

Eesti Maaülikool

**SUGUSELEKTEERITUD SPERMA KASUTAMINE SOOVITUD  
SOOST JÄRGLASTE SAAMISEKS, INNATSÜKLI  
REGULEERIMINE JA SUGUORGANITE PATOLOOGIAD  
VEISTEL**

Projekti juht: Ülle Jaakma  
Projekti täitjad: Mihkel Jalakas  
Jevgeni Kurõkin  
Lembit Majas  
Andres Valdmann  
Peeter Padrik  
Madis Aidnik  
Triin Hallap

Tartu, 2011

## PROJEKTI LÕPPARUANNE<sup>5</sup>

**1. PROJEKTI NIMETUS: Suguselekteeritud sperma kasutamine soovitud soost järglaste saamiseks, innatsükli reguleerimine ja suguorganite patoloogiad veistel**

**2. PROJEKTI NIMETUS INGLISE KEELES: Application of sexed semen for production of female offspring, regulation of estrous cycle and pathology of reproductive organs in bovine**

**3. PROJEKTI KESTUS**

**Algus:**  
2006

**Lõpp:**  
2010

### **4. PROJEKTI LÕPPARUANDE LÜHIKOKKUVÕTE:**

Käesoleva projekti põhieesmärk oli välja selgitada suguselekteeritud sperma kasutamise efektiivsust mõjutavad tegurid nii mullikatel kui ka lehmadel, võimaldamaks teaduslikult põhjendatud suguselekteeritud sperma rakendamist Eesti piimakarjades. Lisaks sellele uuriti innatsükli reguleerimise küsimusi, sh selgitati GnRH preparaatide efektiivsust tiinestuse tõstmisel ovulatsiooni esilekutsumise ja kiirendamise kaudu ning anti ülevaade Eesti karjades esinevatest ja mullikate sigimisvõimet ohustavatest suguorganite patoloogiatest. Töö teiseks eesmärgiks oli spermide sorteri soetamine ja sperma suguselekteerimise alustamine Eestis.

Uurimistöö tulemusena selgitati välja põhilised tegurid, millest suguselekteeritud spermaga seemenduse efektiivsus sõltub ja saadud teadmiste põhjal töötati välja praktilised soovitud suguselekteeritud sperma kasutamiseks. Spermide suguselekteerimise alustamiseks Eestis peeti läbirääkimisi patenti omava USA firmaga, kuid kahjuks ei olnud võimalik lepingut sõlmida Eestile ebasoodsate litsentsitingimuste tõttu.

Uurimistöö järeldustest märgime, et maksimaalse tulemuse saamiseks soovitame suguselekteeritud spermata kasutada spontaanselt indlevatel mullikatel ning sünnituse ja poegimisjärgse järgu tüsistusteta lehmadel, samuti ka rektaalsel uurimisel mittetiinestunud tervetel lehmadel. Suguselekteeritud sperma tasub kasutada vaid farmides, kus sigimisolukord on hea. Suguselekteeritud spermata tuleks kasutada tugevate innatunnustega loomadel. Loomade tiinestumisel suguselekteeritud spermaga ilmnesevad erinevused pullide vahel. Keskmiselt saadakse suguselekteeritud spermaga 90% lehmikuid.

Poegimisjärgselt innatute lehmade inna stimuleerimine OvSynch skeemi rakendades annab häid tulemusi 2/3 lehmadest. Lehmullikatest ei osutunud erinevate sigimiselundite patoloogiate tõttu seemenduskõlblikuks 2-4,5%. Kõiki olulisi patoloogiaid on meie töödes kirjeldatud.

Kokku on ilmunud 18 publikatsiooni, töö tulemusi on tutvustatud õppepäevadel, seemendustehnikute kursustel ja konverentsidel.

### **5. LÜHIKOKKUVÕTE INGLISE KEELES :**

The main objectives of the project were 1) development of knowledge based methods for the production of dairy offspring of desired sex using insemination of heifers and cows with sexed semen; 2) providing veterinarians with the descriptions of rare pathologies of reproductive organs in heifers and recommendations for the field veterinarians.

We have succeeded to determine several factors influencing efficiency of insemination of dairy heifers and cows with sexed semen. According to the strategic plans, we also negotiated with the patent holder about initiation of sperm sexing in Estonia. However, due to the unfavourable licencing conditions, we did not reach an agreement.

As a result of the research work, we have elaborated practical recommendations for the farmers in order to achieve high pregnancy rates with sexed semen. We recommend to use sexed semen in heifers and healthy dairy cows (without problems at calving and during the post-partum period; or diagnosed as non-pregnant after the insemination) at spontaneous estrus, and only on the farms where the reproductive status is good. The animals with strong estrous signs should be selected for the inseminations with sexed semen. The significant bull differences are

expected in pregnancy rates with sexed sperm.

OvSynch method was effective for the estrus stimulation in 2/3 of anoestrous cows. OvSynch method combined with the insemination with sexed semen was effective in repeatedly inseminated cows.

We revealed that 2-4.5% of dairy heifers are unacceptable for the insemination due to different pathologies of reproductive organs. All the pathologies of reproductive organs were recorded and described.

The results of our studies were introduced to the farmers, veterinarians and AI technicians on the extension courses and published in scientific journals.

## 6. TEEMA RAAMES ILMUNUD PUBLIKATSIOONID:

### 2010

1. **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]
2. **Jalakas, Mihkel; Kurõkin, Jevgeni; Valdmann, Andres; Jaakma, Ülle,** 2010: Lehmade tiinestamine suguselekteeritud spermaga. Terve loom ja tervislik toit, Tartu, 08.04.2010–09.04.2010. Tartu: Eesti Maaülikool, 2010, 25–27.
3. **Ü Jaakma, J Kurykin, M Jalakas, L Majas, T Kaart.** Pregnancy Rates in Estonian Holstein Heifers after Insemination with Sexed Sperm. 37th Annual Conference of IETS, January 8-12, 2011, Orlando

### 2009

1. **Jalakas, M., Kurõkin, J., Jaakma, Ü.** Gonadoliberiini preparaate ja prostaglandiin F2 $\alpha$  kombineeritud rakendamine lehmade innatsükli stimuleerimiseks (sünkroniseerimiseks). Piimafoorum 2009, Tallinn: Eesti Põllumajandus-Kaubanduskoda, 31-32.
2. **J. Kurõkin, M. Jalakas, L. Majas, M. Aidnik, Ü. Jaakma.** Suguselekteeritud spermaga seemendamise efektiivsus mullikatel. Teadmiste ja tehnoloogiapäev Terve loom ja tervislik toit. Tartu, 2009. <http://vl.emu.ee/orb.aw/class=file/action=preview/id=455514/Kurokin.pdf>
3. **M. Jalakas, J. Kurõkin, E. Järv, Ü. Jaakma.** Holsteini lehmikute suguorganite kaasasündinud patoloogiad. Teadmiste ja tehnoloogiapäev Terve loom ja tervislik toit. Tartu, 2009. <http://vl.emu.ee/orb.aw/class=file/action=preview/id=455515/Jalakas.pdf>
4. **Jaakma Ü.** Embrüotehnoloogia areng Eestis. Maamajandus, 2009, 8 (196), 28-32.

### 2008

1. **Jalakas, M., Kurõkin, J., Järv, E.,** 2008: Suguorganite kaasasündinud patoloogiad lehmullikatel, Piimafoorum 2008, Tallinn: Eesti Põllumajandus-Kaubanduskoda, 21-22.
2. **Padrik P, Hallap T,** Januskauskas A, **Jaakma Ü.** Quality of Frozen/Thawed Bovine Semen Tested with Common AI Lab Tests or Flow Cytometry. Book of Abstracts of the 16th ICAR, 13-17 July, 2008, Budapest. *Reproduction in Domestic Animals*, vol 43, July 2008, supplement 3, page 180.

### 2007

1. **Kurykin, J., Ü. Jaakma, M. Jalakas, M. Aidnik, A. Waldmann and L. Majas.** Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers. *Theriogenology*. 2007, 67(4), 754-759.
2. **Jalakas, M.,** 2007: Veisest minevikus, olevikus, tulevikus. – Eesti Vabariigi teaduspreemiad 2007. R. Villems (vastutav toimetaja). Tallinn: Eesti Teaduste Akadeemia Kirjastus, 106–125.
3. **Jaakma Ü., Jalakas, M., Kurõkin, J., Majas, L.** Suguselekteeritud spermaga seemendustulemused Eestis. Piimafoorum 2007 Tallinn: Eesti Põllumajandus-Kaubanduskoda, 19-20.
4. **Padrik, P.,** Januskauskas, A., **Jaakma, Ü.** Estimation of Spermatozoa Quality in Relation to Fertility in Dairy AI Bulls. Proceedings of the 11th annual meeting of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Celle, September 21-22, 2007. *Reproduction in Domestic Animals*, 42, 2007.

### 2006

1. **Kurykin J, Waldmann A, Jaakma Ü, Aidnik M, Majas L, Jalakas M, Padrik P.** Low semen dose intracornal insemination of cows at fixed time after PGF2 $\alpha$  treatment or at spontaneous estrus. *Animal Reproduction Science*, 2006, 95, 116-124.
2. Waldmann A., **Kurykin J., Jaakma Ü.,** Kaart T., **Aidnik M., Jalakas M., Majas L., Padrik P.** The effects of ovarian function on estrus synchronization with PGF in dairy cows. *Theriogenology* 66 (2006) 1364–1374.
3. **Jalakas, M.** Veise tiinuse ja sünnituse patoloogia. Tartu, Eesti Maaülikool. Halo Kirjastus, 2006. 373 lk. ISBN-10 9985-9679-4-1, ISBN-13 978-9985-9679-4-2.

