

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΤΜΗΜΑ ΛΑΡΙΣΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΟΙΣΤΡΟΥ ΚΑΙ ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΑΜΝΑΔΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΙΚΡΗΣ ΔΙΑΡΚΕΙΑΣ ΑΓΩΓΗ ΜΕ ΠΡΟΓΕΣΤΑΓΟΝΑ

ΜΑΡΙΑ – ΧΡΥΣΟΒΑΛΑΝΤΟΥ ΣΤΑΤΗΡΑ

Κτηνίατρος

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

που εκπονήθηκε στο Γενικό Τμήμα Λάρισας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Επιβλέπουσα Καθηγήτρια
Ειρήνη Βαλάση**

Λάρισα 2020

Στην οικογένειά μου....

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ειρήνη Βαλάση, Αναπληρώτρια καθηγήτρια ΠΘ

Αικατερίνη Θεοδοσιάδου, Αναπληρώτρια καθηγήτρια ΠΘ

Σεραφείμ Παπαδόπουλος, Αναπληρωτής καθηγητής ΠΘ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ	3
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
Πρόλογος - Σκοπός	8
Ευχαριστίες	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι	11
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	
A. Φυσιολογία αναπαραγωγής των προβατίνων	12
Αρχές νευροενδοκρινολογίας αναπαραγωγής	12
Ενήβωση	16
Αναπαραγωγικό πρότυπο προβατίνων	22
Ωθητικός ή οιστρικός κύκλος	23
Ένοιστρη περίοδος	25
Άνοιστρη περίοδος	26
Δυναμική ανάπτυξης ωθυλακίων στις προβατίνες	27
B. Ρύθμιση και έλεγχος του οιστρικού κύκλου	29
Μέθοδοι ρύθμισης και ελέγχου των οιστρικών κύκλων σε προβατίνες	30
Επίδραση αρσενικού	30
Χορήγηση προγεσταγόνων με ή δίχως χορήγηση ίππειας χοριακής γοναδοτροπίνης	31
Χορήγηση μελατονίνης	34
Χορήγηση προσταγλανδίνης F _{2α} ή συνθετικών αναλόγων αυτής	35
Συνδυασμός Συνδυασμός χορήγησης προγεσταγόνων και PGF _{2α} , με ή δίχως χορήγηση eCG	36
Εναλλακτικά πρωτοκόλλα ρύθμισης της ωθητικής δραστηριότητας	36
Πρώιμη έναρξη της αναπαραγωγικής δραστηριότητας σε αμνάδες	37

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II	39
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ	
A. Υλικά και Μέθοδοι	40
Στοιχεία εκτροφής προβάτων	40
Πειραματικός σχεδιασμός	40
Στατιστική Ανάλυση	42
B. Αποτελέσματα	43
Ανίχνευση οίστρου	43
Διάγνωση κυοφορίας – καταγραφή τοκετών	44
ΚΕΦΑΛΑΙΟ III	45
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	45
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	49
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	50

Κατάλογος συντομογραφιών

Δ.Θ.Κ.: δείκτης θρεπτικής κατάστασης
 Σ.Β.: σωματικό βάρος
 CIDR: controlled internal drug release
 CRH: corticotropin releasing hormone/ απελευθερωτική ορμόνη της επινεφριδιοφλοιοτρόπου ορμόνης
 E₂: οιστραδιόλη-17β
 eCG: equine chorionic gonadotrophin/ ίππεια χοριακή γοναδοτροπίνη
 FGA: fluorogestone acetate/ οξική φθοριογεστόνη
 FSH: follicle stimulating hormone/ ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη
 GHIH: growth hormone inhibiting hormone/ ανασταλτική ορμόνη της αυξητικής ορμόνης
 GHRH: growth hormone releasing hormone/ απελευθερωτική ορμόνη της αυξητικής ορμόνης
 GnRH: gonadotropin releasing hormone/ απελευθερωτική ορμόνη των γοναδοτρόπων ορμονών
 IU: international units/ διεθνείς μονάδες
 KNDy: Kisspeptin, Neurokinin B, Dynorphin (κισπεπτίνη, νευροκινίνη Β, δυνορφίνη)
 LH: lutenizing hormone/ ωχρινοποιητική ορμόνη
 MPA: medroxyprogesterone acetate/ οξική μεδροξυπρογεστερόνη
 P₄: progesterone/ προγεστερόνη
 PGF_{2α}: prostaglandin F_{2α}/ προσταγλανδίνη F_{2α}
 PIH: prolactin inhibiting hormone/ ανασταλτική ορμόνη της προλακτίνης
 PRLH: prolactin releasing hormone/ απελευθερωτική ορμόνη της προλακτίνης
 TRH: thyrotropin releasing hormone/ απελευθερωτική ορμόνη της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε σε αμνάδες η επίδραση της μικρής διάρκειας αγωγής με προγεσταγόνα α) στην εμφάνιση οίστρου, β) στη γονιμότητα και γ) στον δείκτη πολυδυμίας μετά από φυσική οχεία. Σαράντα-τρεις αμνάδες ημιαίμης φυλής, ηλικίας 7-8 μηνών (Μέσο Σωματικό Βάρος: 38,8 κιλά, Δείκτης Θρεπτικής Κατάστασης: 2,5 - 3,5) χωρίστηκαν τυχαία σε τρεις ομάδες, οι οποίες ήταν η ομάδα L (μεγάλης διάρκειας αγωγή, n=16), η ομάδα S (μικρής διάρκειας αγωγή, n=16) και η ομάδα C (μάρτυρες, χωρίς ορμονική αγωγή, n=11). Στα ζώα των ομάδων L και S διενεργήθηκε ορμονική αγωγή με σκοπό την πρόκληση και τον συγχρονισμό των οίστρων με τοποθέτηση ενδοκολπικά σπόγγων προγεσταγόνων για 14 και 7 ημέρες, αντίστοιχα, καθώς και έγχυση 250 IU eCG κατά την αφαίρεση των σπόγγων. Η ανίχνευση του οίστρου και οι οχείες έγιναν από πέντε κριούς με ειδικά επιστήθια σήμανσης, κατά τη διάρκεια 26 ημερών για τις ομάδες C και S, και 19 ημερών για την ομάδα L, μετά την αφαίρεση των σπόγγων. Όταν ανιχνευόταν οίστρος ή γινόταν οχεία αλλαζόταν το χρώμα του επιστήθιου. Η διάγνωση κυοφορίας έγινε 60 ημέρες μετά την εισαγωγή των σπόγγων.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι 16/16 αμνάδες της ομάδας L, 13/16 της ομάδας S εμφάνισαν οίστρο μετά την ορμονική αγωγή, ενώ μόνο 3/11 της ομάδας C σημάνθηκαν από τους κριούς κατά το ίδιο χρονικό διάστημα. Το ποσοστό εγκυμοσύνης και το ποσοστό τοκετών ήταν στην ομάδα L 12/16 και 10/16 αντίστοιχα, στην ομάδα S 9/16 και 9/16 αντίστοιχα, και στην ομάδα C 5/11 και 2/11 αντίστοιχα ($P \geq 0,058$ για όλες τις συγκρίσεις). Η μέση τιμή των αρνιών που γεννήθηκαν ανά αμνάδα ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα S (1,44) σε σύγκριση με την ομάδα L (1,0) και C (1,0) ($P=0.034$). Η μελέτη καταδεικνύει ότι η μικρής διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία σε αμνάδες λίγο πριν την έναρξη της πρώτης οιστρικής περιόδου τους, διότι προκαλεί συγχρονισμό των οίστρων και οδηγεί στη γέννηση αυξημένου αριθμού αρνιών σε σύγκριση με τη μεγάλη διάρκειας αγωγή.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πρόλογος - Σκοπός

Η εκτροφή προβάτων και αιγών αποτελεί τον σημαντικότερο κλάδο ζωικής παραγωγής στην Ελλάδα. Σε ευρωπαϊκό επίπεδο, η Ελλάδα αποτελεί την τρίτη χώρα σε αριθμό εκτρεφόμενων προβάτων με πληθυσμό περίπου 9.000.000 (Eurostat 2020). Αποτελεί παραδοσιακό κλάδο, καθώς ασκείται σε εκτατική – νομαδική μορφή εδώ και αιώνες. Είναι ο μόνος κλάδος της ελληνικής ζωικής παραγωγής που εμφανίζει ρυθμούς αύξησης, εξασφαλίζοντας εισόδημα και εργασία σε χιλιάδες αγροτικές οικογένειες (ΕΛΣΤΑΤ 2016). Ταυτόχρονα, αποτελεί διαχρονική διαπίστωση ότι υπάρχουν πολλά περιθώρια για ποσοτική και ποιοτική αύξηση της παραγωγής πρόβειου και κατσικίσου γάλακτος και κρέατος, με ταυτόχρονη βελτίωση και εκσυγχρονισμό του συστήματος εκτροφής και της διαχείρισης των εκτρεφόμενων ζώων.

Η εκτροφή προβάτων και αιγών στην Ελλάδα άλλαξε πολύ τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Μία σειρά παραγόντων έχει οδηγήσει σε ουσιαστική μεταβολή της παραδοσιακής αυτής μορφής εκτροφής. Η αύξηση της ζήτησης σε πρόβειο γάλα, λόγω της χρήσης του στην παραγωγή φέτας, καθώς και παραδείγματα ιδιαίτερα εντατικών προβατοτροφικών συστημάτων, σε χώρες, όπως η Γαλλία και η Ισπανία, έχουν μεταβάλει τη διάρθρωση αυτή, με αποτέλεσμα την ανάδειξη εκμεταλλεύσεων, οι οποίες στηρίζονται σε υψηλές επενδύσεις σε κεφάλαιο και στη χρήση εμπορικών ζωοτροφών αντί της βόσκησης. Πρωταρχικός στόχος των κτηνοτρόφων, σήμερα, είναι η αναβάθμιση, ο εκσυγχρονισμός και η συστηματοποίηση της παραγωγής, μέσω της χρήσης τεχνικών και εφαρμογών ακρίβειας που προσφέρουν απόλυτη διαχειριστική ευχέρεια σε επίπεδο εκτροφής, μεγιστοποιώντας έτσι την παραγωγή και το όφελος της.

Για την επίτευξη των στόχων αυτών, απαραίτητη προϋπόθεση είναι η βέλτιστη διαχείριση της αναπαραγωγής των ζώων. Η ρύθμιση της ωοθηκικής δραστηριότητας με διάφορα φαρμακευτικά σχήματα στοχεύει στη βελτίωση της κερδοφορίας της εκτροφής, μέσω της καλύτερης οργάνωσης των τοκετών και του γενικότερου πλάνου διαχείρισης υγείας της εκτροφής που έχουν ως αποτέλεσμα τη συνολική μείωση του κόστους παραγωγής. Για την αναπαραγωγική διαχείριση εφαρμόζονται τα κατάλληλα για κάθε εκτροφή πρωτοκόλλα συγχρονισμού των οίστρων των ζώων, λαμβάνοντας υπόψη τους εκάστοτε στόχους, το διαθέσιμο ζωικό κεφάλαιο, τις εποχικές συνθήκες καθώς και τις ιδιαιτερότητες κάθε εκτροφής.

Ανάμεσα στους δείκτες που αξιολογούν την αναπαραγωγική απόδοση ενός ζώου, είναι και η ηλικία της πρώτης γονιμοποίησης και του πρώτου τοκετού. Αυτή καθορίζει την παραγωγική και αναπαραγωγική απόδοση των αμνάδων μέχρι και το τέλος της παραγωγικής τους ζωής (Hernandez et al 2011). Η σωστή διαχείριση των αμνάδων είναι απαραίτητη για την αύξηση της αναπαραγωγικής απόδοσης. Εφόσον αυτά αποτελούν ζώα αντικατάστασης, πρέπει να γεννήσουν μέσα στην περίοδο των τοκετών, ώστε να αποδώσουν εισόδημα στον κτηνοτρόφο (Valasi et al 2012).

Διάφορες φυσικές και ορμονικές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της ωοθηκικής δραστηριότητας στα μικρά μηρυκαστικά. Η συνήθης ορμονική μέθοδος που εφαρμόζεται για τον συγχρονισμό των οίστρων συνίσταται στον συνδυασμό χορήγησης προγεσταγόνων και ίππειας χοριακής γοναδοτροπίνης, καθώς χορηγούνται εύκολα και είναι ευρέως διαθέσιμα στην αγορά, αλλά έχουν και μειονεκτήματα. Η χρήση τους μέσα στην αναπαραγωγική περίοδο μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης σε σύγκριση με τον φυσικό οίστρο (Vinoles et al 2001, Abecia et al 2011). Τα αρνητικά αποτελέσματα στο ποσοστό γονιμοποίησης αποδίδονται στην ωοθυλακιόρρηξια γερασμένων ωοθυλακίων, στις μεταβολές του τρόπου απελευθέρωσης της LH, στη μεταφορά του σπέρματος και στην επιβίωση του μέσα στον γεννητικό σωλήνα του θηλυκού (Johnson et al 1996, Vinoles et al 2001, Abecia et al 2011). Επίσης, η χρήση των προγεσταγόνων έχει απαγορευτεί (π.χ. Η.Π.Α.) ή είναι υπό εξέταση σε κάποιες χώρες, λόγω των πιθανών καταλοίπων (Martemucci and D'Alessandro 2010, Abecia et al 2011) και ζητημάτων ευζωίας (π.χ. κολπίτιδα, κατακράτηση σπύγγου) (Abecia et al 2011). Η κολπίτιδα που αποδίδεται στη μακρόχρονη παραμονή του σπύγγου, επιδρά αρνητικά στη γονιμότητα, εξαιτίας της αλλαγής της μικροβιακής χλωρίδας και της προκαλούμενης φλεγμονής (Manes et al 2015, Martinez-Ros et al 2018b). Συνεπώς, διερευνώνται νέες μέθοδοι συγχρονισμού που βασίζονται σε τροποποίηση της διάρκειας εφαρμογής ή των δόσεων των ορμονών που χρησιμοποιούνται στα συνήθη πρωτοκόλλα, χωρίς να υποβαθμίζεται η αποτελεσματικότητά τους (Abecia et al 2011).

Σε ενήλικες προβατίνες πέραν από τη μακράς διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα, έχει δοκιμαστεί και η μικρής διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα, με ποικίλα αποτελέσματα που εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες, όπως είναι η φυλή, η ηλικία, η δόση των ορμονών και η μέθοδος γονιμοποίησης (Vinoles et al 2001, Menchaca and Rubianes 2004, Papadopoulos et al 2017). Η μικρής διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα δεν έχει εφαρμοσθεί μέχρι στιγμής σε αμνάδες λίγο πριν την έναρξη της πρώτης αναπαραγωγικής τους περιόδου. Η αγωγή αυτή θα μπορούσε να οδηγήσει σε βελτίωση της γονιμότητας των αμνάδων αφού, σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες που έγιναν σε ενήλικες προβατίνες, βελτιώνει την ποιότητα των ωαρίων και το ποσοστό γονιμοποίησης (Vinoles et al 2001, Menchaca and Rubianes 2004, Papadopoulos et al 2017).

Για τον σκοπό αυτό, η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε για τη μελέτη, σε αμνάδες λίγο πριν την έναρξη της πρώτης αναπαραγωγικής τους περιόδου, της επίδρασης της μικρής διάρκειας αγωγής με προγεσταγόνα στην εμφάνιση οίστρου, καθώς και στη γονιμότητα και στον δείκτη πολυδυμίας μετά από φυσική οχεία.

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ θερμά την Αναπληρώτρια καθηγήτρια του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Ειρήνη Βαλάση, η οποία μου έδωσε την ευκαιρία να εκπονήσω αυτή τη μεταπτυχιακή διατριβή και την επέβλεψε, εκπαιδεύοντας, καθοδηγώντας και υποστηρίζοντάς με από τον σχεδιασμό έως την περαίωσή της. Με δίδαξε ότι όλα είναι δυνατά, παρέχοντας λύσεις σε όσες πρακτικές δυσκολίες προέκυπταν.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας κ. Σεραφείμ Παπαδόπουλο, για την ουσιαστική βοήθειά του. Επίσης, ευχαριστώ την Αναπληρώτρια καθηγήτρια του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Αικατερίνη Θεοδοσιάδου για την πολύτιμη συμβολή της. Ευχαριστώ τον Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας και συντονιστή του ΠΜΣ κ. Δημήτριο Καντά για την βοήθεια του σε όποιο πρακτικό θέμα προέκυπτε.

Ευχαριστίες, επίσης, απευθύνω στον κτηνοτρόφο Βασίλειο Χασιώτη και την οικογένεια του για την πρόθυμη συμμετοχή τους στη μελέτη.

Ευχαριστώ την αδελφική μου φίλη και Επίκουρη καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας κ. Ναταλία Βασιλείου για την έμπρακτη βοήθειά της τόσο στη διενέργεια του πειραματισμού όσο και την ηθική υποστήριξη που μου προσφέρει σε κάθε βήμα της επαγγελματικής σταδιοδρομίας μου.

Τέλος, ευχαριστώ ιδιαίτερα τους γονείς μου και τον σύντροφό μου, που παραμένουν πάντα δίπλα μου δείχνοντας υπομονή και κατανόηση. Με υποστήριξαν σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης αυτής της διατριβής, πιστεύοντας πάντα στις δυνατότητές μου και παρακινώντας με διαρκώς να μένω προσηλωμένη στον στόχο μου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

A. Φυσιολογία αναπαραγωγής των προβατίνων

Τα πρόβατα είναι εποχικώς πολυοιστρικά ζώα, δηλαδή αναπαράγονται συγκεκριμένες εποχές του έτους, ώστε να εξασφαλίσουν τη γέννηση αρνιών σε περίοδο που οι συνθήκες, από άποψη θερμοκρασίας και διαθεσιμότητας τροφής, ευνοούν την επιβίωσή τους, που συμπίπτει συνήθως με την άνοιξη (Abecia et al 2011).

Αρχές νευροενδοκρινολογίας αναπαραγωγής

Η ρύθμιση της αναπαραγωγής των μικρών μηρυκαστικών βρίσκεται, κυρίως, υπό τον νευρο-ενδοκρινικό έλεγχο του άξονα «υποθάλαμος-υπόφυση-ωθήκες». Σημαντικό, ωστόσο, ρόλο στη ρύθμιση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας των μικρών μηρυκαστικών διαδραματίζουν η επίφυση και ο θυρεοειδής αδένας. Η εποχική αναπαραγωγική δραστηριότητα στα μικρά μηρυκαστικά ελέγχεται, κυρίως, από τη φωτοπερίοδο. Οι μεταβολές της φωτοπεριόδου επηρεάζουν τον άξονα «υποθάλαμος-υπόφυση-ωθήκες» μέσω των αλλαγών που προκαλεί η μελατονίνη στην έκκριση της GnRH (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Ο υποθάλαμος είναι το νευρικό κέντρο ελέγχου της έκκρισης των ορμονών που ρυθμίζουν την αναπαραγωγή (Senger 2003). Στον υποθάλαμο παράγονται οι απελευθερωτικές (CRH, TRH, GHRH, GnRH, PRLH) και οι ανασταλτικές (GHIH, PIH) ορμόνες των ορμονών του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης, αλλά και ορμόνες που αποθηκεύονται στον οπίσθιο λοβό της υπόφυσης (ADH, ωκυτοκίνη) (Σμοκοβίτης 2014). Ο υποθάλαμος περιέχει και το κέντρο προωθυλακιόρρηκτης κορύφωσης ή κυκλικό κέντρο και το τονικό κέντρο έκκρισης της GnRH. Τα κέντρα αυτά ρυθμίζουν την έκκριση των γοναδοτρόπων ορμονών. Η τονική έκκριση ρυθμίζεται από την αρνητική επίδραση των στεροειδών ορμονών, ενώ η προωθυλακιόρρηκτης έκκριση από τη θετική επίδραση των οιστρογόνων (Βαλάση και Μενεγάτος 2011). Την τελευταία δεκαετία, ερευνητικά δεδομένα αποδεικνύουν την υπόθεση πως μία ομάδα νευρώνων στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου που περιέχουν κισπεπτίνη, νευροκίνη Β και δυνορφίνη (KNDy νευρώνες) είναι υπεύθυνοι για τον συγχρονισμό της έκκρισης της GnRH σε κάθε ώση της (Nestor et al 2018). Τα νευρικά κύτταρα του υποθαλάμου που εκκρίνουν κισπεπτίνη, έχουν υποδοχείς των στεροειδών και φαίνεται να αποτελούν τον σύνδεσμο, ώστε να συμβεί η παλίνδρομη ρύθμιση της έκκρισης της GnRH από τα στεροειδή. Αυτοί οι νευρώνες διαδραματίζουν ρόλο τόσο στη θετική όσο και στην αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση της έκκρισης της GnRH από τα σεξοτρόπα στεροειδή (Smith and Clarke 2010).

