

NOVI BIOTEHNOLOŠKI POSTUPCI U REPRODUKCIJI SVINJA*

NEW BIOTECHNOLOGICAL PROCEDURES IN SWINE REPRODUCTION

T. Petrujkić**

Novi biotehnološki postupci i upotreba hormona u svinjarstvu imaju za cilj povećanje broja prasadi u leglu. U manjim krdima i grupama svinja može se godišnje od krmača selekcioniranih sa 16 marnih kompleksa (sisa) dobiti i do 32 praseta, tj. tovlijenika po jednoj krmači. Za takvu reprodukciju, osim primene biotehnoških metoda, koriste se posebni, individualni boksevi za prašenje krmača sa toplim "jezgrom", sa podnim grejanjem, kao i fazna ishrana i čista porodilišta.

Ovulaciona vrednost kod svinja određena je genetskim i paragenetskim delovanjima, a često se provočira i povećava injekcijama i preparatima za superovulaciju. Međutim, rezultati su varijabilni, jer svako davanje injekcija hormona može da smanji reprodukcioni ciklus, smanji dužinu estrusa ili poremeti rad jajnika i stvori cistične folikule.

Upotreba folikulostimulirajućih hormona do 1000 I.U. po životinji za indukciju i sinhronizaciju estrusa je ustaljena kod krmača i nazimica, kao i upotreba prostaglandina, upotreba GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) za povećanje ovulacije kod svinja i povećanje broja folikula 4 mm u prečniku kod primene novih biotehnologija u gajenju svinja povećava broj ovulacija i plodnost kod svinja.

Na taj način reprodukcija je podignuta na najviši mogući nivo, a veštačko osemenjavanje krmača ima 12 posebnih pravila, koja omogućavaju bolje i uspešnije veštačko osemenjavanje krmača.

Ključne reči: biotehnologija, indukcija estrusa, prašenje, embriotransfer, svinje

Uvod / Introduction

Svinjarsku proizvodnju u Srbiji karakteriše veoma raznoliko gajenje svinja bez veće kontrole i bez vođenja matičnog knjigovodstva, nestabilno tržište sa čestim padovima cena, nestabilna i veoma često nerentabilna proizvodnja.

* Rad pripremljen za štampu 15. 5. 2002. godine

** Dr Tihomir Petrujkić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Na privatnom sektoru u Srbiji se nalazi preko 90 % priplodnih svinja, sa malim udelom organizovane selekcije. Samo oko 5 % svinja obuhvaćeno je veštačkim osemenjivanjem i osim na malobrojnim farmama, svinjarstvo je ekstenzivno. Sadašnje stanje u svinjarstvu karakteriše i nepostojanje nacionalnog programa u svinjarstvu i disparitet između cene proizvodnje i hraniva za ishranu svinja.

Gajenje i ishrana svinja na privatnom sektoru je veoma raznoliko, bez proizvodnog plana i kontrolisane, kvalitetne ishrane u velikom broju slučajeva.

Ne postoji ekomska zainteresovanost na duže vreme za gajenje svinja, osim za potrebe seoskih domaćinstava sa povremenim tržišnim viškovima. Upravo takvo stanje zahteva uspostavljanje kontrole gajenja, selekcije, bolje ishrane i uvođenje novih biotehnoloških postupaka radi povećanja broja osemenjenih krmača, intenziviranja i uvođenja selekcije i kvalitativno i kvantitativno brži razvoj svinjarstva na privatnom sektoru i na selu.

Zbog toga treba što pre omasoviti veštačko osemenjavanje svinja na individualnom sektoru i napraviti projekat v.o. svinja za celu Srbiju – regionalne i centralni program osemenjavanja svinja.

Upotreba hormona u reprodukciji svinja / Use of hormones in swine reproduction

Poslednjih godina metod biotehnološke kontrole reprodukcije svinja ne može se izvesti bez upotrebe hormona u reprodukciji i planskoj proizvodnji prasadi na farmama.

Upotreba hormona je posebno značajna sa aspekta razvoja svinjarstva i intenziviranja reprodukcije, sinhronizacije i indukcije estrusa, veštačkog osemenjavanja krmača i nazimica i poboljšanja kvaliteta i povećanja broja svinja, kao i proizvodnje genetski homogenih i zdravih svinja.

Za kontinuirano veštačko osemenjavanje svinja takođe je potreban hormonalni tretman i biotehnološka kontrola polnog ciklusa, jer se time omogućava osemenjavanje većeg broja svinja istovremeno, od 85 do 90 %.

Međutim, za upotrebu hormona u reprodukciji neophodno je analizirati sledeće činjenice:

- status ishrane nazimice i krmače i njen reproduktivni status;
- kontrolu rasta i razvoja telesne mase i kondicije grla;
- optimalnu kondiciju za parenje ili veštačko osemenjavanje;
- intenzivnost seksualne stimulacije;
- bioklimatske faktore, kao temperaturu, svetlosni program, smeštaj i ishranu pre koncepcije.

