

Metody intensyfikacji rozrodu kóz

Piotr Ślósarz, Jacek Wójtowski

*Akademia Rolnicza w Poznaniu,
Katedra Hodowli Owiec, Kóz i Zwierząt Futerkowych,
Złotniki, ul. Słoneczna 1, 62-002 Suchy Las*

W intensywnych systemach produkcji racjonalnym sposobem rozmnażania kóz może być sztuczne unasienianie. Metoda ta pozwala m. in. na: maksymalne wykorzystanie najbardziej wartościowych rozplodników i tym samym znaczne przyspieszenie postępu hodowlanego, stosowanie nasienia o sprawdzonej jakości

i ograniczenie rozprzestrzeniania się chorób przenoszonych drogą płciową. Dla praktyki chowu kóz istotne może być też zmniejszenie liczby utrzymywanych rozplodników, co poza oszczędnością paszy ogranicza problemy z utrzymywaniem kozłów – szczególnie kłopotliwe przy silnym rozdrobieniu chowu tego gatunku zwierząt.



Pobieranie nasienia kozła do sztucznej pochwy (fot. P. Fischer)
Collection of buck semen into artificial vagina (photo P. Fischer)

W Polsce pierwsze próby upowszechnienia inseminacji kóz podjęto w 1969 roku, w Państwowym Zakładzie Unasieniania Zwierząt w Poznaniu (Pawlak, 1971). W okresie trzech lat na terenie Wielkopolski zainseminowano około 800 kóz, uzyskując w pierwszym zabiegu skuteczność 60-65%. Mimo tych dobrych wyników, ze względu na brak większego zainteresowania ze strony hodowców kóz, jak i niechęć samych inseminatorów, zaniechano świadczenia tych usług (Pawlak, 2005). Z kolei, dobrym przykładem szerokiego zastosowania inseminacji kóz i włączenia tej metody rozrodu do kompleksowego programu hodowlanego, zmierzającego do poprawy użyteczności mlecznej kóz (Caprigene) może być Francja (Leboeuf i in., 1998).

Nasienie kozłów pobiera się, podobnie jak u innych gatunków zwierząt, do sztucznej pochwy, zwykle w okresie ich aktywności

płciowej, tj. od września do lutego, gdyż w tym okresie nasienie wykazuje większą przydatność dla celów inseminacyjnych, mierzoną koncentracją i żywotnością plemników (Leboeuf i in., 1998).

W innych badaniach, prowadzonych na licznych materiałach wykazano, że nasienie pobrane i głęboko mrożone w okresie aktywności płciowej kozłów (w porównaniu z nasieniem świeżym) i użyte do inseminacji kóz poza sezonem aktywności płciowej pozwala na uzyskanie wyższej skuteczności inseminacji (odpowiednio 56,7 i 52,1%) (Corteel i in., 1988).

Obecnie stosowane są różne metody konserwacji i konfekcjonowania nasienia kozłów. Na przykład we Francji, nasienie przeznaczone do długotrwałej konserwacji w temperaturze ciekłego azotu jest wstępnie rozcieńczane i dwukrotnie odwirowywane w celu usunięcia osocza. Zabieg



Inseminacja dopochwowa (fot. P. Fischer)
Intravaginal insemination (photo P. Fischer)

ten zapobiega toksycznemu oddziaływaniu na plemniki substancji powstającej na skutek reakcji enzymu – lipazy trójacyloglicerolowej, zawartej w wydzielinie gruczołów opuszkowo-cewkowych z lecytyną znajdującą się w mleku krowim i żółtku jaja kurzego, używanych w dalszych etapach konserwacji nasienia. Następnie plemniki są rozcieńczane w roztworze bazującym na odtłuszczonym mleku krowim, wstępnie schładzane do około 4°C, ponownie rozcieńczane z 7% dodatkiem glicerolu, pakowane w słomki i zamrażane. Słomki inseminacyjne mają objętość 0,2 cm³ i zawierają ok. 100 mln plemników (Leboeuf i in., 1998). Niektórzy autorzy zwracają jednak uwagę na możliwość uszkodzenia błony komórkowej plemników podczas wirowania, co może obniżyć przydatność nasienia nawet w większym stopniu niż oddziaływanie enzymów zawartych w osoczu. Obszerne omówienie tego problemu można znaleźć w pracach Leboeuf i in. (2000) oraz Holtz (2005).

