

777

2003-2005

תקופת המחקר:

356-0403-05

קוד מחקר:

Subject: HOT CONDITIONING BROILER EMBRYOS TO INCREASE HEAT RESISTANCE DURING LIFE SPAN

Principal investigator: SHLOMO YAHAV

Cooperative investigator: EFRAT MONSONEGO, NOAM MEIRI

Institute: Agricultural Research Organization (A.R.O)

שם המחקר: התניית עוברי פטמים לחום כאמצעי להגברת עמידות לחום במהלך חייהם

חוקר ראשי: שלמה יהב

חוקרים שותפים: אפרת מונסונגו, נעם מאירי

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250

תקציר

בשנתיים הראשונות נבחנו מניפולציות תרמיות במהלך ההתפתחות העוברית. הדגש היה על מניפולציות בתקופות 8-10 ו-16-18 ימים להדגרה. ההתניות היו בטמפרטורות של 38.5, 39.5 ו-41 מ"צ. משנמצא כי הטמפרטורה המיטבית להתניה היא 39.5 מ"צ בימים 16-18 להתפתחות עוברית, נבדק משך החשיפה המיטבי. משכי החשיפה שנבחנו היו 3, 6, 12 ו-24 שעות. נמצא כי החשיפות המיטביות היו 3 ו-6 שעות. בשנה השלישית ועל בסיס התוצאות התקיימו שני ניסויים. האחד בחן את השפעת ההתניה המיטבית במהלך ההתפתחות העוברית על עמידות בעקות חום בגיל שיווק. השני עסק בהתניה עוברית לאור תוצאות הניסוי הראשון. בניסוי הראשון הותנו עוברים ביום 16-18 ב-39.5 מ"צ למשך 3 שעות. האפרוחים לאחר הבקיעה גודלו בתנאים סטנדרטיים ועברו הוקעה לחום בגיל 42 יום. לא נמצא יתרון של המותנים בהוקעה שנערכה.

נמצא כי העופות המותנים מאבדים את יתרוןם המתבטא בטמפרטורת גוף נמוכה ביום 28, עובדה המעלה את השאלות הבאות: 1. האם ההתניה התקיימה אומנם בתקופה המועדפת ובתנאים האופטימליים? 2. האם אדפטציות אפיגנטיות אינן מופעלות כתוצאה מההתניה המוצעת? לאור שאלות אילו, מתוך אמונה בגישה ולאור האמור הוצגה השערת המחקר הבאה: התנית עוברים לחום במהלך התפתחות והתבגרות הקשרים: היפותלמוס-היפופיזה-תירואיד; היפותלמוס-היפופיזה-אדרנל עשויים להוות חלק זמן מתאים להתניית עוברים לחום בהיותו חופף לזמן התבגרות המערכת האחראית על יצור החום (תירואיד) והעקה (אדרנל). מתוך ניסיון העבר שהורה כי טמפרטורת הדגרה בשיעור 39.5 מ"צ אינה גורמת כל נזק נקבעו מטרות המחקר הספציפיות: א. בחינת השפעת התנית עוברים לחום (39.5 מ"צ) ברצף בחלון זמן התפתחות והתבגרות הקשרים המוזכרים (ימים 7-16 להתפתחות עוברית); ב. בחינת השפעת התנית עוברים לחום (39.5 מ"צ, 12 שעות ביממה) באותו חלון זמן. לא נמצאה השפעה על אחוזי הבקיעה של עוברים שעברו התניה לחום במשך 12 שעות כל יום בימים 7 עד 16 להדגרה בהשוואה לביקורת (84% בשני הטיפולים). לעומת זאת היתה ירידה משמעותית ביותר באחוזי הבקיעה של עוברים שעברו התניה רצופה לחום בימים 7 עד 16 להדגרה (63%). אחוז האפרוחים שבקעו עם פגמים, בעיקר אי ספיגה מוחלטת של שק החלמון, היה גבוה באופן משמעותי ($P < 0.0001$) בעוברים שהותנו ברצף בהשוואה לטיפולים האחרים. אומנם בניסוי זה נבחרו שני טיפולים, האחד התניה רצופה והשני התניה לסירוגין במטרה לבחון את האמור.

תוצאות הניסוי מורות כי להתניה רצופה במהלך ארוך (ימים 7-16) יש השפעה משמעותית על התפתחות תופעות טרטוגניות הגורמות בסיכומן להפחתה משמעותית בשיעורי הבקיעה מחד ומאידיך באיכות האפרוחים. עם זאת נראה בברור היתרון התרמורגולטורי באפרוחים אלה, הבא לידי ביטוי בטמפרטורת גוף נמוכה משמעותית בעת הבקיעה ובמהלך ההוקעה לחום, בזכרים משמעותית יותר מאשר בנקבות ובדינאמיקה של הורמוני התירואיד. הטיפול בו ההתניה היתה לסירוגין, נראה כי לא היתה כל פגיעה בביצועי הבקיעה ובאיכות האפרוח. עם זאת בהיבט היכולת לווסת את טמפרטורת הגוף במהלך ההוקעה לחום לא נימצא כל יתרון בזכרים ויתרון מובהק בנקבות.

תוצאות אלו מהוות בסיס להמשך הניסויים כאשר השאלה הנשאלת היא: האם חשיפה רצופה לחום, אולם במשך מספר קטן של ימים ישפר את ביצועי ההטלה ואיכות האפרוח ויתיר על כנו את היתרון במאזן משק החום, או לחלפין יש צורך להתנות את העוברים באותם ימים אולם במספר שעות קטן יותר ליממה (בין 12 ל-18 שעות, לדוגמא).

באשר להשפעת התנית חום על התפתחות מערכת הדם, ניתן לסכם כי התניית עוברים לחום (38.5 מ"צ) מיום בקיעתם ועד יום 10 להתפתחותם העוברית, הראתה עליה משמעותית בביטוי הגן לגילטינאז A ולא לגילטינאז B גם בעוברים וגם ב-CAM, אלא שבעוברים רמת הביטוי היתה נמוכה משמעותית בהשוואה ל-CAM בימים הראשונים (4 ימים) ומגמה זו התהפכה בגיל 10 ימים. בניסוי שנימשך עד הבקיעה ניתן לראות כי משקל האפרוחים המותנים היה גבוה משמעותית מאפרוחי הביקורת אולם שיעור הבקיעה היה נמוך בכ-20%.

לסיכום ניתן לאמור כי התניית העוברים פועלת גם ברמת משק החום וגם בהקשר לתהליכים האנגיוגניים, אלא שמחקר רב דרוש עדיין כדי למצוא את התנאים המיטביים ולהבין את מנגנוני הפעולה השונים.

רשימת פרסומים

- Yahav, S. Sasson Rath, R. and Shinder, D. (2004). The effect of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chicks (*Gallus domesticus*) on hatchability, performance and thermoregulation after hatch. *J. Therm. Biol.* 29:245-250.
- Yahav, S., Collin, A. Shinder, D. and Picard, M. (2004). Thermal manipulations during broiler chick's embryogenesis – the effect of timing and temperature. *Poult. Sci.* 83: 1959-1963.
- Collin, A., Picard, M. and Yahav, S. (2005). The effect of duration of thermal manipulation during broiler chick's embryogenesis on body weight and body temperature of post hatched chicks. *Anim. Res.* 54: 105-111.
- Collin, A., Berri, C., Tesseraud, S., Requena, F., Cassy, S., Crochet, S., Duclos, M. J., Rideau, N., Tona, K., Buyse, J., Bruggemann, V., Decuypere, E., Picard, M. and

Yahav, S. (2006). Effect of Thermal Manipulations during Early and Late Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Characteristics of Broiler Chicken. *Poult. Sci.* (submitted).

Yahav, S., Collin, A., Shinder, D. and Piard, M. (2004). Thermal manipulations of broiler chickens during embryogenesis to improve thermotolerance acquisition – the role of thyroid hormones and corticosterone. *5th International Conference on Farm Animal Endocrinology, Budapest Hungary*. p. 42.

Monsonego-Ornan, E, Sasson-Raat, R, Yael, E, and Yahav S. (2004). Heat conditioning of chick embryos enhancing the expression of gelatinase A. *XXII Worlds Poultry Conference, Istanbul Turkey*. p. 217.

התניית עוברי פטמים לחום כאמצעי להגברת עמידות לחום במהלך חייהם
Hot conditioning designated in broiler embryos to increase heat
resistance during life span

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

שלמה יהב, מכון לחקר בע"ח, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן ת.ד. 6, 50250.

