

Vooruitgang op die gebied van reproduksie-fisiologie

C.H. van Niekerk

Departement Mens- en Dierfisiologie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch

Advances in reproductive physiology. Reproductive physiology plays an important role in the genetic improvement and increasing the fertility of the cow. The following factors which have an important influence on increasing the fertility of the female animal are discussed: Selection for fertility; pharmacological and hormonal control of reproduction including synchronization of oestrous and ovulation, and immunization for multiple births; causes and reduction of embryo and foetal losses; and embryo transplants.

S. Afr. J. Anim. Sci. 1985, 15: 102 – 108

Reproduksie-fisiologie speel 'n belangrike rol in die genetiese verbetering sowel as die verhoging van vrugbaarheid van die koei. Die volgende faktore wat 'n belangrike invloed op die toename in vrugbaarheid van die vroulike dier het, word bespreek: Seleksie vir vrugbaarheid; farmakologiese en hormonale beheer van reproduksie insluitende sinkronisasie van bronstigheid en ovulasie, en immunisering vir meerlingeboortes; oorsake en vermindering van embrio en fetus verliese; en embrio-oorplantings.

S.-Afr. Tydskr. Veek. 1985, 15: 102 – 108

Keywords: Reproductive physiology, fertility, selection, hormonal control, oestrous synchronization, embryo losses, embryo transplants

Aangebied by die Simposium oor 'Vooruitgang op die gebied van Veekunde' by die 24ste Jaarlikse Kongres van die Suid-Afrikaanse Vereniging vir Dierreproduksie, Stellenbosch, 2 – 4 April, 1985

Die uitgangspunt van enige veeboerderyeenheid is om die hoogs moontlike produksie (inkomste) per kudde per jaar te toon. Die veekundige navorser moet dan ook, in die beplanning van sy navorsingsprioriteite, dié doel nastreef.

Daar is veral drie belangrike hooffaktore of aspekte wat 'n direkte invloed op die produksie van 'n kudde het, naamlik: Die genetiese potensiaal van die diere; die vrugbaarheid van die diere; en die voeding en bestuur van die kudde.

Die geslags- of reproduksie-fisiologie speel 'n baie belangrike rol in beide die genetiese verbetering sowel as die verhoging van die vrugbaarheid van 'n kudde.

Verbetering van die genetiese potensiaal van die kudde

Die verbetering kan as volg geskied:

Seleksie van manlike en vroulike diere (binne kudde);

Kunsmatige inseminasie (K.I.) met uitstaande manlike diere plus seleksie van vroulike nageslag; en

K.I. met uitstaande manlike diere op beproefde uitstaande vroulike diere plus embrio-oorplanting en embrio-manipulasie plus seleksie van die nageslag.

Verhoging van die vrugbaarheid en fekunditeit

Die volgende aspekte speel 'n belangrike rol in die verhoging van vrugbaarheid veral in vroulike diere: Seleksie vir vrugbaarheid tesame met die toepassing van sekere evalueringsprosesse vir vrugbaarheid; uitskakeling van siekte en patologiese toestande wat vrugbaarheid verlaag; farmakologiese beheer van reproduksie; voorkoming van embrionale en fetale verlies; en embrio-oorplanting.

Seleksie vir vrugbaarheid

Gewone konvensionele seleksie vir vrugbaarheid is 'n lang en moeisame proses en volgens Johnson (1984) bestaan daar in die meeste plaasdierspesies, en veral in die vark, min bewyse van genetiese verbetering in die reproduksiedoeltreffendheid deur gewone seleksiemetodes oor die laaste aantal jare. In die algemeen het reproduksie-eienskappe 'n baie lae oorerfbaarheid. Die biochemiese en fisiologiese meganismes wat die funksies van die gonades beheer wys 'n geweldige groot genetiese variasie. Dit is veral te wyte aan die multikomponent-kompleksiteit sowel as die komplekse negatiewe terugvoermeganisme wat meeste van die reproduksie-eienskappe beheer (Spearow, 1984).

Farmakologiese (hormonale) beheer van reproduksie

Die ontdekking van mikroreguleerders vir die bepaling van hormone het meegebring dat die geslagshormone baie vinnig en akkuraat in liggaamsvloeistowwe bepaal kan word. Dit het

C.H. van Niekerk

Departement Mens- en Dierfisiologie, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch, 7600 Republiek van Suid-Afrika

tot gevolg gehad dat ons veral in die afgelope paar jaar 'n baie beter insig in die hormoonregulering van al die aspekte van reproduksie en veral in die werking van die brein-pituitêre-klier-ovaria (BPO)-aksis gekry het. Die farmakologiese beheer van die verskillende stadiums van reproduksie kan dus baie meer wetenskaplik nagevors word as in die verlede.

Sinkronisasie van estrus en ovulasie

Navorsing op die gebied van estrussinkronisasie by skape het oor die afgelope dekade baie goeie resultate opgelewer en word vandag redelik algemeen en met goeie resultate in die praktyk toegepas. Progestageengeïmpregneerde sponse in kombinasie met DMSG of prostaglandien gee baie goeie sinkronisasie sowel as bevrugtingsresultate, binne sowel as buite die teelseisoen (Greyling, Van der Westhuysen & Van Niekerk, 1979; Loubser & Van Niekerk, 1981; Van der Westhuysen & Greyling, 1981).

By beeste, veral by baie van die vleisrasse, veral die Zebutipes, bestaan daar nog nie 'n aanvaarbare praktiese sinkronisasieprogram met 'n goeie konsepsiesyfer nie. Meeste van die huidige programme waar progestagene binnespiers, *per os* of vaginaal toegedien word, selfs in kombinasie met PMSG, GnRH of prostaglandien, sowel as die dubbele inspuiting van prostaglandien, gee baie wisselvallige resultate. Die sinkronisasie van estrus is gewoonlik goed maar die konsepsiesyfers is baie wisselvallig. Goeie resultate word soms by klein groepies diere onder proefplaastoestande verkry, maar sodra dieselfde program op groot kommersiële kuddes toegepas word wissel die bevrugtingsresultate geweldig baie. Navorsing op dié gebied sal dus nog baie aandag moet geniet (Van Niekerk & Morgenthal, 1975; Grosskopf, 1976; Coetzer 1979; Van der Westhuysen, 1980; Beal, Good & Peterson, 1984; Britt, 1984; Smith, Pomerantz, Beal, McCann, Pilbeam & Hansel, 1984; Voss & Holtz, 1984).

