



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003392

(51) **A01N 1/02; C12N 5/076; A61D 19/02**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2020-00180

(22) 05/05/2020

(45) 25/12/2023 429

(43) 25/11/2021 404

(73) **CÔNG TY CỔ PHẦN GIỐNG GIA SÚC HÀ NỘI (VN)**

Tổ 15, Phường Cầu Diễn, Quận Nam Từ Liêm, Thành Phố Hà Nội

(72) **Bùi Đại Phong (VN); Nguyễn Đạt Trung (VN); Nguyễn Hữu Đức (VN); Nguyễn Ngọc Kiên (VN); Nguyễn Thị Mai (VN); Nguyễn Thị Thúy (VN); Vũ Việt Tiến (VN).**

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT TINH BÒ BBB (BLANC - BLEU - BEIGE) THUẦN ĐÔNG
LẠNH DẠNG CỌNG RẠ**

(57) **Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất tinh bò BBB (Blanc - Bleu - Belge) thuần
đông lạnh dạng cọng rạ, trong đó quy trình này bao gồm các công đoạn:**

a) chuẩn bị môi trường pha tinh dịch bò BBB;

b) lựa chọn tinh dịch bò BBB;

c) pha loãng tinh dịch bò BBB bằng cách bổ sung tinh dịch bò thu được ở bước b) vào môi trường thu được ở bước a) theo tỷ lệ phụ thuộc vào chất lượng tinh nguyên sao cho mỗi liều tinh đạt 25 triệu con tinh trùng/1 cọng rạ, sau đó bảo quản tối thiểu 4 giờ trong tủ cân bằng lạnh ở 5°C;

d) Đóng cọng rạ bằng cách chuẩn bị cọng rạ bằng cách in thông tin lên cọng rạ có thể tích 0,25ml rồi đặt trong tủ cân bằng lạnh bảo quản tối thiểu 4 giờ trong tủ cân bằng lạnh ở 5°C, sau đó, đóng cọng rạ bằng cách nạp hỗn hợp tinh đã pha loãng thu được ở công đoạn c) vào cọng rạ và hàn kín đầu cọng; và

e) đông lạnh cọng rạ bằng cách giảm từ từ nhiệt độ từ 5°C xuống -130°C trong vòng 9 phút qua 3 bước: B1 giảm từ 5°C xuống -5°C; B2 giảm từ -5°C xuống -100°C; B3 từ -100°C xuống -130°C, sau đó bảo quản trong bình ni tơ lỏng ở -196°C.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất tinh bò đông lạnh dạng cộng rạ, cụ thể là đề cập đến quy trình sản xuất tinh bò lang trắng xanh Bỉ (Blanc – Bleu – Belge (BBB)) thuần đông lạnh dạng cộng rạ.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Hiện nay, ngành chăn nuôi bò thịt của Hà Nội tương đối phát triển, nhưng mới đáp ứng khoảng 10% tiêu dùng. Giống bò thịt của Hà Nội nhỏ, năng suất và chất lượng thịt không cao, khả năng cạnh tranh thấp, cần được cải tạo. Thụ tinh nhân tạo là biện pháp tốt nhất để cải tạo và nhân nhanh giống tốt. Mặc dù, đây là công nghệ đã phổ biến, nhưng các tiến bộ khoa học công nghệ về lĩnh vực này luôn được đổi mới, cập nhật. Việc chọn lọc đực giống để khai thác tinh trên cơ sở các phân tích sinh học phân tử cho phép sản xuất các nguồn tinh từ bò đực giống có năng suất, chất lượng cao, đảm bảo các ưu thế di truyền được phát huy ở thế hệ sau. Trên thế giới, công nghệ sản xuất tinh bò đã có những bước đột phá bằng việc sản xuất tinh giới tính ở bò sữa, sản xuất phôi bò để phát triển nhanh giống bò tốt.