Inseminację kóz, zarówno nasieniem świeżym, jak i mrożonym, wykonuje się najczęściej metodą klasyczną – wprowadzając pipetę inseminacyjną poprzez rozwartą (specjalnym rozwieraczem) pochwę do kanału szyjki macicznej. Niezbędne oświetlenie dróg rodnych kozy zapewnia lampka umieszczona na czole inseminatora lub, w nowszych rozwiązaniach, wbudowana w przyrządy inseminacyjne. Koza przy zabiegu powinna być przytrzymana z uniesionym do góry zadem i przednimi nogami opartymi o ziemię. Zabieg jest nieskomplikowany, nieinwazyjny i trwa krótko. Przy prawidłowo przeprowadzonej inseminacji nasieniem świeżym, w sezonie aktywności płciowej, płodność kóz jest zbliżona do wyników naturalnego krycia (Holtz, 2005). Przy zastosowaniu nasienia mrożonego, średnia skuteczność inseminacji we Francji wynosi 60-65% (Leboeuf i in., 1998).

Większą skuteczność zapewnia zabieg inseminacji bezpośrednio do rogów macicznych, wykonywany metodą laparoskopii. W tej metodzie koza jest unieruchomiona w specjalnym poskromie, leżąc na grzbiecie, głową w dół pod kątem około 45°. Za pomocą trokaru przekłuwane są powłoki brzuszne symetrycznie po obu stronach linii białej w odległości około 5 cm od wymienia. Przez jeden z otworów (zwykle po lewej stronie) wprowadzany jest endoskop wyposażony w światłowód oraz włączana jest

pewna objętość powietrza, przez drugi otwór wprowadzana jest pipeta inseminacyjna zakończona krótką igłą, którą przekłuwany jest róg macicy i wprowadzane nasienie. Zabieg wykonywany jest w znieczuleniu, zwierzę nie odczuwa bólu, jedynie dyskomfort wynikający z niewygodnej dla przeżuwacza pozycji (Holtz, 2005). Opisana metoda inseminacji pozwala na znaczne (5- do 10-krotne) zmniejszenie dawki plemników w porównaniu z metodą klasyczną, zapewniając przy tym wysoką skuteczność zapłodnienia – zwykle ponad 80% (Amoah i Gelaye, 1997). Jednak, ze względu na stosunkowo duży koszt aparatury, niezbędne wysokie kwalifikacje personelu oraz chirurgiczny – inwazyjny charakter zabiegu, ta metoda inseminacji nie jest szeroko stosowana.

We współczesnej literaturze naukowej opisywana jest też trzecia metoda inseminacji kóz, pozwalająca na wprowadzenie nasienia głęboko do rogów macicy poprzez kanał szyjki macicznej (Sohnrey i Holtz, 2005). W pierwszej fazie zabiegu przez pochwę wprowadzane są specjalne kleszcze, pozwalające na uchwycenie i delikatne rozprostowanie szyjki macicznej. Następnie, poprzez kanał szyjki macicznej przeprowadzany jest elastyczny kateter - około 10 cm włąb najpierw jednego, potem drugiego z rogów macicy, gdzie deponowane jest nasienie. Podawana przez autorów skuteczność zapłodnienia nasieniem mrożonym wynosi około 71%.

Sterowanie cyklem płciowym kóz umożliwia ich rozmnażanie (tak naturalne, jak i poprzez sztuczne unasiennianie) w ściśle określonym przez hodowcę czasie, zarówno w naturalnym okresie aktywności płciowej, jak i poza nim. W czasie trwania sezonu aktywności płciowej można uzyskać synchronizację rui u większości kóz w stadzie poprzez jednorazową, domięśniową iniekcję prostaglandyny PGF_{2α} (8-15 mg) lub preparatów o analogicznym działaniu (np. cloprostenol, prosolvin), która wywołuje luteolizę ciała żółtego pomiędzy 4. a 16. dniem cyklu płciowego. Aby zabieg był skuteczny w odniesieniu do wszystkich kóz w stadzie, wskazane jest powtórzenie iniekcji po 10 – 11 dniach (Holtz, 2005).