Die postpartumperiode

Dit is die periode vanaf partus tot die eerste vrugbare estrusperiode waartydens die vroulike dier weer normaal dragtig kan word. Lang postpartum-anestrusperiodes (laktasie-anestrum) bly steeds een van die belangrikste beperkende faktore in die verhoging van die reproduksiepotensiaal van veral sekere vleisrasbeeste asook hoogproduserende melkrasse (Van Niekerk, 1975). Navorsers probeer al vir etlike jare, sonder veel sukses, om dié periode met verskeie behandelingsmetodes met hormone soos progestagene, DMS en GnRH te verkort (Van Niekerk, Belonje & Spreeth, 1970; Van Niekerk & Morgenthal, 1975; Van der Westhuysen, Coetzer & Greyling, 1980).

Die herstel van die baarmoeder (involusie) is by meeste beesrasse 30–45 dae na partus voltooi (Coetzer, 1979; Sloss & Duffy, 1980). Dit neem egter veel langer vir die eierstokke om normaal siklies te funksioneer. Die postpartum herstel van die brein-pituitêre-ovaria-aksis (BPO-aksis) of die endokriene reguleringstelsel vind stapsgewys plaas en dit is noodsaaklik dat die een stap eers voltooi word voordat die volgende 'n aanvang kan neem (Malven, 1984; Peters & Lamming, 1984; Schallenberger, Walters, Oschmann & Meyer, 1984).

Die fases van endokriene herstel is as volg:

1. Herstel vanaf die dragtigheidsstadium en partus.
2. Ontsnapping van die sooggeïndusseerde onderdrukkende werking op die gonadotropiene.
3. Eerste ovulasie (stilovulasie) gepaard met die eerste luteale ontwikkeling.
4. Normale sigbare estrus met 'n vrugbare ovulasie gevolg deur 'n normale corpus luteum wat dragtigheid in stand

sal kan hou.

Gedurende fase 1 herstel die BPO-aksis eerstens van die blootstelling aan hoë konsentrasies van progesterone en estrogene wat partus onmiddellik voorafgaan, asook hoë konsentrasies kortisol, prostaglandien en oksitosien wat gedurende partus vrygestel word. Daar is ook gevind dat gedurende die eerste fase na partus die konsentrasies van LH baie laag was in die hipofise sowel as in die bloed. Dit is dus duidelik dat toediening van GnRH gedurende dié fase geen verhoging van die LH-konsentrasie in die bloed kan teweegbring nie. Die FSH-konsentrasies in die plasma van die koei begin alreeds op 'n vroeë stadium toeneem maar verander daarna baie min (Williams, Talavera, Petersen, Kirschen & Tilton, 1983; Madej, Oyedipe, Edqvist & Kindahl, 1984). Die produksie asook die sikliese vrystelling van LH moet eers hervat word voordat die aktiwiteit van die eierstokke hervat kan word en fase 1 voltooi is. Die BPO-aksis is egter nog onder die sterk onderdrukkende effek van soog en melkproduksie wat 'n negatiewe effek op die afskeiding van die gonadotropiene het. Die BPO-aksis sal eers daarvan moet ontsnap voordat eierstokfunksies normaal kan wees.

Die onderdrukkende effek van soog op die vrystelling van GnRH verskil egter baie tussen spesies asook rasse. Daar vind 'n bykans volledige onderdrukking van GnRH-afskieding plaas as gevolg van soging in spesies soos die vark, sekere vleisrasbeeste soos die Afrikaner en tot 'n mindere mate by hoogproduserende melkrasse. By sekere skaaprasse, asook by die merrie, vind daar bykans geen laktasie-onderdrukking plaas nie.

Behalwe die onderdrukkende effek van soging op GnRH-afskieding blyk dit ook dat die hipofiseselle in sekere rasse ook nog 'n sekere mate van refraktorieit teen GnRH op dié stadium het, wat eers aan die end van die tweede fase oorbrug word. Vandaar die moontlikheid dat sintetiese GnRH-toedienings selfs op hierdie stadium ook nie die gewenste uitwerking by sekere rasse (Afrikaner) asook sekere individue het nie.

Dit blyk dat daar eers 'n ovulasie (stilovulasie) en die daaropvolgende vorming van luteale weefsel (fase 3) moet plaasvind voordat die vierde fase 'n aanvang kan neem. Gedurende fase 3 kry ons vir die eerste keer die afskeiding van progesteron, al is dit nog nie in hoë konsentrasies nie. Die negatiewe terugvoer van progesteron op GnRH-afskieding en gevolglik op die afskeiding van FSH en veral LH, bring nou die begin van die sikliese beheer van die BPO-aksis in werking en die geslagstelsel is reg vir voortplanting. Nou eers kan dit in die vierde, of normale, voortplantingsfase gaan. Teoreties is dit dus net moontlik om die derde fase deur middel van hormoon-toedienings soos byvoorbeeld progestagene en GnRH te verkort.

Immunisering vir meerlinge

Hierdie is 'n relatief nuwe navorsingsveld wat nog baie ontgin kan word veral ten opsigte van vleisbeesrasse. In kort kom dit daarop neer dat 'n antiserum teen die belangrikste steroïedes van die eierstokke gemaak word, naamlik die androgene en estrogene.