4. **Kurykin J, Jaakma Ü, Jalakas M, Aidnik M, Waldmann A, Majas L.** Deposition of sexed semen at different sites in the uterus at a fixed time and pregnancy rate in heifers. *Reproduction in Domestic Animals* 2006;41;213.
5. **Jaakma Ü.** Veiste viljakuse probleemid vajavad teadlaste tähelepanu. Kogumik "Eesti vabariigi teaduspreemiad 2006". Tallinn, OÜ Infotrükk, Eesti Teaduste Akadeemia, 2006, lk. 84-93. ISSN 1406-2321.

<b>Projekti juht (ees- ja perekonnanimi):</b> Ülle Jaakma	<b>Allkiri:</b>	<b>Kuupäev:</b>
<b>Taotleja esindaja kinnitus aruande õigsuse kohta (ees- ja perekonnanimi):</b> Toomas Tiirats	<b>Allkiri:</b>	<b>Kuupäev:</b>

Projekti lõpparuande täitmise juhend on kättesaadav Põllumajandusministeeriumi koduleheküljel <http://www.agri.ee>

## SUGUSELEKTEERITUD SPERMA KASUTAMINE SOOVITUD SOOST JÄRGLASTE SAAMISEKS, INNATSÜKLI REGULEERIMINE JA SUGUORGANITE PATOLOOGIAD VEISTEL

### SISSEJUHATUS

Maailmas pööratakse intensiivset tähelepanu kunstliku seemenduse tehnoloogiate edasiarendusele. Viimase 10 aasta jooksul jõuti maailmas soovitud sugu järglaste saamise probleemi esimeste reaalselt praktiliste lahendusteni, kasutades X- ja Y- kromosoomi sisaldavate spermide lahutamist rakusorteriis (Garner et al., 1983; Johnson et al., 1987; Johnson, 2000). X- kromosoomi kandvate spermide kasutamine kunstlikul seemendusel võimaldab suurendada piimakarja taastootmiseks vajalike lehmikute arvu ja kiirendada geneetilist progressi (Hohenboken, 1999). Siiski tuleb märkida, et spermide sorteerimise kiirus oli ja on tehnoloogiliselt piiratud ning tavalise spermide arvuga seemendusdooside tootmine majanduslikult ebaefektiivne. Seetõttu moodustab suguselekteeritud spermide arv seemendusdoosis ainult 2 miljonit tavalise 15-20 miljoni spermi asemel (Amann, 1999; Seidel et al., 1999). Suguselekteeritud sperma kasutuselevõtul täheldati tiinestuse langust, mille põhjuseks võib-olla väiksem spermide arv doosis või nende madalam viljastus- ja eluvõime suhteliselt invasiivse sorteerimisprotseduuri tulemusena. Seetõttu soovitati suguselekteeritud spermaga seemendada eeskätt mullikaid, kelle tiinestumine on kõrgem kui piimalehmadel (DeJarnette et al., 2008; DeJarnette et al., 2009; Schenk et al., 2009). Samas on aretajatel põhjendatud huvi kasutada suguselekteeritud spermat ka hea jõudluse ja hea tervisega lehmadel, intensiivistamiseks valikut emasloomade hulgas karja järelkasvu planeerimisel.

Suguselekteeritud sperma rakendamise praktiliste aspektide uurimiseks kavandati käesolev projekt, mille **põhieesmärk** oli selgitada suguselekteeritud sperma kasutamise efektiivsust mõjutavad tegurid nii mullikatel kui ka lehmadel, võimaldamaks teaduslikult põhjendatud suguselekteeritud sperma rakendamist Eesti piimakarjades. Lisaks sellele uuriti innatsükli reguleerimise küsimusi, sh selgitati GnRH preparaatide efektiivsust tiinestuse tõstmisel ovulatsiooni esilekutsumise ja kiirendamise kaudu. Töö käigus uuriti tuhandeid loomi, mis võimaldas saada hea ülevaate ka Eesti karjades esinevatest ja sigimisvõimet ohustavatest suguorganite patoloogiatest. Töö **teiseks eesmärgiks** oli spermide sorteri soetamine ja sperma suguselekteerimise alustamine Eestis.

## RAKENDUSUURINGU TULEMUSED

### Suguselekteeritud sperma kasutamine soovitud soost järglaste saamiseks

#### 1. Mullikate tiinestamine suguselekteeritud spermaga

##### *Materjal ja meetodika*

Uuringud viidi läbi 3206 holsteini tõugu mullikal seitsmes piimatootmisettevõttes. Mullikate vanus oli 11-16 kuud, kehamass 320-550 kg. Kolmes farmis olid mullikad vabapidamisel ja neljas farmis lõas. Seemendamiseks kasutati 10 erineva pulli suguselekteeritud ja tavaspermat. Spermide arv suguselekteeritud spermide seemendusdoosis oli 2,2 miljonit ja tavasperma doosis 15 miljonit. Seemendused viidi läbi järgmiselt: 1) fikseeritud ajal pärast mullikate inna sünkroniseerimist kahe prostaglandiini ( $\text{PGF}_2\alpha$ ) injektsiooniga, 2) spontaanse inna ajal ja 3) ühekordse  $\text{PGF}_2\alpha$  süstiga esilekutsustud inna ajal. Seemendusel kasutati sperma paigutamist emakakehasse e. tavaseemendust (sünkroniseeritud ja spontaanse inna ajal) ja süva- ehk intrakornuaalset seemendust (sünkroniseeritud inna korral).

Sünkroniseeritud innaga mullikad seemendati fikseeritud ajal, 80-82 tundi pärast teist  $\text{PGF}_2\alpha$  injektsiooni ühe doosi suguselekteeritud või selekteerimata spermaga ja süvaseemendusel suguselekteeritud spermaga. Spontaanse ja ühe prostaglandiini-injektsiooniga esilekutsustud inna avastamiseks jälgiti mullikad neli korda päevas. Seemendused suguselekteeritud spermaga viidi läbi 12 tundi pärast inna avastamist ja selekteerimata spermaga tavakorras, 6-8 tundi pärast inna avastamist.

Seemenduste ajal registreeriti järgmiste innatunnuste intensiivsus: tupeesiku turse ja limaskesta hüperemia, limavool tupest ja emakakaela läbitavus seemenduskateetriga. Kui mullikal esines nendest tunnustest vähemalt kaks ja emakakaela läbimine oli kerge, loeti innatunnused tugevaks. Mullikad seemendati sõltumata innatunnuste tugevusest.

Suguselekteeritud sperma kõrred sulatati vees  $37^\circ\text{C}$  juures 40 sekundi jooksul ja tavasperma  $35^\circ\text{C}$  juure 15 sekundi jooksul. Tavaseemendus tehti seemenduskateetriga ja süvaseemendusel kasutati embrüosiirdamiskateetrit. Tiinus diagnoositi rektaalse palpeerimise abil 45-60 päeval pärast seemendust.

Andmete statistiliseks analüüsiks kasutati SAS tarkvara (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 1999). Kõik leitud erinevused loeti statistiliselt usutavaks kui p väärtus oli alla 0,05.

##### *Uurimistulemused*

#### a. Mullikate tiinestumine erinevate seemendusprotokollide korral.

Üldiselt oli suguselekteeritud spermaga seemendamise järel mullikate tiinestumine madalam, võrreldes tavaspermaga, moodustades 80-90% tavaspermaga seemenduse järgsest tiinestumisest (Tabelid 1 ja 2). Kuna suguselekteeritud sperma kasutamisel ei mõjutanud tiinestust sperma

paigutamise koht ( $p>0,05$ ), siis edasistes katsetes süvaseemendusest loobuti. Katseandmete analüüsil nende kahe grupi (sperma paigutatud emakasarve või emakakehasse) tiinestustulemused summeeriti. Nii suguselekteeritud kui ka tavaspermaga seemendatud mullikate tiinestus oli spontaanse inna korral kõrgem kui prostaglandiiniga indutseeritud inna korral ( $p<0,05$ , Tabel 2).

**Tabel 1. Sünkroniseeritud innaga mullikate tiinestumine suguselekteeritud ja tavaspermaga tava- ja süvaseemendamise järel.**

Paigutamise koht	Suguselekteeritud sperma		Tavasperma		Sugusel. vs tavasperma <i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Emaka keha	281	43,3% <sup>a</sup>	532	53,9% <sup>a</sup>	0,005
Emaka sarv	118	43,8% <sup>a</sup>	148	64,7% <sup>b</sup>	0,001
Kokku	399	43,4%	680	56,3%	<0,001

*n* – seemendatute arv; % – tiinestumine;

<sup>ab</sup> – samas veerus ülaindeksis sama tähte omavad tiinestumise protsendid ei ole statistiliselt oluliselt erinevad ( $p>0,05$ ).

**Tabel 2. Sünkroniseeritud, spontaanse ja prostaglandiiniga esile kutsutud innaga mullikate tiinestumine suguselekteeritud ja tavaspermaga seemendamise järel.**

Ind	Suguselekteeritud sperma		Tavasperma		Sugusel. vs tavasperma <i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Sünkroniseeritud	399	43,4% <sup>a</sup>	680	56,3% <sup>a</sup>	<0,001
Spontaanne	1129	55,5% <sup>b</sup>	529	67,0% <sup>b</sup>	<0,001
Indutseeritud	185	46,9% <sup>a</sup>	284	58,3% <sup>a</sup>	0,018

*n* – seemendatute arv; % – tiinestumine;

<sup>ab</sup> – samas veerus ülaindeksis sama tähte omavad tiinestumise protsendid ei ole statistiliselt oluliselt erinevad ( $p>0,05$ ).

