

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 32, No 4 (1981)

Υπεύθυνοι σύμφωνα με το νόμο

ΔΙΟΙΚΗΤΗΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

Επιστημονικό Σωματείο άνεγχορτισμένο, άρθρο 5410/19.2.1975 Πρωτοδικείου Αθηνών.

Πρόεδρος γιά τό έτος 1981: Κων. Ταρλατζής

ΕΚΔΟΤΗΣ: Έκδίδεται υπό αίρετης πενταμελούς συντακτικής επιτροπής (Σ.Ε.) μελών τής Ε.Κ.Ε.

ΥΠ/ΝΟΣ ΣΥΝΤΑΞΕΩΣ: Ό Πρόεδρος τής Σ.Ε. Λουκάς Εύσταθίου, Ζαλοκώστα 30, Χαλάνδρι. Τηλ. 6823459

Μέλη Σν/κής Έπι.:
 Χ. Παππούς
 Α. Σέμενης
 Ι. Δημητριάδης
 Σ. Κολλάγης

Φοιτοστοιχοθεσία - Έκτύπωση: ΕΠΤΑΛΟΦΟΣ Α.Β.Ε.Ε.

Άρδηντο 12-16 Αθήνα
 Τηλ. 9217513 - 9214820
 ΤΟΠΟΣ ΕΚΔΟΣΕΩΣ: Αθήνα

Ταχ. Διεύθυνση:
 Ταχ. θορίς 407
 Κέντρικο Ταχυδρομείο
 Αθήνα

Συνδρομές:

Έτησια έσωτερικού	δρχ.	500
Έτησια έξωτερικού	*	1000
Έτησια φοιτητών ήμεδαπής	*	300
Έτησια φοιτητών άλλοδαπής	*	500
Τιμή έκστου τόχου	*	200
Ίδρώματα κ.λπ.	*	1000

Address: P.O.B. 407
 Central Post Office
 Athens - Greece

Redaction: L. Efstathiou
 Zalokosta 30,
 Halandri
 Greece

Subscription rates:
 (Foreign Countries)
 \$ U.S.A. 20 per year.



Δελτίον
 ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ
 ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ
 ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β
 ΤΟΜΟΣ 32
 ΤΕΥΧΟΣ 4

ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ - ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ
 1981

Bulletin
 OF THE HELLENIC
 VETERINARY MEDICAL SOCIETY

QUARTERLY
 SECOND PERIOD
 VOLUME 32
 No 4

OCTOBER - DECEMBER
 1981

Έπιταγές και έμβάσματα άποστέλλονται έπ' όνόματι κ. Στ. Μάλιμη κτην. Ίνστι. Ύγεινής και τεχνολογίας Τροφίμων, Ίερά όδός 75, Τ.Τ. 303 Αθήνα. Μελέτες, έπιστολές κ.λπ. άποστέλλονται στον κ. Α. Εύσταθίου, Κτηνιατρικό Ίνστιτούτο Φυσιολογίας, Άναπαγωγής και Διαιτησίας Ζώων, Ναυπόλεος 9-25, Άγία Παρασκευή Άττικής.

The fertility of 11-12 years old frozen bull semen

Γ. ΚΑΠΑΤΖΑΣ, Ν. ΧΑΤΖΗΣ

doi: [10.12681/jhvms.21511](https://doi.org/10.12681/jhvms.21511)

Copyright © 2019, Γ. ΚΑΠΑΤΖΑΣ, Ν. ΧΑΤΖΗΣ



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

To cite this article:

KAPATZAS Γ., & XATZHS N. (2019). The fertility of 11-12 years old frozen bull semen. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 32(4), 324–328. <https://doi.org/10.12681/jhvms.21511>

Η ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΤΑΥΡΟΥ ΠΟΥ ΔΙΑΤΗΡΗΘΗΚΕ ΕΠΙ 11-12 ΧΡΟΝΙΑ

Υπό

Γ. ΚΑΡΑΤΖΑ* και Ν. ΧΑΤΖΗ**

THE FERTILITY OF 11-12 YEARS OLD FROZEN BULL SEMEN

By

G. KARATZAS AND N. HATZIS

SUMMARY

Artificial insemination was performed in 34 cows of a dairy herd by using frozen semen in ampoules from 5 bulls (selected from 450 ampoules) stored in liquid nitrogen from 11-12 years old.

