



**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ**



**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΚΑΙΝΟΤΟΜΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΕΙΦΟΡΟΥ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ
ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

**ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ
«ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΚΡΙΒΕΙΑΣ ΣΤΗ ΖΩΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ ΟΙΣΤΡΩΝ ΟΥΣΥΝΧΗ ΚΑΙ
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΕΧΝΗΤΗΣ ΣΠΕΡΜΑΤΕΓΧΥΣΗΣ ΣΕ
ΠΡΟΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΟ ΧΡΟΝΟ ΣΤΗΝ ΟΙΣΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ ΣΕ
ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ ΥΨΗΛΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΑΝΤΗΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΖΩΟΤΕΧΝΗΣ**

Επιβλέπων: Δρ Αριστοτέλης.Γ.Λυμπερόπουλος
Καθηγητής



ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2017
ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΚΑΙΝΟΤΟΜΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΕΙΦΟΡΟΥ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ
ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ
«ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΚΡΙΒΕΙΑΣ ΣΤΗ ΖΩΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ»

<http://agriculturaltechnology.teithe.gr/>

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟΥ ΟΙΣΤΡΩΝ ΟΥΣΥΝΧΗ ΚΑΙ
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΕΧΝΗΤΗΣ ΣΠΕΡΜΑΤΕΓΧΥΣΗΣ ΣΕ
ΠΡΟΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΟ ΧΡΟΝΟ ΣΤΗΝ ΟΙΣΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ ΣΕ
ΠΡΟΒΑΤΙΝΕΣ ΥΨΗΛΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΑΝΤΗΣ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΖΩΟΤΕΧΝΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ:

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Δρ Αριστοτέλης.Γ.Λυμπερόπουλος, Καθηγητής, ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης
ΜΕΛΟΣ: Δρ Δημήτριος.Γ.Χατζηπλής, Αναπληρωτής Καθηγητής, ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης
ΜΕΛΟΣ: Δρ Ιωάννης.Α.Τσακμακίδης, Επίκουρος Καθηγητής, Α.Π.Θ.

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2017

Πίνακας Περιεχομένων

<i>a/a</i>	Τίτλος	Σελίδα
	Πίνακας περιεχομένων	3
	Πρόλογος	5
	Ευχαριστίες	7
	Περίληψη	8
	Abstract	10
	Ευρετήριο πινάκων	11
	Ευρετήριο φωτογραφιών	12
	Ευρετήριο διαγραμμάτων	13
	Κατάλογος συντομογραφιών	14
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	15
	Εισαγωγή	15
1.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	20
1.1.	Υψηλά ποσοστά αναπαραγωγής: Καθοριστικοί παράγοντες – σημασία	20
2.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	21
2.1.	Ενδοκρινολογία του οιστρικού κύκλου και της ωοθυλακιορρηξίας	21
3.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	23
3.1.	Ορμονικός συγχρονισμός του οίστρου και της ωοθυλακιορρηξίας	23
3.2.	Χρόνος της ωοθυλακιορρηξίας	25
3.2.1.	<i>Η φυλή</i>	26
3.2.2.	<i>Η εποχή</i>	26
3.2.3.	<i>Η επίδραση του κριού</i>	26
3.2.4.	<i>Η ηλικία</i>	27
3.2.5.	<i>Ορμονική αγωγή</i>	27
4.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	29
4.1.	Ορμονικά πρότυπα κατά την διάρκεια του οιστρικού κύκλου της προβατίνας	29
4.1.1.	<i>Έκκριση των γοναδοτρόπων ορμονών</i>	29
4.2.2.	<i>Εκκριτικοί παράγοντες των στεροειδών των ωοθηκών</i>	31
4.2.2.1.	<i>Η έκκριση της οιστραδιόλης και οι επιπτώσεις της στην ανάπτυξη των γρααφιανών ωοθυλακίων</i>	31
4.2.2.2.	<i>Η συγκέντρωση της προγεστερόνης και η σχέση της με την ανάπτυξη του ωχρού σώματος και τη δυναμική των ωοθυλακίων</i>	32

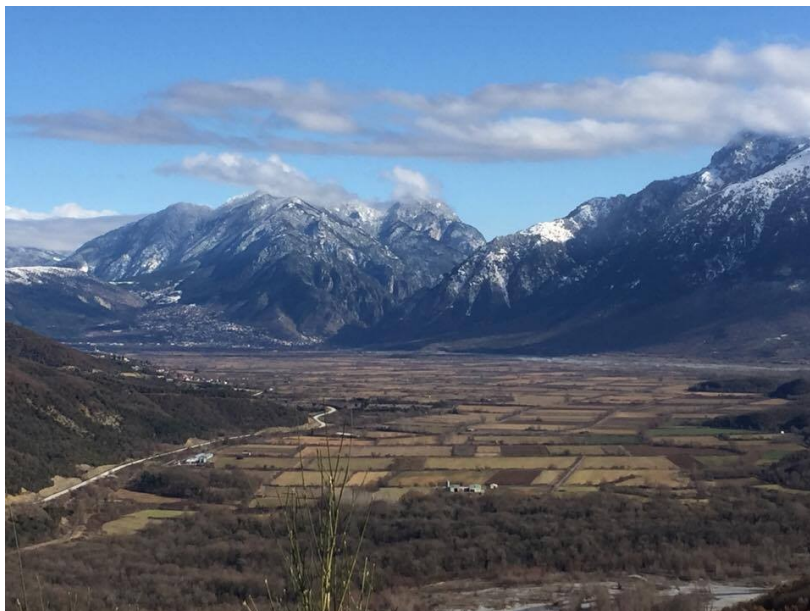
5.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	36
5.1.	Ενδοκρινολογικός έλεγχος και λειτουργία των ωοθηκών κατά την διάρκεια της μεταβατική περιόδου μεταξύ της άνοιστρης και της οιστρικής περιόδου	36
6.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	37
6.1.	Μέθοδοι συγχρονισμού οίστρου	37
6.1.1.	<i>Ορμονικές μέθοδοι συγχρονισμού οίστρου</i>	37
6.1.1.1.	<i>Χρησιμοποίηση ενδοκολπικών σπόγγων</i>	37
6.1.1.2.	<i>Χρησιμοποίηση ενδοκολπικών σπειραμάτων [controlled internal drug release (CIDR)]</i>	38
6.1.1.3.	<i>Χρησιμοποίηση προσταγλανδίνης (PGF_{2α}) και συνθετικά ανάλογα</i>	38
6.1.1.4.	<i>Χρησιμοποίηση εμφυτευμάτων μελατονίνης</i>	38
6.1.2.	<i>Μη ορμονικές μέθοδοι</i>	39
6.1.2.1.	<i>Η επίδραση της παρουσίας του αρσενικού</i>	39
6.1.2.2.	<i>Τεχνητή μεταβολή της φωτοπεριόδου</i>	40
6.1.2.3.	<i>Χορήγηση ενισχυμένου σιτηρεσίου (flushing)</i>	40
	ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	42
7.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7	43
7.1	ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ	43
7.1.1.	<i>Εκτροφή</i>	43
7.1.2.	<i>Ενσταβλισμός και διατροφή</i>	43
7.1.3.	<i>Πειραματικός σχεδιασμός</i>	44
7.1.4.	<i>Συλλογή και επεξεργασία σπέρματος</i>	46
7.1.5.	<i>Ανίχνευση οίστρων</i>	48
7.1.6.	<i>Τεχνητή σπερματέγχυση</i>	48
7.1.7.	<i>Εκτίμηση της αναπαραγωγικής ικανότητας</i>	50
7.1.8.	<i>Διάγνωση εγκυμοσύνης</i>	50
7.1.9.	<i>Στατιστική ανάλυση</i>	50
8.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8	51
	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	51
9.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9	55
	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	55
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	58
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	59

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης, στην ειδίκευση «Συστήματα Ακριβείας στη Ζωική Παραγωγή» στο πλαίσιο της μεταπτυχιακής μου διατριβής στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Καινοτόμα Συστήματα Αειφόρου Αγροτικής Ανάπτυξης» με εξειδίκευση «Συστήματα Ακριβείας στη Ζωική Παραγωγή».

Η συγκεκριμένη μεταπτυχιακή διατριβή αφορά στην ανάπτυξη πρωτοκόλλου συγχρονισμού οίστρων *ovsynch* και την εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης σε προκαθορισμένο χρόνο στην οιστρική περίοδο σε προβατίνες υψηλής γαλακτοπαραγωγής.

Η συγγραφή της εργασίας στηρίχθηκε σε πρόσφατες επιστημονικές δημοσιεύσεις, που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, καθώς και στον πειραματισμό που πραγματοποιήθηκε για το διάστημα από τον Σεπτέμβριο του 2016 μέχρι τον Φεβρουάριο του 2017. Το σύνολο των πειραματισμών πραγματοποιήθηκε σε εκτροφή της περιοχής Κόνιτσας της περιφερειακής ενότητας των Ιωαννίνων.



Φωτογραφία 1. Περιοχή Κόνιτσας Ιωαννίνων

Στο πρώτο μέρος γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με την ενδοκρινολογία του οιστρικού κύκλου και της ωοθυλακιορρηξίας, τον ορμονικό συγχρονισμό του οίστρου και της ωοθυλακιορρηξίας, το χρόνο της ωοθυλακιορρηξίας, τα ορμονικά πρότυπα κατά την

διάρκεια του οιστρικού κύκλου της προβατίνας, τον ενδοκρινολογικό έλεγχο και λειτουργία των ωοθηκών κατά την διάρκεια της μεταβατική περιόδου μεταξύ της άνοιστρης και της οιστρικής περιόδου και τις μεθόδους συγχρονισμού του οίστρου.

Στο δεύτερο μέρος περιγράφεται ο πειραματικός σχεδιασμός, η συλλογή και επεξεργασία του σπέρματος, η ανίχνευση των οίστρων, η τεχνητή σπερματέγχυση, η διάγνωση εγκυμοσύνης και η στατιστική ανάλυση. Στο τέλος παρουσιάζονται τα αποτελέσματα και ο σχολιασμός τους

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στον καθηγητή κ. Αριστοτέλη Λυμπερόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια και την υποστήριξη που προσέφερε ώστε να υλοποιηθεί η συγκεκριμένη μεταπτυχιακή διατριβή. Επίσης, όλους εκείνους που συνέδραμαν, καθένας με τον τρόπο του, στην ολοκλήρωσή αυτού του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Με την ευκαιρία θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Δημήτριο Καρακατσάνη, για την τιμή που μας έκανε παραχωρώντας το ζωικό του κεφάλαιο για την πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους της διατριβής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κτηνίατρο κ. Σπυρίδων Πάκο για την ευγενή χορηγία των ενδοκοιλιακών σπόγγων και των ορμονών, χωρίς την πολύτιμη βοήθεια του οποίου δεν θα ήταν δυνατόν να πραγματοποιηθεί το πειραματικό μέρος αυτής της διατριβής.

Περίληψη

Σκοπός της εργασίας ήταν η εφαρμογή ενός πρωτοκόλλου συγχρονισμού του οίστρου, που βασίζεται στη χρήση ενός αναλόγου της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH) σε συνδυασμό με προσταγλανδίνη PGF_{2α} (Ovnsynch) και η σύγκρισή του με ένα κλασσικό πρωτόκολλο ενδοκολπικών σπόγγων προγεσταγόνων σε συνδυασμό με χοριονική γοναδοτροπίνη ίππου eCG, σε προβατίνες υψηλής γαλακτοπαραγωγής κατά την οιστρική περίοδο. Γι' αυτό το σκοπό χρησιμοποιήθηκαν 77 προβατίνες, φυλής Lacaune, ηλικίας 2-5 ετών, με δείκτη θρεπτικής κατάστασης 3-3,5 και παραγωγή γάλακτος κατά μέσο όρο 2,5 κιλά/ζώο/ημέρα. Τα ζώα χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες. Στην πρώτη ομάδα (n=38) το πρωτόκολλο συγχρονισμού περιλάμβανε μια ενδομυϊκή έγχυση 1 ml GnRH (Receptal®, MSD Animal Health, ΗΠΑ) που ακολουθήθηκε από έγχυση 0,5 ml προσταγλανδίνης (Estrumate®, MSD Animal Health, ΗΠΑ) πέντε ημέρες μετά. Σαράντα οκτώ ώρες μετά την έγχυση της προσταγλανδίνης έγινε μια δεύτερη χορήγηση 1 ml GnRH (Receptal®, MSD Animal Health, ΗΠΑ). Στη δεύτερη ομάδα (n=39) το πρωτόκολλο συγχρονισμού περιελάμβανε την εισαγωγή ενδοκολπικών σπόγγων εμποτισμένων με 30 mg οξικής φλουγεστόνης, (Chronogest® CR, MSD Animal Health, ΗΠΑ) που παρέμειναν για 14 ημέρες και κατά την εξαγωγή τους χορηγήθηκαν 500 IU eCG (Intergonan®, MSD Animal Health, ΗΠΑ). Για τον έλεγχο του οίστρου χρησιμοποιήθηκε ανιχνευτής κριός. Στα ζώα της πρώτης ομάδας εφαρμόστηκε τεχνητή σπερματέγχυση σε προκαθορισμένο χρόνο 12 και 36 ώρες μετά τη δεύτερη χορήγηση της GnRH, ενώ στα ζώα της δεύτερης ομάδας πραγματοποιήθηκε τεχνητή σπερματέγχυση 48 και 72 ώρες μετά την απομάκρυνση των σπόγγων. Η πρώιμη διάγνωση της εγκυμοσύνης πραγματοποιήθηκε 42 ημέρες μετά την εφαρμογή της τεχνητής σπερματέγχυσης με τη χρήση υπερηχοτομογράφου (Draminski® Animal Profi 2) εφοδιασμένου με κεφαλή 5 MHz γραμμικής σάρωσης. Το ποσοστό (78,9%), των προβατίνων που ανταποκρίθηκαν στο πρωτόκολλο συγχρονισμού Ovnsynch ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερο ($P<0,01$) σε σύγκριση με το ποσοστό (100%) των προβατίνων που ανταποκρίθηκαν στο πρωτόκολλο συγχρονισμού με ενδοκολπικούς σπόγγους. Το ποσοστό των τοκετών στην ομάδα A (47,22%) ήταν χαμηλότερο συγκριτικά με το αντίστοιχο της ομάδας B (64,86%) δεν υπήρχε όμως στατιστικά σημαντική διαφορά ($P>0,132$). Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ των δυο ομάδων σε ότι αφορά τη διάρκεια της περιόδου των τοκετών ($P<0,01$), με την ομάδα A να εμφανίζει χρονικά μικρότερη περίοδο

τοκετών. Δεν ήταν στατιστικά σημαντική η διαφορά μεταξύ του δείκτη πολυδυμίας ($P>0,269$) και του ποσοστού γονιμότητας ($P>0,132$) μεταξύ των δυο ομάδων. Συμπερασματικά, σε προβατίνες με υψηλή γαλακτοπαραγωγή κατά την οιστρική περίοδο, το πρωτόκολλο συγχρονισμού Onsynch μπορεί να αποτελέσει μια εναλλακτική λύση έναντι του μεγαλύτερης διάρκειας κλασσικού πρωτοκόλλου συγχρονισμού οίστρου με ενδοκολπικούς σπόγγους προγεσταγόνων.

Λέξεις κλειδιά: προβατίνες υψηλής γαλακτοπαραγωγής, συγχρονισμός οίστρου, Onsynch, ενδοκολπικοί σπόγγοι προγεσταγόνων, τεχνητή σπερματέγχυση

Abstract

This study assessed the efficacy of the Ovsynch protocol vs the classical cronolone containing vaginal sponges - eCG treatment in order to apply fixed-time artificial insemination (AI) in high yielding dairy ewes during the breeding season. Seventy seven ewes of Lacaune breed, 2-5 years of age, 3-3.5 body condition score and mean yield of 2.5 kg/ewe/day were randomly divided into 2 groups. In group 1 (n=38) estrus synchronization protocol consisted of an initial administration of a 1 ml GnRH analogue (Receptal[®], MSD Animal Health, USA) followed 5 days later by a 0.5 ml prostaglandin F_{2α} (Estrumate[®], MSD Animal Health, USA) administration. Forty eight hours later a second dose of 1 ml GnRH (Receptal[®], MSD Animal Health, USA) injection was given to synchronize ovulation. In group 2 (n=39) estrus synchronization was based on treatment with 30 mg flugestone acetate (Chronogest[®] CR, MSD Animal Health, USA) intra-vaginal sponges followed by an intramuscular injection of 500 ml eCG (Intergonan[®], MSD Animal Health, USA) on the day of sponge withdrawal. Onset and duration of estrus were determined using an aproned male. Ovsynch-treated ewes were inseminated at pre-determined times 12 h and 36 h after the second GnRH injection. Flugestone acetate –eCG-treated ewes were inseminated at 48 h and 72 h after sponge removal. Pregnancy was diagnosed 42 days after AI using an ultrasound scanner (Draminski[®] Animal Profi 2) equipped with a 5 MHz linear-array transducer. Results show that 78,9% of ewes of group A exhibit estrus activity versus 100% in group B (P<0,01). Lambing rate in group A (47.22 %) was lower compared to group B (64.86%). However the difference was not significant (P>0.132). A significant difference was noticed in the lambing period between the two groups (P<0.01), with the period of A group to be expressed in lower value. In group A litter size (P>0.269) and fecundity (P>0.132) were not significant compared to group B. In conclusion, during the breeding season, and in high yielding dairy ewes, the Ovsynch protocol may be a potential alternative to the conventional long term protocol of flugestone acetate–eCG treatment.