Sünkroniseeritud innaga mullikate tiinestus suguselekteeritud spermaga seemendamisel fikseeritud ajal, 80-82 t pärast teist PGF<sub>2</sub>α injektsiooni oli madalam seemendustulemusest spontaanse inna ajal ( $p<0,05$ ), kuid ei erinenud oluliselt prostaglandiiniga indutseeritud inna ajal tehtud seemenduse järgsest tiinestumisest ( $p>0,05$ ). Võimalik, et sünkroniseeritud loomade seemendus ei toimunud ovulatsiooni suhtes optimaalsel ajal. On teada, et prostaglandiini abil on võimalik sünkroniseerida küll inna algust, kuid mitte ovulatsiooni. Ka tavasperma puhul oli tiinestus spontaanse inna ajal tehtud seemenduse järel kõrgem kui indutseeritud ja sünkroniseeritud inna ajal, mis annab tunnistust võimalikust hormonaalsest imbalansist prostaglandiini manustamise järgselt.

### b. Tiinestumise seos innatunnuste tugevusega suguselekteeritud spermaga seemendamisel

Sünkroniseeritud ja indutseeritud innaga mullikate tiinestumine suguselekteeritud spermaga seemendamisel oli tugevalt väljendunud inna puhul oluliselt kõrgem kui nõrga inna korral ( $p < 0.05$ , Tabel 3). Ka sünkroniseeritud ja indutseeritud innaga mullikate tavaspermaga seemendamisel oli tugevate innatunnuste korral tiinestumine kõrgem ( $p < 0.05$ ), võrreldes nõrgalt indlevate loomadega, ehkki vahe tiinestumises ei olnud nii suur kui suguselekteeritud sperma puhul. Kõige väiksem tiinestuse vahe, sõltuvalt innatunnuste tugevusest (kuid siiski statistiliselt oluline), oli spontaanse inna ajal tehtud suguselekteeritud ja tavaspermaga tehtud seemenduste korral.

Meie uuringus selgus, et intensiivselt väljendunud tupeesiku turse, hüperemia ja selge limavoolu üheaegne esinemine on heaks kriteeriumiks suguselekteeritud spermaga seemendamisel.

**Tabel 3. Mullikate tiinestumine suguselekteeritud ja tavaspermaga seemendamise järel sõltuvalt innatunnuste tugevusest.**

Ind	Inna tugevus	Suguselekteeritud sperma		Tavaline sperma		Sugusel. vs tvasperma <i>p</i>
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Sünkroniseeritud	Tugev	332	47,8%	443	61,0%	<0,001
	Nõrk	67	23,4%	237	47,2%	<0,001
Spontaanne	Tugev	682	57,9%	304	70,8%	<0,001
	Nõrk	447	51,5%	225	61,2%	0,017
Indutseeritud	Tugev	127	59,1%	186	64,5%	0,323
	Nõrk	58	20,7%	98	45,9%	0,383

*n* – seemendatute arv; % – tiinestumine.

### c. Pulli mõju mullikate tiinestumisele suguselekteeritud spermaga seemendamisel

Mullikate tiinestumine kolme pulli (BCr, CDt and JRt) suguselekteeritud spermaga seemendamise järel ei erinenud ( $p > 0,05$ ) tiinestumisest samade pullide tavaspermaga seemendamise järel (Tabel 4). Üllatusena andis ühe pulli suguselekteeritud sperma (FDx) kõrgema tiinestumise, võrreldes tavaspermaga ( $p = 0,027$ ). Ülejäänud pullide korral oli tiinestumine suguselekteeritud spermaga seemendusest madalam kui tavaspermaga seemendusest - kolme pulli (BCr, ECt ja JRt) puhul kuni 10% madalam võrreldes nende tavaspermaga, teiste puhul aga 14-23%.



Tulemused näitavad, et sugupoole järgi sorteerimine ja külmutamine avaldavad erinevate pullide spermidele erineval määral kahjustavat toimet. Seetõttu pole suguselekteeritud spermaga seemendamisel tiinestumine ilma sperma kvaliteedianalüüsi tegemata prognoositav.

**Tabel 4. Mullikate tiinestumine erinevate pullide suguselekteeritud ja tavaspermaga seemendamise järgselt.**

Pull	Suguselekteeritud sperma		Tavaline sperma		Sugusel. vs tavasperma <i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
APr	55	45,5%	296	62,2%	0,021
BCr	63	42,9%	200	52,0%	0,203
CDt	54	35,2%	46	52,2%	0,082
DDr	59	42,4%	66	62,1%	0,022
ECt	477	57,9%	207	68,1%	0,009
FDx	385	60,3%	50	44,0%	0,027
HMs	144	44,4%	239	58,6%	0,006
INn	156	42,9%	150	66,0%	<0,001
JRt	167	53,9%	123	62,6%	0,140
KBt	153	40,5%	116	56,0%	0,010

*n* – seemendatute arv; % – tiinestumine

#### **d. Mullikate pidamisviisi, vanuse ja kehakaalu seos tiinestumisega suguselekteeritud spermaga seemendamisel**

Mullikate tiinestumine erines farmide vahel (Tabel 5). Vaatamata asjaolule, et kõik sünkroniseeritud innaga mullikate suguselekteeritud spermaga seemendused teostati ühe seemendaja poolt, oli tiinestumine kahes farmis madalam ( $p < 0.05$ ), võrreldes tiinestumisega ülejäänud viies farmis. Spontaanse innaga mullikate seemendamisel oli samuti tiinestus kahes farmis oluliselt madalam kui kolmes ülejäänus ( $p < 0.05$ ), kuid siin viisid seemendust läbi erinevad seemendustehnikud.

Samas ei sõltunud mullikate tiinestumine nende pidamisviisist (vabapidamine või lõaspidamine) ei spontaanse aga ka sünkroniseeritud inna korral ( $p > 0,05$ ). Keskmine vanus ja kehamass ei erinenud tiinestunud ja mittetiinestunud mullikate vahel ( $p > 0,05$ ).

**Tabel 5. Mullikate tiinestumine erinevates farmides suguselekteeritud ja tavasperma puhul ja sõltuvalt innast (sünkroniseeritud või spontaanne+indutseeritud).**

Farm	Suguselekteeritud sperma		Tavaline sperma	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
1 (lõas, sünk.)	30	46,7%	224	59,4%
2 (vaba, sünk.)	136	<b>38,2%</b>	83	42,2%
3 (lõas, sünk.)	46	45,7%	210	61,4%
4 (lõas, sünk.)	47	53,2%	22	54,5%
5 (vaba, sünk.)	90	45,6%	88	56,8%
6 (lõas, sünk.)	28	50,0%	27	37,0%
7 (vaba, sünk.)	22	<b>36,4%</b>	26	46,2%
2 (vaba, spont.)			32	62,5%
3 (lõas, spont.)	190	<b>28,9%</b>	11	54,5%
4 (lõas, spont.)	728	61,5%	733	63,8%
5 (vaba, spont.)	14	<b>35,7%</b>	15	53,3%
6 (lõas, spont.)	3	66,7%	1	100,0%
7 (vaba, spont.)	379	53,3%	21	61,9%

*n* – seemendatute arv; % – tiinestumine.

#### e. Suguselekteeritud sperma kvaliteedi uuringud

Uuriti võrdlevalt 5 Holsteini pulli sügavkülmutatud-sulatatud suguselekteeritud ja tavaspermade liikuvust (valgusmikroskoobis ja kompuuteranalüüsil); morfoloogiliste defektide esinemist, plasmamembraani terviklikkust (hüpoosmootne test HOS), DNA intaktsust (voolutsütomeetriliselt, Sperm Chromatin Stability Test SCSA) ja plasmamembraani stabiilsust (voolutsütomeetriliselt, Merocyanine540/YoPro-1/H33342 värving). Tavaspermade membraanide seisund (HOS 52,6% vs.13,7%,  $p < 0,01$ ) ja liikuvus (subjektiivselt hinnatud liikuvus 72,2% vs 43,5%,  $p < 0,05$ ), olid oluliselt paremad võrreldes suguselekteeritud spermidega. Samas esines tavaspermas oluliselt sagedamini spermide keskosa defekte kui suguselekteeritud spermis (3,6% vs.0,2%,  $p = 0,05$ ). Kromatiini stabiilsus suguselekteeritud ja tavaspermas ei erinenud.

Tulemused näitasid, et voolutsütomeetrilisel spermide suguselekteerimisel saavad kahjustada eeskätt spermide membraanid, mis omakorda mõjutab negatiivselt spermide liikuvust. Liikuvuse vähenemine ja membraanide kahjustused viivad potentsiaalselt viljastuse langusele ja madalamale tiinestumisele võrreldes tavaspermaga.

#### **f. Suguselekteeritud sperma kasutamine embrüote saamiseks**

Üheteistkümmel embrüodonoril kutsuti esile superovulatsioon folliikuleid stimuleeriva hormooni (FSH) ja prostaglandiinipreparaatide abil. Doonoreid seemendati inna ajal suguselekteeritud spermaga 2 korda päevas, kokku 4 doosiga ja tavaspermaga 2 korda päevas 2 doosiga. Embrüod loputati emakast seitsmendal päeval pärast seemendust 10 lehmalt, kes hormoonravile superovulatsiooniga reageerisid (90,9%). Suguselekteeritud spermaga seemendatud 6 doonorilt saadi 44,7 % viljastunud ja 55,3 % viljastamata munarakke. Kokku 17 embrüost kolm (17,6%) oli normaalse arenguga ja siirdamiskõlblikud ja 14 (82,4%) arengust mahajäänud, degenerereerunud embrüod.

Tavaspermaga seemendatud 4 doonorilt saadi 2 viljastamata munarakku (16,7%) ja 10 embrüot (83,3%). Kümnest embrüost 6 olid normaalse arenguga (60%).