Efektywną metodą synchronizacji rui u kóz, zarówno w sezonie aktywności płciowej,

Tabela 1. Plan postępowania przy sterowaniu rozrodem z użyciem wkładów dopochwowych Chrono-gest (Intervet®)
 Table 1. Procedure for controlled reproduction using intravaginal device Chrono-gest (Intervet®)

Podczas sezonu aktywności płciowej - During the breeding season:			
Dawkowanie wydłużone - Long dosage		Dawkowanie skrócone - Short dosage	
Dzień 0: Day 0:	założenie gąbek <i>insertion of sponges</i>	dzień 0: day 0:	założenie gąbek <i>insertion of sponges</i>
		dzień 10: day 10:	domięśniowa iniekcja preparatu Prosolvin (0,5 ml) <i>i.m. injection of Prosolvin (0.5 ml)</i>
Dzień 17-21 Days 17-21	wyjęcie wkładów dopochwowych + domięśniowa iniekcja preparatu Folligon (PSMG) <i>removal of intravaginal devices + i.m. injection of Folligon (PMSG)</i>	dzień 12: day 12:	wyjęcie wkładów dopochwowych + domięśniowa iniekcja preparatu Folligon (PSMG) <i>removal of intravaginal devices + i.m. injection of Folligon (PMSG)</i>
Przy produkcji mleka <3,5 l/dzień – 400 IU - <i>For milk production <3.5 l/day – 400 IU</i> Przy produkcji mleka >3,5 l/dzień – 500 IU - <i>For milk production >3.5 l/day – 500 IU</i>			
Krycie naturalne: 36 godzin po wyjęciu gąbek, z możliwością powtórzenia po 8-12 godzinach <i>Natural mating: 36 h after sponge removal, with possible repeat after 8-12 h</i> Inseminacja: jednorazowo ± 43 godziny po wyjęciu gąbek <i>Insemination: once ± 43 h after sponge removal</i>			
Poza sezonem aktywności płciowej - Outside the breeding season:			
Dawkowanie wydłużone - Long dosage		Dawkowanie skrócone - Short dosage	
Dzień 0: Day 0:	założenie gąbek <i>insertion of sponges</i>	dzień 0: day 0:	założenie gąbek <i>insertion of sponges</i>
48 godz. przed wyjęciem gąbek 48 h before sponge removal	domięśniowa iniekcja preparatu Prosolvin (0,5 ml) + domięśniowa iniekcja preparatu Folligon (PSMG) <i>i.m. injection of Prosolvin (0.5 ml) + i.m. injection of Folligon (PMSG)</i>	dzień 10: day 10:	Domięśniowa iniekcja preparatu Prosolvin (0,5 ml) + domięśniowa iniekcja preparatu Folligon (PSMG) <i>i.m. injection of Prosolvin (0.5 ml) + i.m. injection of Folligon (PMSG)</i>
Podczas anoestrus - <i>During anoestrus:</i> przy produkcji mleka <3,5 l/dzień – 600 IU - <i>For milk production <3.5 l/day – 600 IU</i> przy produkcji mleka >3,5 l/dzień – 700 IU - <i>For milk production >3.5 l/day – 700 IU</i> W okresie przejściowym - <i>In the transition period:</i> przy produkcji mleka <3,5 l/dzień – 500 IU - <i>For milk production <3.5 l/day – 500 IU</i> przy produkcji mleka >3,5 l/dzień – 600 IU - <i>For milk production >3.5 l/day – 600 IU</i>			
Dzień 17- 21 Days 17-21	wyjęcie wkładów dopochwowych <i>removal of intravaginal devices</i>	dzień 12. day 12.	wyjęcie wkładów dopochwowych <i>removal of intravaginal devices</i>
Krycie naturalne: 36 godzin po wyjęciu gąbek, z możliwością powtórzenia po 8-12 godzinach <i>Natural mating: 36 h after sponge removal, with possible repeat after 8-12 h</i> Inseminacja: jednorazowo ± 43 godziny po wyjęciu gąbek <i>Insemination: once ± 43 h after sponge removal</i>			

jak i poza nim, jest metoda hormonalna, polegająca na dawkowaniu kozom progesteronu lub jego syntetycznych analogów (np. octanu fluorogestonu – FGA lub octanu medroxyprogesteronu - MAP), który powoduje przedłużenie fazy lutealnej cyklu płciowego i tym samym jego wyrównanie w stadzie kóz, a następnie zastosowanie domięśniowej iniekcji hormonu surowicy źrebnej kłaczy (PSMG) – stymulującego folikulogenezę.

