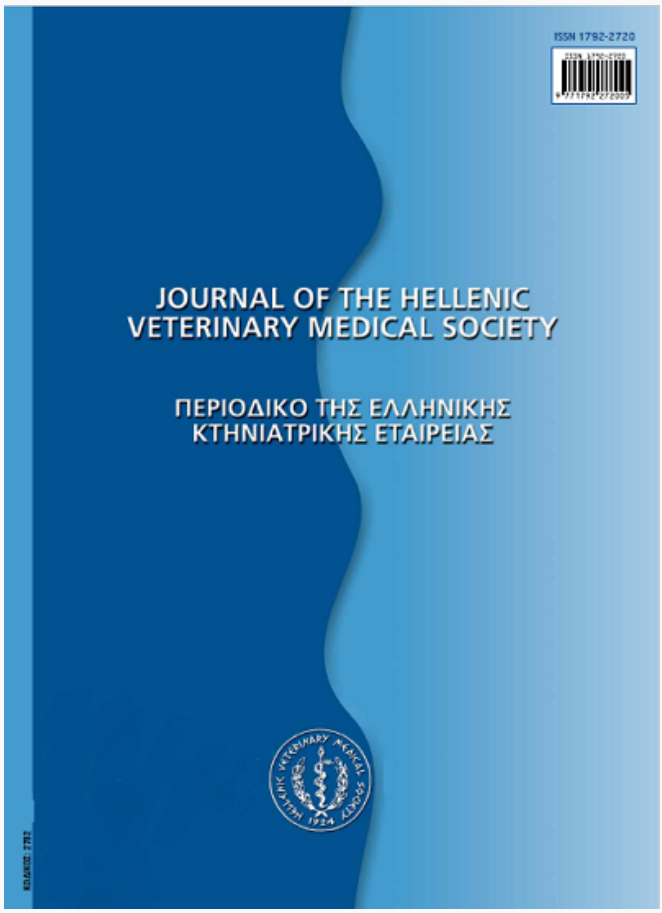
ePublishing

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 61, No 4 (2010)



Swine artificial insemination: development and biotechnology applications

IA TSAKMAKIDIS, ED TZIKA, AG LYMBEROPOULOS

doi: 10.12681/jhvms.14906

Copyright © 2018, IA TSAKMAKIDIS, ED TZIKA, AG LYMBEROPOULOS

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

To cite this article:

TSAKMAKIDIS, I., TZIKA, E., & LYMBEROPOULOS, A. (2018). Swine artificial insemination: development and biotechnology applications. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *61*(4), 330–338. https://doi.org/10.12681/jhvms.14906

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 12/07/2025 05:39:30

JOURNAL OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY 2010, 61(4): 330-338
ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ 2010, 61(4): 330-338

Review article
Ανασκόπηση

Swine artificial insemination: development and biotechnology applications

Tsakmakidis I. A.[1], DVM, PhD, **Tzika E. D.**[1], DVM, PhD, **Lymberopoulos A. G.**[2], DVM, PhD, DipECAR

[1] *Clinic of Farm Animals, School of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki*
[2] *Veterinary Research Institute of Thessaloniki, National Agricultural Research Foundation, NAGREF*

Η ανάπτυξη της τεχνητής σπερματέγχυσης στο χοίρο στα πλαίσια των νέων βιοτεχνολογικών εφαρμογών

Ι. Α. Τσακμακίδης[1], DVM, PhD, **Ε. Δ. Τζήκα**[1], DVM, PhD, **Α. Γ. Λυμπερόπουλος**[2], DVM, PhD, DipECAR

[1] *Κλινική Παραγωγικών ζώων, Κτηνιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*
[2] *Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών Θεσσαλονίκης, Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικών Ερευνών, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.*

ABSTRACT. Traditional artificial insemination has been highly contributed in swine global industry development. However, in order to improve the productivity and the reproductive performance of pig farms, new techniques have been performed. Among them, post cervical or intrauterine insemination, deep intrauterine insemination (DUI), intra-oviductal insemination (IOI) by laparotomy or laparoscopy, as well as the biotechnological applications, such as sex sorted semen, frozen semen and sperm mediated genes' transfer, have been investigated concerning their efficiency in pig production development. One of the main targets of the aforementioned techniques is to benefit the potential advantages of the high genetic value boars by using the minimal number of spermatozoa needed to achieve a high fertilization rate following artificial insemination. On the other hand, biotechnology could lead in rapid transfer of high genetic potential in inaccessible areas through frozen semen. Moreover, biotechnology could support pig industry increasing the female pigs' production according to the consumers' choices and animals' welfare by sex sorted semen application, as well as producing of transgenic pigs aiming an increased disease resistance, improvement carcass composition, increased feed intake and growth rate. *In vivo* studies have evaluated the efficiency of the new developments in insemination technology. The results of these studies demonstrated that a satisfactory conception rate and litter size can be obtained by the insemination of low number of spermatozoa in the appropriate position of the female genital tract at the right time, close to ovulation. High farrowing rate and number of live born piglets were noticed after the post cervical insemination with low number of spermatozoa ($1x10^9$), compared to the traditional artificial insemination. Similar results were observed in other experiments, where $150x10^6$ or $3x10^5$ spermatozoa were inseminated using DUI or IOI technique, respectively. Furthermore, the improvement of the materials of the new artificial insemination procedures (catheters, extenders etc) makes the application of it simpler and easier for the workers after a few training. Although the traditional artificial insemination is an indispensable method for the commercial pig farms, the application of currently available sperm technologies is feasible to be performed in selected animals of pig farms with high quality control and management system. The aspects of the development on swine artificial insemination technology concerning the biotechnological applications of boar sperm are reported in the present study.

Keywords: biotechnology, swine, pig, artificial insemination

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Η τεχνητή σπερματέγχυση (ΤΣ) αποτέλεσε μια από τις σημαντικές κτηνιατρικές επεμβάσεις για την αύξηση

Correspondence: Tsakmakidis I. A.
Clinic of Farm Animals, School of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki
11, St. Voutyra str., PC 546 27, Thessaloniki, Greece
Tel./Fax: +30 2310994467, E-mail: iat@vet.auth.gr

Αλληλογραφία: Ι. Α. Τσακμακίδης
Κλινική Παραγωγικών Ζώων, Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ., Στ. Βουτυρά 11, 546 27 Θεσσαλονίκη
Τηλ./Fax: 2310 994467, E-mail: iat@vet.auth.gr

