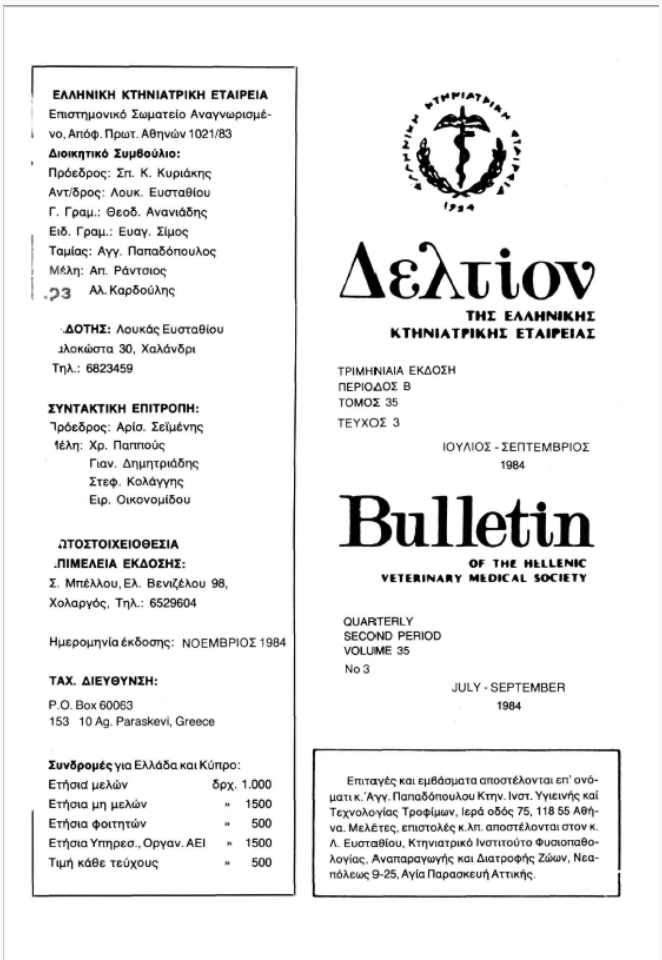
ePublishing

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ
NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 35, No 3 (1984)



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
Επιστημονικό Σωματείο Αναγνωρισμένο, Απόφ. Πρωτ. Αθηνών 1021/83
Διοικητικό Συμβούλιο:
Πρόεδρος: Σπ. Κ. Κυριάκης
Αντ/δρος: Λουκ. Ευσταθίου
Γ. Γραμ.: Θεοδ. Ανανιάδης
Ειδ. Γραμ.: Ευαγ. Σίμος
Ταμίας: Αγγ. Παπαδόπουλος
Μέλη: Απ. Ράντσιος
Αλ. Καρδούλης

ΔΟΤΗΣ: Λουκάς Ευσταθίου
Μοκώστα 30, Χαλάνδρι
Τηλ.: 6823459

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:
Πρόεδρος: Αρίσ. Σεϊμένης
Μέλη: Χρ. Παππούς
Γιαν. Δημητριάδης
Στεφ. Κολάγγης
Ειρ. Οικονομίδου

ΑΤΟΣΤΟΙΧΕΙΟΘΕΣΙΑ
ΠΙΜΕΛΕΙΑ ΕΚΔΟΣΗΣ:
Σ. Μπέλλου, Ελ. Βενιζέλου 98,
Χολαργός, Τηλ.: 6529604

Ημερομηνία έκδοσης: ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 1984

ΤΑΧ. ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ:
P.O. Box 60063
153 10 Ag. Paraskevi, Greece

Συνδρομές για Ελλάδα και Κύπρο:

Ετήσια μελών	δρχ.	1.000
Ετήσια μη μελών	»	1500
Ετήσια φοιτητών	»	500
Ετήσια Υπηρεσ., Οργαν. ΑΕΙ	»	1500
Τιμή κάθε τεύχους	»	500

Δελτίον
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ
ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β
ΤΟΜΟΣ 35
ΤΕΥΧΟΣ 3

ΙΟΥΛΙΟΣ - ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ
1984

Bulletin
OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY

QUARTERLY
SECOND PERIOD
VOLUME 35
No 3

JULY - SEPTEMBER
1984

Επιταγές και εμβάσματα αποστέλονται επ' ονόματι κ. Άγγ. Παπαδόπουλου Κτην. Ινστ. Υγιεινής καί Τεχνολογίας Τροφίμων, Ιερά οδός 75, 118 55 Αθήνα. Μελέτες, επιστολές κ.λπ. αποστέλονται στον κ. Λ. Ευσταθίου, Κτηνιατρικό Ινστιτούτο Φυσιοπαθολογίας, Αναπαραγωγής και Διατροφής Ζώων, Νεαπόλεως 9-25, Αγία Παρασκευή Αττικής.