Institute of Animal Science, ARO the Volcani center, Bet Dagan P.O. Box 6, 50250

yahavs@agri.huji.ac.il

חוקרים משניים: נועם מאירי, מכון לחקר בע"ח, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן ת.ד. 6, 50250.

Institute of Animal Science, ARO the Volcani center, Bet Dagan P.O. Box 6, 50250

meiri@agri.huji.ac.il

אפרת מונסונגו אורן, מכון לחקר בע"ח, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן ת.ד. 6, 50250.

Institute of Animal Science, ARO the Volcani center, Bet Dagan P.O. Box 6, 50250

ornanme@agri.huji.ac.il

אדר תשס"ה

מרס 2006

2. הממצאים בדו"ח זה הם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים לצערי, לא בשלב זה

חתימת החוקר

רשימת פרסומים

Yahav, S. Sasson Rath, R. and Shinder, D. (2004). The effect of thermal manipulations during embryogenesis of broiler chicks (*Gallus domesticus*) on hatchability, performance and thermoregulation after hatch. *J. Therm. Biol.* 29:245-250.

Yahav, S., Collin, A. Shinder, D. and Picard, M. (2004). Thermal manipulations during broiler chick's embryogenesis – the effect of timing and temperature. *Poult. Sci.* 83: 1959-1963.

Collin, A., Picard, M. and Yahav, S. (2005). The effect of duration of thermal manipulation during broiler chick's embryogenesis on body weight and body temperature of post hatched chicks. *Anim. Res.* 54: 105-111.

Collin, A., Berri, C., Tesseraud, S., Requena, F., Cassy, S, Crochet, S., Duclos, M. J., Rideau, N., Tona, K., Buyse, J., Bruggemann, V., Decuypere, E., Picard, M. and Yahav, S. (2006). Effect of Thermal Manipulations during Early and Late

Embryogenesis on Thermotolerance and Breast Characteristics of Broiler Chicken. *Poult. Sci.* (submitted).

Yahav, S., Collin, A., Shinder, D. and Piard, M. (2004). Thermal manipulations of broiler chickens during embryogenesis to improve thermotolerance acquisition – the role of thyroid hormones and corticosterone. *5th International Conference on Farm Animal Endocrinology, Budapest Hungary*. p. 42.

Monson-Ozman, E., Sasson-Raat, R., Yael, E., and Yahav S. (2004). Heat conditioning of chick embryos enhancing the expression of gelatinase A. *XXII Worlds Poultry Conference, Istanbul Turkey*. p. 217.

א. תקציר

בשנתיים הקודמות נבחנו מניפולציות תרמיות במהלך ההתפתחות העוברית. הדגש היה על מניפולציות בתקופות 8-10 ו-16-18 ימים להדגרה. ההתניות היו בטמפרטורות של 39.5, 38.5 ו-41 מ"צ. משנמצא כי הטמפרטורה המיטבית להתניה היא 39.5 מ"צ בימים 16-18 להתפתחות עוברית, נבדק משך החשיפה המיטבי. משכי החשיפה שנבחנו היו 3, 6, 12 ו-24 שעות. נימצא כי החשיפות המיטביות היו 3 ו-6 שעות. בשנה הנוכחית ועל בסיס התוצאות התקיימו שני ניסויים. האחד בחן את השפעת ההתניה המיטבית במהלך ההתפתחות העוברית על עמידות בעקות חום בגיל שיווק. השני עסק בהתניה עוברית לאור תוצאות הניסוי הראשון. בניסוי הראשון הותנו עוברים ביום 16-18 ב-39.5 מ"צ למשך 3 שעות. האפרוחים לאחר הבקיעה גודלו בתנאים סטנדרטיים ועברו הוקעה לחום בגיל 42 יום. לא נימצא יתרון של המותנים בהוקעה שנערכה. נימצא כי העופות המותנים מאבדים את יתרוןם המתבטא בטמפרטורת גוף נמוכה ביום 28, עובדה המעלה את השאלות הבאות: 1. האם ההתניה התקיימה אומנם בתקופה המועדפת ובתנאים האופטימליים? 2. האם אדפטציות אפיגנטיות אינן מופעלות כתוצאה מההתניה המוצעת? לאור שאלות אלו, מתוך אמונה בגישה ולאור האמור הוצגה השערת המחקר הבאה: התנית עוברים לחום במהלך התפתחות והתבגרות הקשרים: היפותלמוס-היפופיזה-תירואיד; היפותלמוס-היפופיזה-אדרנל עשויים להוות חלון זמן מתאים להתנית עוברים לחום בהיותו חופף לזמן התבגרות המערכת האחראית על יצור החום (תירואיד) והעקה (אדרנל). מתוך ניסיון העבר שהורה כי טמפרטורת הדגרה בשיעור 39.5 מ"צ אינה גורמת כל נזק נקבעו מטרות המחקר הספציפיות: א. בחינת השפעת התנית עוברים לחום (39.5 מ"צ) ברצף בחלון זמן התפתחות והתבגרות הקשרים המוזכרים (ימים 7-16 להתפתחות עוברית); ב. בחינת השפעת התנית עוברים לחום (39.5 מ"צ, 12 שעות ביממה) באותו חלון זמן. לא נמצאה השפעה על אחוזי הבקיעה של עוברים שעברו התניה לחום במשך 12 שעות כל יום בימים 7 עד 16 להדגרה בהשוואה לביקורת (84% בשני הטיפולים). לעומת זאת היתה ירידה משמעותית ביותר באחוזי הבקיעה של עוברים שעברו התניה רצופה לחום בימים 7 עד 16 להדגרה (63%). אחוז האפרוחים שבקעו עם פגמים, בעיקר אי ספיגה מוחלטת של שק החלמון, היה גבוה באופן משמעותי ($P < 0.0001$) בעוברים שהותנו ברצף בהשוואה לטיפולים האחרים. אומנם בניסוי זה נבחרו שני טיפולים, האחד התניה רצופה והשני התניה לסירוגין במטרה לבחון את האמור. תוצאות הניסוי מורות כי להתניה רצופה במהלך ארוך (ימים 7-16) יש השפעה משמעותית על התפתחות תופעות טרטוגניות הגורמות בסיכומן להפחתה משמעותית בשיעורי הבקיעה מחד ומאידך באיכות

האפרוחים. עם זאת נראה בברור היתרון התרמורגולטורי באפרוחים אלה, הבא לידי ביטוי בטמפרטורת גוף נמוכה משמעותית בעת הבקיעה ובמהלך החקעה לחום, בזכרים משמעותית יותר מאשר בנקבות ובדינמיקה של הורמוני התירואיד. הטיפול בו ההתניה היתה לסירוגין, נראה כי לא היתה כל פגיעה בביצועי הבקיעה ובאיכות האפרוח. עם זאת בהיבט היכולת לווסת את טמפרטורת הגוף במהלך החקעה לחום לא נימצא כל יתרון בזכרים ויתרון מובהק בנקבות.

תוצאות אלו מהוות בסיס להמשך הניסויים כאשר השאלה הנשאלת היא: האם חשיפה רצופה לחום, אולם במשך מספר קטן של ימים ישפר את ביצועי ההטלה ואיכות האפרוח ויתיר על כנו את היתרון במאזן משק החום, או לחליפין יש צורך להתנות את העוברים באותם ימים אולם במספר שעות קטן יותר ליממה (בין 12 ל-18 שעות, לדוגמא).

באשר להשפעת התנית חום על התפתחות מערכת הדם, ניתן לסכם כי התניית עוברים לחום (38.5 מ"צ) מיום בקיעתם ועד יום 10 להתפתחותם העוברית, הראתה עליה משמעותית בביטוי הגן לגילטינאז A ולא לגילטינאז B גם בעוברים וגם ב-CAM, אלא שבעוברים רמת הביטוי היתה נמוכה משמעותית בהשוואה ל-CAM בימים הראשונים (4 ימים) ומגמה זו התהפכה בגיל 10 ימים. בניסוי שנימשך עד הבקיעה ניתן לראות כי משקל האפרוחים המותנים היה גבוה משמעותית מאפרוחי הביקורת אולם שיעור הבקיעה היה נמוך בכ-20%.