Submission date: 15.01.2010
Approval date: 17.02.2010

Ημερομηνία υποβολής: 15.01.2010
Ημερομηνία εγκρίσεως: 17.02.2010

της παραγωγικότητας της παγκόσμιας χοιροτροφίας. Η συνεχιζόμενη προσπάθεια για τη βελτίωση των αποδόσεων και τη μέγιστη αξιοποίηση του ζωικού γενετικού δυναμικού οδήγησε στην ανάπτυξη και νέων τεχνικών ΤΣ. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται, η μετα-τραχηλική ή ενδομητριαία σπερματέγχυση, η βαθιά μητριαία ή ενδοκεράτια σπερματέγχυση, η χειρουργική, λαπαροσκοπική ή μετά από λαπαροτομή σπερματέγχυση στους ωαγωγούς, καθώς και διάφορες άλλες βιοτεχνολογικές εφαρμογές. Η αποτελεσματικότητα αυτών των τεχνικών και η πιθανότητα ευρύτερης εφαρμογής τους αξιολογήθηκαν από πολλούς ερευνητές μετά από in vivo πειραματισμούς. Βέβαια, μέχρι σήμερα, η αποδοτικότητα, η εύκολη εφαρμογή και το χαμηλό κόστος καθιστούν την παραδοσιακή ΤΣ αναντικατάστατη μέθοδο για τη γονιμοποίηση των συών σε επίπεδο εκτροφής. Παρ' όλα αυτά, οι νεότερες τεχνικές, καθώς και οι διάφορες βιοτεχνολογικές εφαρμογές αποτελούν αναγκαία εξέλιξη με σκοπό τη μέγιστη ωφελιμότητα από την εκμετάλλευση των ζώων υψηλής γενετικής αξίας. Από σχετικούς πειραματισμούς αποδεικνύεται ότι η εναπόθεση στο κατάλληλο σημείο της γενετικής οδού του θηλυκού και σε συγκεκριμένο χρόνο, εξαιρετικά μικρού αριθμού σπερματοζωαρίων, μπορεί να οδηγήσει σε ικανοποιητικά ποσοστά σύλληψης, τοκετών και μεγεθών τοκετοομάδων. Με μετατραχηλική σπερματέγχυση και χρησιμοποίηση του ενός τρίτου της συνήθους δόσης σπέρματος ($1x10^9$ σπερματοζωάρια) επετεύχθησαν συγκρίσιμα αποτελέσματα με εκείνα της παραδοσιακής ΤΣ. Αναλογικά, στην ενδοκεράτια σπερματέγχυση ο αριθμός των σπερματοζωαρίων που αποδεικνύεται επαρκής είναι ακόμη μικρότερος ($150x10^6$ σπερματοζωάρια), ενώ για τη σπερματέγχυση στον ωαγωγό επαρκούν ελάχιστα σπερματοζωάρια ($3x10^5$). Η συνεχής βελτίωση των μέσων που χρησιμοποιούνται στις παραπάνω μεθόδους καθιστά ή τείνει να καταστήσει εφικτή την εφαρμογή τους ακόμη και από μη εξειδικευμένο προσωπικό, δίνοντας τη δυνατότητα επέκτασης των εφαρμογών τους σε στοχευμένους πληθυσμούς χοιροτροφικών εκμεταλλεύσεων συγκεκριμένων προδιαγραφών. Η ανάπτυξη των νέων τεχνικών ΤΣ δίνει τη δυνατότητα αξιοποίησης βιοτεχνολογικών προϊόντων, όπως το κρυο-συντηρημένο και φυλοπροσδιορισμένο σπέρμα του κάπρου, και της παραγωγής διαγονιδιακών ζώων. Στους στόχους της βιοτεχνολογίας της αναπαραγωγής εντάσσονται και η ενίσχυση της βιομηχανικού τύπου εκτροφής των χοίρων μέσω της βελτίωσης των αναπαραγωγικών δεικτών, της καλύτερης αξιοποίησης της τροφής, της βελτίωσης της σωματικής ανάπτυξης, της ποιότητας του σφάγιου, καθώς και της βελτίωσης της ανθεκτικότητας στις ασθένειες. Τα νεότερα δεδομένα και τα συμπεράσματα από την εξέλιξη της ΤΣ του χοίρου παρατίθενται σε αυτήν τη βιβλιογραφική ανασκόπηση-μελέτη.

Λέξεις ευρετηρίασης: βιοτεχνολογία , χοίρος, τεχνητή σπερματέγχυση

Εισαγωγή

Η παγκόσμια παραγωγή χοίρειου κρέατος αυξήθηκε εντυπωσιακά τα τελευταία 10 χρόνια αγγίζοντας τους 94 εκατομμύρια τόνους το έτος 2002, ενώ η πρόβλεψη για το έτος 2020 είναι 125 εκατομμύρια τόνοι (FAO 2002). Πρακτικά, το χοίρειο κρέας καλύπτει το 50% περίπου των παγκόσμιων αναγκών, παρ' όλο που το 1/3 του πληθυσμού του πλανήτη μας δεν το καταναλώνει λόγω θρησκευτικών απαγορεύσεων. Η συμβολή της τεχνητής σπερματέγχυσης (ΤΣ) σε αυτήν την εξέλιξη υπήρξε θεμελιώδης, διότι συνέβαλε στην ταχύτερη γενετική βελτίωση μέσω της εφαρμογής προγραμμάτων αναπαραγωγικής διαχείρισης. Κάνοντας μια ιστορική αναδρομή, η πρώτη εφαρμογή της ΤΣ στο χοίρο έγινε στις αρχές της δεκαετίας του 1930, επιβλήθηκε ως μέθοδος γονιμοποίησης των συών κατά τη δεκαετία του 1980 και κυριάρχησε στη δεκαετία του 1990 (Gerrits et al. 2005). Στην Ελλάδα η εφαρμογή της ΤΣ άρχισε το έτος 1974 σε μεμονωμένες σύες ή σε μικρές εκτροφές, ενώ καταχωρημένα στοιχεία υπάρχουν από το έτος 1978. Η πρώτη προσπάθεια εφαρμογής ΤΣ σε μεγάλη ελληνική βιομηχανικού τύπου χοιροτροφική εκμετάλλευση με εισαγόμενο κατεψυγμένο σπέρμα από τις Η.Π.Α., έγινε το έτος 1980 (Κυριάκης και Ματζαρλής 1980). Η απόλυτη επιτυχία, από οικονομικής άποψης, υπήρξε αφορμή για τη συγκεκριμένη εκμετάλλευση, ώστε να ξεκινήσει την εφαρμογή της ΤΣ, βασίζοντας κάθε νέα προσπάθεια γενετικής βελτίωσης στη μέθοδο αυτή. Σήμερα, σχεδόν στο σύνολο των εμπορικών εκμεταλλεύσεων των προηγμένων χοιροτροφικά χωρών εφαρμόζεται ΤΣ, με τα ποσοστά στην Ευρώπη και στην Αμερική να ξεπερνούν το 90% και το 75%, αντίστοιχα (Wagner and Thibier 2000). Η παραδοσιακή ενδοτραχηλική σπερματέγχυση, εκτός από την απλότητα που χαρακτηρίζει την εφαρμογή της, οδηγεί σε υψηλά ποσοστά γονιμοποίησης, τοκετών και μεγεθών τοκετοομάδων. Παρ' όλα αυτά, οι ολοένα αυξανόμενες ανάγκες της αγοράς σε χοίρειο κρέας, ο τεράστιος εμπορικός κύκλος της παραγωγής προϊόντων που σχετίζονται με την εφαρμογή της ΤΣ (αραιωτικά, καθετήρες κ.λπ.), καθώς και το επιστημονικό ενδιαφέρον του συγκεκριμένου πεδίου, οδήγησαν σε νέες ερευνητικές προσπάθειες με σκοπό την καλύτερη αξιοποίηση του σπέρματος του κάπρου. Στους στόχους της διεθνούς επιστημονικής κοινότητας περιλαμβάνονται η μείωση του αριθμού των σπερματοζωαρίων που απαιτούνται για τη γονιμοποίηση της συός (ώστε να αυξηθεί ο αριθμός των δόσεων που παράγονται από κάθε εκσπερμάτισμα), η καλύτερη εκμετάλλευση του κρυο-

συντηρημένου/κατεψυγμένου σπέρματος του κάπρου, η πρακτική αξιοποίηση της τεχνολογίας του προσδιορισμού του φύλου που φέρουν τα σπερματοζωάρια (φυλοπροσδιορισμένο σπέρμα) και η παραγωγή και διάθεση στην αγορά νέων προϊόντων σχετικών με την πρακτική εφαρμογή της ΤΣ.

