

PHỤ LỤC 1
QUY TRÌNH KỸ THUẬT THỤ TINH NHÂN TẠO BÒ
(Bộ NN và PTNT, 1995)

I. QUY TRÌNH KỸ THUẬT THỤ TINH NHÂN TẠO BÒ
BẰNG TINH ĐÔNG VIÊN

I. *Những quy định chung*

1.1. *Dụng cụ chuyên dùng*

- 1.1.1. Phải có bình chuyên dùng chứa nitơ lỏng và tinh viên, nitơ phải ngập tinh viên trong bình.
- 1.1.2. Phải có dẫn tinh quản bằng nhựa cứng trong suốt dài 45 cm và đường kính 3 mm.
- 1.1.3. Phải có núm cao su chuyên dùng cho thụ tinh nhân tạo.
- 1.1.4. Phải có panh kẹp bằng thép không rỉ dài 20 cm.
- 1.1.5. Phải có các ống nước sinh lí để pha chế tinh viên.
- 1.1.6. Phải có găng tay ni lông dài 30-60 cm.

1.2. *Vệ sinh vô trùng*

- 1.2.1. Dẫn tinh quản phải được vệ sinh và tiệt trùng trước khi dùng để phối giống cho bò.
- 1.2.2. Nước sinh lí phải được tiệt trùng và đóng vào các ampul vô trùng loại 1 ml.
- 1.2.3. Panh kẹp phải được vệ sinh vô trùng sau mỗi lần sử dụng.

1.3. *Giống giá cố định bò*

- 1.3.1. Giống giá cố định bò phải chắc, tránh tai nạn cho người.

- 1.3.2. Gióng giá phải có mái che mưa che nắng.
- 1.3.3. Sau mỗi lần phối giống phải vệ sinh gióng giá sạch sẽ.

1.4. Kỹ thuật viên dẫn tinh

- 1.4.1. Kỹ thuật viên dẫn tinh phải hiểu biết nhất định về sinh lí sinh sản bò.
- 1.4.2. Kỹ thuật viên dẫn tinh phải hiểu biết cách sử dụng, bảo quản tinh viên và dụng cụ chuyên dùng.
- 1.4.3. Kỹ thuật viên dẫn tinh không mắc các bệnh truyền nhiễm và khuyết tật tay.

2. Kỹ thuật truyền giống cho bò cái

2.1. Kỹ thuật giải đông tinh viên

- 2.1.1. Không sử dụng ống nước sinh lý vẫn đục hay hở miệng.
- 2.1.2. Dùng cửa nhỏ cắt ngang cổ ống dẫn nước sinh lý.
- 2.1.3. Cống đựng tinh chỉ được nâng lên ngang miệng bình.
- 2.1.4. Dùng panh kẹp gấp một viên tinh cho vào ống nước sinh lý trong vòng 10 giây xong thả cống đựng tinh xuống bình và đậy nắp kín.
- 2.1.5. Kẹp giữa hai lòng bàn tay ống nước sinh lý cùng viên tinh và xoa bóp vài lần.

2.2. Kỹ thuật hút tinh vào dẫn tinh quản

- 2.2.1. Bóp xẹp vét xi cao su đã dính vào một đầu dẫn tinh quản.
- 2.2.2. Đưa đầu kia của dẫn tinh quản vào sát đáy ống nước sinh lý.
- 2.2.3. Từ từ nới lỏng vét xi cao su để hút tinh rồi lại bóp chặt để xả tinh ra ống sinh lý. Thực hiện thao tác này 2-3 lần.

