

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT**

NGUYỄN THỊ HIỆP

**ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG NUÔI THÀNH
THỰC VÀ NỒNG ĐỘ TINH TỐI KHẢ NĂNG HÌNH
THÀNH TIỀN NHÂN VÀ SỰ PHÁT TRIỂN CỦA PHÔI
LỢN THU TINH ỐNG NGHIỆM**

Chuyên ngành: Động vật học

Hà Nội - 2014

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu do chính tôi thực hiện, các số liệu trong luận văn là trung thực và chính xác.

Tôi xin cam đoan mọi sự giúp đỡ cho việc thực hiện luận văn này đã được cảm ơn đầy đủ, các thông tin trích dẫn trong luận văn đã được chỉ rõ nguồn gốc.

Hà Nội, ngày 11 tháng 11 năm 2014

Tác giả luận văn

Nguyễn Thị Hiệp

LỜI CẢM ƠN!

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành và sâu sắc tới TS. Nguyễn Việt Linh, chủ nhiệm đề tài, người thầy đã tận tình hướng dẫn, tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi hoàn thành luận văn này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc tới TS. Bùi Xuân Nguyên, TS. Nguyễn Thị Ước, những người thầy đã tận tình dạy bảo, hướng dẫn tôi trong công việc chuyên môn cũng như những kinh nghiệm trong cuộc sống.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn chân thành tới tập thể cán bộ nghiên cứu Phòng Công nghệ Phôi đặc biệt là TS. Nguyễn Văn Hạnh, Ths. Nguyễn Thị Hồng, Ths. Nguyễn Thị Nhung, CN. Nguyễn Văn Lâm đã nhiệt tình giúp đỡ, ủng hộ và góp ý để tôi hoàn thành luận văn này.

Luận văn được hoàn thành với sự tài trợ của Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ quốc gia trong khuôn khổ đề tài “Nghiên cứu ảnh hưởng của giọt noãn bào chất đơn tính lên sự hoạt hóa trứng và sự phát triển của phôi” mã số 106.12-2012.93 do TS. Nguyễn Việt Linh chủ nhiệm.

Tôi xin cảm ơn Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật đã tạo điều kiện về thủ tục hành chính để tôi bảo vệ luận văn này.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn tới gia đình, bạn bè, những người đã luôn sát cánh, ủng hộ tôi trong suốt quá trình học tập và thực hiện luận văn này.

Xin chân thành cảm ơn!

Hà Nội, ngày 11 tháng 11 năm 2014

Học viên

Nguyễn Thị Hiệp

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC BẢNG.....	v
DANH MỤC HÌNH	vi
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT.....	viii
PHẦN I. MỞ ĐẦU.....	1
1.1 Đặt vấn đề.....	1
1.2 Mục đích.....	2
1.3 Ý nghĩa	3
PHẦN II. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
2.1 Sự hình thành và phát triển tế bào trứng lợn	4
2.1.1 Sự hình thành và phát triển nang trứng.....	4
2.1.2 Sự hình thành và phát triển của tế bào trứng	6
2.1.3 Sự thành thực của tế bào trứng	9
2.2 Thụ tinh ống nghiệm ở lợn.....	10
2.2.1 Nguyên lý thụ tinh ống nghiệm và các giai đoạn của quá trình thụ tinh	10
2.2.2 Sự thành thực tế bào trứng lợn trong ống nghiệm	13
2.2.3 Các yếu tố ảnh hưởng tới kết quả thụ tinh ống nghiệm ở lợn	20

2.3 Tình hình nghiên cứu nuôi thành thực, thụ tinh ống nghiệm (IVM/IVF) ở Việt Nam	26
PHẦN III. ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.	29
3.1 Đối tượng và phạm vi nghiên cứu.....	29
3.2 Địa điểm và thời gian tiến hành nghiên cứu	29
3.3 Nội dung nghiên cứu và các chỉ tiêu theo dõi.....	29
3.4 Phương pháp nghiên cứu.....	32
3.4.1 Chuẩn bị môi trường thu và rửa buồng trứng	32
3.4.2 Phương pháp thu, bảo quản và vận chuyển buồng trứng.....	33
3.4.4 Phương pháp phân loại chất lượng trứng.....	35
3.4.5 Phương pháp đánh giá thành thực sau khi nuôi	37
3.4.6 Phương pháp thụ tinh ống nghiệm (<i>In vitro</i> fertilization - IVF).....	38
3.4.7. Phương pháp đánh giá chất lượng phôi nang	42
3.4.8. Phương pháp xử lý số liệu	43
PHẦN IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	43
4.1 Ảnh hưởng của môi trường nuôi tới sự thành thực của tế bào trứng lợn... 44	
4.2 Ảnh hưởng của môi trường nuôi tới tỷ lệ thụ tinh của tế bào trứng lợn.... 48	
4.3 Ảnh hưởng của môi trường nuôi thành thực tới sự phát triển của phôi lợn thụ tinh ống nghiệm	50
4.4. Ảnh hưởng của nồng độ tinh tới kết quả thụ tinh trong ống nghiệm ở lợn	
54	
4.5 Ảnh hưởng của nồng độ tinh sự phát triển và chất lượng của phôi lợn.... 63	
PHẦN V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ	70