לסיכום ניתן לאמר כי התניית העוברים פועלת גם ברמת משק החום וגם בהקשר לתהליכים האנרגטיים, אלא שמחקר רב דרוש עדיין כדי למצוא את התנאים המיטביים ולהבין את מנגנוני הפעולה השונים.

ב. מבוא

ענף הלול בישראל שערכו נאמד ב-3.2 מיליארד שקל בשנה, מהווה כ-18% מסך התפוקה החקלאית. ענף הפטמים מהווה 48% מסך הכנסות הענף. חלק ניכר מהגידול עובר ויעבור בעתיד מאזורים אורבניים צפופי אוכלוסין לפריפריה בעיקר לנגב ולרמת הגולן. אזורים אלו מאופיינים בטמפרטורות סביבה גבוהות במהלך האביב, הקיץ והסתיו המלוות בלחות יחסית נמוכה. תנאי אקלים אילו פוגעים באופן משמעותי בביצועי הפטמים מחד, ובמקרים רבים גורמים לאחוזי תחלואה ותמותה גבוהים (בעיקר בחמסינים בעונות המעבר – אביב, סתיו) הגורמים להפסדים משמעותיים לענף.

במהלך שלושת העשורים האחרונים מתקיימת לבירה אינטנסיבית ביותר בעופות בשר מהירי גדילה (פטמים). כיום משווקים הפטמים במשקל 2 ק"ג בגיל 42 יום, אולם בשוק כבר מצויים פטמי העתיד שמשקלם 2 ק"ג בגיל 35 יום. עם זאת הדגש בברירה הגנטית של העופות הינו על משקל (שריר), בעוד התפתחותם של מערכות ויסצראליות כמו מערכת לב – ריאה, מערכת דם ושלד לא זכו לתשומת לב דומה ולכן התפתחותם היחסית למשקל גוף העוף הינה שלילית.

העובדה שיצרנות נוגדת יכולת עמידות גרמה לכך שננסה לבחון האם קיימות פרצות בהנחה האמורה בשלבים שונים של התפתחות העוף מעובר לבוגר וזאת בהסתמך על ההנחה כי ניתן להטמיעה "זיכרון תרמי" בשלבים שונים של התפתחות העוברית על בסיס אדפטציות אפיגנטיות –

Epigenetic adaptation

במהלך שלוש השנים האחרונות התרכזו מחקרנו בניסיון להקנות לפטמים עמידות לעקות חום מזדמנות באמצעות מניפולציות תרמיות במהלך ההדגרה. התוצאות מורות כי: א. התניה תרמית

במהלך היום ה-16 עד ה-18 להתפתחות העוברית גורם לירידה משמעותית ברמת המטבוליזם של האפרוח הבוקע. ב. אפרוחים שעברו התניה במהלך ההתפתחות העוברית, עמידים לאין שיעור בעקה תרמית המתרחשת בגיל 3 ימים. ג. אותם אפרוחים מגלים האצה בגדילה שנבדקה עד גיל 10 ימים בלבד.

לאור האמור הוצגו מטרות המחקר לשנה הנוכחית עפ"י שני הניסויים השונים:

ניסוי א':

לבחון את יעילות ההתניה (ימים 8-10 ו-16-18 להתפתחות עוברית) על עמידות תרמית של עופות לחום בגיל 42 יום.

ניסוי ב':

לאור תוצאות כישלון ההוקעה לחום בגיל 42 יום נקבעו מטרות המחקר לניסוי זה:

א. בחינת השפעת התנית עוברים לחום (39.5 מ"צ) ברצף בחלון זמן התפתחות והתבגרות הקשרים היפותלמוס-היפופיזה-בלוטת תירואיד או אדרנל (ימים 7-16 להתפתחות עוברית).

ב. בחינת השפעת התנית עוברים לחום (39.5 מ"צ, 12 שעות ביממה) בחלון זמן התפתחות והתבגרות הקשרים המוזכרים (ימים 7-16 להתפתחות עוברית).

ג. פרוט הניסויים שבוצעו והתוצאות שהתקבלו

1. חומרים ושיטות

ניסויי ההתניה בוצעו תוך שימוש במדגרת אם ושתי מדגרות בהן ניתן לשנות טווחי טמפרטורות בתחום הנדרש. כל המדגרות היו מצוידות בבקרה מדויקת לטמפרטורת סביבה, לחות יחסית, וטילטול הביצים. ביצים מופרות שמשו לצורכי שני הניסויים.

ניסוי התניה והוקעה בגיל שיווק:

1500 ביצים מופרות חולקו לארבע קבוצות טיפול: 1. ביקורת (C) בה הודגרו הביצים ב-37.8 מ"צ ו-56% לחות במהלך כל תקופת ההדגרה; 2. התניה לחום (39.5 מ"צ, 65% לחות יחסית למשך 3 שעות) בימים 8-10 להתפתחות העוברית, סימון הקבוצה – E; 3. התניה לחום (39.5 מ"צ, 65% לחות יחסית למשך 3 שעות) בימים 16-18 להתפתחות העוברית, סימון הקבוצה – L; 4. התניה לחום (39.5 מ"צ, 65% לחות יחסית למשך 3 שעות) בימים 8-10 ובימים 16-18 להתפתחות העוברית, סימון הקבוצה – EL. המעקב אחר הבקיעה היה במהלך 36 שעות כאשר כל שעתיים הוצאו אפרוחים יבשים מהמדגרה. העופות גודלו על רפד ב-24 תאים בהם 40 עופות בכל תא (זכרים ונקבות). העופות נשקלו פעמיים במשך הגידול: בגיל 28 ו-41 יום. בגיל 41 יום נלקחו 63 עופות מטיפול והועברו למבנה בו נשמרה טמפרטורה בת 22 מ"צ, יתרת העופות עברו הוקעה לחום (35 מ"צ למשך 6 שעות). במהלך ההוקעה היה מעקב רציף אחר תמותת העופות. יממה לאחר תום ההוקעה הומתו העופות ונקבע משקל שריר חזה כאחוז ממשקל גוף.

כל הנתונים עובדו סטטיסטית באמצעות מבחן one-way ANOVA. הבדלים נחשבו משמעותיים כאשר $P \leq 0.05$.

ניסוי התניה:

540 ביצים חולקו סטטיסטית עפ"י משקל הביצה לשלושה טיפולים: ביקורת, התניה רצופה בימים 7 עד 16 להתפתחות העוברית, התניה של 12 שעות ביממה בימים 7 עד 16 להתפתחות העוברית. הביצים הודגרו ב-37.8 מ"צ ו-56% לחות יחסית. מגשי הביצים טולטלו אחת לשעה. ביום 6 נקבעה פוריות הביצים. ביום 7 להתפתחות העוברית הועלתה טמפרטורת ההדגרה באינקובטור ההתניה ל-39.5 מ"צ והלחות היחסית ל-65% בהתאם לטיפולים. בתום כל התניה הוחזרו האינקובטורים לתנאי ההדגרה הסטנדרטיים. ביום 19, הורדו הביצים למגשי בקיעה. ביום 20 להדגרה החל תהליך הבקיעה.

בניסוי התבצע מעקב בקיעה רצוף מבקיעת הביצה הראשונה ואילך. כל אפרוח נישקל, נמדדה טמפרטורת גופו, נקבע זיווגו. דם מוריד הצוואר נילקח מ-15 פרטים מכל זיווג ומכל טיפול לצורך אנליזת ההורמונים תירוקסין (T_4), טריידוטירונין (T_3) וקורטיקוסטרון.

עם תום הבקיעה הועברו האפרוחים לחדרים מבוקרים לטמפרטורת סביבה, לחות יחסית ואיורור וגודלו בתנאים סטנדרטיים עד גיל 3 ימים. מזון ומים סופקו ללא הגבלה. בגיל זה עברו האפרוחים הוקעה לחום בשיעור 41.1 מ"צ (נקבות) ו-39.9 מ"צ (זכרים) למשך 4 שעות. בסוף ההוקעה נמדדה טמפרטורת גוף ונילקח דם ורידי. כל המדידות נעשו בפרטים מכל זיווג ומכל טיפול (התניה וביקורת).

בתום הניסוי נשקלו האפרוחים.

כל הנתונים עובדו סטטיסטית באמצעות מבחן one-way ANOVA. הבדלים נחשבו משמעותיים כאשר $P \leq 0.05$.

