phát triển dưới kính hiển vi lập thể và kính hiển vi ngược pha (Olympus, Japan; độ phóng đại x200). Noãn được xem là không thụ tinh khi không thấy có sự phân chia tế bào. Noãn có sự phân chia tế bào được xem là bình thường khi nhìn thấy có một khoảng vòng sáng noãn hoàng và phôi bào phân bố không có sự phân rã.

Tỷ lệ mang thai, tỷ lệ đẻ và số con

Khám thai được thực hiện trong khoảng 18-21 ngày sau khi gieo bằng máy siêu âm (B-mode).

Tỷ lệ đẻ và số con cũng được ghi lại.

Phân tích thống kê

Số liệu được phân tích bằng chương trình SAS (1989). PROC FREQ (trắc nghiệm Fisher, hai đuôi) được sử dụng để so sánh sự phân bố của tinh trùng, số lượng noãn có tinh trùng nằm trong vùng trong sáng và noãn đã thụ tinh giữa dẫn tinh quản đầu bông và dẫn tinh quản gieo vào trong tử cung IUI.

Tài liệu tham khảo

- Mburu, J.N., Einarsson, S., Lundeheim, N., Rodriguez-Martinez, H., 1996. Distribution, number and membrane integrity of spermatozoa in the pig oviduct in relation to spontaneous ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 45, 109-121.
- Kaeoket, K., Persson E., Dalin A.-M., 2002. The influence of pre- and post-ovulatory insemination on sperm distribution in the oviduct, accessory sperm to the zona pellucida, fertilisation rate and embryo development in sows. *Anim. Reprod. Sci.* 71, 239-248.
- Kaeoket, K., Tantasuparuk, W, Kunavongkrit, A. 2005. The effect of post-ovulatory insemination on the subsequent oestrous cycle length, embryonic loss and vaginal discharge in sows. *Reprod. Dom. Anim.* 40, 492-494.