Το εκσπερμάτισμα του κάπρου έχει όγκο 200 – 400 ml και διαθέτει 50-70x10^9 σπερματοζωάρια, περίπου. Τελικά, όμως, όπως και σε κάθε άλλο θηλαστικό, απαιτείται ένα σπερματοζωάριο για να διεισδύσει σε κάθε ωάριο για να το γονιμοποιήσει. Κατά τη διαδικασία της φυσικής οχείας ένα μεγάλο μέρος του εκσπερματίσματος διέρχεται γρήγορα από τον τράχηλο στο σώμα και στα κέρατα της μήτρας, ενώ επίσης, ένα άλλο μεγάλο μέρος (κάποιες φορές έως και το 45%) παραμένει στον τράχηλο της μήτρας ή εκρέει εκτός του γενετικού σωλήνα (Matthijs et al. 2003). Επίσης, ένας μεγάλος αριθμός σπερματοζωαρίων καταστρέφεται με φαγοκυττάρωση από πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα του θηλυκού λόγω της φλεγμονώδους αντίδρασης που προκαλούν τόσο τα σπερματοζωάρια, όσο και το σπερματικό πλάσμα (Robertson 2007). Τέλος, θα πρέπει να συνυπολογιστεί ότι ένα ποσοστό του πληθυσμού των ζωντανών σπερματοζωαρίων δεν έχει τη δυνατότητα να προσεγγίσει στους ωαγωγούς λόγω μορφολογικών ανωμαλιών ή μη φυσιολογικής κίνησης. Επομένως, μόνο τα πιο γρήγορα και ανθεκτικά σπερματοζωάρια φτάνουν στους ωαγωγούς και μπορούν να συναγωνιστούν για τη γονιμοποίηση.

Από την άλλη πλευρά, η επιτυχία της επιχειρούμενης ΤΣ σχετίζεται με το μεσοδιάστημα μεταξύ ΤΣ και ωοθυλακιορρηξίας, με τη διάρκεια ζωής των σπερματοζωαρίων, καθώς και με τη θέση εναπόθεσης του σπέρματος στη γεννητική οδό (Vazquez et al. 2005a). Λαμβάνοντας υπ' όψιν τις παραμέτρους αυτές, αναζητήθηκε μια τεχνική που να πληροί προϋποθέσεις μεταφοράς και ασφαλούς εγκατάστασης μικρότερου αριθμού σπερματοζωαρίων πλησιέστερα προς τους ωαγωγούς, προστασίας των σπερματοζωαρίων από τη φαγοκυττάρωση, καθώς και εκμετάλλευσης του συνολικού χρόνου ζωής τους, με την οποία να επιτυγχάνονται ποσοστά γονιμοποίησης ανάλογα με εκείνα της παραδοσιακής τεχνικής ΤΣ. Τα δεδομένα αυτά αποτελούν τη βάση των προσπαθειών ανάπτυξης νέων τεχνικών ΤΣ που θα αποτελέσουν εφαλτήριο για τη διάδοση και αξιοποίηση και άλλων προϊόντων της τεχνολογίας του σπέρματος, όπως το κατεψυγμένο και το φυλοπροσδιορισμένο σπέρμα του κάπρου, τα οποία δεν τυγχάνουν ευρείας εφαρμογής.

Μέθοδοι τεχνητής σπερματέγχυσης

α) Παραδοσιακή ΤΣ

Πρόκειται για την τεχνική που εφαρμόζεται παγκόσμια σε επίπεδο εμπορικών εκμεταλλεύσεων. Η επικράτησή της έναντι της φυσικής οχείας δεν οφείλεται μόνο στα υψηλά ποσοστά γονιμοποίησης που επιτυγχάνονται, αλλά και στην ευχέρεια της χρήσης της και στην οικονομική αποδοτικότητά της. Στην πράξη το σπέρμα εναποτίθεται στο τελικό τμήμα του τραχήλου μετά από τη σύνδεση του καθετήρα στα διάκενα των επαρμάτων του τραχήλου της μήτρας. Κατά τη διάρκεια του οίστρου εφαρμόζονται δύο σπερματεγχύσεις ανά συ, ενώ κάθε δόση αποτελείται από 2,5-3x10^9 σπερματοζωάρια σε τελικό όγκο 80-100 ml αραιωμένου σπέρματος. Με το σχήμα αυτό ένας ενήλικος σπερματοδότης κάπρος που χρησιμοποιείται για σπερματοληψία 6 φορές το μήνα και αποδίδει 20 δόσεις ανά εκσπερμάτισμα, κατά μέσο όρο, μπορεί να γονιμοποιήσει 720 σύες ετησίως (δύο σπερματεγχύσεις ανά συ). Σε μελέτες που επιχειρήθηκε η χρησιμοποίηση μικρότερου αριθμού σπερματοζωαρίων (2x10^9/σπερματέγχυση) στην παραδοσιακή ΤΣ, τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά τόσο ως προς τα ποσοστά γονιμοποίησης, όσο και ως προς τα ποσοστά πολυδυμίας. Συμπερασματικά, προτείνεται ο αριθμός των σπερματοζωαρίων/ανά σπερματέγχυση να μη μειώνεται κάτω από τις 3x10^9 σε συνθήκες εμπορικών εκτροφών (Alm et al. 2006, Xu et al. 1998).

Η παραδοσιακή ΤΣ επαρκεί για την κάλυψη των αναγκών της χοίρειας βιομηχανίας. Ωστόσο, η ολοένα αυξανόμενη τάση εφαρμογής βιοτεχνολογικών μεθόδων (επιλογή φύλου, κατάψυξη, γονιδιακή μεταφορά μέσω των σπερματοζωαρίων κ.λπ.), που καταπονούν ή υποβαθμίζουν την ποιότητα των σπερματοζωαρίων, απαιτεί την επίτευξη γονιμοποίησης με πολύ λιγότερα σπερματοζωάρια. Επειδή αυτό είναι ανέφικτο με την παραδοσιακή ΤΣ, αναπτύχθηκαν νέες τεχνικές για την εναπόθεση του σπέρματος στο σώμα ή στα κέρατα της μήτρας ή στους ωαγωγούς.