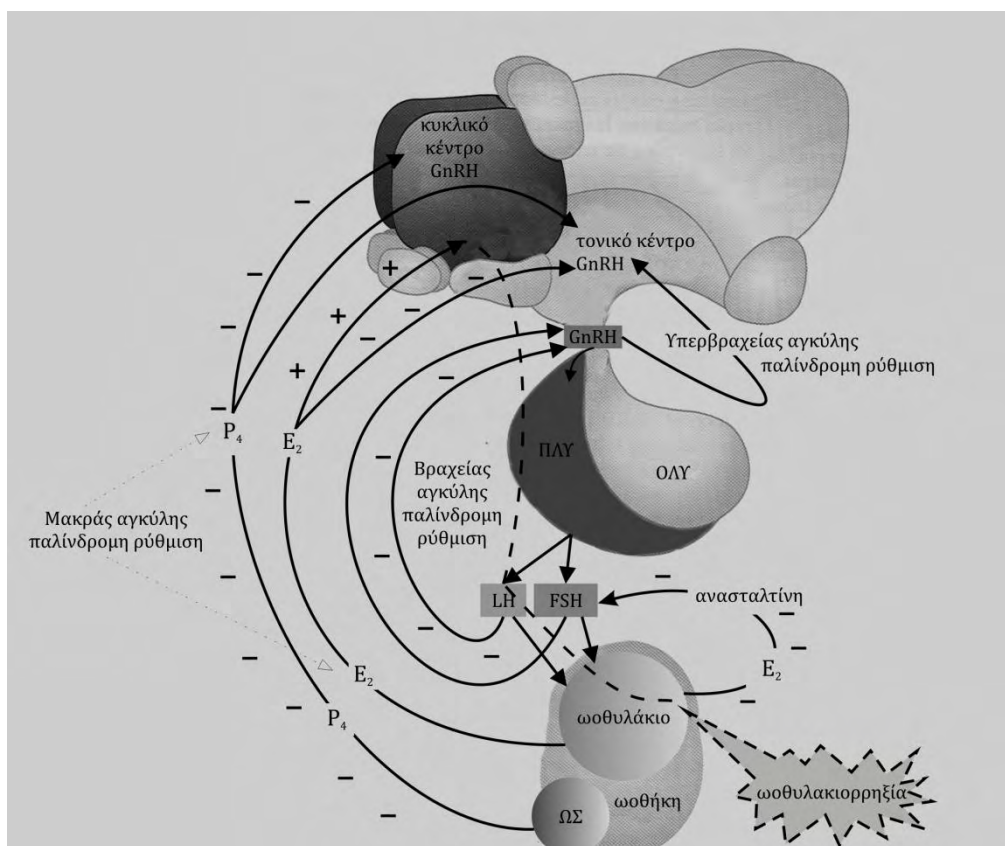
Η GnRH δρώντας στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης προκαλεί τη σύνθεση και απελευθέρωση των γοναδοτρόπων ορμονών, που είναι η ωθυλακιότροπος ορμόνη (FSH) και η ωχρινοποιητική ορμόνη (LH). Η υπόφυση διακρίνεται στον πρόσθιο λοβό ή αδενόυπόφυση, στη διάμεση μοίρα και

στον οπίσθιο λοβό ή νευροϋπόφυση. Ορμόνες της αδενούπόφουσης που συνδέονται άμεσα με την αναπαραγωγή των μικρών μηρυκαστικών είναι οι γοναδοτρόπες ορμόνες (ωοθυλακιοτρόπος και ωχρινοποιητική ορμόνη) και η προλακτίνη, καθώς και η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη, η οποία ελέγχει την παραγωγή και την έκκριση των ορμονών του θυρεοειδούς αδένου (Βαλάση και Μενεγάτος 2011, Σμοκοβίτης 2014) .

Η FSH διεγείρει την ανάπτυξη ωοθυλακίων και την παραγωγή οιστρογόνων από αυτά. Τα κύτταρα-στόχος της είναι τα κοκκώδη κύτταρα των ωοθυλακίων. Σε συνδυασμό με την LH, η FSH επάγει τον σχηματισμό υποδοχέων LH στα κοκκώδη κύτταρα, ώστε αυτά να καταστούν ευαίσθητα στη δράση της LH. Η LH προκαλεί την ωχρινοποίηση των κοκκωδών κυττάρων και των κυττάρων της έσω θήκης των ωοθυλακίων, επάγει την παραγωγή ανδρογόνων και προγεστερόνης και προκαλεί την ωοθυλακιορρηξία. Τα κύτταρα-στόχος της LH είναι τα κύτταρα της έσω θήκης του ωοθυλακίου και τα ωχρινικά κύτταρα (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Οι ωοθήκες παράγουν και συνθέτουν στεροειδείς ορμόνες και πεπτίδια. Οι στεροειδείς ορμόνες, με βάση τη χημική σύσταση ή τη βιολογική δράση τους, διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες την προγεστερόνη, τα ανδρογόνα και τα οιστρογόνα. Οι κυριότερες στεροειδείς ορμόνες, που παράγονται από την ωοθήκη, είναι τα οιστρογόνα (οιστραδιόλη-17β, οιστρόνη) και η προγεστερόνη. Η παραγωγή της προγεστερόνης γίνεται, κυρίως, στα ωχρινικά κύτταρα, καθώς και στα κύτταρα της έσω θήκης του ωοθυλακίου, υπό την επίδραση της LH (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Η σύνθεση και έκκριση των ορμονών του υποθαλάμου ρυθμίζεται από τις ορμόνες της υπόφυσης και από τις στεροειδείς ορμόνες, μέσω μηχανισμών παλίνδρομης ρύθμισης (Εικόνα 1). Η GnRH, μόλις εκκριθεί, δρα στα κύτταρα των πυρήνων των κέντρων του υποθαλάμου και προκαλεί αναστολή της έκκρισης της. Οι γοναδοτρόπες ορμόνες ασκούν αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στην έκκριση της GnRH, χωρίς τη μεσολάβηση των γονάδων. Οι στεροειδείς ορμόνες επιδρούν στην έκκριση των γοναδοτρόπων ορμονών, είτε τροποποιώντας την έκκριση της GnRH από τον υποθάλαμο, είτε δρώντας απευθείας στα γοναδοτρόπα κύτταρα της υπόφυσης. Κατά τον πρώτο τρόπο δράσης, οι στεροειδείς ορμόνες (οιστρογόνα και προγεστερόνη) ασκούν θετική ή αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στην έκκριση της GnRH από τον υποθάλαμο. Κατά τον δεύτερο τρόπο δράσης, η οιστραδιόλη αυξάνει την ευαισθησία της υπόφυσης στη δράση της GnRH, διεγείροντας την έκφραση των υποδοχέων της GnRH, ενώ η προγεστερόνη ασκεί αντίθετη δράση (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

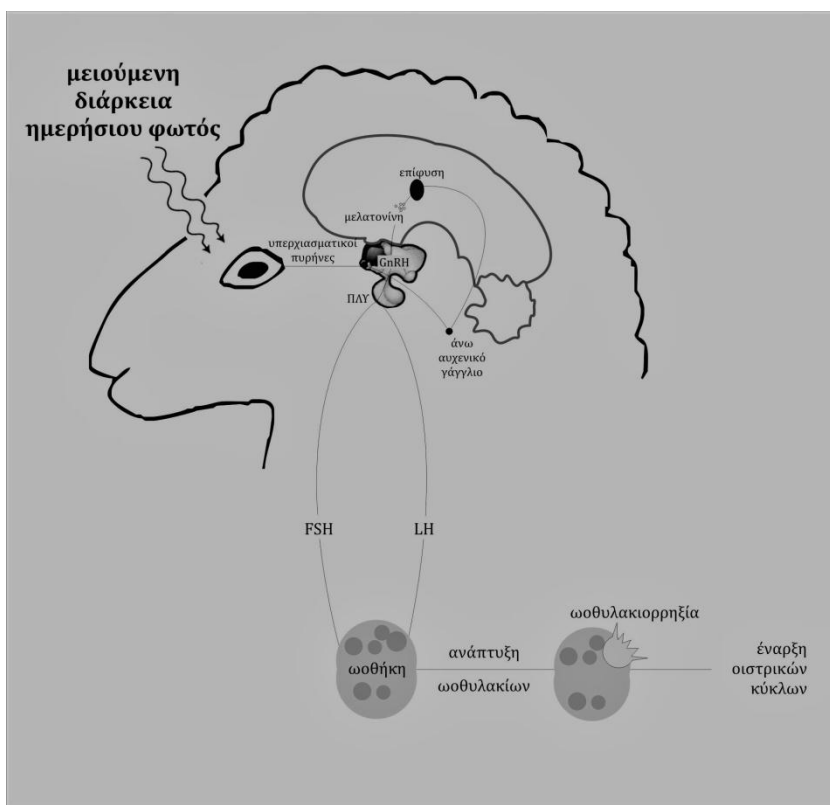


Εικόνα 1: Ενδοκρινικοί μηχανισμοί παλίνδρομης ρύθμισης της έκκρισης GnRH και των γοναδοτρόπων ορμονών στον άξονα «υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες» (τροποποιημένη, Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Η αυξημένη συγκέντρωση προγεστερόνης και η χαμηλή συγκέντρωση οιστραδιόλης ασκούν αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στο τονικό και στο κυκλικό κέντρο έκκρισης της GnRH. Η προγεστερόνη αναστέλλει τη συχνότητα έκκρισης της GnRH, ενώ η οιστραδιόλη το εύρος έκκρισης της, δρώντας στους KNDy νευρώνες. Η δράση αυτή της προγεστερόνης οφείλεται στην αύξηση της απελευθέρωσης δυνορφίνης, ενώ της οιστραδιόλης στη μείωση της απελευθέρωσης κισπεπτίνης στους νευρώνες της GnRH (Nestor et al., 2018). Η αυξημένη συγκέντρωση οιστραδιόλης σε περιβάλλον χαμηλής συγκέντρωσης προγεστερόνης (μετά την ωχρινόλυση) ασκεί θετική παλίνδρομη ρύθμιση στο κέντρο προωοθυλακιορρηκτικής κορύφωσης της GnRH και ακολούθως της LH. Η δράση της οιστραδιόλης αυξάνει την ευαισθησία της υπόφυσης στη δράση της GnRH και, επίσης, αυξάνει τη σύνθεση υποδοχέων GnRH στα γοναδοτρόπα κύτταρα της υπόφυσης. Η έκκριση της FSH ελέγχεται, εκτός από την GnRH, από την αυξημένη συγκέντρωση της οιστραδιόλης και από την ανασταλτίνη, μέσω αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Στην προηβική και στην άνοιστρη περίοδο, η οιστραδιόλη ασκεί αυξημένη αρνητική επίδραση στην τονική έκκριση της GnRH, καθώς και των LH και FSH. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη συχνότητα έκκρισης GnRH. Η εποχικότητα της αναπαραγωγικής δραστηριότητας των ενήλικων θηλυκών μικρών μηρυκαστικών καθορίζεται από την ευαισθησία του υποθαλάμου στην αρνητική επίδραση της οιστραδιόλης. Η αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση της οιστραδιόλης στην τονική έκκριση της GnRH και ακολούθως της LH είναι μικρή κατά την ένοιστρη περίοδο, αυξάνεται κατά τη μετάβαση στην άνοιστρη περίοδο και παραμένει αυξημένη έως τη μετάβαση στην επόμενη ένοιστρη περίοδο (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Η μελατονίνη συντίθεται, από την τρυπτοφάνη, στην επίφυση. Η σύνθεση και η έκκριση της μελατονίνης συμβαίνουν, κυρίως, κατά τη διάρκεια του σκότους, οπότε η συγκέντρωση μελατονίνης είναι αυξημένη σε περιόδους μικρής διάρκειας ημερησίου φωτισμού, δηλαδή το φθινόπωρο και τον χειμώνα. Η επίφυση επηρεάζει την έκκριση των ορμονών του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης, αποτελώντας τον ενδιάμεσο κρίκο στην επίδραση της φωτοπεριόδου στην αναπαραγωγική λειτουργία (Σμοκοβίτης 2014).



Εικόνα 2: Η επίδραση της φωτοπεριόδου στην έκκριση μελατονίνης, η οποία διεγείρει την έκκριση GnRH και γοναδοτρόπων ορμονών και την έναρξη των οιστρικών κύκλων (τροποποιημένη, Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Η μελατονίνη διεγείρει την έκκριση της GnRH η οποία με τη σειρά της προκαλεί την έκκριση των γοναδοτροπινών και την έναρξη των οιστρικών κύκλων (Εικόνα 2). Απ' ότι φαίνεται, η μελατονίνη δεν δρα απευθείας στους νευρώνες της GnRH, αλλά εμμέσως μέσω ενός δικτύου διάμεσων νευρώνων (Βαλάση και Μενεγάτος 2011). Συγκεκριμένα, η μελατονίνη ενεργοποιεί στους A15 δοπαμινεργικούς νευρώνες που νευρώνουν τους KNDy νευρώνες. Η οιστραδιόλη αυξάνει την απελευθέρωση δοπανίνης απ' αυτούς τους νευρώνες για την αναστολή των KNDy νευρώνων και καταστέλλει την απελευθέρωση της κισπεπίνης και της GnRH (Nestor et al 2018).

Ενήβωση

Η ενήβωση είναι μία σταδιακή διαδικασία που κατά τη διάρκεια της, το ζώο αποκτά την αναπαραγωγική ικανότητα του σε σχέση με τη φυσιολογία, τη μορφολογία και τη συμπεριφορά του (Valasi et al 2012). Διάφορα κριτήρια έχουν χρησιμοποιηθεί για τον ορισμό της ενήβωσης στα θηλυκά ζώα, όπως η ηλικία του πρώτου οίστρου, η ηλικία της πρώτης ωοθυλακιορρηξίας και η πρώτη εγκυμοσύνη. Στην πράξη, η ηλικία στην οποία είναι δυνατή η γονιμοποίηση και η ολοκλήρωση της κυοφορίας αποτελεί τον πιο ασφαλή ορισμό της ενήβωσης στα θηλυκά ζώα. Ο πρώτος οίστρος μπορεί να μην είναι έκδηλος και η πρώτη ωοθυλακιορρηξία είναι συνήθως σιωπηλή, διότι δεν συνοδεύεται από εκδηλώσεις οίστρου. Εξάλλου, ο χρόνος που συμβαίνει η ωοθυλακιορρηξία είναι δύσκολο να προσδιοριστεί γιατί απαιτεί υπερηχογραφική εξέταση των ωοθηκών ή προσδιορισμό της συγκέντρωσης της LH. Έτσι, η ηλικία του πρώτου οίστρου μπορεί να μην αντικατοπτρίζει την πραγματική ενήβωση (Senger 2003).

Από νευροενδοκρινολογική σκοπιά, ενήβωση είναι η ενεργοποίηση του δικτύου παραγωγής και έκκρισης της GnRH και η ωρίμανση του άξονα «υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες» (Βαλάση και Μενεγάτος 2011). Κατά την ενήβωση παρατηρείται αυξημένη ικανότητα των προσυναπτικών νευρώνων στη μεταφορά πληροφοριών στους νευρώνες της GnRH, ώστε να εκκρίνεται ανάλογα GnRH. Η λειτουργία αυτών των νευρώνων επηρεάζεται από την υγεία των ζώων, τη διατροφή, την κοινωνική συμπεριφορά, το γενετικό υπόβαθρο και τις συνθήκες διαβίωσης. Η αυξημένη έκκριση GnRH από τον υποθάλαμο είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του άξονα «υπόφυση-ωοθήκες» κατά την ενήβωση (Robinson 1996, Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

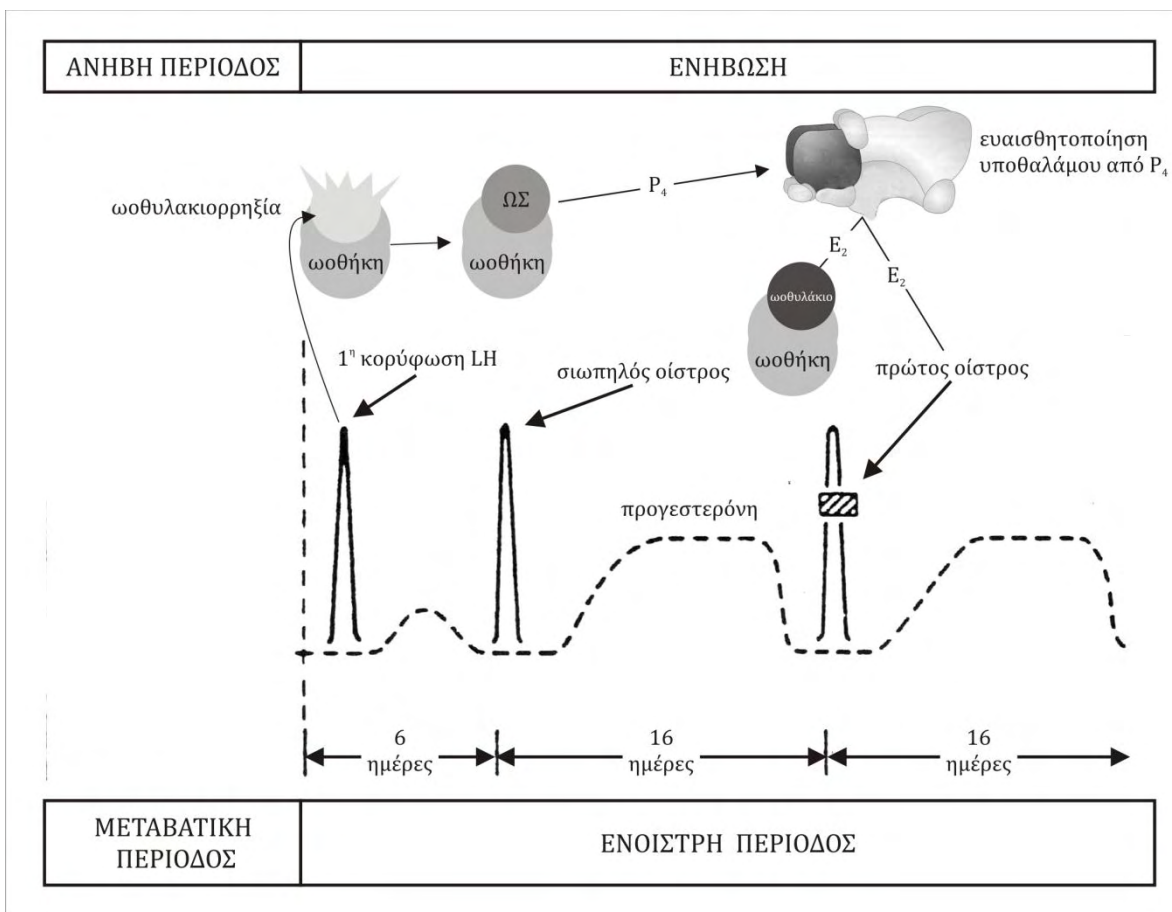
Εκτός από τα παραπάνω, η ενήβωση είναι το αποτέλεσμα της μείωσης της ευαισθησίας του υποθαλάμου και της υπόφυσης στην αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση της οιστραδιόλης που παρατηρείται κατά την προηβική ζωή. Η μείωση της αρνητικής επίδρασης της οιστραδιόλης στην LH οδηγεί σε αύξηση της συχνότητας έκκρισης LH μία έως τρεις εβδομάδες πριν την προωοθυλακιορρηκτική έκκριση της. Έτσι, διεγείρεται η ανάπτυξη-ωρίμανση των ωοθυλακίων, τα

οποία τελικά παράγουν οιστραδιόλη. Σε ικανή συγκέντρωση αυτή προκαλεί προωθυλακιορρηκτική έκκριση της GnRH και των γοναδοτρόπων ορμονών και τελικά, ωθυλακιορρηξίες και σχηματισμό ωχρών σωματίων. Η προγεστερόνη που παράγεται από αυτά θα επαυξήσει τη δράση των οιστρογόνων του επόμενου ωθητικού κύκλου, με αποτέλεσμα την εμφάνιση οίστρου και ωθυλακιορρηξίας. Στις αμνάδες το κέντρο προωθυλακιορρηκτικής κορύφωσης της έκκρισης της GnRH είναι αρκετά ευαίσθητο στη θετική δράση της οιστραδιόλης. Όμως, ο υποθάλαμος δεν μπορεί να εκκρίνει GnRH σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις, ώστε να προκληθεί από την υπόφυση κορύφωση της έκκρισης της LH, επειδή η συγκέντρωση της οιστραδιόλης είναι χαμηλή. Η αδυναμία αύξησης της συγκέντρωσης της οιστραδιόλης, πιθανότατα οφείλεται στην ανεπάρκεια της τονικής έκκρισης της LH, λόγω ελλιπούς έκκρισης GnRH. Στις αμνάδες η χαμηλή συγκέντρωση της οιστραδιόλης ασκεί αυξημένη αρνητική επίδραση στην τονική έκκριση της GnRH, με αποτέλεσμα να μειώνεται η συχνότητα έκκρισης της LH (Βαλάση και Μενεγάτος 2011, Valasi et al 2012). Η επίδραση αυτή της οιστραδιόλης στη συχνότητα έκκρισης της GnRH οφείλεται στη μείωση της απελευθέρωσης κισπεπτίνης και στην αύξηση της απελευθέρωσης δυνορφίνης, κάτι που, όμως, εξασθενεί καθώς πλησιάζει ο χρόνος της ενήβωσης (Nestor et al 2018). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας των Redmond και συν (2011), η χορήγηση κισπεπτίνης σε άνηβες αμνάδες προκάλεσε αύξηση της συχνότητας έκκρισης της LH, διέγερση της ανάπτυξης ωθυλακίων, οδηγώντας σε αύξηση της στεροειδογένεσης και επαγωγή της προωθυλακιορρηκτικής έκκρισης της LH, με αποτέλεσμα την ωθυλακιορρηξία και την ωχρινοποίηση του ρηχθέντος ωθυλακίου.