5.1. Kết luận	70
5.2 Đề nghị	71

DANH MỤC BẢNG

Tên bảng	Trang
Bảng 4.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi thành thực tới khả năng thành thực của tế bào trứng lợn	43
Bảng 4.2 . Ảnh hưởng của môi trường nuôi thành thực tới khả năng hình thành tiền nhân đực của tế bào trứng lợn.	47
Bảng 4.3. Ảnh hưởng của môi trường nuôi thành thực tới sự phát triển tiếp theo của tế bào trứng lợn	49
Bảng 4.4. Ảnh hưởng của nồng độ tinh tới khả năng thụ tinh của tinh trùng với trứng loại A	53
Bảng 4.5. Ảnh hưởng của nồng độ tinh tới khả năng thụ tinh của tinh trùng với trứng loại B1	56
Bảng 4.6. Ảnh hưởng của nồng độ tinh tới khả năng thụ tinh của tinh trùng với trứng loại B2	57
Bảng 4.7. Ảnh hưởng của nồng độ tinh tới sự phát triển tiếp theo của phôi lợn thụ tinh ống nghiệm với trứng loại A	61
Bảng 4.8. Ảnh hưởng của nồng độ tinh tới sự phát triển tiếp theo của phôi lợn thụ tinh ống nghiệm với trứng loại B1	62
Bảng 4.9. Ảnh hưởng của nồng độ tinh tới sự phát triển tiếp theo của phôi lợn thụ tinh ống nghiệm với trứng loại B2	63

DANH MỤC HÌNH

Tên hình	Trang
Hình 2.1 Sự hình thành và phát triển nang trứng lợn	5
Hình 2.2. Cấu tạo tế bào trứng	6
Hình 3. 1. Buồng trứng lợn lai kinh tế	33
Hình 3.2 Trứng lợn loại A, B1, B2	35
Hình 4.1 Trứng lợn ở giai đoạn GV (a) và giai đoạn MI.	44
Hình 4.2 Trứng lợn ở giai đoạn thành thực	45
Hình 4.3-a Tế bào trứng lợn thụ tinh bình thường, 4.3-b Tế bào trứng lợn đa thụ tinh	55
Hình 4.4 Phôi ở giai đoạn 4 tế bào (a) và giai đoạn phôi dâu (b)	65
Hình 4.4. Phôi nang (Blastocyst)	66
Hình 4.5 Số tế bào/phôi nang	67

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Tên biểu đồ	Trang
Biểu đồ 4.1. Ảnh hưởng của chất lượng trứng tới khả năng xâm nhập của tinh trùng	58
Biểu đồ 4.2. Ảnh hưởng của chất lượng trứng tới khả năng hình thành tiền nhân	59
Biểu đồ 4. 3. Ảnh hưởng của chất lượng trứng tới khả năng thụ tinh bình thường của tế bào trứng lợn.	60
Biểu đồ 4.4. Ảnh hưởng của chất lượng trứng tới khả năng phân chia của tế bào trứng lợn	64
Biểu đồ 4.5. Ảnh hưởng của chất lượng trứng tới khả năng hình thành phôi nang	65
Biểu đồ 4.6. Ảnh hưởng của chất lượng trứng tới chất lượng phôi nang	66

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Anh	Nghĩa tiếng Việt
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	Chất bảo quản lạnh
ECG	Equine Chorionic Gonadotropin	Gonadotropin nhau thai ngựa
EGF	Epidermal growth factor	Yếu tố thúc đẩy tăng trưởng biểu mô
FBS	Fetal bovine serum	Huyết thanh bào thai bê
FM	Fertilization medium	Môi trường thụ tinh
FSH	Follicle stimulating hormone	Hormone kích thích nang trứng
GSH	Glutathione	
GV	Germinal vesicle	Giai đoạn bóng mầm
GVBD	Germinal Vesicle Break Down	Giai đoạn tan bóng mầm
HCG	Human Chorionic Gonadotropin	Gonadotropin nhau thai người
IVC	<i>In vitro</i> Culture	Nuôi phôi
IVF	<i>In vitro</i> fertilization	Thụ tinh ống nghiệm
IVM	<i>In vitro</i> maturation	Thành thực ống nghiệm
LH	Luteinizing Stimulating hormone	Hormone thể vàng

MI	Metaphase I	Trung kỳ I
MII	Metaphase II	Trung kỳ II
MPN	Male pronuclear	Tiền nhân đực
NCSU 23	North Carolina State University 23	Môi trường nuôi trứng, phôi
NCSU 37	North california state university 37	Môi trường nuôi trứng, phôi
NST		Nhiễm sắc thể
pFF	Porcine follicle fluid	Dịch nang trứng lợn
PMSG	Pregnant mare's serum gonadotropin	Huyết thanh ngựa chữa
TCM	Tissue Culture Medium	Môi trường nuôi cấy
TN		Thí nghiệm
tt/ml		Tinh trùng/ml
TTON		Thụ tinh ống nghiệm
vcs		Và cộng sự
ZP	Zona pellucide	Màng trong suốt