Seega näitasid esialgsed tulemused, et suguselekteeritud spermaga seemendatud doonoritel on rohkem viljastamata munarakke ning arengus mahajäänud embrüoid, võrreldes doonoritega, keda seemendati tavaspermaga. Järelikult võivad suguselekteeritud spermide kahjustused põhjustada mitte ainult munarakkude halvemat viljastumist, vaid ka mõjutada viljastunud munarakkude varajast arengut. Püstitatud hüpotees vajab edasist uurimist.

#### **g. Järglaste sugu ja kaod abortide ning surnultsündide tõttu suguselekteeritud spermaga seemendamisel**

Analüüsiiti 676 suguselekteeritud ja 156 tavaspermaga seemendamisesest tiinestunud mullika tiinuse kulgu ja poegimist. Suguselekteeritud spermaga seemendusest tiinestunud 676 mullikat sünnitasid 600 elusvasikat, seega vasikate kadu moodustas abortide ja surnultsündide tõttu 11,2%. Tavaspermaga seemendatud ja tiinestunud 156 mullikat sünnitasid 143 elusat vasikat, vasikate kadu moodustas abortide ja surnultsündide tõttu 8,3% ( $p > 0,05$ ). Suguselekteeritud spermaga seemendamisel moodustasid surnultsünnid 4,6% ja abordid 8,5%. Kuna abortide esinemissagedus oli suur vaid kahes suure seemenduste arvuga farmis, siis ei saa abortide keskmise sageduse suurenemist otseselt seostada suguselekteeritud sperma kasutamisega.

Suguselekteeritud spermaga seemendustest sündis 90,1% lehmikuid. Tavaspermaga seemendustest sündis lehmikuid 46,8% .

## 2. Lehmade tiinestamine suguselekteeritud spermaga

**Töö eesmärgiks** oli selgitada, milliseid lehmi on otstarbekas seemendada suguselekteeritud spermaga.

**Metoodika.** Suguselekteeritud spermat katsetati nelja grupi lehmade tiinestamiseks:

- a) pärast poegimist spontaanselt indlema hakanud lehmad (2.1);
- b) poegimisjärgselt innatud lehmad, keda seemendati pärast inna stimuleerimist Ovsynch skeemi järgi (2.2);
- c) rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud lehmad, kelle innatsükli stimuleeriti Ovsynch skeemi järgi (2.3);
- d) rektaalsel uurimisel mittetiineteks osutunud lehmad, kes hakkasid indlema enne Ovsynch skeemi rakendamist ja seemendati spontaanselt innast (2.4).

### 2.1. Poegimisjärgselt spontaanselt innelunud lehmad

Seemendati ainult neid lehmi, kellel poegimisest oli möödunud vähemalt 60 päeva, sünnitus ja poegimisjärgne järk olid kulgenud tuisistusteta ja innatunnused olid tugevasti väljendunud. Kokku seemendati 29 lehma, neist suguselekteeritud spermaga 14 (tiinestus 5 ehk 35,7%) ja sama pulli tavaspermaga 15 (tiinestus 5 ehk 33,3%). Tulemused ei erine statistiliselt, kuid lõplike järelduste tegemiseks on loomade arv liiga väike ning katseid jätkatakse võimaluse korral veel edaspidi.

### 2.2. Poegimisjärgselt innatud lehmad

Uuringus oli kokku 49 innatud lehma, kelle poegimine oli kulgenud normaalselt, kellel ei esinenud poegimisjärgselt emassuguorganite patoloogiaid ning poegimisest oli möödunud vähemalt 80 päeva. Lehmade innatsükkel sünkroniseeriti Ovsynch skeemi (vt 1.3. ja 1.4.) järgi.

Uuringus oli kokku 49 lehma. Neljakümne üheksast lehmast tiinestusid 15 (31%), kellest kaks hiljem praagiti (trauma ja maaslamamise tõttu). Piima progesterooniprofiilid näitasid, et 11 seemendust (22%) tehti luteaalfaasis või normaalsest kõrgema progesteroonitaseme ajal (s.t. et PGF manustamisele ei järgnenud luteolüüsi), 4 lehma (8%) oli sünkroniseerimise ajal anöstruses (tiinestumise tõenäosus madal), üks innatsükkel katkes pärast seemendamist (näitab, et looma munasarjafunktsioon ei ole normaalne) ning kahel tiinestunud lehmal esines hiline embrüonaalne surm. Seega kokku 16 lehma 49-st seemendatud lehmast (36%) oli munasarjahäiretega või nende innatsükkel ei sünkroniseerunud normaalselt ning 33 lehma oli normaalse munasarjafunktsiooniga. Normaalse munasarjafunktsiooniga ja normaalselt sünkroniseerunud innatsükliga lehmade tiinestumine suguselekteeritud spermaga oli seega 45% (15/33), mis on

natuke kõrgem kui majandi lehmade keskmine tiinestumine esmakordsest seemendusest tavaspermaga.

### **2.3. ja 2.4. rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud lehmad, kelle innatsükli stimuleeriti Ovsynch skeemi järgi ja lehmad, kes hakkasid indlema enne Ovsynch skeemi rakendamist.**

Meie varasemates katsetes (2005–2007) selgus, et seemendatud, kuid rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud lehmade tiinestus on pärast Ovsynch skeemi järgi innatsükli sünkroniseerimist suhteliselt kõrge – 52,2%. Otsustasime nende lehmade seemendamiseks katsetada ka suguselekteritud spermat. Innatsükli sünkroniseerimiseks süstiti 1. päeval gonadoliberiini preparaati Receptal, 7. päeval prostaglandiin F2 $\alpha$  preparaati Dinolytic ja 48 tunni pärast uuesti Receptal'i. Seejärel lehmad seemendati 18-20 tunni möödudes.

**Statistiline analüüs.** Rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud lehmade keskmise vanuse, keskmise piimatoodangu ja keskmise aja poegimisest inna stimuleerimiseni võrdelemiseks kasutati t-testi. Tiinestumise võrdlus gruppide vahel viidi läbi logistilise regressioonianalüüsi abil. Logistilist regressiooni kasuti ka uurimaks vanuse, piimatoodangu ja ajavahemiku poegimisest stimuleerimiseni mõju tiinestumisele. Kõik analüüsid teostati statistikapaketi SAS abil.

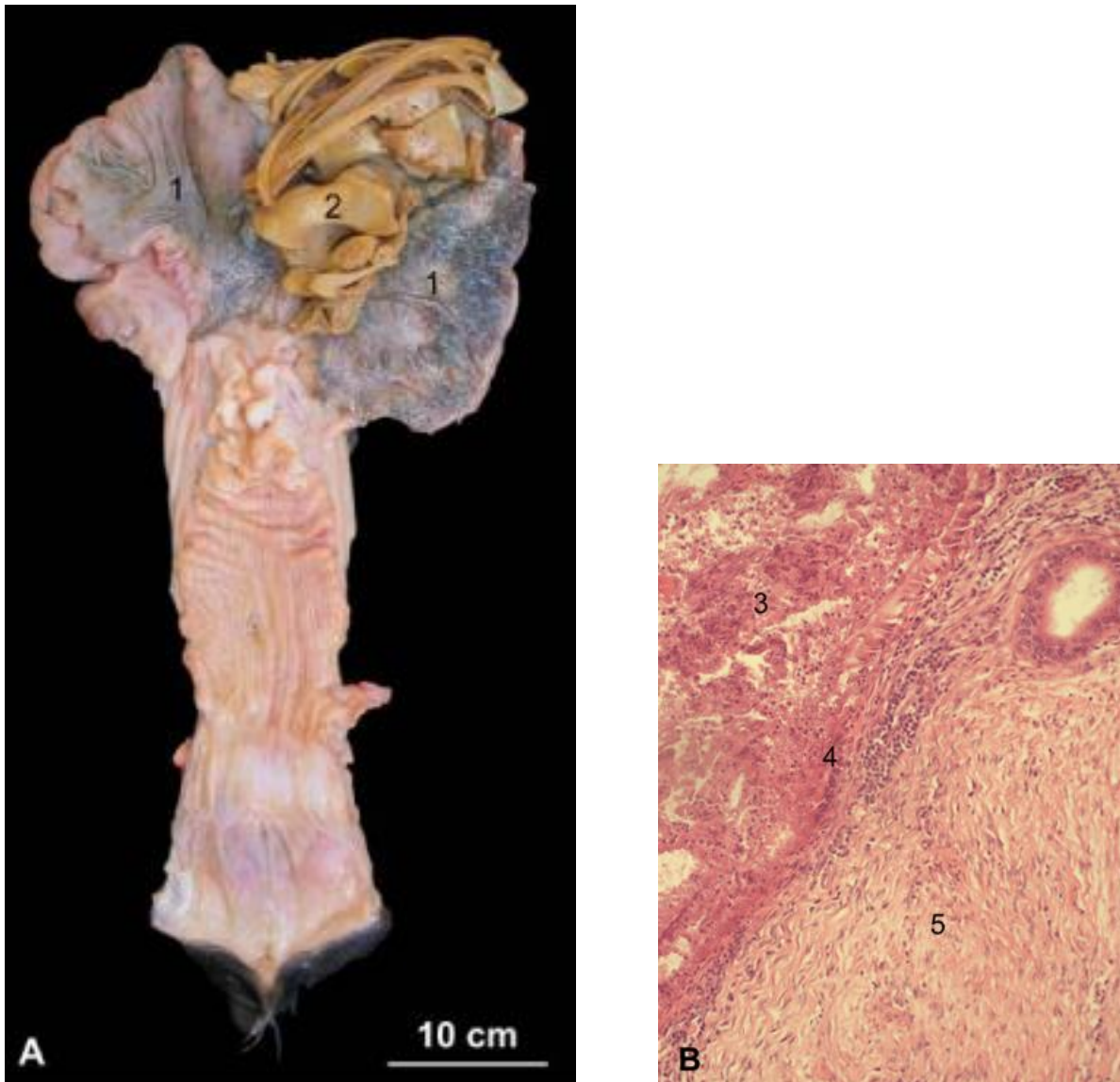
**Katsete tulemused.** Rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud katsegrupi lehmad (168) seemendati suguselekteritud spermaga ja kontrollgrupi lehmad (174) sama pulli tavaspermaga (Tabel 5). Suguselekteritud spermaga tiinestus 36,6% ja sama pulli tavaspermaga 46% lehmadest, erinevus on statistiliselt usutav ( $p < 0,05$ ). Teiste näitajate osas usutavat erinevust ei olnud. Suhteliselt kõrge tiinestus tavaspermaga on seletatav sellega, et suguselekterimiseks valitakse vaid väga heade pullide (kõige kõrgema viljakusega) sperma. Osale lehmadest, keda oli töödeldud Ovsynch skeemi järgi, ei sobinud geneetiliselt see pull, kelle spermat selekteeriti ja neid lehmi seemendati majandis tavakasutuses olevate pullide spermaga. Kuna innatsükli stimuleeritakse (sünkroniseeritakse) korraga 10–15 rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud lehmale (praktilisest seisukohast on otstarbekas töödelda gruppi lehmi preparaatidega ja seemendada ühel ning samal ajal), aga osa lehmi hakkas indlema enne kui grupp komplekteerus, siis seemendati neid spontaanse inna ajal. Majandites, kus katsed läbi viidi, tiinestus pärast poegimist esmakordsest seemendusest keskmiselt 38,3% lehmadest.

