

Riikliku programmi “Põllumajanduslikud
rakendusuringud ja arendustegevus
aastatel 2009–2014” lisa 4

Eesti Maaülikool

LÜPSILEHMADE SIGIMISHÄIRETE DIAGNOSTIKA JA SIGIVUSE PARANDAMISE MEETODID

Projekti juht: Andres Valdmann
Projekti täitjad: Andres Aland
Jevgeni Kurõkin
Gret-Kristel Mällo
Toomas Tiirats
Merle Valdmann

Tartu 2011

SISUKORD

1. Uurimistöö taust ja probleemi olulisus	3
2. Lehmade emakapõletiku tsütoloogise diagnostikameetodi väljatöötamine.....	4
3. Lehmade aktiivsuse määramisel põhineva inna avastamise strateegia väljatöötamine	8
4. Munarakkude morfoloogiline kvaliteet ja ainevahetuse seisund korduvseemendatud lüpsilehmadel.....	22
5. Lehmade innatsükli sünkroniseerimise efektiivsust ja tiinestumist mõjutavad faktorid	26
6. Projekti raames tehtud Eestisisene ja rahvusvaheline koostöö	30
7. Rahvusvaheliste konverentside, koolituste ja kursuste korraldamine	34

1. Uurimistöo taust ja probleemi olulisus

Piimakarjapidajatele suurimaks väljakutseks on kõrge piimatoodangu ja kasumi kindlustamine, samas loomade hea tervise, sigivuse ja heaolu säilitamine. Paraku kaasneb piimatoodangu kasvuga lehma kohta sigivuse langus. Näiteks väheneb tiinestumine USA-s 0,45 % (Beam & Bulter, 1998), Inglismaal 1% (Royal jt., 2000) ja Iirimaa 0,9 % võrra aastas (Mee jt., 1999). Lisaks tiinestumise langusele häirub kõrgetoodangulistel lehmadel ka innatunnuste avaldumine (Westwood jt., 2002), suureneb munasarjade funktsioonihäirete tekke risk (Rhodes jt., 2003), samuti esineb rohkem embrüonaalset surma (Silke jt., 2002). Eesti piimalehmade sigivusele on iseloomulikud samasuunalised muutused: piimatoodangu kasvuga lehma kohta kaasneb poegimisvahemiku pikenemine, samuti sigimatuse tõttu karjast prakeeritud lehmade suur osakaal. Tiinestumine ja karjast prakeerimine ei sõltu mitte ainult lehmade pidamisest, vaid on otseselt seotud kõrgele toodangupotentsiaalile suunatud geneetilise valikuga kaasnevate terviseprobleemidega (Dobson jt., 2008) ning muutustega metaboolses talitluses (Gutierrez jt., 2006, Wathes jt., 2007).

Eestis läbiviidud varasematele uuringutulemustele tuginedes järeldasime, et Eesti piimalehmade sigivuse tõstmiseks on vajalik rakendada sigivuse parandamise programmi, mis koosneb:

1) Koheselt rakendatavast meetmete kompleksist, mille kasutamine võimaldaks:

- varakult (juba esimeste poegimisjärgsete nädalate jooksul) avastada lehmad, kellel suure tõenäosusega tekivad sigimisprobleemid;
- parandada inna avastamist ja vältida füsioloogiliselt valel ajal lehmade seemendamist;
- diagnoosida ja ravida subkliinilise endometriidiga lehmi;
- sõltuvalt sigimisprobleeme põhjustavate tegurite iseloomust (metaboolne stress, ainevahetushaigused, suguelundite põletikud) ja esinemusest rakendada karja- ja loomaspetsiifilist sigivuse majandamist.

2) Pikaajalisest meetmete kompleksist, mille rakendamine võimaldaks:

- vähendada munasarja funktsioonihäiretega lehmade osatähtsust karjades ja tõsta lehmade sigivust läbi tõuaretuse ja keskkonnatingimuste parandamise.

Käesoleva rakendusuuringu põhieesmärgiks oli saada uusi teadmisi, mis võimaldaksid lüpsikarja sigivuse parandamiseks mõnede koheselt rakendatavate abinõude väljatöötamist.

Uuringus on neli alateemat:

- **Lehmade emakapõletiku tsütoloogise diagnostikameetodi väljatöötamine.**
- **Lehmade aktiivsuse määramisel põhineva inna avastamise strateegia väljatöötamine.**
- **Munarakkude morfoloogiline kvaliteet ja ainevahetuse seisund korduvseemendatud lüpsilehmadel.**
- **Lehmade innatsükli sünkroniseerimise efektiivsust ja tiinestumist mõjutavad faktorid.**

2. Lehmade emakapõletiku tsütoloogise diagnostikameetodi väljatöötamine

Lehmade madal tiinestumine ja munasarjafunktsiooni häirete kõrge esinemus võivad olla osaliselt põhjustatud subkliinilistest emakapõletikest. Senikasutatavatest meetoditest annab kõige täpsema subkliinilise endometriidi diagnoosi emakabiopsia, mis on aga invasiivne, töömahukas ja kulukas meetod (tootmiskarjades kasutada ei saa). Alternatiivseks meetodiks oleks emakapõletike tsütoloogiline diagnoosimine leukotsüütide ja bakterite olemasolu ja hulga alusel (Kasimanickam jt., 2004). Maksimaalse diagnostilise täpsuse tagab võetud materjali puhtus. Puhta materjali võtmine on raskendatud loomaliikidel (näiteks lehm), kelle emakakael on anatoomilisest ehitusest ja/või looma füsioloogilisest seisundist tulenevalt raskesti läbitav. Ebasobiva seadme kasutamine emakakaela läbimiseks võib emakakaela vigastada, luues soodsa pinnase põletiku tekkeks ja seadmega liigselt manipuleerides (seda edasi-tagasi liigutades) on oht seadme saastumiseks, mis omakorda ei võimalda enam saada puhast materjali ning võib mõjutada analüüsi tulemust ja diagnostilist täpsust. Teiseks oluliseks probleemiks on puhta materjali saamine suure kehamassiga loomadelt. Suure kehamassiga looma väikseimgi ootamatu liigutus võib põhjustada tsütomaterjali võtmise vahendi saastumist.

Meie teada puudub maailmas kommertsiaalselt toodetav instrument, mis võimaldaks lehma emaka endomeetriumi puhta (saastumata) tsütoloogilise uurimismaterjali saamist.

Põllumajandusministeeriumi poolt finantseeritud rakendusuuringuga Eesti piimalehmade sigimine-analüüs ning strateegiad viljakuse parandamiseks (2001-2005) selgitasime parima tsütomaterjali võtmise viisi lehma emakast eesmärgiga diagnoosida endometriite. Saadud tulemustele tuginedes konstrueerisime instrumendi tsütoproovide võtmiseks lehma emakast.

Eesmärgid:

- 1) Optimeerida väljatöötatud tsütoproovide võtmise instrumendi töökarakteristikuid ja valmistada piisav hulk tsütomaterjali võtmise instrumente väliuuringute läbiviimiseks.
- 2) Kehtestada kriteeriumid lehmade klassifitseerimisel endometriiti põdevateks ja terveteks.
- 3) Selgitada tsütoloogiliselt diagnoositud endometriitide esinemus ja mõju sigivusparameetritele.
- 4) Selgitada piimatoodangu seos tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga.

Läbiviidud tööd ja saadud tulemused

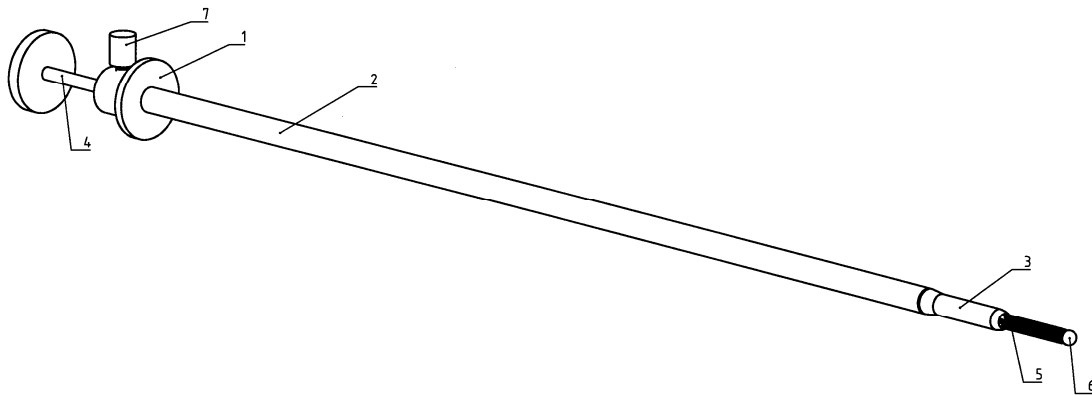
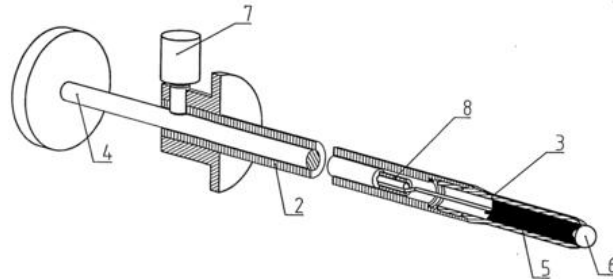
1) Tsütoproovide võtmise instrumendi töökarakteristikute optimeerimine

Tegime kindlaks, et mugava käsitlemise tagab instrument pikkusega 65 cm. Varem valmistatud prototüüp oli pikem. Pikema instrumendi puuduseks oli asjaolu, et kui loom liigutas ennast proovi võtmise ajal, siis läks instrumendi tagumine ots vastu materjali koguja õlga, mistõttu nihkus instrument oma esialgsest kohast ja tekkis tsütoharja kõverdumise oht. Lisasime instrumendile ka varrast fikseeriva kruvi, millega tsütohari fikseeritakse instrumendiga manipuleerimise ajaks (Joonis 1). Väliuuringute läbiviimiseks valmistasime 40 instrumenti.

Projekti raames väljatöötatud seadmele taotleb Eesti Maaülikool Eesti, Euroopa ja USA patente (WO2007140792 A1, US2010/0234763 A1).

Rahvusvaheline patenditaotlus „A DEVICE FOR COLLECTING SAMPLES” (Seade proovide võtmiseks), autorid Andres Valdmann ja Merle Valdmann on publitseeritud WIPO leheküljel

<http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?WO=2007140792>



Joonis 1. 1- Lehma emakast tsütomaterjali võtmise instrument; 2 - juhttoru; 3- juhttoru müts; 4-läbi juhttoru ulatuv varras; 5- tsütohari; 6- tsütoharja kuul; 7- varrast fikseeriv kruvi.

Eeltoodud riistastiku abil võeti tsütomaterjal 119 multipaarselt lehmal 40.-ndal poegimisjärgsel päeval. Igast tsütoproovist valmistati 4 äiet, millest 2 värviti May-Grünwald-Giemsa järgi ja 2 säilitati immunotsütokeemilisteks uuringuteks. Tsütopreparaate uuriti mikroskopeerimise abil. Igas preparaadis leiti polümorfonukleaarsete neutrofiilide protsent 100 kokkuloetud raku kohta.

2) Lehmade klassifitseerimine endometriiti põdevateks ja terveteks

Polümorfonukleaarsete neutrofiilide osakaalu ja 150.-nda poegimisjärgse päeva tiinestumisandmete suhteliste töökarakteristikute kõvera (ROC - receiver operator characteristic curve) analüüsil leiti põletiku klassifitseerimise kriteeriumid. Lehmad, kelle emaka endomeetriumis tuvastati 40-ndal. poegimisjärgsel päeval rohkem kui 8% polümorfonuklearseid neutrofiile, klassifitseeriti endometriiti põdevateks.

3) Tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidi esinemus ja mõju lehmade sigivusparameetritele

Tuvastati, et 40.-ndal poegimisjärgsel päeval esines tsütoloogiliselt diagnoositud endometriite 30%-l uuritud lehmadest (36/119). Tsütoloogiliselt diagnoositud endometriit avaldas negatiivset mõju sigivusele ja karjas püsimisele, olles esimesest seemendamisest mittetiinestumise (OR=4,79; P=0,001), korduvseemendamise (OR=4,43; P=0,001), mittetiinestumise (OR=6,33; P=0,004) ja karjast prakeerimise (OR=5,43; P=0,002) riskiteguriks (Tabel 1). Seemendatud lehmade osatähtsus ei erinenud tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga lehmadel, võrreldes tervete lehmadega, samuti ei erinenud päevade arv poegimisest esimese seemenduseni (Tabel 1). Mediaan ajavahemik poegimisest tiinestumiseni oli tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga lehmadel koguni 100 päeva pikem, võrreldes tervete lehmadega, vastavalt 197 päeva endometriidiga lehmadel ja 97 päeva tervetel lehmadel (P< 0,0001) (Joonis 2).

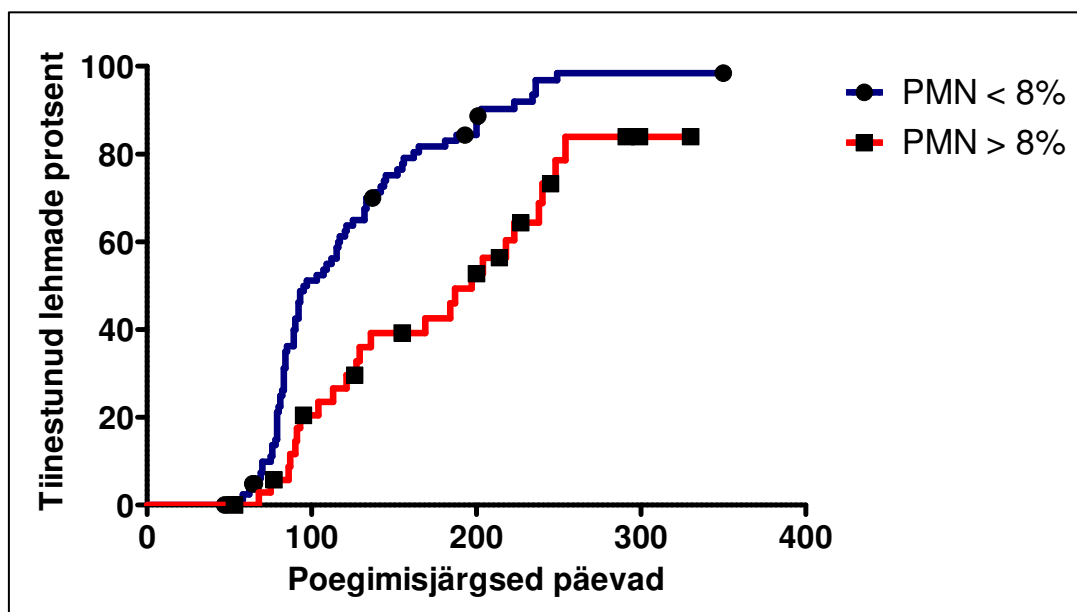
Tabel 1. Tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidi mõju sigivusparameetritele

Seemedusi tiinestumise kohta¹ – seemenduste arv jagatud tiinestunud lehmade arvuga (ainult tiinestunud lehmade seemendused)

Seemedusi tiinestumise kohta² kõikide seemenduste arv jagatud tiinestunud lehmade arvuga

Muutuja	Tsütoloogiliselt diagnoositud endometriit	Terve	P- väärtus	OR*	95% usaldus- vahemik
Lehmade arv (%)	36 (30,25)	83(69,75)			
Seemendatud lehmad (%)	88,9	96,4	0,1967		
Päevade arv poegimisest esimese seemenduseni	86,72±16,96	81,73 ±14,17	0,1324		
Tiinestumine esimesest seemendamisest (%)	18,75	52,5	0,0014	4,789	1.779 - 12.90
Korduvseemendatud lehmade osatähtsus (%)	56,7	22,78	0,0012	4,432	1.814 - 10.83
Seemedusi tiinestumise kohta ¹	2,63	1,71			
Seemedusi tiinestumise kohta ²	3,58	1,86			
Tiinestunud lehmade osatähtsus (%)	75	95	0,0043	6,333	1.752 - 22.90
Prakeerimine (%)	33,3	8,4	0,0018	5,429	1.920 - 15.35

*OR - šansside suhe



Joonis 2. Kaplani-Meieri hinnang tiinestunud lehmade proportsioonile sõltuvalt poegimisjärgsetest päevadest tervetel (PMN < 8%) ja tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga (PMN > 8%) lehmadel. Mediaan ajavahemik poegimisest tiinestumiseni oli tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga lehmadel 197 päeva ja tervetel lehmadel 97 päeva (Log-rank statistik: 17,71; P < 0,0001). Mustad märgid kõveratel tähistavad karjast prakeeritud lehmi.

4) Piimatoodangu seos tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidiga

Endometriiti haigestumise risk oli seotud maksimaalse päevatoodanguga ja esimese 45 poegimisjärgse päeva kogutoodanguga. Lehmadel, kelle maksimaalne piimatoodang oli alla 30 kg päevas ja üle 45 kg päevas, diagnoositi tsütoloogilist endometriiti sagedamini, võrreldes lehmadega, kelle maksimaalne piimatoodang jäi 30 ja 45 kg vahele (Tabel 2). Lehmadel, kelle esimese 45 poegimisjärgse päeva piimatoodang oli alla 1314 kg või üle 1780 kg, diagnoositi endometriiti sagedamini, võrreldes lehmadega, kelle esimese 45 poegimisjärgse päeva piimatoodang jäi 1314 ja 1780 kg vahele (Tabel 3).

Tabel 2. Tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidi risk sõltuvalt maksimaalsest piimatoodangust

Maksimaalne piimatoodang (kg/päevas)	n	Endometriit (%)	OR	95% usaldusvahemik	P-väärtus
<= 30	9	78	15,75	2.950 - 84.10	0,0006
>45	33	43	3,75	1.529 - 9.199	0,0045
>30<=45	77	18	Referent		

Tabel 3. Tsütoloogiliselt diagnoositud endometriidi risk sõltuvalt 45 päeva kogutoodangust

45 päeva kogutoodang (kg)	n	Endometriit (%)	OR	95% usaldusvahemik	P-väärtus
<1314	34	50	4,917	1.969 - 12.28	0,0008
>1780	14	50	4,917	1.454 - 16.62	0,0124
=>1314-<1780	71	16,9	Referent		

OR = Šansside suhe

Järeldused ja kokkuvõte

Töötati välja tsütoloogiline diagnoosimismeetod lehmade emakapõletike diagnoosimiseks. Neljakümnendal poegimisjärgsel päeval esines tsütoloogiliselt diagnoositud endometriite 30%-l lehmadest. Endometriidid vähendavad väga oluliselt sigivust, olles samal ajal ka pealesunnitud karjast prakeerimisele riskiteguriks. Tsütoloogiliselt diagnoositud endometriitide negatiivne mõju sigivusele ja karjast prakeerimisele on oluliselt suurem, kui seda varem arvati. Endometriiti haigestumise risk oli seotud maksimaalse päevatoodanguga ja esimese 45 poegimisjärgse päeva kogutoodanguga.

Tulemuste praktiline väärtus

Lehmade tsütoloogilise endometriidi diagnoosile pakutud kriteeriumid võimaldavad piimalehmade poegimisjärgsete emakapõletike unifitseeritud hindamist ja võrdlemist.

Lähtudes uuringu tulemustest, et tsütoloogiline endometriit avaldab negatiivset mõju sigivusele ja karjas püsimisele (riskitegur esimesest seemendamisest mittetiinestumisele, kordvseemendamisele, mittetiinestumisele ja karjast prakeerimisele) ning selgitanud välja, et mediaan ajavahemik poegimisest tiinestumiseni oli tsütoloogilise endometriidiga loomadel tervetega võrreldes 100 päeva pikem, on eelpoolkirjeldatud probleemidega karjades õigustatud tsütoloogilise endometriidi seire.

3. Lehmade aktiivsuse määramisel põhineva inna avastamise strateegia väljatöötamine

Seoses farmide suurenemisega langeb farmitöötajatele suurem koormus, mistõttu jääb järjest vähem aega indlevate lehmade avastamiseks. Ka on üha raskem leida kvalifitseeritud tööjõudu. Seemendamata jäänud loomad või valel ajal seemendatud loomad põhjustavad tootjale suurt kahju. Maatje (1997) andmetel on inna mitteavastamine mastiiti haigestumise järel teiseks suurimaks piimatootmise efektiivsust vähendavaks majandusteguriks.

Ainsaks usaldusväärseks lehma väliseks innatunnuseks on pulli või teise lehma pealehüppamise sallimine ehk paigalseismise refleksi. Viimase 50 aastaga on paigalseismise refleksi väljendavate lehmade osakaal langenud 80%-lt 50%-le ning inna kestus on langenud 15-lt tunnilt 5-le tunnile (Van Vilet ja Van Eerdenburg, 1996). Halb innatunnuste väljendumine koos suutmatusega inna leida avaldab tugevat negatiivset mõju optimaalsele seemendusajale ja tiinestumisele. Kuna paigalseisu refleksi esinamus on madal, siis ka paigalseisu refleksi registreerivate inna avastamise vahendite (näiteks innadetektor Kamar)

efektiivsus on samuti madal. Alternatiivseks soovituslikuks vahendiks inna avastamisel võiks olla looma aktiivsuse mõõtmine.

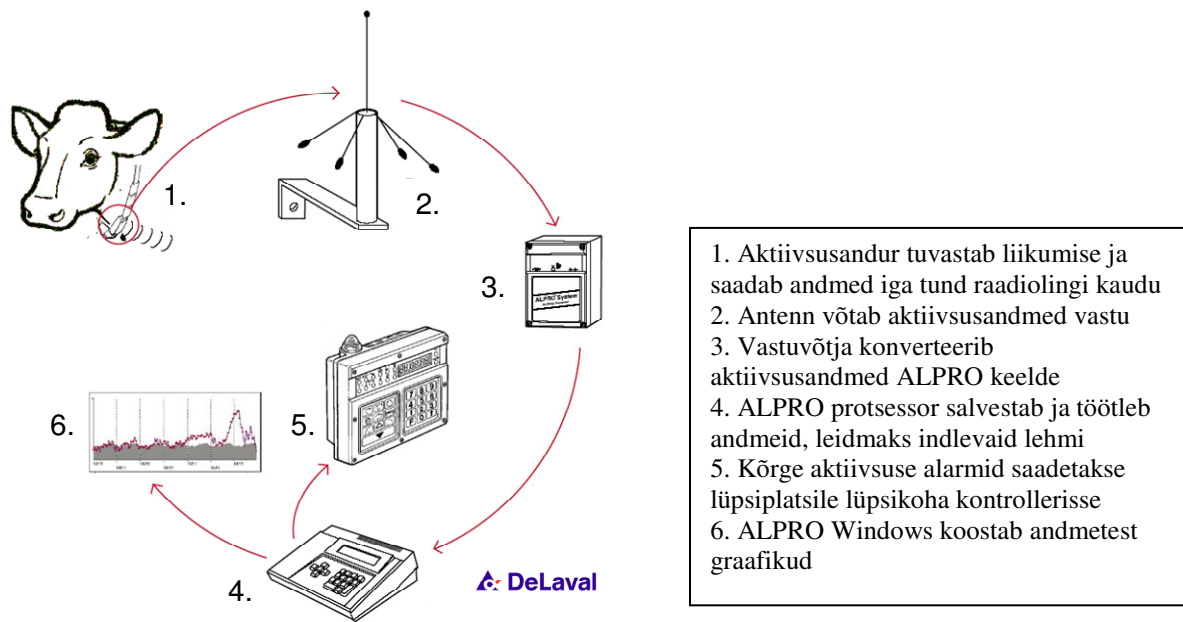
Paljud Eesti piimakarjakasvatajad on kasutusele võtnud kaasaegse loomapidamistehnoloogia, kuhu kuulub loomade aktiivsuse mõõtmisel põhinev inna avastamise elektrooniline süsteem. Maailma teaduskirjanduses avaldatud andmed selliste süsteemide tundlikkusest ja täpsusest inna avastamisel on väga erinevad, ulatudes 30%-st kuni peaaegu 100%-ni. Nendes uuringutes võrreldi erinevaid inna avastamise elektroonilisi süsteeme omavahel ja koos innatunnuste visuaalse hindamisega. Samas puuduvad maailmakirjanduses andmed uuringute kohta, kus aktiivsuse määramisel põhinevaid inna avastamise elektroonilisi süsteeme oleks võrreldud progesteroniprofiilide abil kindlaks tehtud ovulatsioonidega/indadega. Progesteroniprofiilid võimaldavad määrata ovulatsiooni toimumise aja, reproduktsioonitsükli faasi, tiinestumise ja tiinuse katkemise.

Poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni aja kindlakstegemine omab suurt praktilist väärtust. Uuringud on näidanud, et lehmad, kellel on lühem ajavahemik poegimisest esimese ovulatsioonini tiinestuvad paremini, võrreldes lemadega, kes ovuleeruvad hiljem (Darwash jt., 1997). Samuti on näidatud, et ajavahemik poegimisest esimese ovulatsioonini on päritav (Royal jt., 2002).

Selekteerides lehma lühema ajavahemiku põhjal poegimisest esimese ovulatsioonini, oleks võimalik parandada lehmade tiinestumist. Ei ole teada, kas aktiivsuse määramisel põhinevad inna avastamise tehnoloogiad on piisava tundlikkuse ja täpsusega, tegemaks kindlaks poegimisjärgselt esimest ovulatsiooni aega. Samuti ei ole teada, kas aktiivsuse mõõtmisel põhinevaid inna avastamise süsteeme on võimalik rakendada munasarjade funktsioonihäiretega lehmade leidmiseks. Ei ole uuritud, millised faktorid mõjutavad selliste süsteemide täpsust ja tundlikkust.

Eestis on enamkasutatavaks aktiivsuse määramisel põhinevat inna avastamist võimaldavaks farmi tehnoloogiaks ALPRO (DeLaval, Rootsi). Inna elektrooniline avastamine põhineb aktiivsuse mõõtmisel, aktiivsuseparameetrite automaatsel edastamisel ja aktiivsuseprofiilide analüüsil (Joonis 3).

ALPRO tehnoloogia eripäraks, võrreldes teiste analoogsete inna avastamise tehnoloogiatega, on aktiivsuseandmete edastamine ja analüüsimine ühetunniste intervallide järel, samuti kõrgeenenud aktiivsuse skaleerimine kolmel erineval tasemel. Kõrgeenenud aktiivsuse kellaajaline registreerimine võimaldab selgitada optimaalse ajavahemiku aktiivsuse algusest seemendamiseni, saavutamaks maksimaalset tiinestumist.



Joonis 3. ALPRO mõõtesüsteemi tööpõhimõte.

Eesmärgid:

- 1) Selgitada aktiivsuse määramisel põhineva ALPRO tehnoloogia efektiivsus ja täpsus inna avastamisel võrrelduna progesteroniprofiilide abil kindlaks tehtud indadega.
- 2) Selgitada aktiivsuse määramisel põhineva ALPRO tehnoloogia efektiivsus inna avastamisel võrrelduna visuaalse vaatluse abil kindlaks tehtud indadega.
- 3) Selgitada ALPRO tehnoloogia inna avastamise efektiivsust ja täpsust mõjutavaid tegureid.
- 4) Selgitada, kas ALPRO tehnoloogia abil on võimalik kindlaks teha poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni aeg ja avastada munasarjade funktsioonihäiretega lehmi.
- 5) Selgitada optimaalne ajavahemik aktiivsuse algusest seemendamiseni, saavutamaks maksimaalset tiinestumist.