Key words: dairy ewes, oestrus synchronization, Ovsynch, intravaginal sponges, artificial insemination

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.: Σύσταση (%) του μίγματος γαλακτοπαραγωγής	43
Πίνακας 2.: Χημική σύσταση (%) του μίγματος γαλακτοπαραγωγής	44
Πίνακας 3.: Σύθεση πρόσθετων υλών ανά κιλό μίγματος γαλακτοπαραγωγής	44
Πίνακας 4: Ποσοστά οίστρου (%), χρόνος (h) και διάρκεια (h) του οίστρου στις προβατίνες της ομάδας Α και Β	52
Πίνακας 5: Ποσοστά γεννήσεων (%) και περίοδος τοκετών (ημέρες) των προβατίνων στις ομάδες μεταχείρισης	52
Πίνακας 6: Αριθμός αρνιών και γονιμότητα των προβατίνων στις ομάδες μεταχείρισης	53

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ

Φωτογραφία 1. Περιοχή Κόνιτσας Ιωαννίνων	5
Φωτογραφία 2. Συλλογή σπέρματος	47
Φωτογραφία 3. Εξοπλισμός εκτίμησης και επεξεργασίας σπέρματος	47
Φωτογραφία 4. Ανίχνευση οίστρου με "ανιχνευτή κριό"	48
Φωτογραφία 5. Εξοπλισμός τεχνητής σπερματέγχυσης	49
Φωτογραφία 6. Εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης	49
Φωτογραφία 7. Αμνοί που γεννήθηκαν στα πλαίσια της ερευνητικής εργασίας	54

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1. Διάγραμμα του προτύπου των αλλαγών των συγκεντρώσεων των ορμονών στο περιφερειακό αίμα κατά τη διάρκεια του οιστρικού κύκλου της προβατίνας	22
Διάγραμμα 2. Σχεδιαγράμματα των πρωτοκόλλων συγχρονισμού του οίστρου στην Ομάδα Α και στην Ομάδα Β	45

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

GnRH= απελευθερωτική ορμόνη γοναδοτροπινών

PGF_{2a}= προσταγλανδίνη F_{2a}

eCG= χοριακή γονοδατροπίνη από έγκυα φοράδα

ml =mili litre

ΤΣ =Τεχνητή σπερματέγχυση

FSH =Ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη

LH =Ωχρινοποιητική ορμόνη

CL =Ωχρο σωματίο

ΔΜ =Διεθνείς μονάδες

mg =milligram

μg =microgram

MAP =μεδροξυπρογεστερόνη

FGA =οξική φλουγεστόνη

CIDR =ενδοκολπικά σπειράματα

NDF= Αδιάλυτες ινώδεις ουσίες σε ουδέτερο απορρυπαντικό διάλυμα (Neutral Detergent Fibre)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τεχνητή σπερματέγχυση στα πρόβατα καθίσταται λιγότερο κερδοφόρα και αποδοτική λόγω έλλειψης αποτελεσμάτων τόσο στην επιτυχία των πρωτοκόλλων συγχρονισμού όσο και στην δυσκολία ανίχνευσης του οίστρου. Αυτά τα προβλήματα μπορούν να ελαχιστοποιηθούν αναπτύσσοντας ένα αποδοτικό πρωτόκολλο συγχρονισμού με την εφαρμογή της τεχνητής σπερματέγχυσης σε προκαθορισμένο χρόνο χωρίς την ανάγκη ανίχνευσης των οίστρων. Στα πρόβατα ο συνήθης τρόπος για συγχρονισμό των οίστρων και εφαρμογή της τεχνητής σπερματέγχυσης είναι η χρήση ενδοκολπικών σπόγγων (CIDR) εμποτισμένων με προγεστερόνη ελεγχόμενης αποδέσμευσης για 11 έως 19 ημέρες, μία ενέσιμη δόση προσταγλανδίνης F_{2a} (PGF_{2a}) κατά την εξαγωγή των σπόγγων και σε μερικές περιπτώσεις ακόμη μία ενέσιμη δόση χοριακής γονοδατροπίνης από έγκυα φοράδα (eCG). Στο πρωτόκολλο αυτό υπάρχουν τρία αρνητικά στοιχεία. Η υπερβολική έκθεση στην προγεστερόνη, οι ακανόνιστες συγκεντρώσεις σε (eCG) και ο ευρύς χρόνος που εκδηλώνεται η ωοθηλακιορρηξία στα ζώα που εφαρμόζουμε το πρωτόκολλο. Πρόσφατες έρευνες που έγιναν σε πρωτόκολλα συγχρονισμού προβάτων δείχνουν ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά ο συνδυασμός του ενδοκολπικού σπειράματος (CIDR), με τη χορήγηση μετά από 7 ημέρες εκλυτικής ορμόνης γοναδοτροπινών (GnRH), τη χορήγηση PGF_{2a} 2 ημέρες αργότερα και την εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης σε προκαθορισμένο χρόνο. Αυτά τα πρωτόκολλα χρησιμοποιούν GnRH για την ανάπτυξη ωοθυλακίων στις ωοθήκες και την πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας μετά την εξαγωγή των ενδοκολπικών σπειραμάτων. Οι προβατίνες που συγχρονίστηκαν ορμονικά με το συγκεκριμένο πρωτόκολλο εκδήλωσαν οίστρους σε 36 έως 40 ώρες μετά την εξαγωγή των CIDR, σε αντίθεση με τα υφιστάμενα πρωτόκολλα συγχρονισμού όπου οι προβατίνες εκδήλωσαν οίστρους σε 25 έως 68 ώρες (Dickison et al, 2010).

Ο συγχρονισμός του οίστρου παίζει σημαντικό ρόλο για την εφαρμογή της τεχνητής σπερματέγχυσης στα πρόβατα για την επίτευξη γενετικής βελτίωσης. Η ανίχνευση του

οίστρου είναι από τους πιο περιοριστικούς παράγοντες για την εφαρμογή της τεχνητής σπερματέγχυσης στα πρόβατα λόγω του αριθμού των προβάτων που πρόκειται να εφαρμοστεί ταυτόχρονα αλλά και λόγω της δυσκολίας που παρουσιάζει η ανίχνευση των συμπτωμάτων του οίστρου. Για την ασφαλή ανίχνευση των προβάτων που βρίσκονται σε οίστρο χρησιμοποιούνται "ανιχνευτές κριοί". Τα προβλήματα αυτά μπορούν να αποφευχθούν με την εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης σε προκαθορισμένο χρόνο. Οι Menchaca και Rubianes, (2004) έδειξαν ότι τα ποσοστά εγκυμοσύνης και ο συγχρονισμός της ωοθυλακιορρηξίας συσχετίζονται. Αυτό σημαίνει ότι ο χειρισμός της ωοθηκικής λειτουργίας είναι απαραίτητος για ένα πρωτόκολλο για να παράγει τα αποδεκτά ποσοστά σύλληψης με την εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης σε προκαθορισμένο χρόνο. Ο Rajakoski, (1960) ήταν ο πρώτος που ανακάλυψε την ανάπτυξη των ωοθυλακίων κατά κύματα στην διάρκεια του οιστρικού κύκλου. Η αύξηση των ωοθυλακίων κατά κύματα υποκινείται από την ωοθυλακιοτρόπο (FSH) και την ωχρινοποιητική ορμόνη (LH). Η απελευθέρωση GnRH από τον υποθάλαμο υπαγορεύει την απελευθέρωση των FSH και LH από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης (Herbison, 1997). Δηλαδή η έκκριση των γοναδοτροπινών ελέγχεται από την GnRH. Τα χαμηλά επίπεδα της LH που εκκρίνεται σταδιακά προκαλούνται από την απελευθέρωση της GnRH κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης όταν τα επίπεδα της προγεστερόνης (P4) είναι υψηλά (Karsch et al, 1997). Αυτή η σταδιακή απελευθέρωση της LH υποστηρίζει την ανάπτυξη των ωοθυλακίων από το αρχικό στάδιο μέχρι το στάδιο της ανάπτυξης του αρχέγονου ωοθυλακίου. Η επεισοδιακή αύξηση στα επίπεδα της LH είναι η φυσική αιτία της ωοθυλακιορρηξίας των κυρίαρχων ωοθυλακίων στον οιστρικό κύκλο. Αυτή η αύξηση της LH προκαλείται από τα αυξημένα επίπεδα οιστρογόνων (E2) που παράγονται από το κυρίαρχο ωοθυλάκιο κατά τη διάρκεια του οίστρου. Τα οιστρογόνα (E2) υποκινούν τον υποθάλαμο να απελευθερώσει μεγάλες ποσότητες GnRH προκαλώντας το προ-ωοθυλακιορρηκτικό κύμα της LH. Μιμούμενη η LH τα επίπεδα της GnRH, μια εξωγενής έγχυση GnRH είναι επαρκής για να προκαλέσει την προ-ωοθυλακιορρηκτική έκκριση της LH. Επομένως, μια έγχυση GnRH στην αρχή ενός πρωτοκόλλου συγχρονισμού για τεχνητή σπερματέγχυση σε προκαθορισμένο χρόνο θα προκαλέσει ανάπτυξη ωοθυλακίων για ωοθυλακιορρηξία ή ατρησία των ωοθυλακίων, με αποτέλεσμα να μηδενίζεται η ωοθηκική δραστηριότητα. Επιπλέον, στο τέλος του πρωτοκόλλου του συγχρονισμού η χορήγηση της GnRH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προκαλέσει ωοθυλακιορρηξία στα ήδη υπάρχοντα ωοθυλάκια. Η χορήγηση GnRH 30 ώρες

μετά την εξαγωγή των ενδοκολπικών σπειραμάτων έχει ως αποτέλεσμα την πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας μετά από 30-34 ώρες (Dickison, 2010).

Σήμερα στα πρωτόκολλα συγχρονισμού χρησιμοποιούνται είτε η eCG ή PG600[®] όπου δρουν σαν τις FSH και LH στο ενδοκρινικό σύστημα της προβατίνας. Η έγχυση της eCG προκαλεί τη μικρή χρονική διάρκεια της ωοθυλακιορρηξίας (Evans, 1988; Menchaca και Rubianes, 2004). Ένα μειονέκτημα που παρατηρήθηκε πρόσφατα σχετικά με τη χρήση της eCG, είναι η ανοσία που αποκτούν οι προβατίνες στις οποίες έχει χορηγηθεί επανειλημμένα η eCG. Οι Maurel et al, (2003) απέδειξαν ότι η χρήση eCG προκαλεί ανοσοποιητική αντίδραση στις προβατίνες. Η ανοσοποιητική αυτή αντίδραση στην eCG προκαλεί μείωση στα ποσοστά σύλληψης εάν χρησιμοποιείται για να συγχρονιστούν οι προβατίνες από χρονιά σε χρονιά. Αυτή είναι μια πιθανή αιτία για τη διαφορά στην αποτελεσματικότητα των πρωτοκόλλων που χρησιμοποιούν eCG. Αν και η eCG δρα όπως η LH και η FSH, δεν έχουν πλήρως αποσαφηνιστεί οι επιπτώσεις της στο ενδοκρινικό σύστημα. Αυτές οι αρνητικές πτυχές της χρήσης eCG οδηγούν στην ανάγκη να βρεθεί ένα αποτελεσματικό πρωτόκολλο που να χρησιμοποιεί την GnRH.

Για το συγχρονισμό των οίστρων στα βοοειδή χρησιμοποιούνται αποτελεσματικά διαφορετικά πρωτόκολλα GnRH με σκοπό αρχικά την εναρμόνιση της ωοθηκικής λειτουργίας των αγελάδων και στη συνέχεια την πρόκληση της ωοθυλακιορρηξίας των ώριμων ωοθυλακίων στο τέλος του πρωτοκόλλου. Η μεμονωμένη χρήση GnRH προκαλεί ένα κύμα έκκρισης LH, 2 ώρες μετά την ενδομυϊκή έγχυσή της (Rubianes et al, 1997). Ο Dickison, (2010) απέδειξαν ότι σε ένα πρωτόκολλο συγχρονισμού με ενδοκολπικά σπειράματα (CIDR) τα οποία παραμένουν 7 ημέρες, την έγχυση PGF_{2a} στις 6,5 μέρες από την τοποθέτηση και μία έγχυση GnRH την ημέρα εισαγωγής και μία σε 30 ώρες από την εξαγωγή του ενδοκολπικού σπειράματος (CIDR), οδήγησε σε μια στενή σχέση του οίστρου και της ωοθυλακιορρηξίας. Οι προβατίνες που τους χορηγήθηκε το παραπάνω πρωτόκολλο εκδήλωσαν συμπτώματα οίστρου και τα υψηλότερα επίπεδα LH σε διάρκεια 4 ωρών. Μία τόσο μικρή χρονική διάρκεια στο συγχρονισμό για την εφαρμογή ΤΣ σε προκαθορισμένο χρόνο είναι πολύ επιθυμητή. Τα ποσοστά σύλληψης με φυσική οχεία ήταν χαμηλότερα όταν χρησιμοποιήθηκε αυτό το πρωτόκολλο σε σύγκριση με την ομάδα όπου χρησιμοποιήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο χωρίς την έγχυση της GnRH 30 ώρες μετά την αφαίρεση των ενδοκολπικών σπειραμάτων (CIDR) (Dickison, 2010).

Αυτό δείχνει τη συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ της ωοθυλακιορρηξίας και των ποσοστών σύλληψης. Η ωοθυλακιορρηξία μπορεί να είχε προκληθεί αρκετά νωρίτερα με αποτέλεσμα οι προβατίνες να παρουσιάζουν σιωπηλούς οίστρους και να μη δέχονται την επίβαση από τους κριούς. Στην ομάδα των προβατινών που δεν προκλήθηκε ωοθυλακιορρηξία, τα συμπτώματα του οίστρου εκδηλώθηκαν σε 36-56 ώρες. Απαιτείται περισσότερη έρευνα για να καθοριστεί, εάν η δεύτερη έγχυση GnRH πρέπει να γίνεται πιο αργά, ώστε να είναι δυνατόν να επιτευχθεί παρόμοιος συγχρονισμός ωοθυλακιορρηξίας και υψηλότερα ποσοστά σύλληψης.

Στα πρωτόκολλα συγχρονισμού συχνά χρησιμοποιούνται τα προγεσταγόνα λόγω της αρνητικής παλίνδρομης επίδρασης που προκαλούν στον υποθάλαμο. Σε έναν φυσιολογικό οιστρικό κύκλο προβατίνας, το λειτουργικό ωχρό σωματίο εκκρίνει προγεστερόνη (P4), με αποτέλεσμα τα επίπεδα της GnRH και τα επίπεδα των γοναδοτροπινών να παραμένουν χαμηλά. Εάν τα επίπεδα των γοναδοτροπινών παραμείνουν χαμηλά, δεν θα υπάρξει κύμα LH για να προκαλέσει ωοθυλακιορρηξία στα ώριμα ωοθυλάκια. Επομένως, η χορήγηση P4 μπορεί να χρησιμοποιηθεί στα πρωτόκολλα συγχρονισμού για να αποτρέψει την ωοθυλακιορρηξία των ώριμων ωοθυλακίων. Τα αυξημένα επίπεδα προγεσταγόνων για μεγάλες χρονικές περιόδους επηρεάζουν την ποιότητα των ωαρίων, οδηγώντας σε χαμηλότερα ποσοστά σύλληψης από τα επιθυμητά. Αν και η χρήση προγεστερόνης είναι αποτελεσματική για τον συγχρονισμό των οίστρων, στις αγελάδες η χορήγηση P4 για μεγάλο χρονικό διάστημα, έχει σαν αποτέλεσμα τη χαμηλή γονιμότητα (Austin et al, 1999). Υπο-ωχρινικές συγκεντρώσεις P4 έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν μη φυσιολογική ανάπτυξη και παρατεταμένη ύπαρξη των γρααφιανών ωοθυλακίων (Vinoles et al, 1999), με αποτέλεσμα αυτά τα παλαιότερα ωοθυλάκια να οδηγούν στα χαμηλά ποσοστά γονιμότητας στα πρόβατα (Austin et al, 1999). Η χορήγηση, διάρκειας 6 ημερών προγεσταγόνων, οδήγησε σε ποσοστά σύλληψης 20% υψηλότερα σε σύγκριση με τη χορήγηση 12 ημερών (Vinoles et al, 2001). Επίσης, η χορήγηση αυξημένων επιπέδων P4, οδήγησαν στην παραγωγή κυμάτων ωοθυλακίων μικρότερης διάρκειας προκαλώντας έτσι τη δημιουργία νέων ωοθυλακίων με τα ποσοστά σύλληψης να είναι χαμηλά ενώ θα έπρεπε να είναι αυξημένα (Menchaca και Rubianes, 2002). Λαμβάνοντας υπόψη αυτά τα ευρήματα τα πρωτόκολλα συγχρονισμού προβάτων θα μπορούσαν να βελτιωθούν ακόμη περισσότερα. Η

χρήση υψηλών επιπέδων προγεσταγόνων για βραχυχρόνια διάρκεια θα μπορούσε να οδηγήσει σε καλύτερο συγχρονισμό και βελτίωση των ποσοστών σύλληψης.

Μία άλλη ορμόνη που χρησιμοποιείται συνήθως στα πρωτόκολλα συγχρονισμού με τεχνητή σπερματέγχυση είναι η προσταγλανδίνη (PGF_{2a}). Η συγκεκριμένη ορμόνη προκαλεί την λύση του ωχρού σωματίου στον φυσιολογικό οιστρικό κύκλο των προβατινών. Συχνά χρησιμοποιείται στα πρωτόκολλα συγχρονισμού σε συνδυασμό με την P4. Στη διάρκεια του φυσιολογικού οιστρικού κύκλου η προσταγλανδίνη (PGF_{2a}) εκκρίνεται από το ενδομήτριο της προβατίνας. Στις αγελάδες γαλακτοπαραγωγής, η ενδομυϊκή χορήγηση PGF_{2a} έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί λύση του ωχρού σωματίου οδηγώντας σε εκδήλωση οίστρου και σε ωοθυλακιορρηξία των ώριμων ωοθυλακίων (Thatcher και Chenault, 1976). Το ωχρό σωματίο δεν ανταποκρίνεται στην ωχρινολυτική δράση της προσταγλανδίνης αμέσως μετά την ωοθυλακιορρηξία. Έχει αποδειχθεί ότι η αντίσταση του ωχρού σωματίου στην προσταγλανδίνη διαρκεί για 2 ημέρες μετά την ωχρινοποίηση του γρααφιανού ωοθυλακίου (Wiltbank και Niswender, 1992). Σε ότι αφορά τις προβατίνες στις οποίες χρησιμοποιήθηκε το ενδοκολπικό σπείραμα (CIDR) για αρκετές ημέρες, μία χορήγηση PGF_{2a} είναι ικανή να προκαλέσει λύση του ωχρού σωματίου από την προηγούμενη ωοθυλακιορρηξία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1. Υψηλά ποσοστά αναπαραγωγής: Καθοριστικοί παράγοντες - σημασία

Ως ποσοστό αναπαραγωγής μερικές φορές καθορίζεται ο αριθμός των αρνιών που απογαλακτίζονται από τις προβατίνες που γονιμοποιήθηκαν. Είναι πολύπλοκος δείκτης και συνδυάζει γονιμότητα, πολυδυμία και ζωτικότητα. Καταρχάς η γονιμότητα περιλαμβάνει την ικανότητα της γονιμοποίησης και δείχνει αν μπορεί ή όχι μια προβατίνα να γεννήσει αρνιά. Δευτερευόντως, η πολυδυμία απεικονίζεται σε μικρότερο μέγεθος. Στα πρόβατα αναφέρεται στον αριθμό των αρνιών που γεννιούνται ανά προβατίνα. Μείωση της γονιμότητας ή της πολυδυμίας έχει ως αποτέλεσμα μικρότερο αριθμό αρνιών στην εκτροφή καθώς και αύξηση των προβατίνων που δεν γέννησαν. Ως ποσοστό βιωσιμότητας μπορεί να περιγραφθεί η ικανότητα των απογόνων να επιβιώσουν μέχρι τον απογαλακτισμό τους (Rae, 1980) ή ο αριθμός των αρνιών που απογαλακτίστηκαν σε σύγκριση με τον αριθμό των αρνιών που γεννήθηκαν (Piper και Bindon, 1979). Παρόλα αυτά όσο αυξάνεται ο αριθμός των αρνιών, η βιωσιμότητα των αρνιών τείνει να μειώνεται (McGuirk, 1976).

Παρά τους περιορισμούς, ο κύριος στόχος των κτηνοτρόφων είναι να πετύχουν υψηλό αναπαραγωγικό ποσοστό, που αντανακλά σε πολλαπλά οικονομικά και βιολογικά οφέλη. Η διατήρηση θηλυκών ικανών για αναπαραγωγή στην εκτροφή είναι μια από τις σημαντικότερες δαπάνες που συνδέεται με τα περισσότερα συστήματα παραγωγής (McGuirk, 1976).