ד. תוצאות ודיון

1. ניסוי לקביעת השפעת התניה על עמידות בעקת חום בגיל שיווק

טבלה 1 מרכזת את המשתנים שנמדדו בעת הבקיעה. עוברים שעברו התניה מוקדמת או מאוחרת במהלך ההדגרה הציגו שיעורי בקיעה גבוהים משמעותית בהשוואה לקבוצת הביקורת. עוברים שעברו 2 התניות במהלך ההדגרה

טבלה 1: השפעת התנית חום בימים 8-10 (E) בימים 16-18 (L) להתפתחות עוברית ובשתי התקופות (EL) בהשוואה לביקורת (C) על שיעור הטלה, משקל גוף (BW) וטמפרטורת גוף (T_b) לאחר בקיעה.

	C	E	L	EL	Statistical significance
Number of eggs	373	374	373	374	NS
% infertile eggs	12.6	13.6	15.5	12.6	NS
Hatchability (%)	88.2 ^c	96.3 ^a	92.0 ^b	75.5 ^d	$P < 0.0001$
Post-hatch BW (g)	47.20±0.23	47.36±0.21	47.15±0.23	47.64±0.22	$P = 0.41$
Post-hatch T_b (°C)	38.21±0.09 ^a	37.88±0.08 ^b	37.90±0.07 ^b	38.04±0.09 ^{ab}	$P < 0.01$

ערכים בתוך שורה המסומנים באותיות שונות נבדלים סטטיסטית ($P < 0.05$).

טבלה 2: השפעת התניית חוס בימים 8-10 (E) בימים 16-18 (L) להתפתחות עוברית ובשתי התקופות (EL) בהשוואה לביקורת (C) על משקל גוף (BW) וניצולת מזון (feed conversion) ביום 28 ו-41 לגידול.

	C	E	L	EL	Statistical significance
Body weights ¹ (g)					
BW day 28 (g)	1405±11	1419±10	1433±9	1413±11	<i>P</i> = 0.28
BW day 41 (g)					
Males	2801±28	2799±24	2777±25	2817±26	Gender : <i>P</i> < 0.001; Treatment : <i>P</i> = 0.81
Females	2373±18	2396±18	2431±21	2398±18	
Feed conversion ratio ²					
0-28 days	1.42±0.02	1.42±0.02	1.42±0.01	1.42±0.02	<i>P</i> = 0.94
28-41 days	1.97±0.01	1.98±0.01	1.97±0.01	1.95±0.02	<i>P</i> = 0.48

1. משקל גוף ממוצע חושב על בסיס פרטני. 2. ניצולת מזון חושבה על בסיס תאי שיכון.

(מוקדמת ומאוחרת) הציגו שעורי בקיעה הנמוכים משמעותית מהביקורת. לא נימצא כל הבדל במשקל גוף בין האפרוחים מהטיפולים השונים עם הבקיעה. לעומת זאת טמפרטורת הגוף של הטיפולים שעברו התניה מוקדמת או מאוחרת היתה נמוכה משמעותית מזו שנמדדה בקבוצת הביקורת. ניתן לאמר כי התניה כפולה (שתי תקופות) במהלך ההתפתחות העוברית פוגעת בבקיעה ואינה נותנת כל יתרון בהקטנת השיעור המטבולי כפי שנימצא במדידת טמפרטורת הגוף.

בטבלה 2 מופיעות תוצאות היצרנות של העופות במהלך הגידול. לא נימצא כל הבדל במשקל גוף בין הטיפולים השונים בימים 28 ו-41 לגידול. ביום 41 הזכרים שקלו משמעותית יותר מהנקבות. בשתי התקופות ימים 0-28 ו-28-41 לא נימצא כל הבדל מובהק בניצולת מזון.

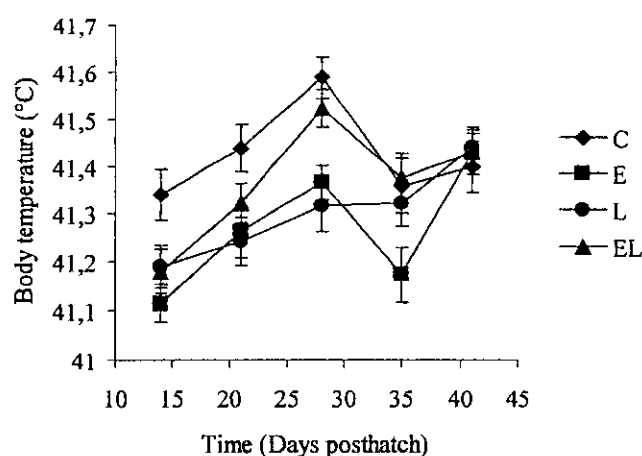
הוקעה לחוס ביום 42 גרמה לתמותה בכל הטיפולים ללא הבדל משמעותי בניהם. עם זאת חשוב לציין כי קבוצת הביקורת, באופן כללי ובפרט של זכרים ונקבות, הציגה אחוז תמותה נמוך מזה של טיפולי ההתניה (טבלה 3).

באיור 1 ניתן לראות כי עד גיל 21 יום שומרים טיפולי ההתניה על טמפרטורת גוף נמוכה מזו שנמדדה בעופות הביקורת. בגיל 28 ימים רק טיפולי ההתניה E ו-L שומרים על טמפרטורת גוף נמוכה וביום 41 לכל הטיפולים טמפרטורת גוף דומה. ממצא זה מורה כי מגיל 28 יום ואילך מאבדים עופות הטיפול את כושרם לשמירה על טמפרטורת גוף נמוכה (איור 1). האם עובדה זו נובעת מהתזמון של ההתניה ומשיעורה? נקודה זו תחייב בדיקה וזאת לאור תוצאות התמותה וטמפרטורת הגוף בזמן ההוקעה שלא נבדלה בין טיפול הביקורת וטיפול ההתניה (איור 2).

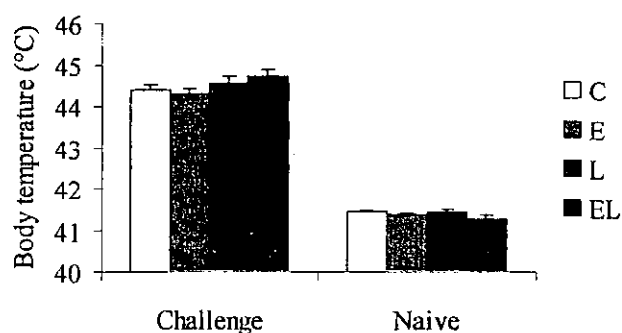
טבלה 3: שעורי תמותה (%) בטיפולים השונים במהלך הוקעה לחום (35 מ"צ למשך 6 שעות) בגיל

42 ימים

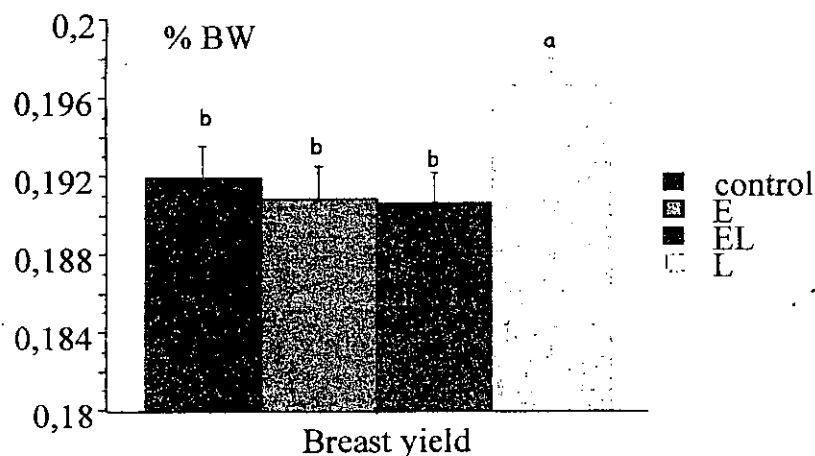
	C	E	L	EL	Statistical significance
Dead males, % of total males	39.7±5.9	52.1±9.2	56.3±2.9	60.3±6.0	$P = 0.16$
Dead females, % of total females	17.4±6.5	33.2±9.2	42.5±6.8	31.0±6.8	$P = 0.15$
Total (%)	27.6±5.5	41.5±9.4	49.0±4.8	43.8±5.5	$P = 0.15$



איור 1: טמפרטורת הגוף בטיפולים השונים במהלך הגידול עד יום 41. (התנית חום בימים 8-10 (E) בימים 16-18 (L) להתפתחות עוברית ובשתי התקופות (EL) בהשוואה לביקורת (C)).



