

**VIỆN HÀN LÂM KH&CN VIỆT NAM**  
**VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT**

-----\*\*\*-----

**LUẬN VĂN CAO HỌC**  
**Mã số: 60420103**

**Đề tài:**

**NGIÊN CỨU HOÀN THIỆN CÔNG NGHỆ ĐÔNG LẠNH TINH DỊCH  
CHÓ BERGER BẢO TỒN Ở -196<sup>0</sup>C**

**Học viên: Trần Xuân Khôi**

**Lớp: CHST \_ K15**

**Hướng dẫn: TS. Đỗ Văn Thu**

**Hà Nội, 2013**

## **Lời cảm ơn**

*Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới người thầy của tôi TS. Đỗ Văn Thu người đã hướng cho tôi những ý tưởng khoa học, tận tình hướng dẫn, truyền đạt kiến thức, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành luận văn này.*

*Tôi xin trân trọng cảm ơn tập thể phòng Sinh học tế bào sinh sản, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo mọi điều kiện cho tôi hoàn thành khóa học và luận văn này.*

*Tôi xin trân trọng cảm ơn tập thể cán bộ công nhân viên Cục Quản lý, huấn luyện và sử dụng chó nghiệp vụ - Bộ Công an đã giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện nghiên cứu này*

*Tôi xin cảm ơn tất cả các thầy cô giáo Đại học Thái Nguyên Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam đã dạy dỗ, chia sẻ, động viên, giúp tôi vượt qua mọi khó khăn để hoàn thành tốt khóa học và nghiên cứu của mình.*

*Cuối cùng, tôi xin tỏ lòng biết ơn đến bố mẹ, gia đình, bè bạn, những người luôn bên tôi, động viên, góp ý và tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt thời gian học tập và nghiên cứu.*

*Tác giả*

**Trần Xuân Khôi**

## **Lời cam đoan**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi và một số kết quả cùng cộng tác với các đồng sự khác. Các số liệu và kết quả trình bày trong luận văn là trung thực.

*Hà Nội, ngày            tháng            năm 2013*

Tác giả

**Trần Xuân Khôi**

## MỤC LỤC

MỤC LỤC.....	i
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT .....	vi
DANH MỤC BẢNG.....	vii
DANH MỤC HÌNH.....	viii
MỞ ĐẦU.....	1
Mục tiêu.....	2
CHƯƠNG I. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	3
1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới .....	3
1.1. Nghiên cứu sinh học tinh dịch và môi trường bảo tồn .....	4
1.2. Thụ tinh nhân tạo sử dụng tinh đông lạnh .....	10
2. Tình hình phát triển và sử dụng chó Berger ở Việt Nam.....	11
CHƯƠNG II. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP.....	13
1. Đối tượng nghiên cứu .....	13
2. Nội dung nghiên cứu .....	14
2.1. Đánh giá một số chỉ tiêu sinh học và tính chất lý hóa học của tinh dịch chó Berger.....	14
2.2. Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ đông lạnh tinh dịch chó Berger và ứng dụng sản xuất tinh chó đông lạnh bảo tồn ở -196°C.....	14
2.2.1. Nghiên cứu về môi trường.....	14
2.2.2. Nghiên cứu điều hòa cân bằng nhiệt.....	14
2.3. Sản xuất tinh chó Berger đông lạnh.....	15
2.3.1. Theo dõi chất lượng tinh chó Berger đông lạnh trong quá trình bảo tồn ở -196 <sup>0</sup> C.....	15
2.3.2. TTNT cho chó Berger để thử nghiệm tinh đông lạnh sản xuất được....	15
3. Phương pháp nghiên cứu.....	15
3.1. Phương pháp lấy tinh:.....	15
3.2. Phương pháp nghiên cứu sinh học tinh dịch chó .....	16