Αυξάνοντας κάθε χρόνο τον αριθμό των απογόνων ανά θηλυκό, τα γενικά έξοδα μπορούν να καλυφθούν από τον μεγαλύτερο αριθμό απογόνων που θα είναι διαθέσιμοι για πώληση (Piper και Bindon, 1979). Κατά συνέπεια έχοντας αυξήσει αυτό τον αριθμό, ταυτόχρονα θα πρέπει να υπάρχει και βελτίωση στην επιστροφή του κεφαλαίου που έχει επενδυθεί. Επιπλέον, ένα υψηλό ποσοστό αναπαραγωγής επιφέρει έναν μεγάλο αριθμό απογόνων διαθέσιμο για επιλογή και αυτό συμβάλει στην επιτάχυνση της γενετικής βελτίωσης σε άλλους παραγωγικούς δείκτες (Van Vleck, 1981, Rae, 1980). Επιπλέον, η βελτίωση της γενετικής δυναμικότητας μπορεί να οδηγήσει στη μείωση του κόστους στους καταναλωτές, διότι όσο περισσότερο παράγει μια εκτροφή, τόσο το κόστος συντήρησης αποτελεί τη μικρότερη μερίδα του προϊόντος (Van Vleck, 1981).

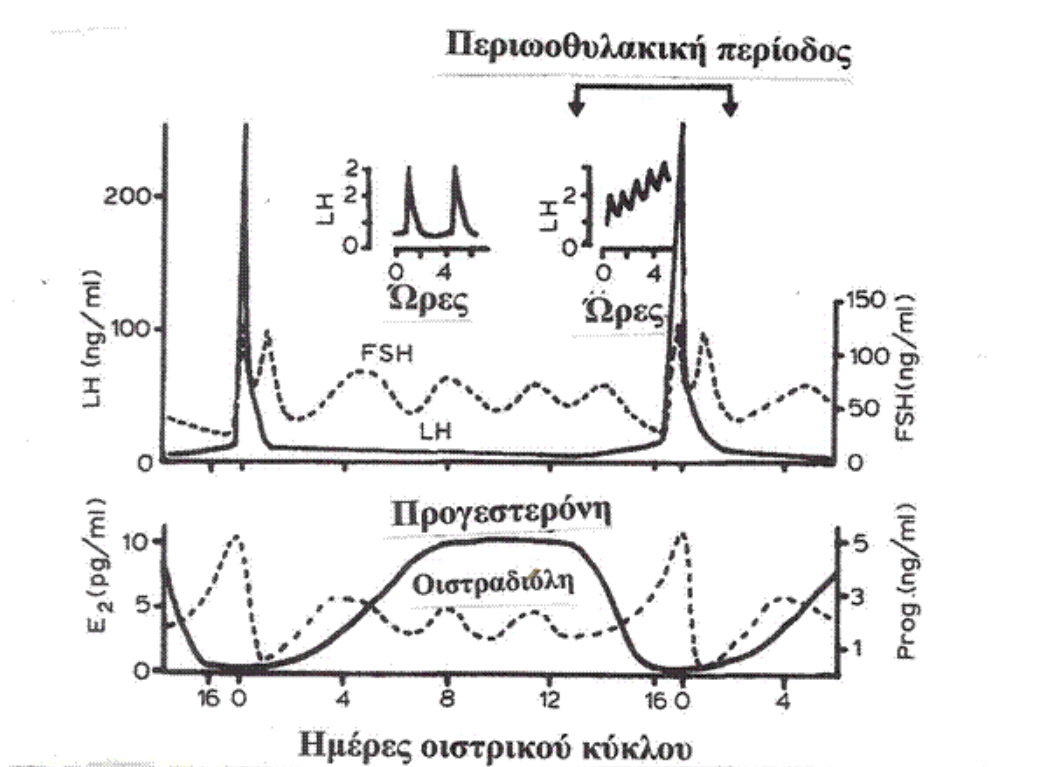
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1. Ενδοκρινολογία του οιστρικού κύκλου και της ωοθυλακιορρηξίας

Ο οιστρικός κύκλος ρυθμίζεται από την αλληλεπίδραση μεταξύ κεντρικού νευρικού συστήματος και ορμονών του υποθαλάμου, του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης και της ωοθήκης. Σε όλη τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης η συγκέντρωση της προγεστερόνης παραμένει σε χαμηλά επίπεδα και αρχίζει να αυξάνεται 2-3 ημέρες μετά από την ωοθυλακιορρηξία, τη στιγμή που ένα νέο ωχρό σωματίο (CL) γίνεται ενεργό. Μια μικρή αύξηση της παρατηρείται τη 5-9η ημέρα, η οποία ακολουθείται από μια απότομη αύξηση τη 10η ημέρα και διατηρείται σε εκείνο το επίπεδο μέχρι τη 14-16η ημέρα (Thornburn και συν., 1969, McNatty και συν., 1973, Pant και συν., 1977, Scaramuzzi et al, 1993). Στο μέσο της ωχρινικής φάσης, η υψηλή συγκέντρωση της προγεστερόνης και η χαμηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης έχουν μια συνεργική επίδραση στην "επεισοδιακή" έκκριση της ωχρινοποιητικής ορμόνης (LH). Αυτό αποτρέπει οποιαδήποτε θετική παλίνδρομη αντίδραση της LH, και κατά συνέπεια αποτρέπεται η "προ-ωοθυλακιορρηκτική" έκκριση των γοναδοτροπινών. Τα επίπεδα της προγεστερόνης σημειώνουν μια απότομη μείωση μετά την 17^η ημέρα αμέσως πριν από την έναρξη του επόμενου οιστρικού κύκλου. Αυτή η μείωση συνδέεται με την εκφύλιση του ωχρού σωματίου που προκαλείται από την απελευθέρωση της προσταγλανδίνης από τη μήτρα (Smith, 1982). Έχει ως αποτέλεσμα την εξάλειψη της συνεργιστικής επίδρασης της προγεστερόνης και των οιστρογόνων και επιτρέπει την αύξηση της «επεισοδιακής» έκκρισης της LH. Αυτή η φάση οδηγεί στο τελικό στάδιο της ωρίμανσης του ωοθυλακίου και στην συσχετιζόμενη αύξηση της έκκρισης των οιστρογόνων έως την οριακή συγκέντρωση οιστρογόνων που απαιτείται για να παρέχει τη θετική παλίνδρομη αντίδραση ώστε να επιτευχθεί η «προ-ωοθυλακιορρηκτική» έκκριση της LH και της FSH (Haresign, 1985, διάγραμμα 1).

Αυτή η δραματική αύξηση της LH προκαλεί τις δομικές μεταβολές που παρατηρούνται μέσα στο ωοθυλάκιο και καταλήγει τελικά στη ρήξη του ωοθυλακίου, την απομάκρυνση του ωαρίου και τον σχηματισμό του ωχρού σωματίου. Στην περίπτωση που δεν έχουμε σύλληψη, τότε το ωχρό σωματίο θα παλινδρομήσει μέχρι το τέλος του κύκλου, 2-3 μέρες πριν πραγματοποιηθεί ο επόμενος οιστρικός κύκλος (Haresign, 1983, Baird και McNeilly, 1981).

Η διάρκεια του οιστρικού κύκλου είναι 17 ημέρες (Maxwell και Evans, 1987), με τον οίστρο να διαρκεί περίπου 24 ώρες (4-72 ώρες) (Smith, 1982). Στις ενήλικες προβατίνες διαρκεί τουλάχιστον 30 ώρες με κάποιες διαφοροποιήσεις ανάλογα με τη φυλή (Robertson, 1977, Thimonier, 1979), την ηλικία, την πολυδυμία (Doney και Gunn, 1981) και τον βαθμό επαφής με τον κριό (Smith, 1982).



Διάγραμμα 1. Διάγραμμα του προτύπου των αλλαγών των συγκεντρώσεων των ορμονών στο περιφερειακό αίμα κατά τη διάρκεια του οιστρικού κύκλου της προβατίνας (Πηγή: Haresign, 1985).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1. Ορμονικός συγχρονισμός του οίστρου και της ωοθυλακιορρηξίας

Στην οιστρική, καθώς και στη μη οιστρική περίοδο, ο οιστρικός κύκλος απαιτεί την συνεργασία του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-γονάδες και περιλαμβάνει θετικές και αρνητικές παλίνδρομες αντιδράσεις (Haresign et al, 1983). Κατά την διάρκεια της οιστρικής περιόδου, ο συγχρονισμός του οιστρικού κύκλου επιτυγχάνεται είτε με τη λύση του ωχρού σωματίου (χρησιμοποιώντας προσταγλανδίνη), είτε παρεμποδίζοντας την εξέλιξη του οιστρικού κύκλου στην ωχρινική φάση (χρησιμοποιώντας προγεστερόνη). Η πρώτη μέθοδος απαιτεί η προβατίνα να έχει ενεργό ωχρό σωματίο που θα υποστεί σύντομα μετά την ωοθυλακιορρηξία λύση. Η προσταγλανδίνη θα πρέπει να χορηγείται σε δύο δόσεις, μεταξύ της 4^η και 14^η ημέρας του κύκλου και σε διάστημα 8-9 ημερών της πρώτης από τη δεύτερη. Δυο ημέρες μετά την έγχυση οι προβατίνες θα εκδηλώσουν συγχρονισμένο οίστρο (Hunter, 1982). Η χορήγηση δύο δόσεων 20 mg PGF_{2a} σε διάστημα 11 ημερών η πρώτη από τη δεύτερη, οδήγησαν σε επίπεδα συγχρονισμού και γονιμότητας συγκρίσιμα με αυτά που παρατηρήθηκαν με τη χρήση των προγεσταγόνων (Beck et al, 1987). Επίσης, συγχρονισμός οίστρου μπορεί να επιτευχθεί και με τη χορήγηση μιας απλής δόσης 20 mg PGF_{2a}. Παρόλα αυτά, η χρήση PGF_{2a} έναντι της προγεστερόνης, είναι περιορισμένη λόγω της εφαρμογής της μόνο σε προβατίνες που βρίσκονται στην οιστρική περίοδο (Cognie και Mauleon, 1983) και είναι λιγότερο αποτελεσματική (Henderson et al, 1984).

Η δεύτερη μέθοδος για συγχρονισμό περιλαμβάνει την χορήγηση προγεστερόνης με έγχυση, *per os*, με υποδόριο εμφύτευμα ή με ενδοκολπική εφαρμογή χρησιμοποιώντας σπόγγους πολουρεθάνης ή ενδοκολπικά σπειράματα (CIDR). Καταρχήν, αυτές οι τεχνικές έχουν μια παρόμοια δράση, δηλαδή την επιμήκυνση της περιόδου έκκρισης της προγεστερόνης. Με άλλα λόγια προκαλούν παράταση της ωχρινικής φάσης πιέζοντας την ανάπτυξη των ωοθυλακίων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη βοήθεια ενδοκολπικών σπόγγων που περιέχουν 30 mg οξικής φλουγεστόνης (FGA), ή 60 mg οξικής μεδροξυπρογεστερόνης (MAP) για 12 έως 14 ημέρες. Στις άνοιστρες προβατίνες για την πρόκληση της ωοθυλακιορρηξίας χορηγείται συνήθως η eCG είτε 48 ώρες πριν την απομάκρυνση των σπόγγων, η την ημέρα της απομάκρυνσης τους (Haresign, 1978).

Η ανάπτυξη των ενδοκολπικών σπειραμάτων (CIDR) εκτός από τα καλά αποτελέσματα που είχε στη γονιμότητα (Welch et al, 1984, Maxwell et al, 1986, McMillan, 1986), είχε και άλλα πλεονεκτήματα. Στις προβατίνες, στην οιστρική περίοδο η τοποθέτηση ενδοκολπικών σπειραμάτων (CIDR) σε σύγκριση με τους σπόγγους α) δεν απορροφά την τραχηλική βλέννα και έτσι δεν ξηραίνεται ο βλεννογόνος του κόλπου β) είναι πιο εύχρηστα γ) τα χαρακτηριστικά της απελευθέρωσης της προγεστερόνης είναι δυνατόν να καταγραφούν διότι η προγεστερόνη που περιέχουν είναι φυσική και δ) τα ποσοστά οχειών και πολυδυμίας είναι υψηλά (Carlson et al, 1989). Επιπλέον, παραμένουν στον κόλπο για όλο το διάστημα εφαρμογής του προγράμματος (Hamra et al, 1986). Η ανταπόκριση στην αγωγή με ενδοκολπικά σπειράματα (CIDR) ποικίλει αναλόγως με τη θρεπτική κατάσταση των προβατινών.

Σε ωοθηκεκτομημένες προβατίνες παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση της προγεστερόνης στο πλάσμα του αίματος σε διάστημα 3 ημερών μετά την τοποθέτηση των σπειραμάτων έφτασε στα 2.8 ng/ml και σταδιακά μειώθηκε στα 0.3 ng/ml την 3^η ημέρα, σε σύγκριση με τις προβατίνες που βρίσκονταν στην οιστρική περίοδο όπου η συγκέντρωση της προγεστερόνης στο πλάσμα του αίματος έφθασε στα 4.5 ng/ml σε 3 ημέρες μετά την τοποθέτηση των σπειραμάτων (Carlson et al, 1989). Αυτό συμβαίνει ως αποτέλεσμα και της συνεργασίας της προγεστερόνης του ωχρού σωματίου. Η εξωγενής προγεστερόνη έχει τη δυνατότητα να σταματήσει τον οίστρο και την ωοθυλακιόρρηξια για 27 με 31 ημέρες μετά την εισαγωγή του ενδοκολπικού σπειράματος (CIDR) και στη συνέχεια η ωοθυλακιόρρηξια πραγματοποιείται χωρίς οίστρο. Ο οίστρος χωρίς ωοθυλακιόρρηξια πραγματοποιείται από την 38^η ημέρα μέχρι την 45^η από την τοποθέτηση των CIDR. Μετά την 12^η ημέρα του προγράμματος, παρατηρήθηκε ότι το 91% των προβατινών οχεύθηκαν και από αυτές το 67% γέννησαν, με τους τοκετούς να ομαδοποιούνται εντός διαστήματος 5 ημερών βάσει της καταγραφής των οχειών (Carlson et al, 1989). Οι προβατίνες που έχουν μεγάλο σωματικό βάρος έχει διαπιστωθεί ότι προσλαμβάνουν μεγαλύτερη ποσότητα τροφής και εμφανίζουν συμπτώματα οίστρου νωρίτερα σε σύγκριση με εκείνες που έχουν μικρό σωματικό βάρος και προσλαμβάνουν μικρότερη ποσότητα τροφής (Welch et al, 1984). Κατά την διάρκεια της οιστρικής περιόδου η γονιμότητα από τη χρήση του CIDR και άλλων αναλόγων της προγεστερόνης ποικίλει. Στις προβατίνες που χορηγήθηκαν ενδοκολπικά σπειράματα (CIDR) εκδήλωσαν συμπτώματα οίστρου νωρίτερα και ήταν πιο έντονα σε σύγκριση με τις

προβατίνες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν ενδοκολπικοί σπόγγοι MAP (Rhodes και Nathanielz, 1988).

Προβατίνες στις οποίες τοποθετήθηκαν τα ενδοκολπικά σπειράματα (CIDR) διαπιστώθηκε ότι εκδήλωσαν συμπτώματα οίστρου νωρίτερα από ότι εκείνες στις οποίες τοποθετήθηκαν ενδοκολπικοί σπόγγοι MAP και FGA (30 ώρες έναντι 42 και 40 ώρες αντίστοιχα). Στα ίδια ζώα εμφανίστηκαν νωρίτερα τόσο η έναρξη του κύματος της LH (31 ώρες έναντι 46 και 46 ώρες αντίστοιχα) όσο και η ωοθυλακιορρηξία (59 ώρες έναντι 69 και 71 ώρες αντίστοιχα) σε σύγκριση με εκείνα στα οποία τοποθετήθηκαν ενδοκολπικοί σπόγγοι MAP και FGA (Shackell, 1991). Αντίθετα, οι Maxwell και Barnes (1986) διαπίστωσαν ότι δεν υπήρξε καμία διαφορά στα διαστήματα εκδήλωσης του οίστρου μεταξύ των προβατίνων στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν ενδοκολπικά σπειράματα που περιείχαν 9% προγεστερόνης και σε εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν ενδοκολπικοί σπόγγοι που περιείχαν 30 mg χρονονόνης (Cronolone). Σε άλλη έρευνα όπου χρησιμοποιήθηκε πρωτόκολλο συγχρονισμού του οίστρου με ενδοκολπικά σπειράματα (CIDR) γέννησε το 80% των θηλυκών, ποσοστό κατά 10% μεγαλύτερο σε σύγκριση με τη χρήση ενδοκολπικών σπόγγων MAP ή FGA (Hamra et al, 1986).

Προηγούμενες μελέτες αποδίδουν τη χαμηλή γονιμότητα που παρατηρήθηκε μετά από συγχρονισμό του οίστρου και εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης στη μεταφορά του σπέρματος (Quinlivan και Robinson, 1969, Hawk και Conley, 1972, Robinson, 1973). Αυτό μπορεί να αποφευχθεί είτε οχεύοντας τα ζώα στον επόμενο οίστρο, ή αυξάνοντας τον αριθμό των σπερματοζωαρίων ανά προβατίνα (Allison και Robinson, 1971), ή με την ενδομυϊκή χορήγηση μιας δόσης γοναδοτροπίνης κατά την ημέρα της αφαίρεσης των ενδοκολπικών σπόγγων (Evans και Robinson, 1980).

3.2. Χρόνος της ωοθυλακιορρηξίας

Ο προσδιορισμός του χρόνου της ωοθυλακιορρηξίας είναι κρίσιμο σημείο για την επιτυχία της τεχνητής σπερματέγχυσης και συνδέεται με την έναρξη του οίστρου. Ο ανεπιτυχής χρονικός συγχρονισμός της τεχνητής σπερματέγχυσης και της ωοθυλακιορρηξίας είναι συχνή αιτία μειωμένων ποσοστών γονιμότητας μετά από την τεχνητή σπερματέγχυση (Evans, 1988). Για παράδειγμα, σε προβατίνες φυλής Μερινός, η ωοθυλακιορρηξία συνήθως επέρχεται 25-30 ώρες μετά την εμφάνιση του οίστρου (Evans και Maxwell, 1987), ή 24 ώρες

μετά την έναρξη της «προ-ωοθυλακιορρηκτικής» συνέργιας της LH (Cumming et al, 1973). Παρόλο που ο οίστρος και η ωοθυλακιορρηξία μπορεί να προβλεφθούν μεταξύ μιας ομοιογενούς ομάδας που έγινε συγχρονισμός των οίστρων (Robinson et al, 1987, Evans και Robinson, 1980), εντούτοις έχει διαπιστωθεί μεγάλη διακύμανση στην έναρξη εκδήλωσης των συμπτωμάτων του οίστρου (Smith et al, 1987).

3.2.1. *Η φυλή*

Οι συγκρίσεις των φυλών και των γονοτύπων υψηλού και χαμηλού δείκτη πολυδυμίας αναδεικνύουν τη σταθερή έναρξη του οίστρου, με τις προβατίνες που έχουν αυξημένους δείκτες ωοθυλακιορρηξίας να παρουσιάζουν ένα σημαντικό μακροχρόνιο διάστημα διαφοροποίησης της στιγμής της «προ-ωοθυλακιορρηκτικής» έκκρισης της LH σε σύγκριση με τις προβατίνες που έχουν χαμηλό δείκτη ωοθυλακιορρηξίας (Quirke et al, 1979, Cahill et al, 1981).

