

Primjena suvremenih biotehničkih metoda u poboljšanju plodnosti svinja

Kovačević, Anamarija

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:450853>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI U OSIJEKU

Anamarija Kovačević

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Zootehnika

**Primjena suvremenih biotehničkih metoda u poboljšanju
plodnosti svinja**

Završni rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI U OSIJEKU

Anamarija Kovačević

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Zootehnika

**Primjena suvremenih biotehničkih metoda u poboljšanju
plodnosti svinja**

Završni rad

Povjerenstvo za ocjenu završnog rada:

1. dr.sc. Kristina Gvozdanović, mentor
2. izv.prof.dr.sc. Vladimir Margeta, član
3. izv.prof.dr.sc. Dalida Galović, član

Osijek, 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Zootehnika
Anamarija Kovačević

Završni rad

Primjena suvremenih biotehničkih metoda u poboljšanju plodnosti svinja

Sažetak: Metode poboljšavanja plodnosti svinja dijelimo na metode tri generacije. U prvu generaciju metoda poboljšavanja plodnosti svinja spadaju umjetno osjemenjivanje i čuvanje razrijeđene sperme odnosno, zamrzavanje gameta i embrija. Prednosti umjetnog osjemenjivanja u usporedbi s prirodnog pripusta ima mnogo, a neke su: potrebna mala količina sjemena za začecje, transport kvalitetnog sjemena na velike udaljenosti, poboljšanje populacije itd. U drugu generaciju se ubraja višestruka ovulacija i embriotransfer koji je već duže vremena popularan u svinjogojstvu. Pri zahvatu se koriste tehnologije koje su razvile u 70-ih i 80-ih godina prošlog stoljeća, a koriste se i danas. U treću generaciju metoda poboljšavanja plodnosti svinja spada *in vitro* oplodnja kojom su jajne stanice oplodjene spermijima izvan maternice. In vitro proizvodnja embrija se obično sastoji od tri koraka: sazrijevanje *in vitro*, *in vitro* oplodnja te *in vitro* kultura.

Ključne riječi: svinje, oplodnja, biotehnoške metode, plodnost

20 stranica, 7 slika, 12 literaturnih navoda

Završni rad je pohranjen: u Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
Undergraduate university study Agriculture
Zootechnique
Anamarija Kovačević

BScThesis

Application of modern biotechnical methods in improving reproductive efficiency of pigs

Summary: Methods of improving the fertility of pigs are divided into methods of three generations. The first generation of methods for improving the fertility of pigs include artificial insemination and storage of diluted sperm, ie freezing gametes and embryos. The advantages of artificial insemination compared to natural mating are many, and some are: a small amount of semen is needed for conception, transport of quality semen over long distances, population improvement, etc. The second generation includes multiple ovulation and embryo transfer, which has long been popular in pig farming. The procedure uses technologies that were developed in the 70s and 80s of the last century, and are still used today. The third generation of methods to improve the fertility of pigs includes *in vitro* fertilization by which eggs are fertilized by sperm outside the uterus. In vitro embryo production usually consists of three steps: *in vitro* maturation, *in vitro* fertilization, *in vitro* culture.

Keywords: pigs, insemination, biotechnological methods, fertility

20 pages, 7 figures, 12 references

BSc Thesis is archived in Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	POVIJEST SVINJOGOJSTVA U HRVATSKOJ.....	2
3.	PLODNOST SVINJA	3
	3.1 Najvažniji utjecaji na veličinu legla.....	4
	3.2. Priprema prasilišta i prasenje.....	5
	3.3. Proces oplodnje i fiziologija nazimica.....	7
	3.4 Utjecaj genotipa.....	8
	3.5. Laktacija.....	8
4.	METODE POBOLJŠAVANJA PLODNOSTI SVINJA.....	9
	4.1. Prva generacija metoda.....	9
	4.1.1. Umjetno osjemenjivanje.....	10
	4.1.2. Čuvanje razrijeđene sperme.....	13
	4.2. Druga generacija metoda.....	15
	4.2.1. Višestruka ovulacija i embriotransfer.....	15
	4.3. Treća generacija metoda	16
	4.3.1. <i>In vitro</i> oplodnja.....	16
5.	ZAKLJUČAK	19
6.	POPIS LITERATURE	20

1. UVOD

Svinjogojstvo kao poljoprivredna grana stočarstva ima za cilj proizvodnju i opskrbu tržišta svinjskim mesom i njegovim prerađevinama. Kvaliteta mesa je ono na što se najviše treba obratiti pažnja, a kako bi ono bilo kvalitetno mora imati dobru hranjivu vrijednost, mramoriranost i mora biti mikrobiološki ispravno. Potrošnja i konzumacija svinjskog mesa u Republici Hrvatskoj po glavi stanovnika je veća u odnosu na druge vrste mesa. Postoje dva izvorna oblika svinja, a to su: *Sus vitatus* ili azijska divlja svinja i *Sus scrofa ferus*, odnosno europska divlja svinja, a upravo od nje su nastale sve današnje primitivne pasmine. Podjela svinja na pasmine najčešće se radi prema različitim svojstvima, ali najčešće ih dijelimo prema proizvodnom tipu i stupnju oplemenjivanja. Svinje su od svih domaćih životinja najplodnije, a ono što je iznimno bitno jest da kao takve mogu imati 8 godina i u tom periodu dati najviše 20 legla prasadi. Što se tiče intenzivne proizvodnje bitno je naglasiti kako je cilj da bude što veći broj oprasene prasadi. Svinjogojstvo u Republici Hrvatskoj ima ključnu ulogu u cjelokupnoj stočarskoj proizvodnji. Osobno smatram da se veliki utjecaj ima ekološka osvještenost, gdje su se manji uzgajivači bolje snašli jer manje zagađuju okoliš, naravno kontinuirano ulaganje u proizvodnju, tehnologiju i edukaciju u proizvodnji svinja može biti iznimno isplativ posao. Cilj ovog završnog rada jest navesti i objasniti tri generacije metoda koje se koriste prilikom poboljšavanja plonosti svinja.