- 2.2.4. Hút toàn bộ tinh vào dẫn tinh quản, làm sao không bị ngắt quãng bởi bọt khí.
- 2.3. *Kỹ thuật phối giống*
 - 2.3.1. Trước khi phối giống phải lấy hết phân trong trực tràng.
 - 2.3.2. Lau sạch âm hộ bằng giấy vệ sinh.
 - 2.3.3. Tay trái đi găng.
 - 2.3.4. Ngón trỏ và ngón cái mở âm hộ ra.
 - 2.3.5. Tay phải cầm dẫn tinh quản đưa vào lỗ âm môn chệch 45 so với sống lưng bò, đưa sâu 10 cm.
 - 2.3.6. Nâng dẫn tinh quản lên song song với sống lưng bò rồi đẩy sâu vào đến khi vướng thì dừng lại.
 - 2.3.7. Tay trái thò vào trực tràng tìm đầu dẫn tinh quản và hướng đầu dẫn tinh quản vào cổ tử cung.
 - 2.3.8. Ngón cái tay trái bịt lỗ tử cung, tay phải hướng dẫn đầu dẫn tinh quản vào lên ngón cái của tay trái.
 - 2.3.9. Rút ngón cái ra đồng thời phải đẩy nhẹ dẫn tinh quản vào lỗ cổ tử cung.
 - 2.3.10. Tay trái xoay lại nắm gọn cổ tử cung và lắc nhẹ đồng thời tay phải đẩy nhẹ dẫn tinh quản cho tiến vào sâu hơn.
 - 2.3.11. Khi dẫn tinh quản qua hết 4 nấc cổ tử cung thì thấy hẫng. Lúc này tay trái lần theo thân tử cung tìm đến dẫn tinh quản.
 - 2.3.12. Ngón trỏ tay trái đặt lên đầu dẫn tinh quản và đẩy lùi dần nhẹ nhàng đến khi đầu dẫn tinh quản lùi hết thân tử cung.
 - 2.3.13. Tay trái giữ cổ tử cung ở tư thế thẳng, tay phải bóp vết xi bơm tinh.
 - 2.3.14. Rút dẫn tinh quản ra, tay trái cầm cổ tử cung nâng phía sau lên và xoa bóp nhẹ vài lần.

2.3.15. Rút tay ra khỏi trực tràng, cho bò ra nghỉ ngơi vài tiếng.

2.3.16. Vệ sinh dụng cụ, giống giá gọn gàng.

3. Ghi chép sổ sách

3.1. Mỗi một dẫn tinh viên phải có sổ theo dõi đàn bò mình phụ trách.

3.2. Mỗi con bò chừa 2 dòng để ghi chép khi cần thiết.

3.3. Cần ghi cụ thể các chỉ tiêu để dễ theo dõi như màu sắc, chủ bò, địa chỉ, đặc điểm nhận dạng.

3.4. Sau khi phối giống xong phải vào sổ ngày tháng phối, tình trạng phối giống bò có tinh dùng phối và số hiệu đực giống.

3.5. Sau 3 tháng phối giống tiến hành kiểm tra khám thai.

3.6. Khám thai xong phải ghi kết quả vào sổ theo dõi và theo dõi tiếp đến khi đẻ.

3.7. Khi bò đẻ cần ghi tình trạng đẻ của bò cái giống, giới tính của bê con và trọng lượng sơ sinh.

II. QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRUYỀN GIỐNG NHÂN TẠO BẰNG TINH CỘNG RẠ

1. Làm sạch hộp đựng dụng cụ dẫn tinh, xếp dụng cụ theo thứ tự.

2. Kiểm tra số của bò cái và kiểm tra sổ ghi chép phối giống.

3. Đeo kính an toàn và găng tay vải bông.

4. Mở hộp dụng cụ và bộ phận làm tan giá ở gần bình tinh.

5. Mở bình đựng tinh đúng cách.

6. Nhấc công đựng tinh ra và lấy một liều tinh cộng rạ.

7. Đặt tinh cộng rạ vào bình nước làm tan giá và đẩy bình lại.

8. Đẩy bình tinh lại.

9. Đặt hộp dụng cụ nơi an toàn, tiện lợi - Có sẵn chất bôi trơn để bôi lên gang tay dài .
10. Lấy một số dụng cụ của súng dẫn tinh ra khỏi ngăn để các dụng cụ đặc biệt hoặc giá đỡ ống nghiệm.
11. Dùng giấy lau sạch chà sát lên súng dẫn tinh để làm nóng xi lanh lên.
12. Nhấc cọng rạ ra khỏi nước làm tan giá, lau khô.
13. Xác định số của bò đực/số lần lấy tinh và các ghi chép về bò đực.
14. Điều chỉnh phần không khí trong cọng rạ.
15. Cắt đầu cọng rạ.
16. Chuẩn bị súng dẫn tinh và cọng rạ đúng quy cách.
 - a. *Đối với ống nhựa có nút điều chỉnh cọng rạ*
 - Đưa đầu cắt vào nút điều chỉnh.
 - Đẩy cọng rạ và nút điều chỉnh vào ống nhựa cho đến khi đầu cuối của nút bằng bông ở ngoài ống nhựa.
 - Kéo pit-tông của súng dẫn tinh trở lại khoảng 12,5 cm.
 - Đưa ống nhựa có cọng rạ trùm lên dẫn tinh quấn bằng kim loại của súng dẫn tinh để cọng rạ nằm trong dẫn tinh quấn.
 - Cố định ống nhựa bằng cách xoay ốc của súng dẫn tinh hoặc bằng cách vận vòng chữ “O”.
 - ấn pit-tông của súng dẫn tinh từ từ để đẩy không khí ở phần đầu trên của tinh cọng rạ ra ngoài.
 - b. *Đối với loại ống nhựa không có nút điều chỉnh*
 - Kéo pit-tông của súng dẫn tinh ra khoảng 12,5 cm.

