

VAŽNOST UMJETNOG OSJEMENJIVANJA U UZGOJU TOPLOKRVNIH KONJA REPUBLIKE HRVATSKE

Rosman, Anđelka

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:760146>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -
Repository of PHD, master's thesis](#)



Sveučilište u Zagrebu Veterinarski fakultet

Andelka Rosman

**VAŽNOST UMJETNOG OSJEMENJIVANJA U UZGOJU TOPLOKRVNIH
KONJA REPUBLIKE HRVATSKE**

Diplomski rad

Zagreb, 2022.

VETERINARSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U ZAGREBU
KLINIKA ZA PORODNIŠTVO I REPRODUKCIJU

Predstojnik Zavoda: prof. dr. sc. Marko Samardžija

Mentorice: izv. prof. dr. sc. Iva Getz

prof. dr. sc. Nikica Prvanović Babić

Povjerenstvo za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr.sc. Juraj Grizelj
2. prof. [dr.sc.](#) Nikica Prvanović Babić
3. izv. prof. dr. sc. Iva Getz
4. izv. prof. dr. sc. Ivan Folnožić (zamjena)

ZAHVALE

Prvenstveno se zahvaljujem svojoj mentorici, izv.prof.dr.sc. Ivi Getz, na iznimnom trudu i uloženom vremenu da ovaj diplomski rad bude što kvalitetnije napisan. Hvala joj na svakom razgovoru, smjernicama i literaturi i tome što joj nikada nije bio problem održati konzultacije kako bi mi uživo odgovorila na bilo koje pitanje i pravilno me usmjerila u pisanju rada. Znala sam da je vrlo kvalitetan profesor, ali sada sam se uvjerila da je i izuzetno dobar mentor kojeg bih bez razmišljanja preporučila svakom.

Zahvaljujem se i izv.prof.dr.sc. Nikici Prvanović- Babić koja ništa manje nije sudjelovala u pronalasku literature i usmjeravanju u pisanju diplomskog rada. Razgovori s njom i mentoricom uvelike su mi pomogli, ne samo oko pisanja rada, već i u shvaćanju važnosti svega gradiva kojeg su nam predavali tokom studija, te su mi još više učvrstile viziju onoga čemu se po završetku studija želim posvetiti, a to je svakako nešto iz područja porodništva i reprodukcije.

Zahvaljujem se i svim drugim profesorima, docentima i asistentima na predanom znanju kroz sve godine studija.

Hvala mojim roditeljima i prijateljima koji su mi bili podrška da kroz trudnoću uspijem položiti zadnje ispite i pisati rad, a pogotovo kroz prve dane života djeteta da ga uspijem dovršiti. Tu mi je, bez sumnje, veliko razumijevanje iskazala i mentorica izv.prof.dr.sc. Iva Getz, pri čemu joj se još jednom zahvaljujem.

Na kraju, hvala i mojem Anti što je bio strpljiva beba i dopustio mami da dovrši diplomski rad

POPIS KRATICA

UO- umjetno osjemenjivanje DS- duboko smrznuto RH- Republika Hrvatska FSH- folikulstimulirajući hormon LH- luteinizirajući hormon ET- embriotransfer
ICSI- intracelularna spermalna injekcija EU- Europska Unija
HAPIH- Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu
hCG- humani korionski gondotropin
CRSH d.o.o.- Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske

POPIS PRILOGA

POPIS SLIKA:

Slika 1: Sezonske karakteristike spolnog ciklusa kobila (MAKEK i sur., 2009.).

Slika 2: Puna sezona u kojoj je plodnost kobila optimalna (MAKEK i sur., 2009.).

Slika 3: Neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa kobila (MAKEK i sur., 2009.).

Slika 4: Udio oždrebljene ždrebadi prema skupinama (HAPIH, 2022.).

Slika 5: Organiziranost konjogojstva i konjičkog sporta u RH (BABAN i sur., 2013.)

Slika 6: Umjetna vagina za polučivanje ejakulata pastuha - Hannoveranski model.

Izvor: <https://www.minitube.com/catalog/en/equine/equine-semen-collection/>

Slika 7: Kateter za UO kobila svježim i ohlađenim sjemenom pastuha.

Izvor: <https://www.minitube.com/catalog/en/equine-universal-ai-pipette-p2003/>

Slika 8: Metalni mandren za 0,5 ml pajete DS sjemena.

Izvor: <https://www.minitube.com/catalog/en/equine/equine-insemination-and-diagnostics/> Slika 9: Rezač za DS pajete.

Izvor: <https://www.minitube.com/catalog/en/equine/equine-insemination-and-diagnostics/>

POPIS TABLICA:

Tablica 1 - Licencirana sportska grla starosti od 4 do 7 godina u razdoblju od 2013. do 2016. godine

SADRŽAJ

1.	UVOD	5	1
2.	PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA		2
2.1.	Spolni ciklus kobila		2
2.2.	Neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa		4
2.3.	Primjena metoda biotehnologije rasplodivanja u uzgoju konja		7
2.4.	Organizacija konjogojstva i uzgoja toplokrvnih konja u Republici Hrvatskoj		9
2.5.	Umjetno osjemenjivanje kobila		13
	2.5.1. Određivanje optimalnog vremena za UO kobila		14
	2.5.2. Organizacija umjetnog osjemenjivanja.....		15
	2.5.3. Polučivanje ejakulata rasplodnjaka i postupak sa spermom....		16
	2.5.4. Indukcija ovulacije.....		19
	2.5.5. Tehnike umjetnog osjemenjivanja kobila		20
2.5.6.	Zakonski okvir umjetnog osjemenjivanja u Republici Hrvatskoj		22
3.	RASPRAVA		24
4.	ZAKLJUČCI		31
5.	LITERATURA		32
6.	SAŽETAK		38
7.	SUMMARY		39
8.	ŽIVOTOPIS		40

1. UVOD

Uzgoj toplokrvnih konja usmjeren je prema pasminama pogodnim za sport i rekreaciju. Zbog toga postoji potreba i za najvišom razinom selekcije, to jest, u rasplod idu isključivo najuspješniji primjerci kobila i pastuha, koji imaju iznadprosječne rezultate u sportu, eksterijernih kvaliteta te koji su zadovoljavajućeg temperamenta i čudi. Pošto se kobile i pastusi ne odabiru za rasplod, ovisno o stvarnoj plodnosti dotične jedinke, često je potrebno intervenirati primjenom različitih metoda asistiranje reprodukcije. Najvažnijom od metoda smatra se svakako umjetno osjemenjivanje (UO) kobila, kao zootehnički i uzgojni postupak kojim se polučeni ejakulat pastuha polaže u maternicu zdrave kobile u estrusu, kako bi se osigurala što bolja koncepcija. Umjetno osjemenjivanje najraširenija je i najdugovječnija metoda biotehnologije rasplodivanja koja omogućuje korištenje i pohranu ejakulata najkvalitetnijih rasplodnjaka te je stoga imala najveći učinak na genetski napredak u uzgoju i selekciji domaćih životinja. Osim toga, primjena UO u konjogojstvu ima brojne prednosti, od toga što omogućuje bolje iskorištavanje i kontrolu plodnosti kako pastuha, tako i kobila, sprječavanje širenja spolno prenosivih bolesti konja, učinkovito korištenje najkvalitetnijih pastuha za rasplod čak i u starijoj dobi, međunarodnu trgovinu kvalitetnim genetskim materijalom, pa sve do učinkovitijeg progenog testiranja pastuha preko njegovog potomstva te dugoročnog čuvanja duboko smrznutog (DS) sjemena rasplodnjaka, što pak ima osobitu važnost za očuvanje ugroženih izvornih i zaštićenih pasmina konja. Popularnost UO kobila kao čimbenika koji utječe na učinkovitiju selekciju u i uzgojne programe u konjogojstvu, svakim je danom sve veća i u Republici Hrvatskoj. Pristupanje RH Europskoj uniji 2013. godine olakšalo je njegovu širu primjenu u konjogojstvu i međunarodnu trgovinu ohlađenim i zamrznutim sjemenom pastuha, čime je omogućen napredak i provedba uzgojnih programa sportskih toplokrvnih, kao i izvornih i zaštićenih pasmina konja. Međutim, važnost UO kobila u uzgojno selekcijskom radu, kao i mogućnosti uzgojnog menadžmenta pastuha i kobila, još uvijek nije dovoljno prepoznata od strane nekih uzgojnih udruga i vlasnika konja s jedne strane te potrebe za stalnim usavršavanjem doktora veterinarske medicine s druge strane, što su neophodni preduvjeti za širu uspješnu primjenu UO u konjogojstvu RH. U radu će se analizirati važnost primjene UO, njegove prednosti i mogućnosti šire primjene u uzgoju toplokrvnih konja u Republici Hrvatskoj (RH).