Η έναρξη της κυκλικότητας κατά την ενήβωση μοιάζει με τη μετάβαση των ενήλικων προβατίνων από την άνοιστρη στην ένοιστρη περίοδο (Rawlings and Bartlewski 2007) (Εικόνα 3). Πλησιάζοντας στον χρόνο ενήβωσης, η πρώτη κορύφωση της έκκρισης των γοναδοτρόπων ορμονών προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης της προγεστερόνης για χρονικό διάστημα ανάλογο με εκείνο της ωχρινικής φάσης του οιστρικού κύκλου των προβατίνων (12 έως 14 ημέρες). Όμως, συχνά προκαλείται αύξηση της συγκέντρωσης της προγεστερόνης, η οποία είναι μικρής διάρκειας (2 έως 8 ημέρες) και μικρού εύρους (0,5 έως 2 ng/ml). Αυτοί οι κύκλοι μικρής διάρκειας σχετίζονται με ανεπαρκή ωχρινοποίηση και μειωμένη διάρκεια ζωής του ωχρού σωματίου. Η πρώτη ωθυλακιορρηξία μπορεί να μην συνοδεύεται από οίστρο και ονομάζεται «σιωπηλός οίστρος». Παρατηρείται στο τέλος της πρώτης φυσιολογικής διάρκειας ωχρινικής φάσης, παρότι έχει αναφερθεί και στο τέλος μικρής διάρκειας ωχρινικής φάσης. Αυτό θεωρείται ότι οφείλεται στη σταδιακή μείωση της ευαισθησίας του υποθαλάμου στην αρνητική επίδραση της οιστραδιόλης. Επίσης, έχει αποδοθεί στην ανάγκη διέγερσης του υποθαλάμου από την προγεστερόνη, πριν το ζώο παρουσιάσει εκδηλώσεις οίστρου (Βαλάση και Μενεγάτος 2011, Bartlewski et al 2011).

Συνεπώς, το τέλος της πρώτης φυσιολογικής διάρκειας ωχρινικής φάσης χαρακτηρίζεται από απότομη μείωση της συγκέντρωσης προγεστερόνης. Αυτή η μείωση ακολουθείται από μεγάλη

αύξηση της συγκέντρωσης LH και FSH, ταχεία αύξηση της συγκέντρωσης της οιστραδιόλης, με αποτέλεσμα την κορύφωση της συγκέντρωσης της LH και της FSH οδηγώντας στον πρώτο οίστρο και σε ωοθυλακιορρηξία (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

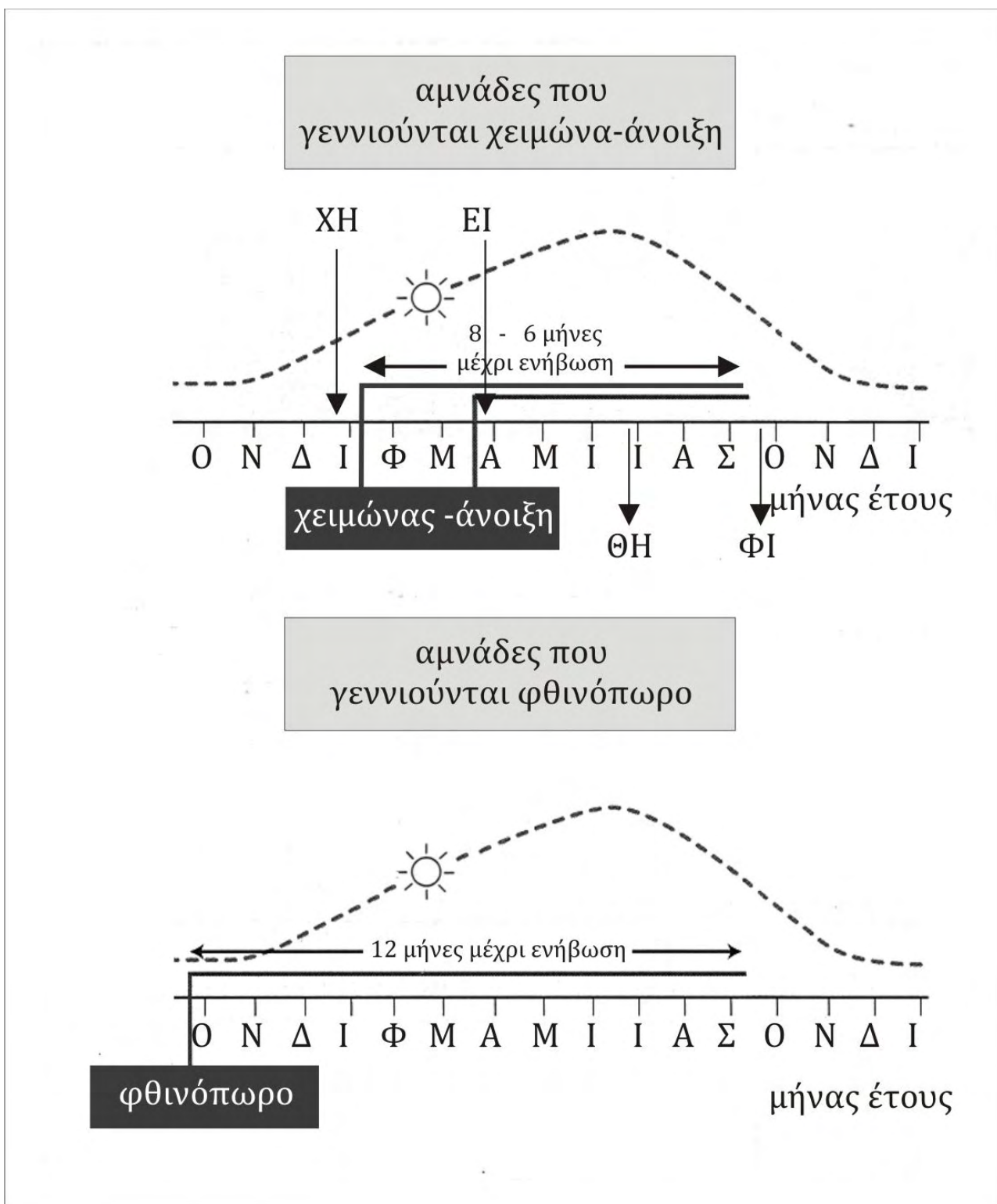


Εικόνα 3: Ορμονικές αλληλεπιδράσεις και ωοθηκική δραστηριότητα κατά την ενήβωση (τροποποιημένη, Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Ο χρόνος ενήβωσης των θηλυκών μικρών μηρυκαστικών καθορίζεται από το ενδοκρινικό και γενετικό υπόβαθρο των ζώων που εξαρτάται από πολλούς ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες, όπως είναι η φωτοπερίοδος, η εποχή της γέννησης, ο ρυθμός σωματικής ανάπτυξης, ο μεταβολισμός, η διατροφή και η θρεπτική κατάσταση, η καταπόνηση, το κλίμα, η υγεία (απουσία ή παρουσία νοσημάτων) και ο συγχρωτισμός με αρσενικά και άλλα θηλυκά ζώα. Συνήθως, οι αμνάδες, ανάλογα με τη φυλή και την εποχή γέννησής τους, ενηλώνονται σε ηλικία 6 έως 9 μηνών. Αμνάδες φυλών με πρώιμη ανάπτυξη ενηλώνονται νωρίτερα σε σχέση με ζώα φυλών με καθυστερημένη ανάπτυξη. Στις κυριότερες ελληνικές φυλές προβάτων (Καραγκούνικη, Χίου) έχει προσδιοριστεί ότι η

ηλικία ενήβωσης είναι περίπου 8 μήνες για αμνάδες που γεννήθηκαν τον χειμώνα (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Στα μικρά μηρυκαστικά, ως εποχικώς πολυοιστρικά ζώα, η φωτοπερίοδος διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στον χρόνο της ενήβωσης. Συγκεκριμένα, τα νεαρά θηλυκά μικρά μηρυκαστικά για να ενηβωθούν πρέπει αρχικά να διαβιούν σε εποχή αυξανόμενης φωτοπεριόδου, δηλαδή χειμώνα και άνοιξη και στη συνέχεια σε εποχή μειούμενης φωτοπεριόδου, δηλαδή καλοκαίρι και φθινόπωρο (Βαλάση και Μενεγάτος 2011). Στα πρόβατα, η διάρκεια της άνηβης ζωής εξαρτάται από τη διάρκεια της άνοιξης περιόδου κάθε φυλής. Φυλές προβάτων που κατάγονται από και ζουν κοντά στον Ισημερινό (τροπικό κλίμα) ενηβώνονται νωρίτερα σε σχέση με εκείνες των εύκρατων περιοχών. Επομένως, η ημερομηνία γέννησης επηρεάζει τον χρόνο ενήβωσης, εφόσον δεν μεταβληθεί η φυσική φωτοπερίοδος. Συνήθως, αμνάδες που έχουν γεννηθεί τον χειμώνα ή την άνοιξη, ενηβώνονται κατά την διάρκεια του επόμενου φθινοπώρου, ενώ ακόμη και ζώα που γεννιούνται το φθινόπωρο δεν ενηβώνονται πριν την ηλικία των 10 έως 12 μηνών (δηλαδή το επόμενο φθινόπωρο) (Εικόνα 4). Αυτό μεγιστοποιεί το ενδεχόμενο τα ζώα, ανεξάρτητα από τον ακριβή χρόνο γέννησής τους, να μην γονιμοποιηθούν στο τέλος του καλοκαιριού ή στην αρχή του φθινοπώρου, αλλά προς το μέσον ή τέλος του φθινοπώρου. Η καθυστέρηση του χρόνου ενήβωσης στα ζώα που γεννιούνται το φθινόπωρο, σε σχέση με όσα γεννιούνται τον χειμώνα ή την άνοιξη, αποδίδεται στην ελεγχόμενη από τη φωτοπερίοδο καθυστέρηση της μείωσης της αρνητικής επίδρασης της οιστραδιόλης στην τονική έκκριση της LH (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).



Εικόνα 4: Επίδραση της εποχής γέννησης και της φωτοπεριόδου στην ηλικία ενήβωσης (ΧΗ: χειμερινό ηλιοστάσιο, ΕΙ: εαρινή ισημερία) (τροποποιημένη, Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Η απόκτηση ενός ελάχιστου σωματικού βάρους, το οποίο παραλλάσσει μεταξύ των φυλών, θεωρείται καθοριστικός παράγοντας για την ενήβωση. Γενικά, αυτό ορίζεται σε τουλάχιστον 60-65% του βάρους του ενήλικου ζώου. Η διατροφή μπορεί να προκαλέσει καθυστέρηση ή επιτάχυνση του χρόνου ενήβωσης. Συγκεκριμένα, ζώα που διατρέφονται καλά και παρουσιάζουν καλό ρυθμό ανάπτυξης μπορεί να ενηβωθούν νωρίτερα σε σχέση με εκείνα που δεν διατρέφονται σωστά και έχουν χαμηλό ρυθμό ανάπτυξης. Οι υψηλής συχνότητας ώσεις της GnRH επηρεάζονται από την περιεκτικότητα του αίματος σε γλυκόζη και λιπαρά οξέα. Χρόνιες καταστάσεις καταπόνησης μειώνουν την έκκριση της αυξητικής ορμόνης, της θυροειδοτρόπου ορμόνης και των γοναδοτρόπων ορμονών, με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται η σωματική ανάπτυξη και επομένως η ενήβωση. Μάλιστα, τα άνηθα μικρά μηρυκαστικά είναι πιο ευαίσθητα σε διατροφικές διαταραχές σε σχέση με τα ενήλικα (Valasi et al 2012).

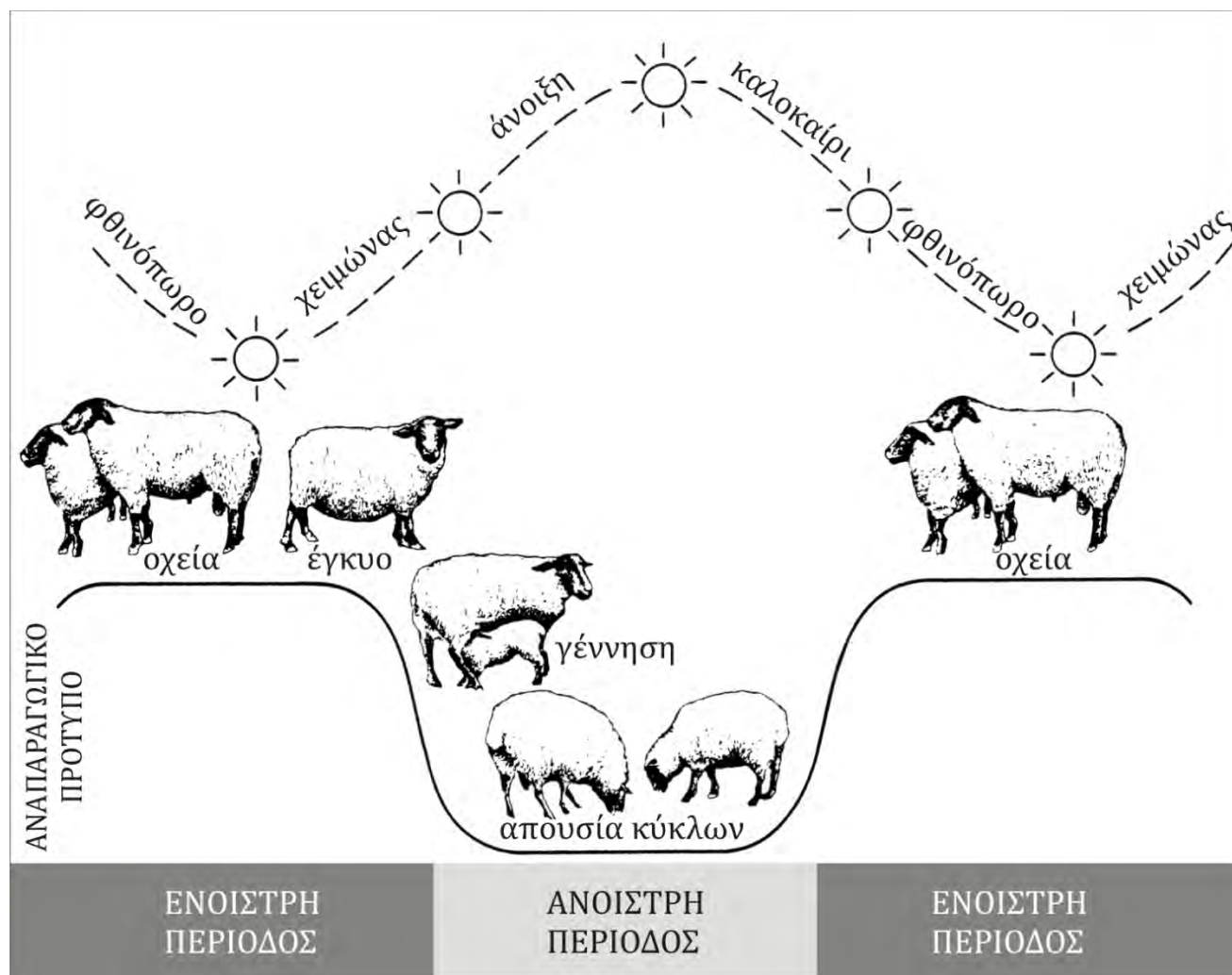
Η αρχική θεώρηση για την απόκτηση ενός «κρίσιμου-ελάχιστου βάρους» ώστε να εκδηλωθεί η ενήβωση επεκτάθηκε στη θεώρηση για διαθεσιμότητα μίας «κρίσιμης ποσότητας μεταβολικών καυσίμων». Διάφορες μεταβολικές ορμόνες και νευροπεπτίδια συμμετέχουν στη διαδικασία της ενήβωσης. Η λεπτίνη παράγεται στον λιπώδη ιστό και αποτελεί την κύρια μεταβολική ορμόνη που σηματοδοτεί στον υποθάλαμο την ενεργειακή κατάσταση του ζώου. Η ινσουλίνη αποτελεί μία ακόμη μεταβολική ορμόνη που συμμετέχει στην ενήβωση και μάλιστα έχει βρεθεί αύξηση στη συγκέντρωση τόσο της ινσουλίνης όσο και της λεπτίνης λίγο πριν την ενήβωση σε θηλυκά και αρσενικά πρόβατα. Επειδή δεν έχουν βρεθεί υποδοχείς λεπτίνης στους νευρώνες της GnRH, προφανώς η επίδραση αυτή της λεπτίνης στον υποθάλαμο γίνεται μέσω ενός σύνθετου δικτύου πεπτιδίων (νευροπεπτίδιο Υ, αγγειοκινητικό εντερικό πεπτίδιο, ορεξίνη κ.ά.) που ρυθμίζει τόσο την έκκριση των γοναδοτρόπων ορμονών όσο και την πρόσληψη τροφής. Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι η κισπεπτίνη με τον υποδοχέα της GRP54 συμμετέχει στη ρύθμιση αυτή και μάλιστα διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη μεταβολική ρύθμιση της ενήβωσης, κάτι που ενισχύει περαιτέρω την αναγκαιότητα μιας «κρίσιμης μεταβολικής κατάστασης». Επίσης, στα θηλυκά μικρά μηρυκαστικά φαίνεται να υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ κάποιων μεταβολικών ορμονών (λεπτίνη, γκρελίνη, ορεξίνη) και της φωτοπεριόδου, η οποία αποτελεί τον βασικό και καθοριστικό παράγοντα για την ενήβωση (Valasi et al 2012).

Η επίδραση της κοινωνικότητας και της παρουσίας αρσενικών ζώων στην ηλικία ενήβωσης έχει παρατηρηθεί στα νεαρά μικρά μηρυκαστικά, εφόσον βεβαίως το θηλυκό ζώο έχει αποκτήσει ικανό σωματικό μέγεθος και θετικό ενεργειακό ισοζύγιο. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της οσφρητικής αναγνώρισης των φερομονών και άλλων αισθητήριων ερεθισμάτων που επηρεάζουν την έκκριση της GnRH. Η «επίδραση του κριού» (ram effect) μπορεί να επιταχύνει την εκδήλωση του πρώτου οίστρου κατά δύο εβδομάδες. Τα αποτελέσματα είναι πολύ ικανοποιητικά όταν η «επίδραση του

κριού» λαμβάνει χώρα τουλάχιστον έξι εβδομάδες πριν την έναρξη της ένοιστρης περιόδου (Βαλάση και Μενεγάτος 2011, Delgado et al 2020).

Αναπαραγωγικό πρότυπο προβατίνων

Οι προβατίνες των εύκρατων περιοχών εμφανίζουν αναπαραγωγικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από δύο διαφορετικούς ρυθμούς. Ο ένας ρυθμός είναι ο ωθητικός ή οιστρικός κύκλος και ο άλλος είναι ο ετήσιος κύκλος ωθητικής δραστηριότητας που περιλαμβάνει την ένοιστη ή αναπαραγωγική και την άνοιστη περίοδο (Εικόνες 5 και 6) (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).



Εικόνα 5: Αναπαραγωγικό πρότυπο προβατίνων στο Βόρειο ημισφαίριο.