- Đưa cọng rạ vào trong đầu mở của dẫn tinh quần kim loại của súng dẫn tinh, đưa đầu có nút bông vào trước, để cọng rạ thò ra ngoài dẫn tinh quần khoảng 2,5 cm.
 - Đưa phần cọng rạ ra phía ngoài và toàn bộ dẫn tinh quần vào ống nhựa.
 - Cố định ống nhựa bằng cách vặn vòng “O”.
 - ấn pit-tông của xi-lanh chậm để rút không khí ở phần trên của cọng rạ.
17. Giữ xi-lanh ở trong áo vét hoặc áo choàng.
 18. Bỏ găng tay, rửa sạch bò, và giấy lau vào rồi đóng hộp dụng cụ lại.
 19. Đeo găng tay, rửa sạch bò, đưa súng dẫn tinh vào con bò và đưa đến đích (chỗ bơm tinh).
 20. Từ từ bơm hết tinh dịch.
 21. Vứt bỏ găng tay cùng với ống nhựa.
 22. Ghi chép đầy đủ vào sổ phối giống.
 23. Dọn vệ sinh-tiêu độc “ung” và đáy của hộp dụng cụ.

PHỤ LỤC 2
TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG TINH BÒ
SỮA, BÒ THỊT
(10 TCN - 531 – 2002)

Tiêu chuẩn này áp dụng để đánh giá chất lượng tinh bò được giống hướng sữa và hướng thịt sản xuất trong nước hoặc nhập khẩu dưới dạng tinh đông lạnh dùng cho thụ tinh nhân tạo.

I. TINH NGUYÊN

1.1. Khái niệm

Tinh nguyên là tinh dịch được lấy từ bò đực giống bằng phương pháp sử dụng âm đạo giả hoặc các thủ thuật lấy tinh khác, chưa qua pha chế và pha loãng bằng bất cứ môi trường nhân tạo nào.

Sau khi lấy ra khỏi cơ thể bò đực giống, tinh nguyên được giữ ở 37⁰C, được kiểm tra ngay các chỉ tiêu kỹ thuật và đánh giá chất lượng trong khoảng thời gian không quá 10 phút.

1.2. Yêu cầu kỹ thuật đối với tinh dịch bò

- 1.2.1. Màu sắc của tinh dịch bò phải là màu trắng sữa hoặc màu trắng ngà và có độ mịn đồng nhất.
- 1.2.2. Chỉ có mùi tanh đặc trưng của tinh dịch bò, không có mùi lạ và các mùi hôi khác.
- 1.2.3. Thể tích mỗi lần lấy tinh (V) phải từ 3,0 ml trở lên.
- 1.2.4. Hoạt lực tinh trùng (A) không nhỏ hơn 70%.
- 1.2.5. Mật độ tinh trùng (C) không dưới 800 triệu trên 1ml.
- 1.2.6. Tỷ lệ tinh trùng chết dưới 12%.
- 1.2.7. Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình (K) dưới 20%.
- 1.2.8. Tinh dịch có độ pH từ 6,5-6,8.

1.2.9. Tinh dịch bò không được có các vi sinh vật và các yếu tố gây bệnh cho người và động vật.

II. PHA CHẾ, SẢN XUẤT VÀ BẢO QUẢN TINH BÒ ĐÔNG LẠNH DÙNG TRONG THỤ TINH NHÂN TẠO

2.1. Khái niệm

Tinh đông lạnh là tinh có đủ các chỉ tiêu quy định tại mục 2.2.1. được pha loãng với môi trường thích hợp, đông lạnh dưới dạng viên hoặc dạng cọng rạ và được bảo quản liên tục ở nhiệt độ -196°C trong nitơ lỏng.

2.2. Yêu cầu kỹ thuật đối với tinh viên

2.2.1. Tinh nguyên dùng để pha chế sản xuất ra tinh viên phải đạt các chỉ tiêu quy định tại mục 1.2. với các chỉ tiêu cụ thể sau đây:

- Thể tích mỗi lần xuất tinh (V) không dưới 3,0 ml.
- Mật độ tinh trùng (C) không dưới 800 triệu trên 1 ml.
- Sức hoạt động tiến thẳng (hoạt lực A) không nhỏ hơn 70%.
- Tỷ lệ tinh trùng kỳ hình không lớn hơn 20%.
- Tỷ lệ tinh trùng chết dưới 12%.