2. POVIJEST SVINJOGOJSTVA U HRVATSKOJ

Europska divlja svinja udomaćila se na prostorima Male Azije i Grčke još prije 9000. godina. Poznato je kako su svinje do kraja srednjeg vijeka držane bez ikakve dodatne prehrane, jer su tijekom cijele godine same nalazile dovoljno hrane, a na području Hrvatske plodovima hrasta, bukve i kestena. Svinjogojstvo bez dodatne hranidbe kod nas se zadržalo sve do 2. svjetskog rata, a nakon proljetnog prasenja ostavljalo se 2 do 3 praseta iz legla koje je othranila krmača bez ikakvog dodavanja hrane. To je vrijeme kada je ratarstvo počelo napredovati i dolazi do razvijanja tropoljnog plodoređa i sama proizvodnja kukuruza i graška je bila toliko velika da je nadmašila ljudske potrebe. Početkom 20. stoljeća počinje značajnije investiranje i ulaganje u proizvodnju tovnih svinja s gradnjom objekata i adekvatne opreme, samim tim kreće i nabava industrijske stočne hrane i kupovina krmača za proizvodnju od strane tvrtki koje se bave selekcijom. Ovim napretkom jedna obitelj ima mogućnost držati 300 krmača uz tov prasadi iz legla. Prosječna protošnja svinjskoga mesa i njegovih prerađevina u zadnje dvije godine iznosila je 36 kilograma po glavi stanovnika (Hrvatska enciklopedija, 2020.).

3. PLODNOST SVINJA

Kroz evoluciju, današnje su se pasmine preobrazile iz monoestričnih u poliestrične životinje. Spolni organi, jajnici i maternica počinju funkcionirati u normalnom toku sa spolnom zrelošću, a spolno zrele ženke mogu ostati gravidne. Rupić isto navodi da se na jajniku stvaraju Graafovi folikuli koji pucaju, te se u jajovod (infidibulum) ubacuju jajašca odnosno ženske spolne stanice koje su spremne za oplodnju.

Pod pojmom ovulacije se podrazumijeva oslobađanje fertilnih jajašaca (primarne ili sekundarne oocite) iz jajnika, odnosno biološki proces koji započinje gonadotropnom hormonskom stimulacijom zrelih folikula i završava pucanjem folikula i oslobađanjem zrelih jajašaca u jajovod. Ukupni broj jajašaca sposobnih za oplodnju koja su oplođena iz folikula na jajnicima predstavlja gornju granicu za konačnu veličinu legla.

U svakom jajniku se ciklički proizvede 6 - 14 jajašaca u svakoj ovulaciji kod negravidnih plotkinja. Broj ovuliranih jajašaca ovisi o dobi plotkinja te se najveći broj ovuliranih jajašaca podudara najčešće s petim leglom. Krmače obično proizvode 20 do 25 jajnih stanica, dok nazimici oko 14 do 15 jajnih stanica. Kvalitetnije su nazimice veće tjelesne mase jer proizvode veći broj ovuliranih jajašaca te samim time daju veće leglo. Kada nazimice dosegnu tjelesnu masu od 80 do 120 kg, odnosno u dobi između pet i devet mjeseci, javlja se spolna zrelost. Stimulacija prvog estrusa izuzetno je važna za pravovremeni ulazak u reprodukciju. U dobi od 160 dana nazimice bi trebale doći u kontakt sa spolno zrelim nerastom zbog stimulacije pojave prvog estrusa sa 180 dana starosti, drugog 200 dana i trećeg 220 dana, te bi trebale biti teške oko 125 kg. Spolni ciklus se počinje kontinuirano javljati s ulaskom nazimica u pubertet, te on traje prosječno 21 dan, u rasponu od 18 do 24 dana (Rupić, 2005.).

Estrus kod krmača traje između jedan i pet dana (prosječno 44 sata) kod čistih pasmina svinja, dok je kod križanih pasmina kraće, u prosjeku jedan do tri dana. Ovulacija se javlja 16 i 48 sati od početka bucanja, a traje oko 6 sati. Pripust ili umjetno osjemenjivanje bi trebalo obaviti drugi dan estrusa, što iznosi 18 - 24 sata od prvih znakova estrusa, te bi optimalno bilo osjemeniti dvaput radi sigurnosti. U prosjeku, gravidnost krmača traje 114 dana (103 - 126 dana) (Rupić, 2005.).

Kada govorimo o fertilitetu (plodnosti) govorimo o sposobnosti ženki da se pri svakom osjemenjivanju bio on prirodni ili umjetni ostanu gravidne odnosno oplodene i da oprase što veći broj zdrave i razvijene prasadi (Rupić 2005.).

Podjela reproduktivnih svojstava svinja prema funkciji na:

- Spolna zrelost (dob kod prvog pripusta)
- Spolno ponašanje (spremnost za skok, vidljivi znakovi estrusa)
- Količina i kvaliteta spermija
- Oplodnja
- Materinska svojstva
- Veličina legla

Fertilitet je kompleksna skupina svojstava zbog toga što predstavlja veliki broj reproduktivnih i nereproduktivnih svojstava koja mogu izravno ili neizravno utjecati na plodnost. Nazimice, odnosno krmače spolno sazrijevaju sa sedam mjeseci, dok im spolni ciklus traje 21 dan. Ostaju gravidne 3 mjeseca, 3 tjedna i 3 dana. Prema proizvodnom tipu svinje se dijele na masni tip, mesno - masni tip i danas najvažniji, mesni tip. Podjela prema stupnju oplemenjivanja dijeli svinje u primitivne, prijelazne i plemenite pasmine (Rothschild i Bidanel, 1998.).