At the same time artificial insemination was also performed in 88 cows of the same herd by using bull frozen semen kept for at most one year in liquid nitrogen.

A total of 14 cows of the 34 were calving (a mean proportion of 46,2%) while 59 cows from the 88 ones (a mean proportion of 68,9%). This difference is very close to be statistically significant ($t=2,18$ d.f. 11 $p \approx 0,05$) of course this result has only an indicative value since it is based on a limited number of observations.

The lower percentage of the semen fertility kept 11-12 years may be attributed to nuclear activity of spermatozoa and to reduced activity of the enzymes of the cap.

The percentage of the embryonic deaths in the two cases were remained low.

The calves that were born from the 11-12 years old semen had normal development.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ἡ ἐπανάσταση ποῦ ἐπῆλθε στὴν τεχνητὴ σπερματέγχυση τῶν ἀγελάδων μὲ τὴν ἐφαρμογὴ τῆς καταψύξεως τοῦ σπέρματος τοῦ ταύρου, γιὰ μιὰ μακροχρόνιο συντήρηση, ἔβαλε καὶ σὲ σκέψη τοὺς ἐρευνητές, ἂν καὶ κατὰ πόσο αὐτὴ ἢ συντήρηση μπορεῖ νὰ ἔχει ἐπίδραση στὴν γονιμότητα τοῦ σπέρματος.

Ἡ πλήρης διεκρίνηση αὐτοῦ τοῦ προβλήματος ἔχει ἓναν ἐδεργετικὸ ὑπολογισμό στὴ διατήρηση μεγάλων ποσοτήτων σπέρματος ἀπὸ ἐκλεκτοὺς ταύρους γιὰ μιὰ μακροχρόνιο καὶ προγραμματισμένη βελτίωση τῆς κτηνοτροφίας.

* Κέντρο Τεχνητῆς Σπερμ/σεως καὶ Νοσημάτων Ἀναπαραγωγῆς Ἀθηνῶν.

** Διεύθυνση Κτηνιατρικῆς Ν. Φθιώτιδας.

Δυστυχώς τὸ ἀντικείμενο αὐτὸ δὲν ἔχει διευκρινισθεῖ πλήρως μέχρι σήμερὰ ἀπὸ τοὺς λίγους ἐρευνητὲς ποὺ ἀσχολήθηκαν μ' αὐτὸ τὸ θέμα. Οἱ B. STRÖM (1968) καὶ FOOTE (1972) δὲν παρατήρησαν καμιά ἐλάττωση στὴν γονιμότητα γιὰ σπέρμα ποὺ διατηρήθηκε μέχρι 2 χρόνια. Προηγουμένως ὁ ROWSON (1956) καὶ PHERSON (1956) εἶχαν διατυπώσει τὴν ἴδια ἄποψη γιὰ σπέρμα διατηρημένο 4 καὶ 3 χρόνια ἀντίστοιχα. Ὁ IRITANI ET AL (1980) ἀναφέρουν ὅτι δὲν παρουσιάσθηκε μείωση στὴν κινητικότητα τοῦ σπέρματος ποὺ διατηρήθηκε 12-16 χρόνια καὶ τὸ ποσοστὸ γονιμότητας μὲ τὴν πρώτη σπερματέγχυση δὲν παρουσίασε σημαντικὲς διαφορές.

Ὁ MIXNER καὶ WIGGINS (1960) διαπίστωσαν μίαν πτώση τῆς γονιμότητας ἀπὸ 66,2% σὲ 56,1% μετὰ ἀπὸ διατήρηση 2 ἐτῶν. Σὲ ἄλλη τους ἐργασία (1964) οἱ ἴδιοι ἐρευνητὲς ὑποστήριξαν ὅτι ἡ γονιμότητα σπέρματος 2 ἐτῶν προσέγγισε ἐκείνη τοῦ φρεσκοτεψυγμένου. Ἦταν ὁμως σαφῶς κατώτερη γιὰ σπέρμα διατηρημένο 4 καὶ 8 χρόνια.