Svakako da je biotehnološka kontrola postupaka hronološki i kvantitativno neophodna za program proizvodnje prasadi. Primera radi, sistem sve krmače unutra – sve krmače napolje, je veoma važan zbog higijenskih mera i grupne proizvodnje i gajenja prasadi, tj. formiranje turnusa je jedino moguće za planiranje veštačkog osemenjavanja i sinhronizaciju grupa nazimica ili krmača.

Program sinhronizacije estrusa je najvažniji i u kratkom vremenu on predstavlja limit za veštačko osemenjavanje, a važan metod za realizaciju gajenja životinja, proizvodnju prasadi sa homogenim genetskim nasleđem, dobrog zdravlja i kondicije u širem značenju.

Biotehnološki metodi kontrole baziraju se na perfektnom menadžmentu i zdravim životnjama. Tu spada kontrola ovarijalnog ciklusa krmača pri-premljenih za veštačko osemenjavanje i grupno prašenje. Sledеće za biotehnološku kontrolu su podaci o prethodnom prašenju, broju prasadi i polu, kao i stanju kondicije krmača posle prašenja do zalučenja.

Kontrola započinje odmah nakon prašenja kontrolom trijasa i isključivanjem mastitis – metritis – agalakcija sindroma (M.M.A.). Sledеće je: kontrola ishrane i mleka, tj. mlečne žlezde koja u to vreme produkuje od 6 do 9 litara mleka dnevno, i kada je njen zdravstveno – higijensko stanje odlučujuće za leglo i prasad u celini.

Ovo je najvažnije za dobijanje više prasadi u leglu i visok prag reproduktivnih performansi, prvenstveno za pojavu estrusa posle odbijanja prasadi od četvrtog do petog dana posle zalučenja.

Takve krmače imaju signifikantno bolju reprodukciju, tj. procenat graviditeta od krmača koje su kasnije bile u estrusu, jer je to najvažnije sa finansijske strane i skupoće, tj. cene koštanja prasadi. Jedan dan zakašnjenja nakon četvrtog i petog dana od zalučenja krmače staje najčešće 2 do 3 evra ako graviditet nastaje kasnije.

Ponekad je problem kako naći optimalno vreme za stimulaciju estrusa kod zalučenih krmača, a posebno kod visoko produktivnih krmača u zavisnosti od:

- visoke temperature leti i niske zimi;
- krmače primipare nakon prvog prašenja, a i pojave ranog estrusa;
- krmača sa dužim periodom dojenja, kada prasad sisaju duže od 5 nedelja.

Za takve krmače najvažnije je korišćenje kvalitetnog hraniva i postupka sa PMSG-om (Pregnant mare serum gonadotropin).

Tačno 24h nakon odbijanja prasadi krmačama se ubrizgava injekcija PMSG-a. Pre toga minimalno vreme za sisanje prasadi jeste 3 sedmice:

– upotreba PMSG-preparata, Folligona, Sugonala ili drugih, kao što su Prolosan, Peganon (Liofiliran) ili drugih gonadotropnih hormona kod krmača koje su se više puta prasile u dozi od 750 do 800 I.U. a kod primiparnih krmača 1000 I.U. tačno 24 časa nakon odbijanja prasadi omogućava 4. do 5. dana pojavu estrusa i njihovo osemenjavanje 3 do 4 dana posle toga.

Funkcija molekula PMSG je dvostruka:

- funkcionalno stimulisanje folikulostimulirajućeg hormona (FSH), i
- stimulisanje luteinizirajućeg hormona (LH).

Tabela 1. Primer grupne sinhronizacije estrusa kod zrelih nazimica od 210. do 240. dana starosti (primeri)

Table 1. An example of group synchronization of estrus in mature gilts from days 210-240 of age (examples)

Oralno davanje preparata progesterona (npr. Altrenogest) / Oral administration of progesterone preparation (Altrenogest, for example)	
1.	Dnevna doza 20mg – 18. dana, 4-9 dana oko 95% nazimica u estrusu, drugog dana estrusa v.o. <i>Daily dose 20 mg on day 18, 4-9 days about 95% gilts in estrus, artificial insemination on the 2nd day of estrus</i>
2.	Oralno davanje 16-20mg progesterona – 18. dana, 19. dana PMSG 1000 I.U. – 4-6 dana oko 85% nazimica u estrusu – v.o. <i>Oral administration of 16-20 mg progesterone on day 18, PMSG 1000 IU of PMSG on day 19 – 4-6 days about 85% gilts in estrus – artificial insemination</i>
3.	Oralno davanje 15.-18. dana 16mg progesterona, 19. dan PMSG 1000 I.U. – u roku od 1 do 9 dana pojava estrusa skoro 100% - veštačko osemenjavanje <i>Oral administration of 16 mg progesterone on days 15-18, 1000 IU PMSG on day 19 within 1-9 days estrus occurred in almost 100% – artificial insemination</i>

Na bazi te dve funkcije i relativno dugog poluživota specifičnog PMSG-tretmana stimuliše se rast i razvoj ovarijalnih folikula i sekrecija 17β estradiola u prvom estrusu i nastanak ovulacije.