Ωοθηκικός ή οιστρικός κύκλος

Ο ωοθηκικός ή οιστρικός κύκλος είναι το σύνολο των μορφολογικών, βιοχημικών και λειτουργικών μεταβολών, συμπεριλαμβανομένου και των μεταβολών της συμπεριφοράς που συμβαίνουν στο θηλυκό ζώο σε επαναλαμβανόμενα τακτά χρονικά διαστήματα. Η διάρκεια του οιστρικού κύκλου είναι κατά μέσο όρο 16 με 17 ημέρες και εξαρτάται από την προηγούμενη διάρκεια έκθεσης του άξονα «υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες» στη δράση της προγεστερόνης. Διάφοροι παράγοντες, όπως η φυλή, το στάδιο της αναπαραγωγικής περιόδου και η παρουσία αρσενικών ζώων, επηρεάζουν τη διάρκεια του οιστρικού κύκλου. Στα νεαρά ζώα παρατηρούνται μικρότερης διάρκειας οιστρικοί κύκλοι. Το ίδιο συμβαίνει και σε ενήλικες προβατίνες, κατά την έναρξη και κατά το τέλος της ένοιστρης περιόδου (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Το διάστημα κατά το οποίο το θηλυκό ζώο δέχεται την επίβαση και τη συνουσία ονομάζεται οίστρος. Διαρκεί κατά μέσο όρο 24 έως 36 ώρες και επηρεάζεται από πληθώρα παραγόντων, όπως η φυλή, το στάδιο της αναπαραγωγικής περιόδου (εποχή), η ηλικία και η παρουσία αρσενικών ζώων. Στα νεαρά ζώα η διάρκεια του οίστρου είναι μικρότερη κατά 10 ώρες περίπου. Μικρότερης διάρκειας οίστροι παρατηρούνται, επίσης, στην αρχή και το τέλος της ένοιστρης περιόδου (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Η ωοθυλακιορρηξία στα μικρά μηρυκαστικά συμβαίνει αυθόρμητα προς το τέλος του οίστρου, 24 έως 30 ώρες μετά την έναρξη του. Η συνεχής παρουσία αρσενικών ζώων μειώνει κατά 12 ώρες περίπου το χρονικό διάστημα, κατά το οποίο το θηλυκό ζώο δέχεται την επίβαση και επισπεύδει την ωοθυλακιορρηξία. Η πρώτη ωοθυλακιορρηξία της ένοιστρης περιόδου σε ενήλικες προβατίνες συχνά δεν συνοδεύεται από εκδηλώσεις οίστρου (σιωπηλός οίστρος) και είναι χαρακτηριστικό των οιστρικών κύκλων μικρής διάρκειας (6 έως 8 ημέρες). Αυτό οφείλεται στην έλλειψη λειτουργικού ωχρού σωματίου, και επομένως αυξημένης συγκέντρωσης προγεστερόνης, για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 6-8 ημερών. Η έκθεση του εγκεφάλου σε αυξημένη συγκέντρωση προγεστερόνης είναι απαραίτητη για την ευαισθητοποίηση του στην επίδραση της οιστραδιόλης και την εμφάνιση εκδηλώσεων οίστρου. Επίσης, η έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις προγεστερόνης είναι απαραίτητη για την επιβίωση και την ομαλή ανάπτυξη του εμβρύου (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Συνήθως, σε κάθε οίστρο παρατηρούνται μία ή δύο ωοθυλακιορρηξίες. Παράγοντες που επηρεάζουν τον αριθμό των ωοθυλακιορρηξιών είναι η φυλή, η ηλικία, η εποχή, η θρεπτική κατάσταση, η διατροφή και το γενετικό υπόβαθρο των ζώων (Robinson 1996, Βαλάση και Μενεγάτος 2011). Οι ωοθυλακιορρηξίες συμβαίνουν σε χρονικό διάστημα 24 ωρών η μία από την άλλη, συνηθέστερα δε στη δεξιά ωοθήκη. Ο αριθμός των ωοθυλακιορρηξιών παρουσιάζει τη μέγιστη τιμή στην ηλικία των 3 έως 6 ετών, ενώ μπορεί να αυξηθεί με τη χορήγηση γοναδοτροπινών (eCG ή FSH). Η αύξηση αυτή εξαρτάται από τη δόση της ορμόνης, αλλά και τον αριθμό των διαθέσιμων

ωοθυλακίων τη στιγμή της αγωγής, οδηγώντας σε μεγάλη διακύμανση του αποτελέσματος (Ainsworth and Shrestha 1985, Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Οι εκδηλώσεις οίστρου στα μικρά μηρυκαστικά δεν είναι έντονες. Η πιο χαρακτηριστική και εμφανής εκδήλωση οίστρου είναι η αποδοχή της επίβασης από το αρσενικό ζώο. Μπορεί να παρατηρηθούν ανησυχία, ανορεξία, καθώς και ρυθμικές κινήσεις της ουράς οποια, συνήθως, είναι ανασηκωμένη, αποκαλύπτοντας τα γεννητικά όργανα του ζώου. Επίσης, παρατηρείται ήπια εξοίδηση και συμφόρηση των χειλέων του αιδοίου και έξοδος μικρής ποσότητας διαυγούς βλέννας. Θηλυκά ζώα αντιδρούν στην προσέγγιση του αρσενικού ζώου μετακινώντας την ουρά τους, ουρώντας και παραμένοντας ακίνητα. Με αυτό τον τρόπο ανταποκρίνονται στην προσοχή του αρσενικού και σηματοδοτούν τη δική τους επιθυμία για οχεία (Rawlings and Bartlewski 2007).

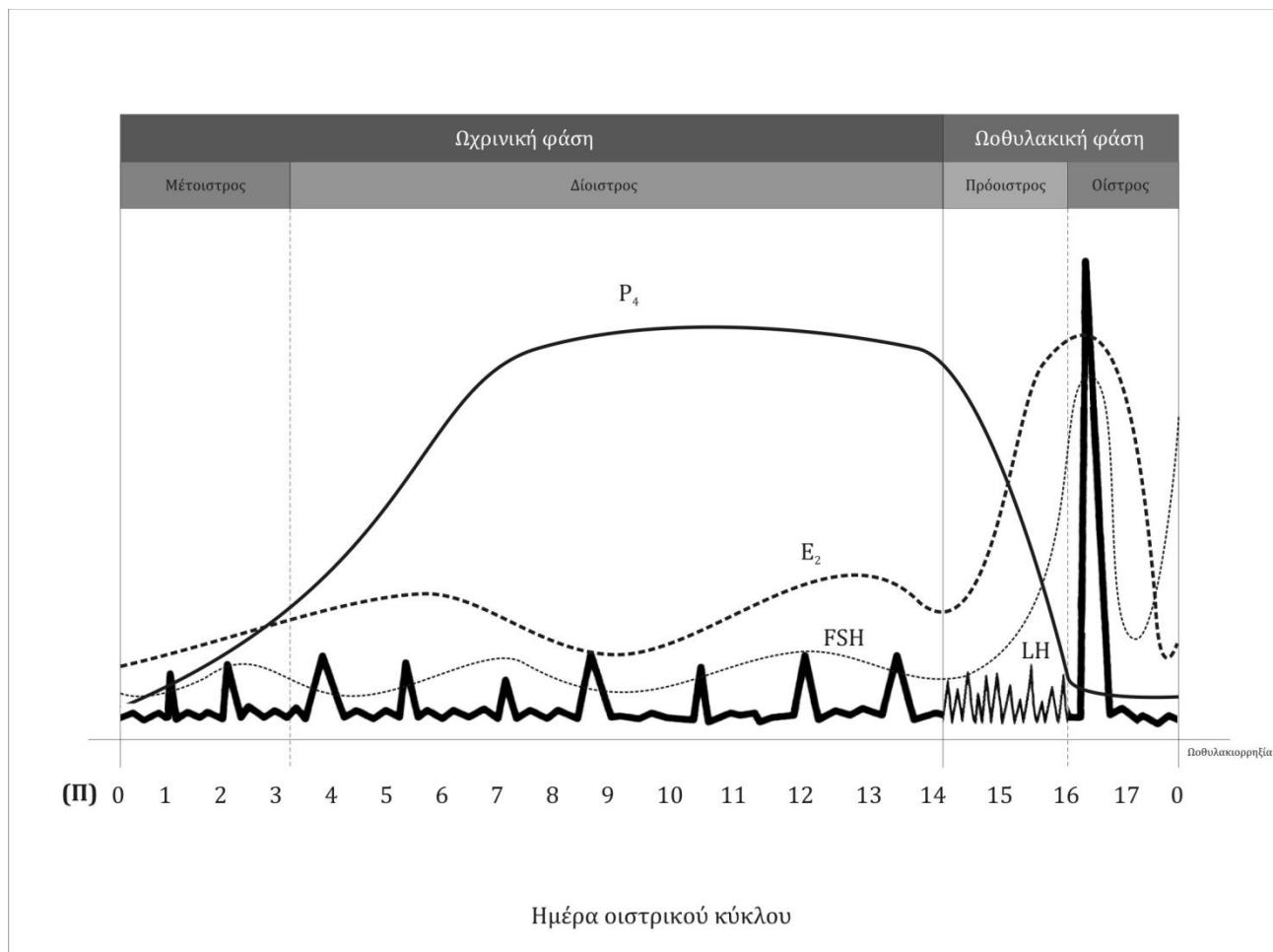
Ο ωοθηκικός ή οιστρικός κύκλος μπορεί να χωριστεί σε δύο σαφώς διαφορετικές φάσεις, την ωχρινική και την ωοθυλακική φάση, και σε τέσσερα στάδια που είναι ο πρόοιστρος, ο οίστρος, ο μέτοιστρος και ο δίοιστρος. Η ωοθυλακική φάση είναι η περίοδος από τη λύση του ωχρού σωματίου έως την ωοθυλακιόρρηξη και είναι σχετικά σύντομη αποτελώντας περίπου το 20% του κύκλου. Διαρκεί στις προβατίνες 2 έως 3 ημέρες και περιλαμβάνει τον πρόοιστρο και τον οίστρο. Κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης, το χαρακτηριστικό στοιχείο της ωοθήκης είναι τα ώριμα ωοθυλάκια και η χαρακτηριστική ορμόνη που παράγεται από αυτά είναι η οιστραδιόλη (Senger 2003).

Ο πρόοιστρος είναι η περίοδος που μεσολαβεί μεταξύ της μείωσης της προγεστερόνης, λόγω ωχρινόλυσης, και της έναρξης του οίστρου και δεν αποτελεί ευδιάκριτο στάδιο του οιστρικού κύκλου. Κατά τη διάρκεια του πρόοιστρου τα ωοθυλάκια προεπιλέγονται για να ωριμάσουν και να ρηχθούν, ενώ η οιστραδιόλη που παράγεται από αυτά προετοιμάζει το γεννητικό σύστημα για τον οίστρο και την οχεία. Η έναρξη του οίστρου σηματοδοτείται από την κορύφωση της έκκρισης οιστραδιόλης από το ώριμο ωοθυλάκιο (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Η ωχρινική φάση είναι η περίοδος που ξεκινά αμέσως μετά την ωοθυλακιόρρηξη με τον σχηματισμό του ωχρού σωματίου και τελειώνει με την ωχρινόλυση. Στις προβατίνες διαρκεί, συνήθως, 14 ημέρες και περιλαμβάνει δύο στάδια, τον μέτοιστρο και τον δίοιστρο. Στην ωχρινική φάση το χαρακτηριστικό στοιχείο της ωοθήκης είναι το ωχρό σωματίο και η χαρακτηριστική ορμόνη που παράγεται από αυτό είναι η προγεστερόνη. Παρόλο που ωοθυλάκια συνεχίζουν να αναπτύσσονται και να παλινδρομούν σε ολόκληρη αυτή τη φάση, οι συγκεντρώσεις της οιστραδιόλης που παράγονται είναι χαμηλές. Η ωχρινόλυση έχει ως αποτέλεσμα την παύση παραγωγής προγεστερόνης, τη δομική παλινδρόμηση του ωχρού σωματίου, την ανάδυση νέου κύματος ανάπτυξης ωοθυλακίων και την είσοδο σε μια νέα ωοθυλακική φάση (Senger 2003).

Ο μέτοιστρος είναι η περίοδος που μεσολαβεί μεταξύ της ωοθυλακιόρρηξης και του σχηματισμού ενός λειτουργικού ωχρού σωματίου και διαρκεί 3 έως 4 ημέρες. Χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό ωχρού σωματίου υπό την επίδραση της LH. Στην αρχή του μέτοιστρου οι συγκεντρώσεις

της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης είναι χαμηλές. Ο δίοιστρος αποτελεί τη μεγαλύτερη σε διάρκεια περίοδο του οιστρικού κύκλου (10 ημέρες), η οποία λήγει με την ωχρινόλυση. Το λειτουργικό ωχρό σωματίο κυριαρχεί κατά τον δίοιστρο και εκκρίνει προγεστερόνη σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Η αυξημένη συγκέντρωση της προγεστερόνης προετοιμάζει το περιβάλλον της μήτρας για την πρώιμη εμβρυϊκή ανάπτυξη και την εγκατάσταση του εμβρύου (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).



Εικόνα 6: Διακύμανση της συγκέντρωσης των κυριότερων ορμονών στα διάφορα στάδια του οιστρικού κύκλου (τροποποιημένη, Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Ένοιστρη περίοδος

Το σύνολο των οιστρικών κύκλων που περιλαμβάνονται σε έναν ετήσιο κύκλο ωοθηκικής δραστηριότητας, ονομάζεται ένοιστρη ή αναπαραγωγική περίοδος. Η ένοιστρη περίοδος αποτελείται από διαδοχικούς οιστρικούς κύκλους διάρκειας 16 έως 18 (μ.ο. 17) ημερών (Abecia et al 2011). Το ερέθισμα για την έναρξη της αναπαραγωγικής περιόδου είναι η μειούμενη φωτοπερίοδος, η οποία

προοδευτικά μειώνεται μετά το θερινό ηλιοστάσιο. Στο βόρειο ημισφαίριο, η ένοιστη περίοδος συμπίπτει με το καλοκαίρι, το φθινόπωρο και τον χειμώνα. Στην Ελλάδα ειδικότερα, οι προβατίνες (ανάλογα πάντα με τη φυλή, το υψόμετρο και τη γενικότερη διαχείριση της εκτροφής) εκδηλώνουν οιστρικούς κύκλους από το τέλος της άνοιξης (Μάιο έως Ιούνιο) έως το τέλος του χειμώνα (Δεκέμβριο έως Φεβρουάριο), εφόσον βέβαια δεν έχουν γονιμοποιηθεί στο ενδιάμεσο διάστημα. Η διάρκεια της ένοιστης περιόδου ποικίλλει και εξαρτάται από τη φυλή, την ενδεχόμενη εγκυμοσύνη, την υγεία και τη διατροφή των ζώων, αλλά και από το γεωγραφικό πλάτος, το υψόμετρο, τη θερμοκρασία της περιοχής που εκτρέφονται τα ζώα, την παρουσία αρσενικών και την ηλικία (Εικόνα 7). Όσον αφορά την ηλικία, η έναρξη της πρώτης οιστρικής περιόδου μετά την ενήβωση συμβαίνει αργότερα σε σχέση με την έναρξη της οιστρικής περιόδου της ενήλικων προβατίνων της ίδιας φυλής και είναι μικρότερης διάρκειας (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

ΦΥΛΗ	ΧΩΡΑ	N	Ι Φ Μ Α Μ Ι Ι Α Σ Ο Ν Δ	ΠΗΓΗ
Εγχώριος Ισλανδίας	Ισλανδία	64° 34'	=====	Dyrmundsson, 1978
Finnish Landrace	Σκωτία	56°	=====	Wheeler & Land, 1977
Scot.Blackfaced	Σκωτία	56°	=====	Wheeler & Land, 1977
Tasmanian Merino	Σκωτία	56°	=====	Wheeler & Land, 1977
Ile de France	Γαλλία	48° 30'	=====	Thimonier & Mauleon, 1969
Prealpes du Sud	Γαλλία	48° 30'	=====	Thimonier & Mauleon, 1969
Romanof	Γαλλία	47° 30'	=====	Land και συν., 1979
Solognotte	Γαλλία	47° 30'	=====	Land και συν., 1979
Σερρών	Ελλάδα	40° 50'	=====	Βοσνιάκου, 1983
Χίου*	Ελλάδα	40° 50'	=====	Βοσνιάκου, 1983
Ορεινή Ηπείρου (Μπούτσικο)	Ελλάδα	39° 40'	=====	Μενεγάτος και συν., 1995
Καραγκούνικη	Ελλάδα	39° 26'	=====	Μενεγάτος και συν., 1995
Φριζάρτα	Ελλάδα	39° 15'	=====	Παπαβασιλείου και συν., 2000
Lacaune	Ελλάδα	37° 59'	=====	Μενεγάτος και συν., 1999
Tadmit	Αλγερία	36° 39'	=====	Ammar-Khodja & Brudeeux, 1982
West. Whiteface	ΗΠΑ	33°	=====	Rauling και συν., 1977

* το 64% των ζώων εμφανίζουν κυκλική δραστηριότητα όλο το χρόνο

Εικόνα 7: Η αναπαραγωγική περίοδος διάφορων φυλών προβάτων, ανάλογα με τη χώρα και το γεωγραφικό πλάτος που έγινε η μελέτη (τροποποιημένη, Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Άνοιστη περίοδος

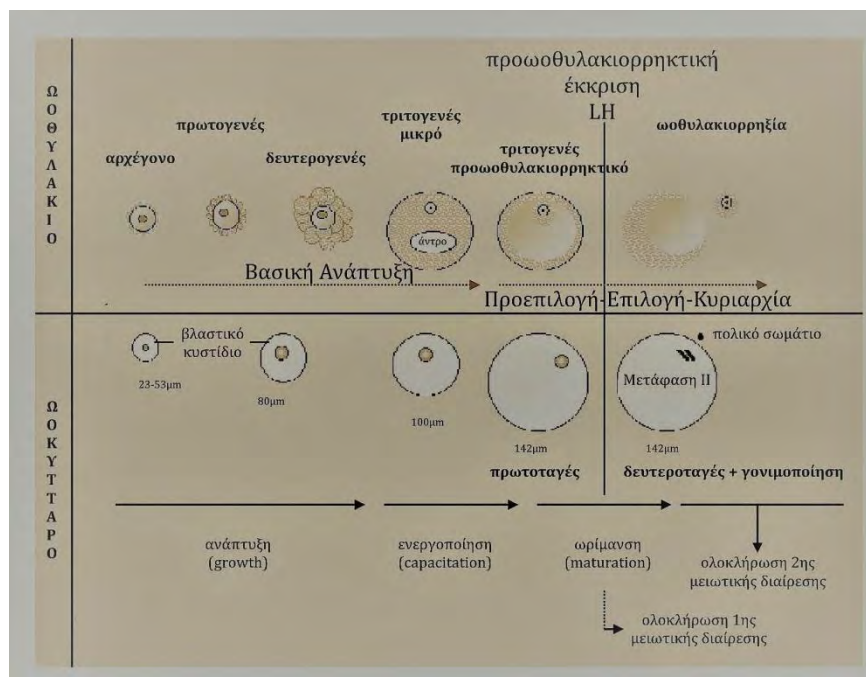
Το χρονικό διάστημα, κατά το οποίο δεν εκδηλώνονται οιστρικοί κύκλοι ονομάζεται άνοιστη περίοδος και συνήθως συμπίπτει με το τέλος του χειμώνα, την άνοιξη και την αρχή του καλοκαιριού. Είναι η περίοδος κατά την οποία η ωοθήκη είναι σχετικά αδρανής και δεν συμβαίνουν ωοθυλακιόρρηξιες, λόγω της αυξημένης αρνητικής επίδρασης της οιστραδιόλης στην τονική έκκριση

της GnRH, όπως συμβαίνει στα άνηθα ζώα (Βαλάση και Μενεγάτος 2011). Κατά τη διάρκεια της άνοιστρης περιόδου, η φωτοπερίοδος, μέσω της μελατονίνης ενεργοποιεί τους A15 δοπαμινεργικούς νευρώνες, οπότε η οιστραδιόλη αυξάνει την απελευθέρωση δοπαμίνης απ' αυτούς τους νευρώνες, ώστε να ανασταλούν οι KNDy νευρώνες, με αποτέλεσμα τη μείωση της συχνότητας έκκρισης της κισπεπτίνης και της GnRH (Nestor et al 2018).

Ο άνοιστρος είναι μία φυσιολογική περίοδος σε ζώα με εποχιακή αναπαραγωγική δραστηριότητα αλλά και σε άνηθα, υπερήλικα, έγκυα και γαλουχούντα ζώα (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

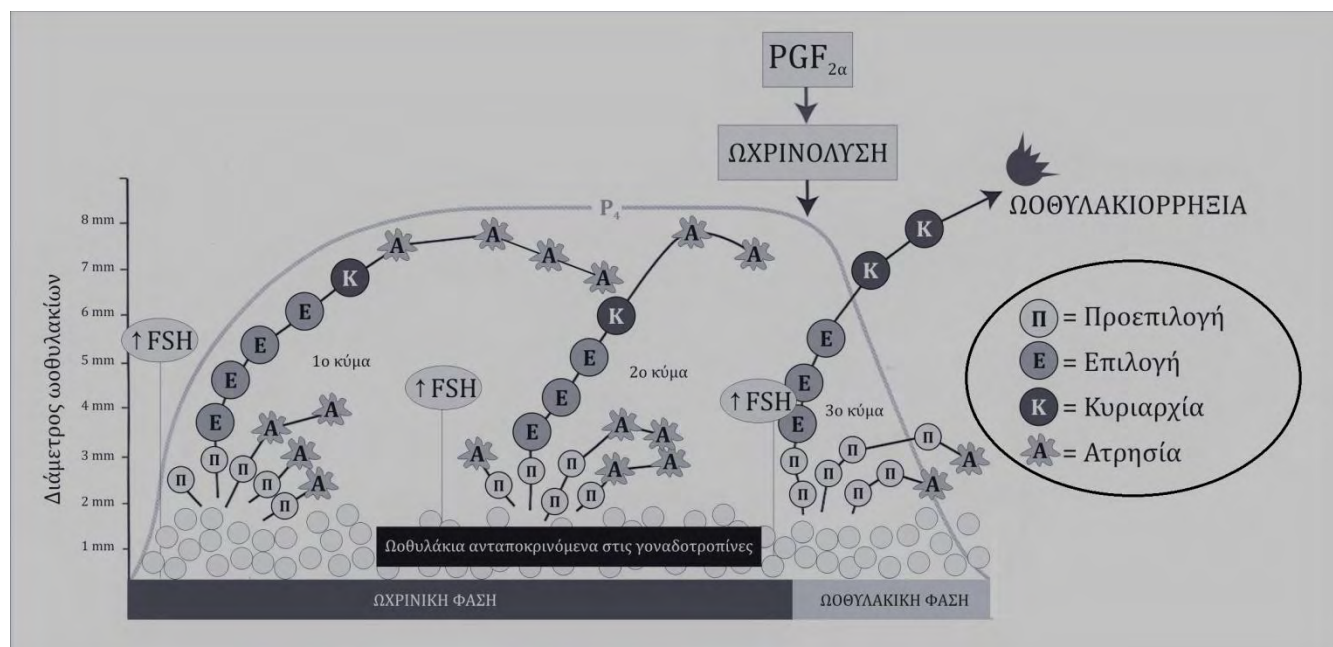
Δυναμική ανάπτυξης ωοθυλακίων στις προβατίνες

Η ωοθυλακιογένεση αρχίζει με το σχηματισμό του άντρου που περικλείει το πρωτοταγές ωοκύτταρο. Η ωοθυλακιογένεση είναι μία συνεχής διαδικασία που αρχίζει κατά την εμβρυική ζωή, συνεχίζεται μετά τη γέννηση, αλλά μπορεί να ολοκληρωθεί μόνο μετά την ενήβωση με τον σχηματισμό των τριτογενών προωοθυλακιορρηκτικών ωοθυλακίων (Εικόνα 8). Κατά τη διάρκεια του οιστρικού κύκλου, η ανάπτυξη των ωοθυλακίων δεν είναι συνεχής, αλλά γίνεται «κατά κύματα». Ως κύμα ανάπτυξης ωοθυλακίων χαρακτηρίζεται μία ομάδα μικρών τριτογενών ωοθυλακίων, που αναδύονται και αναπτύσσονται ταυτόχρονα από διάμετρο 1 έως 3 mm σε διάμετρο 4 έως 12 mm.