Die steroïed word eers aan 'n draerproteïen, byvoorbeeld beesserum-albumien, gekoppel en daarna in die soogdier (byvoorbeeld skaap), wat vir die produksie van die antiserum gebruik word, ingespuut. Teenliggaampies teen die vreemde proteïen, maar ook teen die steroïed, ontwikkel en so kan 'n antiserum teen die betrokke steroïed verkry word (England & Nordblom, 1984). Indien die antiserum vir ooie byvoorbeeld in die merino ingespuut word, verbind dit met die steroïede

vanaf die eierstokke. Die negatiewe of onderdrukkende werking van die ovariaosteroïede op die gonadotropiene word dus verminder en meer FSH word oor 'n langer periode vrygestel wat dan die vorming van meer as een follikel stimuleer voordat ovulasie plaasvind. Volgens die Australiese werkers Gerald & Dow (1984), kan die immuniseringstegniek so toegepas word dat die voorkoms van tweeling, byvoorbeeld in merino-ooie, aansienlik verhoog word sonder verhoging van die voorkoms van drie- en vierlinge. Dié metode is dus verkieslik bo die gebruik van DMSG om fekunditeit in die teelseisoen te verhoog.

In die geval van beeste het Streenan (1984) gevind dat immunisering teen 'n aantal steroïedes wel hoë teenliggaamtiter in die ontvangerkoeie gee, maar dit slaag egter nie daarin om die ovulasietempo te verhoog nie. Hy meen dat die fisiologiese meganisme wat die ovulasietempo beheer, moontlik kan verskil by skape en beeste. Dit blyk dus dat daar heelwat navorsing op dié gebied gedoen sal moet word by die bees.

Embrionale verlies

Die gesegde, 'wat die oog nie sien nie voel die hart nie oor sleg nie', is baie waar in die geval van embrionale en fetale verlies. Wanneer 'n koei, merrie of varksog 'n sigbare aborsie het, voel almal bekommerd en word daar dadelik van werk gemaak om die oorsaak van die aborsie vas te stel om so-doende korrektiewe behandeling te kan toepas. In werklikheid is sigbare aborsies in meeste spesies net 'n klein gedeelte van die moontlike fetale verlies wat tussen konsepsie en geboorte kan voorkom.

Met uitsondering van die merrie is daar nog weinig navorsing op dié belangrike oorsaak van lae reproduksie by sommige van ons plaasdierspesies gedoen. Een van die moontlike redes hiervoor is, dat met uitsondering van die merrie, dit in die verlede moeilik was om op 'n vroeë stadium 'n definitiewe diagnose van dragtigheid te maak.

Van Niekerk (1965a) het 'n metode beskryf waarvolgens dragtigheid tussen 18–20 dae na ovulasie deur middel van rektale palpering gediagnoseer kan word by 'n merrie. Sedertdien is die metode wêreldwyd op volbloedmerries toegepas. Embrio-afsterwe en resorpsie kan dus na 20 dae met 'n groot mate van akkuraatheid in die merrie vasgestel word. Met die koms van die ultrasoniese skandeerder kan, in die geval van die merrie, 'n definitiewe diagnose van dragtigheid 14 dae na konsepsie gemaak word (Chevalier & Palmer, 1982). In die geval van die koei is 'n definitiewe rektale diagnose van dragtigheid eers na ongeveer 6 weke tot 2 maande moontlik. Met die koms van die radio-immunologiese-metodes 'n paar jaar gelede kan deur middel van die progesteronebepalings in die bloed of melk 'n redelik definitiewe diagnose van dragtigheid, ongeveer 18–20 dae na konsepsie gemaak word. In verskeie toestande waar die corpus luteum nie degenerer nie kan valse positiewes verkry word wat dit moeilik maak om met dié metode 'n definitiewe opname van embrionale afsterwe tussen 20 en 60 dae te maak. Die verskil in ontwikkeling van die vrugsakke tussen die bees en die perd veroorsaak dat die bees hom nie so maklik leen tot 'n vroeë diagnose met die ultrasoniese tegnieke nie. 'n Definitiewe diagnose kan, in die geval van die bees, eers tussen 26 en 30 dae gemaak word (Pierson & Ginther, 1984). Met die metode, indien dit verder vervolmaak word, kan waardevolle inligting oor die vroeë ontwikkeling en afsterwe van die embrio in die toekomst ook by beeste ingesamel word. In die geval van die skaap kan 'n dragtigheidsdiagnose deur middel van ultrasoniese tegnieke eers na ongeveer 90 dae met 'n hoë mate

van akkuraatheid gedoen word (Langford, Shrestha, Fisher, Ainsworth & Marcus, 1984). By skaap is die navorser dus nog steeds aangewys op laporoskopiese metodes en die bepaling van die progesteronevlakke vir 'n vroeë diagnose van dragtigheid en die vroeë ontwikkeling van die embrio.

Selfs met die beperkte vroeë diagnostiese metodes beklemtoon gepubliseerde statistieke die omvang van die probleem van fetale verlies. Volgens die 'General Studbook of South Africa' (1981) het net 3374 (53,9%) van die 6261 merries wat in die 1980-teelseisoen gedek is lewendige vullens geproduseer en 477 (7,6%) sigbare aborsies is aangeteken. Volgens 'n aantal navorsers op dié gebied blyk dit egter dat onsigbare embrionale en fetale verlies so hoog as 20% kan wees (Van Niekerk & Morgenthal, 1982). Daar is ook gevind dat uit 'n totaal van 1419 merries, dragtig gediagnoseer op 20 dae, 14% van die konseptus tussen 20 en 100 dae verloor is. Van dié verlies het 4,6% tussen 20 en 45 dae en 9,4% tussen 45 en 100 dae na konsepsie plaasgevind. Ongeveer 1% van die merries wat op 14 dae met die ultrasoniese apparaat dragtig gediagnoseer is, het hulle embrio's tussen 14 en 25 dae verloor. In die geval van die bees is gepubliseerde syfers miskien nie so akkuraat nie maar volgens Bowen (1984) kan embrionale verlies by die bees en ander plaasdiere ook ongeveer 20% wees.