Trong những năm gần đây, ở nước ta đã nhập tinh bò của một số giống bò thịt nước ngoài như: Simental, Limousine, Charolais, Santa Gertrudis, Blanc Blue Belge (BBB) để phối giống với đàn bò lai Sind. Bò BBB là giống bò chuyên dụng thịt của Bỉ, có khối lượng lớn, tăng trưởng nhanh, chất lượng thịt cao, thích nghi tốt, và dễ nuôi. Kết quả theo dõi của Công ty cổ phần Giống gia súc Hà Nội cho thấy khi lai bò BBB với bò lai Sind, sức sản xuất của con lai F_1 (BBB x lai Sind) tốt hơn con lai F_1 của các giống khác từ 30-40%. Con lai F_1 (BBB x Lai Sind) có khả năng tăng trọng, sức sản xuất và chất lượng thịt cao hơn cả. Khối lượng của bê: sơ sinh 28-32 kg; tăng trọng 850-1.200g/ngày; 12 tháng 300-360 kg; 18 tháng 480-520 kg; tỷ lệ thịt xẻ xấp xỉ 61 - 63%; tỷ lệ thịt tinh 51-53%. Bò khỏe, ít bệnh, chất lượng thịt tốt, thịt thơm ngon. Tỷ lệ đạm 20,5%. Nếu so sánh với các con lai khác thì bê lai F_1 (BBB x Lai Sind) là tốt nhất.

Do việc chăn nuôi bò thịt BBB mang lại hiệu quả cao, nên nhu cầu về tinh bò BBB trong chăn nuôi bò thịt tại Việt Nam là rất lớn, trong khi đó, việc cung cấp tinh bò BBB trên thị trường phụ thuộc hoàn toàn vào nguồn tinh bò BBB nhập khẩu, giá thành cao, bị động nên việc tạo nguồn tinh bò BBB tại Việt Nam để chủ động sản xuất là rất cần thiết.

Cho đến nay, tại Việt Nam, chưa từng có nghiên cứu nào về việc nuôi dưỡng, khai thác và đông lạnh tinh trùng giống bò BBB chuyên thịt. Đây là vấn đề mới và có khả năng triển khai hiệu quả để nhân nhanh đàn bò thịt của nước ta.

Vì vậy, việc tìm kiếm giải pháp công nghệ nhằm chủ động sản xuất tinh bò BBB trong nước từ bò đực thuần BBB nhập nội hoặc sinh ra qua chọn lọc bò sinh từ cấy phôi với quy trình công nghệ phù hợp với điều kiện môi trường sống tại Việt Nam sẽ giúp cho việc chủ động áp dụng thụ tinh nhân tạo với tinh bò BBB cao sản, chất lượng cao được sử dụng để phối giống, lai tạo ra một đàn bò hướng thịt có số lượng mong muốn phục vụ thương mại và giảm chi phí nhập khẩu.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của sáng chế là sản xuất tinh bò BBB thuần đông lạnh dạng cọng rạ để chủ động được nguồn tinh nhằm phục vụ việc lai tạo phối giống trong nước và thể tiết kiệm được cả nguồn ngoại tệ để nhập khẩu tinh của giống bò này.

Để đạt được mục đích nêu trên, sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất tinh bò BBB thuần đông lạnh dạng cọng rạ, trong đó quy trình này bao gồm các công đoạn:

- a) chuẩn bị môi trường pha tinh dịch bò BBB;
- b) lựa chọn tinh dịch bò BBB;
- c) pha loãng tinh dịch bò BBB bằng cách bổ sung tinh dịch bò thu được ở bước b) vào môi trường thu được ở bước a) theo tỷ lệ phụ thuộc vào chất lượng tinh nguyên sao cho mỗi liều tinh đạt 25 triệu con tinh trùng/1 cọng rạ, sau đó bảo quản tối thiểu 4 giờ trong tủ cân bằng lạnh ở 5°C;
- d) Đóng cọng rạ bằng cách chuẩn bị cọng rạ bằng cách in thông tin lên cọng rạ có thể tích 0,25ml rồi đặt trong tủ cân bằng lạnh bảo quản tối thiểu 4 giờ trong tủ cân bằng lạnh ở 5°C, sau đó, đóng cọng rạ bằng cách nạp hỗn hợp tinh đã pha loãng thu được ở công đoạn c) vào cọng rạ và hàn kín đầu cọng; và
- e) đông lạnh cọng rạ bằng cách giảm từ từ nhiệt độ từ 5°C xuống -130°C trong vòng 9 phút qua 3 bước: B1; giảm từ 5°C xuống -5°C; B2 giảm từ -5°C xuống -100°C; B3 từ -100°C xuống -130°C, sau đó bảo quản trong bình ni tơ lỏng ở -196°C.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Thuật ngữ “cọng rạ” được sử dụng theo giải pháp hữu ích này để chỉ các ống nhỏ giống như ruột bút bi chuyên dụng để chứa tinh dịch, có thể tích 0,25 ml và 0,5 ml, được