3.1. Najvažniji utjecaji na veličinu legla

Veličina legla predstavlja konačni rezultat kojem doprinose sva reproduktivna svojstva. Sama plodnost, odnosno veličina legla, s obzirom na cilj istraživanja može se definirati prenatalnim i postnatalnim stadijem. Veličina legla u prenatalnom stadiju ovisi o broju ovuliranih jajnih stanica sposobnih za oplodnju te o kapacitetu maternice. Postnatalno veličina legla se prikazuje kroz ukupan broj oprasene prasadi, odnosno kroz broj živooprasene i mrtvooprasene prasadi te kroz broj odbijene prasadi. Od navedenih svojstava najznačajniji je broj živooprasene prasadi (Rothschild i Bidanel, 1998.).

Kao što smo već naveli puno toga utječe na veličinu legla pa tako i mnogi genetski i okolišni čimbenici te kompleksne međusobne interakcije samih. Prva skupina koja uključuje čimbenike zabilježene od proizvođača koji se bave intenzivnom proizvodnjom, sadrže informacije o pasmini, rednom broju prasnja, duljini laktacije, dobi pri prvom prasnju, odbiću prasadi itd.

Svi ovi navedeni podaci koriste se za potrebe selekcije i upravljanja jednim takvim uzgojem. Druga skupina se odnosi na hranidbu i bolesti (Luković i Škorput, 2015.).

Povećanje i poboljšanje legla kroz selekciju se uvijek smatralo teškom zadaćom. Jedan od razloga je upravo taj što reproduktivna sredstva nisu bila izražena upravo u tim komercijalnim programima ugoja. Nizak heritabilitet ograničena veličina početne populacije, fenotipska ekspresija samo u ženskih životinja te kasno obavljena mjerenja bili su glavni razlozi sporog napretka. Upravo zbog tih razloga selekcija na veličinu legla smatrala se neučinkovitom. Iako, podaci koji su prikupljeni o izravnoj aditivnoj genetskoj varijanci i sama dostupnost podataka koji se tiču srodnika pruža i proširuje mogućnost za još uspješnije povećanje legla putem kvantitativne i molekularne genetike. (Luković i Škorput, 2015.).



Slika 1. Krmača i prasad

Izvor: <https://cdn.punchalo.com/img/349/razvedenie-svinej-dlya-nachinayushih-3.jpg>

3.2. Priprema prasilišta i prasenje

Priprema boksova u prasilištu jedna od jako bitnih radnji za uspješno prasenje i preživljavanje što većeg broja prasadi u samom leglu. Ono što je potrebno učiniti prije prasenja jest osigurati najbolje moguće uvjete ta tehnologe i zaposlenike koji će voditi i nadgledati cijeli proces prasenja. To je bitno iz razloga što će uvijek biti u mogućnosti pravovremeno reagirati na svaku situaciju koja se događa u boksu (Luković i Škorput, 2015.).



Slika 2. Boksovi za vrijeme nadzora u prasilištu

Izvor: <https://cdn.bigdutchman.hr/fileadmin/content/pig/press/photos/Sauenhaltung-Sow-management-Fressbuchten-Big-Dutchman.jpg>

Pri premještanju krmače moramo napraviti temeljito i kvalitetno čišćenje boksova, a sama priprema boksa za čišćenje treba početi sa uklanjanjem ostataka hrane, fecesa koji je ostao za prethodnom krmačom, obavezno je pranje deterdžentom i vrelom vodom pod pritiskom kako bi se uklonila bilo kakva mogućnost zaraze. Upravo iz tog razloga uzgajivači često mijenjaju dezinfekcijska sredstva kako bi se smanjila mogućnost stvaranja rezistentnosti štetnika na samo sredstvo, pri čemu moraju voditi računa da svako od tih sredstava bude jednako djelotvorno. Nakon što se obavio cijeli proces čišćenja možemo useliti krmaču. Nakon što krmača uđe u boks, potrebno je isplanirati red popunjavanja boksove i kako grupiranja krmača; krmače koje su imaju više od pet prasenja, krmače koje su u prošlim osjemenjivanjima imale loš koeficijent prasenja u leglu i one koje su u nepovoljnoj kondiciji. Takvim načinom tehnolozi brže i lakše mogu identificirati krmače koje imaju određene probleme te im pružiti adekvatnu i pravovremenu pomoć. One krmače koje se prvi put prase predstavljaju poseban izazov.

Za vrijeme procesa prasenja moramo nadzirati svaku krmači, kako bi se uklonili problemi pri prasenju. Vrijeme između prva četiri praseta ne smije biti više od sat vremena, a takvoj

oprasenoj pasadi treba pomoći da posisa krmačin kolostrum što im ujedno stvara imunitet. Temperatura je također bitna jer se kod sitne prasadi ona se jako brzo gubi te ih je potrebno zagrijati kako bi povećali vjerojatnost preživljavanja. Zdravstveno stanje svake krmače treba biti temeljito provjereno i praćeno tijekom prasenja. Nakon što je sva prasad izašla, moramo izvršiti provjeru postoji li zaostalih fetusa, a izbacivanjem posteljice prasenje je završeno. Ukoliko postoji sumnja da postoji zaostala prasad u utrobi možemo aplicirati oksitocin. U slučaju lošeg postupanja tijekom prasenja posljedice će se očitovati kroz gubitak prasadi u leglu (Luković i Škorput, 2015.).

3.3. Proces oplodnje i fiziologija nazimica

Različite pasmine svinja kroz evoluciju iz monoestričnih transformirale su se u poliestrične životinja. Spolna zrelost, jajnici, maternica i spolni organi počinju normalno funkcionirati, a one ženke koje su spolno zrele ostaju gravidne. Na jajnicima se stvaraju Grafovi folikuli, koji prilikom oplodnje pucaju, a zatim se u jajovod unose jajašca, odnosno spolne stanice sposobne za oplodnju. Kada govorimo o ovulaciji podrazumjevamo da je to oslobađanje jajašaca iz jajnika, a biološki proces započinje gonadotropnom hormonskom simulacijom zrelih folikula i završava pucanjem istih i oslobađanjem zrelih jajašaca u jajovod. Prilikom pripusta nazimice moraju imati ostvarenu tjelesnu težinu od oko 125 kg, a njihovim ulaskom u pubertet počinje se redovno javljati spolni ciklus koji traje oko 21 dan. Estrus kod krmača traje između jedan i pet dana, a kod križanih pasmina i kraće te je iznimno važno popratiti taj period kako bi se pravovremeno dogodila oplodnja.