Progesteron podawany jest najczęściej w formie wkładów dopochwowych (gąbek poliuretanowych nasączonych preparatem), czasem praktykowane jest wszczepianie silikonowych implantów w górną część ucha kozy lub spodnią stronę ogona (Holtz, 2005). Przykładowy sposób postępowania, w wypadku stosowania wkładów dopochwowych, proponowany przez jednego z producentów - firmę Intervet, przedstawiono w tabeli 1.

Skrócony do 12 dni okres pozostawiania

gąbek w pochwie kóz ogranicza zaburzenia transportu nasienia w drogach rodnych samicy, wywołane długotrwałym dawkowaniem progestagenów i mechanicznym podrażnieniem błon śluzowych przez wkłady dopochwowe. Pozwala to na uzyskanie większej skuteczności inseminacji w porównaniu do metody pierwotnej (odpowiednio 61 i 57% - Corteel i in., 1988). Nowsze badania wskazują ponadto na możliwość zmniejszenia zawartości progesteronu w gąbkach do 20 mg, w porównaniu do typowej zawartości (45 mg), przy zachowaniu podobnej skuteczności synchronizacji rui i inseminacji (odpowiednio 100 i 69,1% - dla gąbek 20 mg oraz 95 i 71,9% - dla gąbek o zawartości 45 mg) (Leboeuf i in., 2003). Opisywana metoda hormonalnej synchronizacji rui podlega wielu drobnym modyfikacjom, np. w zależności od stosowanych preparatów, a także jest ściśle dostosowywana do specyfiki poszczególnych ras kóz.

