

# הזרעה מלאכותית בעזים עם זירמה קפואה

תוצאות מחקר 2004  
מס' תוכנית: 04-0075-362  
חיים גסיטוע, ד"ר אמיר ערב

הקדמה:

להזרעה מלאכותית בעזים חשיבות מרובה כאמצעי לטפוח ולהפצת גנים חדשים. קלות בהובלת הזרע ממקום למקום, מניעת מחלות בהשוואה להרבעות טביעות, והדבר המאוד חשוב שמירת זרמת תיישים מעונת הרבייה כשהזרמה באיכות טובה, לעונות המעבר כשהחשק המיני של התיישים ואיכות הזרמה במצב ירוד. בשנים אחרונות הובאו לארץ בכמה הזדמנויות זרמה קפואה של תיישים מארה"ב ומצרפת שהניבו לרוב תוצאות התעברות נמוכות אחרי הזרעות צרויקליות. בניסוי זה בדקנו את האפשרות בשימוש הזרעת עזים עם זרמה קפואה בטכנולוגיה חדשה. השימוש במיסות מיהול להקפאת זרמת תיישים על בסיס חלמון ביצה נפוץ מאוד בעולם אולם בפלסמה של הזרמה קיים אנזים פוספוליפז העושה ראקציה עם הפוספוליפידים של החלמון וגורם ליצירת חומרים רעילים לזרמה (B. Leboeuf, et al., 2000) בשל כך יש צורך לסילוק הפלסמה ע"י צנטריפוגציה פעולה שפוגע בתאי זרע ומסבך את העבודה. בשנים אחרונות חברות שונות פתחו תמיסות מהול להקפאת זרמת פרים על בסיס צמחי ובניסויים מקדימים מצאנו שאפשר להקפיא זרמת תיישים עם חומר זה (תוצרת חברת MINITUB, גרמניה) בשילוב עם שיטת הקפאה כונית (א. ערב, 1999), בניסויים מקדימים הגענו לתוצאות טובות כ- 60% עד 70% חיוניות הזרע לאחר הקפאה והפשרה.

מטרת הניסוי:

- 1) לפתח הזרעה צרויקלית בעזים עם זרמה קפואה
- 2) לייצר בנק זרע של עזים משובחות גנטית

חומרים ושיטות:

במושב כפר יהושוע במשק של משפחת עמיצור נערך ניסוי הזרעות עם זרמה קפואה, כ- שלושה שבועות לפני תחילת ההזרעות הוקפאה זרמה משלושה תיישים מגזע זאנן שהובאו מארה"ב. לאחר הקפאת הזרע סונכרנו הנקבות בטיפול ההורמונלי הקצר 11 יום CIDR ויומיים לפני הוצאת ה CIDR-הוזרק פרוסטגלנדין ו PMSG- הוצאת ה CIDR-היה בשעה 12 בלילה יומיים קודם כך שההזרעה ראשונה היתה 32-33 שעות מהוצאת ה CIDR- בשעה 8 בבוקר וכ- 7 שעות מאוחר יותר הוזרעו פעם שניה, היו שתי מחזורי הזרעה ו- 23/703 וב- 30/7/03. הזרמה הוקפאה בשיטת הקפאה כונית במכשיר MTG-516 שפותח בחברת (IMT- ישראל) (שבו מהירות הקפאה מבוקרת וקבועה של 1.0 מ"מ לשניה במבחנות המכילות 8 מ"ל זרע מהול, המבחנות עוברות דרך מפל טמפרטורה מ-5 ל-50- מעלות צלסיוס המאפשר קצב הקפאה מבוקר, לאחר לקיחת הזרע נבדק חיוניותה ומיקרוסקופ ונקבע הריכוז בתא הספרה (MAKLER- HAIFA)) הזרע נמהל לריכוז של 450 X106 וטמפרטורה יורד ל-4 מעלות במשך 2.5-3 שעות והוקפאה.

ביום ההזרעות הנקבות חולקו לשתי קבוצות, קבוצה אחת קבלה שתי הזרעות עם זרמה קפואה בריכוז של 225 X106 בנפח של 0.5 מ"ל למנת הזרעה, הזרמה לקבוצת בקורת נלקחה באותו יום של הזרעות ומוהלה באותו ריכוז ובאותו חומר מהול של הזרמה הקפואה, בדיקת אולטרסונד להריון נעשתה כ-50 יום לאחר ההזרעה.