Ovulacija se javlja između 16 i 48 sati od početka bucanja. Drugi dan estrusa krmaču treba pripustiti ili umjetno oploditi. Zbog povećanja postotka uspješnosti osjemenjivanja, postupak je potrebno ponoviti dva puta. U tom slučaju prvo osjemenjivanje je između 8 i 12 sati nakon prvih znakova estrusa, a drugo 12 do 18 sati nakon prvog osjemenjivanja. Gravidnost u krmača prosječno traje 114 dana, a normalne granice gravidnosti u krmača su od 103 do 126 dana. Kod negravidnih plotkinja ciklički se u svakom jajniku proizvede od 6 do 14 jajašaca u svakoj ovulaciji. Krmače mogu proizvesti veći broj jajnih stanica (20 do 25 od nazimica (14 do 15). Kod nazimica veće tjelesne mase uočeno je da se povećava i broj ovuliranih jajnih stanica. Spolna zrelost u nazimica nastupa između pet i devet mjeseci ili kada one dosegnu

masu od 80 do 120 kilograma. Pravovremeni ulazak u reprodukciju označava vrijeme sa kojim je važno početi sa stimulacijom prvog estrusa (Uremović i Uremović, 1997.).

3.4. Utjecaj genotipa

Kada govorimo o genotipu on obično predstavlja utjecaj pasmine na neko svojstvo, odnosno neke pasmine posjeduju bolju reproduktivnu sposobnost i učinkovitije su od drugih. Naše lokalne pasmine također imaju manja legla, dok su kod kineskih pasmina zabilježena najveća legla. Primjerice, pasmina Meishan pri prasenju ima u prosjeku četiri ili više praseta po leglu u odnosu na neke komercijalne pasmine. Važno je naglasiti kako križane pasmine također imaju veće leglo od onih čistokrvnih, a sve zbog neadaptivnih genetskih efekata. Brojna istraživanja otkrivaju kako su značajne razlike između čistokrvnih i križanih životinja baš u rezultatima legla. Selekcijom su stvorene visokoplodne linije krmača čija je karakteristika veliki broj prasadi u leglu koji najčešće premašuje broj sisa u krmače što je ujedno dovelo i do novih zahtjeva za opremanje i upravljanje farmama koje se bave proizvodnjom svinja (Luković i Škorput, 2015.).

3.5. Vrijeme laktacije

Kao što smo već naveli nakon što se krmača oprasi potrebno je osigurati svakom prasetu da dopije i posiše kolostrum unutar prva 24 sata. Sisanjem kolostruma, a kasnije i krmačinog mlijeka, prasad stječe otpornost i vitalnost. Velika legla je potrebno posebno pratiti zato što želimo postići najnižu stopu mortaliteta. Niska stopa preživljavanja je upravo kod prasadi male prirodne mase, odnosno mase ispod 700 grama. Osim toga, pažnju treba posvetiti i onoj prasadi koja ima veći postotak za preživljavanje. Postotak preživljavanja prasadi može se poboljšati ravnomjernom distribucijom kolostruma (Luković i Škorput, 2015.). Također, kada govorimo o mlječnosti krmača na nju možemo utjecati raznim tehnološkim postupcima.

Osnovna pretpostavka za stvaranje maksimalne mlječnosti kod krmače jest da na raspolaganju uvijek ima dovoljne količine vode i hrane. Matitis i edem vimena mogu negativno utjecati na proizvodnju mlijeka kao i mikroklimatski uvjeti, atmosfera i dizajn samog boksa imati će veliki utjecaj na proizvodnju (Luković i sur., 2006.).

4. METODE POBOLJŠAVANJA PLODNOSTI SVINJA

Metode poboljšavanja plodnosti svinja dijelimo na metode tri generacije. U prvu generaciju metoda poboljšavanja plodnosti svinja spadaju umjetno osjemenjivanje i čuvanje razrjeđene sperme odnosno, zamrzavanje gameta i embrija. U drugu generaciju se ubraja višestruka ovulacija i embriotransfer, dok u treću generaciju metoda poboljšavanja plodnosti svinja spada in vitro oplodnja.

4.1. Prva generacija metoda

Kao što je već ranije spomenuto, u prvu generaciju metoda poboljšavanja plodnosti svinja spadaju umjetno osjemenjivanje te zamrzavanje gameta i embrija (Stančić, 2014.). Najvažnija stvar kod svake metode je začecje, a ono je moguće samo u vrijeme estrusa, tj. kod odvajanja zrele jajne stanice od jajnika i ulaska u jajovod.

Estrus ili spolni ciklus se sastoji od tri dijela, a to su:

1. Početak estrusa - kratko razdoblje neposredno prije gonjenja u trajanju od 1 - 3 dana, tu fazu je neophodno uočiti radi pravovremenog otkrivanja estrusa. Znakovi: životinja se češće oglašava, pojačava aktivnost te skače po drugim životinjama, ali ne dopušta skok.
2. Estrus - aktivna faza u trajanju od 1 - 4 dana u kojoj se odvajaju zrele jajne stanice (ovulacija) u zadnjoj trećini ove faze. Znakovi: povećana tjelesna temperatura, smanjen apetit, jaka uznemirenost, stajanje i dopušta skok. Svi ovi znakovi osim znaka stajanja mogu biti pokazatelji nekog oboljenja ili poremećaja i zato je baš znak stajanja najvažnije primjetiti.
3. Završetak estrusa - razdoblje mirovanja u trajanju od 15 - 16 dana i tada krmača miruje i nema posebnih znakova. Ukoliko je pripust uspješno obavljen, organizam će se uz pomoć hormona prilagoditi za rast i razvoj plodova, a ako oplodnje nije bilo cijeli će se ciklus ponoviti. (Rupić, 2005.)