Εικόνα 8: Ανάπτυξη ωοκυττάρων κατά τη διάρκεια της ωοθυλακιογένεσης (τροποποιημένη, Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

Ο αριθμός των κυμάτων ανάπτυξης στη διάρκεια ενός οιστρικού κύκλου δεν είναι σταθερός. Η διακύμανση του αριθμού των κυμάτων αποδίδεται σε γενετικούς, περιβαλλοντικούς και διαχειριστικούς παράγοντες. Τα κύματα ανάπτυξης εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης (συνήθως δύο ή τρία κύματα), καθώς και κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης (ένα κύμα). Όλα τα ωοθυλάκια των κυμάτων της ωχρινικής φάσης μετατρέπονται σε ατρητικά, ενώ ένα ή περισσότερα από τα ωοθυλάκια της ωοθυλακικής φάσης ρήγνυνται (Εικόνα 9). Τα ωοθυλάκια αναπτύσσονται κατά κύματα στην άνοιστρη περίοδο και κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, καθώς και κατά τη διάρκεια της ένοιστρης περιόδου. Η εμφάνιση των κυμάτων προκαλείται από και συμπίπτει με παροδικές και αιφνίδιες αυξήσεις των συγκεντρώσεων της FSH και της οιστραδιόλης τόσο κατά την ένοιστρη, όσο και κατά την άνοιστρη περίοδο. Το μεγαλύτερο ωοθυλάκιο που παρατηρείται κατά την ωχρινόλυση είναι αυτό που θα ρηχθεί. Στην περίπτωση που σημειώνονται δύο ωοθυλακιόρρηξιες, τα ωοθυλάκια που πρόκειται να ρηχθούν προέρχονται συνήθως από το ίδιο κύμα ανάπτυξης ωοθυλακίων, παρότι μπορεί να προέρχονται και από διαφορετικά κύματα (Bartlewski et al 1999, Bartlewski et al 2011).



Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση της ανάπτυξης των ωοθυλακίων «κατά κύματα» κατά τη διάρκεια του οιστρικού κύκλου (Βαλάση και Μενεγάτος 2011).

B. Ρύθμιση και έλεγχος του οιστρικού κύκλου

Διάφορες μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για τη ρύθμιση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας των προβατινών. Αυτές διακρίνονται σε φυσικές μεθόδους (έλεγχος φωτισμού ή έκθεση σε αρσενικό) και σε ορμονικές μεθόδους. Η χορήγηση εξωγενών ορμονών, με γνώμονα τη φυσιολογική ακολουθία των γεγονότων που συμβαίνουν κατά την αναπαραγωγική διαδικασία, αποσκοπούν στην τροποποίηση της ωχρινικής φάσης του οιστρικού κύκλου (προγεστερόνη/προγεσταγόνα και προσταγλανδίνες) ή του ετήσιου μοτίβου αναπαραγωγικής δραστηριότητας (μελατονίνη) (Abecia et al 2011).

Ειδικότερα, με τη ρύθμιση και τον έλεγχο της ωοθηκικής δραστηριότητας των προβατινών επιδιώκονται ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω οφέλη:

- Βελτίωση της διαχείρισης της εκτροφής με τον συγχρονισμό και την ομαδοποίηση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας των ζώων (οιστρικοί κύκλοι, τοκετοί).
- Έλεγχος οχειών και εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης.
- Κατάλληλη κατά περίπτωση διατροφή (πριν τις οχείες, κυοφορία, γαλακτική περίοδος).
- Ομαδοποίηση απογαλακτισμού και δυνατότητα εφαρμογής τεχνητής γαλουχίας.
- Γέννηση αρνιών/εριφίων σε τέτοια εποχή, ώστε όταν αυτά σφαγούν να αποδώσουν καλή τιμή σφαγίου, με το μικρότερο δυνατό κόστος διατροφής. Για τις ελληνικές συνθήκες, η μέγιστη κερδοφορία επιτυγχάνεται με γέννηση των πρώιμων αρνιών/εριφίων τον μήνα Οκτώβριο
- Εκδήλωση οιστρικής δραστηριότητας στην άνοιστρη περίοδο.
- Επίσπευση της έναρξης της ένοιστρης περιόδου.
- Πρώιμη έναρξη της αναπαραγωγικής δραστηριότητας σε νεαρά ζώα.
- Αύξηση πολυδυμίας.
- Διεύρυνση της γαλακτικής περιόδου.
- Δυνατότητα εφαρμογής προγραμμάτων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και γενετικής βελτίωσης (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003, Βαλάση 2009)

Οι παραπάνω στόχοι μπορούν να επιτευχθούν με φυσικές μεθόδους, με φαρμακευτικές μεθόδους ή με συνδυασμό τους. Η επιλογή της μεθόδου ρύθμισης του οιστρικού κύκλου που θα εφαρμοστεί σε κάθε περίπτωση, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι ο βαθμός συγχρονισμού που απαιτείται (ανάλογα με τη μέθοδο γονιμοποίησης που θα εφαρμοστεί), η εποχή του έτους (ένοιστρη, μεταβατική, άνοιστρη περίοδος), η φυλή των ζώων, το σύστημα εκτροφής (εντατικό, ημιεντατικό, εκτατικό), οι ιδιαίτερες συνθήκες που επικρατούν σε κάθε εκτροφή (αριθμός διαθέσιμων αρσενικών, δυνατότητα εφαρμογής τεχνητής σπερματέγχυσης, επάρκεια προσωπικού, διαθεσιμότητα

ζωοτροφών), οι οικονομικοί παράγοντες, δηλαδή το κόστος εφαρμογής σε σχέση με το προσδοκώμενο κέρδος, καθώς και τις εμπορικές συνθήκες (περίοδοι αυξημένης ζήτησης ή/και αυξημένης τιμής των προϊόντων). Όλοι οι παραπάνω παράγοντες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη από τον κτηνίατρο και τον κτηνοτρόφο προκειμένου να εξασφαλιστεί η επιτυχία της παρέμβασης (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003).

Με τη χρήση φυσικών μεθόδων επιτυγχάνεται μικρός βαθμός συγχρονισμού στην αναπαραγωγική δραστηριότητα των ζώων και μάλιστα μόνο σε ορισμένες εποχές του έτους (κατά τη «μεταβατική» ή κατά την ένοιστρη περίοδο), όμως το κόστος εφαρμογής είναι χαμηλό. Αντιθέτως, με τη χρήση φαρμακευτικών μεθόδων επιτυγχάνεται υψηλός βαθμός συγχρονισμού στην αναπαραγωγική δραστηριότητα των ζώων σε όλες τις εποχές του έτους, ωστόσο το κόστος εφαρμογής είναι αυξημένο (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003).

Η χορήγηση ορμονών για τον έλεγχο της αναπαραγωγής έχει προσφέρει πολλαπλά οφέλη. Για πολλά χρόνια η τεχνητή σπερματέγχυση στις προβατίνες ήταν αδύνατη, κυρίως λόγω της απουσίας εκδηλώσεων οίστρου. Ήδη από τη δεκαετία 1970 η χορήγηση προγεσταγόνων για την πρόκληση οίστρου έχει επιτρέψει την ευρεία εφαρμογή της τεχνητής σπερματέγχυσης. Επίσης, η εφαρμογή προγραμμάτων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και μεταφοράς εμβρύων είναι δυνατή μόνο μετά από συγχρονισμό των οίστρων ή/και τεχνητή σπερματέγχυση. Ορμονική αγωγή έχει, επίσης, εφαρμοσθεί σε νεαρές αμνάδες που έχουν επιλεγεί ως ζώα αντικατάστασης, με απώτερο σκοπό την επίσπευση της έναρξης της πρώτης αναπαραγωγικής περιόδου τους. Προαπαιτούμενο για την εφαρμογή φαρμακευτικού ελέγχου της αναπαραγωγής είναι ο έλεγχος της γονιμότητας των αρσενικών ζώων που θα χρησιμοποιηθούν. Κατάλληλη κλινική αξιολόγηση των αρσενικών ζώων ή έλεγχος δειγμάτων σπέρματος πρέπει να γίνονται πριν την προσπάθεια φαρμακευτικής αγωγής (Abecia et al 2011).

Μέθοδοι ρύθμισης και ελέγχου των οιστρικών κύκλων σε προβατίνες

Επίδραση αρσενικού

Η εισαγωγή των κριών κατά τη «μεταβατική» περίοδο (δηλαδή στο τέλος της άνοιστρης περιόδου, λίγο πριν την έναρξη της ένοιστρης περιόδου) έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της έκκρισης LH στις προβατίνες, η οποία μπορεί να καταλήξει σε πρωθυλακιορρηκτική κορύφωση της LH και ωθυλακιορρηξία. Η ωθυλακιορρηξία αυτή δεν συνοδεύεται από εκδήλωση οίστρου. Σε κάποιες προβατίνες ο πρώτος οίστρος εμφανίζεται ταυτόχρονα με τη δεύτερη ωθυλακιορρηξία, 17-20 ημέρες μετά την εισαγωγή των κριών. Σε άλλες, παρατηρείται αρχικά μία σύντομη ωχρινική φάση διάρκειας 4-5 ημερών και έπειτα μία δεύτερη ωθυλακιορρηξία, χωρίς εκδηλώσεις οίστρου,

ακολουθούμενη από μία φυσιολογικής διάρκειας ωχρινική φάση. Ακολούθως, ο οίστρος συμβαίνει στην τρίτη ωοθυλακιορρηξία. Έτσι, 18 έως 24 ημέρες αργότερα εκδηλώνεται οίστρος, κατά τον οποίο τα ζώα μπορούν να γονιμοποιηθούν. Με τη μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται επίσπευση της έναρξης της αναπαραγωγικής περιόδου, κατά 3 έως 6 εβδομάδες σε ποσοστό 60 έως 70% των θηλυκών ζώων του κοπαδιού, δίχως, όμως, καλό ποσοστό συγχρονισμού.

Για καλύτερα αποτελέσματα συνιστάται αρχικά η εισαγωγή ανιχνευτών κριών και στη συνέχεια η εισαγωγή αρσενικών για την πραγματοποίηση των οχειών (αναλογία: 20% των θηλυκών). Κατά την ένοιστρη περίοδο, η εισαγωγή αρσενικών ζώων στα θηλυκά, μετά από μία περίοδο απομόνωσης, έχει ως αποτέλεσμα μικρού βαθμού συγχρονισμό των οιστρικών κύκλων και την ταυτόχρονη εκδήλωση οίστρου σε μέρος του ποιμνίου. Σημειώνεται ότι η μέθοδος δεν μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία σε «βαθύ άνοιστρο», δηλαδή στο μέσο της άνοιστρης περιόδου (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003, Ungerfeld et al 2004).

Το πιο σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι το χαμηλό κόστος της, ενώ μειονέκτημα αποτελεί η χαμηλή αποτελεσματικότητά της. Συνδυαζόμενη, όμως, με τη χορήγηση υψιθερμιδικής διατροφής ("flushing") και τη διενέργεια αποπαρασιτισμού πριν την περίοδο των οχειών, μπορεί να αποδώσει καλά αποτελέσματα με σχετικά μικρό κόστος (Σαμαρτζή και Φθενάκης, 2003).

Χορήγηση προγεσταγόνων με ή δίχως χορήγηση ίππειας χοριακής γοναδοτροπίνης

Τα προγεσταγόνα είναι συνθετικά ανάλογα της προγεστερόνης, ορμόνης που παράγεται από το ωχρό σωματίο. Το αποτέλεσμα της χορήγησης προγεστερόνης ή προγεσταγόνων είναι η αναστολή της έκκρισης των γοναδοτρόπων ορμονών και, κατά συνέπεια, η αναστολή της ανάπτυξης ωοθυλακίων και της της ρήξης αυτών. Στην ουσία, με τη χορήγηση τους γίνεται «μίμηση» της ύπαρξης ωχρού σωματίου και έκλυσης προγεστερόνης στο ζώο, γι' αυτό συνήθως χορηγούνται για χρονικό διάστημα ίσο με τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης του οιστρικού κύκλου. Όταν παύσει η χορήγηση τους, ακολουθεί σε σύντομο χρονικό διάστημα αύξηση στην έκκριση των γοναδοτρόπων ορμονών, με αποτελέσματα την ανάπτυξη ωοθυλακίων, την εκδήλωση οίστρου και την ωοθυλακιορρηξία. Συνεπώς, όταν τα προγεσταγόνα χορηγηθούν σε μία ομάδα θηλυκών ζώων, αυτά θα εκδηλώσουν, αμέσως μετά το τέλος της αγωγής, οίστρο ταυτοχρόνως και ανεξαρτήτως της φάσης του οιστρικού κύκλου στην οποία βρισκόταν κάθε ζώο κατά την έναρξη της αγωγής (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003).

Η χορήγηση προγεσταγόνων, ανάλογα με την περίοδο της ωοθηκικής δραστηριότητας, αποσκοπεί (α) κατά την ένοιστρη περίοδο, σε συνδυασμό με ή χωρίς χορήγηση ίππειας χοριακής γοναδοτροπίνης (eCG), στο συγχρονισμό των οίστρων, (β) κατά την άνοιστρη περίοδο, σε συνδυασμό με χορήγηση eCG, στην πρόκληση και στο συγχρονισμό των οίστρων (γ) κατά τη

μετάβαση από την άνοιστρη στην ένοιστρη περίοδο, σε συνδυασμό με χορήγηση eCG, στην πρόκληση και στο συγχρονισμό των οίστρων και επομένως στην επίσπευση της έναρξης της ένοιστρης περιόδου (30 έως 45 ημέρες νωρίτερα) και (δ) κατά την ενήβωση των αμνάδων, σε συνδυασμό με χορήγηση eCG, στην πρώιμη έναρξη της πρώτης ένοιστρης περιόδου (περίπου ένα μήνα νωρίτερα) (Βαλάση 2009).

Για τη ρύθμιση του οιστρικού κύκλου στα μικρά μηρυκαστικά έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο η προγεστερόνη όσο και διάφορα προγεσταγόνα (οξική μεδροξυπρογεστερόνη, οξική μελεγεστρόλη, οξική φθοριογεστόνη), σε ποικίλες φαρμακοτεχνικές μορφές (προμίγματα, ενέσιμα σκευάσματα, εμφυτεύματα, σπόγγοι πολυουρεθάνης, ειδικές συσκευές ελεγχόμενης απελευθέρωσης φαρμάκων) και με διάφορες οδούς χορήγησης (από το στόμα, ενδομυϊκώς, υποδορίως, ενδοκολπικώς) (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003).

Η πιο συνηθισμένη οδός χορήγησης είναι η ενδοκολπική τοποθέτηση και τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα προγεσταγόνα σε εμπορικές μορφές είναι η οξική φθοριογεστόνη (FGA) (30 mg ή 40 mg ανά σπόγγο) και η οξική μεδροξυπρογεστερόνη (MPA) (60 mg ανά σπόγγο). Και τα δύο προγεσταγόνα φαίνεται να μπλοκάρουν αποτελεσματικά τον οιστρικό κύκλο. Οι σπόγγοι τοποθετούνται στον κόλπο της προβατίνας, συνήθως, με τη βοήθεια ειδικού πλαστικού εισαγωγέα και παραμένουν εκεί επί 12 έως 14 ημέρες, δηλαδή για χρονική περίοδο ίση με την ωχρινική φάση του οιστρικού κύκλου (Βαλάση 2009, Abecia et al 2012). Ωστόσο, νεότερα πειραματικά δεδομένα καταδεικνύουν ότι η παραμονή των σπόγγων, έστω και επί 5 έως 6 ημέρες αρκεί για την εκδήλωση της δράσης τους. Τα ευρήματα αυτά ερμηνεύονται με βάση την περιοδικότητα ανάδυσης των «κυμάτων» ανάπτυξης ωοθυλακίων που είναι κάθε 3 έως 6 ημέρες (Βαλάση 2009).

Ο συνδυασμός χορήγησης προγεσταγόνων και eCG είναι η πιο συχνή μέθοδος ρύθμισης του οιστρικού κύκλου προβατίνων και αιγών στην Ελλάδα (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003). Η eCG είναι ορμόνη γλυκοπρωτεϊνικής φύσης που παράγεται από τον πλακούντα εγκύων φοράδων και έχει, κυρίως, δράση ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης και δευτερευόντως ωχρινοποιητικής, όταν χορηγείται σ' άλλα είδη ζώων. Συνήθως, η eCG χορηγείται κατά την αφαίρεση των σπόγγων και η δόση της κυμαίνεται μεταξύ 250 και 500 IU. Η αναγκαιότητα χορήγησης eCG και η ακριβής δόση αυτής καθορίζονται από την ηλικία (250- 300 IU σε αμνάδες και 350 έως 500 IU σε ενήλικες προβατίνες), τη φυλή και το σωματικό βάρος του θηλυκού ζώου, την περίοδο της ωοθηκικής δραστηριότητας (400 έως 500 IU κατά τη διάρκεια του άνοιστρου, 300 έως 350 IU στην αναπαραγωγική περίοδο), καθώς και από τους στόχους της παρέμβασης, ώστε να αποφευχθεί η πολλαπλή ωοθυλακιορρηξία. Έτσι, σε ζώα με υψηλό δείκτη πολυδυμίας ή χαμηλό σωματικό βάρος και στο μέσον της ένοιστρης περιόδου χορηγείται μικρότερη δόση σε σχέση με ζώα που βρίσκονται στην άνοιστρη περίοδο. Σε αντίθετη περίπτωση, ο αριθμός των ωοθυλακιορρηξιών αυξάνεται ιδιαίτερα, οδηγώντας σε αυξημένο ποσοστό δυστοκίας, σε αυξημένο δείκτη θνησιγένειας των αρνιών ή σε αυξημένο δείκτη πολυδυμίας,

επακόλουθο του οποίου είναι η αδυναμία της προβατίνας να γαλουχήσει τα νεογέννητα αρνιά (Βαλάση 2009, Abecia et al 2011). Για την επιβεβαίωση της ανάγκης χορήγησης eCG σε κάποιο κοπάδι, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο παρακάτω εμπειρικός κανόνας. Αρχικά προσδιορίζεται η ημερομηνία κατά την οποία το 50% των θηλυκών ζώων είχαν γεννήσει στην προηγούμενη αναπαραγωγική περίοδο χωρίς χρήση ορμονών. Στη συνέχεια, αφαιρούνται από αυτήν 150 ημέρες και εάν οι σπόγγοι πρόκειται να τοποθετηθούν πριν την αντίστοιχη ημερομηνία κατά την επερχόμενη αναπαραγωγική περίοδο, απαιτείται χρήση eCG (Βαλάση 2009).

Με την εφαρμογή αυτής της ορμονικής αγωγής, ο οίστρος εκδηλώνεται συνήθως (>90% των περιπτώσεων) 24 έως 48 ώρες μετά την αφαίρεση των σπόγγων, αλλά η γονιμότητα των ζώων παρουσιάζει παραλλακτικότητα. Στην ένοιστρη περίοδο το ποσοστό εγκυμοσύνης μετά από φυσική οχεία υπερβαίνει το 70%, ενώ εκτός της ένοιστρης περιόδου αυτό κυμαίνεται από 50 έως 65%. Συνήθως, οι τοκετοί πραγματοποιούνται σε δύο φάσεις, σε διάστημα 15 έως 20 ημερών μεταξύ τους. Με την αγωγή αυτή, τα θηλυκά ζώα μπορούν να εκδηλώσουν δύο διαδοχικούς οίστρους. Εάν το τέλος του δευτέρου οίστρου συμβεί κατά την άνοιστρη περίοδο και το ζώο δεν έχει γονιμοποιηθεί, δεν ακολουθεί άλλος οιστρικός κύκλος (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003, Βαλάση 2009).