2.2.2. Môi trường pha loãng để sản xuất tinh viên phải được chuẩn bị trước khi lấy tinh, có hàm lượng kháng sinh theo quy định và chỉ sử dụng trong ngày.

2.2.3. Thể tích trung bình của mỗi viên tinh là 0,1ml. Sau khi đông lạnh, viên tinh phải có dạng hình cầu và nhuộm màu để phân biệt giống theo quy định: màu xanh cho tinh bò sữa, màu đỏ cho tinh bò thịt.

2.2.4. Mỗi viên tinh phải có ít nhất là 40 triệu tinh trùng sống trước khi đông lạnh, hoạt lực (A) sau khi giải đông

không dưới 35% và số lượng tinh trùng sống tối thiểu là 12,5 triệu.

2.2.5. Liều cho mỗi lần phối giống là một viên tinh, giải đông theo quy định kỹ thuật với 1 ml dung dịch NaCl 0,9% vô trùng đựng trong ampul thủy tinh.

2.3 Yêu cầu kỹ thuật đối với tinh cọng rạ

2.3.1. Tinh nguyên dùng để pha chế sản xuất tinh cọng rạ phải đạt các chỉ tiêu kỹ thuật quy định trong mục 2.2.1.

2.3.2. Môi trường dùng để sản xuất tinh cọng rạ theo quy định kỹ thuật ở điều 2.2.2.

2.3.3. Thể tích của mỗi cọng rạ là 0,25 ml được sản xuất từ nhựa PVC trung tính có chiều dài là 133 mm.

2.3.4 Khi sản xuất tinh đông lạnh trên mỗi cọng rạ có ghi đầy đủ các thông tin về số hiệu đực, giống bò, ngày tháng và nơi sản xuất. Trong mỗi cọng rạ phải có ít nhất 25 triệu tinh trùng sống trước khi đông lạnh.

2.3.5. Tinh cọng rạ phải có hoạt lực (A) sau khi giải đông phải đạt từ 40% trở lên và số lượng tinh trùng sống tối thiểu là 10 triệu trong 1 cọng rạ.

2.3.6. Liều dùng cho một lần phối là một cọng rạ, phải tiến hành giải đông và phối giống theo quy trình kỹ thuật dẫn tinh cọng rạ đã quy định.

Phụ Lục: Các phương pháp kiểm tra, đánh giá chất lượng tinh bò sữa, bò thịt

1. Tinh dịch dùng để sản xuất tinh đông lạnh cho TTNT phải được lấy từ những bò đực giống khoẻ mạnh không có bệnh truyền nhiễm và được tiêm phòng định kỳ các bệnh quan trọng như: lao (Tuberculosis), sẩy thai truyền nhiễm (Brucellosis), roi trùng (Trichomoniasis), nhiệt th, n (Anthrax) vụn lở mồm long mồm (Foot and Mouth Disease).

2. Sau mỗi lần lấy tinh, tinh nguyên phải được kiểm tra ngay các chỉ tiêu trong mục 1.2. Riêng các chỉ tiêu 1.2.6, 1.2.7 và 1.2.8 phải kiểm tra định kỳ, mỗi tháng một lần.
3. Ngay sau khi lấy tinh, chỉ dùng một phần rất ít (0,1-0,2ml) để kiểm tra các chỉ tiêu kỹ thuật và đánh giá về chất lượng, sau đó tinh phải nhanh chóng pha bước 1 với môi trường pha loãng thích hợp. Nếu kiểm tra đạt yêu cầu kỹ thuật mới pha chính thức bước 2 theo tỷ lệ và quy trình kỹ thuật sản xuất tinh đông lạnh.
4. Dùng thị giác và khứu giác để kiểm tra các chỉ tiêu của mục 1.2.1 và 1.2.2.
5. Kiểm tra chỉ tiêu ở mục 1.2.3 bằng ống hứng tinh hoặc ống đong có chia độ chính xác đến 0,1 ml.
6. Kiểm tra chỉ tiêu ở mục 1.2.4 phải theo các phương pháp sau:
 - 6.1 Đánh giá hoạt lực của tinh trùng (A) bằng kính hiển vi có độ phóng đại từ 100-200 lần và căn cứ vào tốc độ hình thành của các cuộn sóng để xác định sức hoạt động.
 - 6.2 Để kiểm tra hoạt lực của tinh trùng, sử dụng tiêu bản có phủ lamên và thị kính có độ phóng đại từ 200-400 lần để xác định tỷ lệ tinh trùng tiến thẳng theo hệ thang 10 điểm. Trước khi kiểm tra, tinh dịch phải được pha loãng với dung dịch NaCl 0,9% theo tỷ lệ nhất định để có mật độ tinh trùng từ 50-100 triệu trên 1 ml.
7. Kiểm tra chỉ tiêu của mục 1.2.5 phải dùng một trong các phương pháp sau đây:
 - Phương pháp đếm hồng cầu bằng buồng đếm Neubauer.