Ὁ STEWART (1961) δὲν βρῆκε σημαντικὲς διαφορὲς στὴν γονιμότητα γιὰ σπέρμα ποὺ διατηρήθηκε γιὰ 1, 2 καὶ 4 χρόνια. Ὅμως τὸ 1964 σὲ ἄλλη ἐργασία του βρῆκε διαφορὰ στὴν γονιμότητα γιὰ σπέρμα 9 ἐτῶν καὶ καθορίζει μίαν μείωση τοῦ ποσοστοῦ γονιμότητας κατὰ 0,8% γιὰ κάθε χρόνο συντηρήσεως.

Ὁ SALISBURY καὶ οἱ συνεργάτες του (1967, 1968, 1970) ὑποστηρίζουν ὅτι δταν τὸ σπέρμα τοῦ ταύρου διατηρεῖται στοὺς -196°C ἡ γονιμότητά του φθάνει σὲ ἓνα ὑψηλὸ ποσοστὸ μετὰ ἀπὸ μερικοὺς μῆνες, παραμένει σ' αὐτὸ τὸ ἐπίπεδο ἐπὶ 5-6 μῆνες καὶ μετὰ ἀρχίζει σταδιακὰ νὰ πέφτει.

Συγχρόνως μὲ τὴν πτώση αὐτὴ ὑπῆρξε καὶ μίαν ἀύξηση τοῦ ἀριθμοῦ τῶν καθυστερημένων ἐπιστροφῶν, ποὺ αὐξάνει μὲ τὸν χρόνο διατηρήσεως τοῦ σπέρματος.

Ἔτσι ὑπαινίσσονται ἔμμεσα, ὅτι ἡ μακροχρόνια διατήρηση τοῦ σπέρματος αὐξάνει καὶ τὴν ἐμβρυϊκὴ θνησιμότητα, ἀφοῦ οἱ καθυστερημένες ἐπιστροφές ἀποδίδονται ἀπὸ παλιὰ στὴν ἐμβρυϊκὴ θνησιμότητα.

Μὲ τὴν ἐργασία αὐτὴ, γίνεται προσπάθεια νὰ διερευνηθεῖ ἐὰν ὑπάρχει διαφορὰ στὴν γονιμότητα τοῦ σπέρματος ποὺ διατηρήθηκε 11-12 χρόνια σὲ ἀμπούλες μέσα σὲ ὑγρὸ ἄζωτο (-196°C), συγκρίνοντάς το μὲ σπέρμα κατεψυγμένο σὲ πλαστικοὺς σωληνίσκους τῶν 0,5 ML μέχρι ἓνα (1) χρόνο.

ΥΛΙΚΑ — ΜΕΘΟΔΟΙ

Κατὰ τὴν παραλαβὴ τοῦ K.T.Σ καὶ N.A Ἀθηνῶν ἀπὸ τοὺς κτηνιάτρους, βρέθηκαν στίς ἐγκαταστάσεις αὐτοῦ νὰ διατηροῦνται 450 περίπου ἀμπούλες τοῦ 1 ML ποὺ περιεῖχαν σπέρμα κατεψυγμένο ταύρου ἀπὸ διάφορες φυλές. Εἶχαν εἰσαχθεῖ ἀπὸ τὶς H.Π.Α. καὶ εἶχαν παρασκευασθεῖ κατὰ τὰ ἔτη 1967 καὶ 1968. (Ἡ ἡμερομηνία καταψύξεως ἦταν γραμμένη ἐπάνω στὴν ἀμπούλα). Ἡ συντήρησή τους στὸ ὑγρὸ ἄζωτο (-196°C) ἦταν συνεχῆς καὶ ἀδιάκοπη.