nhập khẩu từ Đức, Pháp, ... Cọng rạ được sử dụng theo sáng chế là loại được mua của hãng Minitube – Đức và có thể tích 0,25 ml.

Thuật ngữ “Androvison” là hệ thống tự động để phân tích tinh dịch bằng máy tính hiệu quả cao. Nó kết hợp các phân tích cổ điển CASA (computer analysis sperms automatic- máy tính phân tích tinh trùng tự động) với nhiều thử nghiệm tiên tiến cho các chức năng của tinh trùng. Mật độ, hoạt lực cũng như tính toàn vẹn của tinh trùng và khả năng tồn tại lên đến 1000 tế bào mỗi trường có thể được đánh giá một cách chính xác và nhanh chóng.

Quy trình sản xuất tinh bò BBB thuần đông lạnh dạng cọng rạ theo sáng chế được tiến hành như sau:

a) Chuẩn bị môi trường pha tinh dịch bò BBB

Để chuẩn bị môi trường pha tinh dịch bò BBB, sử dụng môi trường AndroMed (môi trường đậm đặc) được nhập khẩu trực tiếp của hãng Minitube tại Đức, được bảo quản trong tủ bảo quản có nhiệt độ 5°C. Trước khi sử dụng môi trường được lấy ra và đặt trong tủ ấm có nhiệt độ 35°C để cân bằng với nhiệt độ tinh dịch.

Môi trường đậm đặc này bao gồm các thành phần thiết yếu và tỷ lệ phù hợp để cho tế bào tinh trùng có thể sống và hoạt động tốt nhất. Thành phần môi trường bao gồm: đường fructoza, dung dịch glycerin, axit xitric, dung dịch đệm, phospholipit, các chất kháng sinh như spectinomycin, lincomycin, tylosin, gentamicin.

Các thành phần có trong môi trường AndroMed đặc biệt quan trọng nhằm giúp bảo vệ và đảm bảo sự trao đổi chất cho tinh trùng trong quá trình đông lạnh kéo dài, cụ thể là:

Đường fructoza có tác dụng cung cấp năng lượng cho tinh trùng, bảo vệ màng tinh trùng và giảm độc cho tinh trùng, ổn định tỷ lệ chất điện giải/chất không điện giải.

Glycerin có thể thẩm thấu qua màng tinh trùng và bao phủ tạo thành một lưới bảo vệ. Nó có vai trò như một chất chống lạnh giúp tế bào tinh trùng không bị thủy tinh hóa, không bị phá màng, không bị chết; khi giải đông các tế bào lại hồi phục sự sống sau ngủ đông.

Phospholipit là thành phần chính của tất cả các màng tế bào, có vai trò quan trọng trong hoạt động và trao đổi chất của tế bào tinh trùng, giúp duy trì hoạt động bình thường của tế bào tinh trùng.

Dung dịch đệm có vai trò ổn định pH của môi trường tương đương với pH của tinh dịch như vậy hệ enzyme của tinh trùng mới có thể hoạt động được và tinh trùng mới sống được. Axit xitric cũng được bổ sung như một chất đệm ổn định pH của môi trường.