Isolation of a sheep - embryo after oestrus synchronisation

Ν. Τσερνενές, Β. Λαλιώτης, Σ. Ποΐλας

doi: 10.12681/jhvms.21646

Copyright © 2019, Ν. Τσερνενές, Β. Λαλιώτης, Σ. Ποΐλας

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

To cite this article:

Τσερνενές Ν., Λαλιώτης Β., & Ποΐλας Σ. (2019). Isolation of a sheep - embryo after oestrus synchronisation. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *35*(3), 194–197. https://doi.org/10.12681/jhvms.21646

ΔΕΛΤΙΟΝ ΕΛΛ. ΚΤΗΝ. ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ 1984 Τ35, τ.3

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΕΜΒΡΥΟΥ ΠΡΟΒΑΤΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΣΥΓΧΡΟΝΙΣΜΟ ΤΟΥ ΟΙΣΤΡΟΥ

Ν. ΤΣΕΡΤΣΕΝΕΣ, Β. ΛΑΛΙΩΤΗΣ και Σ. ΠΟΪΛΑΣ

ISOLATION OF A SHEEP – EMBRYO AFTER OESTRUS SYNCHRONISATION

N. TSERTSENES, V. LALIOTIS and S. POILAS

SUMMARY

The Center of Artificial Insemination and Reproductive Diseases of Athens pursuing the embryotrasiantation in the productive Animals began an experimental work of the whole subject.

Subject of the this study was, as a first step, the isolation of sheep - embryo. The research was done in two sheep - hydrid after synchromistation of oestrus by PMSG and prostaglandin.

The isolation of the embryos was achieved by repeated washings of the horns of uterus with Dulbecco' s solution after laparotomy at seventh days post inoculation of P.M.S.G.

The washinliquide were examined at the steroscope, one embryo was isolated and after was photographed.

The embryo was at the stage of morula which coinsides to the 5th day of the natural mating.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το Κέντρο Τεχνητής Σπερματέγχυσης και Νοσημάτων Αναπαραγωγής Αθήνας επιδιώκοντας την μεταμόσχευση εμβρύων στα παραγωγικά ζώα, έθεσε σαν στόχο την πειραματική διερεύνηση του όλου θέματος.

Αντικείμενο μελέτης ήταν σαν πρώτο θήμα η απομόνωση εμβρύων προβάτου. Η έρευνα έγινε σε δύο πρόβατα - μιγάδες μετά από συγχρονισμό του οίστρου με ορμόνη P.M.S.G. και προσταγλανδίνη.

Η λήψη των εμβρύων έγινε μετά από επανειλημμένες εκπλύσεις των κεράτων της μήτρας με διάλυμα Dulbecco' s μετά από λαπαρατομή την εβδόμη μέρα από την έγχυση της P.M.S.G. Ολόκληρο το έκπλυμα της μήτρας εξετάστηκε στο στερεοσκόπιο, διαπιστώθηκε ένα έμβρυο που απομονώθηκε και φωτογραφήθηκε. Το έμβρυο βρισκόταν στο στάδιο του μοριδίου που συμπίπτει και με το χρόνο των 5 ημερών από την ημέρα της φυσικής οχείας.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αναπαραγωγική ικανότητα των κατοικιδίων ζώων αποτελεί τον πιο βασικό παράγοντα αύξησης της ζωικής παραγωγής.

Η συνεχής τάση αύξησης της κατανάλωσης ζωικών προϊόντων έστρεψε τις προσπάθειες των ερευνητών σε νέες μεθόδους εκμετάλλευσης των παραγωγικών ζώων για την αύξηση της παραγωγής.

Πέρασαν περισσότερα από 15 χρόνια από τότε που οι γενετιστές άρχισαν δειλά αλλά σταθερά, σε πειραματική μορφή, να στρέφουν την προσοχή τους στη γρήγορη και πολλαπλή παραγωγή γεννητόρων με υψηλό γενετικό δυναμικό με τη μέθοδο της απομόνωσης και μεταφοράς γονιμοποιημένων ωαρίων από ένα ζώο (δότη), σε ένα ή περισσότερα άλλα (δέκτες) χαμηλού γενετικού δυναμικού.

Η απομόνωση και η μεταφορά εμβρύων είναι μέθοδος βιολογική με μεγάλες δυνατότητες εκμετάλλευσης ζώων με υψηλό γενετικό δυναμικό.