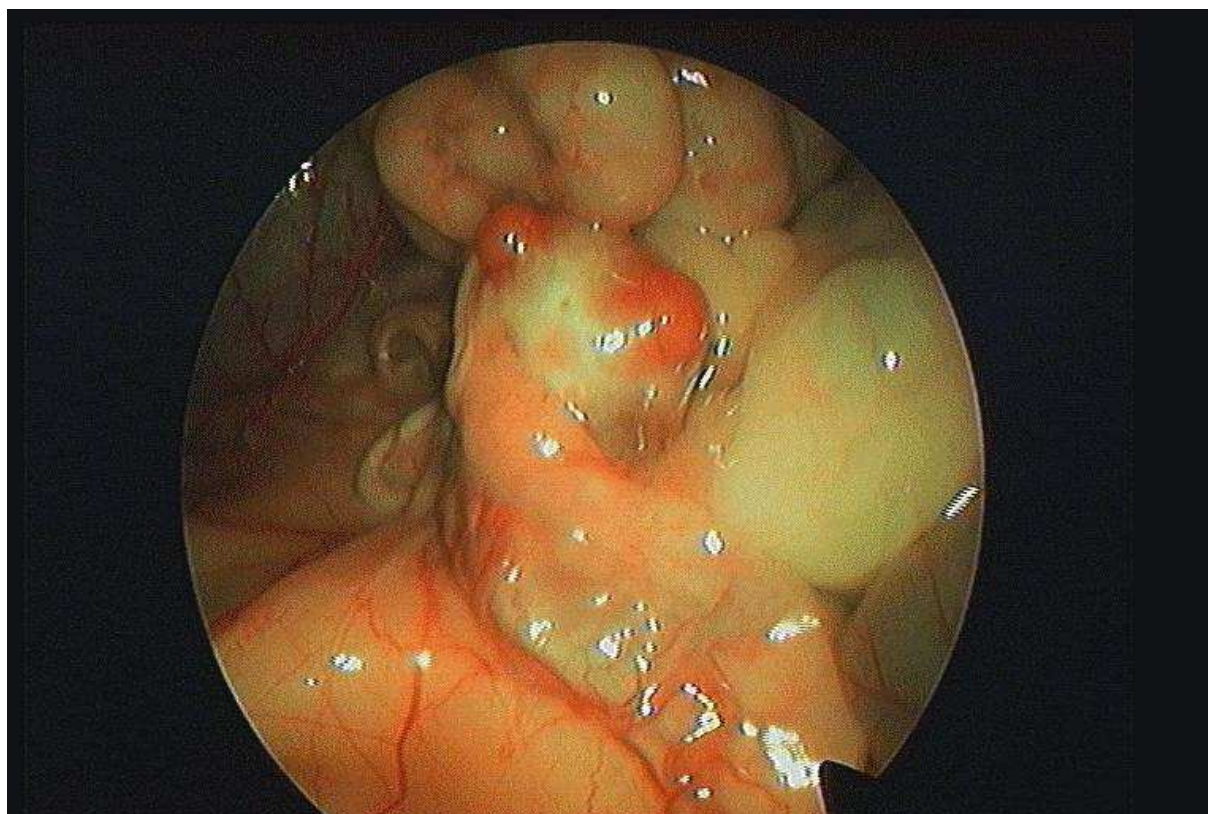


Wprowadzanie nasienia do rogu macicy – metoda laparoskopowa (fot. J. Wójtowski)
Introduction of semen into uterine horn – laparoscopic method (photo J. Wójtowski)

Na przykład we Francji, przy 11-dniowym okresie pozostawiania gąbek w pochwie kóz, zaleca się inseminację kóz rasy alpejskiej po 43 ± 2 godzinach od wyjęcia gąbek, zaś kóz saaneńskich po 45 ± 2 godzinach (Leboeuf i in., 1998).

U kóz, podobnie jak u owiec, możliwe jest wpływanie na sezon aktywności płciowej poprzez regulację długości dnia świetlnego. Metoda jest jednak dosyć skomplikowana i rzadko

stosowana. Jednak, np. we Francji, w centrach inseminacyjnych stosowany jest program polegający na zamiennym stosowaniu okresu dnia długiego (16 godzin światła, 8 godzin ciemności, przez 1-2 miesiące), a następnie podobnego okresu dnia krótkiego (8 godzin światła, 16 godzin ciemności), co ogranicza sezonowe wahania aktywności płciowej kóz i zwiększa ilość pozyskiwanego nasienia w całym okresie użytkowania samca (Leboeuf i in., 1998).



Jajnik w 7. dniu po owulacji, sfotografowany przez endoskop. Na jajniku widoczne są 2 ciała żółte, w górnej części fotografii rogi macicy (fot. P. Ślósarz)

Ovary on day 7 after ovulation, endoscopic photograph. 2 corpora lutea are seen on the ovary, uterine horns in the upper part of photograph (photo P. Ślósarz)

W rozrodzie kóz, głównie w obszarze badań naukowych, wykorzystywane są także inne, zaawansowane metody biotechniczne, obejmujące m.in. pozyskiwanie zarodków, ich transplantację, zamrażanie i mikromanipulacje na zarodkach kozich. Metody te, ze względu na wysokie koszty, nieproporcjonalne do wartości produkcji uzyskiwanej od tego gatunku zwierząt, nie znalazły dotąd szerszego zastosowania w praktyce, jak ma to miejsce np. w hodowli bydła.

Obszerny przegląd badań z tego zakresu zawarto m.in. w pracach: Amoah i Gelaye (1997) oraz Holtz (2005). Zarodki do transplantacji mogą być pozyskiwane metodą chirurgiczną, poprzez zabieg laparotomii, a następnie przepłukiwanie rogów macicy specjalnym medium. Laparotomia powoduje jednak liczne zrosty pooperacyjne, ograniczając możliwość powtarzania zabiegu. Mniej inwazyjna jest metoda laparoskopii, wymagająca z kolei skomplikowanego i kosztow-

nego sprzętu. Współcześnie, standardem stają się metody niechirurgiczne, polegające na wypłukiwaniu zarodków za pomocą elastycznego kate-teru wprowadzanego do rogów macicy poprzez częściowo wycięwaną szyjkę maciczną, podobnie jak przy opisywanej wcześniej jednej z metod inseminacji. Metoda ta nie wymaga znieczulenia zwierząt. Transplantację zarodków wykonuje się najczęściej metodą laparoskopii. Embriony w bardziej zaawansowanym stadium rozwoju (4-dniowe lub starsze) deponuje się w rogu macicy, zarodki młodsze (od 8 do 16 blastomerów) w jajowodzie. Pierwszą udaną próbę zamrażania zarodków kozich przeprowadzili w roku 1976 Bilton i Moore (za Amoah

i Gelaye, 1997). Metoda ta ma rosnące znaczenie, zwłaszcza w międzynarodowym obrocie zarodkami, a także ochronie ginących ras kóz. Technika mrożenia jest podobna jak w przypadku bydła, z zastosowaniem jako związków osłaniających głównie glikolu etylowego lub glicerolu. Przy transplantacji zamrożonych zarodków w stadium blastocysty, w optymalnych warunkach można uzyskać od 45 do ponad 80% ciąży.

