

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

Eesti Maaülikool

## **Geneetilise mitmekesisuse suurendamine piimakarjaaretuses embrüotehnoloogiate ja suguselekteeritud sperma kasutamise abil**

**Projekti juht:** Ülle Jaakma (VL) ja Rando Värnik (MS)

**Projekti täitjad:** Triin Hallap, Mihkel Jalakas, Jaanus Janson, Tanel Kaart, AntsKavak, Jevgeni Kurõkin, Sulev Kõks, Enn Lauringson, Katrin Lemsalu, Monika Nõmm, Peeter Padrik, Maret Prits, Pille Pärn, Raivo Ruus, Silver Toompalu, Haldja Viinalass, Peedu Zeiger

Tartu, 2015



Nomm, Monika; Mark, Elina; Kilk, Kalle; Koks, Sulev; Jaakma, Ülle (2014). Low-Molecular-Weight Metabolites In Bovine In Vitro Production Culture Media As Embryo Quality Markers. In: Reproduction, fertility, and development: IETS, Versailles, France, 2015. CSIRO PUBLISHING, 135 - 136.

Nõmm, Monika; Pärn, Pille; Kavak, Ants; Jaakma, Ülle; Kõks, Sulev (2013). Veise embrüote kasvatamine laboris. Konverentsi "Terve loom ja tervislik toit 2013" kogumik (25 - 29). Tartu: Eesti Maaülikool

Kõks S, Reimann E, Lilleoja R, Lättekivi F, Salumets A, Reemann P, Jaakma Ü. Sequencing and annotated analysis of full genome of Holstein breed bull. Mamm Genome. 2014 Aug;25(7-8):363-73. doi: 10.1007/s00335-014-9511-5. Epub 2014 Apr 26.

Luik, Helis; Viira, Ants-Hannes; Värnik, Rando (2014). The relationship between technical efficiency, breeding values, modern technologies, milk quality, and characteristics of farm managers in Estonian dairy farms. NJF seminar 467 'Economic framework conditions, productivity and competitiveness of Nordic and Baltic agriculture and food industries'.

Luik, Helis; Viira, Ants-Hannes; Värnik, Rando (2014). Using the information about dairy herd's genetic level and milk quality in explaining the technical efficiency of Estonian dairy farms: a two-stage (DEA and Tobit) approach. EAAE 2014 Congress 'Agri-Food and Rural Innovations for Healthier Societies', August 26-29, 2014, Ljubljana, Slovenia.

Elina Mark, magistritöö 2014. Loomakasvatuse eriala. Veise in vitro toodetud embrüote metaboolika ja kasvulahuste mikrobioloogia. Juhendaja Ülle Jaakma

Jaak. Naaber. Magistritöö ökonomika ja ettevõtluse erialal 2014. Suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslik eelis tavasperma kasutamise suhtes eesti holsteini tõugu mullikatel. Juhendaja Rando Värnik

<b>Projekti juht (ees- ja perekonnanimi):</b> Ülle Jaakma (VL), Rando Värnik (MS)	<b>Allkiri:</b> <i>allkirjastatud digitaalselt</i>	<b>Kuupäev:</b> 2.03.2105
<b>Taotleja esindaja kinnitus aruande õigsuse kohta (ees- ja perekonnanimi):</b> Andres Aland	<b>Allkiri:</b> <i>allkirjastatud digitaalselt</i>	<b>Kuupäev:</b> 2.03.2015

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

## Geneetilise mitmekesisuse suurendamine piimakarjaaretuses embrüotehnoloogiate ja suguselekteeritud sperma kasutamise abil

### 1. Projektis püstitatud eesmärgi kirjeldus

Veiste areustöös on viimasel aastakümnel kasutusele võetud olulisi tehnoloogilisi uuendusi, mis võimaldavad innovatiivseid rakendusi nii piima- kui ka lihakarja aretuseesmärkide saavutamisel. Nii on kunstliku seemenduse valdkonnas võimalikuks saanud soovitud sugu järglaste saamine, **lahutades X- ja Y- kromosoomi sisaldavad spermid rakusorteris ja kasutades seemenduseks soovitud fraktsiooni.** Suguselekteeritud sperma kasutamine annab majanduslikku tulu, sest võimaldab saada vaid soovitud soost järglasi. Selle tulemusena väheneb oluliselt seemenduste arv pullide hindamiseks vajaliku tütarde saamiseks ning avaneb võimalus tõhustada emasloomade valikut areustöös. Karja uuenduseks üleliigsed lehmikud on võimalik realiseerida tõuloomadena. Väheneb raskete sünnituste sagedus, eriti esmaspoegijatel, sest lehmvasikas on sündides pullvasikast väiksem.

Oleme varasemate uuringute tulemusena väljaselgitanud suguselekteeritud sperma efektiivsuse ja rakendusvõimalused mullikate tiinestamisel ja näidanud, et suguselekteeritud spermaga seemendamisel on võimalik saavutada häid tulemusi, kui karja sigimisalane olukord tervikuna on hea, seemendustehnik omab teadmisi suguselekteeritud spermaga seemenduse iseärasustest, inna avastamine on hästi korraldatud ja enne seemendusprogrammi alustamist viiakse läbi mullikate günekoloogiline uuring võimalike patoloogiate tuvastamiseks. Suguselekteeritud spermaga seemendamise õpetus on käesoleval ajal lülitatud kõigi seemendustehnikute väljaõppe ja täiendkoolituse programmi, mille läbiviimine toimub EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudis, põhiliselt meie uurimisgrupi liikmete poolt.