תוצאות:

טבלה 1. נפח, ריכוז ותנועתיות של זירמת תיישים שנלקחה בזמנים שונים (ממוצעים של 3 תיישים)

תאריך	נפח זירמה מ"ל	ריכוז זירמה מליארד/מ"ל	תנוע ב-% לפני הקפאה	תנוע ב-% אחרי הקפאה
23/06/03	2.2	1.9	87	55
24/06/03	2	2.4	90	60
02/07/03	1.7	3.5	88	65
08/07/03	2	4.4	90	65
ממוצע	2	3.1	88.8	61.3

נפח הזירמה במרוקים השונים היה דומה, ריכוז תאי הזרע כמעט הוכפל ואילו התנועתיות היתה דומה לאורך תקופת הניסוי. ההקפאה וההפשרה גרמו לירידה של כ-20% בתנועתיות.

טבלה 2. התעברות העיזים כפי שנקבעה בבדיקת אולטרסאונד 50 ו- 90 ימים לאחר ההזרעה

מס' תייש	זירמה טריה מס' עיזים שהוזרעו	זירמה טריה עיזים בהריון (%)	זירמה קפואה מס' עיזים שהוזרעו	זירמה קפואה עיזים בהריון (%)
205	24	14 (58%)	27	9 (33%)
209	30	20 (67%)	30	11 (37%)
210	14	7 (50%)	15	8 (53%)
ס"ה	68		72	

אחוזי העיזים שהתעברו, לאחר שהוזרעו בזירמת אחד משלושה התיישים ששימשו לניסוי, נעו בין 50 ל-67. לאחר הקפאת והפשרת הזירמה חלה ירידה מובהקת ( $p < 0.05$ ) בשיעור ההריונות, שהיה בין 33 ל-53 אחוז. בממוצע של שלושת התיישים, אך ראוי לציין שירידה זו נצפתה בשני תיישים, אך לא בשלישי.

טבלה 3. ביצועי ההמלטות של העיזים שהוזרעו בזירמה טריה או מופשרת לאחר הקפאה

הזרעות זירמה טריה	הזרעות זירמה קפואה	
41	28	מס' עיזים בהריון
4	1	מס' ספיגות מ-60-90 יום
1	2	הפלות (< 90 יום)
69/41 (1.68)	50/28 (1.78)	מס' גזעים שנולדו/ ס"ה עיזים בהריון
31 (45%)	20 (40%)	מס' זכרים שנולדו
38 (55%)	30 (60%)	מס' נקבות שנולדו

ספיגת עוברים בין 40 ל-90 ימי הריון היו 4 (10%) ו-1 (3.6%) בקבוצות שהוזרעו בזירמה טריה ומופשרת, בהתאמה. לעומת זאת, ספיגת עוברים מ-90 יום ומעלה של ההריון היו 1 ו-2, 2.4 ו-7.2 אחוזים. בהתאמה. מספר הולדות לאם הרה היה דומה בשני הטיפולים 1.68 ו-1.78 בהתאמה. בשתי הקבוצות נולדו יותר נקבות מזכרים, ההבדל בין אחוזי הנקבות והזכרים היה 10% בקבוצת הביקורת ו-20% בניסוי.

מסקנות:

בעבודות קודמות מצאנו שלהקפאה כונית בנפחים גדולים יש השפעה חיובית על חיוניות הזרמה בהשוואה לנפחים קטנים (0.25 ו-0.5 מ"ל) בעבודה זו מצאנו שגם ההזרעות עם זרמה בנפח גדול היו נוחות יותר. לסיכום מחקר זה מורה שניתן להזריע עזים בהזרעה צרויקלית (לצאור הרחם) בזרע שהוקפאה ונשמר בחנקן נוזלי בעונת המעבר לעונת הרבייה. בעתיד יהיה ניתן להקים בנק זרע לזירמת עזים דבר שיקדם את הענף מבחינה טיפוחית וישפר את אחוזי הפוריות של עזים מחוץ לעונת הרבייה

ספרות:

Arav A., Device and methods for multigradient directional cooling and warming of biological samples, US Patent (1999) 5, 873-254.  
B. Lebouef., B. Restall., S. Salomon., 2000. production and storage of goat semen for artificial insemination. In: Animal Reproduction Science. 62, 113-141