2. PREGLED REZULTATA DOSADASNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Spolni ciklus kobila

Moderan i učinkovit uzgoj konja zahtjeva dobro poznavanje fiziologije reprodukcije,

kao i metoda kojima se spolne funkcije konja mogu kontrolirati i unaprijediti, iz razloga što fiziologija rasplodivanja konja ima dosta specifičnosti u odnosu na druge vrste domaćih životinja. Kobile su sezonski poliestrične i uniparne životinje, što znači da se sezona parenja odvija od proljeća do jeseni, odnosno u vrijeme kada su dani najduži (engl. *"long day breeders"*). Kako ciklus ovisi o količini dnevnog svjetla, tako je podražaj za početak cikličke aktivnosti u kobila upravo produživanje dana u rano proljeće, tijekom veljače i ožujka (MAKEK i sur., 2009.). Kobile se tjeraju u pravilnim vremenskim intervalima ukoliko nije došlo do koncepcije tijekom sezone parenja. U prosjeku sezona parenja na sjevernoj polutci traje od travnja do rujna, odnosno od listopada do svibnja na južnoj polutci. Sezonske karakteristike spolnog ciklusa kobila prikazane su na slici 1. Spolna aktivnost kobila tako je podijeljena u 4 faze: proljetni prijelazni period, puna sezona, jesenski prijelazni period i zimski anestrus.

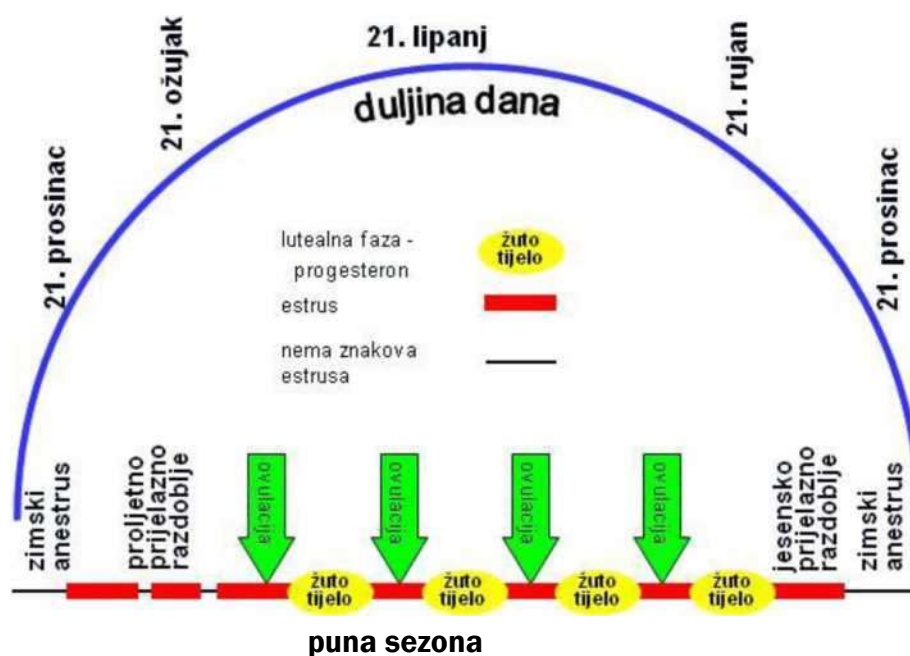


Slika 1: Sezonske karakteristike spolnog ciklusa kobila (MAKEK i sur., 2009.).

Prva faza je **proljetni prijelazni period** kojeg karakteriziraju nepravilni i produljeni estrusi te česti anovulatorni ciklusi te je, stoga, u ovom periodu plodnost kobila smanjena. Kobile u ovom periodu manifestira sve vanjske znakove estrusa, ali često u ovim estrusima izostaje ovulacija, što se objašnjava time da je količina svjetla u početku pripusne sezone dovoljna za poticaj folikulogeneze, rast folikula te sintezu hormona estrogena, ali ne i za potpuni ciklus na jajniku (BLANCHARD i sur., 2003.). Sljedeća faza predstavlja **punu sezonu** i ona obuhvaća travanj, svibanj i lipanj, a značajna je po pravilnim ciklusima i optimalnoj plodnosti kobila. ARTHUR i sur (2001.) navode da sezona pripusta kod punokrvnih kobila

tradicionalno traje od 15. veljače do 1. srpnja, dok puna sezona i optimalna folikularna dinamika započinju tek u travnju. Iz toga proizlazi da se veliki broj punokrvnih kobilu pripušta u vrijeme kada je njihova plodnost fiziološki smanjena. U našem podneblju uobičajeni su sezonski pripusti u proljeće i jesen (MAKEK₃ sur., 2009.). Druge dvije faze spolne aktivnosti kobilu jesu **jesenski prijelazni period** i **zimski anestrus** odnosno razdoblje spolne neaktivnosti.

Spolni ciklus kobilu kako navode ARTHUR i sur. (2001.) traje u prosjeku od 20 do 23 dana, a trajanje ovisi o godišnjem dobu (ciklus je duži na početku sezone, a kraći u punoj sezoni). Tijekom ciklusa razlikujemo 5 faza: proestrus, estrus, metestrus, diestrus te zimski anestrus. U tim fazama dolazi do promjena na spolnim organima i u vladanju životinje.



Slika 2: Puna sezona u kojoj je plodnost kobilu optimalna (MAKEK i sur., 2009.).