Efektywność transplantacji zarodków w dużym stopniu zależy od możliwości zwiększenia liczby zarodków możliwych do pozyskania od dawczyń, osiąganey na drodze superowulacji.



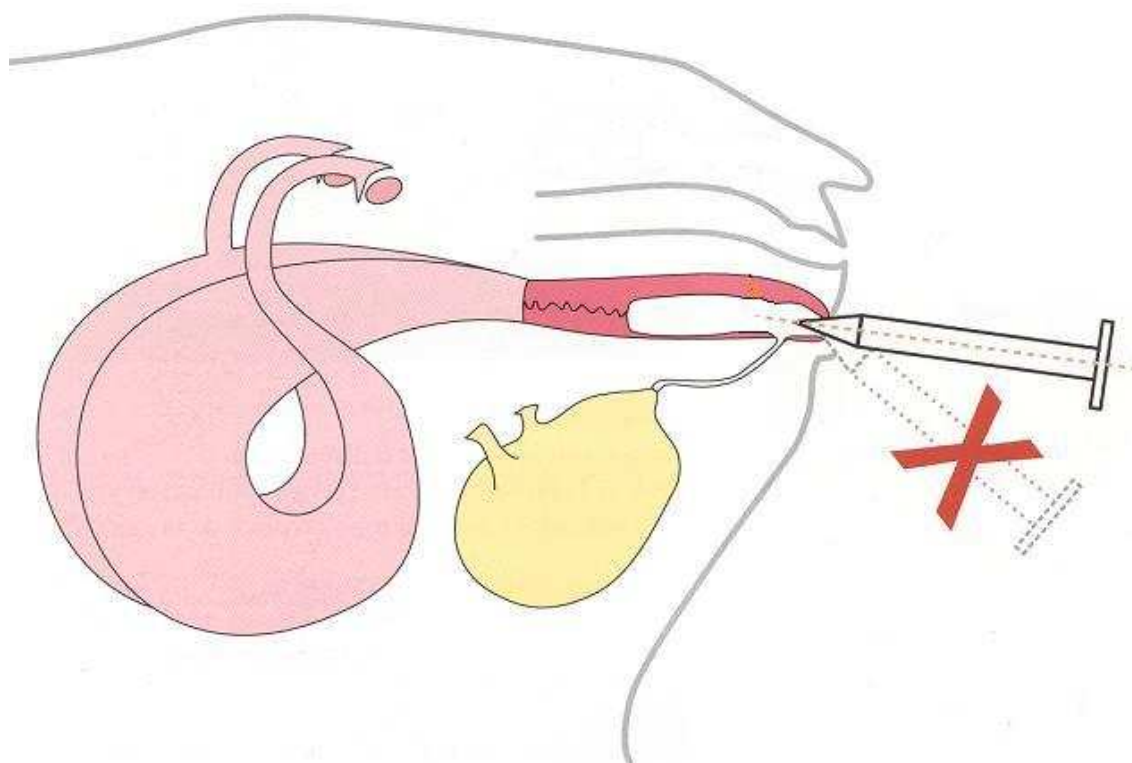
Deponowanie wkładów dopochwowych (fot. J. Wójtowski)
Deposition of intravaginal devices (photo J. Wójtowski)

U kóz zabieg ten przeprowadza się zwykle w połączeniu z hormonalną synchronizacją rui, np. w opisanym wcześniej sposób, zaś stymu-

lację jajników do produkcji większej liczby oocytów uzyskuje się poprzez znaczne zwiększenie dawki hormonów gonadotropowych,