איור 2: טמפרטורת הגוף בטיפולים השונים בתום ההוקעה לחום ביום 42. עופות נאיביים לא עברו כל הוקעה. (התנית חום בימים 8-10 (E) בימים 16-18 (L) להתפתחות עוברית ובשתי התקופות (EL) בהשוואה לביקורת (C)).



איור 3: משקל שריר חזה כאחוז ממשקל גוף כפי שנמדד בגיל 43 יום. (התנית חום בימים 8-10 (E) בימים 16-18 (L) להתפתחות עוברית ובשתי התקופות (EL) בהשוואה לביקורת (C)).

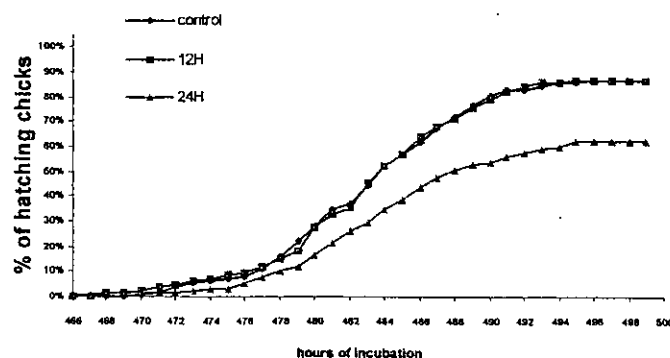
מתוך איור 3 ניתן להסיק כי טיפול ההתניה בימים 16-18 גרם לגדילה מוגברת של שריר החזה בעוף כפי שהתבטא בגודלו המשמעותי בהשוואה לגודל שריר החזה בטיפולים האחרים. בגיל עוברי זה מצויים תאי הלויין בשיא התפתחותם, יתכן כי לכך השפעה על התפתחות שריר החזה בהמשך.

2ד. ניסוי התניה בתקופת זמן עוברית E7 – E16

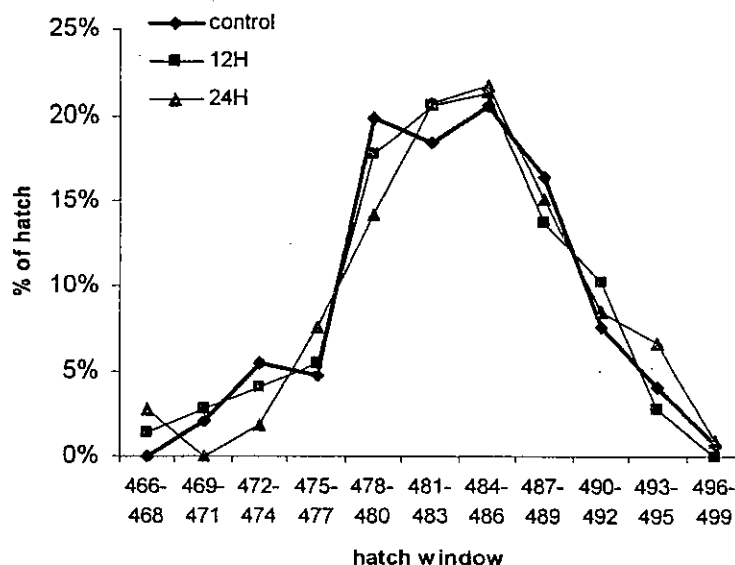
ביצועים

מעקב רציף אחר הבקיעה מופיע בגרף 1. לא נימצא הבדל משמעותי באחוזי הבקיעה של עוברים שעברו התניה לחום במשך 12 שעות כל יום בימים 7 עד 16 להדגרה בהשוואה לביקורת (84% בשני הטיפולים). לעומת זאת היתה ירידה משמעותית ביותר באחוזי הבקיעה של עוברים שעברו התניה רצופה לחום בימים 7 עד 16 להדגרה (63%). עקומת הבקיעה לפי חלון זמן בן 2 שעות (כלומר כמה ביצים בקעו כל שתיים במהלך כל תקופת הבקיעה) מורה כי ההבדלים בבקיעה בין טיפול ההתניה הרצוף והביקורת נצפה בין 469 ל-475 ו-478 ל-480 שעות הדגרה (גרף 2). פילוח הביצים שמחן לא בקעו אפרוחים עפ"י קריטריונים של: ניסו לבקוע ללא הצלחה; מתו לפני pipping (גרף 3), נימצא כי בקבוצה שבה ההתניה נמשכה 12 שעות ביממה לא היה הבדל מספרי בין כאלה שמתו לפני pipping וכאלה שלא צלחו בתהליך הבקיעה. בקבוצת הביקורת מספרם של אילו שלא צלחו בבקיעה היה גבוה יותר. בקבוצת ההתניה הרצופה, מספר הלא בוקעים היה גבוה משמעותית בהשוואה לשני הטיפולים האחרים וההתפלגות הורתה על מספר גבוה משמעותית של אפרוחים שניסו לבקוע ללא הצלחה. ניתן, יתכן, לקשור נתון זה לתוצאות המורות על איכות האפרוחים הבוקעים (גרף 4). אחוז האפרוחים שבקעו עם פגמים, בעיקר אי ספיגה מוחלטת של שק החלמון, היה גבוה באופן משמעותי ($P < 0.0001$) בעוברים שהותנו ברצף בהשוואה לטיפולים האחרים.

פילוח הבוקעים לפי זווית הראה כי בכל המקרים מספר הזכרים היה גבוה מזה של הנקבות בכל הטיפולים. לא נימצא הבדל משקלי בין הזוויגים ובין הטיפולים, למרות שנצפתה מגמה בה משקל גוף המותנים רצוף היה נמוך יותר (גרף 5).



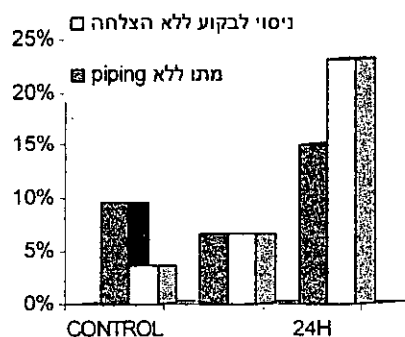
גרף 1: אחוזי בקיעה מצטברים של עופות ביקורת בהשוואה לעופות מטולים תרמית במהלך ההדגרה.



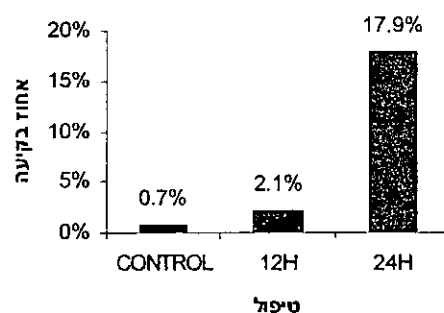
גרף 2: אחוזי בקיעה על פי פילוח לפי כל שעתיים במהלך הבקיעה שנמשכה מ-466 עד 499 שעות מתחילת הבקיעה.

תרמורגולציה

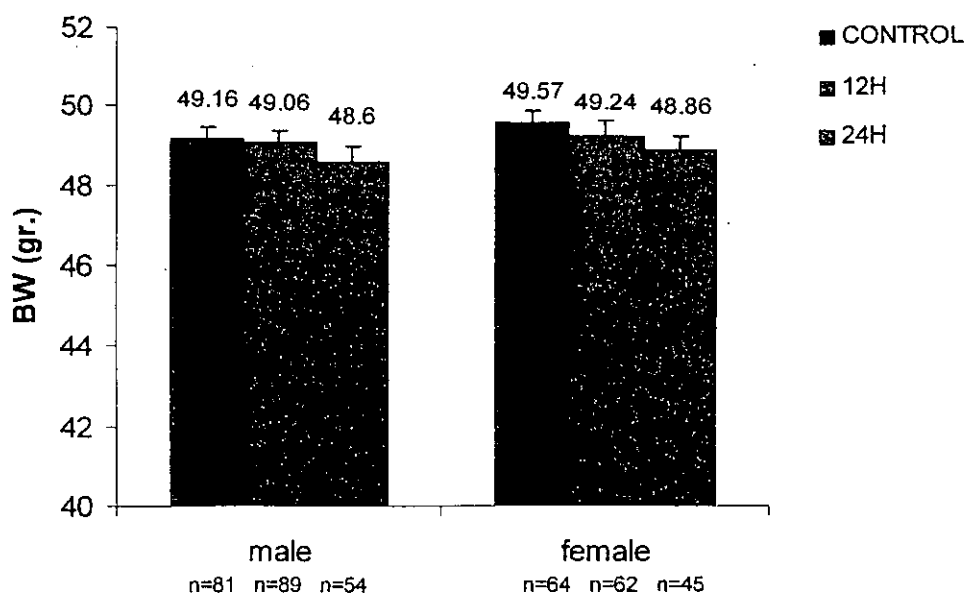
בעת הבקיעה טמפרטורת גופם של אפרוחי הביקורת היתה גבוהה משמעותית בהשוואה לשני הטיפולים, כאשר זו של אפרוחי ההתניה הרצופה היו נמוכים משמעותית בהשוואה לאילו שהותנו 12 שעות ביממה (גרף 6). תוצאות אילו היו עוקבות גם על פי פילוח לפי זווית וגם באופן גורף. בעוד