Chất kháng sinh để ức chế vi khuẩn hoạt động và phát triển, tỷ lệ phù hợp sẽ không ảnh hưởng xấu đến sức sống của tinh trùng bò. Đối với môi trường AndroMe, nồng độ kháng sinh trong 100ml môi trường tinh dịch với tỷ lệ pha loãng 1:8 (1 tinh nguyên + 8 môi trường pha loãng) là spectinomycin 30,0 mg; lincomycin 15,0 mg; tylosin 5,0 mg; và gentamycin 25,0 mg.

Từ môi trường đậm đặc AndroMed, tiến hành pha môi trường như sau:

Làm ấm nước cất hai lần (“nước cất hai lần” là nước được chưng cất 2 lần, sẽ cho độ tinh khiết hơn nước được chưng cất 1 lần) và môi trường đậm đặc ở nhiệt độ 35°C, sau đó dùng ống đong chia vạch ta đong môi trường và nước cất với tỷ lệ 1:4 (ví dụ 100ml môi trường đậm đặc + 400 ml nước cất hai lần) sau đó sử dụng máy khuấy từ trộn đều hỗn hợp vừa pha ta thu được môi trường để pha loãng tinh dịch.

b) Lựa chọn tinh dịch bò BBB

Tinh dịch bò được sử dụng trong sáng chế phải đạt chỉ tiêu: thể tích tinh dịch ≥ 5 ml; hoạt lực tinh trùng $\geq 70\%$; nồng độ tinh trùng 0,8 tỷ/ml; tỷ lệ tinh trùng sống $\geq 85\%$; tỷ lệ tinh trùng kỳ hình $\leq 20\%$; độ pH tinh dịch 6,5 – 6,8.

Tinh dịch bò BBB sử dụng trong bước b) được chuẩn bị như sau:

- Khai thác tinh dịch bò BBB:

Quá trình khai thác tinh dịch bò được thực hiện theo cách thông thường sử dụng âm đạo giả có gắn lọ đựng tinh dịch.

- Đánh giá tinh dịch bò BBB khai thác được

Tinh nguyên sau khi khai thác được để trong túi ủ (đi kèm với âm đạo giả) và được đưa nhanh vào phòng xử lý để đánh giá chất lượng của tinh dịch.

Việc đánh giá có thể thực hiện bằng mắt thường và bằng các phương pháp kiểm tra, phân tích.

+ Đánh giá bằng mắt thường: Kiểm tra thể tích, màu sắc, mùi vị...

+ Đánh giá bằng các phương pháp kiểm tra, phân tích hoạt lực và mật độ tinh trùng

• Phân tích hoạt lực

Khi tinh dịch được đem qua phòng xử lý sau khi đánh giá bằng mắt thường được đưa ngay vào bể ấm (nhiệt độ 32°C) để bảo quản tạm thời. Dùng pipet điện tử (loại 100µl - 1000µl) hút 725 µl môi trường và 25 µl tinh dịch cho vào tuýp đựng tinh, trộn đều sau đó đặt vào bàn làm ấm chuẩn bị phân tích. Dùng pipet hút 0,5 µl dung dịch mẫu nêu trên và

nhỏ lên bề mặt lam kính, dùng lamén đẩy, đưa vào kính hiển vi soi và đọc kết quả trên máy tính có cài đặt phần mềm phân tích tinh trùng tự động Androvision. Đọc kết quả và đánh giá chất lượng tinh dịch:

Nếu hoạt lực < 70% không sử dụng mẫu này đưa vào sản xuất

Nếu hoạt lực > 70% chấp nhận mẫu tinh vừa khai thác và đưa vào sản xuất.

Lưu ý: cần kiểm tra ít nhất 4 vi trường tương đối đồng đều để có kết quả đánh giá hoạt lực trung bình chính xác nhất.

- Phân tích mật độ

Đây là chỉ tiêu đánh giá nồng độ tinh trùng để pha loãng tinh dịch. Nồng độ tinh trùng trong tinh dịch bò thay đổi rất lớn, từ 0,2 đến 3 tỷ tinh trùng trong 1 ml tinh dịch, Nồng độ đạt 0,8 tỷ/ml thì mới đưa vào sản xuất tinh cọng rạ. Để đánh giá được mật độ tinh trùng sử dụng máy so màu quang kế (SDM6 – minitub, Đức). Phương pháp này dựa vào nguyên lý của cường độ ánh sáng khi đi qua tinh dịch.