Jednokratno davanje PMSG-a je bolje za fiziološku sekreciju FSH i LH i pokazalo se bolje od simultanog tretmana sa PMSG-om i HCG za start estrusa, jer ovaj drugi metod ne omogućava optimalne uslove za koncepciju.

Sistem sa PMSG-om daje mogućnost ciljanog starta neposredno nakon odbijanja – kontrolisan estrus, kontrolisano i planirano osemenjavanje krmača i u svako doba godine kontinuiranu proizvodnju prasadi.

Između širokih granica i uslova koji su potrebni za krmače, ipak postoje i krmače u stаду koje imaju i individualne reproduktivne performanse.

Sinhronizacija estrusa kod zrelih nazimica (od 210 do 240 dana starosti) na farmama prasila sa grupnim prašenjem – uvođenje nazimica i sastavljanje grupe je specifičan metod za uklapanje nazimica u grupe. To posebno otežava visoka varijabilnost puberteta, a isto tako i kondicija nazimica kao i početak i vreme trajanja estrusa.

Specifični uslovi za popunjavanje i integrisanje grupe za remont su otežani i :

- kada farme koriste 14-dnevni ili 21-dnevni ritam pripusta;
- kada farme uvođe veći broj nazimica, i
- širok "stepen" kondicije nazimica, mršave ili ugojene nazimice.

Sinhronizacija je praktičan metod prevođenja zrelih nazimica na vreme uvođenja i neophodnih za remont stada. Svrha uvođenja tog biotehnološkog metoda jeste tretman i uvođenje u estrus u kratkom vremenu svih krmača grupno.

Tabela 2. Biotehnološke metode za sinhronizaciju estrusa i ovulaciju i fiksirano vreme osemenjavanja nazimica i krmača

Table 2. Biotechnological methods for synchronization of estrus and ovulation and fixed time of insemination of gilts and sows

Metod / Method	Krmače / Sows	Nazimice / Gilts
Pojačana ishrana i teranje životinja da se kreću +vitamin +selen / Richer diet and increased movement of animals + vitamin + selenium	Zadnji dani sisanja prasadi 4 dana pre zalučenja, poslednje sedmice pripreme / Final days of suckling 4 days before weaning, preparations during the final week	15-dnevno oralno davanje 4 ml "Regumate R" (16 mg progesterona) svakoj nazimici individualno / 15-day oral administration of 4 ml "Regumate R" (16 mg progesterone) individually to each gilt
Davanje injekcija PMSG-a (od 800 do 1000 I.U.) ili FSH / Administration of PMSG injection (800-1000 IU) or FSH	24 časa posle odbijanja prasadi 800 do 1000 I.U. stare krmače i primipare uvek 1000 I.U. / 24 hours after weaning 800 - 1000 IU, old sows and gilts always 1000 IU	Davanje 15 dana 4 ml "Regumate R" per os 24 časa po prestanku "Regumate" davanje i.m. 800 I.U. FSH, PMSG / Administration of 4 ml "Regumate R" per os for 15 days, administration of 800 IU FSH, PMSG i.m. 24 hours after termination of "Regumate" treatment
Davanje injekcija za sinhronizaciju ovulacije (Preparat Gonavet) 50 µg Preparati GnRH doza 50 µg / Administration of injection for synchronization of ovulation (Gonavet) 50 mg	Zalučivanje krajem 4. nedelje sisanja 56-58 časova posle davanja FSH 4. nedelje 72 sata posle davanja FSH 3. nedelje 78-80 sati posle davanja FSH / Weaning towards end of 4th week of suckling 56-58 hrs after administration of FSH in the 4th week 72 hrs after administration of FSH in 3rd week 78-80 hrs after administration of FSH	80 časova posle davanja PMSG-a (FSH) daje se preparat GnRH / GnRH is administered 80 hrs after administration of FSH
Davanje prostaglandina "Estrumate E" / Administration of prostaglandin "Estumate E"	0.7 ml i.m. jednom 4. dan posle odbijanja prasadi / 0.7 ml i.m. once on day 4 after weaning of piglets	Posle 213 dana starosti 0.7 ml "Estrumate E" / Administration of 0.7 ml "Estrumate E" after 213 days of age
Kod većine krmača i nazimica estrus i ovulacija se javljaju posle 5.5 dana od dana davanja injekcije prostaglandina "Estrumate E" / In most sows and gilts, estrus and ovulation occur 5.5 days after the administration of a prostaglandin injection "Estrumate E"	Estrus / Estrus	Estrus / Estrus
Veštačko osemenjavanje se vrši: / Artificial insemination is performed	Prvo v.o. 24-36 časova posle sinhronizacija, drugo v.o. se ponavlja na 24 časa posle 18 časova / First a.i. 24-36 hrs after synchronization, second a.i. is repeated every 24 hrs after 18 hrs	Prvo v.o. 24-26 časova posle sinhronizacije i ponavlja se 40. časa, drugo v.o. maksimalno na 16 časova razmaka / First a.i. 24-26 hrs after synchronization and is repeated on the 40th hour; second a.i. takes place in 16 hour intervals at the longest
Izabrani su kao primeri preparati: Regumate (R), Estrumate (E) i Gonavet (G) / The preparations Regumate (R), Estrumate (E) and Gonavet (G) have been selected as examples		