*Κ.Τ.Σ. και Ν.Α. ΥΠΓΕ – Αθήνα – Ιερά Οδός 86 – Βοτανικός.

**Centre of Artificial Insemination and Diseases of Reproduction, Athens Botanical Garden, Iera Odos 86.

Η μέθοδος αυτή:

1. Αξιοποιεί περισσότερα από ένα γονιμοποιημένα ωάρια σε συνδυασμό με την πρόκληση πολλαπλών ωορρηξιών. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία αλλά και πρακτική εφαρμογή κυρίως στα ζώα εκείνα που δίνουν κάθε χρόνο μικρό αριθμό απογόνων (βοοειδή).

2. Αποβλέπει στη γρήγορη αντικατάσταση των ζώων που σήμερα εκτρέφονται με άλλα αποδοτικότερα, επειδή γίνεται μαζική παραγωγή γεννητόρων με πολύ υψηλές αποδόσεις και συμβάλλει θετικά στην Εθνική Οικονομία επειδή μειώνονται σημαντικά οι εισαγωγές ζώων και ζωοκομικών προϊόντων.

3. Αποβλέπει στην αξιοποίηση ζώων μεγάλης ηλικίας με υψηλές αποδόσεις που δεν είναι σε θέση να ολοκληρώσουν μια εγκυμοσύνη.

4. Τέλος η μεταμόσχευση εμβρύων, κυρίως κατεψυγμένων, δίνει τη δυνατότητα να διατηρήσουμε τις φυλές εκείνες των ζώων που εξαφανίζονται.

Η μεταμόσχευση εμβρύων, αφού ξεπέρασε το πειραματικό στάδιο, βρίσκεται πια στην εφαρμογή στις χώρες της Δ. Ευρώπης, στην Αυστραλία, Καναδά και Η.Π.Α..

Για την απομόνωση και μεταφορά εμβρύων παίζουν βασικό ρόλο η ηλικία, τα στάδια ανάπτυξης και οι θέσεις του εμβρύου στη μήτρα (Karg και συν. 1979).

Οι N. W. Moort και Shelton το 1964 και L.E.A. Rowson και K. M. Moor το 1966 απομόνωσαν και μετέφεραν γονιμοποιημένα ωάρια, ηλικίας 48 - 84 ωρών και 5, 7, 9 ημερών, μετά από συγχρονισμό του οργασμού και φυσική οχεία.

Η τεχνική της έκπλυσης των εμβρύων περιγράφεται από τους Hunber κ.α. το 1955. Ακόμα είναι γνωστή η έκπλυση και η μεταφορά εμβρύων 2-3 ημερών στις κατσίκες από τους Armstrong και συν. το 1983.

Η παραγωγή γονιμοποιημένων ωαρίων γίνεται μετά από συγχρονισμό του οργασμού με χρήση προγεστερόνης ή προγεσταγόνων, που χορηγούνται με υποδόρια εμφυτεύματα ή ενδοκολπικούς σπόγγους, σε συνδυασμό με τη χορήγηση ορρογοναδοτροφίνης από ορρό εγκύου φορβάδας (P.M.G.) ή F.S.H.

Πρέπει να σημειωθεί ότι τα τελευταία χρόνια γίνεται χρήση ευρέως της προσταγλανδίνης γιατί μ' αυτή πετυχαίνονται καλύτερα αποτελέσματα.

Ο συνδυασμός των ενδοκολπικών σπόγγων, της P.M.S.G. και της προσταγλανδίνης F2a για συγχρονισμό οίστρου και πολλαπλή ωορρηξία στις κατσίκες αναφέρεται από τον Armstrong κ.α. το 1983.

Η εργασία μας αυτή είχε σαν σκοπό την πειραματική διερεύνηση, τον εντοπισμό και την απομόνωση εμβρύων προβάτου και πραγματοποιήθηκε την άνοιξη του 1984 με πρώτο βήμα την απομόνωση εμβρύου προβάτου.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το πειραματικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν δύο πρόβατα μιγάδες (δότες) του Κέντρου Τεχνητής Σπερματέγχυσης και Νοσημάτων Αναπαραγωγής Αθήνας, ηλικίας 3 και 4 χρόνων, με σωματικό βάρος 50 - 60 χιλιόγραμμα αντίστοιχα. Τα πρόβατα ήταν σε καλή θρεπτική κατάσταση και είχαν στο ενεργητικό τους 3 - 4 τοκετούς.