Tabel 5. Rektaasel uurimisel mittetiineks osutunud lehmade tiinestus.

Ind	Sperma	Lehmade arv	Tiinestus	Tiinestus %
Ovsynch	Suguselekteeritud	186	68	36,6
Ovsynch	Sama pulli tavasperma	174	80	46,0
Ovsynch	Majandis kasutatav tavasperma	51	20	39,2
Spontaanne	Majandis kasutatav tavasperma	33	19	57,6
Spontaanne	Suguselekteeritud	28	14	50

### Reproduktioonsükli patoloogiad lehmadel ja mullikatel

**Tiinuse patoloogiana** diagnoositi Torma POÜ lehmäl Õuna 4047 kaheksandal tiinuskuul osaliselt matsereerunud loode. Majandi loomaarst Margit Künnapas eemaldas loote emakast kuni emakasarve tipu tagasipöörduva osani. Kuu möödudes oli kogu emakas tõusnud vaagnaõnde. Selgus, et emakasarve tipu tagasipöördunud ossa oli jäänud veel loote osi, mis olid liikunud emakakeha suunas (rektaasel uurimisel olid läbi emakaseina paremas emakasarves, mille läbimõõt oli ca 12 cm, palpeeritavad loote luud). Lehm tapeti 9-ndal kuul pärast matsereerunud loote osalist eemaldamist ja selgus, et loote matseratsioon oli läinud üle putrefaktsiooniks. Emakasse jäänud loote osad olid putrifitseerunud (roiskunud, isoleeriti massiliselt *Arcanobacterium pyogenes* ja *Bacteroides ssp.* mikroobe, R. Lindjärv). Emakasarvedes oli tugevalt vinav nõre ja paremas emakasarves lahtised loote luud (joonis 4A). Erakordseks teeb juhtumi asjaolu, et pärast loote osalist eemaldamist oli lehma toodang 33–40 kg piima päevas ja täielikult puudusid üldhäired. Kaheksa kuu jooksul pärast matsereerunud loote eemaldamist emakast oli somaatiliste rakkude arv piimas 16 000 – 80 000 ml kohta. Meie arvates ainsaks seletuseks on see, et emakasein oli väga paks (10–13 mm) ja isoleeris infektsioonikolde organismist (sarnaselt abstsessi kapslile). Patohistoloogilisel uurimisel (T. Järveots ja E. Lepp) selgus, et emakanäärmed olid tsüstjalt laienenud, nii limas- kui ka lihaskest olid laialdaselt sidekoestunud ning esines rikkalikult ümarrakulist infiltratsiooni. Emakaepiteel oli osaliselt degenerereerunud, nekrootiline või puudus hoopiski (joonis 1B).



**Joonis 1.** Loote putrefaktsioon (A) ja mikrofoto emakaseinast (B; hematoksüliin-eosiin, 150x.):  
 1 – lahtilõigatud emakasarved, 2 – looteluud paremas emakasarves, 3 – roisuline eksudaat emakasarve valendikus, 4 – uteriinepiteeli nekroos, 5 – endometriaalstrooma laialdane sidekoestumine.

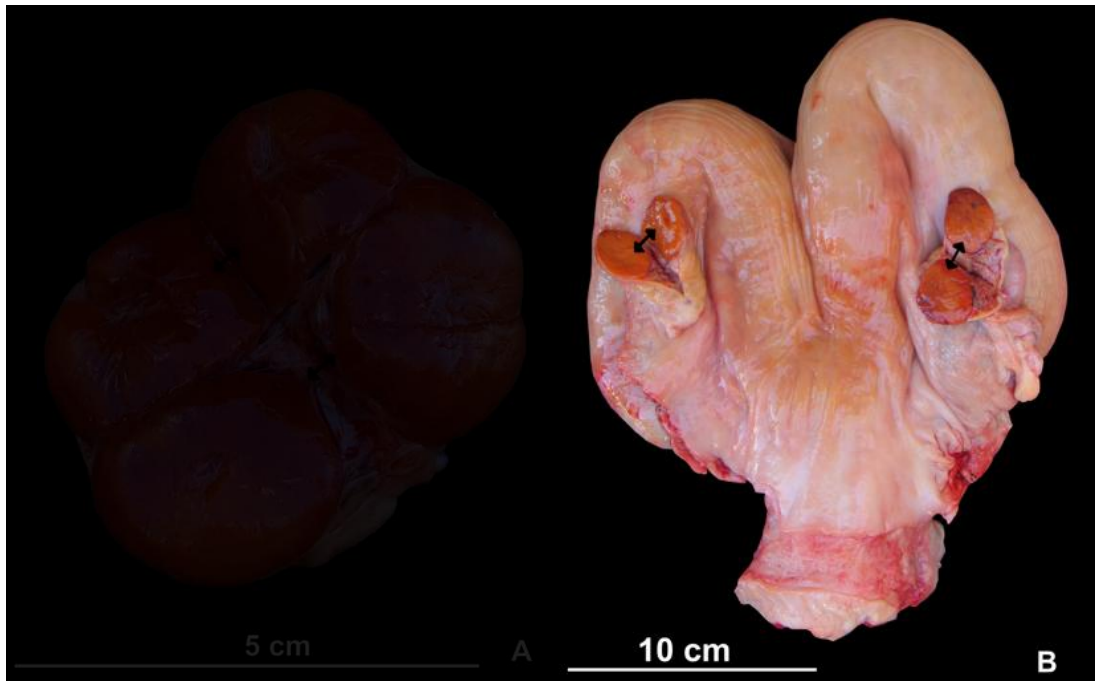
**Sünnitustüsistustest** pälvvis tähelepanu juhtum, kus kuueaastasel lehmil seoses raske sünnitusega tekkisid puusaluude murrud (puusaköbru, istmikuluukeha- ja plaadi murd, joonis 2). Puusaluude murde (väljaarvatud puusaköbru murd) on lehmil väga harva. Puusaköbru murd tekib enamasti siis, kui indlevad lehmad hüppavad teistele selga, harva on see seotud raske sünnitusega. Antud juhul oli lehm pärast sünnitust tõusmis- ja käimisvõimeline kuna murd ei ulatunud puusanappa. Lehm praagiti seitsme ja poole aasta vanuselt, sest murrude paranemisel tekkinud eksostoosid ahendasid vaagnaõõnt ning muutsid järgmise sünnituse võimatuks.



**Joonis 2.** Puusaluude murrud: 1 – niudeluutiiva (puusaköbru) murd, 2 – istmikuluukeha murd, 3 – istmikuluuplaadi murd.

**Praagitud mullikate ja lehmade suguorganite patoanatomilisel** uurimisel selgus, et ühel mullikal ja ühel lehmale oli eelmise inna ajal toimunud **kaksikovulatsioon** – ühel loomal oli ühes munasarjas kaks õitsejärgus kollakeha (joonis 3A) ja teisel oli üks kollakeha ühes ning teine teises munasarjas (joonis 3B). Kaksikovulatsiooni on lehmadel suhteliselt sageli – 14,1–15,5%-l indlevatest loomadest (Fricke ja Wiltbank, 2000; Lopez-Gatius, Lopez-Bejar, Fenech ja Hunter, 2004). Kaksikovulatsiooni on peaaegu võrdselt kas ühest munasarjast või teine teisest. Kaksikovulatsiooni korral on tiinestus madalam kui üksikovulatsiooni korral. Kaksikuid sünnib mitu korda harvemini, kui on kaksikovulatsiooni, sest embrüonaalset suremust on sel korral palju sagedamini.





**Joonis 3.** Kaks lahtilõigatud õitsejärgus kollakeha ühes munasarjas (A) ja teine teises munasarjas (B).

### **Suguorganite kaasasündinud patoloogiad lehmullikatel**

Katsetes suguselekteeritud spermaga uuriti vastavalt katse meetodikale nii katse- kui ka kontrollgrupi loomi enne kliiniliselt (sealjuures ka rektaalselt ja ultrasonograafiliselt). Eesmärgiks oli elimineerida katsetest seemendamiseks mittekõlblikud sigimatud mullikad (munasarjade tsüstid, friimartinism, valgeõhvhaigus jt suguorganite anomaaliad).

Aastatel 2005–2010 uuritud lehmullikatest ei osutunud seemenduskõlblikuks 2–4,5%.