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες κατά την τοποθέτηση σπόγγων δεν είναι σοβαρές, εφόσον τηρούνται τα πρωτόκολλα και εφόσον ο χειρισμός και η επιλογή των ζώων γίνονται ορθά. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτεί η εφαρμογή της αγωγής αυτής σε αμνάδες. Οι αμνάδες θα πρέπει να έχουν αποκτήσει τουλάχιστον το 60% έως 65% του σωματικού βάρους των ενηλίκων της αντίστοιχης φυλής και να έχουν αναπτυγμένη γεννητική οδό, ώστε να αποφευχθούν ενδεχόμενες κακώσεις. Στις προβατίνες, το πιο συχνό πρόβλημα μετά από κακή τοποθέτηση σπόγγου είναι η απόρριψή του, καθώς το ζώο κινείται. Σε αυτήν την περίπτωση, η προβατίνα δεν θα εμφανίσει οίστρο. Πιο σπάνια, μπορεί να προκληθεί κολπίτιδα. Ζώα με κολπίτιδα πρέπει να αποσύρονται από τη διαδικασία παρέμβασης και να τοποθετούνται με τα αρσενικά ζώα για φυσική οχεία τέσσερις έως έξι εβδομάδες αργότερα. Επίσης, μπορεί να παρατηρηθεί παραμονή και εμπέδωση του σπόγγου στον κόλπο της προβατίνας, οπότε θα πρέπει άμεσα να αφαιρεθεί με τη χρήση κολποσκοπίου και λαβίδας (Βαλάση 2009, Manes et al 2015).

Η επανειλημμένη χορήγηση eCG μπορεί να επιδράσει αρνητικά στη γονιμότητα των ζώων, γεγονός που εξαρτάται από την ηλικία, τον αριθμό των επαναλήψεων, τη δόση και το άτομο. Η παρενέργεια αυτή έχει αποδοθεί (α) στη δημιουργία αντισωμάτων λόγω, κυρίως, της ετερόλογης προέλευσής της, (β) στην ανάπτυξη κύστεων ωοθυλακίων και (γ) στην πρώιμη ωχρινόλυση (Βαλάση 2009).

Αν και η αγωγή με προγεσταγόνα οδηγεί πολύ μεγάλο βαθμό συγχρονισμού, η γονιμότητα των ζώων μετά την αγωγή είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με τον φυσικό οίστρο. Αυτή η χαμηλή γονιμότητα έχει αποδοθεί σε αλλαγές στο ορμονικό περιβάλλον που οδηγούν σε ασυγχρόνιστη με

τον οίστρο ωοθυλακιορρηξία και σε αλλαγές στη μεταφορά του σπέρματος στο γεννητικό σωλήνα του θηλυκού. Καθώς η ανάπτυξη των ωοθυλακίων συμβαίνει κατά κύματα, ρυθμίζεται από την προγεστερόνη και τις γοναδοτρόπες ορμόνες. Έτσι, η χαμηλή συγκέντρωση προγεστερόνης επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής του κυρίαρχου ωοθυλακίου και καθυστερεί την εμφάνιση του επόμενου κύματος ανάπτυξης ωοθυλακίων, ενώ η πολύ υψηλή συγκέντρωση προγεστερόνης καθυστερεί την ανάπτυξη του κυρίαρχου ωοθυλακίου και προάγει την ανάδυση νέου κύματος, αυξάνοντας τον αριθμό των νέων ωοθυλακίων που μπορεί να ρηχθούν. Η γονιμότητα έχει συσχετισθεί θετικά με τη συγκέντρωση της προγεστερόνης κατά τη διάρκεια της αγωγής (Scaramuzzi et al 1988, Vinales et al 2001, Menchaca and Rubianes 2004).

Ο ρυθμός απορρόφησης του προγεσταγόνου επηρεάζει τη δυναμική ανάπτυξης των ωοθυλακίων. Στη μακράς διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα αρχικά παρατηρείται υψηλή συγκέντρωση προγεστερόνης στην κυκλοφορία του αίματος, ενώ η απελευθέρωση της δραστικής ουσίας μειώνεται με την πάροδο του χρόνου. Οπότε, μετά την έκτη ημέρα της αγωγής, η συγκέντρωση της προγεστερόνης πέφτει σε πολύ χαμηλά επίπεδα και παραμένει μειωμένη μέχρι την αφαίρεση του σπύγγου. Ως συνέπεια, μπορεί να συμβεί ωοθυλακιορρηξία σ' ένα γερασμένο ωοθυλάκιο, με επακόλουθο τη χαμηλή γονιμότητα. Τέλος, οι αλλαγές του pH και της μικροχλωρίδας του κόλπου, που παρατηρούνται εντονότερα στη μακράς διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα, μπορεί να ευθύνονται για τη μείωση της γονιμότητας. Όλα τα παραπάνω έχουν οδηγήσει στην τροποποίηση της δόσης (Letelier et al 2009) ή του χρόνου παραμονής των σπύγγων προγεσταγόνων. Έτσι, αναπτύχθηκαν ορμονικά πρωτόκολλα σύντομης διάρκειας (5-7 ημέρες), με ή δίχως έγχυση PGF_{2α}, τα οποία σε ενήλικες προβατίνες οδηγούν σε ίδια ή καλύτερη γονιμότητα (Vinales et al 2001, Menchaca and Rubianes 2004, Papadopoulos et al 2017, Martinez-Ros et al 2018b).

Χορήγηση μελατονίνης

Οι προβατίνες ως εποχικώς πολυοιστρικά ζώα, εκδηλώνουν οιστρική δραστηριότητα την εποχή της μειούμενης φωτοπεριόδου, δηλαδή όταν η διάρκεια του ημερήσιου φωτισμού μειώνεται. Η διάρκεια του φωτός λαμβάνεται από τον αμφιβληστροειδή χιτώνα και μεταδίδεται, μέσω μιας πολύπλοκης νευρικής οδού, στην επίφυση, όπου παράγεται η μελατονίνη. Η κύρια δράση της μελατονίνης είναι η αποκωδικοποίηση της φωτοπεριόδου σε επίπεδο υποθαλάμου και υπόφυσης (Abecia et al 2012).

Η χορήγηση μελατονίνης διεγείρει το νευροενδοκρινικό άξονα «υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες» και έτσι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επίσπευση της έναρξης της αναπαραγωγικής περιόδου (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003). Η μελατονίνη μπορεί να χορηγηθεί, κατά τη διάρκεια του άνοιστρου (στο τέλος του χειμώνα ή την άνοιξη σε ζώα φυλών με περιορισμένη εκδήλωση εποχικότητας ή στο τέλος της άνοιξης και το καλοκαίρι σε ζώα φυλών με έντονη εποχικότητα), με

μορφή εμφυτευμάτων, τα οποία απελευθερώνουν σταδιακά την ορμόνη, όπως η επίφυση κατά τη διάρκεια της ένοιστρης περιόδου. Έτσι, μπορεί να προκληθεί επίσπευση της έναρξης της αναπαραγωγικής περιόδου κατά 1,5 έως 2 μήνες, καθώς και αύξηση του δείκτη πολυδυμίας. Η ανταπόκριση ενός ζώου στη χορήγηση μελατονίνης εξαρτάται από τη φυλή (Βαλάση 2009, Abecia et al 2011).

Το ποσοστό εγκυμοσύνης, μετά από τοποθέτηση εμφυτευμάτων μελατονίνης και φυσική οχεία κυμαίνεται από 70 έως 80%. Συνήθως, οι τοκετοί είναι διάσπαρτοι σε περίοδο 40 έως 55 ημερών. Σε περίπτωση που επιδιώκεται και συγχρονισμός των οίστρων, τουλάχιστον 40 ημέρες μετά την τοποθέτηση εμφυτευμάτων μελατονίνης, πρέπει να γίνει και τοποθέτηση σπόγγων προγεσταγόνων στις προβατίνες. Καθώς τα ζώα ήδη εμφανίζουν οιστρικούς κύκλους, δεν είναι απαραίτητη η χορήγηση eCG,. Όμως, το κόστος αυτής της αγωγής είναι ιδιαίτερα αυξημένο (Βαλάση 2009).

Χορήγηση προσταγλανδίνης $F_{2\alpha}$ ή συνθετικών αναλόγων αυτής

Η προσταγλανδίνη $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) είναι ορμόνη που εκκρίνεται από το ενδομήτριο και έχει δράση, κυρίως, ωχρινολυτική. Η χορήγηση $PGF_{2\alpha}$ ή συνθετικών αναλόγων της (δινοπρόστη, κλοπροστενόλη, λουπροσιόλη) οδηγεί σε λύση του(ων) λειτουργικού(ών) ωχρού(ών) σωματίου(ων) του οιστρικού κύκλου και σε εκδήλωση οίστρου μετά από 1 έως 4 ημέρες. Η $PGF_{2\alpha}$ δρα μόνον όταν το ωχρό σωματίο βρίσκεται σε πλήρη λειτουργία. Αντίθετα, δεν προκαλεί ωχρινόλυση κατά την περίοδο της ανάπτυξης ή της φυσιολογικής παλινδρόμησης του ωχρού σωματίου. Συνεπώς, η χορήγηση της κατά την άνοιστρη περίοδο είναι ανώφελη (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003, Βαλάση 2009).

Τα πιο ευρέως διαδεδομένα ανάλογα της $PGF_{2\alpha}$ για κτηνιατρική χρήση είναι η δινοπρόστη, η κλοπροστενόλη και η λουπροσιόλη, τα οποία είναι λιγότερο ακριβά από το πρωτότυπο μόριο. Η συνιστώμενη δόση της $PGF_{2\alpha}$ είναι 2 έως 10 mg ανά ζώο, αυτή της δινοπρόστης είναι 2 έως 10 mg ανά ζώο, αυτή της κλοπροστενόλης είναι 100 έως 125 mg ανά ζώο και αυτή της λουπροσιόλης είναι 4-7,5 mg ανά ζώο (Βαλάση 2009, Abecia et al 2012).

Δεδομένου ότι (α) το ωχρό σωματίο δεν είναι ευαίσθητο στη δράση της $PGF_{2\alpha}$ τις πρώτες δύο ημέρες μετά την ωοθυλακιορρηξία και (β) συνήθως δεν είναι γνωστή η ημέρα του οιστρικού κύκλου κάθε ζώου κάποιας ομάδας ξεχωριστά, η έγχυση $PGF_{2\alpha}$ πρέπει να γίνεται δύο φορές σε διάστημα τουλάχιστον έξι έως επτά ημερών. Όταν το μεσοδιάστημα των εγχύσεων είναι 9 έως 14 ημέρες, ο οίστρος αναμένεται σε 24 έως 96 ώρες μετά τη δεύτερη έγχυση, ενώ όταν το μεσοδιάστημα αυτό περιορίζεται σε επτά ημέρες, παρατηρείται καλύτερος συγχρονισμός των οίστρων, με εμφάνιση αυτών 25 έως 48 ώρες μετά τη δεύτερη χορήγηση. Αυτή η ορμονική αγωγή μπορεί να εφαρμοστεί μόνον κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου (Βαλάση 2009).

Αυτό το πρωτόκολλο είναι αποτελεσματικό για τον συγχρονισμό των οίστρων, αλλά η γονιμότητα των προβατίνων είναι μικρότερη σε σχέση με την αγωγή με προγεσταγόνα φτάνοντας το

μέγιστο στο 70%. Πιθανές εξηγήσεις για αυτή την μειωμένη γονιμότητα μπορεί να είναι η διαταραχή στη δυναμική ανάπτυξης ωοθυλακίων και η μεταβολή του χρόνου που συμβαίνει η ωοθυλακιορρηξία σε σχέση με την προκαλούμενη από τις προσταγλανδίνες ωχρινόλυση. Άλλα μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν η μεγάλη διακύμανση στην ανταπόκριση των ζώων και η πιθανότητα πρόκλησης αποβολής σε έγκυα ζώα μετά από την εφαρμογή της. Έτσι, στην πράξη η μέθοδος δεν χρησιμοποιείται συχνά (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003, Abecia et al 2011).

Συνδυασμός χορήγησης προγεσταγόνων και PGF_{2α}, με ή δίχως χορήγηση eCG

Η συνδυασμένη χορήγηση προγεσταγόνων και PGF_{2α}, με ή χωρίς έγχυση eCG, αποσκοπεί στη μείωση του διαστήματος εφαρμογής της αγωγής με προγεσταγόνα και στη μείωση του χρονικού διαστήματος εμφάνισης των οίστρων σε κάποια ομάδα ζώων. Το σχήμα αυτό μπορεί να εφαρμοστεί στην ένοιστρη ή τη μεταβατική περίοδο. Έχουν εφαρμοσθεί διάφορα πρωτόκολλα, τα οποία διαφέρουν στη διάρκεια αγωγής με προγεσταγόνα και στον ακριβή χρόνο χορήγησης της PGF_{2α} (κατά την εισαγωγή ή την αφαίρεση των σπόγγων). Αρχικώς, εφαρμόζεται αγωγή με προγεσταγόνα επί 5 έως 9 ημέρες και έγχυση PGF_{2α} ταυτόχρονα με την εισαγωγή των σπόγγων προγεσταγόνων και, στη συνέχεια, έγχυση eCG κατά την αφαίρεσή τους. Εναλλακτικά, μπορεί να χορηγηθεί PGF_{2α} κατά την αφαίρεση των σπόγγων προγεσταγόνων, συγχρόνως με τη χορήγηση eCG. Νεότερα πειραματικά δεδομένα έχουν δείξει ότι η παραμονή των σπόγγων για 5 έως 6 ημέρες αποδίδει τα ίδια ή ακόμη καλύτερα αποτελέσματα (ποσοστό εγκυμοσύνης μετά από φυσική οχεία 75 έως 87%) σε σχέση με τη συνήθη διάρκεια παραμονής των σπόγγων. Σε αυτήν την περίπτωση, οίστρος αναμένεται σε 30 ώρες μετά την αφαίρεση των σπόγγων. Ωστόσο δεν χρησιμοποιείται συχνά στην πράξη, καθώς δεν είναι δημοφιλής στους κτηνοτρόφους αν και ολοένα αυξάνει η εφαρμογή της (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003, Βαλάση 2009, Martinez-Ros et al 2019, Gonzalez-Bulnes et al 2020).

Εναλλακτικά πρωτόκολλα ρύθμισης της ωοθηκικής δραστηριότητας

Η ρύθμιση της ωοθηκικής δραστηριότητας μπορεί να επιτευχθεί και με άλλα ορμονικά πρωτόκολλα, τα οποία προς το παρόν εφαρμόζονται σε πειραματικό επίπεδο, καθώς προϋποθέτουν εμπειρία, επανειλημμένους χειρισμούς των ζώων και αυξημένο κόστος. Όμως, είναι ενδεχόμενο στο μέλλον να αυξηθεί η εφαρμογή τους στην κλινική πράξη (Βαλάση 2009).

Ενδεικτικά αναφέρεται το πρωτόκολλο συνδυασμένης χορήγησης απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτρόπων ορμονών (GnRH) και PGF_{2α}, ανάλογο του οποίου χρησιμοποιείται σε αγελάδες. Αυτό αποτελείται από τρία στάδια: (α) αρχικά, χορηγείται ένα συνθετικό ανάλογο της GnRH (Buserelin, δόση: 8 μg ανά ζώο ενδομυϊκά), (β) μετά από πέντε ημέρες χορηγείται PGF_{2α} ή συνθετικό ανάλογό της και (γ) 36 ώρες αργότερα χορηγείται ακόμη μία δόση αναλόγου της GnRH. Το ποσοστό

εγκυμοσύνης των ζώων, μετά από εφαρμογή αυτού του πρωτοκόλλου και τεχνητή σπερματέγχυση ανέρχεται σε 50% (Deligiannis et al 2005, Βαλάση 2009).

Επίσης, γίνεται προσπάθεια αντικατάστασης της eCG, λόγω των ανεπιθύμητων ενεργειών που παρουσιάζει αυτή, με συνθετικά ανάλογα της GnRH ή με οιστραδιόλη, με σκοπό την αύξηση του ποσοστού εγκυμοσύνης των ζώων. Μολαταύτα, τα μέχρι στιγμής δεδομένα δείχνουν ότι η χρήση των παραπάνω ορμονών δεν βελτιώνει το ποσοστό εγκυμοσύνης των ζώων (Βαλάση 2009).

Πρώιμη έναρξη της αναπαραγωγικής δραστηριότητας σε αμνάδες

Ορμονική αγωγή για την πρόκληση οίστρου και ωοθυλακιορρηξίας μπορεί να εφαρμοστεί σε άνηβες αμνάδες λίγο πριν ή κατά την έναρξη της πρώτης αναπαραγωγικής τους περιόδου, εφόσον αυτές έχουν αποκτήσει την απαιτούμενη ηλικία και το απαραίτητο σωματικό βάρος, ανάλογα με τη φυλή. Η πρόκληση οίστρου με ορμονική αγωγή σε άνηβα ζώα που απέχουν χρονικά από την ενήβωση, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ενός οιστρικού κύκλου που δεν ακολουθείται, όμως, από κυκλική δραστηριότητα, όπως εξάλλου παρατηρείται και σε προβατίνες κατά την άνοιστρον περίοδο (Sawalha et al 2011, Valasi et al 2012).

Κατά την ενήβωση των μικρών μηρυκαστικών στους πρώτους οιστρικούς κύκλους, αν και πραγματοποιείται ωοθυλακιορρηξία, τα ζώα δεν παρουσιάζουν εκδηλώσεις οίστρου («σιωπηλοί οίστροι»). Η απουσία εκδηλώσεων οίστρου αποδίδεται στην έλλειψη επαρκούς προηγούμενης επίδρασης προγεστερόνης στο γεννητικό σύστημα (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003). Συνήθως, κατά την ενήβωση και τη μετάβαση στην πρώτη αναπαραγωγική περίοδο σημειώνεται τρεις φορές προ-ωοθυλακιορρηκτική έκκριση των γοναδοτρόπων ορμονών, αλλά μόνο μετά την τελευταία συμβαίνει ωοθυλακιορρηξία που μπορεί να οδηγήσει σε γονιμοποίηση του ωαρίου (Foster 1988).

Η ορμονική αγωγή που συνήθως εφαρμόζεται σε αμνάδες είναι η χορήγηση προγεσταγόνων με ή χωρίς την έγχυση eCG, κατά προτίμηση σε συνδυασμό με την εισαγωγή αρσενικών στο ποίμνιο μετά από περίοδο απομόνωσής τους. Αμνάδες που παρουσιάζουν ωχρινική δραστηριότητα πριν την αγωγή με προγεσταγόνα έχουν καλύτερες αναπαραγωγικές αποδόσεις σε σχέση με αυτές που δεν εμφανίζουν ωχρινική δραστηριότητα. Επιπλέον, η επιτυχία της αγωγής και η γονιμότητα των αμνάδων φαίνεται να εξαρτάται από την ποιότητα των ωχρών σωματίων και από την συγκέντρωση προγεστερόνης που παράγεται απ' αυτά (Abecia et al 2001). Παρότι η αγωγή με προγεσταγόνα μπορεί να προκαλέσει εκδήλωση και συγχρονισμό των οίστρων, δεν βελτιώνει τη γονιμότητα των αμνάδων σε σχέση με τη γονιμότητα που θα εμφάνιζαν αυτές δίχως ορμονική αγωγή (Dyrmondsson 1987). Μάλιστα, οι αναπαραγωγικές αποδόσεις (εμφάνιση οίστρου, ωοθυλακιορρηξία και γονιμότητα) των αμνάδων μετά από συγχρονισμό οίστρων είναι συνήθως χαμηλότερες σε σύγκριση με τις ενήλικες προβατίνες (Valasi et al 2012, Mulvaney et al 2013).