Cikličke promjene na spolnim organima počinju u proestrusu te u ovoj fazi dolazi do rasta i razvoja Graafovog folikula i proliferativnih promjena na sluznici maternice. Kobile su spremne za osjemenjivanje u fazi estrusa i pokazuju znakove tjeranja. Ako se kobile pripuštaju „pod“ pastuha, u ovoj fazi ciklusa one dopuštaju skok pastuha. Estrus prosječno traje 5 do 7 dana, ali je fiziološki i do 12 dana što ovisi o godišnjem dobu jer su estrusi na početku sezone često produženi. Do ovulacije kod kobilu dolazi 24 do 36 sati prije završetka estrusa (MAKEK i sur., 2009.). Karakteristika u kobilu je pojava „ždrebećeg estrusa“, odnosno prvi estrus koji se javlja 5. do 12. dana nakon ždrebljenja. Uobičajen je pripust kobilu 9. dana nakon

ždrebljenja (ARTHUR i sur., 2001.). Metestrus je faza razvoja periodičnog žutog tijela te sekrecijska ili pregravidna faza na sluznici maternice. U diestrusu dolazi do tzv. cvata žutog tijela (*corpus luteum*, CL) koje je aktivno oko 14 dana, a čija sudbina ovisi o ishodu osjemenjivanja ili pripusta. Ukoliko je kobilak koncipirala, iz njega se razvija graviditetno žuto tijelo (*corpus luteum graviditatis*), a ukoliko nije došlo do koncepcije dolazi do njegove regresije pod utjecajem prostaglandina kao i do regresije endometrija. Nakon jesenskog prijelaznog perioda kod većine kobila koje nisu koncipirale nastupa zimski anestrus, odnosno razdoblje mirovanja spolnih organa. Na ponovni početak cikličke aktivnosti jajnika kod negravidnih kobila utječe produljivanje dana krajem zime i početkom proljeća. Kako navode MAKEK i sur. (2009.) kod manjeg broja kobila znakovi tjeranja pojavljuju se s različitim intenzitetom tijekom čitave godine, ali ovuliraju samo u vrijeme uobičajene sezone. To pokazuje da na regulaciju spolne aktivnosti kod kobila utječu i drugi čimbenici, kao što su hranidba, prisustvo pastuha, dob kobile i drugo (GINTHER i sur., 2008.).

2.2. Neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa

Spolni ciklus reguliran je živčanim i endokrinim sustavom, a sama aktivnost jajnika pod kontrolom je osovine hipotalamus- hipofiza- jajnici. Ova dva sustava svojim usklađenim djelovanjem kontroliraju fiziološki slijed spolnog ciklusa, koncepciju, tijek gravidnosti i porod (MAKEK i sur., 2009.). U životinja kod kojih je pojava spolnog ciklusa vezana uz godišnje doba, važnu ulogu u upravljanju spolnim ciklusom ima epifiza. Kraći zimski dani vidnim podražajem preko ekstrahipotalamičkih centara (veliki mozak, talamus) potiču epifizu na proizvodnju i izlučivanje veće količine hormona melatonina. Melatonin potom inhibirajuće djeluje na hipotalamus, odnosno njegovu skokovitu proizvodnju gonadotropin oslobađajućeg hormona (*gonadotrophin- releasing hormone*, GnRH) što u konačnici inhibira aktivnost jajnika. Povećavanje dnevne svjetlosti u proljeće smanjuje lučenje melatonina i time povećava intenzitet lučenja

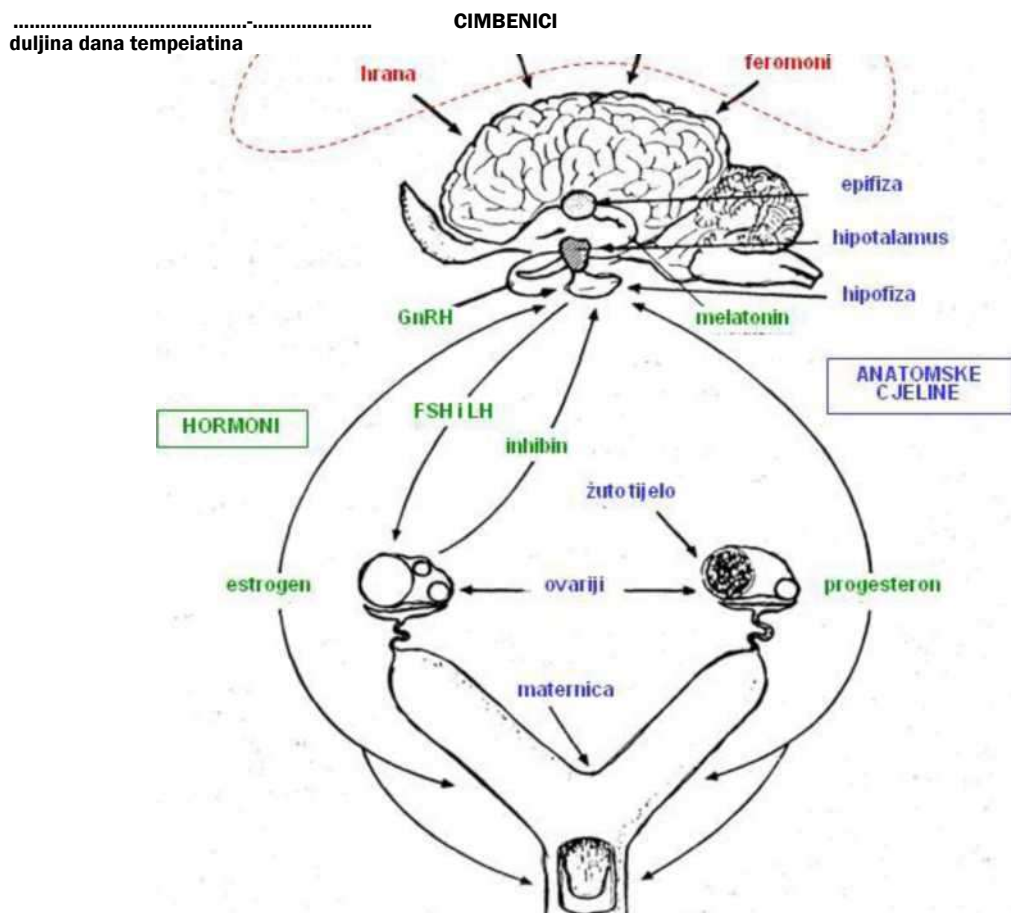
GnRH (ARTHUR i sur., 2001.). Uloga središnjeg živčanog sustava u regulaciji spolnog ciklusa događa se preko neurotransmitera. Dopamin kao neurotransmiter usporava skokovito izlučivanje GnRH dok njegov antagonist, noradrenalin, potiče njegovo skokovito izlučivanje te djeluje na aktivnost jajnika. U hipotalamusu su dva centra koja reguliraju izlučivanje gonadotropnih hormona. Prvi je epizodično-tonični centar, koji je odgovoran za izlučivanje bazalnih koncentracija te uspostavljanje i održavanje endokrine funkcije jajnika, dok je drugi pulzatorni centar, odgovoran za skokovitu sekreciju gonadotropina i nagli predovulacijski skok luteinizirajućeg hormona (LH). Promjena intenziteta i frekvencije sekrecije GnRH važna je u sezonskoj uspostavi spolnog ciklusa i u tijeku same sezone tjeranja (MAKEK i sur., 2009). Povećavanje sekrecije GnRH preko hipotalmičko-hipofizealnog portalnog krvotoka djeluje na prednji režanj hipofize stimulirajući sintezu i lučenje folikulstimulirajućeg (FSH) i luteinizirajućeg (LH) hormona. FSH potiče rast folikula odnosno tranzicijsku aktivnost jajnika te također potiče sintezu estrogenih hormona u folikulu. Estrogeni su odgovorni za nastanak promjena u ponašanju kobilu u estrusu te njihova koncentracija u perifernom krvotoku progresivno raste tijekom estrusa i svoj maksimum (20-60 pg/ml) dosegne 24 do 48 sati prije ovulacije. Kada se učestalost skokovitog izlučivanja GnRH poveća, adenohipofiza intenzivnije izlučuje i LH hormon te dolazi do ovulacije. Stanice granuloze folikula proizvode estradiol i inhibin koji također sudjeluju u regulaciji spolnog ciklusa. Estradiol sudjeluje u regulaciji predovulatornog LH vala, dok je inhibin hormon kojeg proizvode stanice zrelog folikula i on je ključan u određivanju broja ovuliranih folikula. U kobilu je prisutna bimodalna sekrecija FSH, s jednim do dva vala rasta folikula. Devetog dana ciklusa započinje 1. val i kod većine je kobilu to jedini dominantni folikul. Folikul stimulirajući hormon, FSH, potiče sintezu i izlučivanje inhibina iz granuloza stanica dominantnog folikula, dok negativnom povratnom spregom inhibin zajedno sa estrogenima izaziva supresiju sekrecije FSH (McKINNON i VOSS, 1992.). Prema dinamici razine LH u krvi, kobile se razlikuju od ostalih vrsta domaćih životinja. Koncentracija mu u krvi progresivno raste tijekom estrusa od bazalne koja iznosi 15 ng/ml do maksimalne koncentracije od 50 ng/ml. Svoju maksimalnu koncentraciju LH dostigne 1 do 2 dana nakon ovulacije nakon čega postepeno pada na bazalnu vrijednost koju dosegne 4 do 6 dana nakon završetka estrusa (BLANCHARD i sur., 2003.). Transformirane stanice granuloze ovuliranog folikula, tzv. *theca* stanice, luče hormon progesteron. Progesteron je dominantni hormon u diestrusu, kojeg sintetizira žuto tijelo, a tijekom