3.2.1. Lượng tinh dịch (V) .....	16
3.2.2. Hoạt lực tinh trùng (A) .....	16
3.2.3. Nồng độ tinh trùng (C) .....	16
3.2.4. Tổng số tinh trùng tiến thẳng (V.A.C) .....	17
3.2.5. Tỷ lệ tinh trùng sống (LS) .....	18
3.2.6. Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K) .....	18
3.3. Nghiên cứu môi trường bảo tồn .....	19
3.3.1. Xác định pH .....	19
3.3.2. Áp lực thẩm thấu (posm) .....	19
3.3.3. Tỷ trọng (d) .....	19
3.3.4. Độ nhớt ( $\eta$ ) .....	19
3.3.5. Năng lực đệm ( $\beta$ ) .....	20
3.3.6. Môi trường đông lạnh tinh dịch chó ở $-196^{\circ}\text{C}$ .....	21
3.3.7. Đông lạnh tinh dịch chó ở $-196^{\circ}\text{C}$ .....	21
3.3.8. Phương pháp TTNT chó Berger sử dụng tinh đông lạnh .....	26
<b>CHƯƠNG III. KẾT QUẢ VÀO THẢO LUẬN</b> .....	<b>29</b>
1. Sinh học tinh dịch chó Berger .....	29
1.1. Một số đặc điểm sinh học tinh dịch chó berger .....	29
1.2. Tính chất lý hóa của tinh dịch chó Berger .....	34
2. Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ đông lạnh tinh dịch chó và ứng dụng sản xuất tinh chó Berger đông lạnh bảo tồn ở $-196^{\circ}\text{C}$ .....	36
2.1. Tính chất hóa - lý của một số môi trường đông lạnh tinh dịch .....	36
2.2. Ảnh hưởng của glycerol và dimethyl sulfoxide(DMSO) lên chất lượng tinh dịch chó Berger .....	36
2.3. Ảnh hưởng của nồng độ glycerol lên chất lượng tinh dịch .....	38
2.4. Ảnh hưởng của thời điểm bổ sung phần môi trường có glycerol lên chất lượng tinh đông lạnh .....	40
2.5. Ảnh hưởng của thời gian ủ tinh dịch trước đông lạnh lên phẩm chất tinh đông lạnh .....	42

2.6.	Ảnh hưởng của nhiệt độ đông lạnh lên chất lượng tinh đông lạnh.....	44
2.7.	Ảnh hưởng của tốc độ giải đông lên phẩm chất tinh đông lạnh.....	45
2.8.	Kết quả sản xuất đông lạnh tinh dịch của chó .....	47
2.8.1.	<i>Hoạt lực tinh trùng trong quá trình đông lạnh.....</i>	47
2.8.2.	<i>Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trong quá trình đông lạnh .....</i>	48
2.8.3.	<i>Tỷ lệ sống của tinh trùng trong quá trình đông lạnh .....</i>	49
2.9.	Kết quả kiểm tra định kỳ chất lượng tinh chó đông lạnh.....	50
2.9.1.	<i>Hoạt lực tiến thẳng của tinh trùng chó đông lạnh trong thời gian bảo tồn ở -196<sup>0</sup>C .....</i>	50
2.9.2.	<i>Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh đông lạnh trong thời gian bảo tồn ở -196<sup>0</sup>C .....</i>	51
2.10.	Đánh giá chất lượng tinh đông lạnh - giải đông ủ ở 37 <sup>0</sup> C .....	52
2.10.1.	<i>Hoạt lực tinh trùng sau giải đông ủ ở 37<sup>0</sup>C .....</i>	52
2.10.2.	<i>Tỷ lệ sống của tinh trùng sau đông lạnh - giải đông ủ ở 37<sup>0</sup>C.....</i>	53
2.10.3.	<i>Tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng sau đông lạnh - giải đông ủ ở 37<sup>0</sup>C .....</i>	54
3.	Kết quả thụ tinh nhân tạo cho chó Berger .....	55
	<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>58</b>
1.	Kết luận .....	58
2.	Kiến nghị.....	58
	<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>59</b>
	Tài liệu trong nước .....	59
	Tài liệu nước ngoài .....	59

## DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

$\beta$ : Năng lực đệm

$\eta$ : Độ nhớt

A: Hoạt lực tinh trùng

C: Nồng độ tinh trùng

CHDC: cộng hoà dân chủ

D: Tỷ trọng

DMSO: dimethyl sulfoxide

K: Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình

LS :Tỷ lệ tinh trùng sống

OEP: Orvus ES Paste

Posm: Áp lực thẩm thấu

TTNT: Thụ tinh nhân tạo

V: Lượng tinh dịch

V.A.C: Tổng số tinh trùng tiến thẳng

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1: Một số chỉ tiêu sinh học tinh dịch chó Berger (n=40).....	29
Bảng 2: Tính chất lý hóa của tinh dịch chó Berger (n= 40).....	34
Bảng 3. Một số tính chất hoá - lý của các môi trường đông lạnh tinh dịch...	36
Bảng 4. So sánh ảnh hưởng của glycerol và DMSO lên chất lượng tinh dịch	37
Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ glycerol trong môi trường lên chất lượng tinh đông lạnh.....	39
Bảng 6. Ảnh hưởng của thời điểm bổ sung môi trường có glycerol lên chất lượng tinh chó đông lạnh .....	41
Bảng 7. Ảnh hưởng của thời gian ủ tinh dịch trước đông lạnh lên phẩm chất tinh đông lạnh.....	43
Bảng 8. Ảnh hưởng của nhiệt độ đông lạnh lên chất lượng tinh đông lạnh ...	44
Bảng 9. Ảnh hưởng của tốc độ giải đông (nhiệt độ và thời gian) lên chất lượng tinh đông lạnh .....	45
Bảng 10. Hoạt lực tinh trùng trong quá trình đông lạnh.....	48
Bảng 11. Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình trong quá trình đông lạnh .....	48
Bảng 12. Tỷ lệ sống của tinh trùng trong quá trình đông lạnh .....	49
Bảng 13. Hoạt lực tinh trùng của tinh đông lạnh trong thời gian bảo tồn ở -196 <sup>0</sup> C .....	50
Bảng 14. Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình của tinh đông lạnh trong thời gian bảo tồn ở -196 <sup>0</sup> C.....	51
Bảng 15. Hoạt lực tinh trùng sau giải đông ủ ở 37 <sup>0</sup> C .....	52
Bảng 16. Tỷ lệ sống của tinh trùng sau đông lạnh - giải đông ủ ở 37 <sup>0</sup> C .....	53
Bảng 17. Tỷ lệ kỳ hình của tinh trùng sau đông lạnh - giải đông ủ ở 37 <sup>0</sup> C....	54
Bảng 18: Kết quả thụ tinh nhân tạo bằng tinh chó Berger đông lạnh.....	57



## DANH MỤC HÌNH

Hình 1. Chó Berger được tham gia nghiên cứu .....	13
Hình 2. Tinh trùng sống - chết .....	32
Hình 3. Tinh trùng kỳ hình của chó Berger .....	33
Hình 4. Ảnh hưởng của chất bảo vệ lạnh lên hoạt lực tinh trùng sau đông lạnh .....	38
Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ glycerol lên hoạt lực tinh trùng trước và sau đông lạnh .....	40
Hình 6. Ảnh hưởng của thời điểm bổ sung môi trường có glycerol lên hoạt lực tinh trùng sau đông lạnh .....	42
Hình 7. Ảnh hưởng của thời gian ủ tinh dịch trước khi đông lạnh lên hoạt lực tinh trùng. ....	44
Hình 8. Ảnh hưởng của nhiệt độ đông lạnh lên hoạt lực của tinh trùng.....	45
Hình 9. Chó Berger mang thai nhờ TTNT .....	56
Hình 10. Chó con sinh ra nhờ TTNT .....	56

## MỞ ĐẦU

Từ xa xưa chó luôn là loài gần gũi và gắn bó với con người nhất trong tất cả các loài động vật. Nhờ các đặc điểm nổi bật hơn các loài vật khác, chó được sử dụng trong rất nhiều lĩnh vực phục vụ con người. Ngày nay, một số giống chó đã được huấn luyện, biệt hóa trở thành chó nghiệp vụ phục vụ cho công tác an ninh, quốc phòng... Trong đó, chó Berger nổi bật hơn cả bởi lòng dũng cảm, trí thông minh, sự trung thành tuyệt đối và khả năng học tập tiếp thu cao.

Chó Berger thuộc nhóm chó chăn gia súc, ban đầu được gây giống để chăn cừu. Do có sức lực, thông minh và có khả năng tuân thủ mệnh lệnh trong huấn luyện, chúng thường được dùng trong lực lượng cảnh sát và quân sự. Vì chúng rất trung thành và có bản năng bảo vệ chủ, Chó Berger là một trong các loài chó được yêu thích nhất trên toàn thế giới.

Giống chó Berger Việt Nam là con lai hỗn hợp từ chó Berger Trung Quốc (được nhập từ những năm 1960), Berger Liên Xô và CHDC Đức (nhập từ những năm 1970, 1980). Đây là hai giống chó chủ lực, được huấn luyện trang bị cho các đơn vị, quản lý sử dụng chó nghiệp vụ của công an các tỉnh, thành phố và các cơ sở giam giữ thuộc ngành Công an và các đồn biên phòng, cửa khẩu của lực lượng Bộ đội biên phòng. Ngoài ra, hiện nay chúng ta còn có thêm giống chó Berger Bỉ thuần chủng được nhập khẩu và nuôi dưỡng tại Cục Quản lý, huấn luyện và sử dụng chó nghiệp vụ (C69) – Bộ Công an.

Đàn chó Berger hiện tại ở nước ta có hàng nghìn con được nuôi tại Cục Quản lý, huấn luyện và sử dụng chó nghiệp vụ - Bộ Công an, trường D24 Bộ đội biên phòng, và khá nhiều trong khu vực nhân dân. Tại C69, hiện nay đang nuôi dưỡng và huấn luyện một đàn chó Berger tương đối thuần nhưng số lượng không nhiều. Trong khu vực nhân dân, chúng khá phổ biến và được dùng trong việc bảo vệ, trông nhà và làm kinh tế. Tuy nhiên, chúng bị lai tạp khá nhiều và không được chọn lọc do việc nhân giống tự phát của