Oorsake van embrionale en fetale verlies

Die oorsake kan verdeel word in infeksieuse en nie-infeksieuse oorsake. Daar is alreeds baie werk op die infeksieuse oorsake gedoen maar weinig is oor die nie-infeksieuse oorsake gepubliseer. Die referaat sal dus hoofsaaklik oor die nie-infeksieuse oorsake handel waarvoor nog baie navorsing gedoen sal moet word. Die volgende is 'n lys van nie-infeksieuse oorsake van embrionale en fetale verlies:

- (i) Abnormale Fallopiëse buise en baarmoederomgewing
- (ii) Abnormale ova en sperme
 - (a) Chromosoom abnormaliteit
 - (b) Letale faktore
 - (c) Verouderde ova en/of sperme
 - (d) Polispermia
 - (e) Partenogenese, androgenese, ginogenese
- (iii) Immunologiese onverenigbaarheid tussen ova en sperme
- (iv) Abnormaliteit van die plasenta
- (v) Endokrinologiese disfunksie
- (vi) Stres
- (vii) Voeding

Die eerste drie oorsake is veral verantwoordelik vir afsterwe van die embrio vanaf bevrugting tot ongeveer 14 dae na ovulasie. Van die persentasie verlies in dié periode weet ons bitter min en meeste van die gepubliseerde syfers is op slagpalemateriaal of gissings gebaseer. Sedert embrio-oorplanting in koeie begin toeneem het, kan 'n redelike idee van die persentasie nie-lewensvatbare embrio's op die oorplantings stadium verkry word, maar watter een van bogenoemde oorsake vir die afsterwe of vertraging in ontwikkeling verantwoordelik is, is na my wete nog nie vasgestel nie. Ons raak egter al hoe meer bewus van die belangrike rol van endokrinologiese disfunksie, stres en voedingspeil, veral in die latere stadiums van die embrionale ontwikkeling (20–45 dae) en die vroeë stadiums van fetale ontwikkeling (45–120 dae).

Endokrinologiese disfunksie. Dit is natuurlik 'n baie komplekse veld wat die hele hipotalamus-hipofise-eierstok-, baarmoeder- en plasenta-aksis insluit. In kort kan ons egter aanvaar dat handhawing van 'normale' progesteronewaardes van kort na ovulasie tot partus absoluut noodsaaklik is vir die instand-

houding van dragtigheid. Indien die progesteronvlakke in die bloed gedurende enige stadium van dragtigheid drasties daal tot onder die normale vlakke sal die dier aborteer of resorbeer (Deanesly, 1966; Heap, Rider & Feinstein, 1984).

Faktore wat die konsentrasie van progesterone in die bloed beïnvloed: Geneties lae progesteronwaardes; hormonale wanbalans (defekte corpora lutea); sekere kritieke stadiums gedurende dragtigheid; stres; en wanvoeding.

Meeste van die gepubliseerde werk op die faktore wat die progesteronvlakke beïnvloed is weereens op die perd gedoen (Van Niekerk & Morgenthal, 1982; Van Niekerk, Morgenthal & Starke, 1983).

Lae genetiese progesteronwaardes (gewoonte aborteerders) kom redelik algemeen by die volbloedperd voor maar heelwat minder by ander huisdiere wat aan baie strenger seleksie vir vrugbaarheid blootgestel word.

Enige defek in die hipotalamus-hipofise-eyerstok (corpus luteum)-aksis mag veroorsaak dat 'n defekte corpus luteum vorm of dat die corpus luteum as gevolg van 'n tekort aan die luteotrofiese hormoon (meestal LH) nie genoeg progesteron produseer nie. Die kondisie kom veral onder hoë melkproduseerders asook gedurende die postpartumperiode en in die begin van die teelseisoen, by seisoenale telers voor. Resultate het bewys dat normale progesteronvlakke alreeds in 'n baie vroeë stadium van embrionale ontwikkeling noodsaaklik is. 'n Tekort aan progesteron mag dus die oorsaak wees van vroeë vertraagde verdeling en afsterwe van die embrio (Heap, *et al.*, 1984).

Stres. Strestoestande kan 'n groot rol by sommige plaasdiere speel. Stres gee 'n skielike verhoging in die bloedsuikervlakke, wat veroorsaak dat progesteronvlakke in sekere spesies soos byvoorbeeld die perd en Angorabok, drasties daal (Van Niekerk & Morgenthal, 1982) en dan fetale verlies tot gevolg het. By beeste en skape weet ons nie hoe die meganisme werk nie maar met stres en 'n toename in kortisol, kompenseer die sisteem blykbaar en vind daar eerder 'n styging in progesteronwaardes plaas en aborteer die diere nie so maklik onder strestoestande as by die perd en Angorabok nie. Stresfaktore soos baie hoë of baie lae temperatuur kan wel vroeë embrionale verlies by meeste diere, selfs beeste en skape, in die hand werk.

Wanvoeding. Indien vroulike diere in die latere stadium van embrionale ontwikkeling in die perd (Van Niekerk, 1965b) en in die skaap (Van Niekerk, Belonje & Hunter, 1968), dit is net voor aanhegting plaasvind, aan voedingsstres blootgestel word, sal 'n groot persentasie van die embrio's nie aanheg nie maar afsterf en resorbeer. By die bees is daar min omtrent hierdie aspek bekend. Met uitsondering van die perd het swak voeding nadat aanhegting plaasgevind het, blykbaar min effek op fetale verlies. Veredelde boerbokke van die Oos-Kaap is in die latere stadiums van dragtigheid aan erge voedingsstres blootgestel sonder dat hulle geaborteer het (Coetzer & Van Niekerk, ongepubliseerde resultate).

Embrio-oorplanting

Embrio-oorplanting word al vir etlike jare op eksperimentele vlak in baie rasse suksesvol toegepas. Dit is egter eers die afgelope dekade wat navorsers die probleme rondom embrio-oorplanting met groot entoesiasme aangepak het. Beeste dien by verre as die beste model sover. Miskien daarom dat tegniese vordering so vinnig op beeste gemaak is dat daar vandag alreeds meer as 'n 100 000 embrio's jaarliks dwars oor die wêreld op 'n kommersiële basis oorgeplant word.