Paralleelselt tehnoloogia arenguga kunstliku seemenduse valdkonnas on maailmas uue arenguhoo saanud embrüotehnoloogiad. Juba rohkem kui kaks aastakümnet on väljavalitud emasloomadelt suurema hulga järglaste saamiseks kasutusel olnud superovulatsioonil põhinev veiste embrüote tootmise ja siirdamise tehnoloogia (*in vivo* embrüote tootmise tehnoloogia), mis võimaldab saada ühe siirdamistsükliga 6-7 kvaliteetset embrüot ühe hormoonravile reageerinud doonori kohta. See suhteliselt kallis meetod ei asenda kunstlikku seemendust karja taastootmisel, kuid sihipärasel rakendamisel, kasutades doonoritena eliitloomi, võimaldab oluliselt suurendada aretusedu. Embrüosiirdamine on arenenud piimakarjakasvatusega maades üks olulisi aretuse tööriistu, maailmas siiratakse aastas 700-800 tuhat lehma embrüot. Meetod sobib nii lehmikute arvu suurendamiseks kui ka sugupullide saamiseks kindlalt vanematepaarilt. Meetodi rakendamisel on aga ka probleeme, mis tulenevad piimakarja puhul eeskätt lehmade sigimisvõime langusest, mida paralleelselt piimatoodangu kasvuga pea kõigis riikides on täheldatud. Seoses sellega on pööratakse maailmas suurt tähelepanu **veise munarakkude kehavälisele ehk *in vitro* viljastusele (IVF) ja embrüote kasvatamisele (IVC)**, mida on juba kolm aastakümnet tõhusalt kasutatud lastetusravis inimestel. Tänu intensiivsele uurimistöölle on IVF ja IVC arenemas arvestatavaks embrüote tootmise meetodiks veistel. Lühidalt seisneb tehnoloogia alljärgnevas. Munarakud aspireeritakse munasarja folliikuleid punkteerides. Protseduur toimub ultraheli kontrolli all 1-2 korda nädalas ja seda võib korrata pikema perioodi jooksul, isegi kuni tiinuse esimese kolmandiku lõpuni. Munarakud läbivad laboris täiendava küpsemisperioodi, viljastatakse seejärel soovitud pulli spermaga ja kasvatakse siirdamiseks sobiva arenguastmeni. Ühe ja sama emaslooma munarakke võib 2-3-kuise perioodi jooksul viljastada mitmete erinevate pullide spermidega ja seega toota palju erinevaid geenikombinatsioone. Kasutades suguselekteeritud spermat, on võimalik

toota 90% tõenäosusega emasembrüid, kusjuures ühest spermadoosist piisab mitmekümne munaraku viljastamiseks. **Seega võimaldavad IVF ja IVC toota palju geneetiliselt väga mitmekesisid ja soovitud sugupoolega embrüid**, mis võimaldab geneetilist progressi oluliselt kiirendada ja aretustööd soovitud kindlate tunnuste osas tõhustada.

Uute tehnoloogiate rakendamisel tuleb edu saavutamiseks arvestada aga mitmete võimalike koosmõjudega, mis tulenevad nii individuaalsete loomade bioloogilistest iseärasustest, tervisest, söötmisest, laborimeetodite tõhususest kui ka tehnoloogiate rakendamise maksumusest. Sellepärast vajab uute tehnoloogiate praktikasse soovitamine rakendusuuringuid võimalike riskide eelnevaks kindlakstegemiseks ja soovituste väljatöötamist nende vältimiseks.

**Käesoleva projekti raames aastatel 2013-2014 läbiviidud uurimistöö põhieesmärgiks oli** Eestis sobiva teaduslikult põhjendatud metoodika väljatöötamine suguselekteeritud sperma ja embrüotehnoloogiate rakendamiseks soovitud soost järglaste saamiseks ning karja geneetilise mitmekesisuse suurendamiseks.

## 2. Projekti käigus läbi viidud tegevused ja nende tulemused

### **Tegevus 1. Soovituste väljatöötamine piimalehmade suguselekteeritud spermaga efektiivseks seemendamiseks.**

Võrreldes mullikatega, takistavad lüpsilehmade õigeaegset seemendamist pärast poegimist emassuguelundite põletikud, häired innatsükli taastumisel, innatunnuste nõrk avaldumine ning sellest tingitud raskused inna avastamisel. Oluliseks probleemiks on suuretoodanguliste lüpsilehmade madal tiinestumine võrreldes mullikatega. Arvestades seda, et sugupoole järgi sorteeritud spermide viljastusvõime on madalam võrreldes sorteerimata spermidega, võib lüpsilehmade seemendamine suguselekteeritud spermaga langetada tiinestumist veelgi.

Lähtusime oma katsetes hüpoteesist, et lehmade valik ja inna esilekutsumise meetodite rakendamine vähendavad madala tiinestumise riski ja võimaldavad saada suguselekteeritud spermaga seemendamisest rahuldava tiinestuse.

Kasutasime katsetes inna esilekutsumist ja sünkroniseerimist, mis vähendavad vajadust inna avastamiseks. Hormonaalsed uuringud näitavad, et prostaglandiin F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α) on inna sünkroniseerimiseks suuretoodangulistel lüpsilehmadel väheefektiivne. Ligi 40%-l lehmadest on mittetiinestumise põhjuseks anöstrus, luteolüüsi puudumine pärast PGF<sub>2</sub>α manustamist ja anovulatoorne ind (Waldmann *et al.*, 2006). Seepärast kasutasime GnRH (gonadotropiini riliisinghormooni e gonadoliberiini) ja PGF<sub>2</sub>α preparaatide kombineeritud manustamist inna ja ovulatsiooni esilekutsumiseks ja sünkroniseerimiseks (nn Ovsynch protokoll, Pursley *et al.*, 1995).

Ovsynch protokoll põhineb sellel, et esimene GnRH manustamine initsieerib luteiniseeriva hormooni (LH) vabastamise hüpofüüsist ja seega dominantse folliikuli ovulatsiooni, mille järel formeerub munasarjas kollakeha. Seejärel manustatakse kollakeha taandarengu esilekutsumiseks 7 päeva pärast PGF<sub>2</sub>α ja 9. päeval süstitakse teist korda GnRH uue dominantse folliikuli ovulatsiooni esilekutsumiseks. Kuna ovulatsioon toimub 24 ja 32 tundi pärast GnRH manustamist ligi 90%-l lehmadest, siis on võimalik kasutada fikseeritud

ajal seemendust. Antud menetlus on eriti sobiv pikenenud innatsükli taastumisega ja eelnevast seemendamisest mitte tiineks osutunud lüpsilehmadel.

Meie katsetes kasutati suguselekteeritud spermata kolme erineva grupi lehmade tiinestamiseks:

- 1) pärast poegimist spontaanselt indlema hakanud lehmad ;
- 2) rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud lehmad, kelle innatsükli stimuleeriti Ovsynch skeemi järgi ja seejärel seemendati spontaanselt innast;
- 3) rektaalsel uurimisel mittetiineks osutunud lehmad, kelle innatsükli stimuleeriti Ovsynch skeemi järgi ja seejärel seemendati fikseeritud ajal.

