

**GENETSKI POLIMORFIZMI I ZBIRKE GENA PASMINA
DOMAĆIH ŽIVOTINJA U HRVATSKOJ**

P. Caput, M. Posavi, M. Kapš, Zlata Gašpert, I. Jakopović, M. Ernoić

Cilj projekta

Unatoč spektakularnom napretku u unapređenju domaćih životinja, koncept zaštite genetskih izvora postaje sve aktualniji i kod uzgajачa i kod znanstvenika, a financiranje održavanja nekomercijalnih pasmina dužnost je čitavog društva. U Europi se osnivaju nucleus stada ugroženih pasmina goveda koja financira država. Najbolji primjer javne brige putem vlade su: Francuska, Austrija, Mađarska, a društvene brige Velika Britanija (Rare Breeds Survival Trust). U Austriji je, npr., za pasminu Waldviertler Blondvieh osnovano nukleus stado od 25 krava i 5 bikova. Osim toga Austrijska vlada uzgajачima koji žele držati ovu pasminu daje relativno visoke premije i besplatno spermu za osjemenjivanje krava, pa je zanimanje za držanje ovog goveda velika. Isti programi počeli su i za druge austrijske pasmine goveda (Murbodner i Karntner Blondvieh). Prva regionalna organizacija za očuvanje ugroženih pasmina domaćih životinja u Europi utemeljena je u skandinavskim zemljama, a druga je "DAGENE", alijansa podunavskih zemalja, čiji je osnivač i Hrvatska (1990.). Cilj stvaranja genskih zbirki živih domaćih životinja u Hrvatskoj je očuvanje autohtonih pasmina od naglog i potpunog nestajanja i čuvanje za buduću selekciju i uzgoj. Autohtone pasmine imaju specifična konstitucijska svojstva (otpornost, dugovječnost, prilagođenost na surove uvjete držanja i hranidbe) koja uvelike nedostaju plemenitijim i produktivnijim pasminama. Može se očekivati da će se vremenom selekcija domaćih životinja i uzgojni programi posezati za migracijom gena autohtonih pasmina. U novije vrijeme intenzivno se istražuje polimorfizam proteina mlijeka i krvnog seruma u gotovo svih vrsta domaćih životinja. Glavni razlozi znanstvenom zanimanju su povezanost pojedinih gena s proizvodnim i reprodukcijским svojstvima. Genetski polimorfizmi upotrebljavaju se i u filogenetskim proučavanjima za određivanje genetskih distanci pojedinih pasmina, filogenetskih karakteristika, stupnja varijabilnosti, za zaštitu autorskih prava uzgajачa, dokazivanje pedigreea i ustanovljivanje eventualnog gubitka ili ugroženosti nekih gena. Stoga se u okviru Projekta istražuje frekvencija gena odgovornih za sintezu proteina krvi (transferina (Tf), hemoglobina (Hb), postalbumina (Pa) i mlijeka (α_{s1} -, α_{s2} -, β - i k-kazeina, te β -laktoglobulina) u pasmina goveda u Hrvatskoj. Istraživanje genetskog polimor-

Dr. Pavo Caput, red. profesor, mr. Marijan Posavi asistent, mr. Miroslav Kapš asistent, dr. Zlata Gašpert, znan. suradnik i Miljenko Ernoić, dipl. inž., mladi istraživači su iz Zavoda za specijalno stočarstvo Agronomskog fakulteta u Zagrebu; dr. Ivan Jakopović, znan. suradnik, PCH. Stočarski selekcijski centar u Zagrebu

fizma ovih proteina praktički predstavlja početak sustavnog praćenja frekvencija gena odgovornih za sintezu navedenih proteina za pasmine goveda u Hrvatskoj.

Metode rada

Metode za održavanje genetskih rezerva su:

1. Očuvanje u vidu malih stada
2. Konzerviranje sperme
3. Konzerviranje embrija
4. Zamrzavanje neoplodenih jajnih stanica, u svrhu kasnije in vitro oplodnje
5. Kloniranje-genom se multiplicira vegetativnim razmnožavanjem.