Stimulacija otkrivanja estrusa je veoma važna pri kraju metestrusa kod svih nazimica u grupi. Tada je proestrus stimulisan rastom folikula, mada uopšte-no, nazimice imaju spontanu luteolizu za to.

Početak novog proestrusa je određen sa vremenom kada nazimice završavaju ciklus, jer je pre toga jajnički ciklus blokiran.

Za to se koriste i progesteronski preparati koji blokiraju ciklus, a koji ima sličan efekat progesteronu za vreme prirodnog ovarijalnog ciklusa.

Progesteron dat egzogeno dovodi do negativnog feed back-a, slično prirodnom, inhibiše sintezu dekapeptida Gn-RH u hipotalamusnim jedrima.

Sinhronizacija ovulacije i fiksirano osemenjavanje nazimica i krmača / Synchronization of ovulation and fixed insemination of gilts and sows

Važno je u toku estrusa nazimica i krmača fiksirati vreme v.o. Istovremeno, osemenjavanje nazimica i krmača za kratko vreme, od velike je važnosti u većim krdima sa grupnim prašenjem. Ako se to radi organizovano, biotehnološki metod omogućava smanjenje skupog i ekstenzivnog "individualnog" rada oko praćenja estrusa, smanjenje broja radnika i olakšava otkrivanje optimalnog vremena za veću grupu nazimica ili krmača (grupa od 80 životinja).

Ustanovljeni metod tretmana svodi se na sledeće:

– Tačno 24 časa po odbijanju prasadi, zasušenim krmačama se daje 1000 I.U. PMSG-a ako su primiparne, a pluriparnim krmačama 800 I.U. PMSG-a. Za stimulaciju ovulacije krmača koristi se HCG, ali važno je da i period sisana određuje razmak u davanju PMSG-a i HCG injekcije.

Kod krmača sa periodom dojenja od četiri nedelje, razmak je 72 časa, a kod krmača sa periodom dojenja od 5 nedelja razmak je 56-58 časova. Međutim, ispitivanja su pokazala da često možemo umesto HCG-a dati GnRH (različite analoge od proizvođača), sintetski proizvedene, kao npr. "Gonavet", koji je sintetski analog GnRH.

Ispitivanja upoređivanjem klasičnog davanja HCG i "Gonavet R" krmačama i nazimicama, pokazala su da znatno bolji efekat ima ($p < 0.05$) davanje GnRH analoga na "Živo rođenu prasad u prvi 100 osemenjavanja".

Metod sinhronizacije estrusa i ovulacije često se primenjuje kao metod jednodnevne proizvodnje prasadi u turnusima.

Određivanje fiksiranog vremena osemenjavanja, koje se koristi dva puta u estrusu kod nazimica i krmača, omogućava dobijanje više prasadi.

Prvo osemenjavanje treba uraditi 24-26 sati posle davanja injekcije analoga GnRH analoga (u našim uslovima koristili smo "Gonavet R"), a drugo osemenjavanje u razmaku od najmanje 16 sati.

Za dobijanje dobrih rezultata potrebno je obezbediti ambijentalne uslove, ishranu, i analizu kondicije krmača, kao i obučavanje jednog radnika za takav praktičan rad na većem broju krmača.

Tabela 3. Program sinhronizacije ovulacije i fiksiranog osemenjavanja krmača i nazimica na farmama

Table 3. Program of ovulation synchronization and fixed insemination of sows and gilts on farms

	Krmače / Sows	Nazimice / Gilts
	4-5 nedelja dojni period / 4-5 weeks suckling period	Kraj sinhronizacije "Regumate R" 24 časa / End of synchronization of "Re-gumate R" 24 hrs
Četvrtak / Thursday	Pre podne/posle podne zalučenje / Morning/afternoon weaning	Davanje PMSG – 1000 I.U. / Administration of 1000 I.U.
Petak / Friday	Pre podne/posle podne 24. časa davanje 1000I.U. PMSG i.m. / Morning/afternoon administration of 1000 IU PMSG on the 24th hour	-
Subota / Saturday	Pre podne/posle podne / Morning/afternoon	
Nedelja / Sunday	Pre podne/posle podne 72 časa davanje "Gonavet" 50ig / Morning/afternoon, administration of Gonavet 72 hrs	Stimulacija ovulacije sa GnRH sint. analogima "Gonavet" 50 µg 78-80 h / Stimulation of ovulation with GnRH synthetic analogues "Gonavet" 50 µg 78-80 hrs
Ponedeljak / Monday	Pre podne/posle podne 24-26 časova prvo v.o. / Morning/afternoon, 24-26 hrs first artificial insemination	Prvo v.o. 24-26 časova / First artificial insemination 24-26 hrs
Utorak / Tuesday	Pre podne/posle podne = 42 časa drugo v.o. /Morning/afternoon = 42 hrs second artificial insemination	Drugo v.o. 40 časova / Second artificial insemination 40 hrs