zwykle PSMG (1000 – 2000 IU) lub w nowszych metodach – hormonu folikulotropowego pochodzącego od świni (pFSH). Metoda wykorzystująca pFSH jest uważana za bardziej efektywną, zarówno pod względem wielkości owulacji (od 8 do 16), jak i jakości pozyskiwanych zarodków. Jednak, ze względu na znacznie krótszy okres półtrwania w organizmie kozy (około 5 godzin), w porównaniu do PSMG (10-15 godzin), konieczne jest częstsze dawkowanie – zwykle poprzez iniekcję domięśniową, dwukrotnie w ciągu doby przez 3-4 dni, zaczynając dawkowanie 1-3 dni przed zakończeniem podawania progesteronu (Holtz, 2005). Pierwsze, zakończone sukcesem, prace nad zapłodnieniem *in vitro* u kóz pochodzą z roku 1984. Metoda obejmuje pozyskiwanie i dojrzewanie oocytów, zapłodnienie *in vitro* oraz hodowlę zarodków, a następnie ich transplantację. Odsetek zapłodnionych tą drogą biorczyń nie przekracza zwykle 50%. Oocyty z jajników kóz pozyskiwane są głównie po uboju, a ich

liczba jest niewielka (średnio od 1,5 do 2,1 z jednego jajnika), co ogranicza szersze stosowanie tej metody (Amoah i Gelaye, 1997). Z powodzeniem rozwijane są jednak techniki aspirowania oocytów od żywych zwierząt przez pochwę – pod kontrolą ultrasonografu oraz metodą laparoskopii. Pierwsze badania dotyczące mikro-manipulacji na zarodkach kozich pochodzą z końca lat 80. XX wieku. Ich głównym celem jest uzyskanie większej liczby przydatnych do transplantacji zarodków - na drodze ich podziału lub uzyskanie genetycznie identycznych osobników dla dalszych eksperymentów naukowych. Ten obszar badań obejmuje także agregację zarodków i uzyskiwanie zwierząt chimericznych. Pierwszą chimerę pomiędzy owcą i kozą, nazwaną „geep”, uzyskali w roku 1984 Fehilly, Willadsen i Tucker (za Amoah i Gelaye, 1997). Warto podkreślić, że podobną chimerę „kozy-owcy” uzyskano w roku 1988 w Polsce, w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu.



Schemat wprowadzania aplikatora z wkładami dopochwowymi
Scheme for insertion of applicator with intravaginal devices

Literatura

- Amoah E.A., Gelaye S. (1997). Biotechnological advances in goat reproduction. *J. Anim. Sci.*, 75: 578-585.
- Corteel J.M., Leboeuf B., Baril G. (1988). Artificial breeding of adult goat and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Rum. Res.*, 1: 19-35.
- Holtz W. (2005). Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Rum. Res.*, 60: 95-110.
- Leboeuf B., Manfredi E., Boue P., Piacère A., Brice G., Baril G., Broqua C., Humblot P., Terqui M. (1998). Artificial insemination of dairy goats in France. *Livest. Prod. Sci.*, 55: 193-203.
- Leboeuf B., Restall B., Salamon S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.*, 62: 113-141.
- Leboeuf B., Forgerit Y., Bernelas D., Pournard J.L., Senty E., Driancourt M.A. (2003). Efficacy of two types of vaginal sponges to control onset of oestrus, time of preovulatory LH peak and kidding rate in goats inseminated with variable numbers of spermatozoa. *Theriogenology*, 60: 1371-1378.
- Pawlak H. (1971). Rozpoczęto unasiennianie kóz. *Inseminator*, 1: 19-23.
- Pawlak H. (2005). Wielkopolska kolebką inseminacji. Wyd. Wielkopolskie Centrum Hodowli i Rozrodu Zwierząt w Poznaniu z siedzibą w Tulcach, sp. z o.o.
- Sohnrey B., Holtz W. (2005). Transcervical deep cornual insemination of goats. *J. Anim. Sci.*, 83: 1543-1548.

METHODS FOR INTENSIFICATION OF GOAT REPRODUCTION

Summary

Under intensive production systems, artificial insemination can be a rational method of goat reproduction. This method can maximize the use of the most valuable sires and thus considerably accelerate breeding progress, enables the use of semen of proven quality, and limits the spread of sexually transmitted diseases. In practical goat breeding, a decrease in the number of sires can reduce buck management problems in addition to feed savings.

This paper discusses procedures for the collection, conservation and packaging of buck semen. Methods for insemination of goats with both fresh and frozen semen (classical method, direct insemination into uterine horns using forceps) are presented. The sexual cycle of goats can be controlled to ensure breeding in strictly defined periods using hormonal oestrus synchronization or regulation of photoperiod. Embryo collection, transplantation, freezing and micromanipulation is also discussed.