- Máy so màu.

Dùng máy so màu quang sắc kế thì buộc phải định kỳ hàng tháng kiểm tra lại độ chính xác bằng phương pháp đếm hồng cầu.

8. Kiểm tra chỉ tiêu của mục 1.2.6 bằng phương pháp nhuộm màu Eosin. Phải nhuộm ngay sau khi lấy tinh, thao tác nhanh, không được kéo dài quá 2 phút. Dùng kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần đếm ít nhất 200 tinh trùng để xác định tỷ lệ tinh trùng sống và chết.
9. Kiểm tra định kỳ hàng tháng chỉ tiêu của mục 1.2.7 bằng phương pháp nhuộm màu Giemsa. Dùng kính hiển vi có độ phóng đại trên 400 lần, kiểm tra ít nhất là 300 tinh trùng để xác định tinh trùng kỳ hình.
10. Kiểm tra định kỳ hàng tháng chỉ tiêu của mục 1.2.8 để xác định độ pH của tinh nguyên bằng một trong những phương pháp sau đây:
 - a. Giấy đo pH
 - b. Máy đo pH
11. Tất cả các chỉ tiêu kỹ thuật trên phải tiến hành ngay trong thời gian 10 phút kể từ khi tinh trùng được lấy ra khỏi cơ thể bò đực.
12. Khi xuất nhập tinh bò đông lạnh phải có phiếu kèm theo trong đó ghi đầy đủ các thông tin cần thiết như thời gian sản xuất, số hiệu bò đực, giống bò, chỉ tiêu về sức hoạt động của tinh trùng sau khi giải đông.

PHỤ LỤC 3
TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG PHÔI BÒ
SỮA, BÒ THỊT
(10 TCN - 532 – 2002)

Tiêu chuẩn này áp dụng để đánh giá chất lượng phôi (embryo) bò hướng sữa và bò hướng thịt sản xuất trong nước hoặc nhập khẩu dùng cho công nghệ cấy truyền phôi tươi hoặc phôi đông lạnh.

I. PHÔI BÒ

1.1. Khái niệm

- 1.1.1 Phôi bò được hình thành do sự kết hợp của tinh trùng và tế bào trứng trong điều kiện in vivo hoặc in vitro với các giai đoạn phân chia và phát triển khác nhau phù hợp với tuổi phôi.
- 1.1.2 Sau khi thụ tinh hợp tử được hình thành và tiếp tục phân chia, phát triển thành phôi ở các giai đoạn 2, 4, 8, 16, 32, 64... tế bào, trong thời kỳ này toàn bộ các tế bào của phôi bò có cấu tạo, chức năng giống nhau và chưa biệt hoá. Sau đó phôi được phát triển thành phôi dâu (Morula), phôi dâu chặt (Compact Morula), phôi nang (Blastocyte) và phôi nang mở rộng (Expanded Blastocyte).
- 1.1.3 Quá trình phân chia của phôi ở các giai đoạn phát triển khác nhau được tiến hành trong phạm vi của màng trong suốt, vì vậy trong thời kỳ này phôi chủ yếu tăng lên về số lượng tế bào nhưng ít thay đổi về thể tích và kích thước.
- 1.1.4 Công nghệ cấy truyền phôi bò được tiến hành thu hoạch, bảo quản và cấy phôi ở giai đoạn 7-8 ngày

tuổi, trước khi phôi thoát màng, định vị và làm tổ ở tử cung.