Lehmad seemendati suguselekteeritud spermaga 12 t pärast spontaanse inna avastamist või kasutades fikseeritud ajal seemendamist 18-20 t pärast viimast GnRH süstimist. Üldine tiinestumine oli 45-60. päeval pärast seemendamist suguselekteeritud spermaga (Tabel 1) 12,2% madalam, võrreldes lehmade tiinestumisega tavaspermast. Tiinestumine nii suguselekteeritud kui ka tavaspermaga seemendamisel ei sõltunud sellest, kas kasutati ovulatsiooni indutseerimist või see toimus spontaanselt.

Märgime, et lehmade ovulatsiooni sünkroniseerimine ei olnud 100% efektiivne, sest 24 % lehmadest kollakeha regressiooni pärast PGF<sub>2</sub>α manustamist ei toimunud. Selle põhjuseks oli pärast esimest GnRH süstimist hilinenud ovulatsiooni järel formeerunud kollakeha varajane arengujärk. Kuna kollakeha ei reageeri PGF<sub>2</sub>α toimele esimese 6 päeva jooksul pärast ovulatsiooni, siis uus dominantne folliikul, mis tekkis pärast teist GnRH süstimist, ei ovuleerunud kõrge tsirkuleeriva progesterooni tõttu.

Ovulatsiooni sünkroniseerimisel lehmade seemendamiseks fikseeritud ajal peab arvestama, et 6 kuni 20% loomadest võivad innelda ettenähtud ajast varem. Lehmade tiinestumine seemendamisest enneaegse inna järel nii suguselekteeritud (15,3%) kui ka tavaspermaga (28,5%) on ligi 20% madalam, võrreldes seemendusega fikseeritud ajal pärast GnRH-PGF<sub>2</sub>α-GnRH manustamise lõpetamist (vastavalt 36,5% ja 48,5%). Mittetiinestumise põhjuseks enneaegse inna korral võivad olla kas ovulatsiooni ärajäämine või ebaküpse folliikuli ovulatsioon (Taponen *et al.* 2002; Macmillan *et al.* 2003). Vaatamata kirjeldatud puudustele, võib Ovsynch protokoll kasutada lüpsilehmade ettevalmistamiseks seemendamiseks suguselekteeritud spermaga, sest väheneb vajadus inna avastamise järele.

Esimese laktatsiooni lehmade tiinestumine (Tabel 2) suguselekteeritud spermaga seemendamisest spontaanse inna järel oli 10% kõrgem kui korduvpoeginutel - teise kuni neljanda laktatsiooni lehmadel. Madalam tiinestumine korduvpoeginud lehmadel võib olla tingitud erinevustest energiabilansis, piimatoodangus, ainevahetuses, emakakeskkonnas ja innajärgu pikkuses, võrreldes esmaspoeginud loomadega (Lopez *et al.* 2004; Santos *et al.* 2004). Ka ovulatsiooni sünkroniseerimisel oli esmaspoeginud lehmade tiinestumine suguselekteeritud spermaga seemendamisel fikseeritud ajal (38,7%) mõnevõrra kõrgem kui korduvpoeginud lehmadel (33,7%), kuid vahe oli väiksem.

**Tabel 1.** Lüksilehmade tiinestumine pärast seemendamist suguselekteeritud ja tavaspermaga spontaanse inna ja Ovsynch programmi korral

		Suguselekteeritud sperma			Tavasperma		
		Aeg pärast poegimist	Seemenduste arv	Tiinestumine	Aeg pärast poegimist	Seemenduste arv	Tiinestumine
<b>Lehmad</b>							
<b>Spontaanne ind:</b>							
Esimene	seemendus	83.4 ± 0.00	155	30.9% <sup>a</sup>	86.3 ± 0.00	105	47.6% <sup>a</sup>
	pärast poegimist						
Mittetiineks	osutunud	168.6 ± 0.00	89	39.3% <sup>b</sup>	167.5 ± 0.00	63	49.2% <sup>b</sup>
	lehmad						
	<u>Keskmine</u>	114.4 ± 0.00	244	<u>34.0%</u>	116.8 ± 0.00	168	<u>48.2%</u>
<b>Ovsynch programm:</b>							
Esimene	seemendus	113.5 ± 0.00	59	30.5% <sup>a</sup>	131.5 ± 0.00	16	43.8% <sup>a</sup>
	pärast poegimist						
Mittetiineks	osutunud	219.2 ± 0.00	307	36.8% <sup>b</sup>	225.3 ± 0.00	315	46.9% <sup>b</sup>
	lehmad						
	<u>Keskmine</u>	202.2 ± 0.00	366	<u>35.8%</u>	220.9 ± 0.00	331	<u>46.8%</u>
<b>Kokku</b>			<b>610</b>	<b>35.1%</b>		<b>499</b>	<b>47.3%</b>

**Tabel 2.** Erineva laktatsiooni lüpsilehmade tiinestumine suguselekteeritud ja tavaspermaga seemendamisesest spontaanse inna ja ovulatsiooni sünkroniseerimise järel

Laktatsioon	Suguselekteeritud sperma		Tavasperma	
	Seemenduste arv	Tiinestumine	Seemenduste arv	Tiinestumine
<b>Spontaanne ind</b>				
1	68	41,2%	61	56,4%
2-4	176	31,2%	188	45,7%
<b>Ovsynch</b>				
1	153	38,7% <sup>a</sup>	213	48,0%
2-4	213	34,3%	297	47,0%

Lehmade tiinestumine esmakordsest spontaanse inna järel tehtud seemendamisesest pärast poegimist (Tabel 3) oli 8,4% madalam kui teisest, kolmandast ja neljandast seemendamisesest. Tiinestumine oli ka Ovsynch lehmadel pärast teist, kolmandat ja neljandat seemendamist kõrgem, võrreldes tiinestumisega esmakordsest seemendusest. Samaselt tõusis tiinestumine tavasperma kasutamisel.

**Tabel 3.** Lüpsilehmade tiinestumine suguselekteeritud ja tavaspermaga seemendamist spontaanse inna ja ovulatsiooni sünkroniseerimise järel seemenduse arvu suhtes

Seemendus	Suguselekteeritud sperma		Tavasperma	
	Seemenduste arv	Tiinestumine	Seemenduste arv	Tiinestumine
<b>Spontaanne ind</b>				
1	155	30,9%	105	47,6%
2-4	89	39,3%	63	49,2%
<b>Ovsynch</b>				
1	59	30,5%	16	43,8% <sup>a</sup>
2-4	307	36,8%	330	47,6%



Ajavahemik poegimisest seemendamiseni suguselekteeritud ja tavaspermaga spontaanselt indlevatel lehmadel olulist mõju tiinestumisele ei avaldunud.