3.2.2. *Η εποχή*

Οι Evans και Robinson, (1980) αναφέρουν ότι δεν παρατήρησαν καμιά διαφορά στη συγκέντρωση της προγεστερόνης μεταξύ των προβατίνων σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα του έτους αλλά η κορύφωση της συγκέντρωσης της 17-β οιστραδιόλης ήταν αισθητά χαμηλότερη κατά τη διάρκεια της άνοιξης σε σύγκριση με το φθινόπωρο. Επίσης, αναφέρουν ότι μετά την εξαγωγή των σπόγγων και τη χορήγηση 400 ΔΜ eCG ο μέσος χρόνος έναρξης του οίστρου κυμαίνονταν στις 43,2 ωρών (διακύμανση: 30-46 ώρες). Ο συγχρονισμός των προβατίνων στη διάρκεια της οιστρικής περιόδου είχε ως αποτέλεσμα ο οίστρος να διαρκεί 35 ώρες έναντι των 29 ωρών στις προβατίνες που συγχρονίστηκαν στη διάρκεια της άνοιξης περιόδου (Boschoft et al, 1973).

3.2.3. *Η επίδραση του κριού*

Η επίδραση του κριού στην περίπτωση της έναρξης της οιστρικής περιόδου παίζει σημαντικό ρόλο ως εξωτερικός παράγοντας. Η παρουσία του αρσενικού επιταχύνει την έκκριση της LH, με αποτέλεσμα η ωοθυλακιορρηξία να εμφανίζεται 6-8 ώρες νωρίτερα και έτσι μειώνεται η διάρκεια των οχειών, σε σύγκριση με εκείνες τις προβατίνες στις οποίες δεν χρησιμοποιήθηκε η παρουσία του αρσενικού (55,8 ώρες και 59,7 ώρες, αντίστοιχα) (Signoret και Cognie, 1975).

3.2.4. Η ηλικία

Σε μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν ζυγούρες και ενήλικες προβατίνες διαπιστώθηκε ότι το διάστημα μεταξύ της αφαίρεσης των σπόγγων και της έναρξης του οίστρου ήταν μικρότερο στις ενήλικες προβατίνες έναντι των ζυγουριών. Επίσης, στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι στις ενήλικες το διάστημα μεταξύ της έναρξης του οίστρου και της έναρξης της έκκρισης της LH ήταν μεγαλύτερο σε σχέση με τις ζυγούρες (Quirke et al, 1981). Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι από την έναρξη της έκκρισης της LH για να επέλθει η ρήξη του ωοθυλακίου απαιτούνται 12 με 16 ώρες και η ωοθυλακιορρηξία συνήθως επέρχεται στο τέλος του οίστρου (Quirke et al, 1981, Cumming et al, 1973).

3.2.5. Ορμονική αγωγή

Ο χρόνος της ωοθυλακιορρηξίας ποικίλλει ανάλογα με το είδος της αγωγής που θα υποβληθούν τα ζώα. Ο συνδυασμός χορήγησης 400 Δ.Μ ορού γοναδοτροπίνης έγκυας φοράδας (eCG) και 12 mg FSH-P σε προβατίνες είχε ως αποτέλεσμα την πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας μεταξύ 42 και 52 ωρών μετά από την αφαίρεση των σπόγγων (Ryan et al, 1992). Σε άλλη μελέτη που έγινε αναφέρεται ότι η ωοθυλακιορρηξία προκλήθηκε 60 ώρες μετά την έγχυση της FSH-P ή 54 με 60 ώρες μετά την έγχυση 200 Δ.Μ. eCG (Walker et al, 1986). Επίσης, η χορήγηση 22,5 mg FSH-P καθημερινά δύο φορές την ημέρα προκάλεσε ωοθυλακιορρηξία 60 ώρες μετά την αφαίρεση των σπόγγων (Evans et al, 1984).

Έχει καταβληθεί προσπάθεια να τροποποιηθεί ο χρόνος εκδήλωσης της ωοθυλακιορρηξίας χρησιμοποιώντας απελευθερωτική ορμόνη των γοναδοτροπινών (GnRH). Κάποιοι ερευνητές αναφέρουν ότι δεν παρατήρησαν καμία προφανή επίδραση στο χρόνο εκδήλωσης της ωοθυλακιορρηξίας την άνοιξη αλλά το φθινόπωρο (Ryan et al, 1992). Σε άλλη έρευνα που έγινε και χορηγήθηκαν 6,25 μg GnRH για κάθε προβατίνα 24 και 36 ώρες μετά την απομάκρυνση των σπόγγων διαπίστωσαν ότι συγχρόνισε το χρόνο πρόκλησης της ωοθυλακιορρηξίας (Walker et al, 1989).

Στις προβατίνες που βρίσκονται στην οιστρική περίοδο, ο έλεγχος του συγχρονισμού έκκρισης της LH και της ωοθυλακιορρηξίας μπορεί να επιτευχθεί με τη χορήγηση είτε προσταγλανδινών με αποτέλεσμα τη λύση του ωχρού σωματίου, είτε σύνθετων αναλόγων

της μετά την 4-5 ημέρα του κύκλου ή επιμηκύνοντας την ωχρινική φάση τεχνητά χορηγώντας εξωγενή προγεστερόνη ή προγεσταγόνα (Thimonier, 1979).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4.1. Ορμονικά πρότυπα κατά την διάρκεια του οιστρικού κύκλου της προβατίνας

Ο οιστρικός κύκλος συνδέεται με μια σειρά από αλληλένδετα ενδοκρινολογικά γεγονότα που ρυθμίζονται από τον υποθάλαμο ο οποίος εκκρίνει τον παράγοντα GnRH, την υπόφυση που εκκρίνει την ωοθυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH), την ωχρινοτρόπο ορμόνη (LH) και την ωκυτοκίνη και τα ώριμα ωοθυλάκια που εκκρίνουν οιστρογόνα και ανασταλτίνη. Το ωχρό σωματίο που εκκρίνει προγεστερόνη και ωκυτοκίνη και το ενδομήτριο που παράγει προσταγλανδίνη (PGF_{2α}) (Scaramuzzi και et al, 1993α,β). Η ανάπτυξη και η ωρίμανση των ωοθυλακίων, η παραγωγή των στεροειδών ορμονών, η ωοθυλακιόρρηξία και ο σχηματισμός του ωχρού σωματίου ελέγχονται πρωτίστως από τις γοναδοτρόπες ορμόνες της υπόφυσης. Ο μηχανισμός της έκκρισης και της βιοδιαθεσιμότητας των γοναδοτρόπων ορμονών εξαρτάται από μια σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ διαφόρων εσωτερικών και εξωτερικών παραγόντων (Rawlings και Bartlewski, 2007). Οι εσωτερικοί παράγοντες περιλαμβάνουν τα τοπικά παραγόμενα αμινοξέα και τις πεπτιδικές/πρωτεϊνικές ορμόνες, τα στεροειδή των ωοθηκών και άλλες ωοθυλακικές ορμόνες όπως είναι η ανασταλτίνη, οι νευροδιαβιβαστές και τα παράγωγα της μήτρας. Οι εξωγενείς παράγοντες περιλαμβάνουν τη φωτοπερίοδο, τις φερορμόνες του αρσενικού, τη διατροφή και την καταπόνηση (stress), όπως είναι γνωστό επηρεάζουν την λειτουργία του άξονα υποθαλάμου- υπόφυσης. Ο συγχρονισμός μπορεί να επιτευχθεί άμεσα επηρεάζοντας την έκκριση της GnRH, ή έμμεσα αυξάνοντας την ανταπόκριση της υπόφυσης στην GnRH ή της ευαισθησίας των ωοθηκών στις γοναδοτρόπες ορμόνες, την τοπική ροή του αίματος, ή την αντίρροπη ανταλλαγή των ορμονών μεταξύ λεμφικών και αιμοφόρων αγγείων.

4.1.1. Έκκριση των γοναδοτρόπων ορμονών

Η «προ-ωοθυλακιόρρηκτική» έκκριση του παράγοντα GnRH, και στη συνέχεια της FSH και της LH, κορυφώνεται (peak) περίπου 14 ώρες πριν την ωοθυλακιόρρηξία (Baird, 1978, Rawlings et al, 1984). Αυτή η έκκριση των γοναδοτρόπων προκαλείται και διατηρείται από τη μειωμένη έκκριση της προγεστερόνης και την αυξημένη έκκριση της οιστραδιόλης κατά την διάρκεια του τελικού σταδίου του οιστρικού κύκλου. Η έκκριση της LH που

προκαλείται από τον παράγοντα GnRH κυριαρχεί σε όλα τα αναπαραγωγικά στάδια της προβατίνας, συμπεριλαμβανομένης της περιόδου πριν, κατά την διάρκεια και μετά την «προ-ωοθυλακιορρηκτική» συνέργια των γοναδοτρόπων. Μια αύξηση στην συχνότητα και το εύρος της LH προαναγγέλλει την «προ-ωοθυλακιορρηκτική» συνέργια (Rawlings και Cook, 1993).

Η προγεστερόνη και η οιστραδιόλη δρώντας μαζί ορίζουν τη συχνότητα και το εύρος των κυμάτων της LH και της κατά κύματα απελευθέρωσης της LH όπου είναι αντιστρόφως ανάλογη με την κυκλοφορία της προγεστερόνης που κυκλοφορεί κατά την ωχρινική φάση (Bartlewski et al, 2000, Duggavathi et al, 2005β, Barrett et al, 2007). Κατά την διάρκεια του μετοίστρου και του διοίστρου, η μέση και η βασική συγκέντρωση της LH και η συχνότητα των κυμάτων της βαθμιαία μειώνονται, ενώ η διάρκεια και η συχνότητα των εκκρίσεων της FSH αυξάνονται. Το εύρος της LH αυξάνεται στο τέλος της φάσης της ανάπτυξης των μεγαλύτερων ωοθυλακίων στην αρχή της ωχρινικής φάσης, και το εύρος και η διάρκεια της αυξάνονται μια ημέρα μετά την αύξηση της συγκέντρωσης της προγεστερόνης και ανέρχεται πάνω από τα κανονικά επίπεδα. Η μέση και η βασική συγκέντρωση της FSH αυξάνονται με την εμφάνιση των ωοθυλακικών κυμάτων. Η συχνότητα των εκκρίσεων της FSH αυξάνεται κατά τη διάρκεια της φάσης της ανάπτυξης των μεγάλων γρααφιανών ωοθυλακίων στα πρώτα στάδια του διοίστρου, και ο σχηματισμός του ωχρού σωματίου συνδέεται με μια παροδική πτώση στη μέση και βασική συγκέντρωση της FSH και στη συχνότητα των εκκρίσεων της FSH. Η μέση και η βασική συγκέντρωση της LH και η συχνότητα των εκκρίσεων της LH αυξάνονται όταν μειώνεται η συγκέντρωση της προγεστερόνης στο τέλος του οιστρικού κύκλου, και η μέση και η βασική συγκέντρωση της FSH φθάνουν στην κορυφή την ημέρα που εμφανίζεται το ωοθυλακικό κύμα πριν την πτώση της στο ελάχιστο δύο ημέρες μετά την εμφάνιση του τελευταίου ωοθυλακικού κύματος της μεσο-ωοθυλακιορρηκτικής περιόδου. Η έκκριση της LH κατά την διάρκεια της ωχρινικής φάσης του οιστρικού κύκλου των προβάτων απεικονίζει πρωτίστως το στάδιο της ανάπτυξης και την εκκριτική δραστηριότητα του ωχρού σωματίου, και μόνο μια άνοδος στο εύρος των παλμών εκκρίσεων της LH μπορεί να συσχετισθεί με την φάση της ανάπτυξης των ωοθυλακίων στον οιστρικό κύκλο. Αύξηση στη μέση και βασική συγκέντρωση της FSH συνδέεται στενά με τις ημέρες που εμφανίζονται τα ωοθυλακικά κύματα κατά την διάρκεια του οιστρικού κύκλου της προβατίνας, και η συχνότητα των εκκρίσεων της FSH αυξάνεται

κατά την φάση της ανάπτυξης του ωοθυλακίου στη μέση του κύκλου αλλά μειώνεται στην αρχή της έκκρισης της προγεστερόνης από το ωχρό σωματίο. Οι κανονικές διακυμάνσεις στις καθημερινές συγκεντρώσεις της FSH, με περιοδικότητα περίπου τεσσάρων ημερών, εμφανίζονται καθ' όλη τη διάρκεια του οιστρικού κύκλου (Ginther και συν., 1995) και της άνοιστρης περιόδου στις προβατίνες (Bartlewski et al, 1998) και μπορούν να ανιχνευτούν σε ωοθηκεκτομημένες προβατίνες (Duggavathi et al, 2005α).

Το σημαντικότερο χαρακτηριστικό του πρότυπου έκκρισης της FSH κατά τη διάρκεια της προ-ωοθυλακιόρρηκτης περιόδου είναι η εμφάνιση δύο διαδοχικών συνεργιών. Η πρώτη συνέργια συμπίπτει με την προ-ωοθυλακιόρρηκτη συνέργια της LH, και η δεύτερη εμφανίζεται μετά από 20 και 36 ώρες (Baird, 1978). Η δεύτερη συνεργία της FSH είναι μικρότερη σε εύρος αλλά μεγαλύτερη σε διάρκεια (20-24 ώρες) συγκρινόμενη με την προ-ωοθυλακιόρρηκτη συνέργια (11-12 ώρες). Η προ-ωοθυλακιόρρηκτη συνέργια της FSH προηγείται με σχετικά χαμηλά επίπεδα FSH, ενώ η συγκέντρωση της LH, οιστραδιόλης και ανασταλτίνης αυξάνονται. Αυτό προϋποθέτει ότι η προ-ωοθυλακιόρρηκτη συνέργια της FSH προκύπτει από την δράση της GnRH που στο διάστημα αυτό υπερκαλύπτει το ανασταλτικό αποτέλεσμα της απελευθέρωσης της FSH. Η δεύτερη συνέργια της FSH εμφανίζεται μετά την ωοθυλακιόρρηξια, οι οποία ολοκληρώνει αποτελεσματικά των αναστολέων της έκκρισης της FSH (Baird, 1978).

4.2.2. *Εκκριτικοί παράγοντες των στεροειδών των ωοθηκών*

4.2.2.1. *Η έκκριση της οιστραδιόλης και οι επιπτώσεις της στην ανάπτυξη των γρααφιανών ωοθυλακίων*

Κατά την διάρκεια του οιστρικού κύκλου στις προβατίνες, υπάρχουν 3-4 βασικές αυξήσεις στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης (Rawlings και Cook, 1993, Bartlewski et al, 1999α). Η πρώτη αύξηση πραγματοποιείται την επόμενη ημέρα από την έναρξη της ωχρινόλυσης. Η αύξηση αυτή είναι συνυφασμένη με την αύξηση της συχνότητας των παλμών της LH. Η συνεχής αύξηση στην έκκριση της οιστραδιόλης κατά την διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης του οιστρικού κύκλου αντανακλά την αύξηση στους υποδοχείς της LH προ-ωοθυλακιόρρηκτικά ωοθυλάκια. Κατά την διάρκεια της προ-ωοθυλακιόρρηκτης συνεργείας της LH, η συγκέντρωση της προγεστερόνης στο ωοθυλακικό υγρό αυξάνεται, ενώ η συγκέντρωση της οιστραδιόλης μειώνεται στην ελάχιστη τιμή, μέσα σε 16-24 ώρες

από την συνέργια της LH (Rawlings και Cook, 1993). Από τη στιγμή που η συγκέντρωση της LH ξεπεράσει περίπου τα 5 ng/ml, τα μεγαλύτερα ωοθυλάκια δεν είναι πλέον ικανά να αντιδράσουν στην LH και να παράγουν οιστραδιόλη (Rawlings και Cook, 1993). Επόμενες αυξήσεις στην έκκριση της οιστραδιόλης συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης, σε διάστημα από 3-4 ημέρες (Bartlewski et al, 1999a). Στις μη πολυδυμικές φυλές προβάτων, το εύρος των διακυμάνσεων της οιστραδιόλης το οποίο συνδέεται με όλα τα μη ωοθυλακικά κύματα που προκύπτουν κατά την διάρκεια του δίοιστρου, δεν διαφέρει από αυτά που αναπτύσσονται κατά την διάρκεια της αύξησης της οιστραδιόλης στην προ-ωοθυλακιορρηκτική περίοδο (Bartlewski et al, 1999a). Στους πολυδυμικούς γονότυπους, οι ανώτατες τιμές συγκέντρωσης της οιστραδιόλης κατά την διάρκεια της προ-ωοθυλακιορρηκτικής περιόδου είναι τυπικά υψηλότερες σε σύγκριση με αυτές της ωχρινικής φάσης του οιστρικού κύκλου (Bartlewski et al, 1999a).

Στις προβατίνες που βρίσκονται στην οιστρική περίοδο έχει βρεθεί ότι η συγκέντρωση της οιστραδιόλης είναι αντιστρόφως συσχετισμένη με τη συγκέντρωση της FSH (Baird et al, 1991, Mann et al, 1992). Σε μεταγενέστερες μελέτες δεν βρέθηκε η ύπαρξη τέτοιων προσωρινών σχέσεων (Bartlewski et al, 1999^a, Barrett et al, 2006, 2007). Έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγηση υπέρ-φυσιολογικών δόσεων οιστρογόνων κατά την διάρκεια της ωχρινικής φάσης είναι ικανές να αυξήσουν την έκκριση της FSH και να καθυστερήσουν την εμφάνιση των ωοθυλακικών κυμάτων. Στις προβατίνες η αγωγή με εμφυτεύματα οιστραδιόλης, για διάστημα άνω των 20 ημερών κατά τη διάρκεια της οιστρικής περιόδου, είχε σαν αποτέλεσμα τον τριπλασιασμό στη συγκέντρωση της οιστραδιόλης και την καταστολή των ωοθυλακικών κυμάτων μέσω της αναστολής της FSH (Barrett et al, 2006, 2007). Ο διπλασιασμός της συχνότητας (κάθε 2 μέρες) ή του εύρους των φυσιολογικών κορυφών (peaks) της FSH, δεν άλλαξε τα χαρακτηριστικά των ωοθυλακικών κυμάτων που ακολούθησαν (Barrett et al, 2006).

4.2.2.2. Η συγκέντρωση της προγεστερόνης και η σχέση της με την ανάπτυξη του ωχρού σώματος και τη δυναμική των ωοθυλακίων

Στις προβατίνες το πρότυπο των αλλαγών στη συγκέντρωση της προγεστερόνης κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης του οιστρικού κύκλου ήταν ένα από τα πρώτα γεγονότα που περιγράφηκαν με ακρίβεια (Alecocay et al, 1988, Niswender et al, 2000). Τις χαμηλές

συγκεντρώσεις προγεστερόνης αμέσως μετά την ωοθυλακιορρηξία (ημέρα 0) και κατά την διάρκεια του σχηματισμού του ωχρού σωματίου ακολουθεί η αύξηση στη συγκέντρωση μεταξύ της 3^{ης} και 7^{ης} ημέρας, όπου διατηρείται μέχρι την 12^η ημέρα, και στη συνέχεια παρουσιάζει γρήγορη πτώση φθάνοντας στα ελάχιστα επίπεδα στον επόμενο οίστρο και την ωοθυλακιορρηξία (Bartlewski et al, 1999β). Σε ωοθήκες προβατίνων που έχουν συλλεχθεί μετά από σφαγή κατά τη διάρκεια της οιστρικής περιόδου, έχει παρατηρηθεί ότι η συγκέντρωση της προγεστερόνης απεικονίζει τις φυσιολογικές μεταβολές που έχουμε στο ωχρό σωματίο (Arthur et al, 1989). Πρόσφατες μελέτες σε προβατίνες με τη χρήση υπερηχογράφου έχουν αποκαλύψει ότι οι μεταβολές στο μέγεθος του ωχρού σωματίου συσχετίζονται με τις συγκεντρώσεις της προγεστερόνης μόνο κατά την διάρκεια του σχηματισμού και της ωχρινόλυσης του ωχρού σωματίου (Bartlewski et al, 1999β; Duggavathi et al, 2003α, Davies et al, 2006).

Το μικρό μέγεθος του ωοθυλακίου πριν την ωοθυλακιορρηξία, έχει παρατηρηθεί στις πολύδυμες φυλές προβάτων, ότι συνδέεται με το σχηματισμό μικρότερου μεγέθους ωχρού σωματίου (Henderson et al, 1988). Οι πολύδυμες φυλές προβατίνων έχει βρεθεί ότι παράγουν περισσότερα αλλά μικρότερα ωχρά σωματίδια σε σύγκριση με τις λιγότερα πολύδυμες φυλές (Bartlewski et al, 1999β). Συνεπώς, οι μη πολύδυμες φυλές προβάτων μπορούν να παράγουν περισσότερη προγεστερόνη κατά την διάρκεια του μέτοιστρου και του δίοιστρου σε σύγκριση με τις πολύδυμες. Αν και υπάρχει μια αντίστροφη σχέση μεταξύ του αριθμού και της έντασης των ωχρών σωματίων, το ωχρό σωματίο καθεαυτού μπορεί να έχει ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη των ωχρών σωματίων που συνυπάρχουν (Bartlewski et al, 1999β). Στην προβατίνα κατά την διάρκεια της ανάπτυξης του ωχρού σωματίου, ο όγκος του ωχρινικού ιστού αυξάνεται περισσότερο από ότι η συγκέντρωση της προγεστερόνης. Αντιθέτως, κατά την διάρκεια της ωχρινόλυσης, η μείωση του όγκου του ωχρού σωματίου ακολουθεί την ίδια πορεία με εκείνη της προγεστερόνης στις πολύδυμες φυλές προβατίνων σε σύγκριση με τις μη πολύδυμες φυλές προβατίνων, στις οποίες ο όγκος του ωχρού μειώνεται πιο αργά σε συνάρτηση με την έκκριση της προγεστερόνης (Bartlewski et al, 1999β).

Υπάρχει μια απόκλιση στο πρότυπο ανάπτυξης των μεγάλων ωοθυλακίων μεταξύ των πρώτων και των επόμενων κυμάτων του οιστρικού κύκλου, με τα μεγαλύτερα ωοθυλάκια στο πρώτο κύμα να έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από ότι τα επόμενα μη-

ωοθυλακιορρηκτικά και ωοθυλακιορρηκτικά ωοθυλάκια κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης (Bartlewski et al, 1999α). Επιπλέον, στις προβατίνες υπάρχει μια παροδική αύξηση στον αριθμό των μικρών (διαμέτρου 1–3mm) γρααφιανών ωοθυλακίων κατά την έναρξη του πρώτου ωοθυλακικού κύματος του οιστρικού κύκλου, κατά τη διάρκεια της προ-ωοθυλακιορρηκτική περίοδο (Duggavathi et al, 2003β). Αυτές οι αλλαγές τείνουν να είναι πιο έντονες στις μη πολύδυμες φυλές των προβάτων και οφείλονται κυρίως στις μεταβολές της συγκέντρωσης της προγεστερόνης κατά τον οιστρικό κύκλο των προβατινών. Η παρατεταμένη ανάπτυξη ωοθυλακίων πρώιμα στην ωχρινική φάση μπορεί να σχετίζεται με την παρουσία αναπτυσσόμενου ή μη πλήρους λειτουργικού ωχρού σωματίου το οποίο εκκρίνει χαμηλά επίπεδα προγεστερόνης (Bartlewski et al, 1999α, Duggavathi et al, 2003α, Baby και Bartlewski, 2011).

Ο μέσος αριθμός των γρααφιανών ωοθυλακίων (3 mm) που αναπτύσσονται καθημερινά και τα οποία δεν αναπτύσσονταν περισσότερο, παρατηρήθηκε ότι ήταν σημαντικά μειωμένος στις ωοθήκες που έφεραν ωχρό σωματίο (Bartlewski et al, 2001). Η δομή του ωχρού μπορεί να δρα τοπικά και να καταστέλλει την ανάπτυξη των ώριμων ωοθυλακίων διαμέτρου 3-mm, ενώ δεν έχει παρατηρηθεί ανασταλτική επίδραση του ωχρού στην ανάπτυξη ωοθυλακίων μεγαλύτερης διαμέτρου. Επιπλέον, στις προβατίνες κατά την οιστρική περίοδο, η παρουσία ωχρών δεν φαίνεται να επηρεάζει τη διάρκεια ζωής των ωοθυλακίων που η διάμετρός τους είναι $\geq 5\text{mm}$ ούτε τον αριθμό των ωοθυλακιορρηξιών ανά ωοθήκη. Αυτό δείχνει ότι η προγεστερόνη στην ανάπτυξη μεγάλων ωοθυλακίων δρα συστημικά και όχι τοπικά.

Σε μια πρόσφατη μελέτη που διεξήχθη σε προβατίνες διασταυρωμένες Rideau ArcottxPoll Dorset, τα επίπεδα της προγεστερόνης της μέσης ωχρινικής φάσης κατά τη διάρκεια του μετοίστρου συντόμευσε το χρόνο μέχρι την πρώτη προ-ωοθυλακιορρηκτική έκκριση της FSH με αποτέλεσμα την εμφάνιση ενός ακόμη ωοθηκικού κύματος σε σύγκριση με τα ζώα μάρτυρες (Baby και Bartlewski, 2011). Επίσης, κατά την οιστρική περίοδο παρατηρήθηκε ότι προβατίνες που εμφάνιζαν 4 κύματα ωοθυλακίων, είχαν μεγαλύτερη συγκέντρωση προγεστερόνης και χαμηλότερη συγκέντρωση FSH από ότι εκείνες που εμφάνιζαν 3 ωοθηκικά κύματα ανά κύκλο (Bartlewski et al, 2001). Επομένως, φαίνεται πως η προγεστερόνη είναι το βασικό ενδοκρινολογικό σημείο που ελέγχει την περιοδική αύξηση της συγκέντρωσης της FSH και τον αριθμό των ωοθυλακικών κυμάτων στα πρόβατα που βρίσκονται στην οιστρική περίοδο.

Κατά τη διάρκεια της οιστρικής περιόδου έχει βρεθεί ότι δύο μηχανισμοί είναι υπεύθυνοι για τη ρύθμιση του αριθμού και της περιοδικότητας της έκκρισης της FSH από την προγεστερόνη. Αρχικά, ο παράγοντας GnRH διεγείρει τις γοναδοτρόπες ορμόνες της υπόφυσης για να συνθέσουν και να απελευθερώσουν FSH και LH, με την έκκριση της FSH να ευνοείται περισσότερο από ότι εκείνη της LH (Nakayama και Arisaka, 1997). Ως εκ τούτου κάτω από την επίρεια της προγεστερόνης που εκκρίνεται από το ωχρό, η ευαισθησία των γοναδοτρόπων που παράγουν FSH προς τον παράγοντα GnRH μπορεί να αυξηθεί, έχοντας ως αποτέλεσμα την αυξημένη έκκριση FSH από την υπόφυση. Δευτερευόντως, η συγκέντρωση της προγεστερόνης μπορεί να υπαγορεύει το ποσοστό εκκαθάρισης της FSH. Η FSH εκκρίνεται από την υπόφυση σε διαφορετικές μορφές ισομερών (Ulloa-Aguirre et al, 2001). Αναφέρεται ότι ο μηχανισμός με τον οποίο η προγεστερόνη προκαλεί πρώιμα την έκκριση της FSH και την εμφάνιση επιπλέον κυμάτων οφείλεται στο αποτέλεσμα της αναλογίας των ισομερών της FSH. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις προγεστερόνης (εμφανίζονται στις προβατίνες με 4 ωοθυλακικά κύματα ανά κύκλο) μπορούν να αυξήσουν την αναλογία FSH υπέρ των οξικών ισομερών, τα οποία μειώνουν το ποσοστό εκκαθάρισης της FSH, επιτρέποντας τις συγκεντρώσεις της FSH να φθάσουν στα επιθυμητά επίπεδα που απαιτούνται για την πρόιμη εμφάνιση ωοθυλακίων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5.1. Ενδοκρινολογικός έλεγχος και λειτουργία των ωοθηκών κατά την διάρκεια της μεταβατικής περιόδου μεταξύ της άνοιστρης και της οιστρικής περιόδου

Κατά την μεταβατική περίοδο από την οιστρική στην άνοιστρη περίοδο στις προβατίνες, η εμφάνιση των ωοθυλακικών κυμάτων δεν επηρεάζονται παροδικά από την έκκριση της FSH δεδομένου ότι η έκκριση της αποτυγχάνει να προκαλέσει την εμφάνιση ενός ωοθυλακικού κύματος (Bartlewski et al., 1999δ). Επίσης, η μετάβαση στην άνοιστρη περίοδο συνδέεται με τη μείωση της έκκρισης της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης σε σύγκριση με το μέσο της οιστρικής περιόδου (Bartlewski et al, 1999α, 1999δ). Στις προβατίνες η έλλειψη συγχρονισμού μεταξύ της έκκρισης της FSH και της εμφάνισης των ωοθυλακικών κυμάτων, καθώς και τα χαμηλά επίπεδα της οιστραδιόλης που παρατηρούνται κατά την μετάβαση από την οιστρική στην άνοιστρη περίοδο δεν οφείλονται στις μεταβολές της έκκρισης της FSH (Bartlewski et al, 1999δ), αλλά πιθανόν είναι αποτέλεσμα της μειωμένης ευαισθησίας που παρουσιάζουν οι ωοθήκες προς τις γοναδοτρόπες ορμόνες.

Οι προβατίνες πριν από την εκδήλωση της πρώτης ωοθυλακιόρρηξιας της οιστρικής περιόδου, εκδηλώνουν αύξηση στη συγκέντρωση της προγεστερόνης, ενώ σε μερικά ζώα ακόμη δεν μπορεί να ανιχνευτεί καμία δομή ωχρού σωματίου και σε άλλα ζώα παρατηρούνται μόνο ωχρινοποιημένα ωοθυλάκια χωρίς να έχει λάβει χώρα ωοθυλακιόρρηξια (Bartlewski et al, 1999γ). Η αύξηση της συγκέντρωσης της προγεστερόνης πριν από την έναρξη της οιστρικής περιόδου δεν μεταβάλλει το πρότυπο της ανάπτυξης των ωοθυλακικών κυμάτων. Ως εκ τούτου φαίνεται να αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την πρόκληση του οίστρου, τον οποίο συγχρονίζει με το προ-ωοθυλακιόρρηξιακό κύμα της LH και παρεμποδίζει την πρόωρη λύση του ωχρού σωματίου κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης (Beard και Hunter, 1996). Οι διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις της FSH δεν επηρεάζονται από τη διακοπή της άνοιστρης περιόδου και η έκκριση της FSH συνδέεται στενά με τα ωοθυλακικά κύματα (Bartlewski et al, 1999γ). Η έκκριση της οιστραδιόλης εμφανίζεται να επαναφέρεται, σε σύγκριση με τις προβατίνες που βρίσκονται στην άνοιστρη περίοδο, αλλά δεν είναι τελείως συγχρονισμένη με την ανάπτυξη των μεγαλύτερων ωοθυλακικών κυμάτων μέχρι την έναρξη της πρώτης ωχρινικής φάσης της οιστρικής περιόδου (Bartlewski et al, 1999γ).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6.1. Μέθοδοι συγχρονισμού οίστρου

6.1.1. Ορμονικές μέθοδοι συγχρονισμού οίστρου

6.1.1.1. Χρησιμοποίηση ενδοκολπικών σπόγγων

Σήμερα είναι ο πιο διαδεδομένος τρόπος. Είναι απλός, εύχρηστος και εφαρμόζεται χωρίς ιδιαίτερα προβλήματα στις προβατίνες σε όλες τις εποχές του έτους.

Η μέθοδος βασίζεται στη χρησιμοποίηση ενδοκολπικών σπόγγων από πολυουρεθάνη, οι οποίοι είναι εμποτισμένοι ομοιόμορφα με προγεσταγόνα. Στο εμπόριο τα πιο συνηθισμένα είδη προγεσταγόνων που κυκλοφορούν είναι: MAP, FGA, CAP, MGA, κ.λπ. και η ποσότητά τους στους σπόγγους κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 30-60 mg ανάλογα με τη δραστικότητα του σκευάσματος.

Στις προβατίνες, στην άνοιστρη περίοδο χρησιμοποιούνται σπόγγοι που περιέχουν 30 mg προγεσταγόνων (FGA), ενώ στην οιστρική περίοδο σπόγγοι που περιέχουν 40 mg προγεσταγόνων.

Στα πρόβατα, οι σπόγγοι παραμένουν στον κόλπο την άνοιστρη περίοδο 10-12 ημέρες και στην οιστρική περίοδο 14 ημέρες από τη στιγμή της τοποθέτησής τους.

Η εξαγωγή των σπόγγων γίνεται στα πρόβατα τη 15η από την τοποθέτηση. Ταυτόχρονα με την εξαγωγή γίνεται ενδομυϊκή έγχυση ορογοναδοτρόπου ορμόνης από έγκυο φοράδα (eCG). Στην οιστρική περίοδο η δόση της eCG για κάθε προβατίνα είναι περίπου 400 IU, ενώ στην άνοιστρη περίοδο είναι 500-600 IU. Οι οίστροι εκδηλώνονται 24-72 ώρες και οι ωοθυλακιορρηξίες επιτυγχάνονται στις 55-70 ώρες μετά την έγχυση της eCG.

Η δόση της eCG πρέπει να προσαρμόζεται ανάλογα με την εποχή του έτους, καθώς επίσης και τη φυλή και τους στόχους της εκτροφής, ώστε να αποφευχθεί η ανεπιθύμητη πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας. Οι φυλές που παρουσιάζουν υψηλό δείκτη πολυδυμίας ή/και χαμηλή εποχικότητα ανταποκρίνονται, γενικώς, εντονότερα στη δράση της eCG και οι δόσεις που απαιτούνται είναι χαμηλότερες

6.1.1.2. Χρησιμοποίηση ενδοκολπικών σπειραμάτων [*controlled internal drug release (CIDR)*]

Αυτά αποτελούνται από σχετικά μαλακό πλαστικό, σχήματος Υ που είναι καλυμμένο με ένα στρώμα σιλικόνης εμποτισμένης με προγεστερόνη. Η τοποθέτηση τους στον κόλπο γίνεται με ειδικό καθετήρα. Η διαδικασία εφαρμογής της μεθόδου δεν διαφέρει από εκείνη των ενδοκολπικών σπόγγων.

6.1.1.3. Χρησιμοποίηση προσταγλανδίνης ($PGF_{2\alpha}$) και συνθετικά ανάλογα

Η χορήγηση φυσικής προσταγλανδίνης ή συνθετικών αναλόγων της προκαλεί ωχρινόλυση και κατά συνέπεια την εμφάνιση νέου οιστρικού κύκλου. Απαραίτητη προϋπόθεση για να δράσει η προσταγλανδίνη είναι η παρουσία ωχρού σωματίου στην ωθήκη (Μπελιμπασάκη και Λυμπερόπουλος, 2005).

Στην πράξη όμως δεν είναι δυνατό να γνωρίζουμε σε ποιά φάση του οιστρικού κύκλου βρίσκονται οι προβατίνες, γι' αυτό και έχει υιοθετηθεί η εφαρμογή δύο ενδομυϊκών εγχύσεων σε διάστημα 10-11 ημερών από την 1^η έγχυση σε όλες τις προβατίνες. Με αυτόν τον τρόπο η δεύτερη ενδομυϊκή έγχυση προσταγλανδίνης συμπίπτει οπωσδήποτε με την ωχρική φάση όλων των προβατίνων. Στις προβατίνες η έναρξη του οίστρου γίνεται στις 36-48 ώρες μετά την έγχυση. Στην πράξη παρατηρείται μεγάλη διασπορά στην εμφάνιση των συγχρονισμένων οίστρων που φθάνει μέχρι 7-8 ημέρες μετά τη δεύτερη έγχυση (Μπελιμπασάκη και Λυμπερόπουλος, 2005).

Η μέθοδος αυτή δεν είναι πολύ διαδεδομένη στην πράξη και παρουσιάζει τα παρακάτω **μειονεκτήματα** :

1. Μπορεί να εφαρμοσθεί μόνο κατά την οιστρική περίοδο των προβατίνων, όταν δηλαδή υπάρχει ωθηκική δραστηριότητα και ωχρά σωματία. Στην άνοιστρη περίοδο δεν έχει καμία επίδραση.
2. Τα σκευάσματα που κυκλοφορούν στο εμπόριο έχουν μεγάλο κόστος
3. Υπάρχει μεγάλη διασπορά των οίστρων.

6.1.1.4. Χρησιμοποίηση εμφυτευμάτων μελατονίνης

Η μελατονίνη είναι ουσία που εκκρίνεται από την επίφυση καθ' όλη τη διάρκεια της νύχτας, σε όλα τα ζώα και τον άνθρωπο, και σταματά κατά τη διάρκεια της ημέρας. Η δράση

της έχει σχέση με το φαινόμενο του φωτοπεριοδισμού. Αυξάνει όσο αυξάνει και η διάρκεια της νύχτας. Όπως είναι γνωστό, τα πρόβατα και οι αίγες αρχίζουν να εμφανίζουν οίστρους όταν αρχίζει να μειώνεται η διάρκεια του ημερήσιου φωτός (21 Ιουνίου και μετά). Αύξηση της μελατονίνης σημαίνει ενεργοποίηση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-γονάδες, παραγωγή γοναδοτρόπων ορμονών και εμφάνιση οίστρου και ωοθυλακιορρηξίας. (Malraux et al, 1999, Μπελιμπασάκη και Λυμπερόπουλος, 2005).

Η τοποθέτηση των εμφυτευμάτων (μεγέθους κόκκου ρυζιού) γίνεται υποδορίως με ειδικό πιστόλι πίσω από το αυτί και παραμένουν εκεί χωρίς να απομακρυνθούν. Η δραστική ουσία είναι 18 mg και απορροφάται σταδιακά από τον οργανισμό μέσα σε 60 με 70 ημέρες από τη χορήγηση. Οι οίστροι εμφανίζονται μεταξύ της 45ης και 60ης ημέρας από τη χορήγηση. Η μέθοδος εφαρμόζεται με επιτυχία λίγο πριν την έναρξη της οιστρικής περιόδου.

Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει τα παρακάτω **πλεονεκτήματα** :

1. Η εμφάνιση ομαδικών οίστρων στο τέλος της άνοιστρης περιόδου γύρω στο Μάιο με Ιούνιο με πολύ καλά ποσοστά γονιμότητας.
2. Τα πρόβατα που δεν συλλαμβάνουν με τον πρώτο οίστρο εμφανίζουν οίστρο μετά από 17 ημέρες.
3. Ο δείκτης πολυδυμίας είναι ψηλότερος σε σύγκριση με το φυσικό οίστρο.
4. Αποφεύγεται η μεγάλη πολυδυμία που προκαλείται στην περίπτωση που η δόση της eCG δεν έχει υπολογιστεί σωστά, ή δεν είναι επιθυμητή (Μπελιμπασάκη και Λυμπερόπουλος, 2005, Abecia et al, 2012).