Die tegniek vereis eerstens vier belangrike basiese stappe naamlik: Superovulasie van die skenkerkoei; sinkronisasie van die ontvangerkoei met die siklus van die skenkerkoei; kolleksie, tydelike bewaring en ondersoek van die embrio's; en oorplanting van die embrio's in die ontvangerkoei.

Daarbenewens is daar veral in die laaste tyd baie navorsing gedoen op die volgende aspekte rondom embrio-oorplanting naamlik: Spoel, kweek en bevringsmedia; bewaring van embrio's vir kort sowel as lang periodes; *in vitro* bevrugting; mikromanipulasie van die embrio; en siekte-oordraging deur middel van embrio-oorplanting.

Superovulasie en sinkronisasie van skenkers en ontvangers

Die twee aspekte is tot 'n mate al onder die farmakologiese beheer van die geslagsiklus kortliks bespreek. Een van die groot probleme in beeste wat nog steeds aandag geniet, is die groot variasie in respons na die behandeling van die diere met gonadotropiese hormone vir die induksie van superovulasie. Dit blyk egter dat daar veral in die geval van beeste wegbeweeg word van die gebruik van dragtige merrieserum (DMSG) ten gunste van follikelstimulerende hormoon (FSH-P), verkry uit die pituitêre kliere van diere, omdat DMSG nie baie goed gestandaardiseer is nie. FSH-P gee blykbaar ook 'n groter persentasie (15%) lewensvatbare ova as DMSG (Critzler, Rowe, Del Campo & Ginther, 1980).

Al die faktore wat die superovulasierespons beïnvloed word nog nie goed verstaan nie, en daar is baie teenstrydige bevindings gerapporteer. Dit blyk egter dat interne faktore soos die hormoonstatus, veral die vlakke van progesteron op die dag van FSH-toediening, 'n belangrike invloed op die superovulasierespons het. Omgewingsfaktore, veral baie hoë temperatuur, het 'n negatiewe invloed op die persentasie embrio's wat ontwikkel en so speel voeding, veral prikkelloeding, ook 'n belangrike rol in superovulasie. Daar bestaan ook aansienlike verskille tussen individuele koeie ten opsigte van hul respons tot superovulasie.

Eerstens moet skenkerkoeie uitgesoek word op hulle multi-ovulasierespons na toediening van FSH. Met herhaalde superovulasie neem die aantal embrio's verkry ook af en het 'n verhoging in die dosis van FSH geen effek nie. Die gebruik van verskalwers, selfs voordat puberteit bereik is, meestal rondom 6-maande ouderdom, in 'n superovulasie en embriokolleksieprogram vir bewaring en latere gebruik van embrio's sal moontlik in die toekomst 'n gestabiliseerde praktyk word wat groot voordele vir vinniger seleksieprogramme kan inhou (Longo, Marcinkowski, Gray, Bonham, Dahlhausen & Ludwick, 1981).

In die geval van die perd bestaan daar nog geen behandelingsprosedure wat multi-ovulasie induseer nie.

Kolleksie en oorplanting van embrio's

Kolleksie en oorplanting van embrio's was tot onlangs in meeste diere hoofsaaklik chirurgies uitgevoer. Die nie-chirurgiese kolleksie by die bees is al 'n geruime tyd gelede met goeie sukses begin en vandag is die nie-chirurgiese kolleksie en oorplanting van die embrio's algemene praktyk. Die konsepsiesyfers is egter nog nie na wense nie en daar word nog steeds hoër konsepsiesyfers met die chirurgiese as met die nie-chirurgiese metode behaal.

Die beheer van die baarmoedermilieu van die ontvanger vir sukses word nog nie baie goed verstaan nie, en soms selfs oor die hoof gesien. Dit blyk al meer dat daar 'n direkte verwantskap bestaan tussen embrio-oorlewing in die baarmoeder en die progesteronkonsentrasie in die bloed van die ontvanger. Te hoë of te lae vlakke kan nadelig wees (Reed

& Roussel, 1984). In die verlede was daar gedink dat moontlike indraging van infeksies in die baarmoeder met oorplasing deur die servix gedurende die luteale fase, die grootste probleem en oorsaak van lae konsepsies met die nie-chirurgiese metode is. Dit blyk nou, veral na eksperimentele werk op die perd, dat groot hoeveelhede prostaglandien, wat luteolities is en die progesteronvlakke vinnig laat daal, vrygestel word indien die servix in die luteale fase geopenetreer word (Baker, Newton, Mather & Oxender, 1981). Verdere navorsing op dié gebied is noodsaaklik in die koei. So sal byvoorbeeld toediening van 'n bietjie antibiotika tydens embrio-oordraging infeksie bekamp. Die gebruik van epiduraalverdoving sal nie net die servix laat verslap en oorplasing vergemaklik nie maar ook die servix baie minder stimuleerbaar maak vir die afskeiding van prostaglandiene. Die toediening van anti-prostaglandienmiddels voor oorplasing mag ook voordelig wees om die luteolitiese effek, verwek deur penetrasie van die servix, te verminder om sodoende te verhoed dat die progesteronvlakke na oorplasing daal. Instrumentasie wat gebruik word, moet dan ook die servix so min as moontlik versteur. By die tiende Internasionale Kongres op Reproduksië en Kunsmatige Inseminasie het Cassou (1984) 'n volledige uiteensetting en demonstrasie van die nuutste instrumentasie vir die kolleksie, bewaring, diepbevriesing en oorplanting van embrio's gegee.

In skape en bokke het die tegniek van embriokolleksie en veral oordraging in werklikheid min verander oor die laaste aantal jare. Dit is veral vanweë die anatomie, en dus die ondeurdringbaarheid van die servix in die luteale fase, met geskikte kolleksie en oorplasingstoestel. Hierom word embrio-oorplanting dus nog nie op groot skaal in die spesies toegepas nie (Armstrong, Phitzner, Warnes & Seamark, 1983; Mutiga, Baker & Jillella, 1983).