Suurt mõju avaldas aga lehmade tiinestumisele suguselekteeritud spermaga seemendamisel nii spontaanse inna korral kui ka ovulatsiooni sünkroniseerimisel päevane piimatoodang (Tabel 4), kus kõige madalam tiinestumine oli lehmadel, kelle päevalüps oli üle 30 kg. Huvitav, et sellist seost ei leitud tavaspermaga seemendamisel.

**Tabel 4.** Lüpsilehmade tiinestumine suguselekteeritud ja tavaspermaga seemendamisest spontaanse inna ja ovulatsiooni sünkroniseerimise järel sõltuvalt piimatoodangust

Piimatoodang päevas	Suguselekteeritud sperma		Tavasperma	
	Seemenduste arv	Tiinestumine	Seemenduste arv	Tiinestumine
<b>Spontaanne</b>				
<b>ind:</b>				
20 - 25 kg	41	53.7% <sup>a</sup>	21	47.6% <sup>a</sup>
25.1 - 30 kg	48	31.3% <sup>b</sup>	38	44.7% <sup>b</sup>
> 30 kg	155	29.6% <sup>b</sup>	109	49.5% <sup>a</sup>
<b>Ovsynch</b>				
20 - 25 kg	58	44.8% <sup>a</sup>	47	42.5% <sup>a</sup>
25.1 - 30 kg	92	39.1% <sup>b</sup>	83	51.8% <sup>b</sup>
> 30 kg	216	31.9% <sup>c</sup>	216	46.7% <sup>c</sup>

## **Tegevus 2. Suguselekteeritud sperma efektiivsuse väljaselgitamine doonorloomadelt embrüote saamiseks**

Suguselekteeritud spermat kasutati esilekutsutud superovulatsiooniga kuue piimalehma, embrüodoonori, seemendamiseks. Vaatamata sellele, et seemenduseks kasutati iga doonori puhul nelja spermadoosi, oli üle poole seitsmendal päeval pärast seemendust emakast väljaloputatud munarakkudest viljastamata. Vaid 18% viljastunud munarakkudest olid siirdamiseks kõlblikud. Tavaspermaga seemendades oleme embrüodoonoritelt saanud 90 % viljastunud munarakke ja 40-50% siirdamiskõlblikke embrüoid.

Seega osutus embrüodoonorite suguselekteeritud spermaga seemendamine väheefektiivseks ning arvestades embrüodoonorite ettevalmistamise ja emakaloputuse maksumust, ei anna see meetod loodetud tulu. Samasuguste järel dusteni jõudsid soome kolleegid, kelle tulemus samuti näitas, et superovuleeritud ja suguselekteeritud spermaga seemendatud lehmadel saadud munarakkudest on enam kui pooled (56%) viljastamata. Neil oli küll viljastunud

munarakkudest 48% siirdamiseks kõlblikud, kuid embrüote arv doonori kohta jäi tervikuna väga madalaks (Peippo et al, 2009).

### **Tegevus 3. Töötatakse välja munarakkude *in vitro* viljastamise tehnoloogia mudel soovitud sugupoolega järglaste saamiseks**

Katsetes kasutati tapamajas isoleeritud munasarjadest aspireeritud munarakke ja elusloomade (Märja katsefarm, praakimisele määratud loomad) munasarjadest ultraheli kontrolli all punktsioonisüsteemi abil aspireeritud munarakke.

Tapamajast pärit munarakkudega läbiviidud katsetes töötati esmalt välja suguselekteeritud spermidega munarakkude viljastamise protokoll. Seejärel viidi läbi 19 katset nelja erineva pulli suguselekteeritud spermaga ja ühe hea viljakusega pulli sorteerimata spermaga. Sperma sulatati 37°C juures vesivannil ühe minuti jooksul. Spermid pesti korduva tsentrifugimise teel. Munarakkude viljastamiseks kasutati pestud sperme kontsentratsioonis 1 miljon spermi/1mL IVF-söötme kohta. Munarakke ning sperme inkubeeriti koos 18-19 tundi 38,5°C juures 5% CO<sub>2</sub> ja 95% õhuniiskusega keskkonnas.

Kasutati nelja erineva pulli suguselekteeritud spermat ning paralleelselt laboris kasutusel olevat selekteerimata spermat, mille blastotsüsti saagis hea kvaliteediga munarakkude puhul on olnud kuni 50%. Kõigis katsetes oli suguselekteeritud sperma kasutamisel munarakkude viljastumine madalam võrreldes tavaspermaga (Tabel 5).

Suguselekteeritud spermaga viljastamisel ilmnisid pullide vahel suured erinevused embrüote saamise efektiivsuses, seega kõikide pullide sperma ei sobi *in vitro* viljastamiseks.

**Tabel 5.** Erinevate pullide suguselekteeritud ja selekteerimata sperma abil saadud blastotsüstide saagiste võrdlus.

<b>Pull</b>	<b>Ass</b>	<b>Bss</b>	<b>Css</b>	<b>Dss</b>	<b>E selekteerimata</b>
Katsete arv	5	7	1	6	7
Munarakkude arv	361	441	117	362	503
Blastotsüstide					
arv ja %	4 (1,11%)	22 (4,99%)	0	0	59 (11,73%)

Tulemusi mõjutas ka munarakkude kvaliteedi varieerumine katsete perioodil. Erinevates üksikkatsetes ulatus blastotsüstide saagis suguselekteeritud sperma puhul 20% -ni ja

selekteerimata sperma puhul üle 30%, seega pulle valides ja munarakkude hea kvaliteedi korral on võimalik suguselekteeritud spermat kasutades saada hea embrüote saagis.

Munarakke aspireeriti ka kahelt katselehmalt 90 päeva jooksul. Kummagi looma munasarju punkteeriti kord nädalas, kokku 10 korda. Punkteeritud folliikulite arv oli 123. Kokku saadi 41 (33,33%) munarakku. Nendest arenes blastotsüstiks üks viljastatud munarakk (2,44%).