Μετα-τραχηλική ή ενδομητριαία σπερματέγχυση (Post-cervical or intrauterine insemination)

Με τη μέθοδο αυτή το σπέρμα εναποτίθεται στο σώμα της μήτρας και εφαρμόστηκε για πρώτη φορά από τον Hancock το έτος 1957. Για να ξεπεραστεί το

Table 1. Results of traditional and intrauterine artificial insemination in 3.240 sows (Watson and Behan, 2002).
Πίνακας 1. Αποτελέσματα από την εφαρμογή ΤΣ και ΕΣ σε 3.240 σύες εμπορικής εκτροφής (Watson and Behan, 2002).

Χειρισμός	Δόση σε σπερματοζωάρια x10^6	Κύηση στην 35^η ημέρα (%)	Τοκετοί (%)	Μέγεθος τοκετοομάδας	Ζωντανά γεννηθέντα χοιρίδια
ΤΣ	1.000	66,2 ^{a}	65,8 ^{a}	10,3 ^{a}	9,0 ^{a}
	2.000	91,1 ^{b}	91,8 ^{b}	12,6 ^{b}	10,9 ^{b}
	3.000	91,3 ^{b}	91,1 ^{b}	12,5 ^{b}	10,9 ^{b}
ΕΣ	1.000	88,7 ^{b}	86,9 ^{b}	12,1 ^{b}	10,9 ^{b}
	2.000	92,6 ^{b}	92,5 ^{b}	12,3 ^{b}	10,8 ^{b}
	3.000	91,8 ^{b}	90,5 ^{b}	12,3 ^{b}	11,0 ^{b}

Dissimilar letters (a, b) denote a significant difference ($p<0.001$)
Οι χαρακτήρες a, b αντιπροσωπεύουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων ($p<0.001$)

Table 2. Results of traditional and intrauterine artificial insemination with low dose of sperm in 1783 sows (Roberts and Bilkei, 2005).
Πίνακας 2. Αποτελέσματα από την εφαρμογή παραδοσιακής (ΤΣ) και ενδομητριαίας σπερματέγχυσης (ΕΣ) με μικρότερο αριθμό σπερματοζωαρίων ανά δόση, σε 1.783 σύες (Roberts and Bilkei, 2005).

Χειρισμός	Δόση σε σπερματοζωάρια x10^9	Κύηση στην 24^η ημέρα (%)	Τοκετοί (%)	Μέγεθος τοκετοομάδας	Απογαλακτισμός – νέος οίστρος (ώρες)
ΤΣ	3	90,2	88,1	12,3 ^{a}	114,3
ΕΣ	1	89,3	87,8	10,2 ^{b}	115,2

Dissimilar letters (a, b) denote a significant difference ($p<0.001$)
Οι χαρακτήρες a, b αντιπροσωπεύουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων ($p<0.001$)

Table 3. Results of traditional and intrauterine artificial insemination in 420 sows (Rozeboom et al., 2004).
Πίνακας 3. Αποτελέσματα από την εφαρμογή ΤΣ και ΕΣ σε 420 σύες (Rozeboom et al., 2004).

Χειρισμός	Δόση σε σπερματοζωάρια x10^9	Κύηση 28^η - 35^η ημέρα (%)	Τοκετοί (%)	Μέγεθος τοκετοομάδας	Ζωντανά γεννηθέντα χοιρίδια
ΤΣ	4	92,1±2,8	88,2±3,2 ^{ab}	11,6±0,4 ^{a}	10,8±0,3 ^{a}
ΕΣ	0,5	86,6±2,9	78,0±3,4 ^{a}	9,4±0,4 ^{c}	8,6±0,3 ^{c}
	1	88,2±2,9	87,0±3,1 ^{ab}	10,0±0,4 ^{bc}	9,3±0,3 ^{bc}
	4	96,5±3,2	94,4±3,2 ^{b}	11,0±0,4 ^{ab}	10,5±0,3 ^{ab}

Dissimilar letters (a, b, c) denote a significant difference ($p<0.05$)
Οι χαρακτήρες a, b, c αντιπροσωπεύουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων ($p<0.05$)

εμπόδιο των τραχηλικών δακτυλίων χρησιμοποιείται ένας άκαμπτος καθετήρας μεγαλύτερου μήκους από το συμβατικό (κατά 20 cm περίπου), ο οποίος εισέρχεται διαμέσου της εσωτερικής κοιλότητας του κλασικού καθετήρα και ξεπερνώντας τον τράχηλο κατευθύνεται στη μήτρα. Με τη μέθοδο αυτή η δόση ανά σπερματέγχυση περιορίζεται σε 1.000x10^6 σπερματοζωάρια, σε όγκο 30ml, ενώ επιτυγχάνεται μείωση του όγκου του σπέρματος που εκρέει εκτός της γεννητικής οδού. Σε μελέτη όπου εφαρμόστηκε η ενδομητριαία (ΕΣ) και η παραδοσιακή τεχνητή σπερματέγχυση σε εμπορικές μονάδες, προέκυψαν παρόμοια αποτελέσματα τόσο ως προς το ποσοστό των τοκετών, όσο και ως προς το μέγεθος των τοκετοομάδων (Watson and Behan 2002). Πιο συγκεκριμένα, σε 3.240 σύες εφαρμόστηκε παραδοσιακή ή ενδομητριαία ΤΣ, 4-6 ημέρες μετά τον απογαλακτισμό (ανάλογα με το χρόνο έναρξης του οίστρου). Σε κάθε συ εφαρμόστηκαν 2 σπερματεγχύσεις με χρονική διαφορά 24 ωρών, ενώ ο αριθμός των σπερματοζωαρίων ανά δόση ήταν 1.000x10^6, 2.000x10^6 ή 3.000x10^6. Ακολούθησε ο έλεγχος της κυοφορίας στις 35 ημέρες υπερηχογραφικά και η καταγραφή του ποσοστού των γεννήσεων και του μεγέθους των τοκετοομάδων. Τα αποτελέσματα που

προέκυψαν απεικονίζονται στον πίνακα 1.

Σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο μεθόδων, με την ΕΣ να υπερτερεί, διαπιστώθηκε μόνο στη μικρότερη δόση σπέρματος (1 δις σπερματοζωάρια). Στα μειονεκτήματα της μετα-τραχηλικής σπερματέγχυσης εντάσσεται το ότι σε ποσοστό 20% των ζώων (στα πλέον μικρόσωμα) δεν έγινε δυνατή η εισαγωγή του καθετήρα στο βάθος που θα έπρεπε, ενώ σε πολύ λίγα ζώα προέκυψε τραυματισμός (1,8%), όπως άλλωστε μπορεί να συμβεί και στην παραδοσιακή ΤΣ. Η έρευνα αυτή ενίσχυσε την άποψη ότι με την ΕΣ είναι δυνατή η μείωση του αριθμού των σπερματοζωαρίων ανά δόση με ικανοποιητικά αποτελέσματα. Παρ' όλα αυτά, από άλλες μελέτες σύγκρισης των δύο μεθόδων διαπιστώθηκε ότι με την ενδομητριαία σπερματέγχυση επιτυγχάνεται ανάλογο ποσοστό γεννήσεων, αλλά τοκετοομάδες μικρότερου μεγέθους (Roberts and Bilkei 2005) ή σημαντική μείωση και των δύο αυτών αναπαραγωγικών παραμέτρων (Rozeboom et al. 2004) (Πίνακες 2 και 3).

