

**IZVANTJELESNO OČUVANJE ŽIVOTINJSKE GENETSKE
RAZNOLIKOSTI U BANCIMA GENA. RAD U CENTRU ZA
REPRODUKCIJU U STOČARSTVU HRVATSKE D.O.O.****M. Matković, Ivanka Majić-Balić, P. Božić, Š. Horvat***Očuvanje genetske raznolikosti u Republici Hrvatskoj*

Očuvanje genskog fonda, prisutnog u raznim domaćim i divljim vrstama u Hrvatskoj je nužno. Utvrđeno je da su programi zaštite koji se provode na domaćim životinjama, te nad divljači u svojim staništima, takozvano in-situ, uspješni, ali da ih treba nadograditi kako bi se spriječio gubitak gena iz postojećih populacija. Ugrožene su i proizvodne životinje zbog velikog uvoza genskog materijala koji poboljšava proizvodna svojstva ali i u tom procesu potiskuje domaća obilježja. Za sada jedino poznato rješenje za očuvanje genskog fonda je konzervacija ex-situ in-vitro ili tako zvane banke gena.

Programi konzervacije in-situ pokazuju se uspješni u sektorima koji su pod državnim poticajem, ali nisu dovoljni. Od ukupno 27 vrsta, za sada u popisu izvornih ili autohtonih pasmina, 19 prikazuje potrebu za ex-situ in vitro programom, to jest konzervacija genoma u banci koja čuva stanice i gamete u smrznutom stanju. Tehnologije za taj zahvat uglavnom postoje (tehnologija postoji za goveda, konje, ovce i divljač kopitara, manje je razvijena za svinje i perad), te se uglavnom primjenjuju ili barem postoji potrebno znanje u Republici Hrvatskoj.

Banke gena

Uloga genskih banka je očuvati genetski materijal i tako genetsku raznolikost. Nitko ne može predvidjeti kada bi se moralo vratiti u uporabu neka izgubljena obilježja ni zašto, budućnost će odrediti potrebu. Cilj je očuvanje za budućnost i pri tome se očekuje da genetski materijal bude funkcionalan kad zatreba.

M. Matković, Ivanka Majić-Balić, P. Božić, Š. Horvat, Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske d.o.o., Planinska 2B, 10000 Zagreb, Hrvatska. Laboratorij: +385 1 2390 188. mmario@vef.hr

Očuvanje *ex-situ* in vitro ili banke gena ima zadatak trajne prezervacije germoplazme koji sadrži genetski materijal, u obliku sjemena, zametaka i somatskih stanica, od rijetkih i ugroženih pasmina uzgojnih životinja te i divljih životinja. Suština je da postoje pasmine ili populacije koje se pokazuju otporne na određene bolesti ili parazite, neke bolje podnose ekstremne temperature ili imaju neka druga obilježja koja nisu direktno vezana za proizvodnju. Ova obilježja mogla bi se pokazati u budućnosti potrebna za daljnji razvoj ili opstanak. Također, obilježja današnjih proizvodnih pasmina mogla bi se u budućnosti promijeniti zbog nekih razloga, jedan bi mogao biti potražnja potrošača za različitim kakvoćom mesa. Komercijalni uzgoji koriste uveliko srodstvo kako bi ujednačili proizvodnju što predstavlja i veliku opasnost neotpornosti na zaraze ili latentnu opasnost ekspresije nepoželjnih recesivnih gena.

Takve banke su praksa u razvijenom svijetu, koji je već učinio mnogo za gubitak genskog fonda iz svojih populacija, ali i ulaže mnogo za konzervaciju ostaloga. Potrebni broj uzoraka po određenoj vrsti je tema rasprave, neke banke poput SVF Foundation prikupljaju minimalnih 30 ženskih (do 200 zametaka) i 8-10 muških (do 3.000 pajeta sjemena) sa ciljem da se može oživiti pasmina u jednoj generaciji ako bude potrebno.

Interakcija sa uzgajivačima je također važna, od njih se crpi genski materijal i njima se mora vraćati djelomično. Naime, banka gena uglavnom ima određenu strukturu na tri nivoa dostupnosti. Prvi, trajno pohranjuje materijal, taj materijal nije dostupan nikome on je namjenjen za budućnost. Drugi, pohranjuje srednje dostupni materijal koji se koristi u slučaju nužde. Treći, pohranjuje dostupni materijal koji se može koristiti na zahtjev uzgajivača. Svrha je da pomogne održavanju populacija in situ ili barem *ex-situ* te da konstantno provjerava da je zamrznuti materijal funkcionalan. Populacije koje su u programima konzervacije in situ trebale bi koristiti dijelomično tehnologije asistiranje reprodukcije za razmnožavanje kao praksa i provjera znanja za slučaj nužde.