Kuna elusloomadelt munarakkude aspireerimise tehnoloogia omandamist alustati praktiliselt nullist, siis kulus esimene aasta tehnoloogia optimeerimisele. Nii katsetati munarakkude aspireerimiseks erineva tugevusega vaakumit, testiti erinevaid nõelu (tavaline ja 45 kraadise nurga all teritatud tipuga) ja erineva pikkusega voolikutesüsteeme ning lahuseid. Aspireerimistehnika parandamiseks konsulteeriti kogenud välisspetsialistidega.

Tulemused pole esialgu veel piisavalt head, et embrüote kommertsiaalset tootmist käivitada. Põhirõhk tuleb pöörata munarakkude kvaliteedi parandamisele ja sobivate pullide väljavalimisele ning embrüote tootmise tootearendusele.

#### **Tegevus 4. Koostatakse trükis suguselekteeritud sperma rakendusvõimaluste kohta piimakarjakasvatases.**

Loomakasvatajatele ja aretajatele mõeldud trükises võetakse kokku meie uurimistulemused suguselekteeritud sperma kasutamise võimaluste kohta ning antakse tootjatele omapoolseid soovitusi. Trükis on kasutatav ka õppevahendina loomakasvatuse ja veterinaarmeditsiini üliõpilastele.

On valminud trükise peatükkide käsikirjad ja toimub nende retsenseerimine ja keeleline toimetamine.

#### **Tegevus 5. Kogutakse lähteandmed tasuvusanalüüsi läbiviimiseks ning viiakse läbi tasuvusanalüüs selgitamaks välja majanduslikud kriteeriumid, mis võimaldavad teha otsust suguselekteeritud sperma ja embrüotehnoloogiate kasutamise ja selle ulatuse üle piimakarjas.**

Eesti Maaülikooli majandus- ja sotsiaalinstituut alustas 2013. aastal piimatootmises kasutatavate tootmistehnoloogiatele majandusliku hinnangu andmiseks laiaulatuslikku uuringut, mille eesmärk on võrrelda piimatootmises kasutatavate tehnoloogiate tootlikkuse tõstmise võimalusi ja efektiivsust. Analüüsi tulemustest selgus, et ettevõtjate tehniline efektiivsus sõltus muuhulgas EHF tõugu suuremast osakaalust karjades, kõrgemast karja suhtelisest aretusväärtusest. Negatiivselt mõjutab piimatootjate tehnilist efektiivsust somaatiliste rakkude kõrgem arv ja ettevõtja kõrgem vanus. Antud analüüsist selgus, et tehnilist efektiivsust ja tootlikkust mõjutab loomade geneetiline potentsiaal ja ka laudas kasutatav lüpsitehnoloogia.

Antud analüüsi ühe osana uuriti piimatootmise ettevõtete puhul suguselekteeritud sperma kasutamist karja uuendamisel. Küsitlusele vastanud 278 piimatootmiseettevõttest kasutas suguselekteeritud spermat ca 14% ehk 40 tootjat. Ilmnes, et keskmine piimalehmade arv oli

suguselekteeritus sperma kasutamisel 337 piimalehma ja ettevõtjatel, kes ei kasutanud oli piimalehmade arv 93. Selgus, et keskmiselt nooremad ettevõtte juhid kasutavad uuemaid tehnoloogiaid, keskmine vanus suguselekteeritud sperma kasutamisel oli vaatlusalustes ettevõtetes 51 aastat. Andmetest selgub, et vastavat tehnoloogiat kasutavad enam keskeri ja kõrgharidusega ettevõtete juhid.

Koondina võib järeldada, et suguselekteeritud sperma kasutamine ei ole Eesti piimatootmise ettevõtete poolt väga laialt levinud ning pigem üksikud teadlikumad ettevõtjad kasutavad seda karja uuendamisel, mis tuleneb nende ettevõtete suuremast riskijulgusest ja vajadusest kaasas käia uuemate tehnoloogiatega. Antud osa uurimusest on ettevalmistamisel ajakirjaartikkel.

Aruandeperioodil viidi läbi konkreetne uurimus, milles keskenduti suguselekteeritud sperma kasutamise majandusliku eelise analüüsimisele tavasperma kasutamise suhtes, eesmärgiga püüda selgitada vastava tehnoloogia kasutamise tasuvust. Antud analüüsi põhjal on kaitstud majandus- ja sotsiaalinstituudis Jaak Naabri magistritöö (2014). Uurimuse eesmärk oli välja selgitada eesti holsteini (EHF) mullikate kunstlikul seemendamisel kasutatud suguselekteeritud sperma majanduslik eelis tavasperma kasutamise suhtes. Töö eesmärgi saavutamiseks olid püstitatud järgmised uurimisküsimused: a) milline oli mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamise taastootmise eelis tavasperma kasutamise suhtes; b) millised olid mullikate seemendamisel tava- ja suguselekteeritud spermaga taastootmis- ja majandusnäitajad; c) milline oli mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslik eelis tavasperma kasutamise suhtes; d) millist mõju avaldavad mullikate peamiste taastootmis- ja majandusnäitajate muutused majanduslikule eelisele?

Uurimistöö motivatsioon oli seotud mitmete rahvusvahelises kirjanduses esile toodud küsimustega. Esmalt on piimatootjad esile toonud, et majanduslikel kaalutlustel soovitakse soovitud soost järglast piimakarjas ja sellest tulenevalt on biotehnoloogia areng avanud mitmeid võimalusi. Eeltoodust tulenevalt on kunstlik seemendamine suguselekteeritud spermaga piimakarja taastootmise tehnoloogia, millega saab aretada rohkem ja parema geneetilise potentsiaaliga lehmvasikaid. Jaak Naaber'i magistritöös on esile toodud kirjanduse andmed, mille kohaselt mullika või lehma kunstlik seemendamine suguselekteeritud spermaga võimaldab piimatootjatel valida sobivast soost järglane (Cabrera 2009, lk 1; DeJarnette et al 2009, lk 49; De Vries 2010, lk 357; Hossein-Zadeh et al 2010, lk 17; Hutchinson et al 2013, lk 1312; Sá Filho et al 2010, lk 1636; Weigel 2004, lk E120). Suguselekteeritud sperma kasutamisest saadav majanduslik eelis tavasperma kasutamise suhtes on peamiselt seotud suurema võimalusega saada järglasena lehm- kui pullvasikas (De Vries 2008, lk 68; Olynk, Wolf 2007, lk 2569), mis võib aidata suurendada piimatööstuste kasumlikkust (Hossein-Zadeh et al 2010, lk 17; Jo et al 2013, lk 2; Norman et al 2010, lk 3881). Majanduslikult on mõistlik kasutada suguselekteeritud spermaga seemendamist esimesel või teisel seemendamisel. Samas tuleb arvestada asjaoluga, et nii suguselekteeritud sperma kasutamise optimeerimine kui ka majanduslik kasu, on igal piimatootjal erinev. (De Vries 2008, lk 67). Suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslik eelis tavasperma kasutamise suhtes sõltub mitmest aspektist: turuolukorrast (hinnad ja kulud), juhtimise tavadest (aretusprogramm) ja tehnoloogilisest paikapidavusest (soo määramise täpsus) (McCulloch et al 2013, lk 6366). Lehmade madalama tiinestumise tõenäosuse tõttu on

suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslikud investeeringu tasuvuse uuringud keskendunud peamiselt mullikatele (DeJarnette et al 2008, lk 1778). Vastavat tehnoloogiat ei ole mõistlik rakendada kogu karja ulatuses (Fetrow et al 2007, lk 10). Majanduslikult oluliseks peetakse suguselekteeritud sperma kasutamisel asjaolu, et vasikate sünnihetkel kaaluvad lehmvasikad keskmiselt 2 kg vähem kui pullvasikad, millega vähenevad esmaspoegijal raske sünnituse keskmised ravikulud (De Vries 2010, lk 360; Fetrow et al 2007, lk 5; Seidel Jr. 2007, lk 445). Seega saavad piimatootjad karja taastootmisel aretada neile sobivalt lehmvasikaid, mis võib piimatootjatele majandusliku elujõulisuse säilitamiseks olla sama tähtis, kui sigivuse tõhustamine. Majanduslikult on mõistlik kasutada suguselekteeritud spermaga seemendamist esimesel või teisel seemendamisel. Samas tuleb arvestada asjaoluga, et suguselekteeritud sperma kasutamise optimeerimine kui ka majanduslik kasu, on igal piimatootjal erinev. Vastava tehnoloogia kasutamine piimakarjas võimaldab lehmvasikaid taastoota umbes 90% tõenäosusega, kuid majanduslikust seisukohast peab iga piimatootja arvestama, et majanduslik kasu väljendub tema karja taastootmis- ja majandusnäitajatest. De Vries (2012) andis oma uuringust suguselekteeritud sperma kasutamisel ülevaate mullikate ja lehmade taastootmis- ja majandusnäitajatest teabelehel, ning tõi välja olulised suguselekteeritud sperma kasutamist mõjutavad tegurid ja arvutas, milline on piimatootjatel suguselekteeritud sperma kasutamisest saadav majanduslik eelis tavasperma kasutamise suhtes. Uuringus anti ülevaate lehmikute taastootmis- ja majandusnäitajatest, mis suguselekteeritud sperma kasutamist majanduslikust seisukohast peamiselt mõjutavad: (Ibid., lk 2-5) lehm- ja pullvasika sünni tõenäosus; vasikate turuväärtus; tiine mullika turuväärtus; seemendusdoosi maksumus; mullikate tiinestumise tõenäosus; lehmade tiinestumise tõenäosus; tiinestumise tõenäosuse vähenemine ebaõnnestunud seemendamise järgselt; esmakordselt poegiva mullika vanus; mullika kasvatuskulud; geneetiline potentsiaali kasv; esmaspoegija raske sünnituse ravikulud. Mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamise majandusliku eelise arvutamisel tavasperma kasutamise suhtes kasutati peale peamiste mõjutajate ka järgnevaid näitajaid: (Ibid., lk 9) esmakordselt seemendatava mullika vanus; diskontomäär; seemendamiste arv kuni tiinestumiseni; viimast kuud tiine mullika turuväärtus ilma vasika turuväärtuseta; karjast praagitud ja tapetud mullika turuväärtus; surnult sündide tõenäosus.

Cabrera (2009) arvutas mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslikku eelist tavasperma kasutamise suhtes. Majandusliku eelise arvutamisel tugineti elulemuskõverate osalise eelarvestamise meetodikale, millega arvutati viiele suguselekteeritud spermat sisaldavatele taastootmise strateegiatele NPV-d ja neid võrreldi tavaspermaga taastootmise strateegia NPV-ga.

Uurimistöö tulemused: Suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslik eelis tavasperma kasutamise suhtes sõltub mitmest aspektist: turuolukorrast (hinnad ja kulud), juhtimise tavadest (aretusprogramm) ja tehnoloogilisest paikapidavusest (soo määramise täpsus). Lehmade madalama tiinestumise tõenäosuse tõttu on suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslikud investeeringu tasuvuse uuringud keskendunud peamiselt mullikatele. Vastavat tehnoloogiat ei ole mõistlik rakendada kogu karja ulatuses. Magistritöö andmed koguti personaalintervjuu vormis küsimustikuga, mille eesmärgiks oli saada Eesti