Oorplantingsmedia

Korttermyn stoor van embrio's by 37°C. Die embrio word uitgespoel met 'n spoelmedium, fosfaatbuffer-soutoplossing (PBS) en daarna in PBS plus fetalekalfserum geplaas vir korttermyn bewaring en mikromanipulasies. Die bevinding dat die byvoeging van 5–10% serum van 'n os beter resultate gee as die van 'n pasgebore kalf en nog beter as die van 'n kalfetus, vir die verdere ontwikkeling van die embrio, is eintlik verbasend (Allen & Bondioli, 1982).

Langtermyn stoor van embrio's. Diepbevriesing van embrio's maak dit moontlik dat die embrio's vir lang tye gestoor kan word en oor ver afstande vervoer kan word. Oor die afgelope 10 jaar is pogings aangewend met die bevriesing- en ontdooiingsprosedures om die persentasie lewensvatbare embrio's so hoog as moontlik te kry. Suksesvolle bevriesing vir embrio's is eers verkry na die byvoeging van dimetiëlsulfoksied (DMSO) as 'n kriobeskermer by die bevriesingsmedia. Dit was eger eers nadat DMSO met gliserol (1,0–1,4 M) vervang is dat die oorlewingspersentasie na 55–65% verhoog is. Later is ook gevind dat met die byvoeging van gliserol, weggedoen kan word met die ou metode van stadige stapsgewyse bevriesing en ontdooiing en met die geweldige duur bevriesingsapparaat. Die huidige kennis van basiese kriobiologie van beesembrio's het dit moontlik gemaak dat embrio's in plastiese strooitjies, met die byvoeging van 'n middel (sukrose 0,25–1,0 M) wat by ontdooiing die kriobeskermer (gliserol) om die embrio vinnig verwyder, vinnig bevries en ontdooi kan word in eenvoudige, relatief goedkoop apparaat (Lehn-Jensen, 1984).

In vitro bevrugting

Die kultuurmedium vir *in vitro* bevrugting is van die grootste

belang vir die kapasiteit van die sperme, die proses van bevrugting en die vroeë ontwikkeling van die embrio tot op die stadium wanneer dit in die baarmoeder geplaas kan word. Daar moet onthou word, dat in die proses van *in vitro* bevrugting, die Fallopiese buise, wat die regte medium verskaf vir genoemde prosesse, uitgesluit word. Dit is 'n bekende feit dat die Fallopiese buise nie net 'n belangrike rol in bevrugting speel nie maar ook die embrio voorsien van 'n beskermingsfaktor wat voorkom dat die baarmoeder die embrio as 'n vreemde voorwerp behandel en verwerp. Die faktor word moontlik deur die trofoblastselle geproduseer, vandaar die feit dat Camous, Heyman & Ménézo (1984) gevind het dat indien die trofoblastselle van \pm 4-dae-oud embrio's by die medium, wat 15% fetalekalfserum bevat gevoeg word, baie goeie resultate verkry word.

In vitro bevrugting is beslis die tegniek van die toekoms daar dit die kortste en mees effektiëste metode is om 'n groot genebank van hoogs produserende vroulike diere in 'n kort periode op te bou. Daar moet veral gewerk word aan die tegnieke om follikelgroei te bevorder wat teoreties kan lei tot die kolleksie van 100 of selfs 1000 oösiëte van 'n uitstaande vroulike dier. Kalwers van \pm 6 maande oud kan ook gebruik word. Die ova kan dan *in vitro* bevrug word, diepbevries word en gestoor word vir latere gebruik.

Mikromanipulasie van die embrio

Mikromanipulasie van die embrio en die suksesvolle oorplasing van sulke embrio's was iets waarvan die navorsers 'n paar jaar gelede maar net van gedroom het, veral die verwekking van chimeras en homogene diploïede diere. Mikromanipulasie sluit prosedures in vir: Produksie van identiese tweelinge en selfs drieling; chromosoomanalise en geslagsbepaling van embrio's; produksie van homosigotiese diploïede diere; klonering deur kern of deur groepe selle te transplanteer; oorplanting van chromosome of selfs net gene om nuwe genotipes te verwek; inspuiting van DNA in die pronukleus; die verwekking van chimeras; en partenogenetiese individue (Seidel, 1982; Markert, 1984).

Op hierdie stadium is dit eintlik nog net die eerste twee tegnieke wat prakties toepasbaar is en 'n belangrike bydrae by die embrio-oorplantingsprogram kan lewer. Met splitsing van die embrio kan identiese meerlinge verwek word maar dit is ook 'n praktiese metode om die aantal embrio's wat oorgeplant kan word te vermeerder (Lambeth, Looney, Voelkel, Jackson, Hill & Godke, 1983). Die waarde van geslagsbepaling van die embrio voor oorplanting is voor-die-hand-liggend (King, 1984; Wachtel, 1984). Die ander tegnieke genoem is nog almal in die eksperimentele stadium. Met volgehoue navorsing en 'n beter begrip van die vroeë ontwikkeling sal ons vermoë om die genoom te manipuleer om gewenste genotipes te produseer sekerlik verbeter. Op die oomblik is die oordraging van gene nog 'n 'shotgun'-behandeling, maar in die nabye toekoms mag dit moontlik wees om spesifieke gene op spesifieke plekke in die genoom te plaas om 'n nuwe genotipe met spesifieke karakteristieke te produseer. As daarby gevoeg word dat die verlangde gene in die laboratorium deur middel van bakterieë of selfs met chemiese sintese vermeerder kan word en daarna in die embrio's oorgeplaas kan word, besef 'n mens die enorme omvang wat so 'n program vir die veeteler kan inhou.