4.1.1. Umjetno osjemenjivanje

Umjetno osjemenjivanje svinja jest jedna od tehnika pripusta krmača uz grupni pripust odnosno „divlji skok“ te pojedinačni pripust. Divlji skok predstavlja držanje nerasta ili više njih u grupi s više krmača. Nedostaci ovog načina osjemenjivanja je to što se ne zna točno vrijeme osjemenjivanja koja krmača (Stančić, 2014.).



Slika 3. Grupni pripust

Izvor: <https://www.agroportal.hr>



Slika 4. Pojedinačni pripust

Izvor: <http://www.sus.hr>

Kod pojedinačnog pripusta nerast se pripušta na krmaču koja je spremna za oplodnju. Ono zahtijeva malo više pažnje, ali je puno bolji od grupnog pripusta jer se točno zna koja je krmača, kada i kojim nerastom osjemenjena.

Postupci umjetnog osjemenjivanja uključuju izbor nerastova te uzimanje sperme od odabranih muških životinja, kontrola kvalitete sjemena te formiranje doza za inseminaciju, čuvanje razrijeđene sperme te sami postupak inseminacije.

Svaki od ovih postupaka ima točno određene principe i pravila kojih se mora pridržavati. U suprotnom željeni ciljevi neće biti postignuti. Primjena umjetnog osjemenjivanja zahtjeva i adekvatno opremljen laboratorij i dobro obučenu, savjesnu, iskusnu i motiviranu radnu snagu, kao i dobro organiziran i koordiniran rad (Stančić, 2014.).

Dozama razrijeđene sperme osjemenjuje se više od 80% krmača i nazimica. Razrijeđena sperma se mora upotrijebiti tijekom razdoblja od jednog do dva dana nakon uzimanja od nerasta. Od jednog nerasta je moguće dobiti do 1300 doza tijekom jedne godine što je dostatno

za osjemenjivanje 300 krmača. Postupak osjemenjivanja se radi na način da se vrh katetera uvodi u cervikalni kanal, a zatim se kroz njega uvodi tanji kateter do tijela maternice gdje se vrši depozicija inseminacionalne doze sperme. Cilj je da se doza dovede što bliže vrhu roga maternice. Umjetna oplodnja životinja počela se koristiti još 1930. godine. Ova metoda nije izgubila svoju važnost u našem vremenu (Stančić, 2014.).

Osjemenjivanje svinja ima nekoliko prednosti u usporedbi s prirodnim pripustom:

- relativno mala količina sjemena potrebna za začecje,
- biološki materijal visoke koncentracije čuva se dugo vremena,
- postoji mogućnost transporta sjemene tekućine na velike udaljenosti,
- vjerojatnost zaraze spolno prenosivih bolesti maternice svedena je na minimum,
- životinja ne može napustiti umjetno osjemenjivanje,
- možete planirati bređost svinje kao što je prikladno za poljoprivrednika,
- vjerojatnost ozljede tijekom osjemenjivanja je odsutna.

Kao što možetmo vidjeti, postoji nekoliko prednosti, zbog kojih većina poljoprivrednika više koristi umjetnu metodu oplodnje životinja. Za provedbu umjetnog osjemenjivanja potrebna je posebna oprema bez koje postupak nije moguće provesti. Osim toga, potrebno je odrediti najbolje vrijeme za provođenje postupka; najoptimalnije je 12 – 24 sata od početka stajanja. Pogreška u određivanju vremena osjemenjivanja dovesti će do produženja vremena tijekom kojeg krmače mogu ostati bređe (Stančić, 2014.).



Slika 5. Kateter za umjetno osjemenjivanje svinja

Izvor: <https://poljoprivredna-oprema.hr/hr/detalji/>

Provođenje umjetnog osjemenjivanja zahtjeva korištenje bočice s razrijeđenim sjemenom i katetera za jednokratnu ili višekratnu upotrebu. Kateter je cjevčica dužine 45cm do 55cm koja je napravljena od tvrde gume, a na jednom kraju završava poput svrdla.



Slika 6. Bočice za umjetno osjemenjivanje svinja

Izvor: http://www.profarm.hr/oprema_za_umjetnu_oplodnju_krmaca_s.php

Postupak umjetnog osjemenjivanja krmače u deset koraka:

1. Bočice sa sjemenom je potrebno čuvati na temperaturi između 16 °C i 19 °C.
2. Prije procesa umjetnog osjemenjivanja bočicu sa sjemenom treba zagrijati 5 minuta u vodenoj kupelji temperature 39 °C.
3. Obavezno oprati ruke.
4. Očistiti i osušiti stidnicu plotkinje.
5. Sterilan i suh kateter mora se navlažiti malom količinom razrijeđenog sjemena, gura se kroz otvor stidnice po gornjem svodu rodnice. Mora se okretati u smjeru suprotnom od smjera kazaljki na satu sve dok se ne osjeti otpor. Osjemenjivanje može početi nakon što vrh katetera dođe do sredine grlića maternice.
6. Lagano promućkati bočicu sa sjemenom, te na nju postaviti plastični nastavak koji ide u otvor katetera.
7. Lagano stiskati bočicu čime se potiče istjecanje sjemena u kateter.
8. Istjecanje sjemena treba trajati 5 - 8 minuta.

9. U slučaju da se primijeti da sjeme curi iz stidnice, kateter se ponovno okreće dok se „ne zaključa“.
10. Nakon upotrebe kateter se pere u običnoj vodi bez dodatka sapuna koji smanjuju kvalitetu sperme. Kateter se zatim sterilizira u proključaloj vodi 10 minuta, ocijedi se u uspravnom položaju sa spiralnim krajem prema gore te osuši.