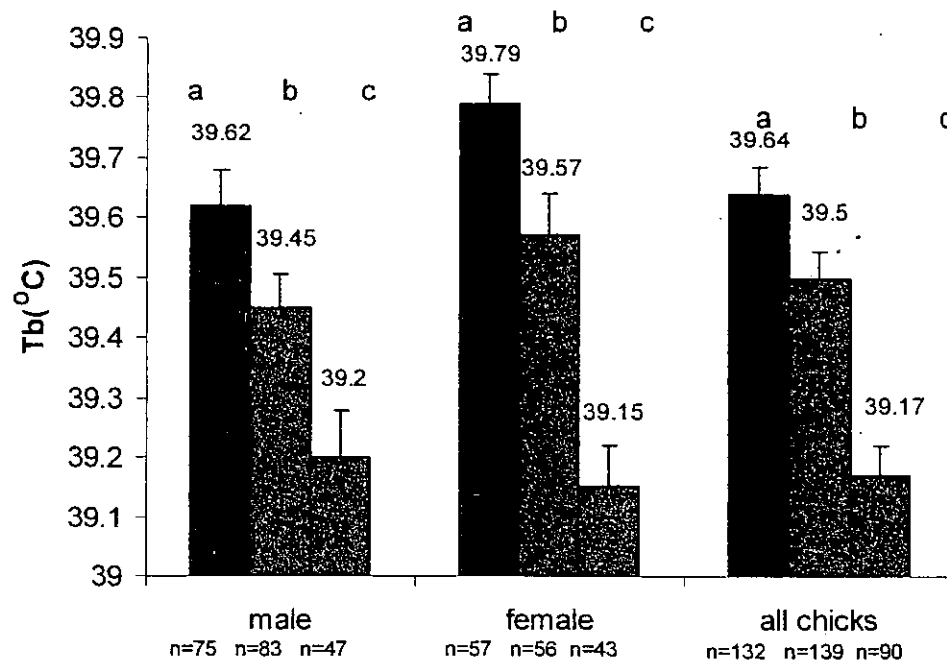
גרף 3: פילוח הביצים שמהן לא בקעו אפרוחים עפ"י קריטריונים של: ניסוי לבקוע ללא הצלחה; מתו לפני piping.



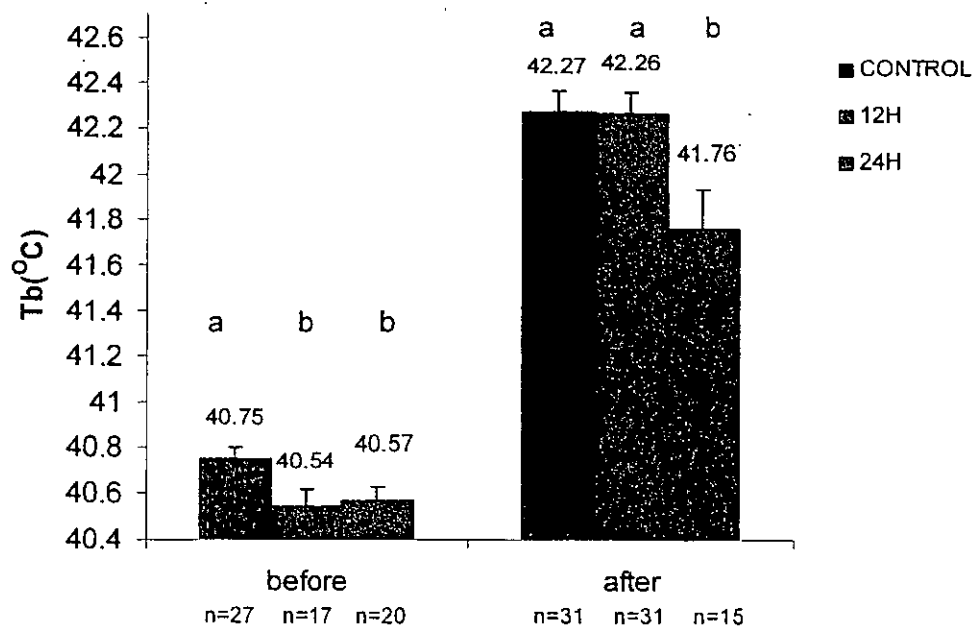
גרף 4: אחוז האפרוחים שבקעו עם פגמים שונים.



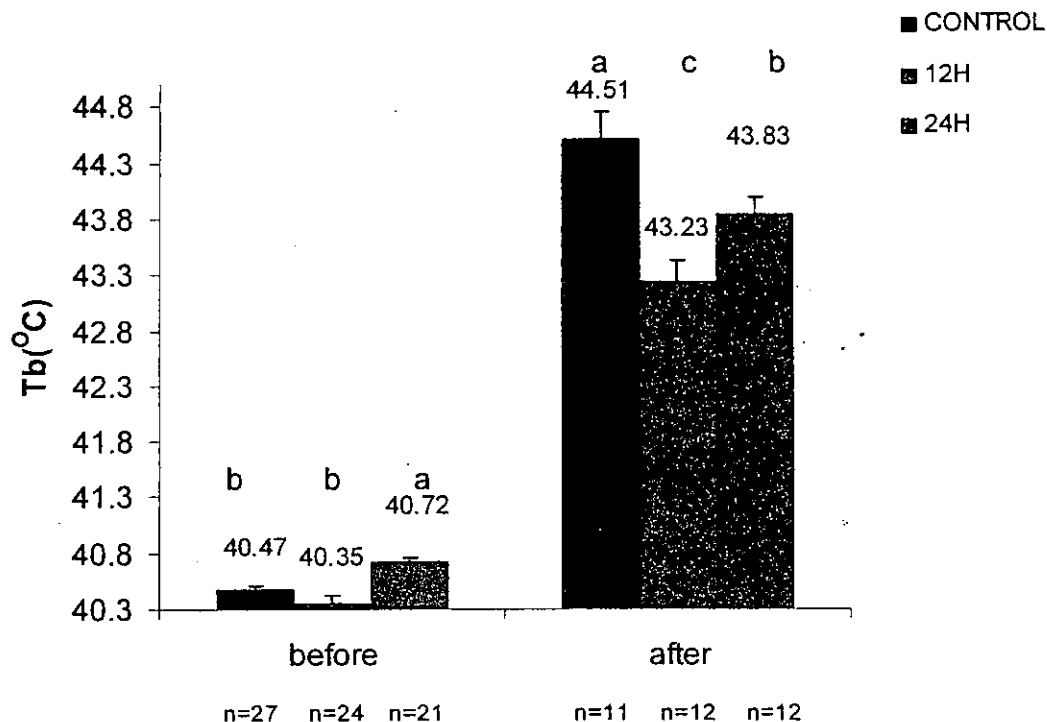
גרף 5: משקל אפרוחים (זכרים ונקבות) כשעתיים לאחר הבקיעה. בתחתית הגרף מופיע מספר הזכרים והנקבות בטיפולים השונים.



גרף 6: טמפרטורת גוף בעת הבקיעה על פי התפלגות זוויתית ושל כלל הפרטים.



גרף 7: טמפרטורת גופם של זכרים בטיפולים השונים בטרם חשיפה לעקת חום (39.9 $^{\circ}\text{C}$ מ"צ) ולאחריה.