Programi genskih banaka podrazumijevaju niz aktivnosti. Potrebno je genski poznavati vrste od kojih se sakuplja genski materijal, naime, dobro poznavanje fenotipa i svih bioloških aspekata određene vrste mora se kompletirati sa genetskim istraživanjima. Također, potrebno je razviti tehnologije asistiranje reprodukcije za svaku vrstu od peradi do mesoždera, a pri tome se ne smije zanemariti niti zoosanitarni aspekt reprodukcije. Tehnologije potrebne za uspostavu genske banke su: smrzavanje somatnih stanica (fibroblasti), sjemena, zametaka i jajnih stanica. Nakon smrzavanja treba i znati vratiti smrznute stanice i gamete u život, za to je potrebno raditi na zahvatima

vezanim za umjetno osjemenjivanje (sinkronizacija, prepoznavanje estrusa, umjetno osjemenjivanje) na detekciji bređosti, embriotransferu, oplodnji in vitro te čak i na kloniranju. Smrzavanje tkiva je naj jednostavnije rješenje za očuvanje gena ali isto tako podrazumjeva i najtežu tehnologiju za oživljavanje, što je kloniranje bića iz somatskih stanica. Nasuprost, smrzavanje jajnih stanica nije jednostavno ali ima prednost da se u relativno jednostavnoj tehnologiji oplodnje in vitro može oploditi sa sjemenom od poželjnog rasplodnjaka. Tako, svaka tehnologija ima svoje prednosti i mane te i svoj stupanj teškoće. Uglavnom mora se shvatiti da se radi o kompleksnom radu koji zahtjeva mnogo vremena, stručnosti i sredsativa. Od navedenog, jasno je da je to multidisciplinarni rad koji zahvaća uzgajivače, razne struke i državne i privatne institucije koje skrbe za očuvanje genskog fonda.

Rad u Centru za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske d.o.o.

Djelatnosti Centra za reprodukciju u stočarstvu su: proizvodnja sjemena rasplodnjaka za umjetno osjemenjivanje, promet duboko smrznutog sjemena – biološkog materijala, nabavka i promet opreme i repromaterijala za umjetno osjemenjivanje, rad na razmnožavanju, uzgoju i povećanju plodnosti, proizvodnja embrija i prijenos, oplodnja in vitro, otkrivanje i suzbijanje pojave i širenja zaraznih i nezaraznih spolnih bolesti kod životinja, prijenos znanja i tehnologija iz područja razmnožavanja u stočarstvu; stručna i znanstvena istraživanja iz područja razmnožavanja u stočarstvu; Ispitivanja rasplodne vrijednosti muških životinja, organiziranje seminara i tečajeva za obrazovanje i edukaciju kadrova različitih profila u području razmnožavanja, tehnologija ergelskog uzgoja konja, program zaštite ugroženih pasmina domaćih životinja, promet markica za označavanje stoke, suradnja sa stručnim i znanstvenim institucijama u zemlji i inozemstvu.

Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske već od 1971. godine pohranjuje spermu bikova vrijednijih genetskih karakteristika, po nekoliko doza duboko smrznute sperme. Sačuvana ja sperma buša, oberintalca, slavonsko srijemskog podolca, istarskog goveda, simentalaca, smeđe pasmine i šarole, također postoje zalihe ovnova i jarčeva koji su bili u proizvodnji sjemena. Ova zbirka već podrazumijeva očuvanje gena koji više nisu u komercijalnim populacijama.

Tablica 1. – BROJNO STANJE DOZA SJEMENA I ZAMETAKA TE BROJ MUŠKIH I ŽENSKIH RASPLODNIH ŽIVOTINJA POHRANJENIH U DEPOU CRSH.

PASMINA	Broj muških rasplodnjaka	Broj doza sjemena	Broj plotkinja davateljice zametaka	Broj zametaka
Simentalac, proizvodni	88	532.636	27	366
domaći (stara genetika)	51	5.487	4	20
Holstein friesland	7	16.270	33	65
Red holstein	1	4.750	-	-
Brown-swiss	4	105	-	-
Buša	6	3.506	-	-
Oberintalac	1	250	-	-
Slavonsko-srijemski podolac	5	1.608	1	4
Istarski podolac	9	3.702	-	-
Šarole	5	2.397	1	1
Jarčevi (alpski)	2	100	-	-
Istarska pramenka	3	520	-	-
Merino landshaff	1	13	-	-

Što se tiče reproduktivnih tehnologija, Centar za reprodukciju u stočarstvu redovito smrzava bikovsko sjeme svih navedenih pasmina, od samog početka dio depoa se sačuva za slučaj potrebe. Redovito se radi sa nerastovskom spermom uglavnom svježem razrijeđenom koja se koristi komercijalno ali imamo i iskustva u smrzavanju nerastovske sperme koja je inače izuzetno zahtjevna tehnologija. Također radi se na pripustu i od nedavno i na umjetnom osjemenjivanju kobilica, Centar također ima iskustva sa smrzavanjem sperme pastuha. CRSH ima tim za embriotransfere koji radi na dobivanju i presađivanju govedih zametaka redovno i s dobrim rezultatima. Centar surađuje sa Veterinarskim Fakultetom u Zagrebu u radovima u oplodnji in vitro goveda, ovaj znanstveni rad je temeljni dio zahtjevne tehnologije kloniranja koja se još mora razviti u nas. Također, već godinama radi po terenu u suradnji s veterinarskim stanicama, Ministarstvom poljoprivrede i uzgajivačima u suzbijanju steriliteta i poboljšanje plodnosti. CRSH ulaže mnogo sredstava u istraživanja o reproduktivnim tehnologijama u vlastitim programima kako i u sudjelovanju u državnim programima i kao nositelji ili suradnici raznih projekata u području reprodukcije. Stečeno znanje i iskustvo predstavljaju važan temelj za suradnju u budućim projektima o očuvanju genetske raznolikosti u Republici Hrvatskoj.