Cách tiến hành như sau: Hút 3,5 ml dung dịch NaCl 0,9% vào 1 cuvet hình vuông, sau đó hút 35 µl tinh dịch vào trộn đều, sau đó chèn cuvet vào khe đo trên máy so màu rồi ấn kết quả. Máy sẽ đọc kết quả nồng độ tinh trùng của mẫu tinh dịch đó trên màn hình.

c) Pha loãng tinh dịch bò BBB

Sử dụng phương pháp tính toán, có thể tính được lượng thể tích môi trường pha và số lượng liều được tính toán theo công thức dưới đây:

$$n = \frac{V.A.C}{N}$$

trong đó:

V: là thể tích tinh dịch (nhìn được bằng mắt thường trên ống nghiệm có chia vạch)

A: là hoạt lực tinh trùng (kết quả vừa phân tích trên phần mềm Androvision)

C: là nồng độ tinh trùng (kết quả phân tích trên máy so màu SDM6)

N: là số lượng tinh trùng trong một cọng rạ (quy định 25 triệu tinh trùng/1 liều)

n : là số cọng sản xuất được.

Sau khi tính toán được số cọng, ta tính thể tích môi trường cần để pha loãng tinh dịch theo công thức dưới đây:

$$V_{\text{môi trường pha}} = n \times 0,25 - V$$

trong đó: $V_{\text{môi trường pha}}$ là thể tích môi trường cần dùng để pha loãng tinh dịch.

0,25 là thể tích cọng rạ (loại 0,25ml)

V là thể tích tinh dịch ban đầu.

Việc pha loãng tinh dịch của bò BBB với môi trường được tiến hành khi hoạt lực và nồng độ của tinh dịch đạt yêu cầu.

Tinh dịch bò BBB được pha loãng bằng cách bổ sung tinh dịch bò thu được ở bước b) vào môi trường pha thu được ở bước a).

Bộ thiết bị pha loãng là một sự kết hợp của các thiết bị cho phép độ chính xác liều lượng cao nhất của môi trường pha tinh dịch gồm các bộ phận: Bộ điều khiển Smart Dispenser, 1 cân tiểu ly, 1 bơm nhu động và hệ thống ống dẫn silicon.

Cách pha: Lấy 1 cốc đựng để trong tủ âm 32°C ra, sau đó nhẹ nhàng đổ ống nghiệm đựng tinh tươi vào thành cốc. Sau đó nhập thể tích môi trường pha cần pha vào bộ điều khiển Smart Dispenser, máy sẽ tự động điều khiển lượng môi trường đó qua một bơm nhu động và cân điện tử đến cốc đựng tinh. Sau khi đủ lượng môi trường cần pha, máy sẽ tự động dừng lại, dùng giấy bạc bọc miệng cốc và bảo quản trong tủ cân bằng lạnh ở nhiệt độ 5°C để tạo môi trường lạnh được làm lạnh từ từ giúp cho các tinh trùng thích nghi dần dần với môi trường.

d) Đóng cọng rạ

Chuẩn bị cọng rạ: in đầy đủ các thông số liên quan đến con giống, chẳng hạn như số hiệu bò đực, giống bò; ngày tháng sản xuất; Tên công ty. Cọng rạ được in xong đem vào tủ cân bằng lạnh.

Chuẩn bị kim nạp và kim hút, ống dẫn, phễu đựng tinh đều được đặt trong tủ cân bằng lạnh để đảm bảo bằng với nhiệt độ của tinh sau pha loãng.

Tinh dịch sau khi được pha với môi trường pha tinh và cọng rạ đã được in được đem vào tủ cân bằng lạnh (cài đặt ở chế độ 5°C) khoảng 4 giờ để ổn định trước khi đem nạp vào cọng rạ.