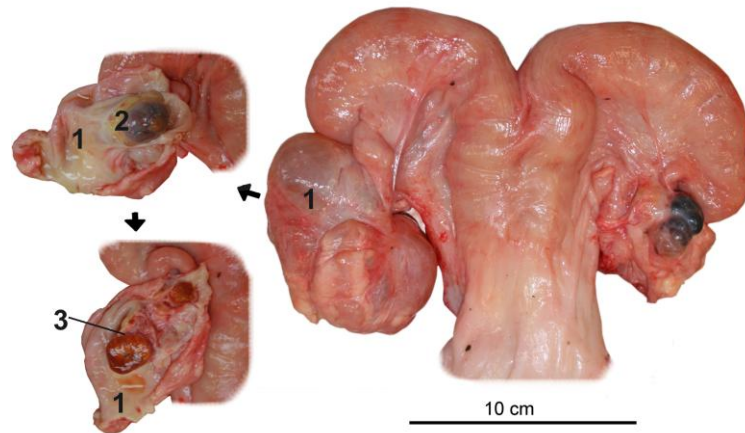
Levinud praktika kohaselt seemendamiseks (paaritamiseks) eraldatud mullikaid enne seemendamist rektaalselt ei uurita ja praagitakse need loomad, kes ei ole 4–6 kordse seemenduse järele tiinestunud. Niisuguste mullikate asjatu seemendamine toob ühe looma kohta, sõltuvalt sperma hinnast, majanduslikku kahju 1000–2000 krooni. Kui kasutatakse hinnalist suguselekteeritud spermat, on kahju veelgi suurem.

Lehmullikate kaasasündinud sigimatust on harva ja selle põhjused on väga heterogeensed. Allpool anname lühikese ülevaate sagedamini diagnoositud patoloogiatest.

### **Munasarja tsüstid**

Munasarja tsüstide korral leiame rektaalsel uurimisel kas ühest või mõlemast munasarjast üle 2 cm läbimõõduga põisjaid, vedelikuga täitunud fluktuueeruvaid moodustusi. Üldise arvamuse kohaselt on munasarja tsüstid veistel päritavad ja seepärast oleme soovitanud munasarja tsüstidega seemendusealised mullikad karjast praakida ja neid mitte ravida.

Ekstlikult diagnoosisime rektaalsel uurimisel munasarja tsüstiks erakordsena esinenud kaasasündinult suletud munasarjapauna. Munasarja pauna mõõtmed olid 10x6x5 cm. Välisel vaatlusel oli see väga sarnane suure tsüstoomiga ning oli täidetud õlgkollase vedelikuga (tõenäoliselt innatsükliite jooksul kogunenud follikulaarvedelik). Pauna avamisel tuli nähtavale munasari, milles oli kollakeha diameetriga 22 mm (joonis 4). Selle erakordse juhtumi kohta ei leidnud me kirjandusest andmeid, et seda oleks varem kirjeldatud.



**Joonis 4.** Suletud munasarjapaun: 1 – munasarjapaun, 2 – kollakehaga munasari, 3 – lahtilõigatud kollakeha.

### **Friimartinism – ebaõhvhaigus**

Friimartinismiks nimetatakse patoloogiat, kui erisooliste mitmikute (enamasti kaksikute) puhul emasjärglane on 90–92% juhtudest sigimatu. Teda nimetatakse friimartiiniks e ebaõhvaks.

Kaksikuid sünnib lehmadel 1–3%. Eesti Jõudluskontrolli Aastaraamatute (2005–2009) andmetel oli Eestis kasvatatavatel veisetõugudel kaksikuid: eesti punane 2,6–3,0%, eesti holstein 1,9–2,5% ja eesti maakari 3,0–4,2%.

Kaksikuid on sagedamini korduvalt poegivatel lehmadel (eriti alates 4.–6. tiinusest). Esmaspoegijatel on seevastu kaksikuid väga harva. Lahksoolisi kaksikuid on pisut alla poole kõigist kaksikutest, ülejäänutest on pullikkaksikuid natuke rohkem kui lehmikkaksikuid.

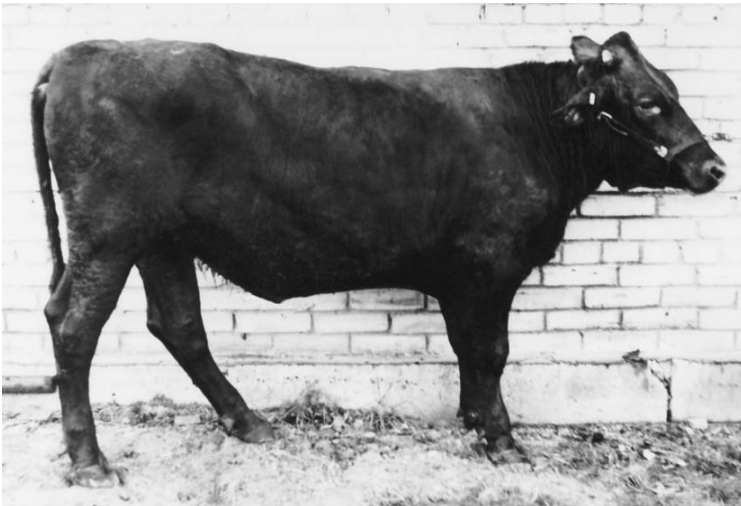
Nii oli Eestis aastatel 2005–2010 sündinud kaksikutest 27% pullikud, 26% lehmikud ja 47% lahksoolised kaksikud. Enam-vähem samasugune oli vahekord ka üksikute tõugude viisi.

Friimartinismi põhjuseks on see, et looted võivad olla kas osaliselt või täielikult ümbritsetud ühistest lootekestadest. Tekivad veresoonte anastomoosid ning ühe loote veri satub teise lootesse. Anastomoosid tekivad enamasti 30.–40. tiinuspäeval so vahetult enne sugulist diferentseerumist. Isaslootest kantakse emaslootesse testiste induktorantigeen HY, mis määrab ära embrüo arengu isasindiviidiks. Seejärel lisandub anti-Mülleri hormoon (Mülleri juhade arengut inhibeeriv ehk pidurdav hormoon – MIH) ning hiljem isassuguhormoonid.

Mida varem anastomoosid tekivad, seda enam on emassuguorganite areng kallutatud isassuguorganite poole, mis avaldub nii seesmiste kui ka välissuguorganite arengus. Kui isasloode hukub pärast anastomooside tekkimist, võib friimartiin sündida ka üksikjärglasena. Friimartinismi diagnoosimisel võib välisel vaatlusel märgata, et häbemepilu kõrgus on normaalsest väiksem (joonis 5) ja nisad on vähearenenud. Looma välimik võib meenutada isaslooma (joonis 6). Friimartiinil Mülleri (paramesonefroose) juhadest kujunevad torujad suguorganid (tupp, emakakael ja emakas) on väljaarenemata (joonis 7).



**Joonis 5.** Friimartiini välissuguorganid.



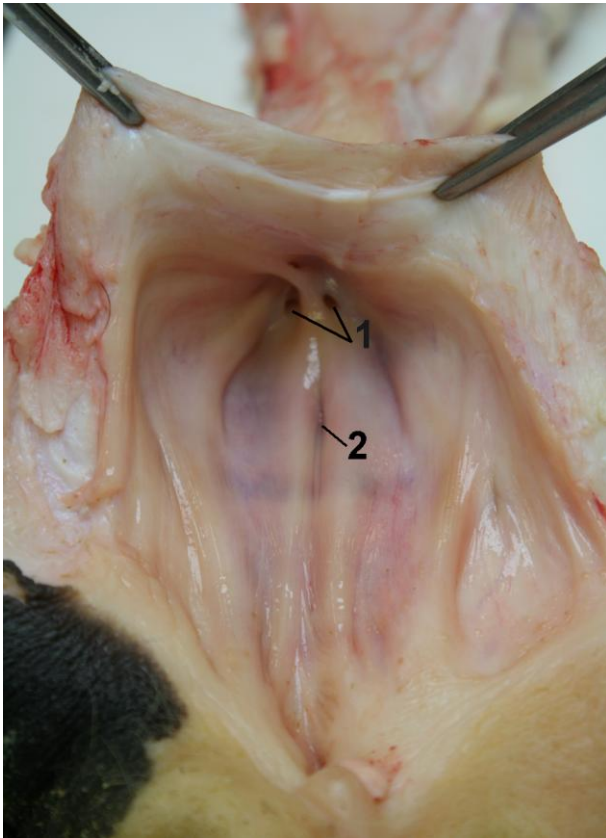
**Joonis 6.** Friimartiini välimik.



**Joonis 7.** Friimartiini suguorganid: 1 – gonaad, 2 – taandarenenud emakasarved, 3 – taandarenenud emakakeha. ja –kael



**Joonis 8.** Friimartiini tupeesik (1), tupe kaudaalne osa (2) ja põisiknäärmed(3)



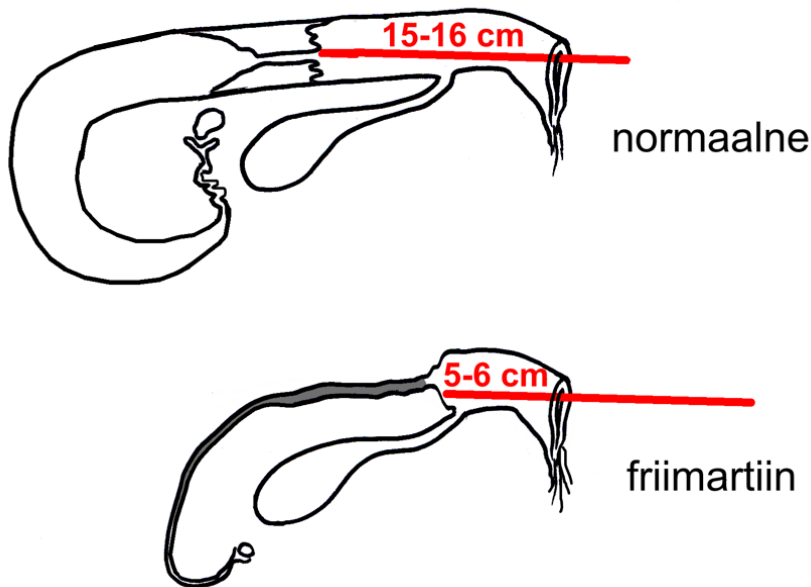
**Joonis 8.** Friimartiini Gärtneri juhade avad (1) ja välimine kusitisuue (2).