Prednosti konzerviranja gena "in situ" su u tome što životinje ne mogu biti zaboravljene, mogu biti u svako vrijeme upotrijebljene, prilagodavaju se na okolišne sistemske utjecaje, a produktivne su, pa smanjuju troškove držanja. Nedostatak ovog načina konzerviranja je nemogućnost održavanja strukture gena (status quo), a teško je izbjeći i "inbreeding-depression". Genetski status quo može se održati, ako se životinjama s alelima, koji su deklarirani kao ugroženi (frekvencija ispod 1%), u planskim parenjima daje ugroženi (frekvencija ispod 1%), u planskim parenjima daje prioritet. U okviru projekta formirana su nukleus stada istarskog i panonskog podolskog goveda, a u planu je i stvaranje takvog stada za ličku bušu. Na sličan način pristupilo se zaštiti crne slavonske i turopoljske svinje, dubrovačke i paške ovce i balkanske koze. Osim očuvanja genetskih rezerva u vidu malih stada za istarsko govedo čuva se i određen broj doza duboko smrznute sperme. Druge metode (konzerviranje embrija, zamzavanje neoplodenih jajnih stanica, kloniranje) za sada u projektu nisu primjenjivane zbog nedostatka sredstava i skupocjene opreme. Polimorfizam transferina i postalbumina određen je u krvnom serumu, a hemoglobina u hemoliziranim eritrocitima, elektroforezom na celogel trakama. Za određivanje genetskih varijanata transferina primjenjen je kontinuirani puferski sistem, a kao pufer upotrijebljena je tris- glicin-salicilna kiselina (Chemotron, Code J2A03-10). Genske varijante hemoglobina određene su na celogel trakama, a kao pufer upotrebljen je tris-glicin (pH 9.0). Za određivanje varijanti postalbumina upotrijebljen je diskontinuirani puferski sustav kako to preporučuje G a h n e (1963.). Polimorfizam proteina mlijeka određen je izoelektričnim fokusiranjem na poliakrilamidnom gelu PhastSystemom prema metodi Bovenhuis i Verstege (1989.).

Rezultati

Stvorene su genetske zbirke istarskog i panonskog goveda. U katalog rijetkih pasmina podunavskih zemalja sa svim relevantnim podacima uvršene su slijedeće naše rijetke pasmine: istarsko i slavonsko podolsko govedo, turopoljska i crna slavonska svinja i dubrovačka (ruda) ovca. U svjetsku banku podataka domaćih životinja u Hannoveru upisane su naše pasmine goveda, svinja i ovaca i koza. U 1994. godini Hrvatska će kao jedna od zemalja osnivača DAGENE biti domaćih IV International DAGENE Symposium on Gene Conservation. Dosadašnji rezultati