Indukcija i kontrola prašenja / Induction and control of delivery of piglets

Kontrola porođaja, prašenja krmača zahteva nadgledanje krmača od 110. dana graviditeta. Prethodno se od 100. do 110. dana boksevi sa suprasnim krmačama ne čiste, već se samo nadgledaju ili samo malo čiste od izmeta. Prvo i osnovno je da se menja ishrana, daje se tečni napoj i smanjuje koncentrat, a dodaju se mekinje. Drugo, meri se telesna temperatura rektalno i pravi temperaturna lista, a krmače se očiste, operu topлом vodom, a najbolje je da se 110. dana okupaju. Za indukciju prašenja preporučuje se upotreba prostaglandina, sintetskih preparata analoga PGF_{2α}; npr. "cloprostenola", jer daje dobre efekte. Prvo, poslednjih dana graviditeta prasad najviše rastu i to može da oteža stanje krmače ili suprasne nazimice. Drugo, porođaj se može indukovati najranije 112. dana kod krmače, ali je bolje ako je to 114. dan graviditeta, osim kod nazimica.

Naša iskustva iz analize ogleda indukcije prašenja većeg broja krmača pokazuju da se 90 % krmača oprasilo 36 časova posle davanja injekcije "cloprostenola", što navode i mnogi strani autori. Ovim smo, osim kontrole porođaja, dobili i manji broj krmača kod kojih se javlja MMA sindrom, a i drugih oboljenja je bilo u manjem procentu. Davanje analoga PGF_{2α} omogućava i bolju produkciju oksitocina kod tretiranih krmača. Isto tako, može se pored PGF_{2α} is-

tovremeno dati i sintetska zamena nonapeptida, oksitocina - "pituitrin" ili "hipofizan" u preporučenim dozama, ili "depotocin" u dozi od 1 ml.

Bolji rezultati se postižu davanjem "depotocina" 24 časa posle davanja "cloprostenola", jer je prašenje brže i kraće i istiskivanje plodova je bolje. Stimulišu se time i porođajni trudovi. Davanje "prostaglandina" stimuliše i puerperijum i sprečava ili bitno smanjuje pojavu sindroma MMA.

Na ovaj način postiže se potpuna kontrola reproduktivnog ciklusa krmača i nazimica.

Indukcija porođaja / Induction of delivery -

Cilj ove biotehničke mere je da se u određenom vremenskom terminu, posle 110. dana suprasnosti, izazove porođaj grupe krmača. Indikacija za primenu ove mere je mogućnost da se izbegne produžen graviditet sa najčešće otežanim porođajem. Na taj način, moguća je kontrola toka porođaja životinja, nega mладунčadi i krmače u puerperijumu. Najčešće se to primenjuje 112. ili 113. dana graviditeta.

Sinhronizacija, odnosno indukcija porođaja kod krmače je relativno lako moguća. Porođaj se indukuje isključivo PGF_{2α} preparatima ili njihovim analogima. Graviditetna žuta tela krmače pri kraju graviditeta su osjetljiva na egzogeno davanje PGF_{2α}.

Jednokratna injekcija PGF_{2α} preparata posle nekoliko sati dovodi do luteolize, nivo progesterona u krvi opada i indukuje se pripremna faza porođaja. Pored ovog luteolitičkog efekta, PGF_{2α} preparatima se u indukciji porođaja svinja pripisuje i uticaj na kontrakcije miometrijuma.

Primena glukokortikosteroidea u indukciji porođaja svinja nije pogodna za praksu, jer injekcije glukokortikosteroidea treba da se daju višekratno, a porođaj nastupa tek 2. ili 3. dana posle davanja injekcija.

Faza istiskivanja plodova nastaje 12-36 časova po aplikaciji PGF_{2α} preparata ili analoga, a sam porođaj normalno protiče.

Kao što je već rečeno, za indukciju porođaja svinja koriste se prirodni PGF_{2α} preparati i njihovi analozi u dozi koju preporučuje proizvođač.

Najčešće primenjivan PGF_{2α} analog u praksi, u cilju indukcije porođaja svinja je "cloprostenol". Doza od 175 µg dovodi do porođaja.

Jednokratna aplikacija prirodnih PGF_{2α} preparata dovodi do porođaja prosečno za 30 sati; kod primene PGF_{2α} analoga porođaj nastupa nekoliko sati ranije. Porođaj nastupa nešto kasnije kod prvopraskinja nego kod krmača koje su se više puta prasile.