Mục đích của việc cho cọng rạ và các dụng cụ (như ống dẫn tinh, kim nạp tinh, phễu đựng tinh) sử dụng trong quá trình đóng cọng rạ được đặt trong tủ lạnh cân bằng lạnh để đảm bảo sự cân bằng nhiệt độ trong quá trình đóng tinh vào cọng rạ và không có sự chênh lệch về nhiệt độ giữa tinh với các vật tiếp xúc cọng rạ và dụng cụ nêu trên đều được làm lạnh ở 5°C. Lợi ích là tạo môi trường, điều kiện nhiệt độ tối ưu nhất cho tinh có thể sống và hoạt động tốt nhất, tránh sốc nhiệt ảnh hưởng đến chất lượng tinh.

Quá trình đóng cọng rạ được thực hiện bởi thiết bị nạp và hàn cọng rạ tự động MPP UNO được đặt phía bên trong tủ cân bằng lạnh và được thực hiện như sau:

Lắc nhẹ dung dịch tinh đã được pha loãng với môi trường sau đó đổ vào phễu đựng tinh, cọng rạ đã in được xếp vào khay nạp cọng rạ. Bật máy và vận hành, quá trình đóng cọng và hàn cọng tinh sẽ tự động diễn ra. Quan sát quá trình đóng xem các cọng đã được nạp đầy tinh chưa rồi điều chỉnh sao cho tinh được nạp đầy trong cọng rạ. Cọng tinh sau khi đóng được đặt vào từng khay, bật đèn sáng ở tủ cân bằng lạnh để soi, loại những cọng tinh không

đạt yêu cầu. Đóng tủ cân bằng lạnh để nhiệt độ ổn định trở về 5°C . Sau khi kết thúc quá trình đóng cộng rạ, kim nạp, kim hút được vệ sinh, ống dẫn được loại bỏ sau mỗi lần thao tác.

e) đông lạnh cộng rạ

Quá trình đông lạnh tinh được thực hiện tại máy Tubo freezer là một thiết bị đông lạnh tự động cho tinh dịch bò, tất cả các chức năng được điều khiển và giám sát bằng màn hình máy tính cảm ứng. Đây là phương pháp đông băng chậm, được thực hiện bằng cách bơm ni tơ lỏng vào kênh thông gió tạo một luồng khí đều trong buồng đông lạnh. Máy vận hành thông qua màn hình cảm ứng. Bằng cách hiển thị cảm ứng này các điểm nhiệt độ mong muốn cho quá trình đông lạnh được lập trình và lưu lại. Các bước đông lạnh tiêu chuẩn cho tinh dịch bò như sau:

B1: giảm từ 5°C xuống -5°C trong vòng 60 giây, sau đó nhiệt độ được giữ ở mức -5°C trong vòng 120 giây.

B2: giảm từ -5°C xuống -100°C trong vòng 143 giây

B3: giảm từ -100°C xuống -130°C trong vòng 60 giây, sau đó nhiệt độ được giữ ở -130°C trong vòng 180 giây.

Cuối cùng bảo quản tinh cộng rạ trong bình ni tơ lỏng ở -196°C .

Quá trình đông lạnh tinh được thực hiện như sau: bật khởi động chương trình máy Tubo Freezer, chương trình đông lạnh tiêu chuẩn cho tinh dịch bò được bắt đầu thông qua màn hình cảm ứng. Máy TuboFreezer tự động làm lạnh buồng đến nhiệt độ có sẵn là 5°C . Sau khi đạt đến nhiệt độ bắt đầu (báo hiệu bằng tiếng bip) chuyển thật nhanh những khay tinh cộng rạ bên tủ cân bằng lạnh sang, đẩy nắp và quá trình đông lạnh được bắt đầu. Máy TuboFreezer tự động mở nguồn cung cấp Ni tơ và đóng băng cộng. Sự kết thúc quá trình đông lạnh được báo hiệu bằng tiếng bip. Sau khi kết thúc một chu trình (thường khoảng 9 phút) tức là đã hoàn thành quá trình đông lạnh, tinh đông lạnh sẽ được lấy ra, đựng trong cồng nhựa và đem bảo quản trong các bình chứa ni tơ lỏng (-196°C).