istraživanja koji se odnose na zaštitu ugroženih pasmina domaćih životinja i genetske polimorfizme proteina krvi i mlijeka za pasmine u Hrvatskoj publicirani su u slijedećim radovima: Caput, P., i N. Rimanić (1989.): Istrian cattle. *AGRI* No 7, 85-91, FAO Rome. U ovoj publikaciji predstavljen je inicijativni program za zaštitu ugroženog istarskog goveda. Iznijeti su rezultati istraživanja povijesti nastanka, eksterijera, sadašnjeg stanja i svrhe zaštite. Caput, P., Zlata Gašpert i N. Rimanić (1989.): Zaštita istarskog goveda. *Agronomski glasnik* 1-2:85, - 88. U radu su obrazloženi razlozi zaštite, opisane metode i načini očuvanja istarskog goveda kao autohtone hrvatske pasmine. Gašpert Zlata, P. Caput, M. Posavi (1990.): Polimorfizam transferina i hemoglobina podolskog goveda. *Agr. glasnik* 1-2:31-36. Na nukleus stada slavonskog podolskog goveda koje se nalazi pod zaštitom u okviru projekta istraživana je polimorfizam transferina i hemoglobina. Dobivene frekvencije gena odgovornih za sintezu hemoglobina podudarale su se s ranijim istraživanjima za slavonsko-podolsko govedo. Nasuprot tome frekvencije za pojedine alele na Tf lokusu bile su bitno različite od ranijih rezultata. Caput, P. (1990.): Initial programme for Podolian cattle conservation in Croatia. Abstracts of I. International DAGENE Symposium on Gene Conservation, Krems, Austria. Na simpoziju je prikazan program konzerviranja podolskog goveda u Hrvatskoj, čime se naša zemlja aktivno uključila u program DAGENE, regionalne organizacije podunavskih zemalja za očuvanje genetskih rezursa. Caput, P. i M. Posavi (1991.): Threatened cattle breeds in Croatia. U: *Genetic Conservation of Domestic Livestock*. Ed. L. Alderson, I. Bodo. CAB International. Wallingford. Vol. 2, 175-179. Rad je prikazan na 2nd World Conference on Gene Conservation and Rare Breeds Survival, Budapest. U radu su opisane četiri pasmine goveda (istarsko, slavonsko-podolsko, sivo govedo Dalmacije i buša) čiji je opstanak u Hrvatskoj ugrožen. Nadalje prikazani su postignuti rezultati u zaštiti nevedenih pasmina. Za istarsko i slavonsko-podolsko govedo prikazani su i rezultati u zaštiti navedenih pasmina. Za istarsko i slavonsko-podolsko govedo prikazani su i rezultati istraživanja polimorfizma hemoglobina i transferina. Caput, P. i M. Posavi (1991.): Ruda Sheep. 2nd World Conference on Gene Conservation and Rare Breeds Survival, Budapest. Rad je kao poster predstavljen na 2nd World Conference on Gene Conservation and Rare Breeds Survival, Budapest, a publiciran je u : *Genetic Conservation of Domestic Livestock*, Vol. 2, 232-239 pod naslovom "Review of Species and Breed Studies" zajedno s ostalim posterima izloženim na Konferenciji. Caput, P. i M. Posavi (1992.): Rare pig breeds in Croatia. Abstracts of II. International DAGENE Symposium on Gene Conservation, U116, Hungary. Posterom su predstavljene dvije autohtone pasmine svinja (crna slavonska i turopoljska) koje na sličan način kao i rijetke pasmine goveda treba zaštititi od nestajanja. Caput P., M. Posavi, M. Kapš, Jasmina Lukač-Havranek, M. Ernoić, Zlata Gašert (1992.): Genetski polimorfizmi proteina krvi i mlijeka nekih pasmina goveda. *Stočarstvo*, 46 (11-12). Istražene su frekvencije gena na Tf, Hb, α -s1-, α -s2-, β -i k-kazein, te β -lakotoglobulin lokusu za istarsko, slavonsko-podolsko i simentalско govedo u Hrvatskoj. Različite rezultate u frekvencijama za Hb u istarskog goveda i Tf za panonskog podolca u odnosu na dosadašnja istraživanja vjerojatno su i rezultat značajno smanjenog broja ovih životinja. Izračunate su genetske distance između triju navedenih pasmina i utvrđene razlike između simen-

talskog i dviju ostalih pasmina. Frekvencije alela Hb, Tf, kazeina (α_{s1} , α_{s2} , β i k) i β -laktoglobulina hrvatskog simentalca slične su frekvencijama u njemačkog Fleckvieha. Genetske distance između hrvatskog simentalca i njemačkog Fleckvieh nisu bile signifikantne. To upućuje na filogenetsku sličnost. Istraživanje se nastavlja na većem broju životinja i za više polimorfa. U okviru projekta završava se doktorska disertacija o polimorfizmu proteina krvi i mlijeka u goveda a u izradi je i magistarski rad o polimorfizmu protina u konja. U budućnosti se projektom planira obuhvatiti i ostale ugrožene pasmine drugih vrsta domaćih životinja (međimurski hladnokrvni konj, hrvatski ovčar, hrvatica i dr.).