Neželjeni efekti (crvenilo kože, podrhtavanje mišića, česta mikcija i defekacija) češći su po primeni prirodnih prostaglandina nego ako se daju preparati analoga PGF_{2α}.

Porođaj se ubrza ako se primeni oksitocin u dozi od 20 I.U. i.m. 20 sati po davanju PGF_{2α} preparata. Dejstvo oksitocina počiva na već ispoljenom uticaju

prostaglandina na matericu, jer je poluvreme života oksitocina kratko, a porođaj nastupa tek 30 minuta do tri sata kasnije. U slučaju da postoji visok nivo oksitocina u krvi, mleko curi u mlazu iz mamarnih kompleksa. Nekontrolisano davanje oksitocina može tada da bude štetno, jer dovodi do spazma materice.

Embriotransfer u svinja / Embryotransfer in swine

U biotehnološke metode razmnožavanja svinja spada i transplantacija oplođenih jajnih ćelija, transfer gena, oplođenje *in vitro* i usmeravanje pola.

Embriotransfer se prvo primenjivao u istraživačke svrhe, a sada se počinje uspešno primenjivati i kao praktična metoda za unapređenje svinjarstva.

Prvi uspešan embriotransfer svinja izvršio je 1951. godine Kvasnicki u Sovjetskom Savezu. U prvim radovima, embrioni svinja u dvo- i četvoroćeljskom stadijumu presađivani su samo u jajovod, a kasnije i u materične rogove primaloaca.

Metod transplantacije embriona (TE) sastoji se od niza operacija, koje su podeljene u nekoliko faza:

1. Izazivanje superovulacije donora (davaoca);
2. Sinhronizacija estrusa donora i recipijenta (primaoca);
3. Uzimanje oplođenih jajnih ćelija od davaoca – dobijanje embriona;
4. Kontrola kvaliteta i konzervisanja embriona;
5. Prenošenje jajnih ćelija u primaoce.

Vrednost spontane, normalne ovulacije kreće se oko 24 ovulirane jajne ćelije u jednom estrusnom ciklusu krmače.

Superovulacijom se broj ovocita (folikula) povećava prosečno na 33.4 ovulirana folikula (Brussow i sar. 1990.), a Stančić i sar. (1992) navode da su dobili 34.3 ovuliranih folikula po nazimici sa kombinacijom 1500/750 I.U. PMSG/HCG, dok Baker i sar. (1968) izveštavaju da su dobili 45.8 ovulacija po nazimici tretiranoj sa 2000/500 I.U. PMSG/HCG, sa napomenom da se vrednost superovulacije ne povećava proporcionalno povećanju primenjene doze gonadotropnih hormona. Nazimice telesne mase oko 80 kg, kao i krmače, mogu se sinhronizovati za superovulaciju najbolje 15. ili 16. dana posle prethodnog ciklusa, davanjem injekcija u dozi od po 1000 I.U. PMSG "folligona" i 500 I.U. HCG 72 časa kasnije, kada se kod oko 90 % tretiranih grla javlja superovulacija.

Po navodima Stančića i sar. (1995), sličnim hormonalnim tretmanom polno zrelih nazimica, izazvali su superovulaciju kod 100 nazimica, pri čemu je prosečna ovulaciona vrednost iznosila 27.7 žutih tela po nazimici.

O uticaju ponovljenih postupaka superovulacije na ovarijalno reagovanje i zdravstveno stanje tretiranih životinja, prema navodima Hajašija (Hayashi) i sar. (1994), moguće je bez značajnih posledica i negativnih efekata izvesti 4 do 16 postupaka po krmači.

Treba napomenuti da je za postupke superovulacije potrebno pripremiti krmaču "ishranom na plodnost" tj. hraniti obrokom sa dovoljno proteina, vitamina i minerala, masti i ugljenih hidrata.

Da bi se postigao maksimalni efekat fertilizacione vrednosti, preporučuje se da se donori osemenjavaju kad krmača pokazuje refleks stajanja svakih 12 časova. Ako se, radi sinhronizovanja ovulacije, daje injekcija HCG, osemenjavanje treba izvesti 24 časa i 36 časova posle injekcije HCG, dozom u kojoj se nalazi 4×10^9 do 5×10^9 progresivno pokretljivih spermatozoida.

Embriotransfer kao biotehnički postupak u biologiji razmnožavanja svinja ne može da zameni veštačko osemenjavanje, u prvom redu sa ekonomskog stanovišta. Za svakodnevnu primenu to je stručno složen postupak, a nisu do kraja rešeni svi biotehnološki postupci sa embrionima svinja, posebno duboko zamrzavane embriona, što bi najdirektnije otvorilo nove perspektive u selekciji svinja.