גרף 8: טמפרטורת גופן של נקבות בטיפולים השונים בטרם חשיפה לעקת חום (39.9 מ"צ) ולאחריה.

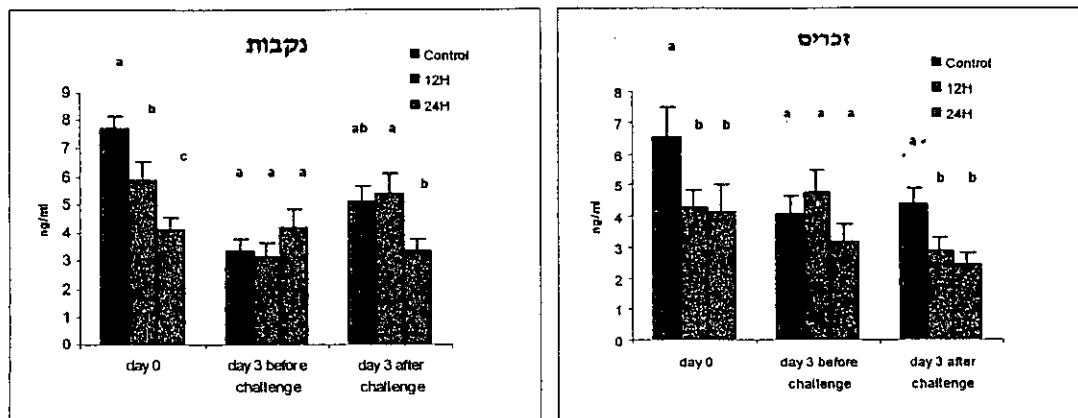
בזכרים הפרש הטמפרטורות בין ביקורת והתניה ברצף היה 0.42 מ"צ, בנקבות הוא הגיע ל-0.64 מ"צ.

ההוקעה לחום בגיל 3 ימים נעשתה בנפרד לזכרים ונקבות. בעוד הנקבות נחשפו ל-41.1 מ"צ, הזכרים, בעקבות תגובתן החריפה של הנקבות, נחשפו ל-39.9 מ"צ בלבד. טמפרטורת גוף הזכרים שעברו התניה לחום במהלך ההתפתחות העוברית היה נמוך משמעותית מזה של זכרי הביקורת, טרם ההוקעה. במהלך ההוקעה התפתחה היפרטרמיה בכל הטיפולים, אולם זו של קבוצת המותנים ברצף היתה נמוכה משמעותית. בעוד שבביקורת ובמותנים 12 שעות ביממה העלייה הממוצעת בטמפרטורת הגוף היתה בשיעור ממוצע של 1.7 ו-1.65 מ"צ, בהתאמה, העלייה בקבוצת המותנים ברצף היתה בשיעור ממוצע של 1.12 מ"צ בלבד.

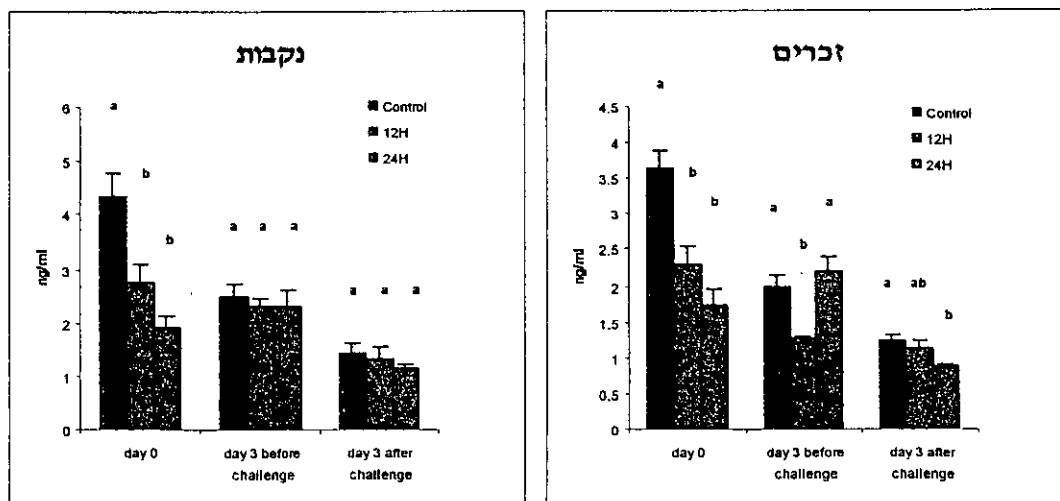
בגרף 8 מתוארת תגובת הנקבות להוקעה. טמפרטורת הגוף טרם הוקעה היתה גבוהה משמעותית בפרטים שעברו התניה רצופה במהלך ההזדגרה. גם במקרה זה פתחו כל הטיפולים היפרטרמיה שהיתה גבוהה מזו שהתפתחה בזכרים עקב ההוקעה לטמפרטורה גבוהה יותר. טמפרטורת הגוף בתום ההוקעה היתה גבוהה משמעותית באפרוחי הביקורת בהשוואה לאפרוחי ההתניה. העובדה שבתום ההוקעה טמפרטורת הגוף של האפרוחים המותנים ברצף היתה גבוהה מזו של אפרוחים שהותנו 12 שעות ביממה בלבד נובעת כנראה מכך שטמפרטורת גופם טרם הוקעה היתה גבוהה יותר.

התניה רציפה או חלקית לחום במהלך ההתפתחות העוברית גרמה להקטנה משמעותית בפעולת בלוטת התירואיד כפי שבאה לידי ביטוי בריכוז ההורמון תירוקסין בעת הבקיעה (גרף 9). בגיל 3 ימים לא נימצא הבדל בריכוז ההורמון בין הטיפולים, אולם, מיד עם תום ההוקעה ריכוז ההורמון

ירד משמעותית במותנים ברצף בשני הזוויגים ובמותנים חלקית בזכרים. באשר להורמון הפוטנטי למטבוליזם, טריידוטירונין, המגמה היתה דומה בזכרים, לעומת הנקבות בהן נימצאה מגמה בלבד (גרף 10). מגמה זו בדינמיקת שני ההורמונים, מצביע על פוטנציאל גבוה של העופות המותנים ברצף להורדת רמת המטבוליזם בעת חשיפה לעקת חום.



גרף 9: ריכוז ההורמון תירוקסין (T_4) בטיפולים השונים עם הבקיעה, בטרם חשיפה לעקת חום ולאחריה.



גרף 10: ריכוז ההורמון טריידוטירונין (T_3) בטיפולים השונים עם הבקיעה, בטרם חשיפה לעקת חום ולאחריה.

דיון ומסקנות

הבחירה בימים 7 עד 16 להתפתחות עוברית על מנת לבחון השפעת שינויים תרמיים על היכולת לווסת את משק החום נובעת מהשערת המחקר האומרת כי בזמן בו ציר ההיפותלמוס תירואיד או האדרנל מתפתחים ומתבגרים, הסיכוי להשפיע על תהליכי יצור חום יהיה הגדול ביותר. מאידך

ברור כי חימום יתר עשוי להשפיע על תהליכי ההתפתחות בעובר, לגרור לאפקטים טרטוגניים (Romanof, 1960; Nilsen, 1984, Peterka et al., 1996) ולפגוע בשיעורי הבקיעה וההתפתחות. אומנם בניסוי זה נבחרו שני טיפולים, האחד התניה רצופה והשני התניה לסירוגין במטרה לבחון את האמור. תוצאות הניסוי מורות כי להתניה רצופה במהלך ארוך (ימים 7-16) יש השפעה משמעותית על התפתחות תופעות טרטוגניות הגורמות בסיכומן להפחתה משמעותית בשיעורי הבקיעה מחד ומאידך באיכות האפרוחים. עם זאת נראה בברור היתרון התרמורגולטורי באפרוחים אלה, הבא לידי ביטוי בטמפרטורת גוף נמוכה משמעותית בעת הבקיעה ובמהלך ההוקעה לחום, בזכרים משמעותית יותר מאשר בנקבות ובדינמיקת הורמוני התירואיד. הטיפול בו ההתניה היתה לסירוגין נראה כי לא היתה כל פגיעה בביצועי הבקיעה ובאיכות האפרוח. עם זאת בהיבט היכולת לווסת את טמפרטורת הגוף במהלך ההוקעה לחום לא נימצא כל יתרון בזכרים ויתרון מובהק בנקבות. תוצאות אלו מהוות בסיס להמשך הניסויים כאשר השאלה הנשאלת היא: האם חשיפה רצופה לחום, אולם במשך מספר קטן של ימים ישפר את ביצועי ההטלה ואיכות האפרוח ויתיר על כנו את היתרון במאזן משק החום, או לחלפין יש צורך להתנות את העוברים באותם ימים אולם במספר שעות קטן יותר ליממה (בין 12 ל-18 שעות, לדוגמא).