- 1.1.5 Sau khi lấy ra khỏi cơ thể bò cho, phôi được bảo quản trong môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C, được kiểm tra ngay các chỉ tiêu kỹ thuật và đánh giá chất lượng trong khoảng thời gian không quá 45 phút.
- 1.2 Yêu cầu kỹ thuật đối với phôi bò:
 - 1.2.1 Hình dáng, kích thước: Phôi bò có hình dáng giống như khối cầu, đường kính 150-180µ.
 - 1.2.2 Màu sắc: Quan sát dưới kính hiển vi soi nổi, phía ngoài phôi có màu sáng, bên trong là tế bào chất và các bào phôi liên kết với nhau thành khối tế bào có màu đậm hơn.
 - 1.2.3 Màng trong suốt (Zonapellucida) của phôi bò tròn và đều đặn, không có khuyết tật về hình dáng, không bị rạn nứt hoặc rạn vỡ.
 - 1.2.4 Nhân có màu sẫm đậm, các tế bào phân chia đều, rõ nét, có số lượng tế bào tương ứng với tuổi của phôi.
 - 1.2.5 Các giai đoạn phát triển của phôi bò: phôi dâu, phôi nang sớm và phôi nang phải tương ứng với thời điểm thu hoạch phôi (ngày thứ bảy hoặc thứ tám).
 - 1.2.6 Phôi tươi dùng để cấy phải đạt từ loại trung bình (loại C) trở lên và để đông lạnh phải đạt từ loại tốt (loại B) trở lên.
 - 1.2.7 Phôi không bị nhiễm khuẩn hay các tác nhân gây bệnh có hại cho người và động vật.

II. PHÔI DÙNG TRONG NHÂN GIỐNG BÒ SỮA, BÒ THỊT

2.1. Khái niệm

2.1.1. Phôi tươi là phôi được lấy ra trực tiếp từ bò cho phôi vào thời gian từ 7-8 ngày kể từ khi phối giống, phôi được nuôi cấy và bảo quản trong môi trường và nhiệt độ thích hợp trước khi cấy cho bò nhận phôi đã gây động dục đồng pha. Thời gian nuôi cấy và bảo quản phôi ngoài cơ thể bò tối đa là 4 giờ.

2.1.2. Phôi đông lạnh là phôi có chất lượng từ loại tốt trở lên đã được đông lạnh và bảo quản trong nitơ lỏng. Trước khi đông lạnh, phôi được nuôi trong môi trường thích hợp và được bổ sung chất bảo vệ lạnh. Khi đã đông lạnh phôi được bảo quản liên tục ở nhiệt độ -196°C .

2.2. Yêu cầu kỹ thuật đối với phôi tươi

2.2.1. Phôi tươi phải đảm bảo các chỉ tiêu kỹ thuật ở mục 1.2. Sau khi phân loại và đánh giá chất lượng, phôi được đưa vào cọng rạ 0,25 ml cùng với môi trường nuôi cấy phôi.

2.2.2. Sau khi thu hoạch 2-4 giờ, phôi tươi có chất lượng từ loại C trở lên được dùng để cấy cho bò cái đã gây động dục đồng pha.

2.2.3. Trong môi trường nuôi cấy và bảo quản phôi tươi phải có các loại kháng sinh với hàm lượng thích hợp để phòng nhiễm khuẩn.

2.3. Yêu cầu kỹ thuật đối với phôi đông lạnh

2.3.1. Phôi dùng để đông lạnh phải đạt các chỉ tiêu quy định trong mục 1.2 và chất lượng phôi dùng để đông lạnh phải đạt từ loại B trở lên.

2.3.2. Môi trường đông lạnh phải có hàm lượng kháng sinh, các chất bảo vệ và chất chống sốc lạnh thích hợp.

2.3.3. Phôi được đưa vào cọng rạ 0,25 ml, được đông lạnh và bảo quản liên tục trong nitơ lỏng.

2.3.4. Sau khi giải đông, phôi phải có chất lượng từ trung bình trở lên (loại C) mới sử dụng trong cấy truyền phôi.

Phụ lục: các phương pháp kiểm tra, đánh giá chất lượng phôi bò sữa, bò thịt

1. Sau khi lấy ra khỏi cơ thể bò cho phôi, phôi phải được kiểm tra ngay các chỉ tiêu trong mục 1.2. nếu phôi đạt yêu cầu kỹ thuật mới được cấy và hoặc đông lạnh theo các quy trình kỹ thuật thích hợp.
2. Đánh giá và phân loại phôi được tiến hành dưới kính hiển vi soi nổi có độ phóng đại từ 18-98 lần và áp dụng các quy định trong mục 1.2.
3. Kiểm tra chỉ tiêu ở mục 1.2 căn cứ và hình dạng, kích thước, màu sắc của màng trong suốt và cấu trúc của khối tế bào phôi.
4. Phân loại giai đoạn phát triển của phôi dựa vào số lượng, sự phân bố, hình dáng, kích thước và màu sắc của các tế bào phôi.
5. Phôi bò được đánh giá phân loại chất lượng theo các hình thức sau:

5.1 Phân loại phôi theo chất lượng: A, B, C và D

+ Phôi loại A: Phôi rất tốt

Phôi có hình dáng, kích thước và giai đoạn phát triển phù hợp với tuổi phôi. Màng trong suốt tròn đều và sáng, khối tế bào phôi đậm, phân chia đều, rõ nét và có sự liên kết chặt chẽ.