Οι Rozeboom et al. (2004) αναφέρουν χαμηλά ποσοστά αδυναμίας του καθετήρα να διαπεράσει τον τράχηλο (6%) και τραυματισμού, δηλαδή εμφάνισης αίματος μετά την έξοδο του καθετήρα (4%).

Τα παραπάνω δεδομένα συνάδουν με το γεγονός ότι η μετα-τραχηλική σπερματέγχυση είναι ασφαλής, λειτουργική και απλή στην εφαρμογή της. Η διαχείριση της εκτροφής εξακολουθεί να παραμένει καθοριστικός παράγοντας για την επίτευξη ικανοποιητικών αποτελεσμάτων. Επίσης, αποτελεί βασικό παράγοντα επιτυχίας η προηγούμενη εκπαίδευση και εξοικείωση του σπερματεγχύτη με τη μέθοδο.

Βαθιά ενδομητριαία ή ενδοκερατική σπερματέγχυση (Deep intrauterine insemination, DUI)

Η μέθοδος αυτή αποσκοπεί στην εναπόθεση του σπέρματος, όσο γίνεται βαθύτερα, στα κέρατα της μήτρας. Η πρώτη εφαρμογή έγινε από τους Vazquez et al. (1999), αλλά τελειοποιήθηκε από τους Martinez et al. (2001) με τη χρησιμοποίηση ενός εύκαμπτου καθετήρα νέου τύπου. Ο καθετήρας αυτός έχει λειτουργικό μήκος 1,80 m, εξωτερική διάμετρο 4 mm, εσωτερική διάμετρο 1,80 mm και εισέρχεται στο γεννητικό σωλήνα διαμέσου ενός κλασικού καθετήρα, ο οποίος πρέπει να «κλειδώσει» καλά στον τράχηλο της μήτρας. Ο εύκαμπτος καθετήρας εισάγεται αργά και προσεκτικά διαπερνώντας ένα προς ένα τα επάρματα του τραχήλου (pulvini cervicales), κάτι που γίνεται αντιληπτό στο σπερματεγχύτη ως περιοδική ελαφρά αντίσταση. Μετά τη δίοδο από τα επάρματα του τραχήλου ο καθετήρας συνεχίζει να προωθείται, χωρίς αντίσταση, αρχικά στο σώμα κι έπειτα κατά μήκος του ενός κέρατος της μήτρας έως ότου το άκρο του φθάσει στην τελική θέση, στο πρόσθιο τρίτο του κέρατος, όπου γίνεται αντιληπτή ισχυρή αντίσταση. Ακολουθεί η έγχυση μικρής ποσότητας αραιωτικού για τη λίπανση του καθετήρα, στη συνέχεια η έγχυση του σπέρματος και τέλος, νέα ποσότητα αραιωτικού για την εξώθηση τυχόν εναπομείναντων σπερματοζωαρίων στον αυλό του καθετήρα. Η όλη επέμβαση διαρκεί περίπου 4-5 min.

Η εισαγωγή του καθετήρα γίνεται τυχαία στο ένα από τα δύο κέρατα. Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν ενδείξεις ότι η γονιμοποίηση των ωαρίων γίνεται και στα δύο κέρατα. Μελέτη των Martinez et al. (2005) αναφέρει ότι τα σπερματοζωάρια ακολουθώντας ενδομητριαία διαδρομή μπορούν να γονιμοποιήσουν και τα ωάρια που βρίσκονται στον ωαγωγό του κέρατος στο οποίο δεν εναποτέθηκε σπέρμα. Σε νεότερη μελέτη των Tummaruk et al. (2007), που πραγματοποίησαν πλύση των ωαγωγών και των κεράτων της μήτρας πέντε συών 24 ώρες μετά από την εφαρμογή DUI, διαπιστώθηκε μονομερής εντόπιση των σπερματοζωαρίων (σε 3 σύες αριστερά και σε 2 δεξιά). Η επανάληψη της διαδικασίας σε 5 νέες σύες, 48 έως 72 ώρες μετά την DUI, απέδειξε την κατανομή των πρώιμων εμβρύων και στα δύο κέρατα της μήτρας, δίνοντας ερεθίσματα για περαιτέρω διερεύνηση.

Μετά από την έξοδό του ο καθετήρας ελέγχεται για τυχόν σφάλματα κατά την εκτέλεση της σπερματέγχυσης (τραυματισμός βλεννογόνου, αιμορραγία, υπολείμματα σπέρματος κ.λπ.), που θα μπορούσαν να θέσουν σε κίνδυνο τη μελλοντική αναπαραγωγική ικανότητα των συών. Το γεγονός ότι ο καθετήρας εισέρχεται μόνο στο ένα κέρας περιορίζει τους όποιους κινδύνους μόνο σε αυτό. Επιπλέον, σε επανειλημμένους πειραματισμούς σε εμπορικές μονάδες δεν διαπιστώθηκε σημαντική μεταβολή των αναπαραγωγικών αποδόσεων των συών που υποβλήθηκαν σε σπερματέγχυση με τη μέθοδο DUI (Bolarin et al. 2006).

Οι Day et al. (2003), προκειμένου να αξιολογήσουν τη δυνατότητα εφαρμογής της DUI σε εμπορικές εκτροφές, χρησιμοποίησαν δόσεις σπέρματος που περιείχαν $150x10^6$ σπερματοζωάρια (δόση είκοσι φορές μικρότερη από εκείνη της παραδοσιακής σπερματέγχυσης). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν δεν

Table 4. Comparison between traditional and deep intrauterine artificial insemination in 519 sows (Martinez et al. 2002).
Πίνακας 4. Σύγκριση της εφαρμογής ΤΣ και DUI σε 519 σύες (Martinez et al. 2002).

Χειρισμός	Δόση σε σπερματοζωάρια x10^6	Κύηση 24^η - 28^η ημέρα (%)	Τοκετοί (%)	Μέγεθος τοκετοομάδας	Ζωντανά γεννηθέντα χοιρίδια
DUI (1 σπερ/γχυση)	10	39,1 ^{a}	39,1 ^{a}	9,44±0,36	9,03±0,38
	25	51,7 ^{a}	46,7 ^{a}	9,3±0,35	8,75±0,37
	50	77,8 ^{b}	76,2 ^{b}	9,4±0,19	8,91±0,20
	150	86,3 ^{b}	82,9 ^{b}	9,7±0,19	9,30±0,20
Παραδοσιακή ΤΣ (2 σπερ/γχύσεις)	6.000 (2x3.000)	86,4 ^{b}	83,0 ^{b}	9,97±0,17	9,40±0,18

Dissimilar letters (a, b) denote a significant difference ($p<0.001$)
Οι χαρακτήρες a, b αντιπροσωπεύουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων ($p<0.001$)

Table 5. Intra-Oviductal insemination with sex sorted semen (Johnson, 1991).
Πίνακας 5. Σπερματέγχυση εντός του ωαγωγού με φυλοπροσδιορισμένο σπέρμα (Johnson, 1991).