ה. דיון ומסקנות כלליות

בשנה הראשונה: בוצעו 4 ניסויים. שני ניסויי התניה בתקופה העוברית, תוך בדיקת משתני בקיעה ותרמורגולציה ביום הבקיעה. בניסוי הראשון לא הופרדו זכרים מנקבות, בעוד בניסוי השני היתה הפרדה בין הזוויגים. להתנית חום (38.5 מ"צ ו-65% לחות למשך 3 שעות בימים 16, 17, 18) לא היתה השפעה על שיעור הבקיעה ומשקל האפרוחים. עם זאת האפרוחים המותנים משני הזוויגים הראו טמפרטורת גוף נמוכה עד נמוכה משמעותית. זה לווה בריכוז נמוך עד נמוך משמעותית (תלוי בזוויג) של ההורמון הפוטנטי למטבוליזם – טריידוטירון. לא נימצא הבדל בפעילות בלוטת התירואיד או ברמת העקה בין הטיפולים. תוצאות אילו מורות על מאזן משק חום בפאזה נמוכה יותר באפרוחים המותנים. התניה נוספת נעשתה בניסוי שלישי, שבו גודלו האפרוחים עד גיל שיווק ועברו הוקעה לחום. ההוקעה היתה למשך 6 שעות בטמפרטורה של 33 ± 1.0 מ"צ. במהלך הגדילה ניצפתה גדילת פיצוי בזכרים ונקבות שהיתה בחלק מהזמן משמעותית סטטיסטית. ההוקעה לחום יצרה בזכרים ערור מחודש של גדילת הפיצוי. ברמת משק החום לא נימצאו הבדלים משמעותיים בין הטיפולים, כשכולם שמרו על טמפרטורות גוף בטווח הנורמותרי וזאת עקב רמת הוקעה שלא היתה משמעותית. התניית עוברים לחום ביום 5 הראתה עליה משמעותית בביטוי הגן לגילטינאז A ולא לגילטינאז B גם בעוברים וגם ב-CAM, אלא שבעוברים רמת הביטוי היתה נמוכה משמעותית בהשוואה ל-CAM. גם פעילות האנזים הוכחה. ניתן לסכם כי התניית העוברים פועלת גם ברמת משק החום וגם בהקשר לתהליכים האנגיוגניים.

בשנה השנייה: בוצעו מספר ניסויים. האחד עסק בקביעת טמפרטורה ומועד התניה אופטימליים, השני עסק במשך ההתניה שנקבעה כאופטימלית בניסוי הראשון. התוצאות בניסוי הראשון מורות כי מבין 39.5 ו-41.0 מ"צ, הטמפרטורה המועדפת להתניה הינה 39.5 מ"צ. המועד המועדף הינו בימים 16-18 בהשוואה לימים 8-10 להתפתחות עוברית. שני המועדים שנבדקו בניסוי זה היו על בסיס התפתחות א. הקשר היפותלמוס-היפופיזה-בלוטת התירואיד, שבתקופה הראשונה (ימים 8-10) נמצאת בשלבי התפתחות אחרונים; ב. הקשר היפותלמוס-היפופיזה-אדרנל שביום 15 פועל ולכן

התניה בימים 16-18 מתבצעת בתקופה שבה שני הקשרים גם יחד פועלים. על בסיס תוצאות אילו נבחנה בניסוי השני השפעת משך החשיפה בהתניה על העמידות התרמית. משכי החשיפה היו בין 3 שעות ועד חשיפה שנמשכה ברציפות 3 ימים. בניסוי זה נימצא כי החשיפה המיטבית הינה בת 3 שעות. בשני הניסויים נבחנה השפעת ההתניה על כושר האפרוחים להתמודד בגיל 3 ימים עם עקת חום בת 41 מ"צ למשך 6 שעות. למרות שהתוצאות משני הניסויים הובילו למסקנה כי התניה ביום 16-18 ב-39.5 מ"צ למשך 3 שעות היא המיטבית, עדיין קביעה זו צריכה לעבור אימות באמצעות הוקעת עופות בגיל שיווק לחום כדי לבחון אם כושר עמידותם עלה. התניית עוברים לחום (38.5 מ"צ) מיום בקיעתם ועד יום 10 להתפתחותם העוברית, הראתה עליה משמעותית בביטוי הגן לגילטינאז A ולא לגילטינאז B גם בעוברים וגם ב-CAM, אלא שבעוברים רמת הביטוי היתה נמוכה משמעותית בהשוואה ל-CAM בימים הראשונים (4 ימים) ומגמה זו התהפכה בגיל 10 ימים. בניסוי שנימשך עד הבקיעה ניתן לראות כי משקל האפרוחים המותנים היה גבוה משמעותית מאפרוחי הביקורת אולם שיעור הבקיעה היה נמוך בכ-20%. ניתן לסכם כי התניית העוברים פועלת גם ברמת משק החום וגם בהקשר לתהליכים האנגיוגניים.

בשנה השלישית: בוצע ניסוי הוקעה לחום בעופות שנתוני ההתניה המיטביים הושגו בשנים הראשונה והשנייה. תוצאות ההוקעה היו מאכזבות. לכן נושא ההתניה במהלך ההתפתחות העוברית נפתח מחדש לניסויים בתקופות בהן צירי ההיפותלמוס-היפופיזה-בלוטת התירואיד או האדרנל מתבגרים ומופעלים, מתוך הנחה שמערכת ההתניה העוברית חייבת לפעול על בסיס ההיגיון הביולוגי. מחקר רב עדיין נדרש למציאת תקופת הרגישות המיטבית לקבלת עמידות לחום.

ספרות

- Nilsen, N.O. (1984). Vascular abnormalities due to hyperthermia in chick embryos. *Teratology* 30:237-251.
- Peterka, M., Peterkova, R. and Likovsky, Z. (1996). Teratogenic and lethal effects of long term hyperthermia and hypothermia in the chick embryo. *Reproduction and Toxicology* 10: 327-332.
- Romanoff, L. A. (1960). The avian embryo. Structural and functional development. New-york the Macmillan Company.

3. סיכום עם שאלות מנחות

נא לענות על כל השאלות, בקצרה ולעניין, ב 3 עד 4 שורות מכסימום לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).

הערה: נא לציין הפנייה לדו"ח אם נכללו בו נקודות נוספות לאלה שבסיכום.

מטרות המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.

מלך זו נקבעה בעל-ההתניה. גם לענין זמנה ב"ה שזכה לאור
המקלות המאונכים אשרי המלך החלטה היו דומה לענין שני
בתקופת ההתניה. ימים 7-16 העקבות להתפתח ולגבש. לוי היה
היפוכה. תיכונים או אפילו תן שימש להתניה. קפוצה וזו של מעקב
המנה

עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.

הקולות הנמסר ב-39.5 אחוז 7-16 ו/או קרוב 12 חודש ביממה
יחד עם קרן 3 ימים המגיעה בקרוב לחודש החודש יחד
אשר גם בקרוב עם 'המסלול' הישיר בהיבטי התעסוקה אולם קשה
יותר בקרוב ואיזה האפשרות.

המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.

החוקר חייב להעיד בביטול בחינת השלמה החזקה עד לא שיוך
הוא ולתקן הידיעות החדש, כמובן ים אחרי זה
החוקר האפסטייל-שדכן את הפגדה ביחודי הקקזה ואולי באחריות

הבעיות שנותרו לפתרון ואו השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנותרה לביצוע תוכנית המחקר.

הכללה הצרכים לפרנסת הציבור הישנים והחדשים האלוטוים מחלק
ההיכונים והתחזוקות מחלק ומחלק היכונים היכונים האלוטוים
והתחזוקות

האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - **יש לפרט**: פרסומים – כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך.

הקדמת הקדמי מילך בנקים ומאמרים וולף מוס שחל, ההגנה והקד
המאמרים אלו, ומספר הקדמי הקדמי

פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות)

רק בספריות

ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)

חסוי - לא לפרסם