Ἀπὸ αὐτὲς τὶς ἀμπούλες ξεχωρίσαμε 50 ποὺ ὅπως φαίνεται καὶ στὸν πίνακα I βρισκόνταν σὲ ἱκανοποιητικὰ ἐπίπεδα ἀπὸ ἀπόψεως ἀναβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων μετὰ τὴν ἀπόψυξη (40%-45%).

Ἔγινε καὶ μίαν καταμέτρηση τῶν ἀνωμάτων σπερματοζωαρίων κατὰ τὸν ἀκόλουθο τρόπο. Μία ἀμπούλα ἀποψυχόταν σὲ ὕδατόλουτρο $37-38^{\circ}\text{C}$ καὶ ἀραιωνόταν μὲ 10 CC φυσιολογικὸ ὄρρο. Τὸ διάλυμα αὐτὸ φυγοκεντρωνόταν σὲ 100 g ἐπὶ 15 λεπτά. Μετὰ γινόταν ἔκχυση τοῦ ὑγροῦ ποὺ ἐπέπλεε καὶ ἐναπόθεση μιᾶς μικρῆς σταγόνας ἀπὸ τὸ ἴζημα τῶν σπερματοζωαρίων σὲ μίαν ἀντικειμενοφόρο πλάκα καὶ χρώση τῶν σπερματοζωαρίων μὲ EOSIN-NIGROSIN κατὰ BLOM. Ἡ ἐξέταση γινόταν μὲ καταδυτικὸ φακό. Εἰς ὅλα τὰ δείγματα

που εξετάσαμε σε κανένα τὰ ἀνώμαλα σπερματοζώαρια δὲν ὑπερέβαιναν τὸ 13%.

ΠΕΙΡΑΜΑ

Ἡ ἐργασία ἐγίνε τὸ 1978 καὶ 1979 σὲ μιὰ ἐκτροφή τῆς κοινότητας Καινούργιο τοῦ Νομοῦ Φθιώτιδος.

Χρησιμοποιήσαμε 122 ἀγελάδες τῆς ἐκτροφῆς ποὺ ζοῦσαν σὲ καλὲς συνθήκες διατροφῆς καὶ σταυλισμοῦ. Οἱ ἀγελάδες ἦταν τῆς Φυλῆς Μέλαινας Ποικιλοχρόμου μὲ καλὴ θρεπτικὴ κατάσταση, χωρὶς προβλήματα στειρότητας καὶ ἡλικίας 2-6 χρονῶν. Οἱ ἀγελάδες αὐτὲς χωρίσθηκαν τυχαία σὲ δύο ὁμάδες.

Στὴν πρώτη ὁμάδα τὴν πειραματικὴ ἐγίνε σὲ 34 ἀγελάδες τεχνητὴ σπερματέγχυση μὲ σπέρμα 11-12 χρονῶν (Πίνακας I).

ΠΙΝΑΚΑΣ I

Πρῶτες σπερματεγχύσεις μὲ ἀμποῦλες σπέρματος 11-12 ἐτῶν

The first insemination with frozen semen in ampoules 11-12 years old

A/A	Κ.Α ΤΑΥΡΟΥ	ΦΥΛΗ	ΠΟΣΟΣΤΟ % ΚΙΝΟΥΜΕ- ΝΩΝ ΣΠΕΡ /ΡΙΩΝ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΨΥΞΗ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΓΕΛΑ- ΔΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΓΕΛΑ- ΔΩΝ ΠΟΥ ΓΕΝ- ΝΗΣΑΝ	ΠΟΣΟΣΤΟ %
1.	23083	Μ.Π	45	6	4	66,6
2.	074	Μ.Π.	40	4	3	75,0
3.	1888	Μ.Π.	45	7	2	28,6
4.	B 173	Μ.Π.	40	11	3	27,3
5.	8616	ΣΑΡ.	40	6	2	33,3
			ΣΥΝΟΛΟ	34	14	46,2

Στὴν δευτέρη ὁμάδα ἐγίνε σὲ 88 ἀγελάδες τεχνητὴ σπερματέγχυση μὲ σπέρμα κατεψυγμένο σὲ πλαστικούς σωληνίσκους τῶν 0,5 ML καὶ διατηρούμενο σὲ ὑγρὸ ἄζωτο τὸ πολὺ ἓνα χρόνο (Πίνακας II).

