



EUROPOS ŽEMĖS ŪKIO FONDAS KAIMO PLĖTRAI:
EUROPA INVESTUOJA Į KAIMO VIETOVES

Ankstyvojo veršingumo diagnostika – svarbi embrionų mirtingumo prevencijos priemonė

Jonas Kutra, Danguolė Urbšienė, Algirdas Urbšys

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Gyvulininkystė institutas

Dažnai dėl neigiamo aplinkos poveikio sėklintoms ir neapsivaisinusioms ar netekusioms vaisiaus karvėms ilgą laiką nebūna rujos požymių. Veršingumas ūkiuose paprastai tiriamas praėjus 2,5-3 mėn. po sėklinimo, ir tik tada išaiškinamos neveršingos karvės. Dėl laiku neapvaisintos karvės ūkis negauna mažiausiai 5 Lt pajamų per dieną. Neapsėklus karvės keletą mėnesių, gaunami šimtais litų skaičiuojami ekonominiai nuostoliai.

Embrioninis mirtingumas pieninių karvių bandose dažnai sutrikdo normalų bandos reprodukcijos ciklą ir traktuojamas kaip „blogas apvaisinimas“. Jo priežastys gali būti įvairios: genetiškai paveldimi defektai, nesubalansuotas šėrimas, medžiagų apykaitos sutrikimai, infekcinės ligos, apsinuodijimai, stresai, aplinkos poveikis. Ankstyvas veršingumo nustatymas sudaro sąlygas greičiau persėklinti neveršingas karves ir sumažinti intervalus tarp veršiavimų bei padidinti pieno ūkių bandų reprodukcijos efektyvumą ir gauti daugiau produkcijos. Pieno tipo karvių embrioninio mirtingumo tyrimai dažniausiai atliekami pasitelkiant skenavimą ultragarsu, o pastaruoju metu – ir panaudojant specifinio nėštumo baltymo B testus.

Embrioninis mirtingumas pieninių galvijų bandose

Pieno gamintojams galvijų embrioninis mirtingumas išlieka viena iš aktualiausių problemų: sutrinka planuotas veršiavimosi cikliškumas, pailgėja servis periodas. Dėl to neišnaudojamas gyvulio genetinis potencialas maksimaliam pieno produkcijos kiekiui per laktaciją gauti. Embrioninis mirtingumas, praėjus 27 dienoms po apsėklinimo, svyruoja nuo 3,2 % bandose, kurių produktyvumas siekė 6000-8000 kg pieno per metus (tyrimų Airijoje duomenimis) iki 42,7 % didelio produktyvumo karvių bandose karščio streso poveikyje. JAV mokslininkai pateikia duomenis apie tai, kad nuo 7 iki 33 % laktuojančių karvių veršingumų netenka tarp 28 ir 98 veršingumo dienos. Dažniausiai veršingumų netenkama iki 45 veršingumo dienos. Ankstyvas veršingumo nustatymas sudaro sąlygas greičiau persėklinti išaiškintas neveršingas karves ir sumažinti intervalus tarp sėklinimų.

Embrioninį mirtingumą sąlygoja įvairios priežastys:

Genetiniai faktoriai. Genetiškai nulemtas embrioninis mirtingumas sudaro apie 10 % viso embrioninio mirtingumo atvejų, ir daugiausia pasireiškia per pirmąsias dvi savaites po apvaisinimo. Letalinių genų poveikyje embrionai žūva per pirmas 5 dienas po apvaisinimo. Vienas iš faktorių, lemiančių embrionų žuvimą, yra didesnis ar mažesnis chromosomų skaičius vienoje ar daugelyje embriono ląstelių. To priežastimi gali būti polispermija arba meiotinio gametų dalinimosi sutrikimai. Genetiškai nulemtas embrioninis mirtingumas gali pasitaikyti ir po 42 dienų po apvaisinimo, kai būna didelis inbrydingo laipsnis.

Šėrimo problemos, energijos ir baltymų poveikis. Yra žinoma, kad nepakankamas energijos ir baltymų kiekis racione turi įtakos apvaisinimo rezultatams. Nustatyta, kad priaugančios

svorio karvės sėkmingiau apvaisinamos nei karvės, kurių svoris krenta. Daug pieno duodančios karvės dažnai turi neigiamą energijos balansą, dėl ko taip pat padidėja embrioninis mirtingumas. Per didelis baltymų kiekis racione taip pat įtakoja didesnę embrioninį mirtingumą. Dėl netinkamo šėrimo dažnai sutrinka gyvulio medžiagų apykaita, o tai veikia vidaus sekrecijos liaukų veiklą, dėl ko nebeišskiriamas pakankamas vaisiaus implantaciją veikiančių hormonų kiekis.

Toksinų poveikis. Toksinai (dažniausiai – mikotoksinai) į gyvulio organizmą patenka per supelijusius pašarus. Pavyzdžiui, mikotoksinas zearalenonas, patekęs į karvės organizmą, slopina hormono progesterono išskyrimą, o tai sąlygoja abortus. Abortus taip pat gali sukelti augaluose esantys alkaloidai. Atskiros cheminės medžiagos, pavyzdžiui, nitratai, gali sukelti abortus, jei jų koncentracija pašaro sausojoje medžiagoje viršija 0,005 %.

Aplinkos poveikis. *Karščio stresas.* Karščio streso sąvoka nėra pilnai apibrėžta, tačiau priimta laikyti, kad jo poveikis pasireiškia, kai aplinkos temperatūra pakyla iki 32-43 °C, o santykinis drėgnumas viršija 40 %. Nustatyta, kad trumpalaikiai stresai apsėklinimo metu ir 1 savaitę po apsėklinimo stabdo embriono vystymąsi, dėl ko nutrūksta vaisiaus ryšys su motinos organizmu. Taip pat nustatyta, kad karvių, patyrusių karščio stresą 8-16 dienomis po apvaisinimo, organizme buvo sumažėjusi progesterono ir padidėjusi prostaglandinų sekrecija.

Fizinės traumos. Abortai kartais įvyksta transportuojant gyvulius dideliais atstumais, kai veršingos karvės ar telyčios patiria mechanines traumas, laiku nepagirdomas. Fizinės traumos priežastis gali būti ir neatsargi ar nepatyrusio specialisto atlikta rektinė gimdos palpacija.

Tikėtinas infekcinių ligų sukeltas karvių abortas

Infekcinės ligos	Laikotarpis, kai gali įvykti abortas
Infekcinis galvijų rinotracheitas (IGR)	5-9 mėnuo
Mėlynojo liežuvio liga	Bet kuriuo metu
Galvijų virusinė diarėja (GVD)	Bet kuriuo metu
Bruceliozė	6-9 mėnuo
Vibriozė (kampilobakteriozė)	Iškarto po apvaisinimo
<i>Hemofilus somnus</i> sukeltos ligos	Bet kuriuo metu
Leptospirozė	5-9 mėnuo
Listeriozė	8-9 mėnuo
Neosporozė	4-9 mėnuo
Salmonelių <i>Dublin</i> ar <i>Typhi murium</i> sukeltos ligos	6-9 mėnuo
Trichomonozė	1-4 mėnuo

Infekcinės ligos. Daugelis abortų būna bakterinės ar virusinės infekcijos pasekmė. Dažniausios vaisiaus netekimo priežastys bet kurioje veršingumo stadijoje yra bakterinės kilmės infekcinės ligos, pažeidžiančios gimdą, arba virusinės kilmės infekcija, dėl ko pažeidžiamas

embrionas ar vaisius. Kartais gyvulus nerodo ryškių ligos požymių, pavyzdžiui leptospirozės atveju, bet įvyksta abortai. Esant normaliai bandos reprodukcijai, apie 1 % karvių abortuoja dėl vienokių ar kitokių priežasčių. Jei abortų lygis bandoje pasiekia 2 % ir daugiau, yra tikimybė, kad tai infekcinių ligų pasekmė. Embrioninio mirtingumo ir abortų priežastimi dažnai būna bakterijų (bruceliozė, leptospirozė, salmoneliozė, kampilobakteriozė), virusų (virusinė galvijų diarėja, infekcinis galvijų rinotracheitas) arba pirmuonių (trichomonozė, neosporozės) sukeltos ligos.

Veršingumo diagnostikos metodai

Embrioninio mirtingumo ir jo pasekmių reprodukcijos efektyvumui pieninių karvių bandoje mažinimą bene labiausiai įtakoja tinkamai funkcionuojanti veršingumo nustatymo priemonių sistema. Pagrindiniai veršingumo nustatymo metodai yra tokie:

Vizualinis rujų stebėjimas. Po sėklinimo praėjus 18-23 dienoms, atkreipiamas dėmesys į karvės fiziologinę būseną. Jei karvė nerodo rujos požymių, yra didelė tikimybė, kad gimdoje vystosi embrionas ir karvė yra veršinga. Tačiau būna daug atvejų, kada dėl įvairių priežasčių (intoksikacijos, karščio streso, infekcinių ligų) vaisius nustoja vystytis, o karvė ilgai nerodo rujos požymių. Dėl to karvės savininkas ilgai laiko neveršingą karvę ir patiria ekonominius nuostolius.

Rektinė palpacija. Tai plačiausiai praktikoje taikomas metodas, aprašytas dar 1800 metais, tačiau jis turi eilę trūkumų. Visų pirma, reikalinga didelė patirtis, ypač nustatant veršingumą tarp 30 ir 40 dienos po apvaisinimo. Išlieka didelė rizika, kad palpuojant gimdą, gali būti pažeisti gemalo dangalai (plyšti) ir įvykti embriono mirtis. Atlikto tyrimo duomenimis, telyčių, kurioms veršingumas buvo nustatomas tarp 42 ir 70 veršingumo dienos rektinės palpacijos metodu, embrionų mirtingumas siekė 2,07 %, kai, naudojant ultragarsą, šis rodiklis buvo 1,06 %. Yra ir kitų neigiamų faktorių, daugiau lemiančių embrioninį mirtingumą, nei rektinė palpacija. Neatsargiai palpuojant vaisių, gali būti pažeidžiamas kraujų kapiliarų tinklas, dėl ko vėliau išsivysto kūno anatominiai defektai (tiesiosios žarnos suaugimai, atvira pilvo ertmė).

Rektinė gimdos palpacija gali sukelti nuo 2,2 iki 8 % embrioninio mirtingumo atvejų. Be to, atliekant rektinę palpaciją, dažnai pažeidžiama tiesiosios žarnos gleivinė, dėl to susidaro sąlygos infekcijai patekti į organizmą.

Ultragarso skenavimas. Tai pakankamai išstobulintas ir šiuo metu gana plačiai pasaulyje naudojamas gyvulių patelių nėštumo diagnostikos metodas. Pagrindinis šio metodo privalumas yra tas, kad jau 26-33 dieną po apvaisinimo veršingumo nustatymo tikslumas siekia atitinkamai 87,7 ir 97,7 %. Tačiau ankstyvojo (pavyzdžiui, 26 d.) veršingumo nustatymui ultragarsu reikalinga pakankama tyrėjo patirtis ir jautrus skeneris, kuris paprastai brangiai kainuoja. Be to, tiriant ultragarsu, dirginama tiesiosios žarnos gleivinė, atsiranda rizika į organizmą patekti infekcijai.

Estrono sulfato testas, pagrįstas estrono sulfato junginio su estrogenais susidarymu. Šiuo metodu veršingumas gali būti nustatomas po 80 veršingumo dienos iš pieno. Sukūrus ir pritaikius tikslesnius veršingumo nustatymo metodus, šis metodas praktikoje netaikomas.

Ankstyvojo veršingumo faktorius tyrimas. Ankstyvojo veršingumo faktorius buvo nustatytas tiriant žinduolių kraujo serumą, praėjus 24-48 valandoms po apvaisinimo. Faktoriaus požymiai išnyksta po 24-48 valandų po embriono mirties ar jo pašalinimo iš gimdos. Dėl didelio jautrumo aplinkos poveikiui šis metodas nėra tikslus ir veterinarinėje praktikoje nebenaudojamas.

Progesterono testas. Progesteroną (Pg) gamina kiaušidžių geltonasis kūnas. Šio hormono pagrindinė funkcija organizme yra veršingumo palaikymas. Pg kiekis kraujyje kinta lytinio ciklo metu: didėja, kai susiformuoja ir pradeda funkcionuoti geltonasis kūnas, ir sumažėja, kai geltonasis kūnas rezorbuojasi, tai yra, artėjant rujai ir rujos metu. Kai po apvaisinimo vystosi embrionas, padidėjęs Pg kiekis išlieka ir po lytinio ciklo pabaigos, t.y. po 18-21 dienos. Šiuo metu ir vėliau, ištyrus Pg lygį kraujyje ar piene, jau galima nustatyti veršingumą. Metodo tikslumas nustatant veršingumą iš pieno mėginio, daugelio tyrėjų duomenimis, siekia apie 80 %.

Pagrindinės priežastys, įtakojančios veršingumo nustatymo tikslumą, yra karvių lytinio ciklo trukmės įvairavimas, gimdos ligos (pyometra, liuteininės ar folikulinės cistos). Veršingumo nustatymo pagal progesterono lygį piene metodas yra seniai žinomas, bet labiau naudojamas reprodukcijos sutrikimams ir rujų išaiškinimo tikslumo kontrolei. Pastaruoju metu progesterono nustatymo testai yra žymiai tobulesni, ir šiuo metu gali būti sėkmingai diegiami praktikoje.

Imunofermentinė analizė (IFA). IFA metodas plačiai taikomas kokybiniams ir kiekybiniams įvairių imunoglobulinų, antigenų, ląstelinių faktorių, ląstelių paviršiaus struktūrų tyrimams ir diagnostikai. Daugelyje imunologijos laboratorijų tai dažniausiai naudojamas metodas, kuris leidžia tiriamajame mėginyje nustatyti antigeną arba specifinį antikūnį. IFA pagrįsta antigeno ir antikūnio specifine jungtimi. Reakcijos metu susidariusį antigeno ir antikūnio kompleksą išryškina antriniai antikūnai (konjugatas), kurie būna pažymėti tam tikru fermentu. Antriniai antikūnai specifiskai atpažįsta tam tikros gyvūno rūšies ir izotipo antikūnius. Antigeno, specifinių antikūnių, pažymėtų fermentu, reakcija yra išryškinama medžiaga (substratu), kuri skaldo konjugato fermentas. Fermentui skaidant substratą, ryškėja spalvinė reakcija, kuri parodo, kad įvyko specifinė reakcija tarp antigeno ir antikūnių.

Specifinių nėštumo baltymų testai. Tai A ir B tipo baltymai, išskirti iš galvijų vaisiaus membranų ekstrakto. Baltymas A buvo identifikuotas kaip α -fetoproteinas (PSPA), o baltymas B – kaip specifinis placentos baltymas (PSPB). Radioimuninio metodo (RIA) panaudojimas leido karvių kraujo serume tiksliai nustatyti PSPB kiekį, kaip netiesioginį veršingumo ir embrioninio mirtingumo rodiklį. Šio metodo jautrumas nustatant baltymą B kraujo serume RIA metodu, siekė 92,0 %, ir nuo 82,6 iki 91,9% – tiriant 29-30 dienomis po apseklavimo. Vėliau baltymo B nustatymui buvo pradėtas taikyti IFA metodas. Tai leido plačiau panaudoti specifinio nėštumo baltymo B testą veršingumui ir ankstyvajam embrioniniam mirtingumui nustatyti. Veršingumo nustatymo pagal nėštumo baltymą metodo tikslumas siekia 99,5 %. Naudojant šį metodą, išvengiama kontakto tarp gyvulių per diagnostikos įrankius. Taip sumažėja infekcijos paplitimo galimybė ir streso poveikis gyvuliui.

Šiuo metu veršingumo diagnostikai pagal PSPB plačiausiai naudojamas JAV kompanijos BioTracking LLC sukurtas BioPryn testas. Naudojant šį testą, veršingumą galima nustatyti po apseklavimo praėjus 27 dienoms, tačiau karvėms, po apsveršavimo turi būti praėję ne mažiau kaip 79 dienos.

Intervenciniai veršingumo nustatymo metodai (rektinės palpacijos, ultragarsinis) leidžia labai tiksliai (iki 98 %) iš anksto nustatyti karvių veršingumą. Tačiau tai ir brangiausi metodai, įvertinant ir specialisto veterinarinių paslaugų kainą. Be to, yra duomenų, kad komplikuoto veršingumo atvejais šių metodų taikymas gali tapti netgi embrioninio mirtingumo priežastimi. Todėl verta atkreipti dėmesį į naujus, ne mažiau efektyvius ankstyvojo veršingumo nustatymo metodus. Pavyzdžiui, apskaičiuota, kad matuojant progesterono lygį pieno pavyzdžiuose, ekonominė nauda apie 27 Lt viršija tyrimo sąnaudas, kai rektalinės palpacijos metodo, derinamo su rujos nustatymu spaudimui jautriais indikatoriais, efektyvumo skirtumas nuo sąnaudų tesudarė apie 13 Lt. Vystantis naujiems molekulinės analizės metodams, tokiems kaip specifinio nėštumo baltymo karvių kraujyje tyrimas ELISA metodu, galima tikėtis ne mažesnio tiek reprodukcijos, tiek ir ekonominio efektyvumo.

Straipsnis paruoštas vykdant Lietuvos kaimo plėtros 2007-2013 metų programos priemonės „Profesinio mokymo ir informavimo veikla“ veiklos srities „Žemės ir miškų ūkio veiklos ir žemės ūkio produktų perdirbimo ūkyje mokslo žinių ir inovacinės praktikos sklaida“ projektą Nr. IPM-PV-11-1-006839-PR001 „Pieninių galvijų ankstyvojo veršingumo diagnostikos metodų naujausių mokslo žinių ir inovacinės praktikos sklaida“.