4.1.2. Čuvanje razrijeđene sperme

Neke od karakteristika kratkoročnog skladištenja tekuće razrijeđene sperme su te da se takvo sjeme može skladištiti do najviše 3 dana te da se uzima kompletna sperma. U takvoj jednoj dozi od 100 ml može biti od 3 do 5 milijardi spermatozoida. Osim toga, za ovakvo kratkoročno skladištenje koriste se razrijeđivači. Za razliku od kratkoročnog skladištenja, dugotrajno skladištenje podrazumijeva skladištenje od 4 do 10 dana. Skladišti se sjeme nerastova dobre sposobnosti oplodne u volumenu od 60-100 ml. Za čuvanje sperme dubokim zamrzavanjem koriste se samo ejakulati svinja visoke plodnosti. Sperma se skladišti tako što se u prvom koraku uklanjanja soli iz sjemena te razrijedi do koncentracije od 600 000 spermatozoida po mililitru. Osim toga, dodaju se i zaštitne tvari (na primjer 1-2% glicerola). Zamrzavanje se radi u pari tekućeg dušika na - 196 °C.

Prilikom razrjeđivanja i skladištenja sperme posebnu pozornost treba obratiti na sljedeće:

- Razdoblje između uzimanja i razrjeđivanja sperme. Ako se koristi samo spermalna frakcija sperme (bogata spermatozoidima), razrjeđivanje treba izvesti 10 do 15 minuta nakon uzimanja. Čitav ejakulat (spermalna + postspermalna frakcija) može se razrijediti 30 do 60 minuta nakon uzimanja. Izuzetno gust cijeli ejakulat treba razrijediti u roku od 15 minuta od uzimanja. Posude za uzimanje i razrjeđivanje sperme treba zagrijati na 37-38 °C.
- Treba koristiti dobre i svježije razrjeđivače. Ako se koriste razrjeđivači u prahu, u većim ambalaža, otvorena ambalaža ne smije biti u hladnjaku, jer će upiti vodu, pa će i kemijske komponente biti promjenjene. Dobro je dodati antibiotike u razrjeđivač neposredno prije upotrebe.
- Loša kvaliteta vode negativno utječe na pokretljivost i plodnost spermatozoida. Treba koristiti ponovnu destiliranu i steriliziranu vodu za razrjeđivanje. U takvoj se vodi ne smiju naći organske tvari i druge štetne tvari za spermatozoide.

- Razrjeđivač treba pripremiti najmanje 60 minuta prije uporabe. Tijekom ovog vremena pH vrijednost osmotskog tlaka razrjeđivača je stabilizirana. Pripremljeni razrjeđivač treba čuvati do upotrebe na +38 °C.
- Razrjeđivač se polako ulijeva u sjeme, a ne obrnuto. Da bi se izbjegao šok spermatozoida, a to može biti zbog razlike u pH i / ili osmotskog tlaka između sjemena i razrjeđivača, treba primijeniti dvofazno razrjeđivanje. Određeni volumen razrjeđivača podijeljen je na dva jednaka dijela djela. Prvo se jedan dio volumena razrjeđivača izlije u sjeme, a nakon 5 do 10 minuta drugi dio. Vrste razrjeđivača, kao i početna koncentracija spermatozoida u nativnoj spermi, utječu na optimalan stupanj razrjeđenja, kao i moguće razdoblje skladištenja razrijeđenih spermija.
- Obavezno provjeriti stupanj progresivne pokretljivosti u razrijeđenoj spermi. Minimalna dopuštena vrijednost je 60%. Osjemenjivanje sa dozama manjim od 60% progresivno pokretljivih spermatozoida rezultira značajno nižom vrijednosti uspješne koncepcije ženki. Morfologiju spermatozoida nije potrebno pregledavati svaki put kada se uzme ejakulat od nerasta, ali je to potrebno vršiti tokom toplih ljetnjih meseci i tokom rane jeseni. Povećan broj spermatozoida sa citoplazmatskom kapi, abnormalnom glavom i repom, ukazuje na to da je nerast doživio temperaturni stres.
- Razrijeđenu spermu treba čuvati na temperaturi + 17 °C i zaštititi od utjecaja ultraljubičastih zraka, sve do upotrebe. Najbolje je da se doze razrijeđene sperme čuvaju u specijalnim termo-boksovima. Doze koje se duže čuvaju, treba pažljivo promiješati, svakih 12h, da se spermatozoidi pomiješaju sa razrjeđivačem.
- Za svakog nerasta treba odrediti toleranciju sperme na maksimalan stupanj razrjeđenja i na maksimalan period čuvanja, tokom kojeg sperma, u datom razrjeđenju, zadržava zadovoljavajuću progresivnu pokretljivost. Ustanovljeno je, naime, da se ovi parametri značajno razlikuju između pojedinih nerastova. U praksi, od ejakulata sa identičnim parametrima kvalitete (volumen, broj spermatozoida i % progresivne pokretljivosti), dvarazličita nerasta, nije uvijek moguće napraviti isti broj doza, jer ih nije moguće razrijediti u istom odnosu, niti je dobijene doze moguće čuvati isto vrijeme do upotrebe.

4.2. Druga generacije metoda

4.2.1. Višestruka ovulacija i embriotransfer

Prvi postupak embriotransfera bio je proveden između Angora kunića i Belgian zečice. Osim toga, Eowson je tijekom 1956. isti postupak proveo na kravama i svinjama. Rani postupci su uključivali embrije koji su kirurškim putem prenošeni iz majke davateljice i majku primateljicu, a tek razvojem ne kirurških metoda, ovaj postupak dobiva na svojoj popularnosti. Prvi izvedeni postupak embriotransfera u Hrvatskoj proveden je tijekom 1985.godine.

Sam postupak embriotransfera odnosi se na prijenosu embrija iz majke davateljice u majku primateljicu. Majka primateljica predstavlja životinju u kojoj dolazi do razvoja embrija, odnosno ona je inkubator za razvoj druge životinje. Ovim načinom se omogućava da životinje koje imaju veliki genetski potencijal više razmnože, tj. daju više potomaka te da se na taj način njihovi poželjni geni brže šire unutar populacije. Uobičajeno je da se za majke primateljice koriste životinje slabijih proizvodnih osobina. Potomstvo dobiveno ovom metodom može se koristiti za roditeljske linije sljedećih generacija. Osim toga, prednost primjene embriotransfera ogleda se i u tome što se životinje na farmi mogu izjednačiti s obzirom na njihove proizvodne karakteristike, a moguće je očuvanje autohtonih pasmina životinja.