Οἱ σπερματεγχύσεις ἐγιναν καὶ στὶς δύο ὁμάδες ἀπὸ τὸν ἴδιο σπερματεγχύτη καὶ ἐγίνε μιὰ σπερματέγχυση σὲ κάθε πρῶτο ὄργανο.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ἀπὸ τὴν πρώτη ὁμάδα ποὺ δέχτηκε τεχνητὴ σπερματέγχυση μὲ σπέρμα

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙ

Πρώτες σπερματεγχύσεις με σπέρμα καταψυγμένο ταύρου σε πλαστικούς σωληνίσκους των 0,5 ML μέχρι 1 έτους.

The first insemination with frozen semen in payettes kept at most for one year

A/A	ΤΑΥΡΟΣ	ΦΥΛΗ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΓΕΛΑΔΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΟΥ ΓΕΝΝΗΣΑΝ	%
1.	ΒΟΛΓΑΣ	Μ.Π.	20	11	55,00
2.	ΒΙΚΤΩΡ	ΣΙΜ.	10	8	80,00
3.	ΙΑΣΩΝ	Μ.Π.	12	7	58,30
4.	ΤΡΙΤΩΝ	Μ.Π.	8	6	75,00
5.	ΚΛΕΩΝ	Μ.Π.	8	5	62,50
6.	ΚΑΝΤΙΟΣ	Φ.Α.	9	7	70,00
7.	ΣΤΡΥΜΩΝ	Μ.Π.	10	7	72,70
8.	ΑΠΟΛΛΩΝ	Μ.Π.	11	8	
		ΣΥΝΟΛΟ	88	59	68,90

11-12 ετών, από τις 34 αγελάδες γέννησαν οι 14. Ο μέσος όρος των ποσοστών γονιμότητας των 5 ταύρων, που άνηκε το σπέρμα, βρέθηκε ίσος με 46,2%.

Από την δεύτερη ομάδα που δέχτηκε τεχνητή σπερματέγχυση με σπέρμα μέχρι 1 έτους, από τις αγελάδες γέννησαν οι 59.

Ο μέσος όρος των ποσοστών γονιμότητας των 8 ταύρων που άνηκε το σπέρμα βρέθηκε ίσος με 68,90%.

Η διαφορά αυτή των μ.ο αν και σημαντική (22,7%) στατιστικά (δοκιμασία t: t:2,18 df... 11 P ≈ 0,05) βρίσκεται στο όριο 5%.

Πρέπει να σημειωθεί ότι το δείγμα του σπέρματος 11-12 ετών είναι μικρό άφ' ενός και άφ' άλλου οι διάφορες τιμές στηρίζονται σε μικρό αριθμό παρατηρήσεων. Είχε όμως υπέρ αυτού ότι ήταν επιλεγμένο για το ποσοστό των κινουμένων σπερματοζωαρίων μετά την απόψυξη και αναβίωση. Είναι φανερό ότι με ένα πιο αντιπροσωπευτικό δείγμα ή διαφορά αυτή θα ήταν ασφαλώς στατιστικά σημαντική. Βέβαια και οι περισσότεροι από τους έρευνητές πρεσβεύουν ότι μία τόσο μακροχρόνια συντήρηση του σπέρματος του ταύρου επιφέρει και μία ελάττωση στην γονιμότητά του.

Η πτώση αυτή της γονιμότητας οφείλεται κατά τον GRAVES και SALISBURY (1966) στην πυρινική δράση που γίνεται στα σπερματοζωάρια των ταύρων που διατηρούνται στις χαμηλές θερμοκρασίες. Ο SALISBURY

(1967) παρατήρησε έκτεταμένες αλλαγές στις κεφαλές των σπερματοζωαρίων κάτω από ακατάλληλες συνθήκες διατηρήσεως.