Embriotransfer se izvodi u prvom redu radi dobijanja zdravog potomstva od genetski visoko kvalitetnih jedinki, čistih u prvom redu od oboljenja kao što su PPV – *Porcine parvovirus* (svinjska parvoviroza); SFV – *Swine fever virus* (svinjska kuga); ADV – *Aujeszky disease virus* (Aujeckijeva bolest); leptospiroza, bruceloza i PPRS – *Porcine respiratory reproductive syndrome* (svinjski resp. – reproducitivni sindrom). Praktični značaj embriotransfера u reprodukciji i selekciji svinja ogleda se u sledećem:

1. Smanjenju rizika od prenošenja virusnih i bakterijskih oboljenja;
2. Smanjenju rizika i materijalnih troškova priplodnog materijala prilikom transporta, aklimatizacije i uginuća;
3. Efikasnom unošenju visokovrednog genetskog materijala u farme i međunarodna razmena genetskog materijala;
4. Dobijanju zdravog potomstva od zdravih genetski visokovrednih roditelja koji ne mogu dalje da se pare;
5. Kontroli i sprečavanju širenja zaraznih bolesti svinja;
6. Izazivanju superovulacije i dobijanju većeg broja potomaka od genetski superiornih nerastova i krmača.

Mikromanipulacije sa gametima i embrionima / *Micromanipulations with gamets and embryos*

Brojna naučna saznanja u vezi sa morfolojijom i fiziologijom ovocita, posebno posle razvoja laboratorijske tehnike i tehnologije, pružaju neslućene mogućnosti u manipulaciji sa gametima i embrionima.

Te tehnike omogućile su resekiju embriona, transfer gena, modifikaciju genoma, kloniranje, proizvodnju himera i mikroinjekciju spermatozoida (Robl i sar. 1985).

Ove tehnike se prvenstveno koriste za fundamentalna istraživanja, mada postoje i mogućnosti za njihovu delimičnu primenu u komercijalne svrhe (Gordon 1997). Određivanje pola ranih embriona, određivanjem X i Y hromozoma u ćelijama uzetim iz ranih embriona (morula, blastula) ili biopsijom trofoblasta, nema negativan uticaj na njihov dalji rast i razvoj - Kato i sar. (1987). Rath i sar.

(1995) navode da primena protočne citometrije za separaciju X i Y spermatozoida predstavlja dosta efikasan metod kontrole polova u tehnologiji IVF oocita svinja.

Caliper (1987) navodi da transgene životinje daju doprinos proučavanju strukture i funkcije gena, kontroli razvića i genetskoj osnovi bolesti. Clark i sar. (1992) su u svojim radovima izvestili da je transfer gena uspešno izveden kod svinja, ovaca i goveda, ali sa malim procentom ekspresije, manjim od 1 % u odnosu na miša, gde procenat ekspresije iznosi 5 %. Ovakva pojava ukazuje da postoje nedostaci u procesu dobijanja transgenih životinja.

Pod transgenom životinjom se smatra jedinka koja u svim ćelijama sadrži stranu DNK sekvencu. Metodom mikroinjekcije u nukleus embriona u jednoćelijskom stadijumu, neposredno posle singamije pronukleusa, dobijaju se transgene životinje. Naime, sam cilj je da se gen integrise u genom embriona, da bi on ispoljio svoj fenotipski efekat posle rođenja jedinke, a da ona to novoformirano svojstvo prenosi na svoje potomstvo. Na taj način se poboljšavaju postojeća svojstva, ali i proizvode nova genetska svojstva kod transgenih životinja, a i kod njihovih potomaka (Pursel i sar; 1996).

Evidentno je da su postignuti uspesi u stvaranju transgenih životinja. U eksperimentalnom radu sa svinjama postignut je uspeh sa genom za hormon rasta. Naime, pojavio se ubrzani rast, smanjena debljina slanine i poboljšano je iskorišćavanje hrane. Ovakav uspeh sa genom za hormon rasta je proizveo niz sporednih efekata koji su ugrozili zdravstveno stanje svinja, a ovi efekti su verovatno posledica visoke koncentracije hormona rasta.

Za sada većina nabrojanih metoda mikromanipulacije ima naučnog, ali nema praktičnog značaja.

Zaključak / Conclusion

Biotehnološke metode koje se koriste u svinjarstvu u svetu, koje smo opisali u našem radu nije moguće primeniti u svinjarstvu Srbije iz više razloga, i to:

1. Pretežno ekstenzivno gajenje svinja, nestabilno tržište i nepostojanje realnih pariteta između cene proizvodnje i cene žive vase svinje. Mali broj robnih proizvođača.

2. Ekonomска iscrpljenost proizvođača i nezainteresovanost za razvoj svinjarstva, gajenje rasa svinja koje su manje plodne. Neprimenjivanje v.o. svinja, selekcije i intenzivne ishrane zbog stanja u društvu i na tržištu.

3. Nepostojanje nacionalnog programa uzgoja, selekcije, genetike i reprodukcije, kao i nepostojanje obeležavanja i evidencije svinja koje je neophodno za stvaranje boljeg kvaliteta i kvantiteta svinja.

4. Ekonomski neisplativost primene novih biotehnoloških metoda zbog cene svinja.

5. Nepostojanje kreditiranja proizvodnje svinja i skupe proizvodnje svinja, i zbog ekonomski nezainteresovanosti proizvođača na selu u Srbiji.