Việc đông lạnh cộng rạ bằng cách giảm từ từ nhiệt độ từ 5°C xuống -130°C qua ba bước, trong đó bước 1 là nhiệt độ giảm một cách từ từ cho tinh bắt đầu thích nghi với nhiệt độ lạnh hơn, tinh trùng không bị sốc nhiệt, bước 2 là giảm nhiệt độ nhanh hơn đến -100°C để đóng băng tinh, không cho tinh hoạt động. Bước 3 là giảm nhiệt độ đến -130°C để đóng băng hoàn toàn các cộng rạ và để nhiệt độ trước khi cho vào bảo quản trong bình ni tơ lỏng ở 196°C không bị chênh lệch nhiều. Việc đông lạnh bằng ba bước giúp cho hoạt lực tinh sau giải đông chất lượng đạt tốt, không chênh lệch nhiều so với trước khi đông lạnh.

Trong quá trình bảo quản tinh trong bình ni tơ lỏng, phải thường xuyên kiểm tra và bổ sung ni tơ, mức ni tơ lỏng tối thiểu trong khi bảo quản vận chuyển phải đảm bảo ngập hết các cộng tinh.

Sau các thời điểm 24 giờ, 1 tuần lấy một vài cộng rạ kiểm tra chất lượng đánh giá chất lượng tinh.

Dùng bình giữ đông để giải đông tinh cộng rạ, bình được cài đặt ở nhiệt độ 38°C, giải đông trong thời gian 30 giây.

Dùng kéo cắt 1 đầu liệu tinh cho vào tuýp đựng tinh và đặt ngay vào bàn ấm dùng pipet hút 0,5 µl tinh nhỏ vào lam kính, đặt lamén, đưa vào kính hiển vi soi và đánh giá hoạt lực.

Tinh cộng rạ đảm bảo tiêu chuẩn phải đạt hoạt lực $\geq 40\%$.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Sau đây là ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích nhằm mục đích làm rõ giải pháp hữu ích.

Ví dụ 1: Sản xuất 1000 cộng rạ tinh bò BBB

Để sản xuất ra 1000 liệu tinh BBB cần có 04 con bò đực khỏe mạnh, đủ điều kiện lấy tinh.

Thể tích tinh trung bình của 1 con bò là $V = 6\text{ml}$

Hoạt lực sống đạt $A = 88\%$

Nồng độ tinh trùng $C = 1,2\text{ tỷ/ml}$

Áp dụng công thức $n = \frac{V.A.C}{N}$, tính được số cộng sản xuất được là 253 cộng

Thể tích môi trường pha sẽ là $V_{\text{môi trường pha}} = 253 \times 0,25 - 6 = 57\text{ ml}$

(Trong quá trình đóng cộng, sẽ có cộng không đạt yêu cầu, nên số cộng thành phẩm sẽ là 250 cộng)

Tùy vào thể tích nồng độ hoạt lực của từng con mà số lượng cộng sản xuất được sẽ khác nhau. Với 4 con bò chất lượng như trên thì ta sẽ sản xuất được 1000 cộng BBB trong 1 ngày.

- Thể tích môi trường pha cần sử dụng là 228 ml.

- Số lượng cộng cần sử dụng là 1000 cộng loại 0,25 ml với 25 triệu tinh trùng/1 cộng;

In các thông tin trên cộng rạ tên, số hiệu bò đực, ngày sản xuất, đơn vị sản xuất...

- Đóng và hàn cộng ở nhiệt độ 5°C.

- Đông lạnh cộng rạ ở nhiệt độ bắt đầu từ 5°C giảm từ từ xuống -130°C trong vòng 9 phút sau đó tinh sẽ được bảo quản ngập trong bình ni tơ lỏng ở -196°C.

Ví dụ 2: Đánh giá chất lượng của tinh trùng sau khi đông lạnh – giải đông

Để kiểm tra chất lượng tinh trùng sau 24 giờ, 1 tuần và 100 ngày lấy ngẫu nhiên 1 vài cọng rạ thu được ở ví dụ 1 và tiến hành giải đông bằng cách: dùng bình giã đông cài đặt ở 38°C, gấp cọng tinh vào bình giã đông để giải đông trong thời gian 30 giây. Kiểm tra chất lượng tinh cọng rạ bằng hệ thống máy phân tích Androvision thu được kết quả được liệt kê trong bảng 1 dưới đây.