Σπερματοζωάρια	Αριθμός ζώων που εφαρμόστηκε σπερματέγχυση	Αριθμός ζώων που γέννησαν	Ζωντανά γεννηθέντα χοιρίδια	Μέγεθος τοκετοομάδας
X	8	4	37	9,3
Y	10	5	34	6,8
Μη προσδιορισμένα	11	5	40	8,0

Table 6. Intra-Oviductal insemination with sex sorted semen (Vazquez et al. 2005b).
Πίνακας 6. Σπερματέγχυση εντός του ωαγωγού με φυλοπροσδιορισμένο σπέρμα (Vazquez et al. 2005b).

Σπερματοζωάρια		Γονιμοποίηση (%)	Πολυσπερμία (%)
3x10^5	φυλοπροσδιορισμένα	72,6	5,1
3x10^5	μη προσδιορισμένα	74,4	6,7
6x10^5	φυλοπροσδιορισμένα	72,7	7,1
6x10^5	μη προσδιορισμένα	69,2	11,1

ήταν ικανοποιητικά και δεν συμβαδίζουν με την οικονομικότητα των εκτροφών (μείωση των κυήσεων κατά ~7% και του μεγέθους της τοκετοομάδας κατά ~2,4 χοιρίδια, σε σύγκριση με μάρτυρες που υποβλήθηκαν σε σπερματέγχυση με κλασική μέθοδο).

Σε αντίθεση με την προαναφερθείσα έρευνα, οι Martinez et al. (2002), χρησιμοποιώντας νωπό αραιωμένο σπέρμα σε υψηλότερες δόσεις (τέσσερις διαφορετικές συγκεντρώσεις), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η DUI μπορεί να είναι εξίσου αποτελεσματική με την κλασική ΤΣ, όταν εφαρμόζεται μόνο μια βαθιά ενδοκερατική σπερματέγχυση με 150x10^6 σπερματοζωάρια 36 ώρες μετά την έναρξη ορμονικά ελεγχόμενου οίστρου. Το συμπέρασμα αυτό έχει σημαντική επιστημονική αξία για την επάρκεια της μεθόδου, όχι όμως οικονομική για ευρεία εμπορική αποδοχή. Τα πλήρη αποτελέσματα απεικονίζονται στον Πίνακα 4.

Σπερματέγχυση στον ωαγωγό με πολύ μικρό αριθμό σπερματοζωαρίων (Intra-Oviductal Insemination, IOI)

Η IOI εφαρμόζεται μετά από λαπαροτομή ή λαπαροσκοπικά και δεν μπορεί να αποτελέσει μέθοδο ευρείας χρήσης. Αποτελεί, όμως, μέθοδο εκλογής όταν υπάρχει πολύ μικρός αριθμός σπερματοζωαρίων με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά. Για παράδειγμα, η ραγδαία ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας απαιτεί τη χρησιμοποίηση σπερματοζωαρίων με υψηλή βιολογική

και επομένως και οικονομική αξία. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται κυρίως σπερματοζωάρια-φορείς ξένων γονιδίων, καθώς και φυλετικά προσδιορισμένα, επίσης μπορούν να περιληφθούν και κρυο-συντηρημένα σπερματοζωάρια κάπρων εξαιρετικά μεγάλης γενετικής αξίας.

Σε παλαιότερη μελέτη επιτεύχθηκαν ικανοποιητικά ποσοστά γονιμοποιήσεων και τοκετών με την εναπόθεση $3x10^5$ φυλοπροσδιορισμένων σπερματοζωαρίων στον ωαγωγό μετά από λαπαροτομή (Johnson 1991) (Πίνακας 5).

Μεταγενέστερα οι Vazquez et al. (2005b) πέτυχαν επίσης ικανοποιητικά ποσοστά γονιμοποίησης μετά τη λαπαροσκοπική σπερματέγχυση στον ωαγωγό με $3x10^5$ ή $6x10^5$ φυλοπροσδιορισμένα σπερματοζωάρια. Στην εργασία αυτή, 18 ώρες μετά τη σπερματέγχυση, έγινε λαπαροσκοπική έκπλυση των ωαγωγών, συλλογή των ζυγωτών και μελετήθηκε επιπλέον, το ποσοστό πολυσπερμίας (Πίνακας 6).

Εξέλιξη της ΤΣ και πιθανές μελλοντικές εφαρμογές της

Η μείωση του αριθμού των σπερματοζωαρίων που απαιτούνται για τη γονιμοποίηση των συών, εκτός του ότι αυξάνει τη δυναμική των κάπρων υψηλής γενετικής αξίας, καθιστά δυνατή την αξιοποίηση σύγχρονων τεχνολογιών του σπέρματος. Στις νέες τεχνολογίες εντάσσεται και ο φυλετικός διαχωρισμός των Χ και Υ σπερματοζωαρίων με τη χρήση του κυτταρομετρητή ροής (flow cytometer). Η μέθοδος βασίζεται στην ποσοτική διαφορά του DNA μεταξύ των Χ και Υ σπερματοζωαρίων. Η τεχνολογική πρόοδος των συστημάτων φυλετικού διαχωρισμού των σπερματοζωαρίων δίνει πλέον τη δυνατότητα παραγωγής 15 εκατομμυρίων Χ και άλλων τόσων Υ σπερματοζωαρίων εντός μιας ώρας με καθαρότητα επιλογής από 90 έως 95 % (Johnson et al. 2005). Όμως, κατά τη διαδικασία του διαχωρισμού τα σπερματοζωάρια υποβάλλονται σε χρώση με φθορίζουσα χρωστική, αραίωση, επώαση και επιπλέον υφίστανται τις επιδράσεις του περιβάλλοντος υψηλής πίεσης και της δέσμης laser με αποτέλεσμα τη σοβαρή καταπόνησή τους. Όλη αυτή η καταπόνηση περιορίζει το χρόνο ζωής τους και καθιστά απαραίτητη την εναπόθεση του σπέρματος όσο το δυνατόν πλησιέστερα ως προς το χρόνο ωοθυλακιορρηξίας, αλλά και ως προς τη θέση γονιμοποίησης (Vazquez et al. 2003). Με την ενδοκερατική σπερματέγχυση προσεγγίζονται σημαντικά οι προαναφερόμενες προϋποθέσεις και επομένως η μέθοδος καθιστά δυνατή τη γονιμοποίηση με φυλοπροσδιορισμένο σπέρμα, χωρίς μάλιστα να απαιτείται χειρουργική επέμβαση. Το γεγονός αυτό αποτελεί ένα πρώτο βήμα στην προσπάθεια για την ευκολότερη και κατ' επέκταση εμπορικότερη χρήση του φυλοπροσδιορισμένου σπέρματος. Η χρησιμοποίηση τέτοιου σπέρματος μπορεί να αποβεί προς όφελος της χοίρειας βιομηχανίας τόσο ως προς την ικανοποίηση των απαιτήσεων για την παραγωγή συγκεκριμένων γραμμών αρσενικών ή θηλυκών υβριδίων, όσο και ως προς την εναρμόνιση με τους κανόνες της ευζωίας των ζώων. Σε μια εποχή που αναζητούνται εναλλακτικές μέθοδοι ευνουχισμού των αρσενικών ζώων και ο καταναλωτής προτιμά την κατανάλωση χοίρειου κρέατος που προέρχεται από θηλυκά ζώα, η κατ' επιλογή παραγωγή περισσότερων θηλυκών θα προσέφερε μία ικανοποιητική λύση.