6. Male primene v.o. kao i drugih biotehnoloških metoda, i nepostojanja narodne selekcije krmača sa 14 i 16 mamarnih kompleksa, kao i selekcije krmača sa više od 10 prasadi u leglu i većim brojem prašenja.

Literatura / References

1. Caliper S. A.: B. Biotechniques 5, 638, 1987. - 2. Crozet N.: Manipulation of oocytes and in vitro fertilisation. J. Reprod. Fert., Suppl. 43, 235-243, 1991. - 3. Gordon I.: Controlled Reproduction in Pigs. CAB International, Oxon, U. K., 1997. - 4. Košarčić D.: Eksperimentalna ispitivanja embriotransfера u svinja sa reproduktivnog i veterinarsko – sanitarnog aspekta. Doktorska disertacija, Beograd, 1989. - 5. Kubičova E., Pivko J., Landa V., Grafenau P., Oberfranc M: Results of transgenic pig creations after microinjection of selected gens. 46th EAAP Satelite Symp. "Gene manipulation and transgenesis in animals". Nitro, Slovakia, Sept. 1, 1995. - 6. Miljković S. V.: Veštačko osemenjavanje životinja, 1996. - 7. Stančić B., Pivko J., Grafenau P., Laurinčík J., Oberfranc M., Šahinović R.: Ovulaciona vrednost i razvojni stadijumi ranih embriona nazimica tretiranih sa PMSG ili P-FSH. Biotehnologija u stočarstvu, 8, 5-6, 85-90, 1992. - 8. Wallenhorst S., Holtz W.: Transfer of pig embryos to different uterine sites. Proc. 11th Meeting Europ. ETA (Hannover), p. 256, 1995.

ENGLISH

NEW BIOTECHNOLOGICAL PROCEDURES IN SWINE REPRODUCTION

T. Petrujkić

New biotechnological procedures and the use of hormones in swine breeding are aimed at increasing the number of piglets in the litter. In small herds and groups, selected sows with 16 mammary complexes (tits) can yield up to 32 piglets, or porkers, per year per sow. In order to achieve such reproduction results, special, individual stalls for sow deliveries are used, in addition to biotechnological methods, with a warm core and floor heating, phased diet and clean facilities.

The ovulation value in swine is determined by their genetic and paragenetic effects, and it is often provoked and increased with injections and preparations for superovulation. However, the results vary, since any administration of hormone injections can reduce the reproductive cycle, shorten the duration of estrus, or disrupt the work of ovaries and create cystic follicles.

The use of follicle-stimulating hormones in quantities up to 1000 IU per animal for the induction and synchronization of estrus has become customary for sows and gilts, as well as the use of prostaglandins, the use of GnRH for increasing ovulation in swine and increasing the number of follicles >4 mm in diameter in the implementation of new biotechnologies in swine breeding, increases the number of ovulations and fertility in swine.

In this way, reproduction is raised to the highest possible level, and artificial insemination of sows has 12 separate rules which enable better and more successful artificial insemination of sows.

Key words: biotechnology, induction of estrus, delivery, embryotransfer, swine

РУССКИЙ

НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОСТУПКИ В РЕПРОДУКЦИИ СВИНЕЙ

Т. Петруйкич

Новые биотехнологические поступки и употребление гормонов в свиноводстве имеют для цели увеличение числа поросят в выводке. В более маленьких стадах у группах свиней можно ежегодно от свиноматок селекционированных с 16 маммальных комплексов (сосков) получить и до 32 поросёнка, т.е. откормленных по одной свиноматке. Для такой репродукции, кроме применения биотехнологических методов, пользуются отдельные, индивидуальные боксы для опороса свиноматок с тёплым "ядром" с половым отоплением, словно и фазовое кормление и чистые родильные дома.

Овуляционная стоимость у свиней определена генетическими и парагенетическими воздействиями, а часто провоцируется и увеличивается инъекциями и препаратами для суперовуляции. Между тем, результаты вариабильные, ибо каждое давание инъекций гормонов может уменьшить репродукционный цикл, уменьшить длину эструса, или нарушить работу яичников и открыть и создать кистозные фолликулы.

Употребление фолликулостимулирующих гормонов до 1000 I.U. по животному для индукции и синхронизации эструса установлена у свиноматок и зимних свиней, словно и употребление простогландин, употребление ГнРХ (Гонадорил-изинг гормона) для увеличения овуляции у свиней и увеличение числа фолликул 4 мм в диаметре у применения новых биотехнологий в свиноводстве увеличивает число овуляций и плодовитость у свиней.

Таким образом репродукция воздвигнута на наибольший возможный уровень, искусственное осеменение свиноматок имеет 12 отдельных правил, которые дают возможность более хорошее и более успешное искусственное осеменение свиноматок.

Ключевые слова: биотехнология, индукция эструса, опорос, эмбриотрансфер, свиньи