Monikord on friimartiinil olemas tupe kaudaalne osa (joonis 8). See kinnitab kaudselt seda, et tupe kaudaalne osa ei ole arenenud Mülleri juhadest, vaid kuse-sugu kurru dorsaalses seinas asuvast kahest pungast. Enamasti on friimartiniidel Gärtneri juhade avaused hästimärgatavad (joonis 9).

Rektaalsel uurimisel on palpeeritav umbes sõrmejämmedune tihke koeväärt, mille diameetrit mõnikord suurendavad sellele kinnituvad rudimentaarsed põisiknäärmed, väikese oa- või hernesuurused siledapinnalised munasarjad ja emakasarved ei ole enamasti rektaalselt palpeeritavad.

Täpsemaks diagnoosimiseks mõõdetakse tupeesiku ja tupe pikkust (nn toruproov, joonis 10).

“Toruproovi” võib rakendada juba paarinädalasel vasikal. Friimartiinsel vasikal pole tupp arenenud ja katsuti saab sisse viia ainult tupeesiku pikkuses so 5–6 cm. Kui torujad suguorganid on normaalelt arenenud, siis on katsutit võimalik edasi lükata veel 8–10 cm so kogu tupe pikkuses kuni emakakaelani. Kui toruproovi rakendamisel tekib raskusi, siis võib seda proovida mõnel samaealisel normaalsel lehmikul. Seemendusealistel mullikatel on tupeesik 8–10 cm ja tupp 18–20 cm pikk. Nende uurimisel on kõige otstarbekam kasutada valgustusseadmega varustatud mullikate toru-tupepeeglit.



**Joonis 10.** Friimartinismi diagnoosimine vasikal.

Igal aastal sünnib *ca* 1000–1200 paari lahksoolisi kaksikuid ja seega oleks friimartinismi varajase diagnoosimise korral olnud võimalik karja täienduseks eraldada täiendavalt *ca* 50–60 mullikat. USA põllumajandusministeeriumi hinnangul kuulub friimartiinide rümpadest 90% valikliha kategooriasse selle erilise marmorsuse ja maitseomaduste tõttu. Eestis friimartiini liha kvaliteeti hinnatud ei ole.

#### **Valgeõhvhaigus** (*white heifer disease*)

Haiguse nimetus tuleneb sellest, et seda diagnoositi esmakordselt 19. sajandi lõpul šorthorni tõugu valgetel mullikatel. Meil on haigust diagnoositud nii eesti holsteini kui ka eesti punast tõugu mullikatel. Selle haiguse puhul on munasarjad harilikult arenenud normaalselt (erinevalt friimartiinist) ja mullikad indlevad regulaarselt. Kuna torujatest suguorganitest on mõni osa kas osaliselt või täielikult arenemata, siis on seda nimetanud ka paramesonefroose (Mülleri) juhade segmentaalseks aplaasiaks. Kõige sagedamini puudub üks, enamasti parem emakasarv (joonis 11, *uterus unicornis*).



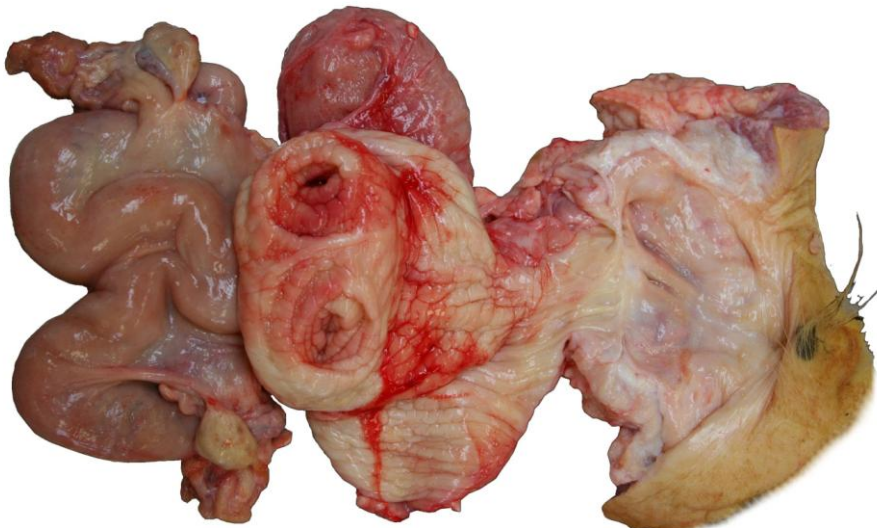
**Joonis 11.** Ühesarveline emakas, arenenud on vasak emakasarv.

**Joonis12.** 1,5 kuud tiine ühesarvelise (parem) emakaga mullika suguorganid

Harvemini on arenemata vasak emakasarv, munasari ja munajuha. Loom võib tiinestuda kui ovulatsioon toimub samapoolsest munasarjast, kus emakasarv on olemas (joonis 12). Kuna patoloogia on päritav, siis tuleks niisugused mullikad praakida.

### **Kahe emakakaela tupeosaga emakas**

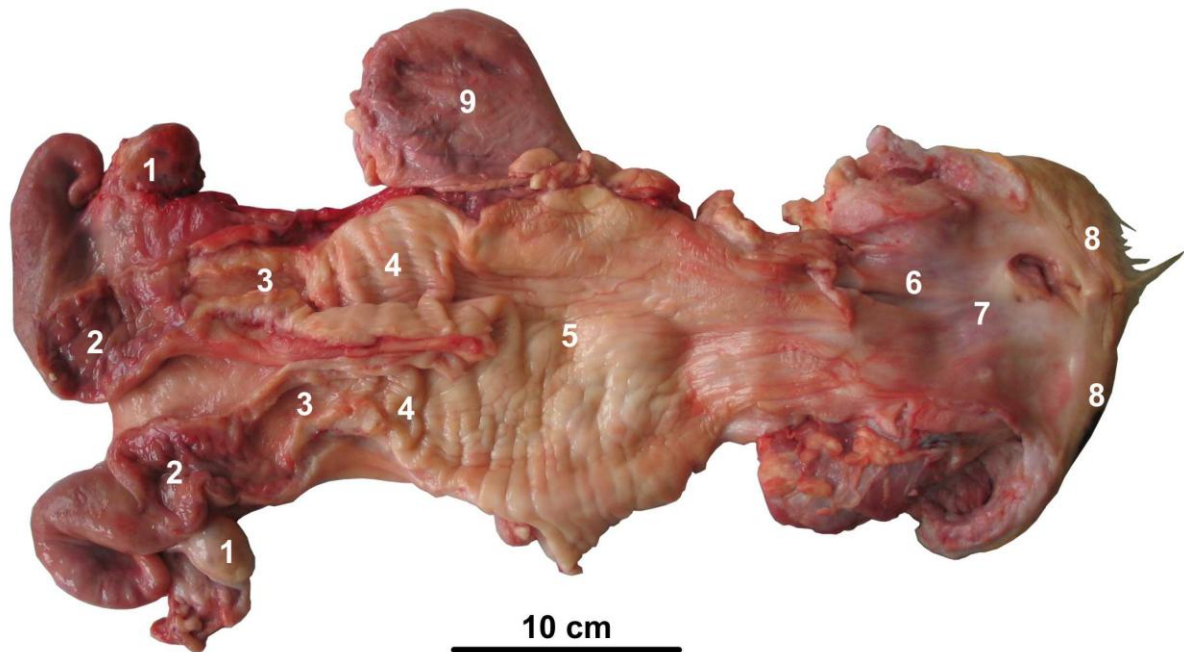
See on suhteliselt sage kaasasündinud patoloogia, mida on võimalik diagnoosida rektaalsel uurimisel (joonis 13).



**Joonis 13.** Kahe emakakaela välissuudmega emakas.

Selle hälbe puhul võivad mõlemad välissuudmed avaneda ühisesse emakakaelakanalisse või emakakehasse, harvem lõpeb üks neist (harilikult väiksem) umbselt.

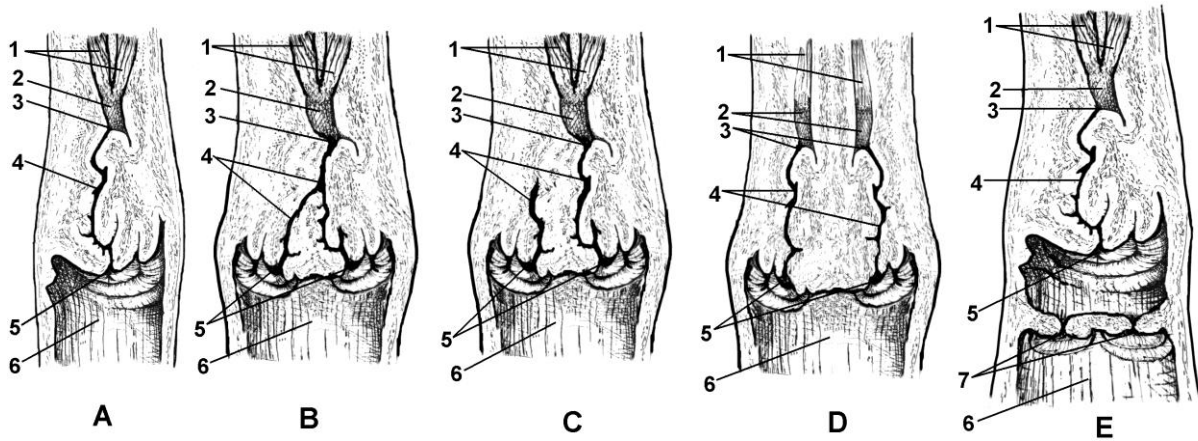
Haruharva esineb veisel kaksikemakat (*uterus duplex*). Siis on olemas kaks emakakaela, kaks emakakeha ja kaks emakasarve, mis ei ole omavahel ühenduses. Suguorganid on võrdlevanatoomiliselt sarnased küüliku omadele. Mülleri juhade vaheline vahesein ei kao nagu normaalse arengu korral, vaid säilib emakakeha ja emakakaela osas kuni tupeni (joonis 14).