Η τεχνητή σπερματέγχυση των συών με κρυοσυντηρημένο σπέρμα σε σύγκριση με τη χρήση νωπού σπέρματος, δεν έτυχε μέχρι σήμερα ευρείας εφαρμογής λόγω υψηλότερου κόστους και μέτριας αποτελεσματικότητας. Συνήθως, το κατεψυγμένο σπέρμα κάπρου χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις που απαιτείται η μεταφορά γενετικού υλικού υψηλών προδιαγραφών σε απομακρυσμένες περιοχές. Δεν είναι τυχαία η σχετικά ευρεία χρήση του στη Νορβηγία όπου η ταχεία μεταφορά νωπού σπέρματος σε δυσπρόσιτες γεωγραφικά περιοχές δεν ήταν οικονομικά συμφέρουσα (Gerrits et al. 2005).

Όπως είναι γνωστό, η διαδικασία κατάψυξης – αναβίωσης προκαλεί βλάβες στις κυτταρικές μεμβράνες των σπερματοζωαρίων (Guthrie and Welch 2005), μείωση της ζωτικότητας (Watson 2000) και της κινητικότητάς τους (Hernandez et al. 2007), οξειδωτική καταπόνηση και παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) (Chatterjee and Gagnon 2001) και τα καθιστά ευαίσθητα σε βλάβη του DNA τους (Fraser and Strzezek 2005). Όλοι οι παραπάνω παράγοντες οδηγούν σε μείωση της γονιμοποιητικής ικανότητας του κατεψυγμένου σπέρματος και σε ανάλογη μείωση των αναπαραγωγικών δεικτών στις εκτροφές που το χρησιμοποιούν. Η εξέλιξη των τεχνικών σπερματέγχυσης και τα ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αποτελέσματα της βαθιάς ενδοκερατικής σπερματέγχυσης με κρυο-συντηρημένο σπέρμα καθιστούν ορατή την ευρύτερη εκμετάλλευση του κατεψυγμένου σπέρματος του κάπρου στα πλαίσια της

ταχύτερης και ευρύτερης διανομής γενετικού υλικού υψηλής γενετικής αξίας.

Τα τελευταία χρόνια η επιστημονική κοινότητα έχει στρέψει την προσοχή της στη δημιουργία διαγονιδιακών ζώων, δηλαδή ζώων που φέρουν ξένα γονίδια στο γονιδίωμά τους. Η τεχνολογία αυτή άνοιξε από χρόνια τώρα ένα νέο πεδίο έρευνας και γνώσης, στοχεύοντας αρχικά στην «παραγωγή» διαγονιδιακών ζωικών προτύπων-πειραματόζωων και πρόσφατα πέρασε και στα παραγωγικά ζώα επιδιώκοντας π.χ. την παραγωγή ζώων ανθεκτικών σε ασθένειες και δυσμενείς συνθήκες εκτροφής, την αύξηση της παραγωγικότητάς τους, καθώς και την προοπτική να μπορούν να δίνουν νέα προϊόντα, κυρίως τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Η μεταφορά του ξένου γενετικού υλικού για την παραγωγή διαγονιδιακών ζώων γίνεται: α) με μικροέγχυση ξένων γονιδίων στο ωάριο, β) με έγχυση εμβρυικών κυττάρων που υπέστησαν επεξεργασία με ξένο DNA, στην κοιλότητα της βλαστικής κύστης, γ) με μεταφορά ξένου πυρήνα και δ) με μεταφορά ξένων γονιδίων μέσω σπερματοζωαρίων-φορέων που απαιτεί την εφαρμογή *in vitro* γονιμοποίησης ή τεχνητής σπερματέγχυσης.

Οι Lavitrano et al. (2003) μετέφεραν ξένο γενετικό υλικό εφαρμόζοντας παραδοσιακή ΤΣ με σπερματοζωάρια ($1x10^9$) που έφεραν ξένα γονίδια μετά από *in vitro* επεξεργασία (Sperm Mediated Gene Transfer, SMGT). Τα αποτελέσματα ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά αφού στο 50 – 60 % των παραγώγων χοιριδίων διαπιστώθηκε διασπορά του ξένου γενετικού υλικού. Η μελέτη αυτή απέδειξε ότι η παραγωγή διαγονιδιακών χοίρων είναι εφικτή και σε επίπεδο εκτροφής, ενώ το κόστος για τα οικονομικά δεδομένα εκείνης της εποχής ήταν εντυπωσιακά χαμηλότερο (~1.000 $) από το αντίστοιχο κόστος της μικροέγχυσης ξένων γονιδίων σε σωματικά ή εμβρυικά κύτταρα και της μετέπειτα εμβρυο-μεταφοράς (~25.000 $). Η εξέλιξη στην τεχνική της σπερματέγχυσης και η δυνατότητα εναπόθεσης εντός του ωαγωγού μικρότερου αριθμού σπερματοζωαρίων-φορέων ξένων γονιδίων παρέχει τη δυνατότητα ευρύτερης και αποδοτικότερης αξιοποίησης της μεθόδου.

Συμπεράσματα

Οι νέες τεχνικές της ΤΣ του χοίρου έχουν μελετηθεί και αξιολογηθεί σε μεγάλο βαθμό τα τελευταία χρόνια. Η πρόοδος στον τομέα αυτόν και τα ικανοποιητικά αποτελέσματα των πειραματισμών αποτελούν χρήσιμο εργαλείο για την πληρέστερη εκμετάλλευση των κάπρων υψηλής γενετικής αξίας και παρέχουν περισσότερες επιλογές και δυνατότητες στοχεύοντας στην ανάπτυξη της χοίρειας βιομηχανίας.

REFERENCES - ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Alm K, Peltoniemi OAT, Koskinen E, Andersson M (2006). Porcine field fertility with two different insemination doses and the effect of sperm morphology. Reprod Dom Anim, 41: 210–213.

Bolarin A, Roca J, Rodríguez-Martínez H, Hernández M, Vázquez JM, Martínez EA. (2006). Dissimilarities in sows' ovarian status at the insemination time could explain differences in fertility between farms when frozen-thawed semen is used. Theriogenology, 65:669-680.

Chatterjee S, Gagnon C (2001). Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing and thawing. Mol Reprod Dev, 59: 451–458.

Day BN, Mathias K, Didion BA, Martínez EA, Caamano JN (2003). Deep intrauterine insemination in sows: first field trial in USA commercial farm with newly developed device. Theriogenology 59:213.

FAO Database (2002). http://apps.fao.org/cgi-bin/nph-db.pl?subset=agriculture

Fraser L, Strzezek J (2005). Effects of freezing-thawing on DNA integrity of boar spermatozoa assessed by the neutral comet assay. Reprod Domest Anim, 40:530-536.

Gerrits RJ, Lunney JK, Johnson LA, Pursel VG, Kraeling RR, Rohrer GA, Dobrinsky JR (2005). Perspectives for artificial insemination and genomics to improve global swine populations. Theriogenology, 63:283-299.