6.1.2. Μη ορμονικές μέθοδοι

6.1.2.1. Η επίδραση της παρουσίας του αρσενικού

Κατά την άνοιστρη περίοδο στις προβατίνες ή στις αίγες μπορεί να εκδηλωθεί οίστρος με την εισαγωγή του κριού ή του τράγου, αν προηγουμένως έχουν απομακρυνθεί τα θηλυκά από τους κριούς ή τους τράγους για τουλάχιστον 40 ημέρες. Στην οιστρική περίοδο προκαλείται συγχρονισμός των οίστρων.

Η διαδικασία αυτή έχει ως αποτέλεσμα την έκκριση γοναδοτροπινών και την εκδήλωση ωοθυλακιορρηξίας στις προβατίνες και τις αίγες (Henderson και Robinson, 2000).

Με τη μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται επίσπευση της έναρξης της αναπαραγωγικής περιόδου κατά 3 έως 6 εβδομάδες σχεδόν στο 60-70% των θηλυκών του ποιμνίου, χωρίς

ικανοποιητικά ποσοστά συγχρονισμού οίστρων. Παρά ταύτα, η μέθοδος αυτή δεν έχει καμία αποτελεσματικότητα κατά την εφαρμογή της, στο μέσο της άνοιστρης περιόδου (Henderson και Robinson, 2000).

Κατά την οιστρική περίοδο, η εισαγωγή αρσενικών σε ομάδα θηλυκών, μετά από μία περίοδο απομόνωσης, έχει ως αποτέλεσμα μικρό ποσοστό συγχρονισμού οιστρικών κύκλων και ταυτόχρονη εκδήλωση οίστρων σε μέρος του κοπαδιού (Chemineaou και Cagnie, 1991).

Το βασικότερο πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι το χαμηλό κόστος και η μη χρησιμοποίηση εξωγενών ορμονών ενώ ως βασικό της μειονέκτημα αποτελεί η μειωμένη αποτελεσματικότητά της ως μέθοδος συγχρονισμού οίστρων (Henderson, 1991).

6.1.2.2. Τεχνητή μεταβολή της φωτοπεριόδου

Η εποχή εκδήλωσης οιστρικών κύκλων μπορεί να μεταταθεί με τροποποίηση της φυσικής φωτοπεριόδου, υπό την έκθεση των ζώων σε τεχνητό φωτισμό μειούμενης διάρκειας. Η μέθοδος αυτή απαιτεί τη δημιουργία ειδικών συνθηκών ενσταυλισμού των ζώων (Chemineaou και Malpoux, 1998).

Η μεταβολή αυτή μπορεί να επιτευχθεί αφού ο χώρος παραμονής των ζώων διαμορφωθεί κατάλληλα. Αυτό μπορεί να γίνει ως ακολούθως:

Ο θάλαμος φωτοστεγανοποιείται και στη συνέχεια τοποθετείται ηλεκτρική εγκατάσταση λυχνιών φθορισμού, η λειτουργία των οποίων ρυθμίζεται από έναν ηλεκτρικό χρονοδιακόπτη ανάλογα με τη διάρκεια του ημερήσιου φωτός κατά την οιστρική περίοδο. Δημιουργούνται ατομικές θέσεις ενσταυλισμού με ατομική ταΐστρα και ποτίστρα. Η θερμοκρασία του χώρου θα πρέπει να ελέγχεται καθημερινά με θερμομέτρο ελάχιστης και μέγιστης θερμοκρασίας και να παραμένει σχετικά σταθερή.

6.1.2.3. Χορήγηση ενισχυμένου σιτηρεσίου (*flushing*)

Η χορήγηση ενισχυμένου σιτηρεσίου (*flushing*) χρησιμοποιείται σε συνδυασμό είτε με την «επίδραση του αρσενικού» ή με το συγχρονισμό του οίστρου με ενδοκολπικούς σπόγγους.

Στην πρώτη περίπτωση τα αρσενικά απομακρύνονται για 40 ημέρες από το κοπάδι και 20 ημέρες πριν την προγραμματισμένη εισαγωγή των κριών χορηγείται στα ζώα ενισχυμένο σιτηρέσιο. Η ποσότητα του χορηγούμενου μίγματος μπορεί να κυμαίνεται από

600 gr/ζώο/ημέρα μέχρι 1000 gr/ζώο/ημέρα ανάλογα με το σύστημα εκτροφής (Gordon, 1999).

Στη δεύτερη περίπτωση χορηγείται ενισχυμένο σιτηρέσιο όπως και στην προηγούμενη περίπτωση 20 ημέρες πριν την προγραμματισμένη εισαγωγή των σπόγγων και συνεχίζεται μέχρι την εξαγωγή των σπόγγων και τις οχείες (Gordon, 1999).

Σκοπός της εργασίας

Ο βασικός στόχος της έρευνας ήταν η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας της εφαρμογής ενός πρωτοκόλλου συγχρονισμού του οίστρου, που βασίζεται στη χρήση ενός αναλόγου της GnRH σε συνδυασμό με τη προσταγλανδίνη PGF_{2α} (Ovnsynch) και η σύγκρισή του με το κλασικό πρωτόκολλο ενδοκολπικών σπόγγων προγεσταγόνων σε συνδυασμό με eCG, σε προβατίνες υψηλής γαλακτοπαραγωγής κατά την οιστρική περίοδο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

7.1. Υλικά και Μέθοδοι

7.1.1. Εκτροφή

Η διεξαγωγή του πειράματος, πραγματοποιήθηκε στη περιοχή Κόνιτσας του νομού Ιωαννίνων (γεωγραφικό πλάτος 40° 20' N/ 629 m υψόμετρο). Ο πειραματισμός διεξήχθη σε προβατοτροφική εκμετάλλευση δυναμικότητας 700 προβατίνων φυλής Lacaune, υπό εντατικό σύστημα εκτροφής και η οποία ανήκει στον κ. Δημήτριο Καρακατσάνη. Το πείραμα έλαβε χώρα στις αρχές Σεπτεμβρίου 2016 και διήρκησε μέχρι τις αρχές Νοεμβρίου

7.1.2. Ενσταβλισμός και διατροφή

Όλα τα ζώα ενσταβλίζονταν σε υπό εντατικό σύστημα εκτροφής σε ομάδες.

Για τη διατροφή των ζώων, χρησιμοποιήθηκαν σανός μηδικής, άχυρο κριθαριού και ενσίρωση καλαμποκιού ως χονδροειδείς ζωοτροφές, σε συνδυασμό με μίγμα συμπυκνώματος του εμπορίου υπό μορφή σύμψηκτων (pellets) και πλακών λήξεως (ιχνοστοιχείων /βιταμινών). Στους πίνακες 1,2 και 3 παρουσιάζεται η εκατοστιαία ανάλυση της σύστασης και της χημικής σύστασης του συμπυκνώματος γαλακτοπαραγωγής, καθώς και οι ποσότητες των πρόσθετων υλών, ανά κιλό μίγματος συμπυκνώματος. Στα ζώα παρέχονταν άφθονο και πολύ καλής ποιότητας νερό. Η μέση ημερήσια ποσότητα που χορηγούνταν σε κάθε προβατίνα αποτελούνταν από 1,2 kg μίγμα συμπυκνώματος 1,5 kg σανού μηδικής, 0,3 kg άχυρο κριθαριού και 2 kg ενσίρωση καλαμποκιού.

Πίνακας 1.: Σύσταση (%) του μίγματος γαλακτοπαραγωγής

Σύσταση μίγματος (%)	
Καλαμπόκι	30
Κριθάρι	16
Τριτικάλε	16
Σόγια	35
Ισορροπιστής 2,5	2,5
Fertisan®	0,5

Πίνακας 2.: Χημική σύσταση (%) του μίγματος γαλακτοπαραγωγής

	Χημική σύσταση (%)	TMR
Ολικές Αζωτούχες Ουσίες	25%	18%
Ολικές Λιπαρές Ουσίες	23,3%	8,2%
NDF	4,5%	36%
Ολική Τέφρα	6,5%	7,7%
Ασβέστιο	6 %	32%
Φώσφορος	5 %	10%

Πίνακας 3.: Σύνθεση πρόσθετων υλών ανά κιλό μίγματος γαλακτοπαραγωγής

	Σύνθεση πρόσθετων υλών	Ημερήσια πρόσληψη
Βιταμίνη Α	10000 IU	12000 IU
Βιταμίνη D3	2000 IU	2400 IU
Βιταμίνη Ε (α-τοκοφερόλη)	100 mg	120 mg
Σίδηρος	50 mg	60 mg
Μαγγάνιο	150 mg	180 mg
Ψευδάργυρος	175 mg	210 mg
Ιώδιο	2,5 mg	3 mg
Κοβάλτιο	0,5 mg	0,6 mg
Σελήνιο	0,95 mg	3 mg

7.1.3. Πειραματικός σχεδιασμός

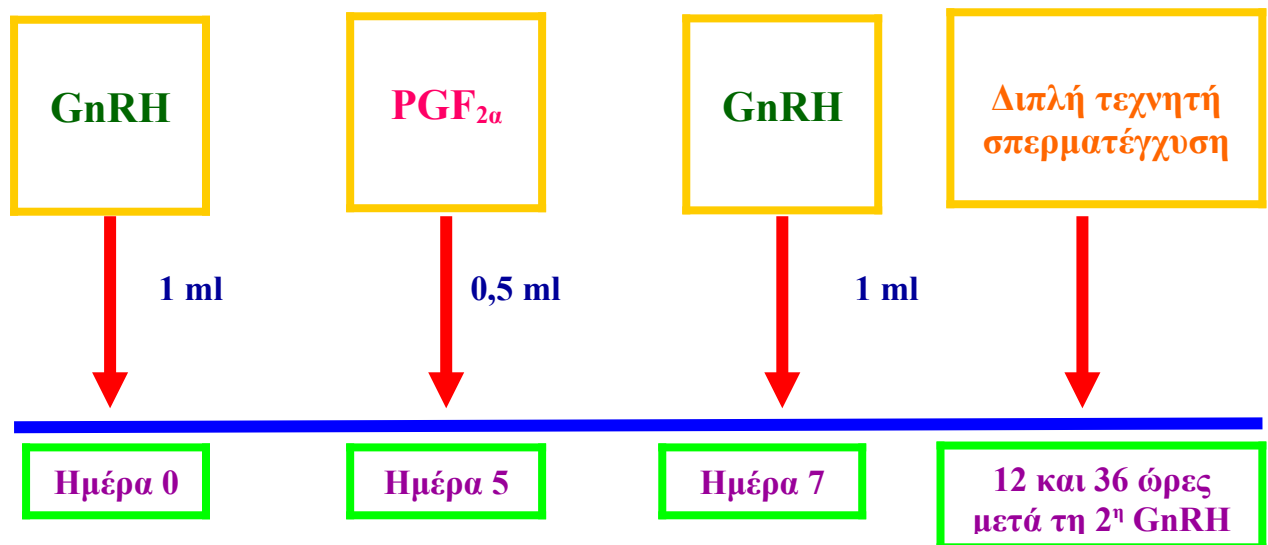
Τα ζώα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ηλικίας από 2 έως 5 ετών, με δείκτη θρεπτικής κατάστασης 3-3,5, με παραγωγή γάλακτος κατά μέσο όρο 2,5 κιλά/ζώο/ημέρα και είχαν όλα πραγματοποιήσει έναν τουλάχιστον τοκετό.

Τα ζώα χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες:

Ομάδα Α (n=38): το πρωτόκολλο συγχρονισμού (σχεδ. 1) περιελάμβανε μια ενδομυϊκή έγχυση 1 ml GnRH (Receptal®, MSD Animal Health, ΗΠΑ) που ακολουθήθηκε από έγχυση 0,5 ml προσταγλανδίνης (Estrumate®, MSD Animal Health, ΗΠΑ) πέντε ημέρες μετά. Σαράντα οκτώ ώρες μετά την έγχυση της προσταγλανδίνης έγινε μια δεύτερη χορήγηση 1 ml GnRH (Receptal®, MSD Animal Health, ΗΠΑ).

Ομάδα Β (n=39): το πρωτόκολλο συγχρονισμού (σχεδ. 1) περιελάμβανε την εισαγωγή ενδοκολπικών σπόγγων εμποτισμένων με 20 mg οξικής φλουγεστόνης, (Chronogest® CR, MSD Animal Health, ΗΠΑ) που παρέμειναν για 14 ημέρες και κατά την εξαγωγή τους χορηγήθηκαν 500 IU eCG (Intergonan®, MSD Animal Health, ΗΠΑ).

ΟΜΑΔΑ Α



ΟΜΑΔΑ Β



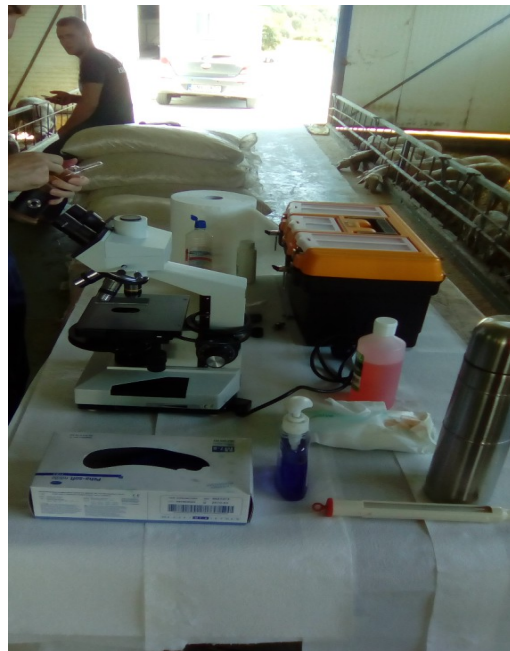
Διάγραμμα 2. Σχεδιαγράμματα των πρωτοκόλλων συγχρονισμού του οίστρου στην Ομάδα Α και στην Ομάδα Β.

7.1.4. Συλλογή και επεξεργασία σπέρματος

Η συλλογή του σπέρματος γινόταν με τη βοήθεια τεχνητού κόλπου. Αμέσως μετά τη συλλογή τα εκσπερματίσματα τοποθετούνταν σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 30° C και διατηρούνταν για 8-10 λεπτά μέχρι να ακολουθήσει η εκτίμηση των ποσοτικών (όγκος) και ποιοτικών χαρακτηριστικών (κινητικότητα, ζωτικότητα, πυκνότητα) του. Ο όγκος του εκσπερματίσματος υπολογιζόταν άμεσα από τη βαθμονομημένη κλίμακα που έφερε το φιαλίδιο συλλογής σπέρματος χωρίς να λαμβάνεται υπόψη η αφρώδης επιφάνεια που μπορεί να είχε δημιουργηθεί στην επιφάνεια του εκσπερματίσματος. Ο προσδιορισμός της πυκνότητας γινόταν με τη βοήθεια προ-βαθμονομημένου φωτόμετρου, μετά από αραιώση 25μl σπέρματος σε 5 μl διαλύματος 0,9% NaCl. Η εκτίμηση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων με προοδευτική κίνηση γινόταν με τη βοήθεια μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x 1000 Leica DMLB 2000, Γερμανία, το οποίο έφερε θερμαινόμενη τράπεζα) μετά από αραιώση 4 μl σπέρματος σε 76 μl ρυθμιστικού διαλύματος TRIS στους 30°C. Η κινητικότητα εκφραζόταν σε ποσοστιαία αναλογία των σπερματοζωαρίων με προοδευτική κίνηση χρησιμοποιώντας κλίμακα από 1-4 (βραδεία έως ταχεία, αντίστοιχα). Στη συνέχεια γινόταν αραιώση μόνο των εκσπερματισμάτων που είχαν πυκνότητα μεγαλύτερη από $2,5 \times 10^9$ σπερματοζωάρια/ml και >80% προοδευτική κίνηση προς τα εμπρός. Ακολουθούσε η αραιώση του εκσπερματίσματος με το σύνθετο αραιωτικό του αποβουτυρωμένου γάλακτος αγελάδας που χρησιμοποιείται για την αραιώση του νοπού σπέρματος των κριών. Η θερμοκρασία μειωνόταν βαθμιαία από τους 30°C στους 15-17°C και στη συνέχεια το αραιωμένο σπέρμα συσκευάζονταν σε πλαστικά σωληνάρια χωρητικότητας 0,25 ml και τα οποία περιείχαν 300×10^6 σπερματοζωάρια.



Φωτογραφία 2. Συλλογή σπέρματος



Φωτογραφία 3. Εξοπλισμός εκτίμησης και επεξεργασίας σπέρματος

7.1.5. Ανίχνευση οίστρου

Για την ανίχνευση του οίστρου χρησιμοποιήθηκε "ανιχνευτής" κριός που έφερε ποδιά. Η εισαγωγή του ανιχνευτή κριού στην ομάδα Β έγινε μετά την απομάκρυνση των σπόγγων και στην ομάδα Α μετά τη δεύτερη χορήγηση της GnRH.



Φωτογραφία 4. Ανίχνευση οίστρου με "ανιχνευτή κριό"

7.1.6. Τεχνητή σπερματέγχυση

Στα ζώα της **ομάδας Α**, σε προκαθορισμένο χρόνο 12 και 36 ώρες μετά τη δεύτερη χορήγηση της GnRH, πραγματοποιήθηκε τεχνητή σπερματέγχυση. Το πλαστικό σωληνάριο τοποθετούνταν στο μεταλλικό καθετήρα σπερματέγχυσης, καλύπτονταν με τον μίας χρήσης επικαλυπτήριο και με τη βοήθεια κολποδιαστολέα που έφερε φωτεινή πηγή το σπέρμα τοποθετούνταν όσο πιο βαθιά γινόταν στο κολπικό στόμιο του τραχήλου. Στη συνέχεια ο κολποδιαστολέας καθαριζόταν και απολυμαινόταν πριν χρησιμοποιηθεί στην επόμενη προβατίνα.

Στα ζώα της **ομάδας Β** μετά την απομάκρυνση των σπόγγων και την έγχυση της eCG πραγματοποιήθηκε διπλή τεχνητή σπερματέγχυση. Η πρώτη και η δεύτερη σπερματέγχυση έγιναν 48 και 72 ώρες αντίστοιχα, μετά την απομάκρυνση των σπόγγων. Το πλαστικό σωληνάριο τοποθετούνταν στο μεταλλικό καθετήρα σπερματέγχυσης και καλύπτονταν με το

μιας χρήσης επικαλυπτήριο και με τη βοήθεια κολποδιαστολέα που έφερε φωτεινή πηγή το σπέρμα τοποθετούνταν όσο πιο βαθιά γινόταν στο κολπικό στόμιο του τραχήλου. Στη συνέχεια ο κολποδιαστολέας καθαριζόταν και απολυμαινόταν πριν χρησιμοποιηθεί στην επόμενη προβατίνα.



Φωτογραφία 5. Εξοπλισμός τεχνητής σπερματέγχυσης



Φωτογραφία 6. Εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης

7.1.7. Εκτίμηση της αναπαραγωγικής ικανότητας

Έγινε καταγραφή των προβατίνων που εκδήλωσαν οίστρο και στις δυο ομάδες. Επίσης, καταγράφηκαν η διάρκεια της εγκυμοσύνης, η ημερομηνία τοκετού καθώς και τα ποσοστά τοκετών. Τέλος, υπολογίστηκε το ποσοστό σύλληψης λαμβάνοντας υπόψη τον αριθμό των προβατίνων που γέννησαν δια του συνολικού αριθμού των προβατίνων που έγινε σπερματέγχυση x 100.