Slika 3: Neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa kobilu (MAKEK i sur., 2009.).

gravidnosti i placenta. Njegova vrijednost progresivno raste do 6. dana od

ovulacije. Ako nije došlo do koncepcije, razina progesterona naglo pada između 14. i 16. dana. To je uzrokovano prostaglandinom (PGF_{2a}) kojeg luči endometrij negravidne maternice između 13. i 16. dana nakon ovulacije gdje PGF_{2a} općim krvotokom dolazi do jajnika i izaziva luteolizu. Progesteron se nakon 15. dana od ovulacije nastavlja izlučivati samo kod bređih kobilica (MAKEK i sur., 2009.). Na slici 3 prikazana je neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa: ekstrapitotalmički centri, kora velikog mozga, talamus i primozak prenose vanjske podražaje (mirisne, zvučne, taktilne, svjetlosne) iz okoline do gonada putem osi hipotalamus - hipofiza - jajnici. Za normalno funkcioniranje ove sveze neophodan je i zdrav te funkcionalan endometriji maternice da bi kobila ponovno ušla u novi spolni ciklus.

VANJSKI



Kao važne vanjske čimbenike u regulaciji sezonske aktivnosti jajnika treba naglasiti hranidbu, tjelesnu kondiciju, temperaturu i dr. Kako je masno tkivo hormonski aktivno, tako ono sintetizira i izlučuje hormon leptin koji također utječe na aktivnost jajnika (FERREIRA-DIAS i sur., 2005). Koncentracija leptina najveća je tijekom ljeta, te se došlo do spoznaje da njegove povećane koncentracije stimuliraju osovinu hipotalamus- hipofiza- jajnik. Na početak folikulogeneze važan utjecaj ima i prolaktin, hormon kojeg izlučuju laktotropne stanice prednjeg režnja hipofize. Njegovu sekreciju kontrolira prolaktin aktivirajući faktor (PAF) i dopamin kao njegov inhibitor (MAKEK i sur., 2009). Najveća mu je koncentracija zamijećena

neposredno prije početka spolnog ciklusa odnosno u trenutku rasta najvećeg folikula.

2.3. Primjena metoda biotehnologije rasplodivanja u uzgoju konja

Kako navode MATKOVIĆ i sur. (2000.) biotehnologija rasplodivanja ili asistirana reprodukcija (ART, *Assisted Reproductive Technologies*) podrazumijeva zahvate kojima u kontroliranim uvjetima rasplodujemo životinje i utječemo na genetsku selekciju širenjem poželjne genetike prema željenim proizvodnim svojstvima. Prva generacija biotehnologije bilo je umjetno osjemenjivanje, druga embriotransfer i srodne tehnologije, treća proizvodnja zametaka *in vitro*, a četvrta manipulacija genomom uz pomoć transgeneze i kloniranja.

Umjetno osjemenjivanje (UO) kobila najstarija je i najrasprostranjenija metoda biotehnologije rasplodivanja koja ne zahtjeva specijaliziranu i skupu opremu te je stoga imala najveći selekcijski učinak u konjogojstvu, korištenjem sjemena najkvalitetnijih pastuha u uzgoju. Legenda govori da je prvo uspješno UO provedeno kod arapske kobile početkom 14. stoljeća, tako da je sjeme arapskog pastuha nakon parenja prebačeno u vaginu druge kobile (CERGOLJ i SAMARDŽIJA, 2006.). Interes uzgajivača za primjenom UO-a raste, kako u svijetu, tako i kod nas, kod većine pasmina i uzgojnih tipova konja, osim kod engleskih punokrvnih konja, kod kojih je primjena UO strogo zabranjena od strane uzgojnih udruženja (ALLEN, 2005.). Kako navodi PRVANOVIĆ BABIĆ (2014.) jednim skokom pastuh opasuje jednu kobilu, dok se primjenom UO jednim ejakulatom može osjemeniti više od deset kobila, odnosno preko 600 kobila godišnje. Nadalje, DS sjeme pastuha može se i nakon njegova uginuća koristiti u rasplodu. Zdravstvene prednosti umjetnog osjemenjivanja ogledaju se u sprječavanju prijenosa spolno prenosivih zaraznih bolesti te poboljšanjem koncepcije kobila, u okviru pripreme i praćenja za UO. Umjetno osjemenjivanje olakšava distribuciju genetskog materijala čime se izbjegava stres uvjetovan transportom rasplodnih grla. Stoga je UO kobila svježim ili ohlađenim sjemenom pastuha postalo važna metoda u uzgoju konja, koja uzgajivačima diljem Europe omogućuje korištenje najboljih pastuha većine pasmina. Novije tehnike UO, kao što je osjemenjivanje malim dozama, kao i uzgojni programi koji uključuju UO seksiranim sjemenom pastuha, ostaju ograničene na pojedinačne visokovrijedne pastuhe zbog većih troškova i vremenski zahtjevnijeg postupka (AURICH i AURICH, 2006).

Embriotransfer (ET) pripada drugoj generaciji biotehnoških metoda kojima se utječe na povećanje rasplodnih potencijala najkvalitetnijih ženskih životinja (MATKOVIĆ i sur., 2000.). Ova metoda uključuje ispiranje maternice davateljice 7. dana nakon ovulacije te

transfer zametka u maternicu sinkronizirane primateljice koja će gravidnost iznijeti sve do poroda. Danas u razvijenim zemljama postoje centri koji se bave samo i isključivo embriotransferom od kojeg žive, uz visoki postotak uspješnosti postupka (HAJČIĆ i sur., 2008.). Jedina ograničenja u primjeni ET kođ konja su uzgojne udruge koje ne dozvoljavaju registraciju više ždrebadi godišnje od iste kobile, samo iz financijskih razloga. Ipak, danas je transfer zametaka dozvoljen u većine pasmina. Postupak također zahtjeva visoku stručnost veterinarara i tehničku opremljenost centara za provođenje embriotransfera. Primjećeno je da zametci dobiveni intracelularnom spermalmom injekcijom (IntraCytoplasmic Sperm Injection, ICSI), ne razvijaju kapsulu koja predstavlja najveću prepreku smrzavanju zametka. Kako zametci nastali ICSI metodom nemaju kapsule i razvoj im je pod stalnim nadzorom, jedino oni su se pokazali idealnima za mogućnost vitrifikacije i dalje duboko smrzavanje zametka (JANEŠ,