Embriji za koje se odluči da se podvrgnu ovom zahvatu mogu se čuvati u tekućem dušiku tijekom dužeg vremenskog razdoblja te u odgovarajućem vremenu prenijeti u majku primateljicu (Stančić, 2014.). Zametci se moraju pohraniti odvojeno od svakog drugog materijala, a sav materijal mora biti sterilan.

Prilikom odabira majke primateljice važno je ispuniti nekoliko uvjeta; majka bi trebala biti slabijeg genetskog potencijala od majke davateljice, mora se raditi o zdravoj životinji bez deformacija stražnjih nogu. Osim toga, majka primateljica mora imati normalan spolni ciklus. Priprema životinje na ovaj zahvat uključuje i aplikaciju antiparazitika, minerala i vitamina kako bi embriotransfer bio što uspješniji. Primateljice koje nose vrijednu genetiku drže se pod intenzivnim nadzorom, te je poželjno da budu mirne naravi i da imaju urođen majčinski instinkt.

U odnosu na umjetno osjemenjivanje, embriotransfer rezultira potomstvom koji nosi genetske osobine roditeljskih linija, a ne majke primateljice. Gledano s ekonomskog aspekta, prednosti embriotransfera su u tome što se zamrzavanjem i čuvanjem embrija oni mogu prenositi i u

druge zemlje, te trgovati njima, što dovodi do ostvarenja određene ekonomske dobiti. Prednosti embriotransfera, ali i višestruke ovulacije su te što omogućavaju lak i pristupačan transport željenih embrija, genetsko poboljšanje u domaćoj životinjskoj industriji dobivanjem velikog broja poželjnog potomstva od elitnih roditelja, visokokvalitetni uzgajajući mužjaci koji su dostupni za prodaju, razvoj u tehnologiji oplemenjivanja kao što su spolni odnos embrija i cijepanje embrija te korištenje kombiniranog genetskog doprinosa muškarca i žene istovremeno (Shah, 2019.).

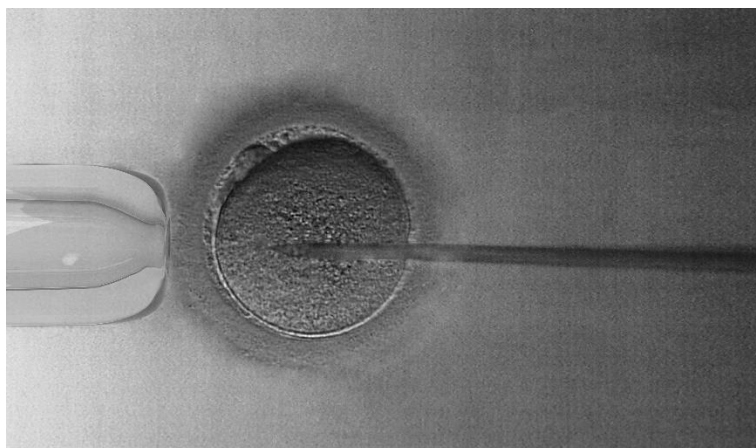
Provođenje embriotransfera uključuje nekoliko koraka. Prvi korak je izazivanje superovulacije donora, zatim sinkronizacija ovulacije donora i primaoca, uzimanje oplođenih jajnih stanica od donora – dobivanje embrija, kontrola embrija te u konačnici prenošenje jajnih stanica u majku primateljicu. Embriotransfer može biti operativni, endoskopski i neoperativni.

4.3. Treća generacija metoda

4.3.1. In vitro oplodnja

In vitro oplodnja postupak je kojim su jajne stanice oplođene spermijima izvan maternice. Pojam *in vitro* (lat. u staklu) koristi se jer su rani biološki eksperimenti kultiviranja tkiva izvan živog organizma od kojeg potječu. Postupak se može provoditi u Petrijevim zdjelicama, epruvetama ili čašama. *In vitro* postupak se sastoji od tri koraka koji uključuju sazrijevanje primarnih oocita iz jajnika te njihovu oplodnju spermatozoidima. Zadnja faza uključuje kultura pretpostavljenih zigota u razvojne faze pogodna za prijenos u primatelja ženke. Prednosti *in vitro* oplodnje ogleda se u tome što se ovim načinom pruža odličan izvor embrija za druge tehnologije kao što su kloniranje, transgeneza, proteomika i epigenetika (Galli i Lazzari, 2008.). Nedostaci primjene ove metode su visoki troškovi izvođenja zahvata.

Do sada su razvijene metode dobivanja gameta i embrija, njihove kultivacije i čuvanja *in vitro*, oplodnje oocita i razvoja ranih embrija *in vitro* i *in vivo*, dobivanje većeg broja genetski identičnih embrija. Spermatozoidi se dobivaju uzimanjem sperme od rasplodnjaka dok se za dobivanje oocita koristi metoda superovulacije. Uspješnost superovulacije ovisi o više faktora, od kojih su najvažniji vrsta životinje, stanje njihove kondicije, starost te zdravstveno stanje (Stančić, 2014.). Primjerice, kod ovaca se može dobiti prosječno od 1,9 do 14,4 ovulacija po jednom tretmanu, kod krava 8,7 ovulacija po jednom tretmanu, dok se kod svinja broj superovulacije kreće između 25 i 46 (Shah, 2019.).