Πέρα από αυτά είναι γνωστό ότι όρισμένα ένζυμα, όπως αυτός ο τύπος της φωσφατάσης A που βρίσκεται στο σπέρμα του τράγου και που παράγεται από τους αδένες του COWPER, δεν αδρανοποιούνται στη θερμοκρασία του υγρού άζωτου.

Είναι λοιπόν πολύ πιθανό κάτι ανάλογο να συμβαίνει και για κάποιο από τα ένζυμα που βρίσκονται στην καλύπτρα της κεφαλής των σπερματοζωαρίων και είναι υπεύθυνα για την διάτρηση των στοιβάδων του ωαρίου. Η μη αδρανοποίηση αυτή, του ενός ή και των περισσοτέρων ενζύμων, με την πάροδο του χρόνου επιφέρει τον γηρασμό των και έπομένως και πτώση της γονιμότητας. Μία έρευνα πάνω στο θέμα αυτό θα μās έδινε ίσως ενδιαφέρουσες πληροφορίες.

Και για να επανέλθουμε στο πείραμα, κατά την διάρκειά του δεν παρατηρήσαμε αύξηση των καθυστερημένων επιστροφών στο σπέρμα 11-12 ετών εν συγκρίσει με το σπέρμα του έως 1 έτους. Τα μοσχάρια που γεννήθηκαν ήταν φυσιολογικά, δεν παρουσίαζαν διαμαρτία κατά τη διάπλαση και η ανάπτυξή τους ήταν άριστη.

Νομίζουμε λοιπόν ότι αν και η πτώση του ποσοστού γονιμότητας του σπέρματος του ταύρου είναι δεδομένη, δεν πρέπει να μās αποθαρύνει για την μακροχρόνιο συντήρηση μεγάλων ποσοτήτων σπέρματος από έκλεκτους ταύρους για ένα μακροχρόνιο προγραμματισμό βελτιώσεως της Κτηνοτροφίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σε 34 άγελάδες σ' ένα σταύλο έγινε τεχνητή σπερματέγχυση με σπέρμα κατεψυγμένο, από 5 διαφορετικούς ταύρους, σε άμπούλες του 1 ML έπιλεγμένες από 450 που διατηρήθηκαν 11-12 χρόνια στο υγρό άζωτο (-196°C) και γέννησαν συνολικά 14. Η μέση γονιμότητα του σπέρματος των ταύρων βρέθηκε ίση με 46,2%. Την ίδια περίοδο σε 88 άγελάδες του ίδιου σταύλου έγινε σπερματέγχυση με σπέρμα κατεψυγμένο ρουτίνας, από 8 ταύρους του Κ.Τ.Σ και Ν.Α Αθηνών, σε πλαστικούς σωληνίσκους των 0,5 ML που διατηρήθηκε τό πολύ 1 χρόνο στο υγρό άζωτο (-196°C) και γέννησαν 59 άγελάδες. Η μέση γονιμότητα του σπέρματος των 8 ταύρων βρέθηκε ίση με 68,90%.

Η διαφορά αυτή των μ.Ο των δύο περιπτώσεων, αν και σημαντική 22,7% στατιστικά (δοκιμασία t) βρίσκεται στο όριο 5% (t:2,18 d.f 11 P_≅ 0,05). Το δείγμα του σπέρματος 11-12 ετών είχε ένα μικρό αριθμό παρατηρήσεων. Έαν υπήρχε ένα πιο αντιπροσωπευτικό δείγμα ή διαφορά αυτή θα ήταν άσφαλώς στατιστικά σημαντική.

Η πτώση αυτή της γονιμότητας του σπέρματος του ταύρου σε άμπούλες που διατηρήθηκε 11-12 χρόνια σε υγρό άζωτο (-196°C) εκτός από την πυρινική δράση που γίνεται στην κεφαλή του σπερματοζωαρίου, πρέπει να οφείλεται και σε κάποιο γηρασμό των ενζύμων της καλύπτρας των σπερματοζωαρίων, των υπευθύνων για την γονιμοποίηση.