STT	Thời gian bảo quản	Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (%)	Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	Hoạt lực tinh trùng (%)
1	24 giờ	9	72	77
2	1 tuần	9	70	76
3	100 ngày	11	69	74

Chất lượng tinh cọng rạ sau giải đông đạt tiêu chuẩn theo quy định của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn có thể đưa vào phối giống.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Nguồn tinh đực giống Blanc Blue Belge (BBB) hiện nay hoàn toàn là tinh bò nhập ngoại, do vậy không chủ động được nguồn cung và khá tốn kém. Việc chủ động sản xuất tinh bò BBB trong nước từ bò đực BBB thuần nhập nội hoặc sinh ra qua chọn lọc bò sinh từ cấy phôi, với qui trình công nghệ phù hợp điều kiện môi trường sống tại Việt Nam sẽ giúp cho việc chủ động áp dụng thụ tinh nhân tạo với tinh bò BBB cao sản, chất lượng cao được sử dụng để phối giống, lai tạo ra một đàn bò hướng thịt có số lượng mong muốn phục vụ thương mại và giảm chi phí nhập khẩu.

Thụ tinh nhân tạo đã là công việc thường quy tại các cơ sở chăn nuôi, vì vậy việc áp dụng quy trình sản xuất tinh bò BBB đông lạnh cọng rạ sẽ được chuyển giao một cách thuận lợi thông qua các đợt tập huấn cho các nhân viên kỹ thuật thụ tinh nhân tạo và áp dụng trên đàn bò của các hộ chăn nuôi bò thịt sẽ đem lại hiệu quả thiết thực về năng suất, chất lượng và thu nhập cho người chăn nuôi

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất tinh bào BBB (Blanc – Bleu – Belge) thuần đông lạnh dạng cọng rạ, trong đó quy trình này bao gồm các công đoạn:

a) chuẩn bị môi trường pha tinh dịch bào BBB bằng cách làm ấm môi trường Andromed và nước cất đến nhiệt độ 35°C, sau đó cho môi trường Andromed vào nước cất theo tỷ lệ 1/4 và khuấy đều để thu được môi trường pha tinh dịch bào;

b) lựa chọn tinh dịch bào BBB đạt chỉ tiêu: thể tích tinh dịch ≥ 5 ml; hoạt lực tinh trùng $\geq 70\%$; nồng độ tinh trùng 0,8 tỷ/ml; tỷ lệ tinh trùng sống $\geq 85\%$; tỷ lệ tinh trùng kỳ hình $\leq 20\%$; độ pH tinh dịch 6,5 – 6,8;

c) pha loãng tinh dịch bào BBB bằng cách bổ sung tinh dịch bào thu được ở bước b) vào môi trường thu được ở bước a) theo tỷ lệ phụ thuộc vào chất lượng tinh nguyên sao cho mỗi liều tinh đạt 25 triệu con tinh trùng/1 cọng rạ, sau đó bảo quản tối thiểu 4 tiếng đồng hồ trong tủ cân bằng lạnh;

d) đóng cọng rạ bằng cách chuẩn bị cọng rạ bằng cách in thông tin lên cọng rạ có thể tích 0,25ml rồi đặt trong tủ cân bằng lạnh bảo quản tối thiểu 4 giờ trong tủ cân bằng lạnh ở 5°C, sau đó, đóng cọng rạ bằng cách nạp hỗn hợp tinh đã pha loãng thu được ở công đoạn c) vào cọng rạ và hàn kín đầu cọng; và

e) đông lạnh cọng rạ bằng cách giảm từ từ nhiệt độ từ 5°C xuống -130°C trong vòng 9 phút qua 3 bước: B1 giảm từ 5°C xuống -5°C; B2 giảm từ -5°C xuống -100°C; B3 từ -100°C xuống -130°C, sau đó bảo quản trong bình ni tơ lỏng ở -196°C.