Η εφαρμογή της αγωγής δεν πρέπει να εφαρμόζεται σε αμνάδες που δεν έχουν αποκτήσει τουλάχιστον το 60% του αναμενόμενου βάρους των ενηλίκων της ίδιας φυλής και δεν βρίσκονται σε θετικό ενεργειακό ισοζύγιο, επειδή η πιθανότητα επιτυχίας είναι μικρή. Η εφαρμογή της αγωγής πρέπει να αποφεύγεται και σε ζώα με ανεπαρκώς αναπτυγμένη γεννητική οδό, επειδή η πιθανότητα δημιουργίας κακώσεων είναι αυξημένη. Ακόμη και αν η αγωγή είναι επιτυχημένη, υπάρχει αυξημένη πιθανότητα εκδήλωσης δυστοκίας, γέννησης ελλιποβαρών νεογνών ή εμφάνισης διαταραχών στη μελλοντική αναπαραγωγική λειτουργία των νεαρών θηλυκών (Σαμαρτζή και Φθενάκης 2003).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΣ

A. Υλικά και Μέθοδοι

Στοιχεία εκτροφής προβάτων

Ο πειραματισμός πραγματοποιήθηκε τον Ιούλιο του 2018 σε ημιεντατική εκτροφή προβάτων ημιάιμης φυλής στα Αμπέλια Καλαμπάκας (39°41'31.9"N 21°30'44.1"E). Λήφθηκε ιστορικό για τη διαχείριση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας των αμνάδων αντικατάστασης. Στη συγκεκριμένη εκτροφή ποτέ στο παρελθόν δεν είχε γίνει σε αμνάδες αντικατάστασης ορμονική αγωγή για επίσπευση της έναρξης της πρώτης αναπαραγωγικής τους περιόδου ούτε για συγχρονισμό των οίστρων. Η συνήθης πρακτική για τη γονιμοποίηση των αμνάδων αντικατάστασης στο ποίμνιο αυτό περιλάμβανε την εφαρμογή της «επίδρασης των κριών» που ξεκινούσε 2 μήνες πριν τις αναμενόμενες οχείες. Συγκεκριμένα, η εισαγωγή των κριών στην ομάδα των αμνάδων αντικατάστασης γινόταν στις αρχές Ιουλίου, οι οχείες άρχιζαν τον Σεπτέμβριο αλλά παρατηρούνταν, κυρίως, στα τέλη Σεπτεμβρίου και αρχές Οκτωβρίου. Οι περισσότεροι τοκετοί συνέβαιναν τον Φεβρουάριο, με μέσο αριθμό αρνιών γεννηθέντων ανά αμνάδα 1,3. Κάθε χρόνο το 15% περίπου των αμνάδων δεν γονιμοποιούνταν και δεν γεννούσαν κατά την πρώτη αναπαραγωγική περίοδο.

Πειραματικός σχεδιασμός

Σαράντα τρεις αμνάδες ηλικίας 7-8 μηνών, ημιάιμης φυλής, εντάχθηκαν στη μελέτη. Κατά την έναρξη του πειραματισμού, καταγράφηκε ο ατομικός αριθμός σήμανσης, η ακριβής ηλικία, το Σωματικό Βάρος (Σ.Β.) και ο Δείκτης Θρεπτικής Κατάστασης (Δ.Θ.Κ.) (Russel, 1984) κάθε αμνάδας. Οι αμνάδες χωρίστηκαν τυχαία σε τρεις ομάδες που ήταν η L (n=16), η S (N=16) και η C (n=11), όπως φαίνεται στον Πίνακα 1. Ζώα της ίδιας ομάδας σημάνθηκαν με κύκλο ίδιου χρώματος. Στα ζώα των ομάδων L και S πραγματοποιήθηκε πρόκληση οίστρου με εισαγωγή ενδοκολπικά σπόγγων οξικής μεδροξυπρογεστερόνης (60 mg, Ovigest, Hípra) και ενδομυϊκή έγχυση 250 IU ίππειας χοριακής γοναδοτροπίνης (Gonaser Hípra) κατά την αφαίρεση των σπόγγων. Η ημέρα εισαγωγής των σπόγγων ορίστηκε ως ημέρα 0 για τις αμνάδες όλων των ομάδων. Στα ζώα της ομάδας C (n=11) δεν έγινε καμία ορμονική παρέμβαση και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Στην ομάδα L οι σπόγγοι παρέμειναν ενδοκολπικά για 14 ημέρες, ενώ στην ομάδα S για 7 ημέρες. Σε όλη τη διάρκεια του πειραματισμού τα ζώα είχαν την ενδεδειγμένη κτηνιατρική φροντίδα.

Πίνακας 1

Ο μέσος όρος της Ηλικίας, του Σωματικού Βάρους (Σ.Β.) και του Δείκτη Θρεπτικής Κατάστασης (Δ.Θ.Κ.) των αμνάδων που συμμετείχαν στις ομάδες L, S και C.

Ομάδα	Ηλικία σε μήνες (μ.ο.)	Σ.Β σε κιλά (μ.ο.)	Δ.Θ.Κ. (μ.ο.)
L (n=16)	7,87	38,77	2,85
S (n=16)	7,88	39,25	2,83
C (n=11)	7,77	38,83	2,90

Κατά την εξαγωγή των σπόγγων έγινε επισκόπηση του γεννητικού συστήματος και έλεγχος για ύπαρξη παθολογικού εκκρίματος στην επιφάνεια του κάθε σπόγγου. Δημιουργήθηκαν δύο κατηγορίες ως προς τη φύση του εκκρίματος. Ως πρώτη κατηγορία χαρακτηρίστηκε η παρουσία στην επιφάνεια του σπόγγου μικρής ποσότητας δύσοσμου οροαιμορραγικού υγρού και ως δεύτερη κατηγορία χαρακτηρίστηκε η παρουσία άφθονου δύσοσμου πυοαιμορραγικού εκκρίματος με πύγματα.

Στη μελέτη συμμετείχαν 5 κριοί, με ειδικό επιστήθιο σήμανσης, προκειμένου να σημάνουν και να οχεύσουν τις αμνάδες εάν βρίσκονταν σε οίστρο. Οι αμνάδες της κάθε ομάδας σταβλίζονταν σε ξεχωριστά διαμορφωμένους χώρους. Στις αμνάδες της ομάδας C, 1 κριός εισήχθη την ημέρα 7 και παρέμεινε με τις αμνάδες καθ' όλη τη διάρκεια της παρατήρησης. Στις αμνάδες της ομάδας S, 2 κριοί εισήχθησαν κατά την αφαίρεση των σπόγγων (ημέρα 7), παρέμειναν για τρεις ημέρες και απομακρύνθηκαν, αφού έγινε καταγραφή των επιβάσεων. Έπειτα, εισήχθησαν ξανά την ημέρα 17 και παρέμειναν με τις αμνάδες μέχρι το τέλος του πειραματισμού. Στις αμνάδες της ομάδας L, 2 κριοί εισήχθησαν κατά την αφαίρεση των σπόγγων (ημέρα 14), παρέμειναν τρεις ημέρες και απομακρύνθηκαν αφού έγινε καταγραφή των επιβάσεων. Στη συνέχεια, εισήχθησαν ξανά την ημέρα 24 και παρέμειναν με τις αμνάδες μέχρι το τέλος του πειραματισμού. Για την καταγραφή των επιβάσεων-οχειών γινόταν παρατήρηση του χρωματισμού της ράχης των αμνάδων. Το χρώμα σήμανσης αλλαζόταν πριν την εισαγωγή των κριών, καθώς και κάθε φορά που παρατηρούσαν χρωματισμός στη ράχη κάποιας αμνάδας στην κάθε ομάδα. Το χρονοδιάγραμμα του πειραματισμού παρουσιάζεται στο Σχήμα 1.

Διάγνωση εγκυμοσύνης και καταμέτρηση του αριθμού των εμβρύων έγινε υπερηχογραφικά 60 ημέρες μετά την εισαγωγή των σπόγγων (46 και 53 ημέρες μετά την εξαγωγή των σπόγγων στην ομάδα L και S, αντίστοιχα). Η εξέταση έγινε με φορητή συσκευή Mindray DP2200 και κεφαλή Convex στα 3.5 MHz. Τέλος, έγινε καταγραφή της ημερομηνίας τοκετού και του αριθμού των αρνιών που γεννήθηκαν.

Σχήμα 1

Πρωτόκολλο και χρονοδιάγραμμα πειραματισμού.

Ομάδα C		*					x	US
Ομάδα S		*	#		**		x	US
	↑		↓					
Ομάδα L				*	#	**	x	US
	↑			↓				
Ημέρα	0	7	10	14	17	24	33	60



↑ : Εισαγωγή σπόγγων



↓ : Εξαγωγή σπόγγων και έγχυση eCG

* : Εισαγωγή κριών και παραμονή τους

** : Εκ νέου εισαγωγή κριών και παραμονή τους

: Απομάκρυνση κριών

x: Τελευταία καταγραφή χρωματισμού ράχης

US: Υπερηχογραφική εξέταση

Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος IBM SPSS Statistics έκδοση 26. Πραγματοποιήθηκαν συγκρίσεις μεταξύ των τριών διαφορετικών ομάδων των ζώων. Ο αριθμός των ζώων που εκδήλωσαν οίστρο και δέχτηκαν την επίβαση συγκρίθηκε μεταξύ των τριών ομάδων με τη δοκιμή χ^2 κατά Pearson. Η ίδια δοκιμή χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση μεταξύ των τριών ομάδων του αριθμού των ζώων στα οποία διαγνώστηκε εγκυμοσύνη, καθώς και για τη σύγκριση του αριθμού των ζώων που τελικά γέννησαν. Ο αριθμός των αρνιών που γεννήθηκαν ανά προβατίνα μεταξύ των τριών ομάδων συγκρίθηκε με τη δοκιμή ANOVA.

Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0,05$.

B. Αποτελέσματα

Ανίχνευση οίστρου

Η ανίχνευση του οίστρου και των οχειών βασίστηκε στον χρωματισμό του μαλλιού της ράχης των αμνάδων που γινόταν κατά την επίβαση των κριών. Στην ομάδα S, 2-3 ημέρες μετά την αφαίρεση των σπόγγων, εμφανίστηκε οίστρος σε 13 ζώα (81,3%), ενώ στην ομάδα L, 1-3 ημέρες μετά την αφαίρεση των σπόγγων, εμφανίστηκε οίστρος σε 16 ζώα (100%). Ο αριθμός των αμνάδων που εμφάνισαν οίστρο μετά την αφαίρεση των σπόγγων δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων L και S ($p>0,05$). Όμως, 2 αμνάδες της ομάδας S παρουσίασαν μικρής διάρκειας οιστρικό κύκλο και δέχτηκαν ξανά την επίβαση των κριών 7 ημέρες αργότερα. Άλλες 2 αμνάδες της ομάδας S παρουσίασαν οίστρο πολύ αργότερα, τις ημέρες 24 και 33 του πειραματισμού. Από τις αμνάδες της ομάδας L, οι οποίες όλες συγχρονίστηκαν και εμφάνισαν οίστρο, μόνο 1 εμφάνισε ξανά οίστρο 17 ημέρες αργότερα. Σχετικά με την ομάδα C, οι αμνάδες εμφάνισαν οίστρο σε διάφορους χρόνους, απ' τις οποίες 8 συνολικά εμφάνισαν οίστρο κατά τη διάρκεια της παρατήρησης (ημέρα 0 έως 33). Οι ημέρες που οι αμνάδες εμφάνισαν οίστρο και δέχτηκαν την επίβαση παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2

Καταγραφή οίστρων-οχειών από παρατήρηση του χρωματισμού της ράχης των αμνάδων στις ομάδες L, S και C. Ως ημέρα 0 ορίστηκε η ημέρα εισαγωγής των σπόγγων στις αμνάδες των ομάδων L (αφαίρεση σπόγγων την ημέρα 14) και S (αφαίρεση σπόγγων την ημέρα 7).

ΟΜΑΔΑ	Ημέρα 8-10		Ημέρα 15-17		Ημέρα 24-26		Ημέρα 31-33	
	n	%	n	%	n	%	n	%
L (n=16)	-	-	16 (1*,15)	100,0 ^{β,γ}	0	0	1*	6,3
S (n=16)	13 (1*, 2**, 10)	81,3 ^{α,β}	2**	12,5	1	6,3	1*	6,3
C (n=11)	3 (1*, 2**)	27,3 ^α	1*	9,1 ^γ	6(2**, 4)	54,5	2 (1, 1*)	18,2

Υποσημείωση

*,**: Τα ζώα στην κάθε ομάδα (ίδια γραμμή) που έχουν επισημανθεί με * ή ** χρωματίστηκαν περισσότερο από μία φορές

^α: ο αριθμός των ζώων που εμφάνισαν οίστρο τις ημέρες 8-10 διέφερε σημαντικά ($p=0,008$) μεταξύ των ομάδων S και C

^β: ο αριθμός των ζώων που εμφάνισαν οίστρο 2-3 ημέρες μετά την αφαίρεση των σπόγγων δεν διέφερε ($p>0,05$) μεταξύ των ομάδων L και S

^γ: ο αριθμός των ζώων που εμφάνισαν οίστρο τις ημέρες 15-17 διέφερε σημαντικά ($p<0,0005$) μεταξύ των ομάδων L και C

Κατά την αφαίρεση των σπόγγων διαπιστώθηκε κλινικά έκκριμα πρώτης και δεύτερης κατηγορίας σε 6 (37,5%) ζώα της ομάδας L έναντι 1 (6,3%) στην ομάδα S ($p = 0,041$), όπως φαίνεται στον Πίνακα 3. Μάλιστα, σοβαρή κολπίτιδα εκδηλώθηκε σε μια αμνάδα μόνο στην ομάδα L.

Πίνακας 3

Εκτίμηση κολπικού εκκρίματος στις αμνάδες των ομάδων L και S κατά την αφαίρεση των σπόγγων.

ΟΜΑΔΑ	Πρώτη Κατηγορία (Ήπια κολπίτιδα)		Δεύτερη κατηγορία (Σοβαρή κολπίτιδα)		ΣΥΝΟΛΟ	
	n	%	n	%	n	%
L (n=16)	5	31,3	1	6,3	6	37,5
S (n=16)	1	6,3	0	0	1	6,3

Διάγνωση κυοφορίας - Καταγραφή τοκετών

Το ποσοστό εγκυμοσύνης και το ποσοστό τοκετών ήταν 12/16 και 10/16 στην ομάδα L, 9/16 και 9/16 στην ομάδα S, και 5/11 και 2/11 στην ομάδα C, αντίστοιχα, όπως φαίνεται στον Πίνακα 4 ($p \geq 0,058$ για όλες τις συγκρίσεις). Η μέση τιμή των αρνιών που γεννήθηκαν ανά αμνάδα ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα S (1,4) σε σύγκριση με την ομάδα L (1,0) και C (1,0) ($p=0,034$).

Πίνακας 4

Αναπαραγωγική απόδοση των αμνάδων καθ' όλη τη διάρκεια του πειραματισμού. Η ανίχνευση του οίστρου έγινε σ' όλες τις αμνάδες έως την ημέρα 33 του πειραματισμού, η διάγνωση εγκυμοσύνης έγινε την ημέρα 60. Οι τοκετοί καταγράφηκαν τις ημέρες 154-161 (ως ημέρα 0 ορίστηκε η έναρξη του πειραματισμού και η εισαγωγή των σπόγγων στις ομάδες L και S).

Ομάδα	Συγχρονισμός οίστρου		Ανίχνευση οίστρου		Διάγνωση εγκυμοσύνης		Τοκετοί		Αριθμός αρνιών που γεννήθηκαν ανά αμνάδα	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	M.O.
L (n=16)	16	100	16	100	12	75	10	62,5	10	1 ^β
S (n=16)	13	81,3	14	87,5	9	56,3	9	56,3	13	1,44 ^α
C (n=11)	-	-	8	72,7	5	45,5	2	18,2	2	1 ^β

Υποσημείωση

^{α,β}: οι μέσοι όροι των αρνιών που είναι σημειωμένοι με διαφορετικό εκθέτη διαφέρουν σημαντικά ($P=0,034$)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη καταδεικνύει ότι η μικρής διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία σε αμνάδες λίγο πριν την έναρξη της αναπαραγωγικής τους περιόδου. Μάλιστα, η αγωγή αυτή οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των αρνιών που γεννιούνται ανά προβατίνα σε σχέση με τη μακράς διάρκειας αγωγή. Επίσης, η αγωγή με προγεσταγόνα μικρής ή μακράς διάρκειας, λίγο πριν την έναρξη της πρώτης αναπαραγωγικής περιόδου των αμνάδων, οδήγησε σε πρώιμους τοκετούς σε σχέση με τα ζώα που δεν δέχτηκαν ορμονική αγωγή, αλλά μόνο την επίδραση του κριού.

Όλα τα ζώα της ομάδας L ανταποκρίθηκαν στην αγωγή και εμφάνισαν οίστρο που καταγράφηκε εντός 72 ωρών μετά την εξαγωγή των σπόγγων, ενώ στην ομάδα S ανταποκρίθηκαν τα 13 από τα 16 ζώα στο ίδιο χρονικό διάστημα μετά την αφαίρεση των σπόγγων. Στην παρούσα μελέτη η διαφορά δεν κρίνεται στατιστικώς σημαντική. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με αυτά των Papadopoulos et al (2017), όπου σε προβατίνες ελληνικών εγχώριων φυλών δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές ως προς τη συγκέντρωση προγεστερόνης και συνεπώς την εμφάνιση οίστρου μεταξύ μικρής και μακράς διάρκειας αγωγής. Σύμφωνα με τους Vinales et al (2001), η εμφάνιση οίστρου μέχρι 96 ώρες μετά την αφαίρεση του σπόγγου ήταν σημαντικά υψηλότερη στη μακράς διάρκειας αγωγή σε προβατίνες, με τα ζώα να εμφανίζουν οίστρο 42-52 ώρες στη μακράς και 66-91 ώρες στη σύντομης διάρκειας αγωγή. Οι Ozyurtlu et al (2011) αναφέρουν έναρξη οίστρου στις 41,5 και 53 ώρες από την αφαίρεση του σπόγγων στη μακράς και στη μικρής διάρκειας αγωγή, αντίστοιχα, ενώ οι Ustuner et al (2007) αναφέρουν 33,3 και 73,3 ώρες, αντίστοιχα. Στη μελέτη των Ungerfeld and Rubianes (2002) αναφέρονται οι 46,2 ώρες ως μεσοδιάστημα από την αφαίρεση των σπόγγων μέχρι την εκδήλωση οίστρου στη μικρής διάρκειας αγωγή. Ταυτόχρονα όλες οι παραπάνω μελέτες δεν εμφανίζουν διαφορές ως προς την αποτελεσματικότητα στην εμφάνιση οίστρου. Σε αντίθεση με τα παραπάνω, οι Ozis and Koyuncu (2019) εμφανίζουν μικρότερα ποσοστά αποτελεσματικότητας στην πρόκληση οίστρου με τη μικρής διάρκειας αγωγή.

Στην παρούσα μελέτη δύο ζώα της ομάδας S δέχτηκαν την επίβαση από τον κριό δύο φορές σε διάστημα 7 ημερών, γεγονός που δείχνει ότι ο πρώτος οιστρικός τους κύκλος ήταν μικρής διάρκειας, μάλλον 7 ημερών. Όλες, όμως οι αμνάδες στις οποίες εφαρμόστηκε μακράς διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα εκδήλωσαν οιστρικό κύκλο φυσιολογικής διάρκειας, αφού δεν ανιχνεύθηκε οίστρος στο μεσοδιάστημα. Ο οιστρικός κύκλος μικρής διάρκειας πιθανότατα οφείλεται στη μικρής διάρκειας αγωγή. Εξάλλου, ο οίστρος στα νεαρά ζώα είναι μικρότερης διάρκειας. Σύμφωνα με τους Vinales et al (2001) με την αγωγή μικρής διάρκειας επιτυγχάνεται μικρότερος συγχρονισμός της έναρξης των οίστρων, ενώ οι Amer and Hazaa (2009) έδειξαν καλύτερο ποσοστό συγχρονισμού μετά από τη μακράς διάρκειας αγωγή σε σύγκριση με τη μικρής διάρκειας με ίδια ποσοστά γονιμότητας μεταξύ των δύο αγωγών.

Από την εμφάνιση οίστρου στις αμνάδες της ομάδας C επιβεβαιώνεται η επίδραση του κριού σε ζώα που πλησιάζουν την ενήβωση (Ungerfeld et al 2004, Valasi et al 2012), καθώς 8 από τις 11 αμνάδες εμφάνισαν οίστρο που καταγράφηκε 17-26 ημέρες μετά την εισαγωγή των κριών.

Είναι ήδη γνωστό ότι η μακράς διάρκειας αγωγή ευθύνεται να την εκδήλωση κολπίτιδας. Στην ομάδα L που παρέμειναν οι σπόγγοι ενδοκολπικά για 14 ημέρες, σ' ένα ζώο παρατηρήθηκε κολπίτιδα σοβαρής μορφής, ενώ σε κανένα ζώο της ομάδας S δεν παρατηρήθηκε ανάλογο κολπικό έκκριμα. Η κολπίτιδα αυτή αποδίδεται στη μακρόχρονη παραμονή του σπόγγου και μπορεί να επιδράσει αρνητικά στη γονιμότητα, εξαιτίας της αλλαγής της μικροβιακής χλωρίδας και της προκαλούμενης φλεγμονής (Manes et al 2014, Manes et al 2015, Martinez-Ros et al 2018b). Στην παρούσα μελέτη, κατά την εξαγωγή των σπόγγων το 37,5% των ζώων της ομάδας L εμφάνισε ενδείξεις κολπίτιδας, ενώ στην ομάδα S το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 6,25%. Στη μελέτη των Martinez-Ros et al (2018b) τα ποσοστά ήταν 80% και 15%, αντίστοιχα. Η διαφορά που παρατηρείται πιθανόν να είναι αποτέλεσμα των διαφορετικών κριτηρίων που χρησιμοποιήθηκαν για τον χαρακτηρισμό του εκκρίματος και πιθανώς στους χειρισμούς ή / και στις συνθήκες κατά την εισαγωγή των σπόγγων.