**Joonis14.** Kaksikemakas (*uterus duplex*): 1 – munasarjad, 2 – lahtilõigatud emakasarved, 3 – emakakehad, 4 – emakakaelad, 5 – tupp, 6 – kusiti välissuue, 7 – tupeesik, 8 – häbememokad, 9 – kusepõis.

Kahe emakakaela tupeosa korral on rektaalsel uurimisel palpeeritavad kaks emakakaela välissuuet, kuid pole võimalik kindlaks teha kuhu need avanevad (kas ühisesse emakakaelakanalisse, emakakehasse või on tegemist kaksikemakaga. Seega selgub täpne diagnoos alles patoanatomilisel uurimisel (joonis 15).





**Joonis 15.** Normaalne emakakael (A) ja emakakaela patoloogiad (B–E): 1 – emakasarved, 2 – emakakeha, 3 – emakakaela sisesuue, 4 – emakakaelakanal, 5 – emakakaela välissuue, 6 – tupp, 7 – pseudosuudmed.

**Erakordse** juhtumina leidsime seemendusealise mullika suguorganid, kus tupe avamisel oli näha kaks emakakaela tupeosa. Nende lahtilõikamisel selgus, et mõlemad olid lühikesed (2–3 cm) ja avanesid tupe kraniaalsesse ossa, kus oli veel kolmas emakakaela välissuue. Viimane kulges täiesti normaalselt arenenud emakakaela kanalisse. See avanes emakakehasse, mis jagunes kaheks, samuti täiesti normaalselt arenenud emakasarveks (joonis 16).



**Joonis 16.** Emakakaela välissuue (1) ja pseudosuudmed (2).

## **Suguorganite infantilism**

Kehaliselt normaalselt arenenud mullikatel on suguorganid alaarenenud (munasarjad on herne või oa suurused ja siledapinnalised, emakasarvede läbimõõt kuni 5mm). Patoloogia on ravimatu ja mullikad praagitakse.

## **JÄRELDUSED**

### **Suguselekteeritud sperma kasutamine soovitud soost järglaste saamiseks mullikatel**

1. Mullikate seemendamisel 2,2 miljoni suguselekteeritud spermiga moodustab tiinestumine 80-90% tiinestumisest tavasperma korral.
2. Suguselekteeritud spermide paigutamisel emakasarve või emakakehasse mullikate tiinestumine ei erine.
3. Suguselekteeritud spermidega seemendamine 12 t pärast spontaanse inna avastamist annab kõrgema tiinestumise, võrreldes inna sünkroniseerimise ja fikseeritud ajal seemendusega või seemendusega prostaglandiiniga indutseeritud inna ajal.
4. Mullikate tiinestumine suguselekteeritud spermaga seemendamisel on kõrgem tugeva inna puhul, võrreldes nõrgalt avaldunud innaga.
5. Mullikate tiinestumine suguselekteeritud spermaga seemendamisel ei sõltu sellest, kas loomad on vabapidamisel või lõas.
6. Mullikate tiinestumisel suguselekteeritud spermaga on erinevused pullide vahel.
7. Embriodoonorite suguselekteeritud spermaga seemendamisel on rohkem viljastamata munarakke ning arengus mahajäänud embrüoid, võrreldes doonoritega, keda seemendati tavaspermaga.
8. Suguselekteeritud spermide liikuvus sulatusjärgselt on väiksem ja membraanide kahjustused suuremad võrreldes tavaspermidega.

### **Suguselekteeritud sperma kasutamine soovitud soost järglaste saamiseks lehmadel**

1. Kuna rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud lehmadel on poegimisest möödunud kaua aega (üle 200 päeva), siis tuleks nende innatsükli kohe sünkroniseerida rakendades Ovsynch skeemi.
2. Suguselekteeritud sperma kasutamine rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud lehmade seemendamiseks on otstarbekas, kuna tiinestus praktiliselt võrdub majandis tavakasutusel oleva spermaga seemendamisele ja samades majandites lehmade tiinestusega pärast poegimist esmakordse seemenduse järel.

3. Poegimisjärgselt innatute lehmade inna stimuleerimine Ovsynch skeemi rakendades annab positiivse tulemuse (normaalse munasarjafunktsiooni ja inna sünkroniseerimise mõttes) ligikaudu 2/3 lehmadest, kelle seemendamine suguselekteeritud spermaga annab häid tulemusi. Ühel kolmandikul lehmadest aga Ovsynchi kasutades innatsükkel ei taastunud või ei sünkroniseerunud.
4. Esialgsed tulemused näitavad, et kui kasutada suguselekteeritud spermat vahetult poegimisjärgseks esimeseks seemenduseks neil lehmadel, kellel on poegimisest möödunud vähemalt 60 päeva, sünnitus ja poegimisjärgne järk on kulgenud tuisistusteta ja innatunnused on tugevasti väljendunud, siis on tiinestus võrdne tulemusega tavasperma kasutamise järgselt.

### **Suguorganite patoloogiad mullikatel**

1. Seemendusealisi mullikaid tuleb enne seemendamisele eraldamist alati rektaalselt uurida, et õigeaegselt praakida kaasasündinud anomaaliatega loomad.
2. Lehmamullikatest ei osutunud seemenduskõlblikuks 2–4,5%.
3. Friimartinismi täpsemaks diagnoosimiseks on soovitatav mõõta tupeesiku ja tupe pikkust (nn toruproov)
4. Igal aastal sünnib *ca* 1000–1200 paari lahksoolisi kaksikuid ja seega oleks friimartinismi varajase diagnoosimise korral õimalik karja täienduseks eraldada täiendavalt *ca* 50–60 mullikat.

### **SPERMA SUGUSELEKTEERIMISE KÄIVITAMISEST EESTIS**

Käesolevat rakendusuuringut kavandades oli meil eesmärgiks jõuda spermide suguselekteerimise alustamiseni Eestis. Selleks pidasime koos Eesti Tõuloomakasvatavate Ühistu tegevdirektori Tanel Bulitkoga läbirääkimisi USA firma XY Inc ühe omaniku ja tegevjuhi Dr.Mervyn Jacobsoniga. Saavutasime esialgse suhteliselt soodsa kokkuleppe spermide sorteri ja sorteerimise tehnoloogia litsentsi ostuks. Kahjuks ei õnnestunud projektile Eestis esialgu rahastust saada, seejärel aga vahetas XY Inc omanikku. Uue omaniku pakutud tingimused ei olnud Eestile vastuvõetavad ja seetõttu tuli sorteri ostust ja suguselekteerimise käivitamisest Kehtna seemendusjaamas loobuda.

### **TÄIENDUSKOOLITUS**

Maaülikooli Avatud Ülikooli kaasabil korraldati meie uurimisrühma teadlaste baasil igal aastal seemendustehnikute 2-nädalane baaskursus, ühepäevaseid täiendkoolitusi suguselekteeritud

spermaga seemendamises kokku 32 seemendustehnikule, kaks õppepäeva loomaarstidele ja farmeritele.

Koolituse raames tutvustati suguselekteeritud sperma olemust, kasutamisevõimalusi ja meie katsetes selgunud tulemusi meetodi efektiivsuse kohta. Koostöös Eesti Tõuloomakasvatajate Ühistuga valmis suguselekteeritud sperma kasutamist käsitlev trükis, mis on mõeldud majandijuhtidele, loomaarstidele ja seemendustehnikutele.

## KASUTATUD KIRJANDUS

Amann RP, 1999: Issues affecting commercialization of sexed sperm. *Theriogenology* **52**1441-1457.

DeJarnette JM, Nebel RL, Marshall CE, Moreno JF, McCleary CR, Lenz RW, 2008: Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rate in Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* **91** 1778-1789

DeJarnette JM, Nebel RL, Marshall CE, 2009: Evaluating the success of sex-sorted semen in U.S. dairy herds from on farm records. *Theriogenology* **71** 49-58.

Garner DL, Johnson LA, Lake S, Chaney N, Stephenson D, Pinkel D, Gledhill BL, 1983: Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. *Biol. Reprod* **28** 312-321.

Hohenboken WD, 1999: Application of sexed semen in cattle production. *Theriogenology* **52** 1421-1433.

Johnson LA, Flook JP, Look MV, Pinkel D, 1987: Flow sorting of X and Y chromosome bearing spermatozoa into two populations. *Gamete Res.* **16** 203–212.

Johnson LA, 2000: Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the art. *Anim.Reprod. Sci* **60** 93-107.

Schenk JL, Cran DG, Everett RW, Seidel GE, Jr, 2009: Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm number per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. *Theriogenology* **71** 717-728.

Seidel GE, Jr, Schenk JK, Herickhoff LA, Doyle SP, Brink Z, Green RD, Cran DG. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology* 1999;52:1407-1420.