2020.). Konjski se zametci transferiraju kirurški, izravno u rog maternice ili nekirurški, aplikacijom zametaka u tijelo maternice transcervikalno. Objema tehnikama ostvaruje se stopa gravidnosti nakon transfera od 65-80%, pri čemu su glavni čimbenici uspjeha sinkronost davateljice i primateljice, kvaliteta zametka te dob davateljice (ALLEN, 2005.). Kako navode AURICH i AURICH (2006.) embriotransfer i s njim povezane tehnike, kao što su cijepanje zametaka i bližnjenje te određivanje spola zametaka, ipak nisu do sada značajnije pridonijeli genetskom napredku u uzgoju europskih sportskih pasmina konja. No, unatoč tome, značajan napredak tehnika zamrzavanja i vitrifikacije konjskih zametaka obećava komercijalnu primjenu ET u konjičkoj industriji te omogućava očuvanje ugroženih pasmina (ALLEN, 2005.).

Proizvodnja zametaka *in vitro* (IVP) predstavlja treću generaciju postupaka biotehnologije rasplodivanja, no njezina primjena zahtijeva dobro opremljen laboratorij te dobro obučeno visokokvalificirano osoblje. Proizvodnja zametaka *in vitro* uključuje polučivanje jajnih stanica od živih davateljica, trasvaginalnom ultrazvučnom aspiracijom ili iz klaoničkog materijala, te njihovo dozrijevanje (*in vitro maturation*, IVM), oplodnju (*in vitro fertilization*, IVF) i uzgoj (*in vitro culture*, IVC) *in vitro* (MAKEK, 2003.). Kako navodi ALLEN (2005.) ove tehnike također omogućavaju korištenje sjemena slabije plodnih pashuha injektiranjem spermija direktno u jajnu stanicu uz pomoć mikromanipulatora (*IntraCytoplasmic Sperm Injection*, ICSI).

Napredne biotehnološke metode poput **kloniranja** i **transgeneze** imaju veliki potencijal u rasplodivanju, no zbog troškova i loših rezultata one se uglavnom koriste u

istraživanjima te u farmaceutskoj industriji. **Kloniranje** je tehnika nuklearne transplantacije koja uključuje fuziju stanica, embrionalnog ili somatskog podrijetla, s enukleiranom jajnom stanicom (iz koje je uklonjena jezgra s njezinim genetskim materijalom), te transfer blastomera i aktivaciju jajne stanice, predimplantacijski razvoj zametaka i embriotransfer (STICE i sur., 1998.). Kloniranje odraslog konja i rođenje kloniranog ždrebeta nazvanog Prometea (GALLI i sur., 2003.) izazvalo je golemi interes i potaknulo mnoge rasprave o mogućnostima i opasnostima primjene ove moćne tehnologije, no unatoč velikim očekivanjima pokazala se slaba učinkovitost ove tehnologije, kao i neispunjena očekivanja za dobivanje uspješnog sportskog konja (HINRICHS, 2006., GAMBINI i MASERATI, 2017).

2.4. Organizacija konjogojstva i uzgoja toplokrvnih konja u Republici Hrvatskoj

Konjogojstvo i uzgoj toplokrvnih konja u RH je relativno malo u odnosu na druge države članice EU, ali statistički podatci Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (HAPIH) pokazuju stalan porast broja toplokrvnih konja (IVKIĆ i sur., 2022.). U mnogim ekonomski razvijenijim zemljama svijeta, cjelokupno konjogojstvo se zbog svoje profitabilnosti objedinjuje pod nazivom konjička industrija (eng. *horse industry*). Razvijene konjičke industrije imaju veliku ulogu u nacionalnim ekonomijama (posebice agrarnoj) i u stabiliziranju lokalnih ekonomija te bitno doprinose socijalnoj stabilnosti zajednice, očuvanju okoliša, zdravlju ljudi i poboljšanju kvalitete života (ČAČIĆ, 2010.).

Godišnje izvješće o broju kopitara u RH za 2021. godinu pokazuje da je ukupan broj kopitara u odnosu na prethodnu godinu povećan za čak 12,5 % te da je u Središnjem registru kopitara (SRK) na dan 31. prosinca 2021. godine registrirano 34.276 kopitara, od toga 28.970 konja (IVKIĆ i sur., 2022.). Od ovog ukupnog broja udio toplokrvnjaka iznosi 32%. Populacija hladnokrvnih konja je u odnosu na 2020. godinu povećana za 6%, a za isti udio smanjen je broj toplokrvnih konja. Uzgoj toplokrvnih pasmina konja potiče se putem "Nacionalnog programa poticanja provedbe uzgojnih programa za toplokrvne pasmine konja u Republici Hrvatskoj 2021. - 2025." u kojem je obuhvaćeno 10 pasmina (alkar, arapski konj, arapski punokrvnjak, engleski punokrvnjak, gidran, haflinger, hrvatski kasač, hrvatski toplokrvnjak, hrvatski športski konj i trakehner) te putem (APPRRR, 2021.a) "Nacionalnog programa očuvanja izvornih i ugroženih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj 2021-2025." u kojem je od toplokrvnih pasmina obuhvaćen lipicanac (APPRRR, 2021.b). Unatoč tome, u 2021. godini je udio oždrebljene ždrebadi toplokrvnih pasmina iznosio samo 11%, dok je kod hladnokrvnih pasmina on iznosio čak 88% što je prikazano na slici 4 (IVKIĆ

i sur., 2022.).



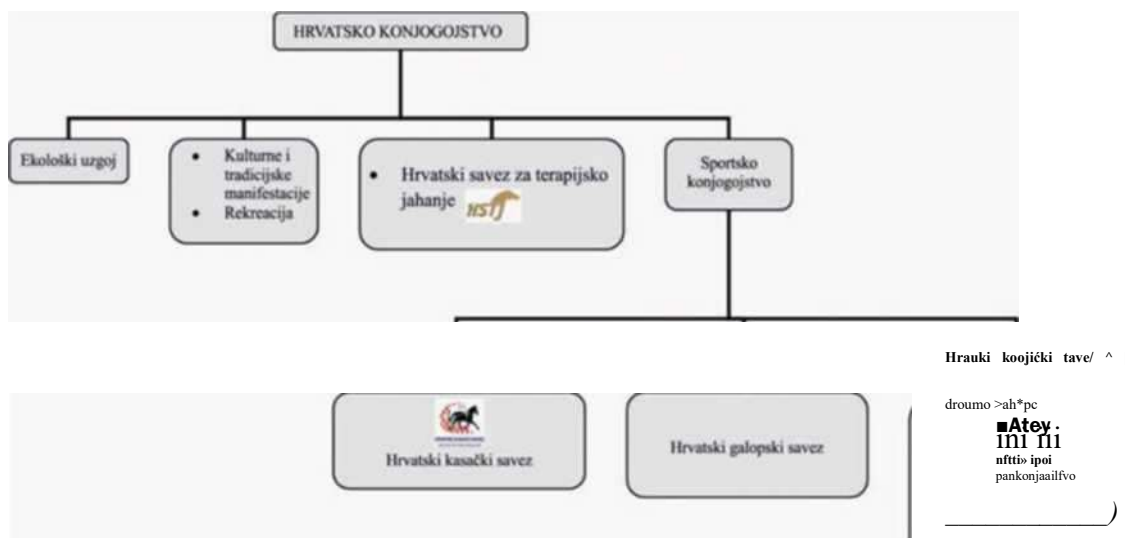
88%

Slika 4: Udio oždrebljene ždrebadi prema skupinama (HAPIH, 2022.).