Guthrie HD, Welch GR (2005). Impact of storage prior to cryopreservation on plasma membrane function and fertility of boar sperm. Theriogenology, 63: 396-410.

Hancock JL (1957). The fertility of natural and of artificial matings in the pig. Proc Soc Study Fertil, 9:146-158.

Hernández M, Roca J, Gil MA, Vázquez JM, Martínez EA (2007). Adjustments on the cryopreservation conditions reduce the incidence of boar ejaculates with poor sperm freezability. Theriogenology, 67:1436–1445.

Johnson LA, Rath D, Vazquez JM, Maxwell WM, Dobrinsky JR (2005). Preselection of sex of offspring in swine for production: current status of the process and its application. Theriogenology, 63:615-624.

Johnson LA (1991). Sex preselection in swine: altered sex ratios in offspring following surgical insemination of flow sorted X- and Y-bearing sperm. Reprod Dom Anim, 26: 309-314.

Κυριάκης Σ, Ματζαρλής Ν. (1980) Εφαρμογή της τεχνητής σπερματεγχύσεως με κατεψυγμένο σπέρμα στους χοίρους. Χοιροτροφικά Νέα, 6: 16-18.

Lavitrano M, Forni M, Bacci ML, Di Stefano C, Varzi V, Wang H, Seren E. (2003). Sperm mediated gene transfer in pig: Selection of donor boars and optimization of DNA uptake. Mol Reprod Dev, 64:284-291.

Martínez EA, Vázquez JM, Roca J, Cuello C, Gil MA, Parrilla I,

Vázquez JL, Day BN. (2005). An update on reproductive technologies with potential short-term application in pig production. Reprod Domest Anim, 40: 300-309.

Martínez EA, Vázquez JM, Roca J, Lucas X, Gil MA, Parrilla I, Vázquez JL, Day BN. (2002). Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. Reproduction, 123:163-170.

Martínez EA, Vázquez JM, Roca J, Lucas X, Gil MA, Parrilla I, Vázquez JL, Day BN. (2001). Successful non-surgical deep intrauterine insemination with small numbers of spermatozoa in sows. Reproduction, 122:289-296.

Matthijs A, Engel B, Woelders H (2003). Neutrophil recruitment and phagocytosis of boar spermatozoa after artificial insemination of sows and the effects of inseminate volume, sperm dose and specific additives in the extender. Reproduction, 125:357-367.

Roberts PK, Bilkei G (2005). Field experiences on post-cervical artificial insemination in the sow. Reprod Domest Anim, 40:489-491.

Robertson SA (2007). Seminal fluid signaling in the female reproductive tract: lessons from rodents and pigs. J Anim Sci, 85(13 Suppl): E36-44.

Rozeboom KJ, Reicks DL, Wilson ME (2004). The reproductive performance and factors affecting on-farm application of low-dose intrauterine deposit of semen in sows. J Anim Sci. 82: 2164-2168.

Tummaruk P, Sumransap P, Techakumphu M, Kunavongkrit A (2007). Distribution of spermatozoa and embryos in the female reproductive tract after unilateral deep intra uterine insemination in the pig. Reprod Domest Anim 42:603-609.

Vázquez JM, Martínez EA, Roca J, Gil MA, Parrilla I, Cuello C, Carvajal G, Lucas X, Vázquez JL (2005a). Improving the efficiency of sperm technologies in pigs: the value of deep intrauterine insemination. Theriogenology, 63:536-547.

Vázquez JM, Martínez EA, Parrilla I, Cuello C, Gil MA, Garcia E et al. (2005b). Laparoscopic intraoviductal insemination with boar spermatozoa. Reprod Domest Anim, 40:375.

Vázquez JM, Martínez EA, Parrilla I, Roca J, Gil MA, Vázquez JL (2003). Birth of piglets after deep intrauterine insemination with flow cytometrically sorted boar spermatozoa. Theriogenology, 59:1605-1614.

Vázquez JL, Martínez EA, Vázquez JM, Lucas X, Gil MA, Parrilla I, Roca J (1999). Development of a non-surgical deep intrauterine insemination technique. In: Proceedings of the IV International Conference on Boar Semen Preservation, p: 35.

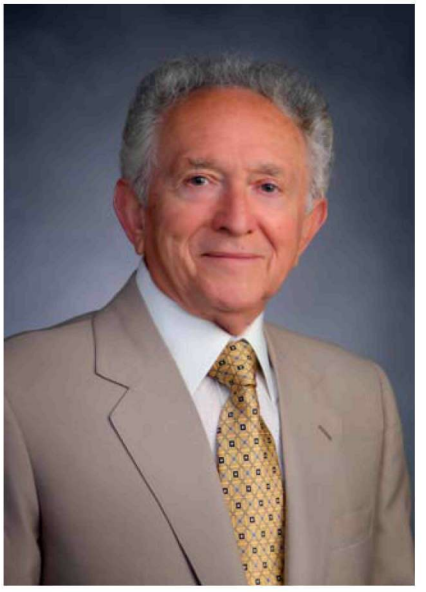
Wagner HG, Thibier M (2000). Word statistics for artificial insemination in small ruminants and swine. 14th International Congress on Animal Reproduction. Abstract 15:3, Stockholm, Sweden.

Watson PF, Behan JR (2002). Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. Theriogenology, 57:1683-1693.

Watson PF (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. Anim Reprod Sci, 60–61:481–492.

Xu X, Pommier S, Arbov T, Hutchings B, Sotto W, Foxcroft GR (1998): In vitro maturation and fertilization techniques for assessment of semen quality and boar fertility. J Anim Sci, 76: 3079–3089.

Όπως πληροφορηθήκαμε από το Journal of the American Veterinary Medical Association, τεύχος 237(5):488,2010 αλλά και από τον ιστοχώρο του SVM/UCDavis με τον τίτλο "School of Veterinary Medicine Confers Highest Honour on Alumni», στις 11 Ιουνίου 2010 ο Κοσμήτορας κ. Bennie Osburn βράβευσε πέντε επιστήμονες μεταξύ των οποίων και το διακεκριμένο συνάδελφό μας κ. Κωνσταντίνο Γενηγεώργη.



Ο κ. Γενηγεώργης, είναι Ομότιμος καθηγητής της Κτηνιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου της Καλιφόρνια, (School of Veterinary Medicine/University of California-Davis), Ομότιμος καθηγητής της Κτηνιατρικής Σχολής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου και Επίτιμο Μέλος της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας (ΕΚΕ). Σύμφωνα με το δημοσίευμα στον καθηγητή κ. Γενηγεώργη απονεμήθηκε η μεγαλύτερη διάκριση της SVM/UCD η οποία αναφέρεται ως, **«2010 Alumni Achievement Award in recognition of national and international contributions to veterinary medicine, food safety and public health».**

Το Διοικητικό Συμβούλιο της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας διερμηνεύοντας τα αισθήματα όλων των συναδέλφων μελών της συγχαίρει το διακεκριμένο συνάδελφο και του εύχεται υγεία και περισσότερες διεθνείς κατακτήσεις.