7.1.8. Διάγνωση εγκυμοσύνης

Στα ζώα και των δυο ομάδων πραγματοποιήθηκε πρόωμη διάγνωση της εγκυμοσύνης 42 ημέρες μετά την εφαρμογή της τεχνητής σπερματέγχυσης με τη χρήση υπερηχοτομογράφου (Draminski® Animal Profi 2) εφοδιασμένου με κεφαλή 5 MHz γραμμικής σάρωσης.

7.1.9. Στατιστική ανάλυση

Για τα ποσοστά εκδήλωσης του οίστρου, την έναρξη του οίστρου, τις προβατίνες που γέννησαν, τη διάρκεια των τοκετών, το δείκτη πολυδυμίας και τα ποσοστά γονιμότητας πραγματοποιήθηκε μονοπαραγοντική ανάλυση παραλλακτικότητας με ένα γενικό γραμμικό πρότυπο (binary probit). Για την ανάλυση των δεδομένων του πειράματος χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS version 22.0, SPSS inc. USA.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην ομάδα Α μια προβατίνα απέβαλε και μια πέθανε. Στην ομάδα Β μια προβατίνα απέβαλε και μια προβατίνα πέθανε στο διάστημα μετά την διάγνωση εγκυμοσύνης.

Ανίχνευση οίστρου.

Η ανίχνευση του οίστρου βασίστηκε στην αποδοχή από την προβατίνα της επίβασης από τον κριό «ανιχνευτή». Τα ζώα της ομάδας Α εκδήλωσαν οίστρο περίπου 12 ώρες μετά τη χορήγηση της δεύτερης δόσης της GnRH. Από τις 38 προβατίνες της ομάδας Α, 30 προβατίνες εκδήλωσαν οίστρο, ενώ 8 δεν εκδήλωσαν. Τα ζώα της ομάδας Β (39) εκδήλωσαν οίστρο σε διάστημα 24 ωρών μετά την απομάκρυνση των σπόγγων και τη χορήγηση της eCG. Όλες οι προβατίνες της ομάδας Β διατήρησαν τους ενδοκολπικούς σπόγγους κατά τη διάρκεια της εφαρμογής του πρωτοκόλλου.

Δραστηριότητα του οίστρου μετά το συγχρονισμό και στις δυο ομάδες

Η ανταπόκριση των προβατίνων στα 2 διαφορετικά πρωτόκολλα συγχρονισμού σε ότι αφορά τα ποσοστά εκδήλωσης του οίστρου (%), την έναρξη (h) και τη διάρκεια του οίστρου παρουσιάζεται στον πίνακα 4. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το ποσοστό (78,9 %), των προβατίνων που ανταποκρίθηκαν στο πρωτόκολλο συγχρονισμού OVSYNCH (ομάδα Α) ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερο ($P < 0,01$) σε σύγκριση με το ποσοστό (100%) των προβατίνων που ανταποκρίθηκαν στο πρωτόκολλο συγχρονισμού με ενδοκολπικούς σπόγγους (ομάδα Β). Στις προβατίνες της ομάδας Α τα ζώα εκδήλωσαν συμπτώματα οίστρου περίπου 12 ώρες μετά τη χορήγηση της δεύτερης δόσης της GnRH και διήρκεσε 24 ώρες. Αντιθέτως, οι προβατίνες της ομάδας Β εκδήλωσαν οίστρο περίπου 36 ώρες μετά την απομάκρυνση των σπόγγων και τα συμπτώματα διήρκεσαν περίπου 24 ώρες.

Πίνακας 4: Ποσοστά οίστρου (%), χρόνος (h) και διάρκεια (h) του οίστρου στις προβατίνες της ομάδας Α και Β**.

ΟΜΑΔΑ	n	Ποσοστά εκδήλωσης οίστρου		Έναρξη οίστρου (h)	Διάρκεια οίστρου (h)
		n	%		
A	38	30	78,9 ^α	12 ^α	24
B	39	39	100 ^β	28 ^{ββ}	24

**Οι τιμές στην ίδια στήλη με διαφορετικούς δείκτες διαφέρουν σημαντικά (P<0,01)

Απόδοση σε αμνούς

Στον πίνακα 5 παρατηρούμε ότι ο αριθμός των προβατινών της ομάδας Α που ανταποκρίθηκαν είναι μικρότερος σε σύγκριση με εκείνον της ομάδας Β. Σε ότι αφορά το ποσοστό των ζώων που γέννησαν αν και στην ομάδα Α (47,22 %) είναι χαμηλότερο από ότι στην ομάδα Β (64,86 %) δεν υπήρχε όμως στατιστικά σημαντική διαφορά (P>0,132). Παρόλα αυτά μεταξύ της ομάδας Α (7 ημέρες) και της ομάδας Β (9 ημέρες) παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική διαφορά σε ότι αφορά τη διάρκεια της περιόδου των τοκετών (P<0,01).

Πίνακας 5: Ποσοστά γεννήσεων (%) και περίοδος τοκετών (ημέρες) των προβατινών στις ομάδες μεταχείρισης

ΟΜΑΔΑ	n	Προβατίνες που γέννησαν		Περίοδος τοκετών	
		n	%	Ημερομηνίες (από-έως)	Διάρκεια
A	36	17	47,22 ^α	23/2-1/3	7 ημέρες ^α
B	37	24	64,86 ^α	21/2-1/3	9 ημέρες ^β

^αΤιμές που έχουν τουλάχιστον ένα κοινό γράμμα μέσα στην ίδια στήλη, δεν έχουν σημαντική διαφορά (P>0,132)

^{αβ}Τιμές στην ίδια στήλη με διαφορετικούς δείκτες διαφέρουν σημαντικά (P<0,01)

Δείκτης πολυδυμίας και ποσοστό τοκετών

Τα αποτελέσματα στον πίνακα 6 δείχνουν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του αριθμού των αρνιών που γεννήθηκαν ($P>0,269$) και το ποσοστό γονιμότητας ($P>0,132$) στην ομάδα Α και στην ομάδα Β. Αν και στην ομάδα Α ο αριθμός των αρνιών που γεννήθηκαν είναι μεγαλύτερος σε σύγκριση με εκείνον της ομάδας Β η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική ($P>0,269$). Επίσης το ποσοστό της γονιμότητας στην ομάδα Β είναι υψηλότερο από ότι στην ομάδα Α η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Πίνακας 6: Αριθμός αρνιών και γονιμότητα των προβατίνων στις ομάδες μεταχείρισης

ΟΜΑΔΑ	n	Αρνιά που γεννήθηκαν		Ποσοστό τοκετών (%)
		Αριθμός προβατίνων που γέννησαν	Δείκτης πολυδυμίας	
A	36	17	1,75 ^α	47,22 ^β
B	37	24	1,63 ^α	64,86 ^β

^αΤιμές που έχουν τουλάχιστον ένα κοινό γράμμα μέσα στην ίδια στήλη, δεν έχουν σημαντική διαφορά ($P>0,269$)

^βΤιμές που έχουν τουλάχιστον ένα κοινό γράμμα μέσα στην ίδια στήλη, δεν έχουν σημαντική διαφορά ($P>0,132$)



Φωτογραφία 7. Αμνοί που γεννήθηκαν στα πλαίσια της ερευνητικής εργασίας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή την πειραματική εργασία σχεδιάστηκε για να διευκολύνει την εφαρμογή της τεχνητής σπερματέγχυσης των προβατίνων σε προκαθορισμένο χρόνο και συγκρίθηκε με ένα πρωτόκολλο το οποίο θεωρείται ως βιομηχανικό πρότυπο. Το συγκεκριμένο πρωτόκολλο σχεδιάστηκε για να αξιολογηθεί όχι μόνο εάν θα επέτρεπε την επίτευξη ενός υψηλού ποσοστού προβατίνων να εκδηλώσουν οίστρο, αλλά και την αύξηση των ποσοστών σύλληψης.

Στα μικρά μηρυκαστικά ο συγχρονισμός των οίστρων συνήθως επιτυγχάνεται με τη χρήση των ενδοκοιλιακών σπόγγων σε συνδυασμό με τη χορήγηση της eCG. Αυτό σε μια εκτροφή επιτρέπει την επιτυχή αναπαραγωγή, ανεξάρτητα με την εποχή, με ποσοστά σύλληψης να φθάνουν το 50-60% μετά το συγχρονισμό των οίστρων και την εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης σε προκαθορισμένο χρόνο (Chemineau P, 1991).

Στην παρούσα έρευνα έγινε μια προσπάθεια να διερευνηθεί η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής ενός πρωτοκόλλου συγχρονισμού του οίστρου, που βασίζεται στη χρήση ενός αναλόγου της GnRH σε συνδυασμό με την προσταγλανδίνη PGF_{2α} (OvSynch) και η σύγκρισή του με το κλασσικό πρωτόκολλο ενδοκοιλιακών σπόγγων προγεσταγόνων σε συνδυασμό με eCG, σε προβατίνες υψηλής γαλακτοπαραγωγής κατά την οιστρική περίοδο.

Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η εφαρμογή του πρωτοκόλλου με τη χρήση προγεσταγόνων έδωσε πολύ καλύτερα αποτελέσματα (συνέλαβαν 24 από τα 37 ζώα) σε σχέση με αυτό της συνδυασμένης χορήγησης GnRH και PGF_{2α}, κατά το οποίο ανταποκρίθηκαν 30 ζώα από τα 38 στην ορμονική αγωγή και 17 ζώα κατάφεραν να μείνουν έγκυα και να γεννήσουν. Η εφαρμογή του πρωτοκόλλου χρήσης ενός αναλόγου της GnRH σε συνδυασμό με την προσταγλανδίνη PGF_{2α} (OvSynch) προϋποθέτει την ύπαρξη λειτουργικού ωχρού σωματίου και είναι εφαρμόσιμο μόνο κατά την οιστρική περίοδο.

Στην παρούσα μελέτη, τα ποσοστά (78,9%), των προβατίνων που ανταποκρίθηκαν στο πρωτόκολλο συγχρονισμού OvSynch ήταν χαμηλότερα ($P < 0,01$) σε σύγκριση με εκείνα που αναφέρονται από άλλους ερευνητές. Τα αποτελέσματα μας δεν είναι σε συμφωνία με εκείνα των Ataman και Aköz, (2006) οι οποίοι αναφέρουν ότι το 93,3% των προβατίνων εκδήλωσε συμπτώματα οίστρου μετά την εφαρμογή του συγκεκριμένου πρωτοκόλλου και με το 90,9%

το οποίο παρατήρησαν οι Beck και συν., (1996). Ο Λιάκος, (2014) στα αποτελέσματα της έρευνας του αναφέρει ότι ένα μόνο ζώο (6,6%) εκδήλωσε οίστρο περίπου 12-13 ώρες μετά τη δεύτερη έγχυση GnRH, ενώ το 93,4% των ζώων της συγκεκριμένης ομάδας δεν εκδήλωσε οίστρο. Βέβαια ο πειραματισμός αυτός πραγματοποιήθηκε ενώ τα ζώα βρίσκονταν ακόμη στην άνοιστρη περίοδο.

Η αγωγή των μοσχίδων (Stevenson et al, 1996) και των προβατίνων (Beck et al, (1996) με GnRH που χορηγείται σε τυχαία στάδια του οιστρικού κύκλου ή την ημέρα 3 έως 5 του κύκλου μετά από τη χορήγηση μιας δόσης $PGF_{2\alpha}$ διεγείρει το σχηματισμό ενός νέου ωχρού σωματίου ή δευτερεύοντος ενός ωχρού σωματίου που προκαλεί την ωχρινοποίηση ή στις περισσότερες περιπτώσεις την ωοθυλακιορρηξία του αρχέγονου ωοθυλακίου. Η ανάπτυξη και πάλι των ωοθυλακίων μπορεί να παράγει ένα νέο αρχέγονο ωοθυλάκιο το οποίο θα περιέχει ένα ωάριο και θα έχει μεγαλύτερες πιθανότητες να γονιμοποιηθεί (Mihm et al, 1999) και μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση των ποσοστών βιωσιμότητας των εμβρύων (Ahmad et al, 1995). Η χορήγηση αναλόγων των GnRH 5 ημέρες πριν από τη χορήγηση της $PGF_{2\alpha}$, αύξησε τα ποσοστά σύλληψης (Beck et al, 1996).

Το διάστημα από τη χορήγηση της δεύτερης δόσης μέχρι την εκδήλωση του οίστρου ήταν μικρότερο σε σύγκριση με εκείνο που παρατηρήθηκε στις προβατίνες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν οι ενδοκολπικοί σπόγγοι. Οι GnRH διεγείρουν τη σύνθεση και έκκριση της ωοθυλακιοτρόπου (FSH) και της ωχρινοτρόπου (LH). Ο συνδυασμός της χορήγησης της GnRH σε συνδυασμό με την $PGF_{2\alpha}$ επιτρέπει την ανάπτυξη των γρααφιανών ωοθυλακίων νωρίτερα από ότι η αγωγή με τους ενδοκολπικούς σπόγγους.

Το ποσοστό των ζώων που γέννησαν μετά την αγωγή με το Ovsynch ήταν χαμηλότερο σε σύγκριση με το ποσοστό των προβατίνων που χρησιμοποιήθηκαν οι ενδοκολπικοί σπόγγοι προγεσταγόνων. Το ποσοστό αυτό ήταν υψηλότερο από εκείνο που επιτεύχθηκε από άλλους ερευνητές (43,75%) (Simonetti και συν., 2000). Έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγηση αναλόγων GnRH 5 ημέρες πριν τη χορήγηση $PGF_{2\alpha}$ αύξησε τα ποσοστά σύλληψης (Mihm et al, 1999). Παρόλα αυτά μεταξύ της ομάδας A (7 ημέρες) και της ομάδας B (9 ημέρες) παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική διαφορά σε ότι αφορά τη διάρκεια της περιόδου των τοκετών ($P<0,01$).

Παρά την αξιοσημείωτη μείωση του ποσοστού γονιμότητας στην ομάδα που χρησιμοποιήθηκε το Ovsynch σε σύγκριση με την ομάδα των ενδοκολπικών σπόγγων,

παρατηρήθηκε θετική επίδραση της αγωγής όσον αφορά τη μείωση της περιόδου των τοκετών και την αύξηση του δείκτη πολυδυμίας. Αυτό ήταν αποτέλεσμα του συγχρονισμού των ωοθυλακιορρηξιών και του προκαθορισμένου χρόνου εφαρμογής της τεχνητής σπερματέγχυσης. Τα αποτελέσματα της εργασίας σε ότι αφορά το δείκτη πολυδυμίας είναι σε συμφωνία με το 1,69 και το 1,74 που παρατηρήθηκε και σε άλλες μελέτες (Beck et al, 1996).

Το χαμηλό ποσοστό γονιμότητας αποδίδεται κυρίως σε παράγοντες όπως είναι η φυλή, η κληρονομικότητα, το περιβάλλον, η διαχείριση και η καταλληλότητα για αναπαραγωγική των προβατίνων (Husein και Kridli, 2002). Η ωοθυλακιορρηξία, η γονιμοποίηση και τα ποσοστά των πρώιμων εμβρυϊκών θανάτων είναι επίσης μεταξύ των παραγόντων που επηρεάζουν το μέγεθος της τοκετοομάδας (Beck et al, 1994). Από αυτούς τους παράγοντες, οι εμβρυϊκοί θάνατοι θεωρείται ο μεγαλύτερος περιορισμός της αναπαραγωγικής αποτελεσματικότητας μεταξύ των θηλαστικών και έχει εκτιμηθεί ότι κυμαίνεται μεταξύ 25 και 60% (Roberts et al, 1985). Οι πρώιμοι εμβρυϊκοί θάνατοι συνήθως εμφανίζονται κατά τη διάρκεια των πρώτων 3 εβδομάδων της εγκυμοσύνης, με αποτέλεσμα τα ποσοστά εγκυμοσύνης να κυμαίνονται από 16 έως 76% (Nephew et al, 1994).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η συγκεκριμένη μελέτη απέδειξε ότι η συνδυασμένη χορήγηση των GnRH-PGF_{2α} είναι αποτελεσματική για το συγχρονισμό των οίστρων των προβατίνων με αποδεκτά ποσοστά σύλληψης. Αυτό το πρωτόκολλο παρουσιάζει κάποια πλεονεκτήματα. Ο χρόνος που απαιτείται για τη διαδικασία συγχρονισμού είναι πολύ μικρότερος από ότι στις άλλες μεθόδους, όπως τους ενδοκολπικούς σπόγγους προγεσταγόνων, τα εμφυτεύματα προγεστερόνης ή τις διπλές δόσεις PGF_{2α}. Ως μέθοδος συγχρονισμού είναι λιγότερο επίπονη σε σύγκριση με εκείνη της χρήσης των ενδοκολπικών σπόγγων προγεσταγόνων. Επιπλέον, δεν έχουν παρατηρηθεί παρενέργειες όπως είναι η δυσάρεστη οσμή κατά την εξαγωγή των σπόγγων ή οι χειρουργικές επεμβάσεις που απαιτούνται από την τοποθέτηση των εμφυτευμάτων. Το δε κόστος της μεθόδου είναι κατά πολύ χαμηλότερο σε σύγκριση με εκείνο της χρήσης ενδοκολπικών σπόγγων. Η παρούσα μέθοδος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική μέθοδος συγχρονισμού των οίστρων σε προβατίνες υψηλής γαλακτοπαραγωγής κατά τη διάρκεια της οιστρικής περιόδου είτε με την εφαρμογή φυσικής οχείας ή τεχνητής σπερματέγχυσης σε προκαθορισμένο χρόνο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abecia J.A., Forcada F., Gonzalez-Bulnes A., (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Anim Reprod Sci*, 130:173–179.
- Ahmad N., Schrick F.N., Butcher R.L., Inskoop E.K. (1995). Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol Reprod*, 52:1129-1135.
- Alecozay, A.A., Selcer, K.W., Clark, J.R., Burns, J.M., Norman, R.L., Niswender, G.D., Leavitt, W.W., (1988). Pattern of ovarian progesterone secretion during the luteal phase of the ovine oestrous cycle. *Biol. Reprod.* 39:287–294.
- Allison, A.J. & Robinson, T.J. (1971) Fertility of progestagen-treated ewes in relation to the numbers and concentration of spermatozoa in the insemination. *Aust J Biol Sci*, 24:1001-1008.
- Arthur, G.H., Noakes, D.E., Pearson, H., (1989). Normal reproductive function. In: Saunders, W.B. (Ed.), *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Bailliere Tindall, London, pp. 3–48.
- Ataman M.B. and Aköz M. (2006). GnRH-PGF2 α and PGF2 α -PGF2 α synchronization in Akkaraman cross-breed sheep in the breeding season. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 50:101-104.
- Austin E. J., Mihm M., Ryan M. P., William D. H., Roche J. F. (1999) Effects of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J Anim Sci*, 77:2219-2226.
- Baby, T.E., Bartlewski, P.M., (2011). Progesterone as the driving regulatory force behind serum FSH concentrations and antral follicular growth in cyclic ewes. *Reprod. Fertil. Dev.*, 23:303–310.
- Baird, D.T., (1978). Pulsatile secretion of LH and ovarian oestradiol during the follicular phase of the sheep estrous cycle. *Biol. Reprod*, 18:359–364.
- Baird, D.T. & McNeilly, A.S. (1981) Gonadotrophic control of follicular development and action during the oestrous cycle. *J Reprod Fert*, (Suppl.) 30:1 19- 133.
- Baird, D.T., Campbell, B.K., Mann, G.E., McNeilly, A.S., (1991). Inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J. Reprod. Fertil*, Suppl. 43:125–138.
- Barrett, D.M.W., Bartlewski, P.M., Duggavathi, R., Davies, K.L., Rawlings, N.C., (2006). Suppression of follicle wave emergence in cyclic ewes by supraphysiologic concentrations of estradiol-17 β and induction with a physiologic dose of exogenous ovine follicle-stimulating hormone. *Biol. Reprod*, 75:633–641.