Siekteoordraging met embrio-oorplanting

Die kans dat embrio's siektes wat deur bakterieë, Rickettsia, protozoa en chlamydia veroorsaak word, kan oordra, is baie klein. Daar bestaan wel 'n moontlikheid dat sekere virusse

met embryo-oordraging kan versprei (Hare, 1984). Dit blyk ook dat meeste van die virusse wat siektetoestande in beeste veroorsaak nie deur die embryo oorgedra word nie (Sing, 1984). Dit is dus duidelik dat embryo-oorplanting vanuit 'n gesondheidsoogpunt die veiligste metode is om nuwe gene van een kudde of selfs van een land na die ander te verskuif. Daar sal egter nog heelwat meer werk oor dié aspek gedoen moet word voordat dit aanvaarbaar sal wees vir lande wat vry is van spesifieke siektes.

Summary

There are three main factors which have a direct influence on the productivity of a cow, namely, the genetic potential of the animal; the fertility of the cow; and the feeding and management of the cow. Reproductive physiology plays a very important role in the genetic improvement as well as increasing the fertility of the cow. Improving genetic potential of the cow can be divided into the following: selection of male and female animals (within cows); artificial insemination (AI) with outstanding male animals as well as selection of female offspring; and AI with outstanding male animals on proven outstanding females together with embryo transplants and manipulations as well as selection of the offspring. There are many factors influencing the improvement of fertility. In general, reproductive traits have a low heritability. The biochemical and physiological mechanisms controlling the functions of the gonads are subject to a large amount of genetic variation. The development of fast, accurate and sensitive microtechniques for the determination of sex hormones has led to a much better idea about hormone regulation of all aspects of reproductive physiology as well as the function of the brain-pituitary gland-ovary axis. The pharmacological control of the different stages of the reproductive cycle is thus much more scientific than in the past, especially in the case of synchronization of oestrous and ovulation. A relatively new research field which utilizes antisera against the important steroids (androgens and oestrogens) for the production of multiple births is discussed. The causes of embryo and foetal losses can be divided into infectious and non-infectious causes, with a considerable amount known about the infectious causes. In this article the non-infectious causes such as abnormal Fallopian tube and uterine development, abnormal ova and sperm, immunological incompatibility between ova and sperm, abnormalities of the placenta, endocrinological dysfunction, stress, and nutrition are discussed. The following aspects of embryo transplants are covered: superovulation of the donor cow; synchronization of the cycle of the receptor with that of the donor; collection and transplanting of the embryo; transplant media; storage of embryos for short as well as long periods; *in vitro* cultivation; micromanipulation of embryos; and transmission of disease via the transplanted embryo.

Verwysings

- ALLEN, R.L. & BONDIOLI, K.R., 1982. The ability of fetal calf serum, new-born calf serum and normal steer serum to promote *in vitro* development of bovine morulae. *Theriogenology* 17, 73.
- ARMSTRONG, D.T., PHITZNER, A.P., WARNES, G.M. & SEAMARK, R.F., 1983. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *J. Reprod. Fert.* 67, 403.
- BAKER, C.B., NEWTON, D.I., MATHER, E.C. & OXENDER, W.D., 1981. Luteolysis in mares after endometrial biopsy. *Am. J. Vet. Res.* 42, 1816.
- BEAL, W.E., GOOD, G.A. & PETERSON, L.A., 1984. Estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic and non-cyclic beef cows and heifers treated with Syncro-mate B or Norgestomet and Alfaprostol. *Theriogenology* 22, 59.
- BOWEN, R.A., 1984. Viral agents and embryo loss. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol IV*, XIII, 16.
- BRITT, J.H., 1984. Limitations on the pharmacological control of reproduction. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, IV-5.
- CAMOUS, S., HEYMAN, Y. & MÉNÉZO, Y., 1984. *In vitro* culture of early bovine embryos with trophoblastic vesicles: cleavage through the block stage followed by pregnancy afterwards. *Theriogenology* 21, 226.
- CASSOU, R., 1984. Instruments used in the techniques for embryo transfer. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol II*, 222.
- CHEVALIER, F. & PALMER, E., 1982. Ultrasonic echography in the mare. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 32, 423.
- COETZER, W.A., 1979. Morfologiese en fisiologiese veranderinge in die geslagsstelsel asook verskillende behandelingspraktyke tydens die post partum-periode by Afrikanerkoeie. Ph.D. verhandeling: Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch.
- CRITZER, J.K., ROWE, R.F., DEL CAMPO, M.R. & GINTHER, O.J., 1980. Embryos transfer in cattle: Factors affecting superovulatory response, number of transferable embryos and length of post-treatment estrous cycles. *Theriogenology* 13, 397.
- DEANESLY, K., 1966. The endocrinology of pregnancy and foetal life. In: Marshall's Physiology of Reproduction. Ed. Parkes, A.S. 3rd edn. Longmans, London. pp. 891–1063.
- ENGLAND, B.G. & NORDBLOM, G.D., 1984. Chemistry and mechanisms of steroid immunogens. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol IV*, VIII-1.
- GENERAL STUD BOOK OF SOUTH AFRICA, 1981. Statistical summary. Vol 23, p. 67. Jockey Club Stud Book of South Africa, Johannesburg.
- GERALD, H. & DOW, G.J., 1984. Field evaluation of the fecundity immunogen of sheep. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol. IV*, VII-5.
- GREYLING, J.P.C., VAN DER WESTHUYSEN, J.M. & VAN NIEKERK, C.H., 1979. The synchronization of oestrus in sheep. 1. Dosage and time of prostaglandin administration following progestagen pretreatment. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 9, 185.
- GROSSKOPF, J.F.W., 1976. Die herkonsepsie van lakterende vleisraskoeie as beperkende faktor by praktiese toepassing van ovulasiesinchronisasie. Ph.D. Verhandeling: Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch.
- HARE, W.C.D., 1984. Embryo transfer and disease transmission (an overview). *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, IX-1.
- HEAP, R.B., RIDER, V. & FEINSTEIN, A., 1984. Monoclonal progesterone antibodies and early embryo development. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, VIII-3.
- JOHNSON, R.K., 1984. Reproductive efficiency: Limitations of the genetic approach. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, VI-4.
- KING, W.A., 1984. Sexing embryos by cytological methods. *Theriogenology* 21, 7.
- LAMBETH, V.A., LOONEY, C.R., VOELKEL, S.A., JACKSON, D.A., HILL, K.G. & GODKE, R.A., 1983. Microsurgery of bovine embryos at the morula stage to produce monozygotic twin calves. *Theriogenology* 20, 85.
- LANGFORD, G.A., SHRESTHA, J.N.B., FISHER, P.S., AINSWORTH, D.P. & MARCUS, G.N., 1984. Improved diagnostic accuracy by repetitive ultrasonic pregnancy testing in sheep. *Theriogenology* 21, 691.
- LEHN-JENSEN, H., 1984. Deep freezing of cattle embryos. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol XX*, 000.
- LONGO, K.L., MARCINKOWSKI, D.P., GRAY, C.O., BONHAM, J.B., DAHLHAUSEN, R.D. & LUDWICK, T.M., 1981. Follicular development in prepubertal dairy heifers superovulated with FSH-p. *Theriogenology* 15, 121.
- LOUBSER, P.G. & VAN NIEKERK, C.H., 1981. Oestrus synchronization in sheep with progesterone-impregnated (MAP) intravaginal sponges and a prostaglandin analogue. *Theriogenology* 15, 547.
- MADEJ, A., OYEDIPE, E.O., EDQVIST, L.E. & KINDAHL, H., 1984. Prolactin and LH in postpartum suckling cows.

- Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol III*, 403.
- MALVEN, P.V., 1984. Pathophysiology of the puerperium: Definition of the problems. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol IV*, III-1.
- MARKERT, C.L., 1984. Genetic manipulation of mammalian embryos: current techniques and their potential usefulness in live stock improvement. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, II-2.
- MUTIGA, E.R., BAKER, A.A. & JILLELLA, D., 1983. Limitations of uterine balloon catheters for ova collection in sheep. *Theriogenology* 20, 213.
- PETERS, A.R. & LAMMING, G.E., 1984. Endocrine changes in the postpartum period. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol IV*, III-17.
- PIERSON, R.A. & GINTHER, O.J., 1984. Ultrasonography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology* 22, 225.
- REED, M.L. & ROUSSEL, J.D., 1984. Repeatability of blood progesterone levels in embryo transfer recipients. *Theriogenology* 21, 257.
- SCHALLENBERGER, E., WALTERS, D.L., OSCHMANN, S.J. & MEYER, H.H.D., 1984. Endocrine changes during the early postpartum period in dairy cattle. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol IV*, III-9.
- SEIDEL, G.E., 1982. Application of microsurgery to mammalian embryos. *Theriogenology* 17, 23.
- SING, E.L., 1984. Embryo-pathogen interactions in cattle. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, IX-4.
- SLOSS, V. & DUFFY, J.H., 1980. Handbook of Bovine Obstetrics. Williams and Wilkins, Baltimore. p.208.
- SMITH, R.D., POMERANTZ, A.J., BEAL, W.E., MCCANN, J.P., PILBEAM, T.E. & HANSEL, W., 1984. *J. Anim. Sci.* 58, 792.
- SPEAROW, J.J., 1984. The mechanism of action of genes controlling gonadal function. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, VI-2.
- STREENAN, J.M., 1984. Steroid immunization in cows: Potential for increasing ovulation and twinning rates. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, VIII-4.
- VAN DER WESTHUYSEN, J.M., 1980. The effect of GnRH injection at artificial insemination on conception in dairy cattle. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 10, 103.
- VAN DER WESTHUYSEN, J.M., COETZER, W.A. & GREYLING, J.P.C., 1980. The use of a gonadotrophin releasing hormone in cattle: Changes in the plasma progesterone and reproductive efficiency following treatment during early postpartum. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 10, 115.
- VAN DER WESTHUYSEN, J.M. & GREYLING, J.P.C., 1981. The synchronization of oestrus in sheep. Evaluations of synchronization and A.I. techniques. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 11, 49.
- VAN NIEKERK, C.H., 1965a. The early diagnosis of pregnancy in mares. *J. S. Afr. vet. med. Ass.* 36, 53.
- VAN NIEKERK, C.H., 1965b. Early embryonic resorption in mares. *J. S. Afr. vet. med. Ass.* 36, 61.
- VAN NIEKERK, C.H., 1975. Postpartum anestrus in lakterende koeie. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 5, 155.
- VAN NIEKERK, C.H., BELONJE, P.C. & HUNTER, G.L., 1968. Early embryonic mortality and resorption in merino ewes due to malnutrition. *6th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, 455.
- VAN NIEKERK, C.H., BELONJE, P.C. & SPREETH, E.B., 1970. Postpartum synchronization of the oestrous period of lactating Friesland cows with 6-methyl, 17-acetoxy-progesterone (MAP) and PMSG. *J. S. Afr. vet. med. Ass.* 41, 39.
- VAN NIEKERK, C.H. & MORGENTHAL, J.C., 1975. The use of high doses of progesterone in synchronizing the oestrous periods of postpartum beef cattle. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 2, 75.
- VAN NIEKERK, C.H. & MORGENTHAL, J.C., 1982. Fetal loss and the effect of stress on plasma progestagen levels in pregnant thoroughbred mares. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 32, 453.
- VAN NIEKERK, C.H., MORGENTHAL, J.C. & STARKE, C.J., 1983. The effect of nutritional stress on the plasma progestagen levels and embryonic mortality in twin pregnancies of mares. *J. S.A. Vet. Ass.* 54, 65.
- VOSS, H.J. & HOLTZ, W., 1984. Comparison of four compounds for the control of ovarian function in cattle. *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI Vol I*, 353.
- WACHTEL, S.S., 1984. H-Y Antigen in the study of sex determination and control of sex ratio. *Theriogenology* 21, 18.
- WILLIAMS, G.L., TALAVERA, F., PETERSEN, B.J., KIRSCHEN, J.D. & TILTON, J.E., 1983. Coincident secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in early post partum beef cows: Effects of suckling and low-level increases of systemic progesterone. *Biol. Reprod.* 29, 362.