Tõuloomakasvatuse Ühistult (ETKÜ) ja võimalusel Eesti piimatootjatelt laiemalt eesti holsteini tõugu mullikate seemendamisel tava- ja suguselekteeritud spermaga taastootmis- ja majandusnäitajaid. Majandusliku eelise analüüsis rakendati Cabrera poolt välja töötatud elulemuskõverate osalise eelarvestamise meetodikat. Analüüsitavate ettevõtjate piimakarja taastootmise strateegiatena kasutati järgmisi variante, esimesel juhul seemendamist suguselekteeritud spermaga, järgnevatel seemendamistel tavaspermat; Teises variandis, esimesel kahel seemendamisel kasutati suguselekteeritud spermat, järgnevatel seemendamistel tavaspermat; Kolmandas variandi, esimesel kolmel seemendamisel kasutati suguselekteeritud spermat, järgnevatel seemendamistel tavaspermat; Neljandas variandis, esimesel neljal seemendamisel kasutati suguselekteeritud spermat, viimasel seemendamisel tavaspermat; Viiendas variandis, kõikidel seemendamistel kasutati ainult suguselekteeritud spermat; Kuuendas variandis, kõikidel seemendamistel kasutati ainult tavaspermat. Saadud tulemuste osas viidi läbi tundlikkusanalüüs, millega hinnati personaalintervjuude käigus kogutud olulisemate taastootmis- ja majandusnäitajate mõju. Tulemustena, piimakarja taastootmise analüüsis 10 mullika seemendamisel tava- ja suguselekteeritud spermaga ideaaltingimustes mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamisel oli märkimisväärne piimakarja taastootmise eelis tavasperma kasutamise suhtes. Majanduslikust seisukohast selgus, et ETKÜ liikmete ja teiste pm. tootjate kombineeritud keskmiste taastootmis- ja majandusnäitajatega eesti holsteini tõugu mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamisel ei olnud majanduslikku eelist tavasperma kasutamise suhtes. ETKÜ liikmete tundlikkusanalüüsi tulemustest selgus, et märkimisväärselt mõjutasid tulemusi mullikate tiinestumise tõenäosus ja vastsündinud lehmvasika turuväärtus. Kõige enam vähendas suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslikku eelist tavasperma kasutamise suhtes madal vastsündinud lehmvasika turuväärtus. Suguselekteeritud sperma seemendusdoosi maksumus mõjutas suguselekteeritud spermaga strateegiate tulemusi, kuid mitte märkimisväärselt. Lisaks selgus, et lehmvasika turuväärtuse tõusmisel oleksid ETKÜ liikmetel positiivsed eeldused suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslikule eelisele tavasperma kasutamise suhtes. ETKÜ liikmed ja Tootja kasutasid mullikate seemendamisel suguselekteeritud spermat ainult esimesel seemendamisel. Mullikate mitte tiinestumise korral jätkati seemendamisi tavaspermaga. ETKÜ liikmetel ja Tootjal oli esimesel seemendamisel suguselekteeritud spermaga majanduslik kahju tavaspermaga seemendamise suhtes vastavalt 35,14 € ja 30,07 €. Mullikate mitte tiinestumise korral suguselekteeritud spermaga seemendamise jätkamisel oleks majanduslik kahju tavasperma kasutamise suhtes olnud ETKÜ liikmetel ja Tootjal ligi kaks korda kõrgem. Majanduslikust seisukohast oli nende otsus kasutada suguselekteeritud spermat ainult esimesel seemendamisel mõistlik, millega hoiduti suuremast majanduslikust kahjust. Tootja kombineeritud andmetega saadud tulemustele tuginedes, et mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamisel ei olnud majanduslikku eelist tavasperma kasutamise suhtes, viidi läbi tundlikkusanalüüs. Selle abil hinnati peale olulisemate taastootmis- ja majandusnäitajate ka täiendavalt mittekõlbuliku ja puuduolevate näitajate mõju tulemustele. Selgus, et mullikate kasvatuskulud taastootmise strateegiate tulemustele olulist mõju ei avaldanud. Märkimisväärselt mõjutasid tulemusi mullikate tiinestumise tõenäosus suguselekteeritud spermaga ja vastsündinud lehmvasika turuväärtus. Tootjal oleks suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslik eelis tavasperma kasutamise suhtes esimesel seemendamisel suguselekteeritud spermaga 31,62 € juhul, kui mullikate tiinestumise

tõenäosus võrreldes algse tiinestumise tõenäosusega oleks olnud 30 protsendipunkti kõrgem ja turul kaubeldava vastsündinud lehmvasika väärtus oleks olnud 500 €. Seega oli Tootja otsus eelistada suguselekteeritud sperma kasutamise asemel tavasperma kasutamist majanduslikele tulemustele tuginedes põhjendatud. ETKÜ liikmete mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamisel oli tiinestumise tõenäosus kuni 50%. Mullikate tiinestumise tõenäosusega 50% oli suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslik kahju tavasperma kasutamise suhtes esimesel seemendamisel suguselekteeritud spermaga 34,14 €. ETKÜ liikmete mullikatel võis olla suguselekteeritud spermaga tiinestumise tõenäosus ka 40%. Sellisel juhul oli ETKÜ liikmete suguselekteeritud sperma kasutamisel majanduslik kahju tavasperma kasutamise suhtes esimesel seemendamisel suguselekteeritud spermaga 46,40 €. Kui mõnel ETKÜ liikmel oleksid mullikate keskmised taastootmis- ja majandusnäitajad võrdsed käesolevas uuringus kasutatud andmetega, v.a lehmvasika turuväärtus (300 €), siis oleks majanduslikust seisukohast mõistlik kasutada mullikate esimesel seemendamisel suguselekteeritud spermat. ETKÜ liikmete keskmiste taastootmis- ja majandusnäitajatega eesti holsteini tõugu mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamisel ei olnud majanduslikku eelist tavasperma kasutamise suhtes peamiselt seetõttu, et vastsündinud lehmvasikate turuväärtus oli madal. Lisaks on suguselekteeritud sperma kasutamise majandusliku eelise eelduseks selle kasutamine mullikatel, et saavutada võimalikult kõrge tiinestumise tõenäosus. Lehmvasika turuväärtuse tõusmisel oleksid ETKÜ liikmetel positiivsed eeldused suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslikule eelisele tavasperma kasutamise suhtes.

Kokkuvõttes võib esile tuua, et suguselekteeritud sperma kasutamine karja uuendusena majanduslikult sõltub erinevatest teguritest ja antud tehnoloogia kasutamine pole alati õigustatud, mis tarvis on otsuse langetamiseks vajalik põhjalikult kaaluda eeltoodud parameetrite järgi oma ettevõtte andmeid ja arvestada konkreetset turusituatsiooni ja lehmvasika turuväärtust. Ettevõtetal tuleks otsuse tegemiseks teha koostööd valdkonna teadlastega. Saadud tulemused on märkimisväärse majandusliku mõjuga põllumajandustootmises piimatootjate tootmisotsuste kujundamisel ja vastuvõtmisel. Teoreetilise mudeli abil saadud tulemused võimaldavad prognoosida ettevõtjate majanduslikku tulemit suguselekteeritud sperma kasutamisel. Antud uurimus on teadaolevalt esimene Eestis ja seega tuleb vastavat uurimustööd jätkata tulemuse statistilise usalduse suurendamiseks.

### **3. Võrdlus rahastamistaotluses toodud eesmärgiga**

Rahastamistaotluses toodud eesmärgid on põhiosas täidetud.

1. Kindlaks on tehtud kriteeriumid, mille alusel valida välja lehma suguselekteeritud spermaga seemenduseks ja testitud on majanduslikke kriteeriume, mis võimaldavad teha otsust suguselekteeritud sperma kasutamise üle konkreetses karjas.
2. On selgunud, et suguselekteeritud sperma ei ole efektiivne superovuleeritud piimalehmadel, embrüodoonoritelt, embrüote saamiseks. Projektiperioodil ei õnnestunud läbi

viia katseid emasembrüote saamiseks superovuleeritud mullikatelt. Põhjuseks oli projekti lühike aeg ja töökoormus teiste uurimisülesannete läbiviimisel.