Läbiviidud tööd

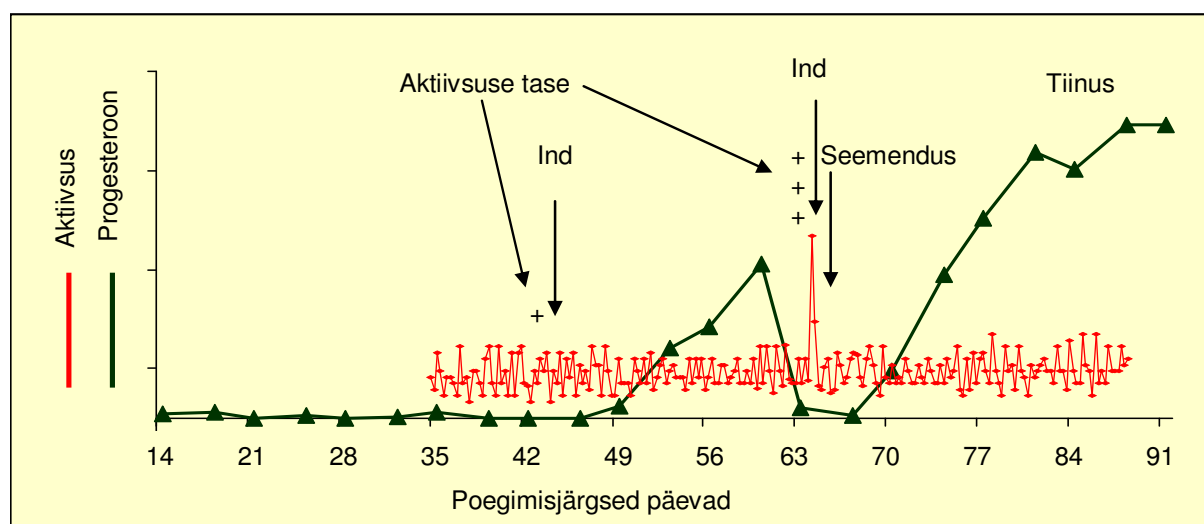
Uuring viidi läbi 1100 lüpsilehmaga tootmisfarmis, kus kasutatakse ALPRO tehnoloogiat. Majandi valikul oli oluliseks kriteeriumiks funktsioneeriva ALPRO tehnoloogia olemasolu, samuti massilist piimaproovide kogumist võimaldava lüpsitehnoloogia olemasolu.

Uuringus oli kokku 145 lehma. Kahekümne seitsme lehma andmeid (19%) ei saanud analüüsis kasutada, kas karjast liiga varase prakeerimise või aktiivsusandmete puudumise (aktiivsusmõõtja lakkas töötamast) tõttu. Katselehmade poegimiste perioodid ja katselehmade arv on esitatud Tabelis 5. Kõikide katselehmade puhul kestis katseperiood poegimisest kuni tiinuse rektaalse diagnoosimiseni või karjast prakeerimiseni. Maksimaalne jälgimisperiood oli 390 päeva.

Tabel 5. Katselahmade poegimiste perioodid ja katselahmade arv

Periood	Poegimiste vahemik	Lehmade arv katse alguses	Katsesse jäänud lehmade arv (%)
Periood 1	19.04.2007- 18.05.2007	50	39 (84)
Periood 2	23.10.2007- 11.12.2007	80	69 (86)
Periood 3	22.10.2008- 16.11.2008	15	10 (67)
Kokku		145	118 (81)

Poegimisjärgselt esimese inna/ovulatsiooni aja, reproduktsioonitsükli faaside (anöstrus, follikulaarfaas, östrus, luteaalfaas) ja tiinestumise kindlakstegemiseks koguti piimaproovid kaks korda nädalas, alates 7.-ndast poegimisjärgsest päevast kuni 65.-nda tiinuspäevani või karjast prakeerimiseni. Tiinust diagnoositi rektaalsel uurimisel 8 nädalat pärast seemendamist. Inna visuaalset avastamist tehti kolm korda päevas á 30 minutit Van Eerdenburgi jt. (1996) järgi. Kõikide katselahmade aktiivsustasemed saadi ALPRO varundusfailidest. Lehmade seemendamise täpne kellaaeg, innatunnuste avastamise aeg ja innatunnused seemenduse ajal protokolliti. Piima progesteroonisisaldus määrati EIA meetodil Waldmann (1999) järgi. Kokku analüüsiti progesteroonisisaldust 7502 piimaproovist. Iga lehma jaoks koostati progesterooniprofiil, mille abil tehti kindlaks poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni aeg, toimunud ovulatsioonid/innad, reproduktsioonitsükli faas (anöstrus, follikulaarfaas, luteaalfaas, tiinus), samuti munasarjafunktsiooni häired (pikenenud anovulatoorne periood, pikenenud luteaalfaas, innatsükli katkemine). ALPRO varundusfailidest saadud aktiivsuseandmed kõrvutati iga konkreetse katselahma progesterooniprofiiliga. Joonisel 4 on toodud illustreeriv näide ühe katselahma progesterooni- ja aktiivsuseprofiilist.



Joonis 4. Ühe katselahma piima progesterooniprofiil ja aktiivsuseprofiil 14.-ndast kuni 91.-se poegimisjärgse päevani. Progesterooniprofiililt on näha, et uuritav lehm indles ja tal toimus ovulatsioon esmakordselt pärast poegimist 42.-se ja 45.-nda päeva vahel. Ovulatsioonile järgnes progesteroonisisalduse tõus ning esimene poegimisjärgne innatsükkel. Lehm indles ja ovuleerus teist korda 63.-nda ja 70.-nda päeva vahel. ALPRO registreeris aktiivsuse taseme maksimaalse tõusu (+++). Lehm seemendati ning ta tiinestus.

Tulemused

ALPRO tehnoloogia efektiivsus inna avastamisel

Tehti kindlaks, et ALPRO tehnoloogia efektiivsus, võrrelduna progesteroniprofiilide abil leitud 562 innaga, oli 70%. Aktiivsuse tasemega üks, kaks ja kolm avastati vastavalt 20, 10 ja 40% esinenud indadest (Tabel 6).

Tabel 6. ALPRO efektiivsus inna avastamisel.

Aktiivsuse tase	Progesteroniprofiilide abil avastatud indade arv	%	ALPRO efektiivsus
0 (aktiivsuse tõus puudus)	168	30	Avastamata innad
1	116*	20	Avastatud innad
2	56*	10	
3	222*	40	
Kokku	562	100	

* - registreeritud maksimaalne aktiivsuse tase inna ajal

ALPRO tehnoloogia täpsus inna avastamisel

Selgitamaks välja ALPRO tehnoloogia täpsust inna avastamisel, tehti kindlaks aktiivsusalarmide jaotumine erinevate reproduktsioonitsükli faaside vahel. Kokku registreeriti 1239 aktiivsuse tõusu, millest 59% langes kokku innatsükli follikulaarfaasiga (ind/östrus). ALPRO süsteemi täpsus inna avastamisel aktiivsuse tasemega üks, kaks ja kolm oli vastavalt 47, 65 ja 87% (Tabel 7).

Tabel 7. ALPRO alarmide jaotumine erinevate reproduktsioonitsükli faaside vahel

Aktiivsuse tase	Reproduktsioonitsükli faas									
	Aktiivsusalarmid		Anöstrus		Diöstrus		Ind (östrus)		Tiinus (65 päeva)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	738	60	118	16	155	21	345	47	120	16
2	246	20	29	12	38	15	160	65	19	8
3	255	21	16	6	12	5	222	87	5	2
Kokku	1239	100	163	13	205	17	727	59	144	12

ALPRO inna avastamise tehnoloogia efektiivsust ja täpsust mõjutavad tegurid

Nelikümmend üks protsenti kõikidest aktiivsusalarmidest ei langenud kokku follikulaarfaasi/inna ajaga. Kõikidest aktiivsusalarmidest langes 13% anöstruse perioodile, 17% diöstruse perioodile ja 12% tiinuse ajale. Eeltoodust tulenevalt on ALPRO inna avastamise tehnoloogia täpsust vähendavateks teguriteks anöstrus ja tiinus.

Praktikas hakatakse lehma poegimisjärgselt seemendama alates 50.-ndast 60.-ndast poegimisjärgsest päevast. Selleks ajaks on enamusel lehmadest taastunud ka normaalne munasarjafunktsioon ehk anöstruses lehmade osatähtsus on suhteliselt väike. Jättes analüüsist välja 60 esimest poegimisjärgset päeva (anöstruse perioodi), tõusis ALPRO inna avastamise

täpsus aktiivsuse tasemega üks, kaks ja kolm vastavalt 48, 73 ja 94%-ni (Tabel 8). Kui analüüsisist jäeti välja alarmid, mis esinesid esimese 60-ne poegimisjärgse päeva jooksul ja tiinuseaegsed alarmid, siis oli ALPRO inna avastamise täpsus aktiivsuse tasemega üks, kaks ja kolm vastavalt 65, 83 ja 97% (Tabel 9).

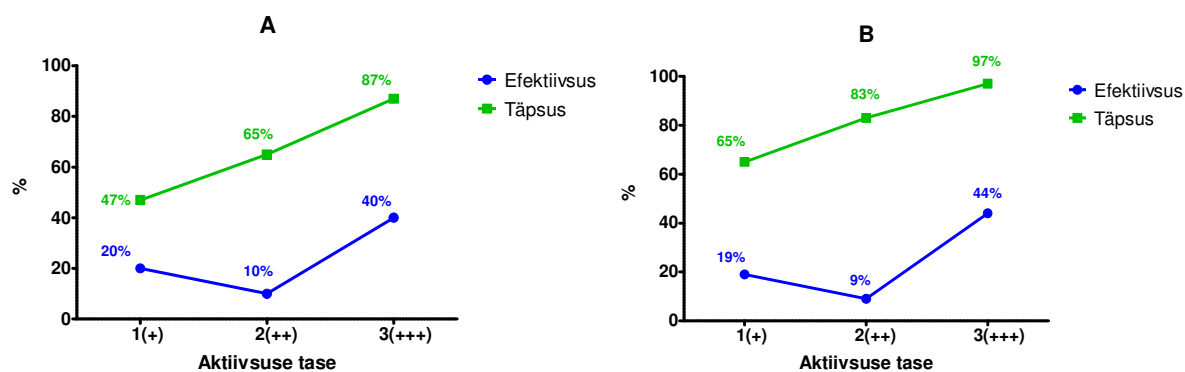
Tabel 8. ALPRO alarmide jaotumine erinevate reproduktsioonitsükli faaside vahel. Analüüsisist on jäetud välja esimesed 60 päeva poegimisest

Aktiivsusetase	Reproduktsioonitsükli faas (> 60 päeva poegimisest)									
	Aktiivsusalarmid		Anöstrus		Diöstrus		Ind (östrus)		Tiinus (65 päeva)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	460	58	20	4	98	21	222	48	120	26
2	152	20	2	1	20	13	111	73	19	13
3	172	22	2	1	3	2	162	94	5	3
Kokku	784	100	24	3	121	15	495	63	144	18

Tabel 9. ALPRO alarmide jaotumine erinevate reproduktsioonitsükli faaside vahel. Analüüsisist on jäetud välja alarmid, mis esinesid esimese 60 poegimisjärgse päeva jooksul ja tiinuse ajal

Aktiivsuse tase	Reproduktsioonitsükli faas (> 60 päeva poegimisest)									
	Aktiivsusalarmid		Anöstrus		Diöstrus		Ind (östrus)			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	340	53	20	6	98	29	222	65		
2	133	21	2	2	20	15	111	83		
3	167	26	2	1	3	2	162	97		
Kokku	640	100	24	4	121	15	495	77		

Joonisel 5 on tulemused visualiseeritud graafikutena, millest on näha, et analüüsidest aktiivsuse tasemeid poegimisest kuni 65.-nda tiinuspäevani, oli ALPRO inna avastamise täpsus madalam (joonis A), võrreldes perioodiga 60.-ndast poegimisjärgsest päevast kuni tiinestava seemendamiseni (joonis B).



Joonis 5 . ALPRO süsteemi inna avastamise täpsus ja efektiivsus aktiivsuse tasemete 1, 2 ja 3 korral. A. analüüsi andmeid alates poegimisest kuni 65.-nda tiinuspäevani. B. analüüsi andmeid alates 60.-ndast poegimisjärgsest päevast kuni tiinestava seemendamiseni.

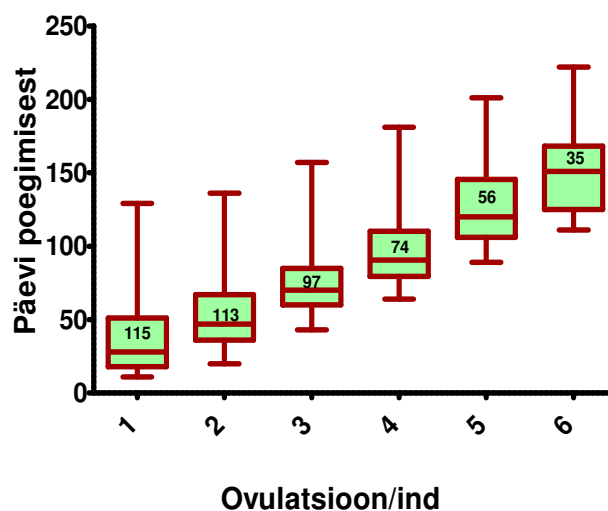
Seevastu ALPRO inna avastamise efektiivsuses olulisi erinevusi ei esinenud. Jooniselt 5 on samuti näha, et nii inna avastamise täpsus kui ka efektiivsus sõltusid maksimaalselt

aktiivsusalarmi tasemest. ALPRO inna avastamise efektiivsus ja täpsus olid suurimad, kui maksimaalse aktiivsusalarmi tase oli 3.

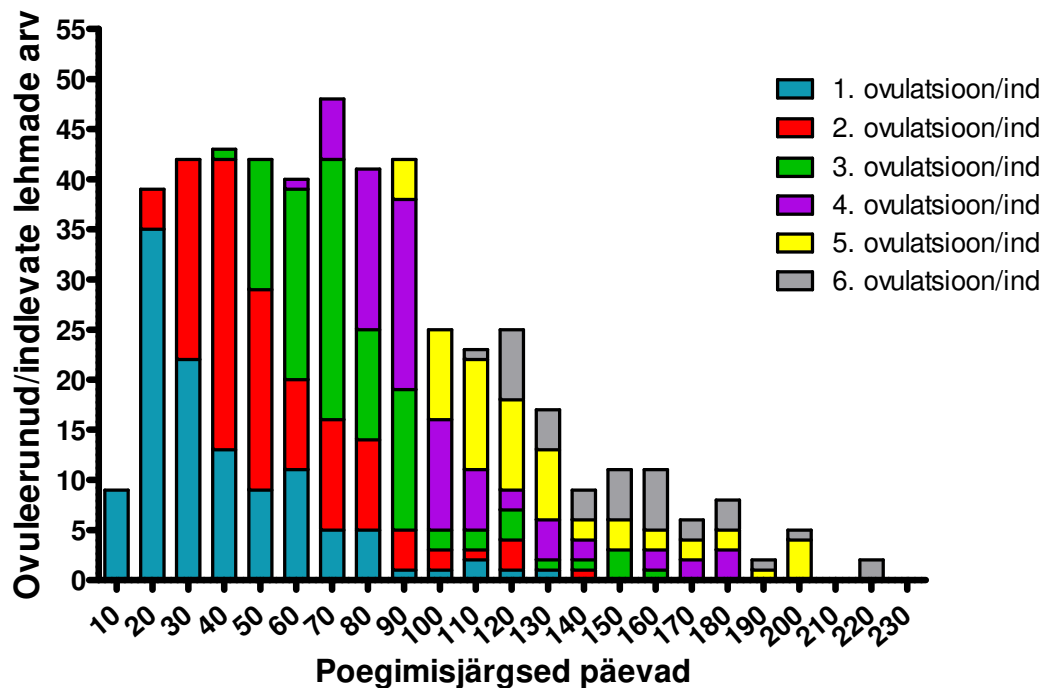
Saadud uued teadmised omavad suurt praktilist väärtust, võimaldades anda konkreetseid juhiseid ALPRO tehnoloogia kasutamiseks farmis. Kuna suur osa aktiivsusalarmidest langes anöstruse perioodile ja tiinuse ajale, siis on otstarbekas nimetatud perioode aktiivsusalarmide tõlgendamisel arvesse võtta. Esiteks, on otstarbekas hakata aktiivsuse taseme abil inda avastama alates 60.-dast poegimisjärgsest päevast. Kui poegimisest on möödunud 60 päeva ja tegemist on esimese poegimisjärgse seemendamisega, siis on vastava lehma indlemise tõenäosus aktiivsusalarmide 1, 2 ja 3 korral vastavalt 65, 83 ja 97%. Teiseks, kui looma on juba seemendatud, siis tuleks olla ettevaatlik loomade ümberseemendamisel kui neil esineb seemendamise järgselt aktiivsusalarme tasemega 1 või 2. See on tingitud aktiivsustasemega 1 ja 2 tiinusaegsete alarmide küllaltki kõrgest esinemusest. Aktiivsuse tasemega 3 tiinuse ajale langevate alarmide osatähtsus oli väike (3%). Eeltoodust lähtudes, tuleks juba seemendatud, ehk potentsiaalselt tiinetel loomadel tiinestumine kas ultraheli- või rektaalse uuringuga võimalikult varakult kinnitada.

Ovulatsioonide/östruste toimumise aeg poegimisjärgselt

Ajavahemik poegimisest (keskmine \pm SEM) esimese, teise, kolmanda, neljanda, viienda ja kuuenda ovulatsioonini/innani oli vastavalt $38 \pm 2,4$; $53 \pm 2,2$; $76 \pm 2,45$; $100 \pm 3,3$; $128 \pm 4,15$ ja $151 \pm 4,87$ päeva (Joonis 6). Jooniselt 6 on näha, et ovulatsioonide/indade toimumise ajas esines suur variatsioon. Visualiseerimaks samaaegselt toimuvaid ovulatsioone/indasid, koostasime histogrammi, kus on näidatud ovuleerunud/indlevate lehmade arv ja ovulatsiooni/inna esinemise järjekord (esimene, teine, kolmas, jne.) sõltuvalt ovulatsiooni/inna toimumise ajast (Joonis 7).



Joonis 6. Ajavahemik poegimisest ovulatsioonini/innani. Iga karp näitab mediaani ja ülemise ning alumise kvartiili väärtusi. Vuntsid näitavad kümnendik ja üheksakümnendik protsentiile. Ovulatsioonide/indade arv on toodud karpides.



Joonis 7. Ovuleerunud/indlevate lehmade jaotumine sõltuvalt ovulatsioonide/indade järjekorrast.

Jooniselt 7 on näha, et 60.-ndast poegimisjärgsest päevast (s.o. ajaks, kus lehmi hakatakse seemendama) kuni 90.-nda poegimisjärgse päevani võis samaaegselt esineda nii esimene, teine, kolmas või neljas poegimisjärgne ovulatsioon/ind. Alates 90.-ndast poegimisjärgsest päevast kuni 110.-nda poegimisjärgse päevani võis esineda kas esimene, teine, kolmas, neljas või viies poegimisjärgne ovulatsioon/ind. Saja kümnendast kuni 130.-nda päevani võis esineda kas esimene, teine, kolmas, neljas, viies või kuues poegimisjärgne ovulatsioon/ind.

ALPRO tehnoloogia inna avastamise efektiivsuse sõltuvus inna toimumise ajast ja inna järjekorrast

Kuna ovulatsioonide/indade toimumise ajast esines suur variatsioon ning samaaegselt võis esineda nii poegimisjärgselt esimene kuni kuues ovulatsioon/ind, siis selgitasime ALPRO tehnoloogia efektiivsuse sõltuvuse nii ovulatsiooni/inna toimumise ajast kui ka ovulatsiooni/inna toimumise järjekorrast.

ALPRO tehnoloogia inna avastamise efektiivsuse sõltuvus inna toimumise ajast

Tuvastasime, et ALPRO tehnoloogia efektiivsust mõjutavaks oluliseks füsioloogiliseks teguriks oli inna toimumise aeg poegimise järgselt. Tulemused on esitatud Tabelis 10. Tabelist 10 on näha, et poegimisjärgselt esimese inna avastamise efektiivsus oli kõrgem kui ind toimus pärast 22.-st poegimisjärgset päeva, võrreldes varem toimunud indadega. Poegimisjärgselt teise inna avastamise efektiivsus oli kõrgem kui ind toimus enne 50.-ndat poegimisjärgset päeva, võrreldes hiljem toimunud indadega. Poegimisjärgselt kolmanda inna avastamise efektiivsus oli kõrgem kui ind toimus enne 63.-ndat poegimisjärgset päeva, võrreldes hiljem toimunud indadega ning poegimisjärgselt neljanda inna avastamise

efektiivsus oli kõrgem kui ind toimus pärast 89.-ndat poegimisjärgset päeva, võrreldes varem toimunud indadega.

Tabel 10. Inna avastamise efektiivsuse sõltuvus inna esinemise ajast poegimise järgselt.

Inna järjekord	Päevi poegimisest ovulatsiooni/innani	n	Efektiivsus %	OR*	95% usalduspiirid	P- väärtus
1	<22	39	23	4,118	1,722-5,077	0,0014
	>22	76	55	referent		
2	<50	68	90	0,1721	0,06436-0,4604	0,0004
	>50	45	60	referent		
3	<63	29	97	0,1071	0,01353-0,8485	0,0109
	>63	68	75	referent		
4	<89	35	51	3,660	1,317-10,17	0,0143
	>89	39	80	referent		
5	<132	38	90	0,3059	0,07088-1,320	0,1288
	>132	18	72	referent		

*OR-šansside suhe

ALPRO tehnoloogia inna avastamise efektiivsuse sõltuvus inna järjekorrast

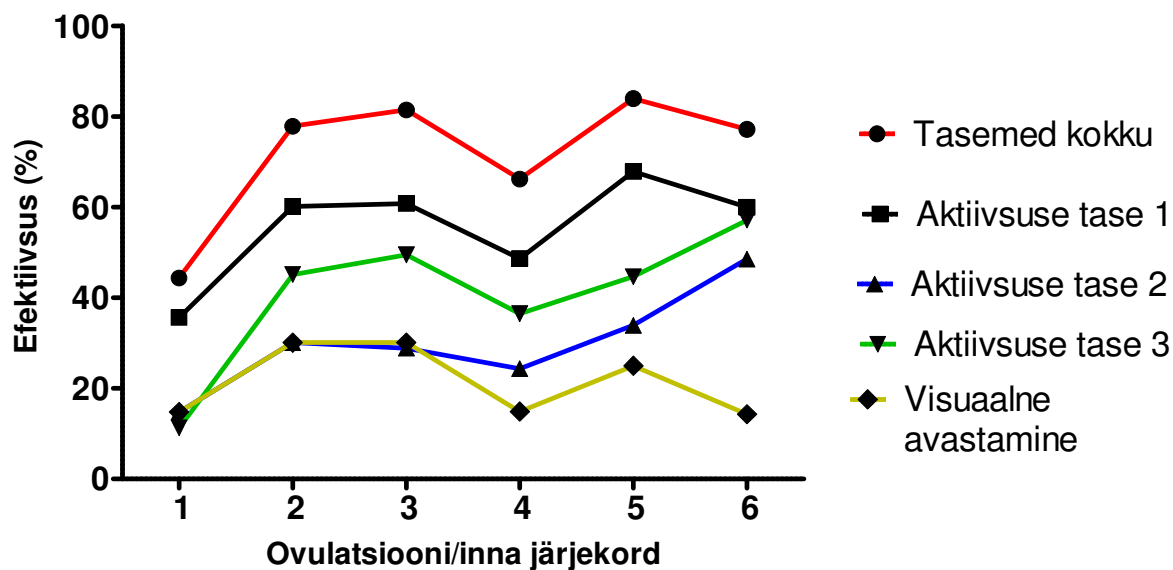
Tuvastasime, et ALPRO tehnoloogia inna avastamise efektiivsus sõltus inna järjekorrast. Esmalt uurisime esimese inna avastamise efektiivsust, võrreldes kõikide järgnevate indadega. Tegime kindlaks, et inna avastamise efektiivsus esimese poegimisjärgselt esinenud inna korral oli madalam ($P < 0,0001$), võrreldes kõikide järgnevate indadega, vastavalt 44% ja 77% (Tabel 11).

Tabel 11. Esimese ja järgnevate indade avastamise efektiivsus erinevate ALPRO aktiivsuse tasemetel korral

Aktiivsuse tase	Esimese inna avastamise efektiivsus (%)	Järgnevate indade avastamise efektiivsus (%)	OR*	95% usalduspiirid	P- väärtus
1	36	59	2,58	1,69-3,95	<0,0001
2	15	32	2,68	1,55-4,66	<0,0002
3	11	47	6,89	3,76-12,64	<0,0001
Kokku	44	77	4,14	2,70-6,35	<0,0001

*OR-šansside suhe

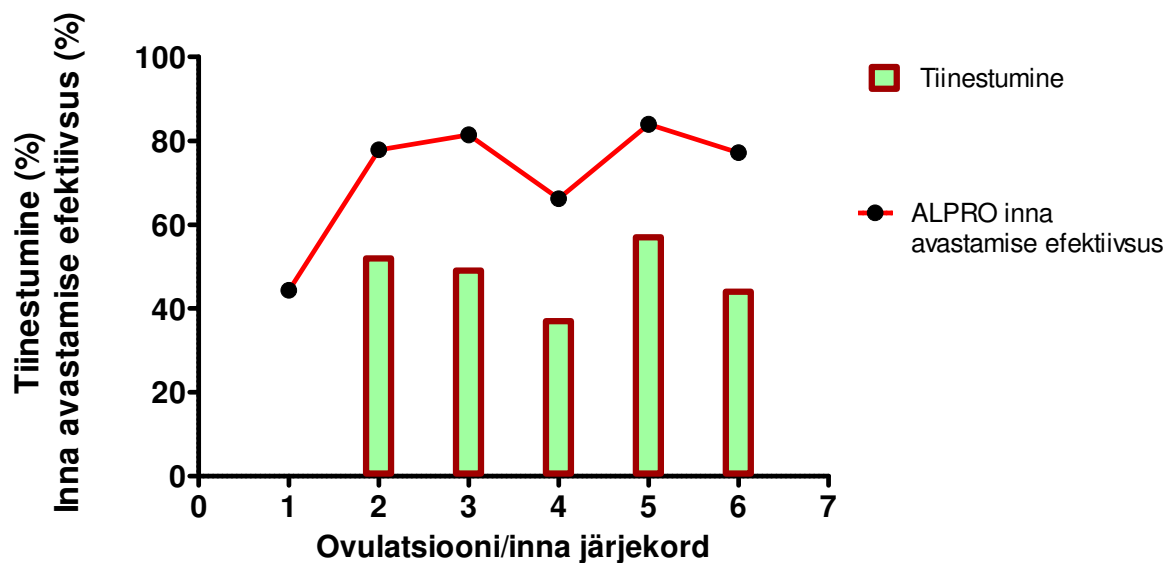
Teiseks uurisime inna avastamise efektiivsust ALPRO tehnoloogia ja inna visuaalse avastamise korral ovulatsiooni/inna toimumise järjekorra alusel. Jooniselt 8 on näha, et inna visuaalse avastamise efektiivsus oli oluliselt madalam, võrreldes ALPRO tehnoloogia abil avastatud indadega (keskmine inna avastamise efektiivsus vastavalt 21,5 ja 70%). Siinjuures on huvitav märkida, et inna visuaalse avastamise efektiivsus järgis ALPRO tehnoloogia abil saadud inna avastamise efektiivsuse erisusi sõltuvalt ovulatsioonide/indade järjekorrast. Neljanda inna avastamise efektiivsus ALPRO tehnoloogiat kasutades oli kõrgem kui esimese ja madalam kui kolmanda ja viienda inna avastamise efektiivsus ($P < 0,05$).



Joonis 8. ALPRO tehnoloogia ja visuaalse inna avastamise efektiivsus sõltuvalt ovulatsiooni/inna toimumise järjekorrast.

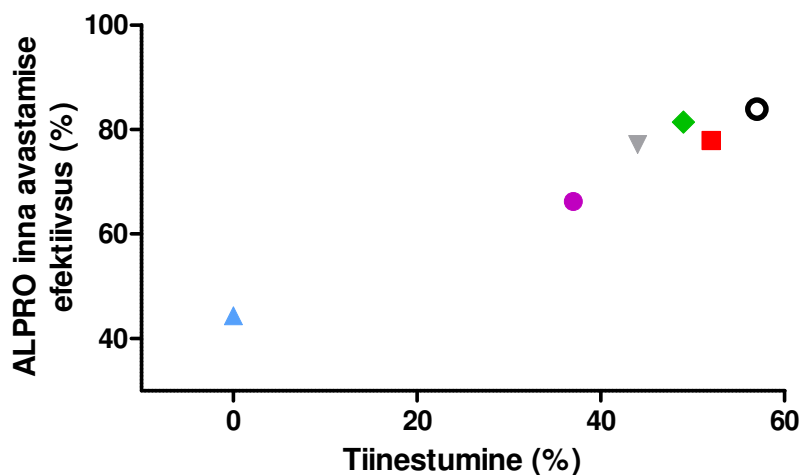
Ovulatsiooni/inna avastamise efektiivsuse ja lehmade tiinestumise vahelised seosed sõltuvalt ovulatsiooni/inna järjekorrast

Lehmade tiinestumine esimesest poegimisjärgsest innast oli 0 (0/5), teisest innast 52% (13/25), kolmandast innast 49% (23/47), neljandast innast 37% (17/46), viiendast innast 57% (20/35) ja kuuendast innast 44% (8/18) (Joonis 9).



Joonis 9. Tiinestumine ja inna avastamise efektiivsus sõltuvalt ovulatsiooni/inna toimumise järjekorrast.

Edasine analüüs näitas, et lehmade tiinestumine vastavalt ovulatsiooni/inna toimumise järjekorrale korreleerus vastava ovulatsiooni/inna avastamise ALPRO tehnoloogia efektiivsusega (Joonis 10).



Joonis 10. Korrelatsiooniväli iseloomustamaks ALPRO inna avastamise efektiivsuse ja tiinestumise vahelisi seoseid. Iga joonisel toodud sümbol tähistab inna avastamise efektiivsust ning sellele vastavat tiinestumist esimese (▲), teise (■), kolmanda (◆), neljanda (●), viienda (○) ja kuuenda (▼) poegimisjärgse ovulatsiooni/inna korral ($r=0.94$; $P=0.017$; Spearman'i korrelatsioon).

ALPRO rakendatavus poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni aja leidmisel ja munasarjafunktsiooni häiretega lehmade leidmisel

Poegimisjärgselt esimene aktiivsuse tõus ei korreleerunud poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni toimumise ajaga ($r=0,035$; $P=0,716$). Seega, ALPRO tehnoloogia abil ei ole võimalik leida esimese ovulatsiooni toimumise aega.

Piimalahmadel on peamiseks munasarjafunktsiooni häireks anöstrus ehk ovulatsioonide puudumine poegimisjärgsel perioodil. Käesolevas uuringus moodustasid pikenenud anovulatoorse perioodiga lehmad 36% uuritud lehmadest. Kuna ALPRO süsteem ei võimaldanud leida esimese ovulatsiooni toimumise aega, siis ei ole ALPRO süsteemi abil võimalik leida ka anöstruses lehma.

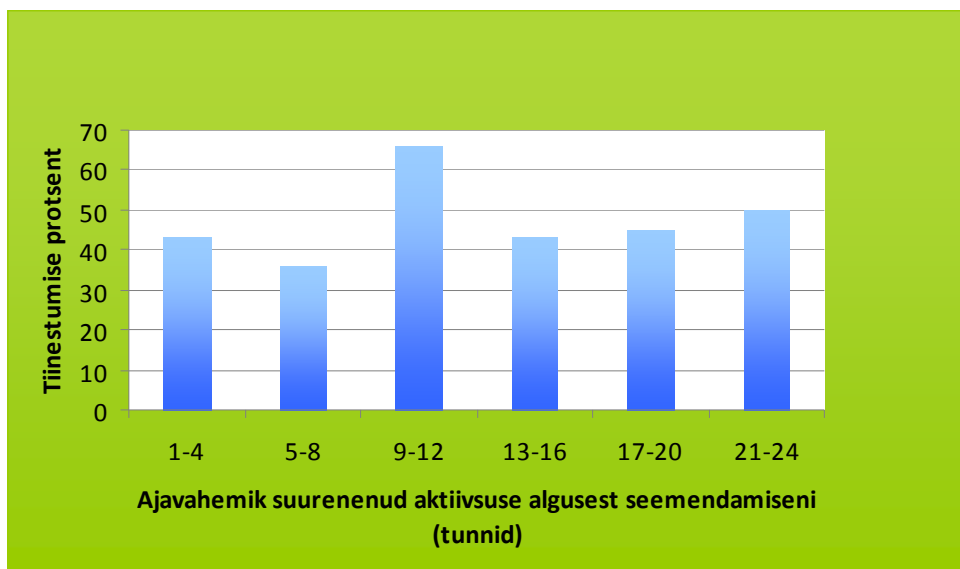
Saadud tulemused näitavad, et ALPRO süsteem ei võimaldanud kindlaks teha poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni toimumise aega, samuti leida pikenenud anovulatoorse perioodiga lehma.

Optimaalne ajavahemik aktiivsuse algusest seemendamiseni, saavutamaks maksimaalset tiinestumist.

Maksimaalseks tiinestumiseks optimaalse aktiivsuse algusest seemendamiseni ajavahemiku väljaselgitamiseks, analüüsiti 104 lehma 211 seemendamise andmeid. Eeltoodud seose

leidmiseks võtsime ALPRO varundusfailidest aktiivsuse alguse kellaajad. Majandi seemendustehnik registreeris iga katselehma seemendamise kellaaja. Lahutades seemendamise kellaajast aktiivsuse alguse kellaaja, leidsime ajavahemiku aktiivsuse algusest kuni seemendamiseni tundides. Enne seemendamist kontrolliti kõik lehmad innatunnustele ning lehma ei seemendatud kui innatunnuseid ei olnud. Piima progesteroniprofiilide abil kontrolliti seemendamise õigeaegsust (kas seemendus tehti inna ajal). Tiinust diagnoositi rektaalsel uurimisel 8 nädalat pärast seemendamist.

Füsioloogiliselt vael ajal seemendatud lehmade osatähtsus oli madal. Ainult 6 seemendust (2,8%) tehti anöstruses või diöstruses. Need seemendused kõrvaldati edaspidisest analüüsist. Üleüldine tiinestumine oli 51%. Aktiivsuse alguse aja ja tiinestumise vaheline seos on esitatud Joonisel 11. Jooniselt 11 on näha, et ALPRO tehnoloogiat kasutades saadi kõrgeim tiinestumine lehmadel, keda seemendati 9-12 tundi pärast aktiivsuse algust.



Joonis 11. Tiinestumise sõltuvus suurenenud aktiivsuse algusest seemendamiseni.

Eeltoodud tulemusele toetudes saame väita, et ALPRO inna avastamise tehnoloogiat kasutades saadakse maksimaalne tiinestumine, kui lehma seemendatakse 9-12 tundi pärast aktiivsuse algust.

Saadud uued teadmised ja järeldused

ALPRO tehnoloogia üleüldine inna avastamise efektiivsus oli 70% ja täpsus 59%. ALPRO tehnoloogia inna avastamise efektiivsus oli oluliselt kõrgem, võrreldes inna visuaalse avastamise efektiivsusega samadel loomadatel (21,5 ja 70%). ALPRO inna avastamise efektiivsus sõltus aktiivsusalarmi tasemest, ovulatsiooni/inna toimumise järjekorrast ja

ovulatsiooni/inna toimumise ajast. Maksimaalset aktiivsusalarmi taset arvestades oli ALPRO inna avastamise efektiivsus aktiivsuse tasemel üks, kaks ja kolm vastavalt 20, 10 ja 40%. ALPRO tehnoloogia efektiivsus oli poegimisjärgselt esimese ovulatsiooni/inna avastamisel madalam, võrreldes kõikide järgnevate ovulatsioonide/indadega, vastavalt 44% ja 77%. Poegimisjärgselt esimese ja neljanda ovulatsiooni/inna avastamise efektiivsus oli pöördvõrdelises sõltuvuses ovulatsiooni toimumise ajaga. Poegimisjärgselt teise, kolmanda ja viienda ovulatsiooni/inna avastamise efektiivsus oli võrdelises sõltuvuses ovulatsiooni toimumise ajaga. ALPRO inna avastamise täpsus sõltus aktiivsusalarmi tasemest, reproduktsioonitsükli faasist ja aktiivsusalarmi esinemise ajast. ALPRO inna avastamise täpsus oli aktiivsuse tasemel üks, kaks ja kolm vastavalt 47, 65 ja 87%. Kõikidest valealarmidest esines 13% anöstruses, 17% diöstruses ja 12% esimese 65 tiinuspäeva ajal. Anöstrus vähendas oluliselt ALPRO tehnoloogia täpsust. Järelikult farmides, kus esineb vähe anöstruses lehma, on ALPRO tehnoloogia kasutamine täpsem, võrreldes farmidega, kus esineb rohkem anöstruses lehma. Jättes analüüsist välja 60 esimest poegimisjärgset päeva (anöstruse perioodi), tõusis ALPRO inna avastamise täpsus aktiivsuse tasemega üks, kaks ja kolm vastavalt 48, 73 ja 94%-ni. Kui analüüsist jäeti välja nii esimese 60-ne poegimisjärgse päeva jooksul esinenud alarmid kui ka tiinusaegsed alarmid, siis oli ALPRO inna avastamise täpsus aktiivsuse tasemega üks, kaks ja kolm vastavalt 65, 83 ja 97%. Poegimisjärgselt esimese aktiivsuse tõusu aja ja poegimisejärgselt esimese ovulatsiooni/inna toimumise aja vahel puudus seos. Saadud tulemus näitab, et ALPRO tehnoloogia abil ei ole võimalik tuvastada luteaalfunktsiooni taastumise aega poegimisjärgselt, samuti leida pikenenud anovulatoorse perioodiga ehk anöstruses lehma. Optimaalne ajavahemik aktiivsuse algusest seemendamiseni, saavutamaks maksimaalset tiinestumist saadi siis, kui lehma seemendati 9-12 tundi pärast esimest kõrgeenenud aktiivsust. Lehmade tiinestumine vastavalt ovulatsiooni/inna toimumise järjekorrale korreleerus vastava ovulatsiooni/inna avastamise ALPRO tehnoloogia efektiivsusega. Saadud tulemus lubab arvata, et nii inna avastamise efektiivsus kui ka tiinestumine sõltuvad vähemalt osaliselt samadest füsioloogilistest teguritest.

Tulemuste praktiline väärtus

Saadud uued teadmised omavad suurt praktilist väärtust, võimaldades anda konkreetseid juhiseid ALPRO tehnoloogia kasutamiseks farmis. Kuna suur osa aktiivsusalarmidest langeb anöstruse perioodile ja tiinuse ajale, siis on otstarbekas nimetatud perioode aktiivsusalarmide tõlgendamisel arvesse võtta. Esiteks, on otstarbekas hakata aktiivsuse taseme abil inna avastama alates 60.-ndast poegimisjärgsest päevast. Kui poegimisest on möödunud 60 päeva ja tegemist on esimese poegimisjärgse seemendamisega, siis on vastava lehma indlemise tõenäosus aktiivsusalarmide 1, 2 ja 3 korral vastavalt 65, 83 ja 97%. Teiseks, kui looma on juba seemendatud, siis tuleks olla ettevaatlik loomade ümberseemendamisel kui neil esineb seemendamise järgselt aktiivsusalarme tasemega 1 või 2. See on tingitud aktiivsustasemega 1 ja 2 tiinusaegsete alarmide küllaltki kõrgest esinemisest. Aktiivsuse tasemega 3 tiinuse ajale langevate alarmide osatähtsus oli väike (3%). Eeltoodust Lähtuvalt eeltoodust tuleks juba seemendatud, ehk potentsiaalselt tiinetel loomadel tiinestumine kas ultraheli- või rektaalse uuringuga võimalikult varakult kinnitada. Praktilisest seisukohast lähtudes osutus aktiivsusalarmi tase 3 kõige efektiivsemaks ja usaldusväärsemaks kõrgeenenud aktiivsuse tasemeks. Neljakümne protsendi kõikide ovulatsioonide/indadega kaasnes kõrgeenenud aktiivsuse tase 3. Kõrgeenenud aktiivsuse taseme 3 korral oli inna avastamise täpsus 94-97%.

ALPRO tehnoloogiat kasutades saadakse kõrgeim tiinestumine kui lehmi seemendatakse 9-12 tundi pärast kõrgeinud aktiivsuse algust.

Oodatav majanduslik efekt

Saadud uued teadmised võimaldavad tõsta inna avastamise ALPRO tehnoloogia kasutamise efektiivsust inna avastamisel ja optimaalse seemendusaja valikul. Kuna inna avastamise efektiivsus ja õige seemendusaeg on piimakarja majandamise võtmeteguriteks, siis on võimalik oskusliku ALPRO tehnoloogia kasutamisega vähendada poegimisvahemikku ja seega suurendada piima tootmise efektiivsust.

Publikatsioonid

Mällo, G.K.; Valdman, A. (2010). Inna elektrooniline avastamine Alpro tehnoloogia abil. In: Terve loom ja tervislik toit: Terve loom ja tervislik toit, Tartu, 08.04.2010 - 09.04.2010. Tartu: Eesti Maaülikool, 2010, 61 - 64.

Mällo, G.K.; Kaart, T.; Sveberg, G.; Reksen, O.; Ropstad, E.; Waldman, A. (2009). Analysis of insemination results compared to activity alarms and progesterone measurements in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(s3), 115.

Mällo, G.K.; Kaart, T.; Oherd, P.; Sveberg, G.; Reksen, O.; Ropstad, E.; Waldman, A. (2008). Oestrous detection in a large commercial dairy herd; a comparison of the effectiveness of radiotelemetric activity with milk progesterone measurements. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(s3), 51.

Mällo, G.K.; Kaart, T.; Oherd, P.; Sveberg, G.; Reksen, O.; Ropstad, E.; Waldman, A. (2008). A comparison of the effectiveness of estrous detection by radiotelemetric activity with milk progesterone measurements and visual observations. In: *Modern farming and domestic animal reproduction : Modern farming and domestic animal reproduction, the Republic of Belarus, March 5-7, 2008*. Uppsala, 2008, (CRU Report 21), 20 - 20.

Valdman, A.; Mällo, G.K. (2007). Aktiivsuse mõõtmisel põhinev inna elektrooniline avastamine. *Piimafoorum 2007* (21 - 22). Tallinn: Eesti Põllumajandus-Kaubanduskoda.

4. Munarakkude morfoloogiline kvaliteet ja ainevahetuse seisund korduvseemendatud lüpsilehmadel

Tänapäeval on kõrgetoodangulise piimakarja vähenev sigimisvõime probleemiks kogu maailmas. Normaalselt poeginud lüpsilehmade munarakkude viljastumine esmakordse seemenduse järel on kuni 90%, kuid vähem kui pooltel lehmadel diagnoositakse tiinus ja ümberinnelud loomade tiinestamiseks on neid vaja korduvalt seemendada. Lehmi, kes ei tiinestu kolme seemenduse järel nimetakse korduvseemendatud lehmadeks ja nende osakaal karjas varjeerub 10%-st kuni 25%-ni. (Bulman jt. 1978; Bartlett jt. 1986; Waldmann jt. 2001; Selvaraju jt. 2002). Lehmade korduv tagajärjetu seemendus põhjustab piimatootjale märkimisväärset lisakulu, pikeneb poegimisvahemik ja väheneb piimatoodang. Eesti Jõudluskontrollikeskuse andmetel viiakse Eestis sigimatuse tõttu karjast välja kuni 22 % piimalehmadel aastast. Ümberindlemise võivad põhjustada vale seemendusae, ainevahetuse ja hormonaalsed häired ning suguelundite patoloogia. Uuringute tulemusena on leitud, et paljudel korduvseemendatud lehmadel on suguelundid kliiniliselt terved ja seega emaka keskkond sobiv looma tiinestamiseks (Tanabe jt. 1985; De Kruif 1976; Stroud jt. 1991). Ümberindlemise põhjuseks võivad olla ka folliikulite või munarakkude kasvu- ja arenguhäired munasarjades (Maurer, Echtenkamp 1985; Stroud jt. 1991; Boland jt. 2001; McEvoy jt. 2001).

Eesmärgid:

- 1) Välja selgitada suguelundite seisund ja munarakkude kvaliteet korduvalt tagajärjetult seemendatud lüpsilehmadel.
- 2) Leida seosed munarakkude kvaliteedi ja mõnede ainevahetust iseloomustavate vere metaboliitide sisalduste vahel.

Suguelundeid uuriti kokku 424 lehmal 12 piimafarmis rektaalse palpeerimise ja ultrasonograafia abil. Munarakkude morfoloogilist kvaliteeti ja vere metaboliitide sisaldust uuriti ja võrreldi kolme farmi 29 korduvseemendatud ja 13 laktatsiooni varajases järgus (45-60 päeva pärast poegimist) oleval lehmal.

Nende farmide keskmine piimatoodang ulatus 7330 kuni 9430 kg piima lehma kohta aastas. Korduvseemendatud lehmade suguelundid olid kliiniliselt terved, neid oli seemendatud $5,5 \pm 0,4$ korda ja nad olid määratud sigimatuse tõttu praakimiseks. Ajavahemik poegimisest kuni munarakkude saamiseni oli $347,3 \pm 11,5$ päeva ja päevalüps $16,6 \pm 0,4$ kg. Laktatsiooni varajase järgu lehmade päevalüps oli $32,4 \pm 0,7$ kg.

Munarakkude saamiseks munasarjadest kasutati transvaginaalset aspiraatorit. Munasarjade punktsioon toimus üks kord nädalas. Igal lehmal teostati 3 kuni 5 punkteerimisprotseduuri. Munarakkude kvaliteeti hinnati stereomikroskoobi abil, hinnang anti munarakkudele in vitro viljastamiseks kehtestatud morfoloogiliste kriteeriumite alusel. Vastavalt munarakkude kvaliteedile jagati lehmad kahte gruppi: lehmad, kellel leiti valdavalt normaalse morfoloogilise kvaliteediga munarakke ja lehmad, kellel olid ülekaalus patoloogilise morfoloogiaga munarakud. Uuriti järgmiste vere metaboliitide kontsentratsioone: üldproteiin, glükoos, üldkolesterool, kõrge tihedusega lipoproteiini kolesterool (HDL kolesterool), karbamiid ja albumiin. Samuti uuriti aspartaadi aminotransferaasi (AST) ja laktaadi dehüdrogenaasi (LDH) aktiivsust. Uuritud metaboliitide parameetreid võrreldi korduvseemendatud lehmade ja laktatsiooni varajases järgus olevate lehmade vahe. Kliiniliselt diagnoositavaid suguelundite patoloogiaid esines 35,1%-l uuritud

korduvseemendatud lehmadest (Tabel 11). Enamasti leiti emaka kroonilisi põletikulisi seisundeid (mädaemakas ja emakapõletik) ning munasarjade patoloogiaid (luteaal- ja follikulaartsüstid). Ülejäänud korduvseemendatud lehmadel (64,9%) olid suguelundid kliiniliselt terved. Seega, 35,1%-l lehmadel mittetiinestumist saab seletada emaka põletikulise seisundiga ja munasarjapatoloogiaga. Mittetiinestumise põhjused ei ole selged lehmadel, kelle suguelundid olid kliiniliselt normaalsed.

Tabel 11. Suguelundite kliiniline seisund korduvseemendatud lüpsilehmadel

Diagnoositud Patoloogiad	Korduvseemendatud lehmade arv	%
Emaka väär moodustised ja liited	9	2,1%
Püomeetra (mädasemakas)	10	2,3%
Endometriit (emakapõletik)	26	6,1%
Munasarjade atroofia	11	2,6%
Luteaalsüstid	35	8,3%
Follikulaartsüstid	58	13,7%
Suguelundite patoloogiatega lehmad kokku	149	35,1%
Kliiniliselt normaalsete suguelunditega lehmad	275	64,9%
Kokku	424	100,0%

Edasi analüüsiti tervetel korduvseemendatud lehmadel munarakkude kvaliteeti. Aspireeritud munarakkude hulk korduvseemendatud lehmadel oli väiksem, võrreldes sama näitajaga varajases laktatsiooni järgus olevate lehmadega, vastavalt 4.4 ± 0.2 ja 5.4 ± 0.6 munarakku ühe lehma kohta (Tabel 12). Morfoloogiliselt ebanormaalsete munarakkude osatähtsus oli korduvseemendatud lehmadel 52.5% ja varajases laktatsiooni järgus olevatel lehmadel 37,9%.

Tabel 12. Munarakkude hulk ja nende morfoloogiline kvaliteet korduvseemendatud ja varajases laktatsiooni järgus olevatel lehmadel

Näitaja	Korduvseemendatud lehmad	Varajase laktatsiooni järgus olevad lehmad	P-väärtus
Lehmade arv	29	13	
Munasarjade aspireerimiste arv kokku	68	59	
Aspireeritud munarakkude arv kokku	305	324	
Ühe lehma/aspiratsiooni kohta	4.4 ± 0.2	5.4 ± 0.6	< 0.05
Normaalseid munarakke (%)	47.5 ± 3.3	62.1 ± 1.9	< 0.001
Ebanormaalseid munarakke (%)	52.5 ± 3.3	37.9 ± 1.9	< 0.001

Andmete edasine analüüs näitas, et morfoloogiliselt normaalsete ja ebanormaalsete munarakkude osakaal ei olnud korduvseemendatud lehmadel ühesugune. Ebanormaalsete munarakkude ülekaal normaalsete suhtes leiti 16 (55,2%) korduvseemendatud lehmadel (Tabel 13). Ebanormaalsete munarakkude ülekaal leiti ainult ühel (7,7%) varajase laktatsiooni järgu lehmadel. Osal korduvseemendatud lehmadest (13/29, 44,8%) oli normaalseid munarakke rohkem kui ebanormaalseid, nende osakaal oli sama, mis varajase laktatsiooni järgu lehmadel, vastavalt 63,9% ja 63,2%.

Tabel 13. Morfoloogiliselt normaalsete ja ebanormaalsete munarakkude arv ja osakaal korduvseemendatud ja varajases laktatsiooni järgus olevatel lehmadel

Näitatajad	Normaalsete munarakkude ülekaaluga korduvseemendatud lehmad	Ebanormaalsete munarakkude ülekaaluga korduvseemendatud lehmad	Varajases laktatsiooni järgus olevad lehmad
Lehmade arv	13 (44.8%)	16 (55.2%)	12 (92.3%)
Munarakke kokku	157	148	289
Munarakke ühe lehma kohta	4.9 ± 0.3 ^{ab}	4.0 ± 0.3 ^a	5.4 ± 0.6 ^b
Normaalseid munarakke (%), keskmiselt lehma kohta	63.9 ± 1.7 ^a	34.2 ± 2.9 ^b	63.2 ± 1.7 ^a
Ebanormaalseid munarakke (%), keskmiselt lehma kohta	36.1 ± 1.7 ^a	65.8 ± 2.9 ^b	36.8 ± 1.7 ^a
	1.8 ± 0.1 ^b	2.5 ± 0.2 ^a	2.0 ± 0.3 ^{ab}

Ridades sarnaste tähtedega märgitud numbrid ei erine statistiliselt ($P > 0.05$)

Ridades erinevate tähtedega märgitud numbrid erinevad statistiliselt ($P > 0.05$)

Vere metaboliitide analüüsist selgus (Tabel 14), et glükoosi kontsentratsioon ei erinenud kolme grupi lehmade vahel. Glükoos on organismi universaalne energia allikas nii munasarjade talitluseks kui ka piimasuhkru produtseerimiseks. Glükoosi vajadus on kõige suurem varajasel poegimisjärgsel perioodil. Ka AST aktiivsus ei erinenud lehmade gruppide vahel. AST peegeldab glükoosi sünteesi aktiivsust organismis. Kõigil lehmadel olid glükoosi kontsentratsioon ja AST aktiivsus vastavuses normväärtustega (Kaneko jt. 2008). See näitab, et korduvseemendatud lehmad ei vajanud madala piimatoodangu tõttu (16.6 ± 0.4 kg) intensiivset glükoosi lisasünteesi ning varajases laktatsiooni järgus olevad lehmad olid väljunud negatiivse energiabilansi seisundist.

Tabel 14. Uuritud metaboliitide keskmised näitajad korduvseemendatud ja varajase laktatsiooni järgu lehmadel

Ainevahetuse Näitajad	Normaalsete munarakkude ülekaaluga korduvseemendatud Kehmad	Ebanormaalsete munarakkude ülekaaluga korduvseemendatud Kehmad	Varajase laktatsiooni järgu lehmad
Glükoos (mmol/l)	3.6 ± 0.1	3.5 ± 0.1	3.7 ± 0.1
Üldproteiin (g/l)	84 ± 1	81 ± 1	83 ± 2
Albumiin (g/l)	51 ± 1 ^a	48 ± 1 ^b	51 ± 1 ^a
Üldkolesterool (mmol/l)	4.1 ± 0.2	4.4 ± 0.2	4.0 ± 0.2
HDL kolesterool (mmol/l)	1.3 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1
Karbamiid (mmol/l)	4.8 ± 0.2 ^a	5.2 ± 0.2 ^b	4.7 ± 0.2 ^a
LDH (U/L)	2090.3 ± 71.4	2214.7 ± 75.9	2107.5 ± 73.5
AST (U/L)	73.2 ± 3.5	68.5 ± 3.7	74.5 ± 3.6

Ridades märkimata või sarnaste tähtedega numbrid ei erine statistiliselt ($P > 0.05$). Erinevate tähtedega märgitud numbrid erinevad statistiliselt ($P < 0.05$). HDL kolesterool -kõrge tihedusega lipoproteiini kolesterool; LDH - laktaadi dehüdrogenaas; AST- aspartaadi aminotransferaas.

Üldproteiini kontsentratsioon ei erinenud samuti gruppide vahel, kuid üldkolesterool ja LDH aktiivsus näitasid tõusutendentsi ebanormaalse munarakkude ülekaaluga korduvseemendatud lehmadel, võrreldes teiste gruppide lehmadega. Kõikides lehmade gruppides olid üldproteiini, albumiini, üldkolesterooli ja LDH kõrgemad vastavatest normväärtustest (Kaneko jt. 2008). Seeduva proteiini söötmine lakteerivatele lehmadele kogustes, mis ületavad tegelikku vajadust, kutsus esile karbamiidi kontsentratsiooni sisalduse tõusu veres. Meie uuringus oli karbamiidi tase ja LDH aktiivsus ebanormaalsete munarakkude ülekaaluga korduvseemendatud lehmadel kõrgem, võrreldes teiste rühmade lehmadega. Võib arvata, et tõusnud LDH aktiivsus ja madalam albumiini tase ebanormaalsete munarakkude ülekaaluga

korduvseemendatud lehmadel näitab maksa koormuse kasvu, mis on tingitud suuremast proteiini söötmise kogusest. On leitud, et lehmade söötmine kõrge proteiinisaldusega ja energiarikka ratsiooniga võib olla soodne munarakkudele varajase poegimisjärgse perioodi ajal, kuid hiljem, kui lehmadel taastub positiivne energiabilanss, mõjub proteiini kõrge sisaldus söödas munarakkudele negatiivselt (Leroy jt. 2008). Leidsime, et üldkolesterooli kontsentratsioon veres oli kõigil lehmadel mõnevõrra kõrgem normväärtustest (Kaneko jt. 2008). Kolesterool on vajalik emassuguhormoonide sünteesiks munasarjades, kuid meil ei ole alust arvata, et käesolevas uuringus leitud kolesterooli väärtused võiksid munarakkude kvaliteedi oluliselt mõjutada.

Järeldused

Korduvseemendatud lehmade mittetiinestumise põhjuseks oli kliiniliselt diagnoositav patoloogia suguelundites 35,1% juhtudest, enamasti emaka krooniline põletikuline seisund (mädaemakas ja emakapõletik) ning munasarjade funktsiooni häired (luteaal- ja follikulaartsüstid).

Morfoloogiliselt ebanormaalsete munarakkude ülekaal (meie uuringus 55,2%-l korduvseemendatud lehmadest), kinnitab hüpoteesi, et munarakkude arenguhäired võivad põhjustada mittetiinestumist.

Korduvseemendatud lehmadel, kellel olid ülekaalus ebanormaalsed munarakud, oli vereplasmas kõrgem karbamiidi ja laktaadi dehüdrogenaasi sisaldus võrreldes normaalseid munarakke andnud lehmadega.

Kõrgem karbamiidi tase võib olla tingitud seeduva proteiini liigsest tarbimisest, mis võib halvendada munarakkude kvaliteeti.

Publikatsioonid

Kurõkin, J.; Valdmann, A.; Tiirats, T.; Kaart, T.; Jaakma, Ü. (2010). Munarakkude morfoloogiline kvaliteet ja ainevahetuse seisund korduvseemendatud lüpsilehmadel. Eesti, Tartu, 8.-9. aprill 2010. Terve loom ja tervislik toit 2010, lk.41-44

Kurykin, J.; Waldmann, A.; Tiirats, T.; Kaart, T.; Jaakma, Ü. (2010). Morphological Quality of Oocytes and Blood Plasma Metabolites in Repeat Breeding and Early Lactation Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals*, xx [ilmumas]

5. Lehmade innatsükli sünkroniseerimise efektiivsust ja tiinestumist mõjutavad faktorid

Innatsükli sünkroniseerimine võimaldab:

- vähendada inna avastamiseks kulunud aega;
- mitteinnelnud lehmadel inda esile kutsuda;
- seemendada lehmi poegimise järgselt kindla ajavahemiku jooksul;
- sünkroniseerida embrüosiirdamiseks kasutatavate doonorite ja retsipientide innatsükliid;
- vähendada poegimisvahemikku.

On teada, et innatsükli sünkroniseerimisega kaasneb madal (70 kuni 85%) sünkroniseerumise efektiivsus.

Eesmärgid:

1. Selgitada innatsükli sünkroniseerimise ebaõnnestumise põhjused;
2. Selgitada insuliinitaolise kasvufaktori 1 (IGF1) tiinestumise vahelised seosed sünkroniseeritud innatsükliga lehmadel

Insuliinitaolise kasvufaktori ja tiinestumise vahelised seosed sünkroniseeritud innatsükliga lehmadel

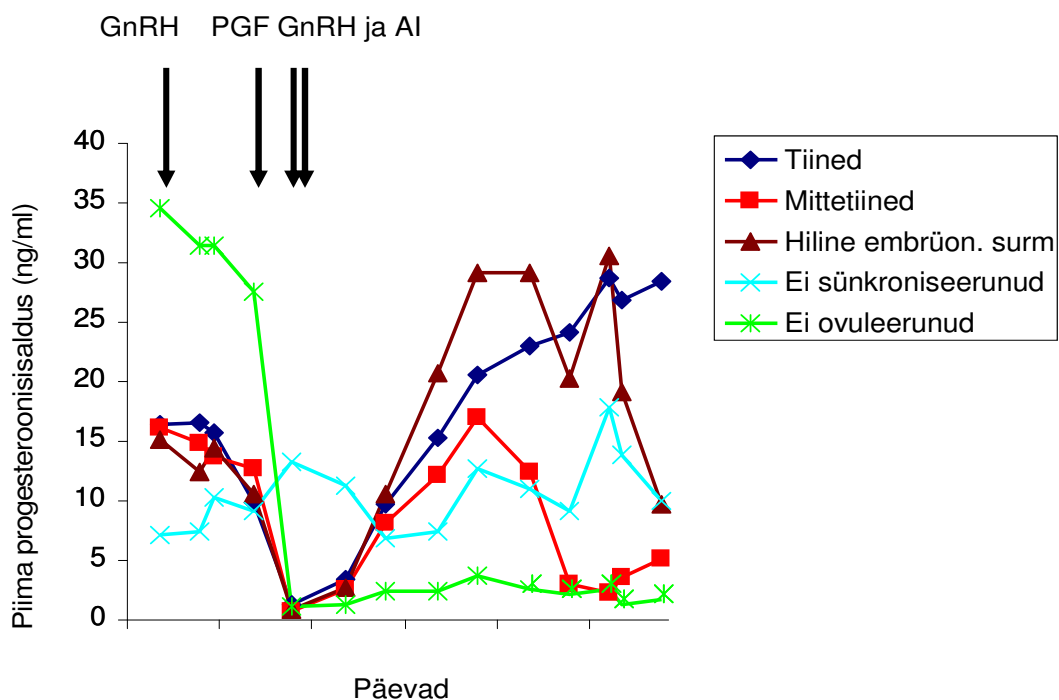
Viisime läbi uuringu, selgitamaks innatsükli sünkroniseerimise efektiivsust Ovsynch sünkroniseerimisskeemi kasutades ja selgitamaks insuliinitaolise kasvufaktori ja tiinestumise vahelisi seoseid.

Kahekümne üheksa multipaarse lehma innatsükkel sünkroniseeriti Ovsynch sünkroniseerimisskeemi abil. Lehmadele manustati GnRH preparaati Receptal, 7 päeva pärast prostaglandiinipreparaati Dinolytic (PGF), 60 tunni pärast manustati uuesti preparaati Receptal ja seejärel 6-8 tunni möödudes lehmad seemendati.

Kõikide lehmade munasarjafunktsioon kaardistati piima progesterooniprofiilide abil. Insuliinitaolise kasvufaktori (IGF1) sisaldus vereplasmas määrati kommertsiaalse ELISA meetodiga.

Tulemused

Progesterooniprofiilide analüüsiga tuvastasime lehmad, kelle innatsükkel ei sünkroniseerunud, kes ei ovuleerunud, samuti tiined, mittetiined ja hilise embrüonaalse surmaga lehmad (Joonis 12).



Joonis 12. Ovsynch sünkroniseerimisskeemi abil töödeldud lehmade piima progesterooniprofiilid.

Progesterooniprofiilide abil tegime kindlaks, et 17,2%-l lehmatest innatsükkel ei sünkroniseerunud ja 16,7 %-l sünkroniseerunud lehmatest esines hiline embrüonaalne surm. Analüüsidest tiinete ja mittetiinete lehmade IGF1 sisaldusi leidsime, et lehmadel, kelle IGF1 sisaldus vereplasmas oli esimesel poegimisjärgsel nädalal > 20 ng/ ml oli tiinestumine 87,5%; lehmadel kelle IGF1 sisaldus oli esimesel poegimisjärgsel nädalal < 20 ng/ ml oli tiinestumine 37,5% (P < 0.034; Fisheri täpne test). Saadud tulemused on originaalsed näidates esmakordselt IGF1 ja tiinestumise vahelisi seoseid Ovsynch skeemiga sünkroniseeritud lehmadel.

Tulemuste praktiline väärtus

IGF1 võib osutada praktiliseks markeriks tiinestumise prognoosimisel sünkroniseeritud innatsükliga lehmadel.

Lehmade innatsükli sünkroniseerimise efektiivsus ja tiinestumist mõjutavad tegurid

Ühisuuringud Cornelli Ülikooliga

Eesmärgid:

- 1) Kasutades piima progesterooniprofiile selgitada innatsükli sünkroniseerimisskeemi Ovsynch efektiivsust piimalehmadel.
- 2) Selgitada esimese GnRH süstimise aegse piima progesteroonisisalduse ja sellele järgneva piima progesterooniprofiili tüüpi seosed tiinestumisega.

3) Selgitada, kas piima progesteroonisisalduse määramine võimaldab leida mittesünkroniseerunud lehmad ning vältida tarbetuid seemendamisi.

Läbiviidud uuringud

Kaheksakümne üheksa lehma innatsükkel sünkroniseeriti Ovsynch sünkroniseerimisskeemi abil. Lehmadele manustati GnRH preparaati Receptal, 7 päeva pärast prostaglandiinipreparaati Dinolytic (PGF), 60 tunni pärast manustati uuesti preparaati Receptal ja seejärel 6-8 tunni möödudes lehmad seemendati.

Igalt lehmalt koguti progesteroonisisalduse määramiseks piimaproovid 10.-ndal, 6.-ndal, 3.-ndal ja 1.-l seemendamiseelsel päeval, seemendamise päeval ning 4.-ndal, 7.-ndal, 14.-ndal, 21.-l ja 24.-ndal seemendamisjärgsel päeval. Kaks lehma indles ning seemendati varem kui Ovsynch sünkroniseerimisskeemis ette nähtud, mistõttu need lehmad arvati edasisest analüüsist välja.

Tuginedes piima progesteroonisisaldusele ja progesterooniprofiilile, klassifitseeriti lehmad 4 alltoodud rühma:

1) Profiil I - östrus/anöstrus esimese GnRH manustamise ajal. Siia rühma klassifitseeriti lehmad, kelle progesteroonisisaldus oli esimese GnRH manustamise ajal (päev -10) < 1 ng/ml.

2) Profiil II – varane diöstrus esimese GnRH manustamise ajal. Siia rühma klassifitseeriti lehmad, kelle progesteroonisisaldus oli esimese GnRH manustamise ajal (päev -10) >1 ja < 2 ng/ml ja > 2 ng/ml PGF manustamise ajal (päev -3).

3) Profiil III – diöstrus esimese GnRH manustamise ajal. Siia rühma klassifitseeriti lehmad, kelle progesteroonisisaldus oli esimese GnRH manustamise ajal (päev -10) >2 ng/ml, millele järgnes progesteroonisisalduse tõus 4 päeva hiljem (päev -6), millele omakorda järgnes progesteroonisisalduse langus.

4) Profiil IV – hiline diöstrus esimese GnRH manustamise ajal. Siia rühma klassifitseeriti lehmad, kelle progesteroonisisaldus oli esimese GnRH manustamise ajal (päev -10) >1 ng/ml, millele järgnes progesteroonisisalduse langus (päev -6), millele omakorda järgnes progesteroonisisalduse langus PGF manustamise päevaks (päev -3).

Tulemused

Kolmekümnest lehmast progesteroonisisaldusega < 1 ng/ml esimese GnRH manustamise ajal oli 17-l lehmal (56.7 %) piima progesteroonisisaldus < 1 ng/ml ka PGF manustamise ajal. Need lehmad olid anöstruses ja ei ovuleerunud pärast GnRH manustamist. Ükski eeltoodud lehmadest ei tiinestunud.

Kolmekümnest lehmast progesteroonisisaldusega < 1 ng/ml esimese GnRH manustamise ajal oli 13-l lehmal (43.3 %) piima progesteroonisisaldus tõusnud > 1 ng/ml PGF manustamise päevaks. Need lehmad ovuleerusid pärast esimest GnRH manustamist ning 13-st lehmast tiinestus 4 (30.8 %).

Lehmadel progesteroonisisaldusega > 1 ng/ml esimese GnRH manustamise ajal esines 3 erinevat tüüpi progesterooniprofiile (varane diöstrus esimese GnRH manustamise ajal, diöstrus esimese GnRH manustamise ajal, hiline diöstrus esimese GnRH manustamise ajal).

Lehmade tiinestumisandmed sõltuvalt GnRH manustamise ajast on esitatud Tabelis 15. Tabelist 15 on näha, et lehmade tiinestumine sõltus GnRH manustamise ajast, olles kõrgeim kui lehm oli esimese GnRH manustamise ajal diöstruses. Tiinestumine oli statistiliselt

oluliselt madalam, kui esimene GnRH süst tehti anöstruses/östruses või hilises diöstruses, võrrelduna diöstruses tehtud süstiga.

Tabel 15. Lehmade tiinestumise sõltuvus progesterooniprofiili tüübist ja GnRH manustamise ajast

	Profiil I Östrus/anöstrus esimese GnRH manustamise ajal	Profiil II Varane diöstrus esimese GnRH manustamise ajal	Profiil III Diöstrus esimese GnRH manustamise ajal	Profiil IV Hiline diöstrus esimese GnRH manustamise ajal	Kokku
Tiined (n)	4	2	16	2	24
Mittetiined (n)	26	6	22	9	63
Tiinestumine (%)	13.3 ^b	25 ^d	42.1 ^a	18.18 ^c	27,6
Lehmade jaotumine erinevate progesterooniprofiilide vahel (%)	34.5	9.2	43.7	12.6	100

^{ab} P= 0,0002 Fisheri täpne test

^{ac} P= 0,0374 Fisheri täpne test

^{ad} P= 0,1278 Fisheri täpne test

Lehmade tiinestumise seos progesteroonisisaldusega PGF manustamise ja seemendamise ajal

Kui piima progesteroonisisaldus PGF manustamise ajal oli < 0.5 ng /ml ja/või seemendamise ajal > 0.5 ng /ml, siis ükski lehmadest ei tiinestunud. Käesolevas uuringus vastas eeltoodud kriteeriumitele 43% (38/89) lehmadest.

Järeldused

Ovsynch skeemi järgi sünkroniseeritud lehmade tiinestumine sõltus esimese GnRH manustamise aegsest piima progesteroonisisaldusest ja manustamisele järgnenud piima progesterooniprofiili profiilist. Kõrgeim tiinestumise saadi, kui lehm oli esimese GnRH manustamise ajal diöstruses.

Tulemuste praktiline väärtus

Piima progesteroonisisalduse määramisega enne PGF manustamist ja enne seemendamist on võimalik vältida potentsiaalselt mittetiinestuvate lehmade seemendamist.

6. Projekti raames tehtud Eestisisene ja rahvusvaheline koostöö

Projekti raames on toimunud edukas koostöö mitmete 'Põllumajanduslikud rakendusuuringud ja arendustegevus aastatel 2009-2014' raames täidetavate projektidega ('Poegimisjärgse endometriidi süvauuringud lüpsilehmadel - diagnostiliste meetmete rakendamine ja ravimetoodika efektiivsus'. Projekti juht Kalle Kask; 'Suguselekteeritud sperma kasutamine soovitud soost järglaste saamiseks veistel ning sigimishäirete ravikatsed / Suguselekteeritud sperma kasutamine soovitud soost järglaste saamiseks, innatsükli reguleerimine ja suguorganite patoloogiad veistel'. Projekti juht Ülle Jaakma), samuti mitmete teiste EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudis läbiviidud ja käesoleva teemaga seotud projektidega (VLI söötmissosakonnas läbiviidud projektid).

Eestisisese koostöö korras uurisime intensiivsetes pidamistingimustes peetavate lehmade munasarjade funktsiooni ja sigivust mõjutavaid faktoreid, samuti endometriitide diagnoosimismeetodite rakendamist ja ravimetoodika efektiivsust

Koostöö korras analüüsisime progesteroonisisaldust ja kaardistasime katselehmade munasarjafunktsiooni eelnimetatud projektides läbiviidud uuringute tarvis. Samuti viisime läbi lehma emaka tsütouuringud projekti 'Poegimisjärgse endometriidi süvauuringud lüpsilehmadel - diagnostiliste meetmete rakendamine ja ravimetoodika efektiivsus' katselehmadel.