Ο συγχρονισμός έγινε με τη χρησιμοποίηση ενδοκολπικών σπόγγων εμποτισμένων με 60 mg οξικής μεδροξυπρογεστερόνης (M.A.P.), συνθετικό προγεσταγόνο (Beramix sheer sponges της Upjohn Ελλάς).

Η εξαγωγή των σπόγγων έγινε ύστερα από 14 μέρες από την εισαγωγή και με ταυτόχρονη ενδομυική έγχυση 800 IU P.M.S.G.

Μετά από 12 ώρες έγινε ενδομυική έγχυση 10 ml Lutalyse Upjohn, ανάλογο της προσταγλανδίνης F2a. Αφού πέρασαν 48 ώρες από την έγχυση του P.M.S.G. έγιναν δύο (2) οχείες σε διάστημα 12 ωρών.

Πέντε (5) μέρες από την τελευταία επίβαση έγινε επέμβαση για την έκπλυση των εμβρύων. Για την γενική νάρκωση χρησιμοποιήθηκε το Rompun (4 ml ενδομυικά).

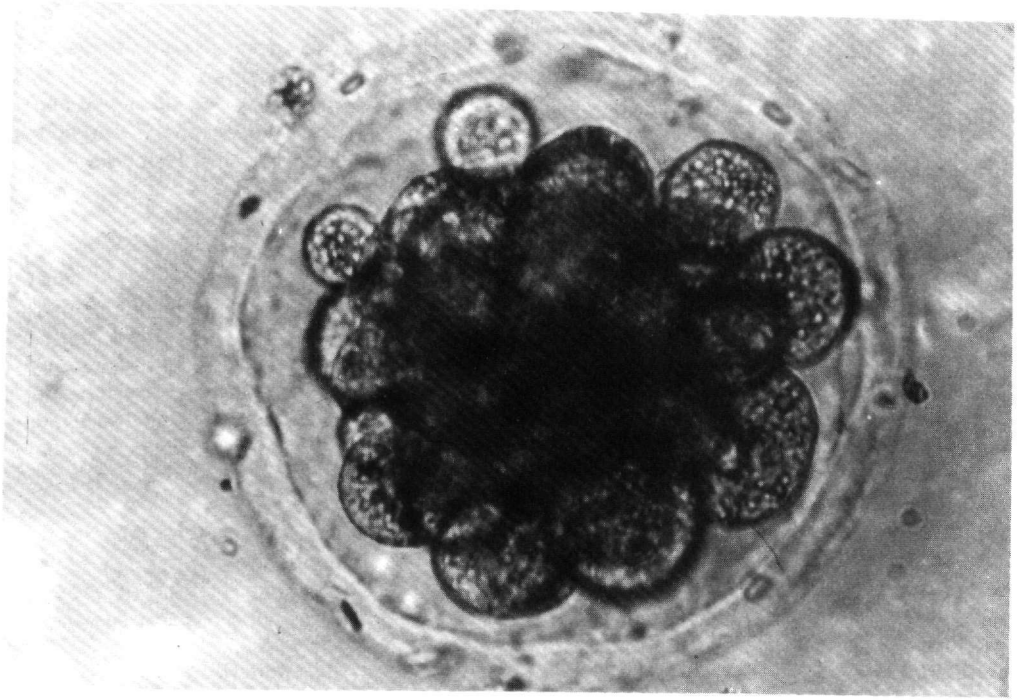
Η έκπλυση έγινε μετά από λαπαροτομή.

Η τομή που είχε μήκος 5 εκ. έγινε στη δεξιά προηβική χώρα, παράλληλα στη λευκή γραμμή και εξωτερικά από την κοιλιακή φλέβα, μπροστά από τη βάση του μαστού. Μετά τη λαπαρατομή έγινε εξαγωγή της μήτρας και των ωωθηκών στο εγχειρητικό πεδίο και ακινητοποιήθηκε με αποστειρωμένη γάζα στη βάση της.

Σε απόσταση 2 - 3 εκ. από τη βάση των κεράτων έγινε παρακέντηση, αρχικά στο δεξιό κέρας και μετά στο αριστερό, με τυφλή βελόνα και ακολούθησε η εισαγωγή παιδιατρικού καθετήρα, τύπου Foley No 12.

Η παλλινδρόμηση του υγρού έκπλυσης πρός το σώμα της μήτρας εμποτίστηκε με εισαγωγή 5 ml αέρα στον καθετήρα.