To predstavlja pad u odnosu na 2020. godinu kad je udio oždrebljene ždrebadi toplokrvnih pasmina iznosio 14% (IVKIĆ i sur., 2021.), a pogotovo u odnosu na 2013. i 2014. godinu kada je taj udio iznosio 18% (POLJAK i sur., 2014.; POLJAK i sur., 2015.).

Cilj uzgoja toplokrvnih pasmina konja je prvenstveno dobivanje kvalitetne ždrebadi za potrebe konjičkih sportova. Kako navode BABAN i sur. (2013.) sportsko konjogojstvo čine tri saveza: Hrvatski kasački savez za kasački sport, Hrvatski galopski savez za galopski sport te Hrvatski konjički savez (HKS) za preponsko, dresurno i

daljinsko jahanje (endurance), konjički višeboj (eventing), zaprežni sport i parakonjanstvo.



Slika 5:- Organiziranost konjogojstva i konjičkog sporta u RH (BABAN i sur., 2013.)

Licencirani mladi konji (starosti od 4 do 7 godina) potječu većinom (74,5%) iz domaćeg uzgoja (oždrebljeni od 2013. do 2016. godine), a manjim dijelom su uvezeni, odnosno oždrebljeni izvan RH (25,5%) što je prikazano u tablici 1 (GETZ, 2020.). To je porast u postotku ždrebadi koji su licencirani i ušli u sport, uzgojenih u RH u odnosu na podatke iz 2012. godine (BABAN i sur., 2013.) kada je taj postotak iznosio 54,25% za konje iz domaćeg uzgoja, u odnosu na 45,75% uvezenih sportskih konja.

Tablica 1 - Licencirana sportska grla starosti od 4 do 7 godina u razdoblju od 2013. do 2016. godine.

	Oždrebljeni u HR				Oždrebljeni izvan HR			
	Pastusi	Kobile	Kastrati	Ukupno	Pastus	Kobile	Kastrat	Ukupno
2013	19,5%	39,0%	41,5%	69,5%	5,6%	61,1%	33,3%	30,5%
2014	26,7%	33,3%	40,0%	75,0%	10,0%	30,0%	60,0%	25,0%
2015	9,1%	59,1%	31,8%	71,0%	0,0%	55,6%	44,4%	29,0%
2016	29,6%	29,6%	40,7%	87,1%	0,0%	25,0%	75,0%	12,9%
Ukupno	21,7%	39,2%	39,2%	74,5%	4,9%	48,8%	46,3%	25,5%

Uzgajivači konja udruženi su u konjogojске udruge i saveze uzgajivača po pojedinim pasminama. Uzgojna udruženja zamišljena su kao središta provedbe uzgojnog i selekcijskog rada u stočarstvu svake države članice EU. Ona također vode matične knjige pasmina i pomažu pri redovitom ažuriranju Središnjeg registra kopitara, SRK;

baze podataka koju vodi Ministarstvo poljoprivrede. IVANKOVIĆ (2020.) navodi da su uzgojna udruženja sa uzgojnim ovlastima za toplokrvne pasmine konja: Hrvatska udruga uzgajivača gidran pasmine konja, Hrvatska udruga uzgajivača športskih konja, Udruga uzgajivača konja hrvatski toplokrvnjak i Šavez uzgajivača trakenerskih konja Hrvatske. Državna ergela Đakovo i Lipik provodi Uzgojni program lipicanske pasmine za grla uzgojena na ergeli, a za zemaljski uzgoj lipicanske pasmine provedba Uzgojnog program povjerena je HAPIH-u. Za pasmine i tipove konja za koje nisu uspostavljena uzgojna udruženja, uzgojni rad u najvećoj je mjeri povjeren HAPIH-u. Također je važno napomenuti da je ulaskom Hrvatske u EU bitno olakšana međunarodna trgovina genetskim materijalom, što je uz liberalizaciju europskog zakonodavstva o uzgoju domaćih životinja, uzgajivačima omogućilo upis ždrebadi u registre iz kojih potiče sjeme pastuha kojim je kobila osjemenjena. To je dovelo do porasta broja pasmina unutar hrvatskog konjogojstva, osobito etabliranih pasmina sportskih konja, kao što su Holstein, AES (*Anglo European Studbook*), Zangersheide, KWPN (*Koninklijk Warmbloed Paardenstamboek Nederland*) i drugih.

2.5. Umjetno osjemenjivanje kobila

Umjetno osjemenjivanje (UO) je postupak kojim se ejakulat pastuha polaže u maternicu kobile u estrusu s ciljem da ostane gravidna. Polučeni ejakulat pastuha može se koristiti nerazrijeđen ili se može razrijediti u više doza. Tako je jedan ejakulat pastuha dovoljan da se osjemeni više kobila dok je sama ejakulacija odvojena od osjemenjivanja. Kobile se mogu osjemeniti samo svježom razrijeđenom spermom na mjestu polučivanja ejakulata ili pak uporabom ohlađenog transportiranog sjemena ili duboko smrznutog (DS) sjemena (CERGOLJ i SAMARDŽIJA, 2006.). Bitno je razlikovati UO konja od ostalih vrsta domaćih životinja. Osnovna razlika je važnost priznavanja podrijetla odnosno mogućnost izdavanja pravovaljane rodovnice. Iz tog je razloga važno imati pohranjen svaki podatak o umjetnom osjemenjivanju pojedine kobile, od polučivanja ejakulata, sustava pohrane i smrzavanja, transporta, osjemenjivanja i u konačnici rođenja ždrebeta (PRVANOVIĆ BABIĆ i sur., 2012).

Prosječan postotak koncepcije kobila u dobro vođenoj ergeli trebao bi iznositi 65% po ciklusu (kada se dijagnostika provodi 15. dana gravidnosti), stopa koncepcije na kraju sezone trebala bi biti oko 85%, sa stopom živorođene ždrebadi većom od 75% (ARTHUR i sur., 2001.). Postotak koncepcije kobila nakon UO ovisi o mnogim čimbenicima, počevši od plodnosti pastuha i kobile te načina polučivanja i postupka s ejakulatom, volumenu i kvaliteti sjemena, načinu čuvanju te tehnici i vremenu osjemenjivanja (SQUIRES i sur., 2006.). Kod

većine pastuha sjeme dobro podnosi razrjeđivanje, hlađenje i čuvanje na +4°C te zadržava dobru plodnost tijekom 48 do 72 sata (ALLEN, 2005.). Pri korištenju svježeg ili ohlađenog sjemena rasplodnjaka, u većini centara kobile se osjemenjuju svaki drugi dan počevši od drugog ili trećeg dana estrusa, odnosno kad veličina predovulacijskog folikula prijeđe promjer od 35 mm, pa do utvrđivanja ovulacije odnosno prestanka vidljivih znakova estrusa. Za osjemenjivanje se za većinu pastuha koristi doza od 500×10^6 progresivno pokretljivih spermija (pps), volumena 10 do 20 ml. Polaganjem sjemena u tijelo maternice postiže se koncepcija od 58,8% po ciklusu (SIEME i sur., 2004.). Najbolji rezultati koncepcije (88%) osjemenjivanjem svježim ili ohlađenim ejakulatom postižu se kad su kobile osjemenjene 24 sata prije ovulacije (McKINNON i VOSS, 1992.).