Η αγωγή με προγεσταγόνα λίγο πριν την έναρξη της πρώτης αναπαραγωγικής περιόδου των αμνάδων οδήγησε σε πρώιμους τοκετούς σε σύγκριση με τα ζώα που δεν δέχτηκαν ορμονική αγωγή, αλλά μόνο την επίδραση του κριού (ομάδα C). Οι διαφορές που προέκυψαν μεταξύ των ομάδων L και S στα ποσοστά εγκυμοσύνης και τοκετών δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές. Επίσης, οι διαφορές στα ποσοστά εγκυμοσύνης μεταξύ των ομάδων L και C, καθώς και S και C δεν ήταν σημαντικές, κάτι που ίσως οφείλεται στον μικρό αριθμό του δείγματος ζώων. Ωστόσο το ποσοστό ζώων που έφτασαν στον τοκετό ήταν σημαντικά μεγαλύτερο στις ομάδες L και S έναντι της ομάδας C. Το ποσοστό εγκυμοσύνης για την ομάδα L ήταν 75% και το ποσοστό τοκετών 62,5%. Τα ποσοστά αυτά είναι μεγαλύτερα από το 41% που αναφέρεται από τους Martinez et al (2015) σε μακράς διάρκειας αγωγή σε αμνάδες, ενώ είναι παραπλήσια με το 68% που καταγράφεται από τους O'Doherty and Crosby (1990). Επίσης, ο Quirke (1979) αναφέρει στη μακράς διάρκειας αγωγή ποσοστά εγκυμοσύνης από 69% έως 72%, ανάλογα με τη φυλή και χαμηλότερα σε σύγκριση με ενήλικα ζώα. Οι Mulvaney et al (2013) διαπίστωσαν επίσης ότι οι αναπαραγωγικές αποδόσεις των αμνάδων είναι χαμηλότερες από των ενήλικων προβατίνων, με το ποσοστό εγκυμοσύνης για αμνάδες να είναι 47% μετά από μακράς διάρκειας αγωγή. Σύμφωνα με τους Abecia et al (2001), οι αμνάδες που παρουσιάζουν ωχρινική δραστηριότητα πριν την αγωγή με προγεσταγόνα έχουν υψηλότερες αναπαραγωγικές αποδόσεις.

Στη σύγκριση του ποσοστού εγκυμοσύνης σε ενήλικες προβατίνες στη μακράς και στη μικρής διάρκειας αγωγή, οι Papadopoulos et al (2017) αναφέρουν βελτιωμένη γονιμότητα στην Καραγκούνικη φυλή με πρωτόκολλο μικρής διάρκειας και ίδια γονιμότητα στη φυλή Χίου. Οι Vinales et al (2001) παρουσιάζουν βελτίωση της γονιμότητας μετά από μικρής διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται αρνητική επίδραση της eCG στη γονιμότητα των

προβατίνων στο πρωτόκολλο μικρής διάρκειας, καθώς υπήρχαν υψηλά επίπεδα προγεστερόνης τη στιγμή της έγχυσης και έτσι η έγχυση eCG προκάλεσε τη δημιουργία ωθηκικών κύστεων. Αρκετές μελέτες αναφέρουν την ίδια γονιμότητα στη μικρή και στη μακράς διάρκειας αγωγή (Ungerfeld και Rubianes 1999, Ustuner et al 2007, Ozyurtlu et al 2011), ενώ αντίθετα μία μελέτη αναφέρει καλύτερα αποτελέσματα μετά από μακράς διάρκειας αγωγή (Ozis and Koyuncu 2019). Κάποιες μελέτες που συμπεριλαμβάνουν προσταγλανδίνη στη μικρής διάρκειας αγωγή παρουσιάζουν το ίδιο (Ataman et al 2006, Martinez et al 2015, Martinez-Ros 2019) ή καλύτερο αποτέλεσμα στη γονιμότητα (Karaca et al 2009, Martemucci and D'Alessandro 2011) σε σύγκριση με τη μακράς διάρκειας αγωγή, γεγονός που αποδίδεται στον καλύτερο συγχρονισμό οίστρων που επιτυγχάνεται μετά την έγχυση προσταγλανδίνης.

Η διάρκεια της αγωγής με προγεσταγόνα μπορεί να επηρεάσει και τον αριθμό των αρνιών που τελικά θα γεννηθούν. Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερος αριθμός αρνιών που γεννήθηκαν ανά προβατίνα στην ομάδα S (1,44) σε σύγκριση με τις ομάδες L (1) και C (1). Σύμφωνα με τους Papadopoulos et al (2017) σε προβατίνες φυλής Χίου διαπιστώθηκε, επίσης μεγαλύτερη πολυδυμία στη μικρής διάρκειας αγωγή (2 vs 2,54). Στην τελευταία μελέτη, ζώα Καραγκούνικης φυλής δεν παρουσίασαν διαφορές ως προς τον αριθμό αρνιών που γεννήθηκαν (1,5 vs 1,58). Άλλη μελέτη σε προβατίνες φυλής Awassi παρουσιάζει ίδιο ποσοστό πολυδυμίας και στις δύο αγωγές (Ozyurtlu et al 2011). Αντιθέτως, οι Ozis and Koyuncu (2019) βρήκαν μεγαλύτερη πολυδυμία στη μακράς διάρκειας αγωγή σε προβατίνες φυλής Karacabey Merino, κάτι που ίσως μπορεί να αποδοθεί στη μεγαλύτερη δόση eCG (500 IU) που χρησιμοποιήθηκε.

Η βελτίωση του αριθμού των αρνιών που γεννιούνται πιθανότατα είναι επακόλουθο της καλύτερης κατάστασης των ωοθυλακίων στη μικρής διάρκειας αγωγή. Η χαμηλή συγκέντρωση προγεστερόνης, που παρατηρείται στη μακράς διάρκειας αγωγή μετά την 6^η ημέρα παραμονής των σπόγγων, οδηγεί στην ανάπτυξη ενός μεγάλου σε μέγεθος κυρίαρχου ωοθυλακίου, στην επιμήκυνση της διάρκειας ζωής του και στην καθυστέρηση της εμφάνισης του επόμενου κύματος ανάπτυξης ωοθυλακίων. Αντιθέτως, οι υψηλές συγκεντρώσεις προγεστερόνης έχουν συσχετιστεί με καλύτερη υγεία των ωοθυλακίων. Η διατήρηση της προγεστερόνης σε υψηλή συγκέντρωση κατά τη διάρκεια της μικρής διάρκειας αγωγής με προγεσταγόνα έχει θετική επίδραση στην κατά κύματα ανάπτυξη των ωοθυλακίων, αυξάνοντας τον αριθμό των νέων μεγάλων ωοθυλακίων με προοπτική να ρηχθούν (Rubianes et al 1996, Vinales et al 1999, Vinales et al 2001, Menchaca και Rubianes 2004).

Σύμφωνα με το ιστορικό που λήφθηκε από τον κτηνοτρόφο της εκτροφής που έγινε η παρούσα μελέτη, συνήθως προκύπτουν 1,3 αρνιά ανά αμνάδα στον πρώτο τοκετό. Η πρόκληση του οίστρου με τη μικρής διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα και έγχυση eCG οδήγησε στη γέννηση μεγαλύτερου αριθμού αρνιών (1,44), γεγονός το οποίο μπορεί να αποδοθεί στη διάρκεια της αγωγής και όχι στην eCG, αφού τα ζώα της μακράς διάρκειας αγωγής παρότι, επίσης, έλαβαν eCG δεν

γέννησαν μεγάλο αριθμό αρνιών. Οι Martinez-Ros et al (2018a) έδειξαν ότι τα περισσότερα ωοθυλάκια που ρήγνυνται στη μικρής διάρκειας αγωγή προέρχονται από νέο-επιλεχθέντα ωοθυλάκια, τα οποία αναπτύσσονται ραγδαία στην ωοθυλακική φάση. Επίσης, στην ίδια μελέτη διαπιστώθηκε αυξημένη συγκέντρωση οιστραδιόλης κατά την ωοθυλακική φάση της μικρής διάρκειας σε σύγκριση με τη μακράς διάρκειας αγωγή. Η οιστραδιόλη του αίματος στις αμνάδες θεωρείται δείκτης ποιότητας των ωοθυλακίων (Βαλάση 2006). Όλα τα παραπάνω υποδηλώνουν περισσότερα και καλύτερης ποιότητας ωοθυλάκια στα μικρής διάρκειας πρωτοκόλλα, τα οποία διαθέτουν καλύτερη ικανότητα για ωρίμανση και γονιμοποίηση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μελέτη καταδεικνύει ότι η μικρής διάρκειας αγωγή με προγεσταγόνα μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία σε αμνάδες λίγο πριν την έναρξη της πρώτης οιστρικής περιόδου τους, διότι προκαλεί συγχρονισμό των οίστρων και ίδια γονιμότητα με τη συνήθη μακράς διάρκειας αγωγή.

Η αγωγή με προγεσταγόνα, ανεξάρτητα από τη διάρκειά της, λίγο πριν την έναρξη της πρώτης αναπαραγωγικής περιόδου των αμνάδων οδηγεί σε πρώιμους τοκετούς σε σύγκριση με τα ζώα που δέχονται ορμονική αγωγή, αλλά μόνο την επίδραση του κριού. Αυξάνεται έτσι η πιθανότητα να γεννήσουν νωρίτερα και να αποδώσουν μεγαλύτερη γαλακτοπαραγωγή από ότι θα γινόταν δίχως ορμονική αγωγή. Αυξάνεται, επίσης, η δυναμική κερδοφορία της εκτροφής, καθώς η μικρής διάρκειας αγωγή οδηγεί στη γέννηση αυξημένου αριθμού αρνιών σε σχέση με τη μεγάλης διάρκειας αγωγή.

Εξάλλου, τα πρωτόκολλα μακράς και μικρής διάρκειας μπορούν να έχουν κλινική εφαρμογή ταυτόχρονα σε μια εκτροφή αν ο αριθμός των διαθέσιμων κριών είναι περιορισμένος και απαιτείται ο συγχρονισμός να γίνει σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Χρειάζεται επιπλέον διερεύνηση και τροποποιημένων πρωτόκολλων ορμονικής αγωγής που εφαρμόζονται σε προβατίνες και χρησιμοποιούν άλλες ορμόνες, όπως GnRH ως προς την εφαρμογή τους σε αμνάδες.

Τέλος, ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζει, επίσης, η μελέτη της γαλακτοπαραγωγικής απόδοσης κατά την πρώτη γαλακτική περίοδο των αμνάδων που γεννούν μετά από μικρής διάρκειας αγωγή σε σχέση με τη μακράς διάρκειας αγωγή.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abecia JA, Forcada A, González-Bulnes A (2011). Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 27, 67-79
- Abecia JA, Forcada F, González-Bulnes A (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 130, 173-179
- Abecia JA, Forcada F, Zuniga O (2001). Differences in Reproductive Performance, Embryo Development, Interferon-tau Secretion by the Conceptus and Luteal Function in Ewe Lambs Synchronized in Oestrus before or after the Spontaneous Onset of Luteal Activity Preceding Puberty. *Reproduction in Domestic Animals*, 36, 73-77
- Ainsworth L and Shrestha JNB (1985). Effect of PMSG dosage on the reproductive performance of adult ewes and ewe lambs bred at a progestagen-PMSG synchronized estrus. *Theriogenology*, 24, 479-487
- Amer HA and Hazzaa AM (2009). The effect of different progesterone protocols on the reproductive efficiency of ewes during the non-breeding season. *Veterinarski Arhiv*, 79, 19-30
- Ataman MB, Akoz M, Akman O (2006). Induction of synchronized oestrus in akkaraman cross-bred ewes during breeding and anestrus seasons: the use of short-term and long-term progesterone treatments. *Revue de Medicine Veterinaire*, 157(5), 257-260
- Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL (2011). Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*, 124, 259-268
- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC (1999). Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anestrus. *Animal Reproduction Science*, 57, 51-66
- Delgadillo JA, Hernández H , Abecia JA, Keller M, Chemineau M (2020). Is it time to reconsider the relative weight of sociosexual relationships compared with photoperiod in the control of reproduction of small ruminant females? *Domestic Animal Endocrinology*, 73,106468
- Deligiannis C, Valasi I, Rekkas CA, Goulas P, Theodosiadou E, Lainas T, Amiridis GS (2005). Synchronization of ovulation and fixed time intrauterine insemination in ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, 40, 6-10
- Dyrmundsson OR (1987). Advancement of puberty in male and female sheep. In: Fayez I, Marai M, Owen JB (eds), *New Techniques in Sheep Production*. Butterworths, London.pp. 65-76
- Eurostat – Sheep population annual data (2020) <https://ec.europa.eu/eurostat>
- Foster DL (1988). Puberty in the female sheep. In: Knobil E, Neill J (eds), *The Physiology of Reproduction*. Raven Press Ltd, New York. pp. 1739-1761
- Gonzalez-Bulnes A, Menchaca A, Martin GB, Martinez-Ros P (2020). Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep oestrus cycle: where we are and where we should go. *Reproduction Fertility and Development*, 32, 441-452

- Hernandez F, Elvira L, Gonzalez-Martin JV, Gonzales-Bulnes A, Astiz S (2011). Influence of age at first lambing on reproductive and productive performance of Lacaune dairy sheep under an intensive management system. *Journal of Dairy Research*, 78, 160-167
- Johnson SK, Dailey RA, Inskeep EK, Lewis PE (1996). Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, 13, 69-79
- Karaca F, Ataman MB, Coyan K (2009). Synchronization of estrus with short- and long-term progestagen treatments and the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. *Small Ruminant Research*, 81, 185-188
- Letelier CA, Contreras-Solis I, García-Fernández RA, Ariznavarreta C, Tresguerres JA, Flores JM, Gonzalez-Bulnes A (2009). Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. *Theriogenology*, 71, 676-682.
- Manes J, Alberio R, Ungerfeld R (2014). Intravaginal placebo sponges affect negatively the conception rate in sheep. *Small Ruminant Research*, 120, 108-111
- Manes J, Campero C, Hozbor F, Alberio R, Ungerfeld R (2015). Vaginal Histological Changes after Using Intravaginal Sponges for Oestrous Synchronization in Anoestrous Ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, 50, 270-274
- Martemucci G and D'Alessandro AG (2010). Estrous and fertility responses of dairy ewes synchronized with combined short term GnRH, PGF2 and estradiol benzoate treatments. *Small Ruminant Research*, 93, 41-47
- Martemucci G, D'Alessandro AG (2011). Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2a, GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Animal Reproduction Science*, 123, 32-39
- Martinez MF, McLeod B, Tattersfield G, Smaill B, Quirke LD, Juengel JL (2015). Successful induction of oestrus, ovulation and pregnancy in adult ewes and ewe lambs out of the breeding season using a GnRH+ progesterone oestrus synchronization protocol. *Animal Reproduction Science*, 155, 28-35
- Martinez-Ros P, Astiz S, Garcia-Rosello E, Rios-Abellan A, Gonzalez-Bulnes A (2018a). Effects of short-term progestagens on the onset and features of estrus, preovulatory LH surge and ovulation in sheep. *Animal Reproduction Science*, 197, 317-323
- Martinez-Ros P, Gonzalez-Bulnes A, GarciaRosello E, Rios-Abellan A, Astiz S (2019). Effects of short-term intravaginal progestagen treatment on fertility and prolificacy after natural breeding in sheep at different reproductive seasons, *Journal of Applied Animal Research*, 47(1), 201-205
- Martinez-Ros P, Lozano M, Hernandez F, Tirado A, Rios-Abellan A, López-Mendoza AC, Gonzalez-Bulnes A (2018b). Intravaginal Device-Type and Treatment-Length for Ovine Estrus Synchronization Modify Vaginal Mucus and Microbiota and Affect Fertility. *Animals*, 8(12), 226
- Menchaca A and Rubianes E (2004). New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility and Development*, 16, 403-413

- Mulvaney FJ, Morris ST, Kenyon PR, Morel PCH, West DM, Vinales C, Glover KMM (2013). Comparison between the reproductive performance of ewe hoggets and mature ewes following a progesterone-based oestrus synchronization protocol. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 56(4), 288-296
- Nestor CC, Bedenbaugh MN, Hileman SM, Coolen LM, Lehman MN, Goodman RL (2018). Regulation of GnRH pulsatility in ewes. *Reproduction*, 156, R83-R99.
- O'Doherty JV and Crosby TF (1990). The effect of progestagen type, PMSG dosage and time of ram introduction on reproductive performance in ewe lambs. *Theriogenology*, 33, 1279-1286
- Ozis AS and Koyuncu M (2019). The effects of short-mid-long term intravaginal sponge application on reproductive performance of karacabey Merino ewes in the anestrus season. *Indian Journal of Animal Research*, 53, 33-36
- Ozyurtlu N, Ay SS, Kucukaslan I, Gungor O, Aslan S (2011). Effect of subsequent two short-term, short-term, and long-term progestagen treatments on fertility of Awassi ewes out of the breeding season. *Ankara Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 58, 105-109
- Papadopoulos S, Deligiannis C, Theodosiadou E, Kantas D, Lainas T, Goulas P, Fthenakis G, Valasi I (2017). Fertility rate of short-term progestagen pretreated ewes in relation to breed: A field study. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 68(1), 35-44
- Quirke JF (1979). Control of reproduction in adult ewes and ewe lambs, and estimation of reproductive wastage in ewe lambs following treatment with progestagen impregnated sponges and PMSG. *Livestock Production Science*, 6, 295-305
- Rawlings N and Bartlewski P (2007). *Current therapy in large animal theriogenology*. Saunders Elsevier, Philadelphia, USA
- Redmond JS, Macedo GG, Velez IC, Caraty A, Williams GL, Amstalden M (2011). Kisspeptin activates the hypothalamic-adenohypophyseal-gonadal axis in prepubertal ewe lambs. *Reproduction*, 141, 541-548
- Robinson JJ (1996). Nutrition and reproduction. *Animal Reproduction Science*, 42, 25-34
- Rubianes E, de Castro T, Carbajal B (1996). Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Canadian Journal of Animal Science*, 76, 473-475
- Russel, AJF (1984). Body condition scoring of sheep. *In Practice*, 6, 91-93
- Sawalha M, Kridli R, Jawasreh K, Meza-Herrera CA (2011). The use of melatonin and progestagen-eCG to initiate reproductive activity in prepuberal Awassi ewe lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 43, 1345-1350
- Scaramuzzi RJ, Downing JA, Campbell BK, Cognie Y (1988). Control of fertility and fecundity of sheep by means of hormonal manipulation. *Australian Journal of Biological Sciences*, 41, 37-45

Senger PL (2003). *Pathways to pregnancy and parturition*, 2nd edition. Current Conceptions Inc, Washington, USA

Smith JT and Clarke IJ (2010). Seasonal breeding as a neuroendocrine model for puberty in sheep. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 324, 102-109

Ungerfeld R and Rubianes E (1999). Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Animal Science*, 68, 349-353

Ungerfeld R and Rubianes E (2002). Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, 46, 63-66

Ungerfeld R, Forsberg M, Rubianes E (2004). Overview of the response of anestrus ewes to the ram effect. *Reproduction Fertility and Development*, 16, 479-490

Ustuner B, Gunay U, Nur Z, Ustuner H (2007). Effects of long and short term progestagen treatments combined with PMMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. *Acta Veterinaria Brno*, 76, 391-397

Valasi I, Chadio S, Fthenakis GC, Amiridis GS, (2012). Management of pre-pubertal small ruminants: Physiological basis and clinical approach. *Animal Reproduction Science*, 130, 126-134

Vinoles C, Forsberg M, Bancero 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

Vinoles C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E (1999). The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*, 51, 1351-1361

Βαλάση Ε (2009). Φαρμακευτική ρύθμιση της ωοθηκικής δραστηριότητας. Επιστημονική Διημερίδα «Νεότερα Δεδομένα στη Θεραπευτική των Προβάτων», Πάτρα, CEVA ΕΛΛΑΣ ΕΠΕ

Βαλάση Ε (2006). Αναρρόφηση ωοθυλακίων σε νεαρές αμνάδες: μελέτη της ποιότητας των συλλεγόμενων ωαρίων και της αναπαραγωγικής ικανότητας τους. *Διδακτορική διατριβή*, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Βαλάση Ε και Μενεγάτος Ι (2011). *Αναπαραγωγή μικρών μηρυκαστικών*. Γ.Χ. Φθενάκης. Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη

ΕΛΣΤΑΤ – Έρευνα διάρθρωσης γεωργικών και κτηνοτροφικών εκμεταλλεύσεων (2016) <https://www.statistics.gr>

Σαμαρτζή Φ και Φθενάκης ΓΧ (2003). Παρεμβάσεις ρύθμισης του οιστρικού κύκλου των μικρών μηρυκαστικών. *Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας*, 54, 351-361

Σμοκοβίτης Α (2014). *Φυσιολογία*. 8^η έκδοση, Εκδοτικός οίκος Δέσποινας Κυριακίδη, Θεσσαλονίκη

Τσακάλωφ Π (1983). *Μαιευτική των κατοικίδιων ζώων*. Υπηρεσία δημοσιευμάτων ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη