

SOMATINIŲ LĄSTELIŲ IR INHIBITORINIŲ MEDŽIAGŲ KARVIŲ PIENE TYRIMAI GANYKLINIŲ LAIKOTARPIU

Daiva Kondrotaitė¹, Kristina Musayeva¹, Rasa Želvytė^{1,2}, Vida Juozaitienė³, Ingrida Monkevičienė^{1,2},
Antanas Sederevičius²

¹*Virškinimo fiziologijos ir patologijos mokslinis centras, Veterinarijos akademija, LSMU*

Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas; el. paštas: kondrotaite@lva.lt

²*Anatomijos ir fiziologijos katedra, Veterinarijos akademija, LSMU; el. paštas: rasazel@lva.lt*

³*Gyvūnų veislinės vertės tyrimų ir selekcijos laboratorija, Veterinarijos akademija, LSMU*
el. paštas: biometrija@lva.lt

Santrauka. Darbo tikslas buvo nustatyti somatinių ląstelių skaičių (SLS) ir inhibitorines medžiagas (INH) karvių piene bei įvertinti jų tarpusavio ryšį, išanalizuoti, kaip šie rodikliai kinta priklausomai nuo ganyklinio laikotarpio mėnesio. Holšteinizuotų Lietuvos juodmargių veislės karvių (n=414) pieno mėginiai pagal nustatytą SLS suskirstyti į keturias grupes: 1 grupė – SLS iki 200 tūkst./ml; 2 grupė – 201–400 tūkst./ml; 3 grupė – 401–700 tūkst./ml; 4 grupė – 701–1000 tūkst./ml. SLS karvių piene statistiškai patikimai siejosi su tiriamojo laikotarpio mėnesiu ($\chi^2=41,721$; 1. n=11; p=0,0001). Daugiausia mėginių, kuriuose nustatytos INH medžiagos, buvo ganyklinio laikotarpio pradžioje (26,32 proc.). Tiriamojo laikotarpio mėnuo turėjo statistiškai reikšmingos įtakos mėginių su INH dažniui ($\chi^2=29,366$; 1. n=5; p=0,0001). Mėginių grupės pagal SLS ir pieno mėginių kiekis, kuriuose nustatyta INH, koreliavo statistiškai reikšmingai ($\chi^2=64,527$; 1. n=3; p=0,0001). Daugiausia mėginių su INH rasta 4 grupėje (11,6 proc.).

Raktažodžiai: karvė, somatinių ląstelių skaičius, inhibitorinės medžiagos, priklausomybė.

INVESTIGATIONS OF THE DEPENDENCE BETWEEN SOMATIC CELL COUNT AND INHIBITORY SUBSTANCES IN COW MILK DURING PASTURABLE PERIOD

Daiva Kondrotaitė¹, Kristina Musayeva¹, Rasa Želvytė^{1,2}, Vida Juozaitienė³, Ingrida Monkevičienė^{1,2},
Antanas Sederevičius²

¹*The Research Centre of Digestive Physiology and Pathology, Veterinary Academy, LUHS*

Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania; E-mail: kondrotaite@lva.lt

²*Department of Anatomy and Physiology, Veterinary Academy, LUHS*

Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania; E-mail: rasazel@lva.lt

³*Laboratory of Animal Genetic Evaluation and Selection, Veterinary Academy, LUHS*

Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania; E-mail: biometrija@lva.lt

Abstract. The main objective of the research was to determine somatic cells count (SCC) and inhibitory substances (INH) in milk and to analyse their monthly variation during the pasturable period. The milk samples of Holsteinized Lithuanian Black&White cows (n=414) were divided into four groups according to the established SCC: 1st group – SCC up to 200 000 cells/ml; 2nd group – 201 000–400 000 cells/ml; 3rd group – 401 000–700 000 cells/ml; 4th group – 701 000–1 000 000 cells/ml. It was stated during the experiment that SCC in the milk of cows was statistically reliably related to the month of the experimental period ($\chi^2 = 41.721$, df = 11, p = 0.0001). The highest number of the samples in which INH were found at the beginning of the period of pasture accounted for 26.32 percent. The month of the investigation time statistically reliably influenced the frequency of the samples with INH ($\chi^2 = 29.366$; df = 5, p = 0.0001). The groups of samples according to the SCC and the number of samples with INH correlated statistically significantly ($\chi^2 = 64.527$; df = 3, p = 0.0001). The highest number of samples with INH was found in group 4 (11.6 percent).

Keywords: cow, somatic cell count, inhibitory substances, dependence.

Įvadas. Pastaruoju metu visuomenė ypatingą dėmesį skiria maisto produktų saugai ir jų kokybei. Saugus maistas labai svarbus mūsų sveikatai ir darbingumui, o pienas ir jo produktai – vieni dažniausiai vartojamų. Kad užtikrintų parduodamo perdirbti pieno sudėtį ir kokybę, ūkininkai privalo laikytis superkamo pieno reikalavimų, pagal kuriuos SLS negali viršyti 200 tūkst./ml, o inhibitorinių medžiagų neturi būti (nuo 2004 m. gegužės 1 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (EB) Nr. 853/2004). Inhibitoriais laikomos medžiagos, slopinančios mikroorganizmų augimą. Inhibitoriai gali

patekti į pieną iš gyvulio organizmo ir iš išorės. Piene visuomet esti natūralių antimikrobinių medžiagų, nuo kurių priklauso pieno baktericidinė fazė. Tai lizocimas, leukocitai, lakteninai, laktoferinas, imunoglobulinai bei medžiagos, sudarančios laktoperoksidazinę sistemą (laktoperoksidazė, tiocianatas, vandenilio peroksidas). Tačiau į pieną gali patekti ir nenatūralių dvejopos prigimties antimikrobinių medžiagų – mikrobinių ir cheminių. Mikrobines kilmės medžiagos – antibiotikai – gali būti naudojamos sergančioms mastitui ir kitomis ligomis karvėms gydyti. Iš cheminės kilmės medžiagų į

pieną gali patekti formalinas, vandenilio peroksidas, plovimo, dezinfekavimo ir konservavimo medžiagos. Ūkininkai, pieno gamintojai apie inhibitorines medžiagas žino nemažai, bet jų piene vis tiek aptinkama.

Pienas – labai sudėtinga biologinė sistema, o jo dedamosios dalys nėra stabilios ir priklauso nuo daugelio veiksnių, taip pat ir nuo karvės sveikatingumo (Sloth et al., 2003). Kiekvieno rodiklio nuokrypiai daro įtaką pieno kokybei. Pavyzdžiui, padidėjus somatinių ląstelių kiekiui, piene galima aptikti inhibitorinių medžiagų. Somatinių ląstelių skaičius piene parodo atsparumą mastitams, kintančias karvių imunines savybes (Juozaitienė, Žakas, 2002; Pečiulionienė, Pauliukas, 2004; Šimkienė, Juozaitienė, 2007). Manoma, kad egzistuoja ryšys tarp didėjančio somatinių ląstelių skaičiaus ir inhibitorių piene (Ruegg, Tabone, 2000; Saville et al., 2000; Van Schaik et al., 2002).

K. Pauliukas su kolegomis ištyrė, kad sezonas turi įtakos žaliavinio pieno kokybės rodikliams (Pauliukas ir kt., 2005), tačiau Lietuvoje trūksta išsamesnių tyrimų apie sezono, metų, mėnesio įtaką somatinių ląstelių skaičiui ir inhibitorinių medžiagų nustatymo dažnumui.

Ekonominiai nuostoliai dėl didelio somatinių ląstelių skaičiaus, kuris daro įtaką pieno produkcijos mažėjimui ir pieno kokybės prastėjimui, nustatomi inhibitoriai, žalingi sveikatai, yra svarbios priežastys, skatinančios mokslininkus tirti ir analizuoti šiuos rodiklius.

Darbo tikslas – nustatyti somatinių ląstelių skaičių (SLS) ir inhibitorines (INH) medžiagas karvių piene, įvertinti jų tarpusavio ryšį, išanalizuoti, kaip kinta šie rodikliai priklausomai nuo ganyklinio laikotarpio mėnesio.

Medžiagos ir metodai. Tyrimams iš įvairių Lietuvos ūkių atrinkti Lietuvos juodmargių veislės karvių, kurių holšteinizacijos laipsnis didesnis nei 75 proc., ganyklinio laikotarpio pieno mėginiai. Inhibitorinių medžiagų tyrimams mėginiai imti pasirinktine tvarka, priklausomai nuo ūkininkų pageidavimo. Jie pagal nustatytą SLS suskirstyti į 4 grupes:

1 grupė – mėginiai (n=154), kuriuose SLS buvo iki 200 tūkst./ml (vid. 83,73 tūkst./ml);

2 grupė – mėginiai (n=86), kuriuose SLS buvo 201–400 tūkst./ml (vid. 296,99 tūkst./ml);

3 grupė – mėginiai (n=105), kuriuose SLS buvo 401–700 tūkst./ml (vid. 536,65 tūkst./ml);

4 grupė – mėginiai (n=69), kuriuose SLS buvo 701–1000 tūkst./ml (vid. 838,33 tūkst./ml).

Žalio pieno mėginiai (n=414) tyrimams imti melžimo metu pagal pieno mėginių ėmimo taisyklės (LST EN ISO 707:1999+P:2003 Pienas ir pieno produktai. Mėginių ėmimo taisyklės) 2011 metais nuo gegužės iki spalio mėnesio imtinai. Mėginiai ištirti VĮ „Pieno tyrimai“ laboratorijoje, kurioje nustatyta SLS ir inhibitorinės medžiagos.

SLS nustatomas elektroniniu metodu naudojant aparatą „SomaScope“ fluorooptoelektroniniu principu (CA-3A4, 2004; Delta Instruments, Olandija). Pirmiausia tiriamas pienas sumaišomas su dažomuoju tirpalu.

Mišinys patenka į prietaiso dalį – kiuvetę, apšviečiamą specialios ultravioletinės lempos spinduliais. Kiekviena nudažyta ląstelė švyti, o speciali kompiuterio programa registruoja gautus signalus ir taip suskaičiuoja pieno somatines ląsteles.

Plataus spektro antimikrobinėms medžiagoms aptikti žaliame piene panaudoti mikrobiologiniai inhibitorių testai LPT ir LPT2, pagaminti pagal įmonės standarte (IST 3381629-01:2000) patvirtintą ir Vokietijos akreditacijos tarnybos akredituotą technologijos instrukciją. Testai ruošti pagal ISO/TS 26844 reikalavimus, vietoj mėgintuvėlių naudojant mikroplokšteles ir atitinkamomis proporcijomis sumažintus dozuojamos terpės bei pieno mėginio kiekius. Metodas pagrįstas tuo, kad dauginantis terpėje esančioms jautrioms antibiotikams ir sulfamidams kultūros *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 10149 sporoms, susidaro rūgštis, keičianti terpės spalvą iš violetinės į geltoną. LPT ir LPT2 testai skiriasi vienas nuo kito terpės pH, naudojamais priedais ir jautrumu antibiotikams. Rezultatai vertinami pagal terpės spalvą duobutėse. Tinkama inkubavimo trukmė nustatoma pagal neigiamą kontrolę – duobutės su kontroliniu mėginiu spalva turi būti pasikeitusi iš violetinės į geltoną. Kontrolinių mėginių su antibiotikais spalva turi būti violetinė arba šviesiai violetinė.

Moksliniai tyrimai atlikti laikantis 1997 m. lapkričio 6 d. Lietuvos Respublikos gyvūnų globos, laikymo ir naudojimo įstatymo Nr. 8–500 („Valstybės žinios“, 1997 11 28, Nr. 108).

Duomenų statistinis tyrimas atliktas SPSS paketu (licencijos Nr. 9900457; versija 15, SPSS Inc., Chicago, IL). Neparimetrinė dažnių lentelių analizė, įvertinus ryšius tarp kokybinių kintamųjų, aprašyta taikant χ^2 kriterijų, atsižvelgiant į laisvų narių skaičių (l. n.) ir statistinį patikimumą (p).

Tyrimo rezultatai. Analizuojant pirmos grupės pieno mėginius, daugiausia su SLS iki 200 tūkst./ml nustatyta spalio mėnesį (56,06 proc.). Ketvirtos grupės, kur buvo didžiausias (701–1000 tūkst./ml) somatinių ląstelių skaičius, rodantis klinikinį mastitą, daugiausia pieno mėginių priskirta birželio mėnesiui (34,48 proc.). Duomenys apibendrinti 1 lentelėje.

Atlikę neparimetrinę analizę χ^2 testu nustatėme, kad kontroliuojamoje karvių grupėje SLS piene statistiškai patikimai siejosi su tiriamojo laikotarpio mėnesiu ($p=0,0001$).

Tyrimų duomenys rodo, kad atskirais tiriamojo laikotarpio mėnesiais INH medžiagų pieno mėginiuose nustatyta nevienodai (atitinkamai 26,32 ir 1,99). Daugiausia mėginių su INH medžiagomis rasta ganyklinio laikotarpio pradžioje (2 lentelė).

Hipotezę apie mėginių, kuriuose rasta INH medžiagų, dažnį ir ganyklinio laikotarpio mėnesio ryšį patikrinome χ^2 testu ir nustatėme, kad mėnuo turėjo statistiškai reikšmingos įtakos mėginių su INH medžiagomis dažniui ($p=0,0001$) tirtoje mėginių grupėje.

1 lentelė. Mėginių pagal SLS ir tiriamojo laikotarpio mėnesio priklausomybė

Mėnuo	1 gr.		2 gr.		3 gr.		4 gr.		Iš viso:
	Vnt.	Proc.	Vnt.	Proc.	Vnt.	Proc.	Vnt.	Proc.	Vnt.
Gegužė	7	36,84	6	31,58	3	15,79	3	15,79	19
Birželis	14	24,14	6	10,34	18	31,03	20	34,48	58
Liepa	14	28,57	17	34,69	10	20,41	8	16,33	49
Rugpjūtis	29	28,71	27	26,73	29	28,71	16	15,84	101
Rugsėjis	53	43,80	22	18,18	34	28,10	12	9,92	121
Spalis	37	56,06	8	12,12	11	16,67	10	15,15	66

$\chi^2=41,721$; l. n.=1; p=0,0001

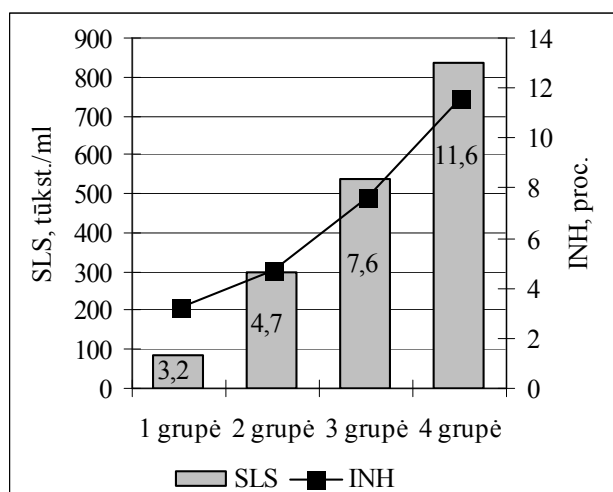
2 lentelė. Mėginių, kuriuose iširtos INH medžiagos, skaičiaus ir tiriamojo laikotarpio mėnesio priklausomybė

Mėnuo	Nerasta INH		Rasta INH		Iš viso:
	Vnt.	Proc.	Vnt.	Proc.	
Gegužė	14	73,68	5	26,32	19
Birželis	51	84,48	9	15,52	58
Liepa	48	97,96	1	2,04	49
Rugpjūtis	99	98,01	2	1,99	101
Rugsėjis	118	97,52	3	2,48	121
Spalis	60	90,91	6	9,09	66

$\chi^2=29,366$; l. n.=5; p=0,0001

Tiriamuoju laikotarpiu didžiausias mėginių skaičius, kuriuose nustatytos inhibitorinės medžiagos, buvo ketvirtoje grupėje, tai yra 3,6 karto daugiau negu pirmoje (1 pav.).

Mėginių kiekis, kuriuose nustatytos INH medžiagos, statistiškai reikšmingai koreliavo su SLS karvių piene ($\chi^2=64,527$; l. n.=3; p=0,0001).



Pav. SLS ir INH piene priklausomybė

Aptarimas ir išvados. Pieno kiekis, sudėtis ir somatinių ląstelių skaičius priklauso nuo metų laiko (Pečiulionienė, Pauliukas, 2004). Somatinių ląstelių skaičių bendrame bandos piene veikia paplitimas lėtinių ir klinikinių mastitų, kurių pasireiškimas priklauso nuo daugelio veiksnių – laktacijos tarpsnio, gyvulių laikymo

būdo, priežiūros, pereinamojo ganiavos laikotarpio, klimato sąlygų, sezono (Hogan and Smith, 1997; Faye et al., 1998).

R. Riekerink su bendradarbiais (2007) ištyrė sezono įtaką somatinių ląstelių skaičiui bendroje pieno talpyklėje bei individualių karvių piene ir nustatė, kad metų laikas darė įtaką SLS geometriniam vidurkiui. Jie nustatė, kad didžiausias SLS bendroje pieno talpyklėje buvo vėlyvu vasaros laikotarpiu – rugpjūčio mėnesį ir ankstyvą rudenį. Individualių karvių piene SLS pikas nustatytas balandžio ir rugpjūčio mėnesiais. K. Pauliukas su kolegomis (2005) ištyrė, kad pristatytame piene somatinių ląstelių buvo 6–17 tūkstančiais mažiau žiemos ir pavasario laikotarpiu bei 4–27 tūkstančiais daugiau vasarą ir rudenį. Mūsų tyrimo rezultatai rodo, kad mėginių, kuriuose SLS iki 200 tūkst./ml – daugiausia spalio mėnesį (56,06 proc.), o mėginių, kuriuose SLS buvo didesnis nei 201–400 tūkst./ml, daugiausia rasta liepos mėnesį (34,69 proc.). Manome, kad mūsų tyrimais nustatytas atitinkantis normą SLS vasaros–rudens laikotarpiu gali būti susijęs su klimato sąlygomis, gyvulių priežiūra.

Bandymų metu, tirdami birželio mėnesio karvių piene, daugiausia mėginių, kuriuose SLS buvo ≥ 401 tūkst./ml nustatėme trečioje ir ketvirtoje grupėse (31,03 ir 34,48 proc.). Mokslininkai (Green et al., 2006) teigia, kad SLS bendroje pieno talpyklėje ankstyvos vasaros laikotarpiu padidėja dėl bandoje slaptuoju lėtiniu mastitu sergančių karvių. Be to, balandžio–birželio mėnesiais po žiemos sezono karvių imunitetas nusilpęs, o prasidėjus ganiavai, suintensyvėjus pieno gamybai, padaugėja susirgimų mastitu (Klimienė ir kt., 2005). Sezoninė somatinių ląstelių skaičiaus piene kaita susijusi su sezoniniu mastitu, tešmens perkaitimais, peršalimais ir sumušimais (Juozaitienė, Žakas, 2002).

Daugiausia mėginių, kuriuose nustatytos INH medžiagos, buvo ganyklinio laikotarpio pradžioje – gegužės mėnesį (26,32 proc.).

Mokslininkai (van Schaik et al., 2002), išanalizavę 22 mėnesių laikotarpio duomenis, daugiausia INH medžiagų piene nustatė žiemos mėnesiais, o mažiausiai – vasaros. K. Pauliukas su kolegomis, ištyrę kontrolinės bandos pieną 2002 metais, inhibitorinių medžiagų rado 1,77 proc., iš jų – 0,57–0,98 proc. mažiau per pirmuosius keturis metų mėnesius, o 2003 metais – 1,65 proc. (0,18–0,27 proc. daugiau vasario ir pavasario bei vasaros mėnesiais). Teigiama, kad INH medžiagų kiekiui piene turėjo įtakos veterinarinių sanitarinių priemonių taikymas, nors ir netiesiogiai, sutampantis su metų laikotarpiu (Pauliukas ir kt., 2005).

Mūsų atlikti tyrimai parodė, kad daugiausia mėginių (11,6 proc.) su INH medžiagomis rasta ketvirtoje mėginių grupėje, kur SLS buvo daugiau kaip 701 tūkst./ml. Tyrimų rezultatai sutapo su kitų mokslininkų duomenimis, patvirtinančiais SLS ir INH medžiagų karvių piene priklausomybę (Sargeant et al., 1998; Ruegg, Tabone, 2000; Saville et al., 2000; van Schaik et al., 2002). Mokslininkai, ištyrę karvių pieną, sugrupuotą pagal SLS, nustatė, kad mėginių su INH medžiagomis skaičius didėja proporcingai didėjant somatinių ląstelių skaičiui: SLS ≤250 tūkst., 251–400 tūkst., 401–550 tūkst., 551–700 tūkst., >700 tūkst.; atitinkamai pagal SLS grupes nustatytos INH medžiagos: 1,0 proc., 1,43 proc., 2,38 proc., 2,78 proc. ir 7,10 proc. (Ruegg, Tabone, 2000). Panašius rezultatus paskelbė ir kiti tyrėjai (Sargeant et al., 1998; Saville et al., 2000). G. van Schaik su kitais mokslininkais (2002) teigia, kad ūkiuose, kur melžiamų karvių piene SLS yra daugiau nei 750 tūkst./ml, INH medžiagų randama žymiai dažniau, nei aukštos kokybės pieno bandose. Didelis SLS rodo, kad bandoje paplitęs klinikinis mastitas, dėl kurio karvės pradėdamos gydyti antibiotikais, o jų likučiai patenka į pieną.

Apibendrinami tyrimų rezultatus galime teigti, kad SLS piene statistiškai patikimai siejosi su tiriamojo laikotarpio mėnesiu ($p=0,0001$), kuris turėjo statistiškai reikšmingos įtakos mėginių su INH medžiagomis dažniui ($p=0,0001$). Tirtų karvių piene nustatyta statistiškai reikšminga INH medžiagų ir SLS koreliacija ($p=0,0001$).

Literatūra

1. Europos Parlamento ir Tarybos Reglamentas (EB) Nr. 470/2009. Strasbūras. 2009. P. 11–22.
2. Faye B. L., Perochon N. D. and Gasqui P. Relationship between individual-cow udder health status in early lactation and dairy cow characteristics in Brittany, France. *Vet. Res.* 1998. Vol. 29. P. 31–46.
3. Green M. J., Bradley A. J., Newton H., Browne W. J. Seasonal variation of bulk milk somatic cell counts in UK dairy herds: Investigations of the summer rise. *Prev. Vet. Med.* 2006. Vol. 74. P. 293–308.
4. Hogan J. S., and Smith K. L. Bacteria counts in sawdust bedding. *J Dairy Sci.* 1997. Vol. 80. P. 1600–1605.

5. Juozaitienė V., Žakas A. Paveldimumo įtaka somatinių ląstelių skaičiui juodmargių karvių piene. *Veterinarija ir zootechnika.* Kaunas. 2002. T. 17 (39). P. 72–74.

6. Klimienė I., Mockeliūnas R., Butrimaitė-Ambrozevičienė Č., Sakalauskiene R. Karvių mastitas. Tyrimai Lietuvoje. *Veterinarija ir zootechnika.* 2005. T. 31(53). P. 67–76.

7. Pauliukas K., Šidiškis A. R., Urbonavičius A., Šerėnas K. Juodmargių karvių pieno sudėties ir kokybės rodiklių kaita veikiant laktacijai ir kitiems faktoriams. *Veterinarija ir zootechnika.* 2005. T. 30 (52). P. 67–71.

8. Pečiulionienė I., Pauliukas K. Pieno sudėties ir kokybės kitimas, esant skirtingam karvių šėrimui įvairiuose Lietuvos Respublikos regionuose. Tarptautinė konferencija „Gyvulių mitybos indėlis įprastinės ir ekologinės gyvulininkystės vystymui Lietuvoje“. Kaunas, 2004. P. 74–76.

9. Riekerink R. G. M. O., Barkema H. W., Stryhn H. The Effect of Season on Somatic Cell Count and the Incidence of Clinical Mastitis. *J Dairy Sci.* 2007. Vol. 90. P. 1704–1715.

10. Ruegg P. L., Tabone T. J. The relationship between antibiotic residue violations and somatic cell counts in Wisconsin dairy herds. *J Dairy Sci.* 2000. Vol. 83. P. 2805–2809.

11. Sargeant J. M., Schukken Y. H., Leslie K. E. Ontario bulk milk somatic cell count reduction program: progress and outlook. *J Dairy Sci.* 1998. Vol. 81. P. 1545–1554.

12. Saville W. J. A., Wittum T. E., Smith K. L. Association between measures of milk quality and risk of violative antimicrobial residues in grade-A milk. *J Am Vet Med Assoc.* 2000. Vol. 217. P. 541–545.

13. Sloth K. H., Friggens N. C., Løvendahl P., Andersen P. H., Jensen J., Ingvarsen L. Potential for Improving Description of Bovine Udder Health Status by Combined Analysis of Milk Parameters. *J Dairy Sci.* 2003. Vol. 86. P. 1221–1232.

14. Šimkienė A., Juozaitienė V. Įvairių veiksnų įtakos laktozės kiekiui karvių piene tyrimai. *Veterinarija ir zootechnika.* 2007. T. 39 (61). P. 81–85.

15. Van Schaik G., Lotem M., Schukken Y. H. Trends in somatic cell counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State during 1999–2000. *J Dairy Sci.* 2002. Vol. 85. P. 782–798.

Gauta 2012 03 01

Priimta publikuoti 2013 01 11