+ Phôi loại B: Phôi tốt

Trương tự như loại trên nhưng có một số hạn chế như màu sắc không tươi sáng hoặc không rõ nét như phôi loại A.

+ Phôi loại C: Phôi trung bình

Phôi đạt tiêu chuẩn cấy nhưng có hạn chế về hình dáng kích thước hoặc sự phân bố các tế bào phôi không đều và liên kết không được chặt chẽ.

+ Phôi loại D: Phôi không đạt tiêu chuẩn cấy

Phôi ở giai đoạn phát triển quá chậm so với tuổi, các tế bào phôi bị vỡ, màng trong suốt bị khuyết tật, có hình dạng và kích thước không bình thường, hoặc phôi đã bị thoái hoá.

5.2 Phân loại theo giai đoạn phát triển

+ Phôi dâu (Morula): Phôi đang phát triển ở ngày thứ 6-7, có số lượng tế bào phôi từ 64 trở lên, khối phôi bào phát triển thưa, xoang noãn hoàng còn rộng.

+ Phôi dâu chặt (Compact Morula): Phôi đang phát triển ở ngày thứ 7, các tế bào phôi kết hợp chặt chẽ, vững chắc và chiếm trên 80% xoang noãn hoàng phía trong màng trong suốt.

+ Phôi nang (Blastocyte): Khi phôi đã phát triển và hình thành nên một khoảng trống chứa đầy dịch gọi là xoang phôi.

+ Phôi nang mở rộng (Expanded Blastocyte): Phôi đã lớn lên về số lượng tế bào và kích thước toàn bộ khối tế bào phôi đã thoát ra khỏi màng trong suốt.

6. Các chỉ tiêu về đánh giá và phân loại chất lượng phôi bào được tiến hành trong thời gian 45 phút kể từ khi lấy phôi ra khỏi cơ thể.

7. Khi bảo quản, xuất nhập phôi đông lạnh đều phải có phiếu kèm theo ghi đầy đủ lý lịch phôi: địa điểm, thời gian sản xuất, số hiệu bố mẹ, giống, các chỉ tiêu về

chất lượng của phôi trước khi đông lạnh, phương pháp đông lạnh và giải đông phôi trước khi cấy.

8. Kiểm tra có thai sau cấy phôi 2 tháng bằng máy siêu âm và 3 tháng bằng phương pháp kiểm tra thai qua trực tràng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt:

Hoàng Kim Giao, Nguyễn Thanh Dương (1997) Công nghệ sinh sản trong chăn nuôi bò. NXB Nông nghiệp -Hà Nội

Hoàng Kim Giao, Nguyễn Thanh Dương, Đỗ Kim Tuyên, Lưu Công Khánh, Lê Thị Thuý (1997) Công nghệ cấy truyền phôi bò. NXB Nông nghiệp - Hà Nội.

Nguyễn Tấn Anh, Nguyễn Văn Hoan (2000) Giáo trình Sinh lý sinh sản gia súc (Cao học). NXB Nông nghiệp-Hà Nội.

Nguyễn Trọng Tiến, Nguyễn Xuân Trạch, Mai Thị Thơm, Lê Văn Ban (2001) Giáo trình Chăn nuôi trâu bò. NXB Nông nghiệp-Hà Nội.

Phùng Quốc Quảng (2001) Nuôi bò sữa năng suất cao-hiệu quả lớn. NXB Nông nghiệp-Hà Nội.

Trần Tiến Dũng, Dương Đình Long, Nguyễn Văn Thanh (2002) Giáo trình Sinh sản gia súc. NXB Nông nghiệp-Hà Nội.

Tiếng Anh:

AusAID (2001) Enhancing Tropical Beef Cattle Genetics, Reproduction and Animal Breeding Skills. Proceedings of the AusAID CARD, Vietnam-Australia Development Cooperation Program Workshop, Tropical Beef Center,

Rockhamton, Queensland, Australia, from 23 April to 19 May 2001. 202pp

Hafer, E. S. E. (1993) Reproduction in farm animals (6th Ed.). Lea & Febiger. Philadelphia. 526 pp.