Slika 7. In vitro oplodnja

Izvor: www.medicineh.com

Primjena visokih doza hormonskih supstanci, posebno eCG, često dovodi do dobivanja većeg broja degeneriranih oocita i do pojave većeg broja neovuliranih i/ili cističnih folikula na jajnicima tretiranih životinja. Nedostatak ove metode se, sastoji u tome što folikularni oociti nisu sposobni za oplodnju neposredno poslije ekstrakcije iz folikula. Većina folikularnih oocita (preko 95%), koji se nalaze u jajniku, imaju jedro inhibirano u stadiju diplotena prve mejotičke diobe. To je stadij germinativnog vezikula (GV). Do nastanka prve mejoze dolazi pod utjecajem djelovanja endogenog LH na predovulatorni folikul. Rezultat toga je raspad germinativnog vezikula, kondenzacija hormona, završetak prve mejoze, formiranje diobnog vretena sa hormonima u ekvatorijalnoj ravnini i izbacivanje prvog polarnog praščića u perivitelni prostor oocita. Tako nastaje oocit u metafazi druge mejoze, odnosno zreli oocit koji je sposoban za oplodnju. Takav oocit ubacuje se u jajovod, u procesu ovulacije. Inhibiciju nastavka prve mejotičke diobe vrše faktori koje sintetiziraju granulosa stanice kumulusa ooforusa. Ako se izuzmu kumulusne stanice s površine oocita, dobivenog ekstrakcijom iz folikula, a oociti stave na kultivaciju *in vitro* preko 80% oocita postaje sposobno za oplodnju. Dodavanje hormona, kao što su p-FSH, FSH i LH, povećava uspjeh *in vitro* dozrijevanja folikularnih oocita, mjereno brojem (%) oocita koji su, tokom kultivacije, dostigli stadij nuklearnog dozrijevanja (Stančić, 2014.).

In vitro oplodnja oocita, dobivenih iz folikula i dozrijevanih *in vitro* ili oocita dobivenih poslije superovulacije vrlo je dobra metoda istraživanja ranog embrionalnog razvoja, te samog

procesa oplodnje. Dobivanje većeg broja genetski kvalitetnih jedinki, transgenih životinja, identičnih blizanaca, kao i ocjene fertilizacijske (oplodne) sposobnosti mužjaka pruža praktična primjena ove metode. Prva prasid je dobivena prije otprilike 40 godina, rođena poslije transplantacije *in vitro* oplođenih oocita. Primarni ključ za uspjeh *in vitro* fertilizacije (oplodnje) su: kvalitetni zreli oociti, kapacitirani spermatozoidi, adekvatni mediji za IVF, kao i optimalni ključ mikroklimata oplodnje (temperatura, sastav i odnos plinova). Ipak, glavni faktor uspješne *in vitro* oplodnje su dobro kapacitirani spermatozoidi, te se zbog te činjenice još uvijek istražuju mediji i optimalni uvjet za *in vitro* kapacitaciju spermatozoida. Ovi uvjeti moraju omogućiti da spermatozoidi zadrže visok stupanj oplodne sposobnosti. To uključuje zadržavanje visokog stupnja progresivne pokretljivosti, akrosomalnu reakciju spermatozoida te uspješnu denudaciju. Uspjeh *in vitro* oplodnje se mjeri brojem (%) normalno penetriranih oocita, kao i brojem oplođenih oocita, koji su se razvili do stadija 2 ili 4 blastomere (Stančić, 2014.).

5. ZAKLJUČAK

Svinje su najplodnije od svih domaćih životinja te tako krmače u rasplodu mogu ostati do 8 godina i u tome periodu dati do 20 legala prasadi. U današnjoj intenzivnoj proizvodnji poželjan je što veći broj živo oprasene prasadi, ali i odbijene prasadi po plotkinji u određeno vrijeme. Primjenom metoda kojima se povećava plodnost svinja moguće je ostvariti zadane ciljeve u proizvodnji. Metode poboljšanja plodnosti se dijele na tri generacije. U prvu generaciju metoda za poboljšanje plodnosti svinja spadaju nama već poznato umjetno osjemenjivanje (UO) te zamrzavanje gameta i embrija. U drugu generaciju metoda za poboljšanje plodnosti svinja spada višestruka ovulacija i embriotransfer. U treću generaciju metoda za poboljšanje plodnosti svinja spada *in vitro* oplodnja. Praktična primjena svih metoda pruža je dobivanja većeg broja genetski kvalitetnih jedinki te u konačnosti dobivanje više prasadi po leglu što ima znatan utjecaj na ekonomičnost proizvodnje.

6. POPIS LITERATURE

1. Agroklub. Embriotransfer - biotehnoška metoda za unaprjeđenje genetskog potencijala. <https://www.agroklub.com/stocarstvo/embriotransfer-biotehnoška-metoda-za-unaprjeđenje-genetskog-potencijala>. (pristupljeno 26.06.2020.)
2. Jurišić, I. (2003.): Umjetno osjemenjivanje svinja, Hrvatski zavod za poljoprivrednu savjetodavnu službu, Zagreb.
3. Luković, Z., Uremović, M., Uremović, Z., Konjačić, M., & Klišanić, V. (2006). Duljina laktacije i veličina legla u svinja. *Stočarstvo*, 60(2), 115-119.
4. Luković, Z., Škorput, D. (2015). Factors influencing litter size in pigs. *CAB Reviews*, 10(006), 1-9.
5. Redfeatherfarm. O umjetnom osjemenjivanju svinja. <https://hr.redfeatherfarm.org/220-on-artificial-insemination-of-pigs.html>. (pristupljeno 26.06.2020.)
6. Rothschild, M.F., Bidanel, J.P. (1998.): *Biology and genetics of reproduction*. U: *Genetics of the pig*. CABI.
7. Rupić V. (2005.): *Reprodukcija domaćih životinja*. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
8. Shah, S. M., & Chauhan, M. S. (2019). Modern biotechnological tools for enhancing reproductive efficiency in livestock. *Indian Journal of Genetics*, 79(1): 241-249.
9. Stančić, I. (2014.): *Reprodukcija domaćih životinja*. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
10. Svinjogojstvo. Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, <http://www.enciklopedija.hr/Ž>. (pristupljeno 11.08.2020.)
11. Uremović M., Uremović Z. (1997.): *Svinjogojstvo*. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
12. Veterina.com. Embriotransfer u goveda: kako, kada i zašto?. <https://veterina.com.hr/?p=5661>. (pristupljeno 27.06.2020.)