Za osjemenjivanje kobila s DS sjemenom koriste se doze od svega 50×10^6 pps, tj. 1 pajeta od 0,5 ml ("*low dose insémination*") ili $>300 \times 10^6$ pps, s različitim brojem pajeta u dozi DS sjemena, ukupnog volumena 2 do 4 ml (CROWE i sur., 2008.). Kad se koristi DS sjeme rasplodnjaka, najveći uspjeh umjetnog osjemenjivanja postiže se ako se kobilu osjemeni 6 sati prije ovulacije, no tolerira se i unutar 6 sati nakon ovulacije (METCALF, 2007.). Dokazano je da je koncepcija kobila prilikom umjetnog osjemenjivanja DS sjemenom niža i iznosi u prosjeku 35 do 45%. Također, istraživanja su pokazala da je plodnost zamrznute sperme po ciklusu bila viša ako se kobilu osjemenilo barem 2 puta u usporedbi s jednokratnom inseminacijom (CROWE i sur., 2008.).

2.5.1. Određivanje optimalnog vremena za UO kobila

Kako primjena umjetnog osjemenjivanja u konjogojstvu ima brojne prednosti, a sama fiziologija rasplodivanja konja je dosta specifična u odnosu na ostale vrste domaćih životinja, prije samog postupka osjemenjivanja je neophodno provesti kvalitetnu ginekološku pretragu kako bi se ocijenila rasplodna sposobnost kobile. Ginekološka pretraga se sastoji od vaginalne, rektalne i ultrazvučne pretrage, a po potrebi se može nadopuniti endoskopskom pretragom te različitim laboratorijskim pretragama kao što su citološka, bakteriološka, određivanje razine hormona i biološki aktivnih tvari u krvi i urinu. Prilikom određivanja optimalnog vremena za UO kobila često se oslanjamo i na vanjske znakove tjeranja koji su većinom slabo izraženi ukoliko nije prisutan pastuh. Za otkrivanje kobila u estrusu koristi se tzv. Pokušavanje te se u većini centara za UO koriste pastusi probači.

U praksi se najčešće kombiniraju metode rektalne i ultrazvučne pretrage. Rektalnom se pretragom palpira tonus maternice i folikula koji omekša neposredno pred ovulaciju, dok

se ultrazvučnom pretragom precizno može izmjeriti promjer folikula. Maternica kobile u estrusu je kontraktilna s izraženim tonusom, a rogovi su cilindričnog oblika i čvršće konzistencije. Također, javlja se karakteristična ehotekstura maternice nalikom na presjek naranče što je posljedica estrogenizacije tijekom estrusa te je najbolje izražena 1 do 4 dana prije ovulacije i tada progresivno slabi da bi nestala 2 do 6 dana nakon ovulacije (MAKEK i sur., 2009.). Prema stupnju razvoja folikula i tonusu maternice određujemo najprikladnije vrijeme za umjetno osjemenjivanje (HERAK, 1989.). Predovulacijski folikul dosegne veličinu jajnika i palpira se na *fossi ovulationis*. Prema veličini i fluktaciji, folikuli su svrstani u 4 stadija, od F1 do F4. Najbolji rezultati umjetnog osjemenjivanja pokazali su se kad se osjemenjuje kobila sa folikulom u stadiju

F4 odnosno promjera 5 do 7 cm, ali se normalno osjemenjuje i s F3 odnosno promjerom folikula od 3 do 5 cm. Kobila se tada pregledava svaka 24 sata do završetka ovulacije. Kod F3 stadija, jajnik je asimetričan, folikul je oblika kugle i veličine 1/3 jajnika, stijenka mu je tanka pa se dobro osjeća fluktuacija. Kod F4 fluktuacija je još izraženija, a stijenka tanka i napeta te omekša pred ovulaciju. Kad rektalni nalaz kombiniramo s ultrazvučnim, možemo točno predvidjeti ovulaciju koja će nastupiti u sljedećih 12 sati.

Stopa plodnosti mladih kobila (do 8 godina starosti) nije drastično niža nakon osjemenjivanja DS sjemenom u odnosu na svježe i iznosi u prosjeku 40%, premda su CROWE i sur. (2008.) ustanovili bolju koncepciju na kraju sezone kod kobila osjemenjenih DS sjemenom (82,0%), nego kod onih osjemenjenih ohlađenim sjemenom (69,6%). Plodnost kobile pada nakon njihove 15.-te godine za 50%, no navedena razlika je direktno vezana za ranije korištenje kobila u rasplodu, odnosno paritet. Stoga se preporučuje sportske kobile ranije uvesti u rasplod (do 5. godine života), jer je dokazano da su tzv. starije prvotkinje, tj. kobile koje ulaze u rasplod tek nakon 9. godine života, slabije plodne (PRVANOVIĆ i sur., 2008.). Pri osjemenjivanju DS sjemenom potrebno je vrlo učestalo pratiti folikularni razvoj s obzirom na skupoću i ograničeni broj doza koje bivaju isporučene u jednoj pošiljci te je preporučljivo hormonalno inducirati ovulaciju te osjemenjivati svaka 24 sata od indukcije do ovulacije (GRIZELJ i sur., 2008.). Prije odluke o osjemenjivanju kobile DS sjemenom pastuha potrebno je pažljivo razmotriti i definirati njezin reproduktivni status, budući da UO s DS sjemenom kod slabije plodnih i kod kobila koje kasno ulaze u reprodukciju može rezultirati razočaravajućim stopama koncepcije (SIEME i sur., 2004.).

2.5.2. Organizacija umjetnog osjemenjivanja

Organizacija UO kobila je zahtjevan i složen proces. Prije svega je to tako radi složenog postupka polučivanja ejakulata pastuha zbog dužeg koitusa i agresivnog ponašanja. Nadalje, sjeme nekih pastuha slabije podnosi postupak smrzavanja odnosno odmrzavanja. Pastuh ima frakcioniranu ejakulaciju i da bismo dobili frakciju bogatu spermijima bez primjesa, ejakulat moramo procijediti kroz sterilnu gazu i ukloniti sluz te ga po potrebi razrijediti. Zahtjevnost postupka je, također i u tome što kobile bez prisutnosti pastuha ne pokazuju vidljive znakove estrusa zbog čega, želimo li odrediti optimalno vrijeme osjemenjivanja, moramo svakodnevno pregledavati promjene na jajnicima. No, u zemljama s razvijenom tradicijom konjogojstva, kao što su Njemačka, Francuska, Švedska, Belgija, Nizozemska i druge, UO kobila postalo je glavno uzgojno-seleksijsko sredstvo za mnoge pasmine konja. Tako se u Njemačkoj preko 90% rasplodnih kobila Hanoveranske pasmine osjemenjuje bilo ohlađenim ili DS sjemenom pastuha, a u Francuskoj obuhvat osjemenjivanja sportskih kobila iznosi 58% (AURICH i AURICH, 2006.). Trgovina sjemenom pastuha unutar EU nije više ograničena na centre za UO, već sjeme mogu slobodno naručiti i koristiti svi veterinari, sve dok je ono prikupljeno u centru koje je odobrila EU. Kada je moguća odgovarajuća logistika i transport unutar 24 sata, prednost za UO ima rashlađeno transportirano sjeme pastuha. U lokacijama gdje nije moguće organizirati adekvatan transport sjemena pastuha, u većem se obimu koristi DS sjeme pastuha (AURICH i AURICH, 2006.).