- Barrett, D.M.W., Duggavathi, R., Davies, K.L., Bartlewski, P.M., Bagu, E.T., Rawlings, N.C., (2007). Differential effects of various estradiol-17beta treatments on follicle-stimulating hormone peaks, luteinizing hormone pulses, basal gonadotropin concentrations, and antral follicle and luteal development in cyclic ewes. *Biol. Reprod*, 77:252–262.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Cook, S.J., Rawlings, N.C., (1998). Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J. Reprod. Fertil*, 113:275–285.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Cook, S.J., Chandolia, R.K., Honaramooz, A., Rawlings, N.C., (1999a). Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *J. Reprod Fertil*, 115:111–124.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Rawlings, N.C., (1999b). An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology*, 52:115–130.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Rawlings, N.C., (1999c). Ovarian function in ewes at the onset of the breeding season. *Anim. Reprod. Sci*, . 57:67–88.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Rawlings, N.C., (1999d). Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. *Anim. Reprod. Sci*, 57:51–66.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Rawlings, N.C., (2000). An ultrasoundaided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. *Theriogenology*, 54:229–245.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Rawlings, N.C., (2001). Ultrasonographic study of the effects of the corpus luteum on antral follicular development in unilaterally ovulating Western white-faced ewes. *Anim. Reprod Sci*, 65:231–244.
- Beard, A.P., Hunter, M.G., (1996). Effects of exogenous oxytocin and pro- gesterone on GnRH-induced short luteal phases in anoestrous ewes. *J. Reprod. Fertil*, 106:55–61.
- Beck, N.F.G., Davis, M.C.G., Davis, B. & j.L.(1987). Oestrous synchronization and fertility in ewes: A comparison of three methods. *Anim Prod*, 44:251-254.
- Beck N.F.G., Peters A.R. and Williams S.P. (1994). The effect of GnRH agonist (Buserelin) treatment on day 12 post mating on the reproductive performance of ewes. *Anim. Prod*, 48:243- 247.
- Beck N.F.G., Jones M., Davies B., Peters A.R. and Williams S.P. (1996). Oestrus synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a GnRH agonist (buserelin). *Anim. Sci*, 62:85-87.

- Boschoft , D.A., van Niekerk, C.M. & Morgenthal, J.C.(1973) Time of ovulation in the Karakul ewe following synchronization of oestrus. *South African J Anim Sci*, 3:13-17.
- Cahill, L.P., Saumande, J., Ravault, J.P., Blanc, M., Thimonier, J., Mariana, J. & Mauleon, P. (1981) Hormonal and follicular relationships in ewes of high and low ovulation rates. *J Reprod Fert*, 62:141-150.
- Carlson, K.M., Pohl, H.A., Marcek, J.M., Muser, R.K. & Wheaton, J.E. (1989) Evaluation of progesterone controlled internal drug release dispensers for synchronization of oestrus in sheep. *Anim Reprod Sci*, 18:205 (Abstr.).
- Chemineau P., and Cagnie Y., (1991). Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO Animal Production and Health Paper, No 83.
- Chemineau P. and Malpoux B., (1998). Melatonin and reproduction in domestic farm animals. *Therapie*, 53: 445-452.
- Cognie, Y. & Mauleon, P. (1983) Control of reproduction in the ewe. In: Sheep Production [ed: W. Haresign], Butterworths, London, pp.38 1-392.
- Contreras-Solis, I., Diaz, T., Lopez, G., Caigua, A., Lopez-Sebastian, A., Gonzalez-Bulnes, A., (2008). Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. *Anim. Reprod. Sci*, 104:47–55.
- Cumming, I.A., Buckmaster, J.M., Blockey. M. A. de B., Goding, J.R. & Baxter, R.W. (1973) Constancy of interval between luteinizing hormone release and ovulation in the ewe. *Biol Reprod*, 9: 24.
- Davies, K.L., Bartlewski, P.M., Pierson, R.A., Rawlings, N.C., (2006). Computer-assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: a comparison between breeds of sheep with different ovulation rates. *Anim. Reprod. Sci*, 96:165–175.
- Dickison JW (2010). Effects of GnRH and Prostaglandin Combined with a Short Progestin Regimen on the Synchrony of Estrus and Ovulation in Ewes During the Breeding Season. Dissertation , Texas Tech University
- Duggavathi, R., Bartlewski, P.M., Pierson, R.A., Rawlings, N.C., (2003α). Luteogenesis in cyclic ewes: echotextural, histological and functional correlates. *Biol. Reprod*, 69:634–639.
- Duggavathi, R., Bartlewski, P.M., Barrett, D.M.W., Rawlings, N.C., (2003β). Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. *Theriogenology*, 60:495–510.

- Duggavathi, R., Bartlewski, P.M., Agg, E., Flint, S., Barrett, D.M.W., Rawlings, N.C., (2005α). The effect of the manipulation of FSH-peak characteristics on follicular wave dynamics in sheep: does an ovarian- independent endogenous rhythm in FSH secretion exist? *Biol. Reprod.* 72:1466–1474
- Duggavathi, R., Bartlewski, P.M., Barrett, D.M.W., Rawlings, N.C., (2005β). The temporal relationship between the pattern of LH and FSH secretion and development of ovulatory-sized follicles during the mid- to late luteal phase of sheep. *Theriogenology*, 64:393– 407.
- Evans, G. & Robinson, T.J. (1980) The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to prostagen-PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. *J Agric Sci*, 94: 69-88.
- Evans, G., Holland, M.K., Nottle, H.B., Sharpe, P.H. & Amstrong, D.T.(1984) Production of embryos in sheep using FSH preparations and laparoscopic intra-uterine insemination. In: *Reproduction in Sheep* [eds. D.R. Lindsay & D.T. Pearce], Cambridge University Press, pp.313-315.
- Evans, G.& Maxwell, W.M.C.(1987) Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Butterworths, Sydney, 194 pp.
- Evans, G. (1988). Current topics in artificial insemination of sheep. *Aust J Biol Sci*, 41(1): 103-116.
- Ginther, O.J., Kot, K., Wiltbank, M.C., (1995). Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the oestrous cycle in ewes. *Theriogenology*, 43:689–703.
- Gordon, I. (1999): *Controlled Reproduction in Sheep and Goat*. CAB International, ISBN:0851991157
- Hamra, A.H., Massin, Y.G., Marcek, J.M. & Wheaton, J.E.(1986) Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone controlled internal drug release dispensers, implants and sponges. *Anim Reprod Sci*, 11:187-194.
- Haresign, W. (1978) Ovulation control in the sheep. In: *Control of ovulation* [eds: D.B. Crighton, N.B. Haynes, G.R. Foxcroft & G.E. Lamming], Butterworths, London, pp.353-379.
- Haresign, W., McLeod, B.J. & Webster, J.M. (1 983) Endocrine control of reproduction in the ewe. In: *Sheep Production* [ed. W. Haresign], Butterworths, London, pp. 353-379.
- Haresign, W.(1985) The physiological basis for variation in ovulation rate and litter size in sheep: A review. *Livestock Prod Sci*, 13:3-20.
- Hawk, H.W. & Conley, H.H. (1972) Investigation of sperm transport failures in ewes administered synthetic progestagen. *J Anim Sci*, 34:609- 613.

- Henderson, D.C., Downing, J.M., Beck, N.F.G. & Lees, J.L.(1984) Oestrus synchronization in ewes: A comparison of prostaglandins F2a than salt with a progestagen pessary. *Anim Prod*, 39: 229-233.
- Henderson, K.M., Savage, L.C., Ellen, R.L., Ball, K., McNatty, K.P., (1988). Consequences of increasing or decreasing plasma FSH concentrations during the preovulatory period in Romney ewes. *J. Reprod. Fertil.* 84:187–196.
- Henderson D.C., (1991). Control of the breeding season in sheep and goats. In: Sheep and Goat Practice. Bailliere Tindall, London, 11-27.
- Henderson D.C., Robinson J.J., (2000). The reproductive cycle and its manipulation. In: Diseases of Sheep. 3rd ed, Blackwell, Oxford, 25-34.
- Herbison A. E. (1997). Noradrenergic regulation of cyclic GnRH secretion. *Rev Reprod*, 2:1-6.
- Hunter, R.H.F. (1982) Reproduction in farm animals. London; New York: Longman (1982) ISBN 0582450853.
- Husein M.Q. and Kridli R.T. (2002). Reproductive responses of Awassi ewes treated with either naturally occurring progesterone or synthesis progestagen. *Asian-Aust J. Anim. Sci*, 15:1257-1262.
- Karsch F.J., Bowen J.M., Caraty A., Eveans N.P., Moenter S.M. (1997) Gonadotropin releasing hormone requirements for ovulation. *Biol Reprod* 56:303-309.
- Λιάκος Β., (2014). Συγχρονισμός του οίστρου στο πρόβατο με τη χρήση εκλητικής ορμόνης γοναδοτροπινών. Μεταπτυχιακή διατριβή, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Malpoux B., Thierry J.C., Chemineau P., (1999). Melatonin and the seasonal control of reproduction. *Reprod Nutr Dev*, 39:355-366.
- Mann, G.E., Campbell, B.K., McNeilly, A.S., Baird, D.T., (1992). The role of inhibin and oestradiol in the control of FSH secretion in the sheep. *J Endocrinol*, 133:381–391.
- Maurel M. C., Roy F., Herve V., Bertin J., Viaman D. (2003). Immune response to equine chorionic gonadotropin used for the induction of ovulation in goats and sheep. *Gynecol Obstet Fertil*, 31:766-769.
- Maxwell, W.M.C. & Barnes, D.R.(1986) Induction of oestrus in ewes using a controlled internal drug release device and PMSG. *J Agric Sci*, 106: 201-203
- Maxwell, W.M.C., Hunton, J.R., Ryan, J.P. & Hood, G. (1986) Effect of GnRH on time of ovulation in superovulated of Merino ewes. *Proc of the 18th Annual Conf Austr Soc Reprod Biol*, p.20.

- McGuirk, B.J. (1976) Relevance to producers of research into genetic improvement of reproductive performance. *Proc Austr Soc Anim Prod*, 11:93-100.
- McMillan, W.H. (1986) Hogget oestrus synchronization: A comparison of CIDR and sponges. *Proc New Zealand Soc Anim Prod*, 46:225- 228.
- McNatty, K.P., Revfeim, K.J.A. & Young, A. (1973) Peripheral plasma progesterone concentrations in sheep during the oestrous cycle. *J Endocrinol* ,58:219-225.
- Menchaca A., Rubianes E. (2002). Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goats. *Theriogenology*, 57:1411-1419.
- Menchaca A., Rubianes E. (2004) New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fertil Dev*, 16:403-413.
- Mihm M., Curran N., Hyttel P., Boland M.P., Roche J.F. (1999). Resumption of meiosis in cattle oocytes from preovulatory follicles with a short and a long duration of dominance. *J Reprod Fertil*, 116:293-304.
- Μπελιμπασάκη Σ., Λυμπερόπουλος Α. Γ. (2005). Σημειώσεις για το Εργαστήριο της Αναπαραγωγής Αγροτικών Ζώων. Α.Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.
- Nakayama, J., Arisaka, O., (1997). Regulation of gonadotropin secretion. *Nippon Rinsho*, 55:2855–2859.
- Nephew K.P., Cardenas H., McClure K.E., Ott T.E., Bazer F.W. and Pope W.F. (1994). Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. *J. Anim. Sci*, 72:453-458.
- Niswender, G.D., Juengal, J.L., Silva, P.J., Rollyson, M.K., McIntush, E.W., (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol. Rev*, 80:1–29.
- Pant, H.C., Hopkinson, C.R.N. & Fitzpatrick, R.J.(1977) Concentration of oestradiol, progesterone, luteinizing hormone, and follicle stimulating hormone in the jugular venous plasma of ewes during the oestrous cycle. *J Endocrinol*, 73:247-255.
- Piper, L.R. & Bindon, B.M.(1979) Selection for increased cow fecundity: A review. *Proceedings of the New Island Society of Animal Production* 39: 224-232.
- Quinlivan, T.D. & Robinson, T.J. (1969) Numbers of spermatozoa in the genital tract after artificial insemination of progestagen-treated ewes. *J Reprod Fert*, 1 9: 235-239.
- Quirke, J.F., Hanrahan, J.P. & Gosling, J.P. (1979) Plasma progesterone levels throughout the oestrous cycle and release of LH at oestrous in sheep with different ovulation rates. *J Reprod Fert*, 55: 37-44

- Quirke, J.F., Hanrahan, J.P. & Gosling, J.P.(1981) Duration of oestrous, ovulation rate, time of ovulation and plasma LH, total oestrogen and progesterone in Galway adult ewes and ewe lambs. *J Reprod Fert*, 61: 265-272.
- Rae, A.L. (1980) Selection for reproductive performance and hereditary aspects of sheep reproduction. In: *Current Therapy in Theriogenology* (ed. D. Morrow), W.B. Saunders, p.841-843.
- Rajakoski E. (1960) The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonally, cyclical, and left-right variations. *Acta Endocrinol*, Supp 52: 1-68.
- Rawlings N.C., Jeffcoate, I.A., Rieger, D.L., (1984). The influence of oestradiol 17 and progesterone on peripheral serum concentrations of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in the ovariectomized ewes. *Theriogenology*, 22:473–488.
- Rawlings, N.C., Cook, S.J., (1993). LH secretion around the time of the preovulatory gonadotrophin surge in the ewe. *Anim. Reprod. Sci*, 30:289–299.
- Rawlings, N.C., Bartlewski, P.M., 2007. Clinical reproductive physiology of ewes. In: Youngquist, R.S., Threlfall, W.R. (Eds.), *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. , 2nd ed. Elsevier Inc, St. Louis, MO, USA.
- Rhodes, L. & Nathanielz, P.W. (1988) Comparison of a controlled interval drug release device containing progesterone with intravaginal medroxy progesterone sponges for oestrus synchronization in ewes. *Theriogenology*, 30: 831-836.
- Roberts R.M., Godkin J.D., Bazer F.W., Fincher K.B., Thatcher W.W., Knickerbocker J. and Bartol F.F. (1985). Antiluteolysins produced by mammalian conceptuses. In: Edwards K.G., Purdy J., Steptoe P.J. (Eds.), *Implantation of the Human Embryo*. London: Academic Press, pp 253-282.
- Robertson, H.A.(1977) Reproduction in the ewe and goat. In: *Reproduction in Domestic Animals* [eds. H.H. Cole & P.T. Cupps], Academic Press, New York, pp. 475-498.
- Robinson, T.J. (1973) Factors involved in the failure of sperm transport and survival in the female reproductive tract. *J Reprod Fert*, (Supplement) 18: 103-109.
- Robinson, T.J., Scaramuzzi, R.J. & Smith, C.A.(1987) The time of mating and of LH release and subsequent fertility of anoestrus Border Leicester x Merino ewes treated with progestagen and pregnant mare serum gonadotrophin. *Anim Reprod Sci*, 13:23-26.
- Rubianes E., Beard A., Dierschke D. J., Bartlewski P., Adams G. P., Rawlings N. C. (1997). Endocrine and ultrasound evaluations of the response to PGF 2 alpha and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. *Theriogenology*, 48:1093-1104.
- Ryan, J.P., Hunton, J.R. & Maxwell, W.M.C. (1992) Time of ovulation in Merino ewes superovulated with PMSG and FSH-P. *J Reprod Fert*, 4:91-97.

- Scaramuzzi, R.J., Adams, N.R., Baird, D.T., Campbell, B.K., Downing, J.A., Findlay, J.K., Henderson, K.M., Martin, G.B., McNatty, K.P., McNeilly, A.S. & Tsonis, C.G. (1993α) A model for selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *J Reprod Fert Dev*, 5: 459-478.
- Scaramuzzi, R.J., Adams, N.R., Baird, D.T., (1993b). A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reprod. Fertil. Dev*, 5:459–478.
- Shackell, G.H. (1991) The timing of oestrus, LH surge and ovulation in ewes following synchronisation with MAP, FGA sponges or C R-S. *Proc New Zealand Soc Anim Prod*, 51: 73.
- Signoret, J.P. & Cognie, Y. (1975) Determination of the moment of ovulation in the ewe and sow. Influence of environment and hormonal treatment. *Annales de Biol Anim, Bioch Biophys*, 15: 205-214.
- Simonetti, L., Blanco, M.R., Gardón, J.C. (2000). Estrus synchronization in ewes treated with sponges impregnated with different doses of medroxyprogesterone acetate. *Small Rumin. Res.*, 38:243–247.
- Smith, J.F. (1982) Principles of reproduction. In: Sheep Production, vol. 1 [eds. G.A. Wickham & M.F. McDonald]. New Zealand Institute of Agricultural Science and Richards Publisher, *Wellington*, pp.211-237.
- Stevenson J.S., Kobayashi Y., Shipka M.P., Rauchholz K.C. (1996). Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F2α. *J Dairy Sci*, 79:402- 410.
- Thatcher W. W., Chenault J.R. (1976). Reproductive physiology-responses of cattle to exogenous prostaglandin-F2alpha. *J Dairy Sci*, 59:1366-1375.
- Thimonier, J. (1979) Hormonal control of oestrous cycle in the ewe (A review). *Livestock Prod Sci*, 6:1 1 -39.
- Thornburn G.D., Basset, J.M. & Smith, I.D. (1969). Progesterone concentrations in the peripheral plasma of sheep during the oestrous cycle. *J Endocrinol*, 45:459-469.
- Ulloa-Aguirre,A.,Maldonado,A.,Damian-Matsumura,P.,Timossi,C.,(2001). Endocrine regulation of gonadotropin glycosylation. *Arch. Med. Res*, 32:520–532.
- Van Vleck L.D. (1981) Potential genetic, impact of artificial insemination, sex selection, embryo transfer, cloning and sexing in dairy cattle. In: New technologies in Animal Breeding [eds. B.G. Brackett, G.E. Seidel & S.M. Seidel] Academic Press, *N.Y.* pp. 221-276.

- Vinoles C., Meikle A., Forsberg M., Rubianes E. (1999) The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*, 51:1351-1361.
- Vinoles C., Forsberg M., Banchero G., Rubianes E. (2001): Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55, 993–1004.
- Walker, S.K., Smith, D.H. & Seamark, R.F. (1986) Timing of multiple ovulations in the ewe after treatment with FSH or PMSG with and without GnRH. *J Reprod Fert*, 77:135-142.
- Walker, S.K., Smith, D.H., Ancell, P.H. & Seamark, R.F. (1989) Time of ovulation in the South Australian Merino ewes following synchronization of oestrous. 2. Efficacy of GnRH treatment and its relevance to insemination programs utilizing frozen-thawed semen. *Theriogenology*, 31:555-564.
- Welch, R.A.S., Andrews, W.D., Barnes, D.R., Bremner, K. & Harvey, T.G.(1984) CIDR dispensers for oestrous and ovulation control in sheep. Proceedings of the 10th International Congress on Animal Production and Artificial Insemination, The University of Illinois, *Urbana-Champaign* 3: 354.
- Wiltbank M. C., Niswender G. D. (1992) Functional-aspects of differentiation and degradation of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. *Anim Reprod Sci*, 28:103-110.