3. On välja töötatud veise munarakkude *in vitro* viljastuse mudel, mille efektiivsust edaspidi loomakasvatuse praktikas testitakse ja meetodeid optimeeritakse tootearendusprojekti käigus. Uuringuga oli seotud üks kaitstud magistritöö ja üks pooleliolev doktoritöö.

4. On omandatud kogemused, kuidas koguda lähteandmeid sigimise biotehnoloogiate rakendamise tasuvusanalüüsi teostamiseks ja koostatud vastavad mudelid, mille põhjal on valminud üks magistritöö.

5. Valminud on ja viimistletakse trükise käsikirja suguselekteeritud sperma rakendusvõimaluste kohta piimakarjakasvatases.

#### **4. Uued (täiendatud) teadmised või oskused, mida rakendusuuringu käigus omandati.**

Täiendati teadmisi ja praktilisi oskusi munarakkude aspireerimiseks elusloomadelt ja munarakkude *in vitro* viljastamise meetodeid, saadi uusi teadmisi lüpsilehmade seemendustulemusi mõjutavatest teguritest ja lehmade ovulatsiooni sünkroniseerimise skeemidest, esimest korda Eestis analüüsiti sigimise biotehnoloogilise meetodi majanduslikku efektiivsust teoreetilise mudeli abil.

#### **5. Järeldused ja praktilised soovitused**

1. Hea tulemuse saamiseks lüpsilehmade seemendamisel suguselekteeritud spermaga on vajalik lehmade valik.

2. Tingimata on vajalik eelnev loomade günekoloogiline uurimine poegimisjärgsete haiguste avastamiseks ja ravi korraldamiseks enne seemendusi.

3. Lüpsilehmade seemendamisel suguselekteeritud spermaga on oluline, et nad oleksid normaalses toitumuses ja nendel ei esine jäsemehaigusi, mastiiti ning ainevahetushäireid.

4. Suguselekteeritud spermat võib kasutada lüpsilehmade seemendamiseks nii spontaanselt innast kui ka ovulatsiooni sünkroniseerimise järel. Viimasel juhul (Ovsynch protokoll kasutamisel) jääb ära vajadus inna avastamise järele. Spontaanse inna korral soovitame seemendada neid loomi, kelle innatunnused on selgelt määratletavad.

5. Suguselekteeritud spermaga seemendamisel on esimese laktatsiooni lehmade tiinestumine kõrgem, võrreldes korduva poeginud lehmadega.

6. Lüpsilehmade tiinestumine suguselekteeritud spermaga seemendamisel on madalaim lehmadel, kelle päevane piimatoodang ületab 30 kg.



7. Suguselekteeritud sperma kasutamisel embrüote *in vitro* tootmiseks tuleb arvestada suure varieeruvusega pullide vahel ja vajadusega nende spermat enne laialdast kasutamist testida.
8. Meie katsete tulemuste ja mujal saadud tulemuste põhjal ei soovita me kasutada suguselekteeritud spermat doonorlehmade seemenduseks embrüote *in vivo* tootmisel.
9. Kõige enam vähendas suguselekteeritud sperma kasutamise majanduslikku eelist tavasperma kasutamise suhtes madal vastsündinud lehmvasika turuväärtus. Suguselekteeritud sperma seemendusdoosi maksumus mõjutas suguselekteeritud spermaga strateegiate tulemusi, kuid mitte märkimisväärselt.
10. ETKÜ liikmete keskmiste taastootmis- ja majandusnäitajatega eesti holsteini tõugu mullikatel suguselekteeritud sperma kasutamisel ei olnud majanduslikku eelist tavasperma kasutamise suhtes peamiselt seetõttu, et vastsündinud lehmvasikate turuväärtus oli madal.
11. Teoreetilise mudeli abil saadud tulemused võimaldavad prognoosida ettevõtjate majanduslikku tulemit suguselekteeritud sperma kasutamisel.

## **6. Saadud põllumajanduslik ja majanduslik efekt ja rakendusüuringu tulemuste kasutamise võimalused**

Suguselekteeritud sperma rakendused toetavad Eesti veisekasvatuse perspektiive ja konkurentsivõimet, võimaldades kiirendada geneetilist progressi ja suurendada karja järelkasvuks ning tõuloomade müügiks lehmikute arvu. Uued tehnoloogiad on suunatud emasloomade hulgas tehtava valiku suurendamisele ja geneetilise mitmekesisuse suurendamisele ja annavad võimaluse tõhusamaks aretustööks nii ühe farmi piires kui ka populatsioonis tervikuna.

Pärast tootearendusfaasi läbimist on võimalik kindla sugupoolega embrüote tootmine *in vitro*. EMÜ ja Tervise TAK-i koostöös on TAK-i programmi raames arendamisel embrüote eluvõime hindamise ja embrüote geneetilise testimise meetodid. Kindla sugupoolega geneetiliselt mitmekesisete embrüote tootmine kombineeritult nende eluvõime hindamise ja geneetilise testimisega annab veiste aretustööle üleilmselt ja ka väiksemate populatsioonide mastaabis uue efektiivse tööriista. Tulevikus on võimalik aretustööks vajalike soovitud sugu ja valitud geenikombinatsioonidega embrüote sihipärane tootmine *in vitro*.

Kõik sigimise uued meetodid vajavad enne laialdast praktilist rakendamist tasuvusanalüüsi. Need võimaldavad põllumajandustootjatel teha põhjendatud otsuseid oma ettevõttes uute tehnoloogiate kasutuselevõtuks ja kasumlikuks majandamiseks. Uuringute raames saadud tulemused näitavad, et mitte alati ei ole konkreetse ettevõtte majandamistingimuste juures uued meetodid kasumlikud.

Uuringute tulemused avaldatakse teadus- ja populaarteaduslikes artiklites ning konverentsiettekannetes ja nende kasutajaks on potentsiaalselt kõik Eesti piimakarjakasvatajad ning samuti kunstlikku seemendust ja embrüote tootmist rakendada soovijad lihakarjakasvatajad.

Projekti tulemusi kasutatakse ka loomakasvatajate, seemendustehnikute ja loomaarstide täienduskoolituses ja EMÜ üliõpilaste õpetamisel.