Για την έκπλυση των εμβρύων χρησιμοποιή-



Φωτ. 1
Γονιμοποιημένο ωάριο προβάτου 5 ημερών.
Στάδιο μοριδίου

θηκε διάλυμα Dulbecco' s phosphate - buffered saline (P.B.S.) με P.h. 7,2 και αδρανοποιημένο ορρό προβάτου (55° C επί 30΄)

Η θερμοκρασία του διαλύματος ήταν στους 38° C.

Αρχικά με σύριγγα έγινε έγχυση 10 ml διαλύματος μέσα στο κέρας και η επαναφορά του μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα έγινε από την ίδια οδό με ελαφρές μαλάξεις του κέρατος απο πάνω προς τα κάτω. Για κάθε κέρας η έκπλυση επαναλήφθηκε 3 φορές.

Ακολούθησε επανατοποθέτηση της μήτρας, συρραφή των τοιχωμάτων και αντιβίωση για 2 μέρες.

Το έκπλυμα τοποθετήθηκε σε γυάλινες πλάκες ωρολογίου και εξετάστηκε στο στερεοσκόπιο. Η διαδικασία αυτή επαναλήφτηκε και στο άλλο πρόβατο.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κατά την εξέταση του εκπλύματος και των δύο προβάτων εντοπίστηκαν και απομονώθηκαν τρία ωάρια, από τα οποία το ένα ήταν γονιμοποιημένο και τα άλλα δύο αγονιμοποίητα.

Χαρακτηριστικό γνώρισμα του γονιμοποιημένου ωαρίου ήταν το στάδιο της ανάπτυξής του. Βρισκόταν στο στάδιο του μοριδίου που αντιστοιχεί στο χρόνο των πέντε ημερών από την ημέρα της οχείας (Φωτ. 1).

Το έμβρυο μεταφέρθηκε σε κοίλη αντικειμενοφόρα πλάκα μικροσκοπίου και φωτογραφήθηκε.

Η έκπλυση ήταν αποδοτική μόνο στο ένα πρόβατο που στην δεξιά ωοθήκη εντοπίσθηκαν δύο ωχρά σωμάτια και στην αριστερή ένα.

Από το άλλο πρόβατο που είχε δύο ωχρά σωμάτια στη δεξιά ωοθήκη δεν εντοπίστηκαν ωάρια.

Σύμφωνα με το αποτέλεσμα της πειραματικής αυτής διερεύνησης αλλά και άλλων παρόμοιων που έγιναν μέχρι σήμερα στο Κέντρο μας, πιστεύουμε ότι:

1. Η απομόνωση εμβρύων προβάτου είναι δυνατή με έκπλυση μετά από λαπαρατομή. Η μέθοδος μειονεκτεί λόγω πιθανών συμφύσεων που μπορεί να προκληθούν, αλλά είναι η μόνη που εφαρμόζεται επειδή δεν είναι δυνατή η έκπλυση από τον τράχηλο.

2. Για την απομόνωση εμβρύων καταλλήλων για μεταμόσχευση ο ενδεδειγμένος χρόνος είναι μεταξύ 3 και 5 ημερών από την οχεία, γιατί τότε αρχίζει η κάθοδος των εμβρύων στη μήτρα και βρίσκονται στο στάδιο του μοριδίου 8, 16, 32 ή και περισσοτέρων κυττάρων.

3. Χρειάζεται βελτίωση της μεθόδου έκπλυσης των εμβρύων και εφαρμογή της σε μεγάλο αριθμό προβάτων για να εξαχθούν συμπεράσματα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. MOORE, N. W. & SHELTON, J. N. (1964) Egg transfer in sheep. Effect of synchronization between donor and recipient, age of egg, and site of transfer on the survival of transferred eggs. J. Reprod. Fert. 7, 145.

2. ROWSON, L. E. A. & MOOR, R. M. (1966) Embryo transfer in the sheep: the significance of synchronizing oestrus in the donor and recipient animal. J. Reprod. Fert. 11, 207 - 212.

3. HUNTER, G. L., ADAMS, C. E. & ROWSON, L. E. A. (1955) Interbreed ovum transfer in sheep. J. Agric. Sci. 46, 143.

4. ARMSTRONG, D. T, PFITZNER, A. P, WARNES, G. M, RALPH, M. M, & SEAMARK, R.F. (1983). Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. J. Reprod. Fert. 67, 395.

5. ARNSTRONG, D. T, PFITZNER, A. R, WARNES, G. M, & SEAMARK, R. F. (1983) Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats.

6. KARG H. D. SCHAMS, B HOFFMANN R. CLAUS. New Erkenntnisse der Endokrinologie der Fortpflanzung (Der Praktische Tierarzt 7, 1979).