Knobil, E. and Neill, J. D. (1989) The Physiology of Reproduction. Raven Press. New York. 2256 pp.

Nguyen Xuan Trach (1996) Artificial Manipulation of Oestrus and Ovulation in Post-partum Cows. MSc Thesis. The University of New England. Australia. 142pp

MỤC LỤC

Chương 1: CHĂN NUÔI BÒ ĐỰC GIỐNG

- I. GIẢI PHẪU CƠ QUAN SINH DỤC ĐỰC
- II. TINH DỊCH
- III. ĐIỀU HOÀ THẦN KINH-THỂ DỊCH ĐỐI VỚI HOẠT ĐỘNG SINH DỤC CỦA BÒ ĐỰC
- IV. NHỮNG NHÂN TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN SỐ LƯỢNG VÀ CHẤT LƯỢNG TINH DỊCH
- V. NUÔI DƯỠNG BÒ ĐỰC GIỐNG
- VI. QUẢN LÝ VÀ CHĂM SÓC ĐỰC GIỐNG
- VII. KHAI THÁC VÀ ĐÁNH GIÁ TINH DỊCH
- VIII. SỬ DỤNG BÒ ĐỰC GIỐNG

Chương 2: CHĂN NUÔI BÒ CÁI SINH SẢN

- I. GIẢI PHẪU CƠ QUAN SINH DỤC BÒ CÁI
- II. HOẠT ĐỘNG CHU KỲ TÍNH
- III. MANG THAI
- IV. ĐẼ
- V. PHỤC HỒI HOẠT ĐỘNG SINH DỤC SAU KHI ĐẼ
- VI. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG SINH SẢN CỦA BÒ CÁI
- VII. CÁC NHÂN TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN KHẢ NĂNG SINH SẢN CỦA BÒ CÁI
- VIII. NUÔI DƯỠNG BÒ CÁI SINH SẢN
- IX. CHĂM SÓC BÒ CÁI SINH SẢN

Chương 3: CHĂN NUÔI BÊ

- I. SỰ PHÁT TRIỂN CỦA BÊ
- II. NUÔI DƯỠNG VÀ CHĂM SÓC BÊ

Chương 4: THỤ TINH NHÂN TẠO

- I. PHÁT HIỆN ĐỘNG DỤC VÀ XÁC ĐỊNH THỜI GIAN

PHỐI THÍCH HỢP

II. CÔNG NGHỆ THU TINH NHÂN TẠO

Chương 5: ĐIỀU KHIỂN ĐỘNG DỤC

I. MỘT SỐ HỌC-MÔN VÀ CÁC CHẾ PHẨM CHỦ YẾU
ĐƯỢC ỨNG DỤNG TRONG ĐIỀU KHIỂN SINH SẢN

II. GÂY ĐỘNG DỤC ĐỒNG LOẠT

III. KÍCH THÍCH ĐỘNG DỤC

Chương 6: CẤY TRUYỀN PHÔI

I. LỢI ÍCH CỦA GÂY SIÊU BÀI NOÃN VÀ CẤY
TRUYỀN PHÔI

II. CÔNG NGHỆ PHÔI VÀ CẤY TRUYỀN PHÔI

Chương 7: BỆNH SINH SẢN VÀ SẢN KHOA

I. RỐI LOẠN SINH SẢN

II. BỆNH TRONG THỜI GIAN MANG THAI

III. BỆNH SAU KHI ĐẸ

IV. BỆNH VIÊM VÚ

V. MỘT SỐ CAN THIỆP SẢN KHOA

PHẦN PHỤ LỤC

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Chịu trách nhiệm xuất bản
NGUYỄN CAO DOANH

Phụ trách bản thảo
BÍCH HOA-HOÀI ANH

Trình bày bìa
ĐỖ THỊNH

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

D₁₄ - Phương Mai - Đống Đa - Hà Nội

ĐT: 8.523887 - 8.521940 - Fax: 04.5.760748

CHI NHÁNH NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

58 Nguyễn Bình Khiêm - Quận I - Tp. Hồ Chí Minh

§T: 8.297157 - 8.299521 - Fax: 08.9.101036

In 1.000 bản khổ 13 × 19cm. Chế bản và in tại Xưởng in NXBNN.
Giấy chấp nhận đăng ký KHXB số 81/715 do Cục Xuất bản cấp ngày
1/7/2002. In xong và nộp lưu chiểu quý IV/2003.