Ühisuuringute tulemusena leiti, et erineva söötmise ja piimatoodangu tasemega farmidesse kuuluvatel eesti holsteini tõugu multipaarsetel lehmadel oli ligi 50%-l uuritud laktatsioonidest (n=110) munasarjafunktsiooni häireid. Peamiseks munasarjafunktsiooni häireks oli pikenenud anovulatoorne periood, mille esinemus mõlema farmi lehmadel oli sarnane, vastavalt 25% ja 28%. Tähtsuset teiseks munasarjafunktsiooni häireks oli kõrgema piimatoodangu ja parema söötmise tasemega farmi lehmadel pikenenud luteaalfaas (15,4%), seevastu madalama söötmise taseme ja piimatoodanguga farmi lehmadel ovariaalsükli katkemine (15,4%). Statistiliselt olulised erinevused vere metaboliitide (ketokehade, NEFA, üldkolesterool) ja piimakomponentide (piima rasvasisaldus ning piimarasva ja piimavalgu suhe) sisalduses ning kehakonditsioonis viitasid sügavamale negatiivsele energiabilansile madalama söötmise taseme ja piimatoodanguga farmi lehmadel. Vaatamata esimese poegimisjärgse kuu negatiivse energiabilansi erinevustele farmiti, pikenenud anovulatoornise perioodi esinemissageduses erinevusi ei leitud. Samuti ei avaldanud munasarjafunktsiooni hiline taastumine mõõduka negatiivse energiabilansi tingimustes negatiivset mõju eesti holsteini tõugu lehmade sigivusele. Leiti, et kõrgem ketokehade sisaldus multipaarsetel lehmadel enne poegimist oli seotud lühema ajavahemikuga poegimisest kuni esimese normaalse innatsüklini. Normaalse munasarjafunktsiooniga lehmadega võrreldes oli pikenenud anovulatoorse perioodiga lehmadel tõusnud aspartaadi aminotransferaasi aktiivsus, madalam piima rasvasisaldus ja kõrgem piima rasva/valgu suhe. Nende uuringute huvitavaks tulemuseks oli leida, et munasarjade funktsiooni hiline taastumine mõõduka negatiivse energiabilansi tingimustes ei avaldanud negatiivset mõju lehmade sigivusele. Enamus seni avaldatud uuringutest väidab vastupidist.

Leiti, et pärmikultuuri *Saccaromyces cerevisiae* (Yea-Sacc 1026) söötmine lehmadele ei mõjutanud luteaalfunktsiooni taastumist poegimisjärgselt.

Emakapõletike diagnoosimise bakterioloogilise ja tsütoloogilise uuringu võrdlus tuvastas, et tsütouuring on tundlikum emaka endomeetriumi põletikulise seisundi hindamiseks, võrreldes bakterioloogilise uuringuga.

Koosöö tulemusena kaitses Jaak Samarütel doktoritöö " Relationships between energy balance estimates, luteal activity and fertility in Estonian Holstein cows" . A thesis for applying for the degree of Doctor of Philosophy in Animal Science, Eesti Maaülikool, Tartu 2009. (juhendajad) Olav Kärt, Andres Valdmann, Katri Ling.

Projekti raames Eestisese koosöö tulemusena ilmunud publikatsioonid

Jeremejeva, J.; Orro, T.; Valdmann, M.; Kask, K. (2010). Bacteriological and cytological findings during the late post-partum period after two different treatments of retained placenta followed by acute puerperal metritis. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52, 41

Jeremejeva, J.; Orro, T.; Waldmann, A.; Lindjärv, R.; Kask, K. (2010). Effect of two different treatments on the clinical signs and inflammatory parameters in case of experimentally induced acute puerperal metritis in dairy cows. *Veterinarija ir Zootechnica*, 52, 50 - 58.

Samarütel, Jaak; Jaakson, Hanno; Ling, Katri; Waldmann, Andres; Kaart, Tanel; Ilves, Aire; Kärt, Olav (2010). A Study on Glucose-induced Insulin Response and Time of Onset of Luteal Activity in Dairy Cows. Geert Opsomer (Toim.). *Book of Proceedings. 14th International Conference on Production Diseases in Farm Animals (28 - 29)*. Ghent: University Press.

Kalmus, P.; Orro, T.; Waldmann, A.; Lindjärv, R.; Kask, K. (2009). Effect of yeast culture on milk production and metabolic and reproductive performance of early lactation dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51, 32

Samarütel, J.; Waldmann, A.; Ling, K.; Jaakson, H.; Kaart, T.; Leesmäe, A.; Kärt, O. (2008). Relationships between luteal activity, fertility, blood metabolites and body condition score in multiparous Estonian Holstein dairy cows under different management. *Journal of Dairy Research*, 75, 485 - 490.

Samarütel, J.; Ling, K.; Waldmann, A.; Jaakson, H.; Kaart, T.; Leesmäe, A. (2008). Field Trial on Progesterone Cycles, Metabolic Profiles, Body Condition Score and their Relation to Fertility in Estonian Holstein Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(4), 457 - 463.

Ling, K.; Waldmann, A.; Samarütel, J.; Jaakson, H.; Kaart, T.; Leesmäe, A. (2007). Field trial on the relation of blood metabolites and body condition score to the recurrence of luteal activity in Estonian Holstein cows. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine*, 54(7), 337 - 341.

Rahvusvaheline koostöö

Rahvusvaheliselt tehti koostööd Norra Loomaarstiteaduste Kõrgkooliga (Prof. Erik Ropstad, prof. Olav Reksen, prof. Knut Karlberg), Norra tõuaretusfirmaga GENO (Dr Arne-Ola Refsdal, dr. Guro Sveberg), Cornelli Ülikooliga (Prof. Ronald W. Butler) ja Aarhusi Ülikooliga (dr. Torben Larsen). Norra Loomaarstiteaduste Kõrgkoolis ja Cornelli Ülikoolis kasutatakse koostöö korras meie poolt väljatöötatud piima progesteroonisisalduse määramise EIA meetodikat (Waldmann, 1999), mille abil uuriti holsteini tõugu, norra punast tõugu,

herefordi tõugu lehmade ning seebu lehmade sigivust. Prof. Olav Reksen on doktorant Gret-Kristel Mällo doktoridissertatsiooni kaasjuhendaja.

Norras on meie poolt väljatöötatud metoodikat kasutades läbi viidud 3 projekti:

1) Post partum reproductive performance of Zebu Cattle under a traditional pastoral management system.

2) Pregnancy rate and reproductive losses in Norwegian Cattle.

3) Post partum reproductive performance of Norwegian beef cattle.

Käimas on projekt 'A study of oestrus symptoms in Norwegian Cattle'.

Lehma emakapõletike diagnostika ja riskitegurite kindlakstegemisel teeme koostööd Aarhuse Ülikooliga Taanis (Dr. Torben Larsen) ja Norra Loomaarstiteaduste Kõrgkooliga (Prof. Knut Karlberg). Meie poolt väljatöötatud tsütomaterjali võtmise riistastikku kasutatakse koostöö korras Norra Loomaarstiteaduste Kõrgkoolis ja Aarhuse Ülikoolis.

Alates 2007. aastast teeme projekti raames koostööd Cornelli Ülikooliga USA-s.

Rahvusvahelise koosöö tulemusena kaitstud doktoritöö

Rahvusvahelise koosöö tulemusena kaitses Randi Therese Garmo doktoritöö "The Significance of Sustainable Breeding and Management Programs on Reproductive Performance in Norwegian Red Cows". Thesis for the Doctor Medicinæ Veterinariæ. Norwegian School of Veterinary Science, Oslo 2010. Randi Therese Garmo doktoridissertatsioonis on kõik munasarjafunktsiooni hormonaaluuringud läbi viidud Andres Valdmanni poolt väljatöötatud piima progesteroonisisalduse määramise EIA meetodi abil.

Rahvusvahelise koosöö tulemusena ilmunud publikatsioonid

Sveberg, G.; Refsdal, A.O.; Erhard, H.W.; Kommisrud, E.; Aldrin, M.; Tvette, I.F.; Buckley, F.; Waldmann, A.; Ropstad, E. (2011). Behavior of Lactating Holstein Friesian Cows during Spontaneous Cycles of Estrus. *J Dairy Sci.* 94, 1289–1301.

Martin, A.D.; Lystad, M.L.; Reksen, O.; Ropstad, E.; Waldmann, A.; Nafstad, O.; Karlberg, K. (2010). Assessment of progesterone profiles and postpartum onset of luteal activity in spring calving Hereford beef suckler cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(42), 1 - 8.

Garmo, R. T.; Martin, A.D.; Thuen, E.; Havrevoll, Ø.; Steinshamn, H.; Prestløkken, E; Randby, Å.; Eknæs, M; Waldmann, A.; Reksen, O. (2009). Characterization of progesterone profiles in fall-calving Norwegian Red cows. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 4919 - 4928.

Garmo, R. T.; Ropstad, E.; Havrevoll, Ø.; Thuen, E.; Steinshamn, H.; Waldmann, A.; Reksen, O. (2009). Commencement of luteal activity in three different selection lines for milk yield and fertility in Norwegian Red cows. *Journal of Dairy Science*, 92(5), 2159 - 2165.

Garmo, R.T.; Martin, A.D.; Waldmann, A.; Reksen, O. (2009). Characterization of progesterone profiles in Norwegian Red cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(s3), 78 - 78.

Garmo, R.T.; Refsdal, A.O.; Karlberg, K.; Ropstad, E.; Waldmann, A.; Beckers, J.F.; Reksen, O. (2008). Pregnancy incidence in Norwegian Red cows as estimated by non-return to estrus, rectal palpation, and analyses of pregnancy associated glycoproteins and progesterone. *J Dairy Sci.* 91, 3025-3033.

Matiko, M.K.; Kanuya, N.L.; Waldmann, A.; Ropstad, E.; Reksen, O. (2008). Environmental constraints on post partum ovarian activity in Tanzanian Zebu cows. *Theriogenology*, 69, 896 - 904.

Garmo, R.T.; Ropstad, E.; Waldmann, A.; Reksen, O. (2008). Assessment of luteal activity in three different selection lines for milk yield in the Norwegian Red breed. *Reproduction in Domestic Animals*, Volume 43, Issue s3, 41-42.

Martin, A.D.; Karlberg, K.; Lystad, M.L.; Ropstad, E.; Waldmann, A.; Reksen O. (2008). Accuracy of ovarian palpation in purebred beef cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, Volume 43, Issue s5, 98 – 98.

Martin, A.D.; Karlberg, K.; Ropstad, E.; Reksen, O.; Waldmann, A.; Lystad, M.L. (2007). The Reproductive Performance of Hereford Cattle Using Milk Progesterone Analysis. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(s2), 116

Garmo, R.T.; Refsdal, A.O.; Karlberg, K.; Ropstad, E.; Waldmann, A.; Reksen, O. (2007). Reproductive Performance in Norwegian Dairy Cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(s2), 75.

7. Rahvusvaheliste konverentside, koolituste ja kursuste korraldamine

XIII rahvusvahelise loomatervishoiu kongressi (XIII International Congress in Animal Hygiene) korraldamine 17. – 21. juuni 2007 Tartu. Andres Aland peorganisator; Toomas Tiirats, Andres Valdmann ja Merle Valdmann organiseerimiskomitee liikmed.

Kongressist võttis osa 290 delegaati 37 maailma riigist (sh Eesti). Satelliitseminaril osales lisaks kohale saabunud registreerunud osalejatele 35 Eestis praktiseerivat loomaarsti. Satelliitseminari ettekanded sünkroontõlgiti eesti keelde. Kokku esitati kongressil 16 plenaarloengut, 86 suulist ning 98 stendiettekannet. Kongressi mitmete plenaarettekannete ning paralleelsessioonide temaatika oli tihedalt seotud käesolevas uurimistöös käsitletavaga.

Rahvusvahelise doktoriõppe suvekooli „Reproductive challenges facing today’s dairy industry” korraldamine 24.-28. mai 2010 Tartu. Andres Valdmann vastutav korraldaja. Kursust kaasfinantseeris Põllumajandusministeerium Riikliku programmi "Põllumajanduslikud rakendusuuringud ja arendustegevus aastatel 2009-2014" käesoleva projekti abil. Kursusel analüüsiti kõrgetoodanguliste lüpsilehmade sigivuse languse põhjuseid, käsitleti söötmise ja ainevahetuse seoseid sigivusega, emaka tervishoidu, inna avastamist, sigivuse majandamist ning sigivusega seotud tõuaretuslike küsimusi. Õppejõududeks olid kutsutud vastava valdkonna maailma tippteadlased, kelle teadustulemused on fundamentaalse tähtsusega; Prof. W. Ronald Butler Cornelli Ülikoolist (USA), prof. Geert Opsomer Genti Ülikoolist (Belgia), dr. Frank van Eerdenburg Utrechti Ülikoolist (Madalmaad), prof. Robert Gilbert Cornelli Ülikoolist (USA), prof. D. Claire Wathes Kuninglikust Veterinaarkolledzist (Inglismaa), Dr. Nicolas Friggens Prantsuse Rahvuslikust Põllumajandusuuringute Keskusest (INRA), prof. Britt Berglund Rootsi Põllumajandusülikoolist. Eesti Maaülikoolist esinesid koolitusel ettekannetega prof. Ülle Jaakma, dots. Kalle Kask ja prof. Andres Valdmann. Lisaks õppejõududele olid ettekanded ka kõigil kursusel osalenud doktorantidel, andes sellega hea ülevaate Taanis, Norras, Rootsis, Soomes, Venemaal, Lätis ja Eestis lehmade sigimise valdkonnas tehtavast uurimistööst ja lahendamist vajavatest probleemidest. Praktilise õppuse farmis viis läbi dr. Frank van Eerdenburg.

Kursus praktiseerivatele loomaarstidele 'Lehmade sigivus ja tervis' 10. juuni 2010, EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut. Korraldaja Andres Valdmann, lektorid emeriitprofessor Hilary Dobson, Liverpooli Ülikool ja dr. Sara Pedersen Boehringer-Ingelheim, UK.