U RH je sustavni rad na UO kobila započeo prije ulaska RH u EU. Centar za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske (CRSH d.o.o.) u Križevcima počeo je 2007. godine s uvozom DS sjemena kvalitetnih Hanoveranskih i Holstein pastuha te s umjetnim osjemenjivanjem kobila. Tijekom narednih nekoliko rasplodnih sezona imali su i vlastite pastuhe holsteinske i hanoveranske pasmine za polučivanje sjemena te su provodili UO kobila svježim, rashlađenim i DS sjemenom pastuha (NERVO i sur., 2013.). Na Klinici za reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu već se dulji niz godina uspješno provodi UO kobila rashlađenom te DS spermom iz uvoza (GETZ i sur., 2013.), kao i u manjem broju privatnih veterinarskih stanica i ambulanti primjerice u Karlovcu, Vrbovcu, Sv. Petru u Šumi, Pakracu i dr.. Nadalje, značajan preduvjet za uvođenje umjetnog osjemenjivanja na veće uzgoje poput ergela je provođenje polučivanja ejakulata pastuha na tim mjestima u svrhu pretraživanja rasplodnjaka na kliconoštvo virusnog arteritisa (BARBIĆ i sur., 2019.). Od 2017. registriran je Centar za sakupljanje sjemena kopitara pri Državnoj

ergeli Đakovo i Lipik, gdje se provodi polučivanje i razjeđivanje ejakulata te također UO lipicanskih kobila.

2.5.3. Polučivanje ejakulata rasplodnjaka i postupak sa spermom

16

U današnje vrijeme najrasprostranjeniji način dobivanja sperme je pomoću umjetne vagine. Za većinu je pastuha neophodna i prisutnost kobile u estrusu. Umjetna vagina je načinjena tako da simulira uvjete prave vagine te da potakne pastuha na ejakulaciju. Pastusi se dosta razlikuju po intenzitetu libida i jačini spolnih refleksa pa neki vrlo brzo pozitivno reagiraju i bez poteškoća ejakuliraju u umjetnu vaginu i pogodni su za uzimanje ejakulata, dok drugi oklijevaju i teško im je uzeti spermu čak i kad skaču na kobilu u estrusu (PRVANOVIĆ BABIĆ i sur., 2019.). Da bi došlo do same ejakulacije, umjetna vagina mora zadovoljavati određene uvjete. Kod pastuha i preživača najznačajniji utjecaj na glans penisa ima temperatura. Uz temperaturu, uvjeti koje umjetna vagina još mora zadovoljavati jesu pritisak i skliskost (CERGOLJ i SAMARDŽIJA, 2006.). Postoji nekoliko tipova umjetnih vagina: Hannoveranski model, Colorado, Missouri i INRA model. U Centru za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske (CRSH d.o.o.) korišten je Hannoveranski model umjetne vagine, prikazan na slici 6.



Slika 6: Umjetna vagina za polučivanje ejakulata pastuha - Hannoveranski model.

Izvor: <https://www.minitube.com/catalog/en/equine/equine-semen-collection/>

Ovaj model umjetne vagine jednostavan je za uporabu i može se višekratno koristiti.

Umjetna vagina ima središnju šuplju gumenu cijev u koju dolazi pastuhov spolni organ, a na kraju cijevi je ljevkasti dodatak koji utječe u posudu za prikupljanje sjemena, odnosno sastoj i se od vanjske tvrde i unutarnje mekane gumene cijevi, gumenog nastavka i spermohvatača. Spermohvatač je pomoću ljevkaste gumene napliske povezan s umjetnom vaginom i zaštićen od štetnog utjecaja svjetla i promjene temperature (CERGOLJ i SAMARDŽIJA 2006.). Kako je već rečeno da umjetna vagina mora zadovoljavati određene uvjete, tako se između vanjske i unutarnje gumene cijevi odnosno vagine, nalazi međuprostor koji se ispunjava vodom zagrijanom na 50 do 55 °C kako bi se u unutrašnjosti vagine zadovoljila optimalna temperatura za podražaj i ejakulaciju koja iznosi od 41 do 43 °C. Spermohvatač, koji se pričvršćuje na kraju umjetne vagine, može biti staklen pa se nakon sterilizacije može opet upotrijebiti, ili jednokratni od PVC materijala. Bitno je naglasiti da je temperatura uvijek najkritičniji čimbenik poticanja pastuha na ejakulaciju. Od uvjetna u umjetnoj vagini vrlo je bitan i tlak. On se može mijenjati dodavanjem ili uklanjanjem vode i povećanjem ili smanjenjem količine zraka.

Kad smo sve pripremili i stimulirali pastuha, on se vodi do fantoma na polučivanje ejakulata. Za vizualno-olfaktornu stimulaciju obično služe kobile u estrusu. Nakon stimulacije i skoka pastuha na fantoma, na spolni ud pastuha se navlači umjetna vagina koja pastuha stimulira i dovodi do ejakulacije (NERVO i sur., 2013.). Cijeli postupak polučivanja traje 2 do 5 minuta, a sama ejakulacija 30-ak sekundi. Kako u prvoj frakciji ima najviše sjemena, uglavnom se uzimaju prva 2 do 3 mlaza. Pastuh polučuje u tri frakcije te se treća ne uzima jer nema spermija, a sadrži puno sluzi. Iz ejakutala se filtriranjem uklanja gel frakcija, koju proizvode mjehuričaste i bulbouretralne žlijezde. Većina spermohvatača ima ugrađeni filter za uklanjanje gel frakcije ejakulata.

Sljedeći postupak je sanitarna, makroskopska i mikroskopska ocjena ejakulata u laboratoriju te ocjena koncentracije spermija u ejakulatu da bi se odredila kvaliteta ejakulata kao i broj doza za umjetno osjemenjivanje. Makroskopskim pregledom ocjenjuju se količina, konzistencija, boja, miris i čistoća. Također, određuje se i pH ejakulata gdje fiziološki pH iznosi od 6,8 do 7,5. Mikroskopskom pretragom, uglavnom na fazno-kontrastnom mikroskopu vrši se pregled broja, koncentracije, pokretljivosti i izgleda spermija. U većini laboratorija koriste se fotometrijski brojači spermija koji na osnovu volumena ejakulata i koncentracije spermija automatski izračunaju mogući broj doza za umjetno osjemenjivanje (CERGOLJ i SAMARDŽIJA, 2006.).

Nakon toga slijedi razrjeđivanje ejakulata. Ukoliko se sjeme koristi isti dan, obično u slučajevima kada se pastuh i kobile za osjemenjivanje nalaze na istoj ergeli, profiltrirani ejakulat se razrjeđuje u omjeru 2 : 1, pomoću jednostavnih razrjeđivača na bazi obranog mlijeka, bez ili uz dodatak antibiotika i uz dodatak glukoze. Većina pastuharni danas koristi gotove, "ready-to-use" medije i razrjeđivače za sjeme. Optimalna doza sjemena kod konvencionalnog osjemenjivanja u tijelo maternice je 300500×10^6 spermija s >60% progresivne pokretljivosti, u ukupnom volumenu 5-10 ml (ALLEN, 2005.). Ukoliko se te doze razrijede razrjeđivačima koji povisuju životnu sposobnost spermija i ako se unese u maternicu u količini od 20-30 ml ždrebnost kobila se ne umanjuje već dozvoljava da se od jednog skoka pastuha može osjemeniti 15-25 kobila, ovisno o početnim parametrima kvalitete ejakulata. Nerazrijeđeno sjeme mora se potrošiti najkasnije u roku 20-ak minuta od polučivanja, dok se razrijeđeno i pothlađeno na +4 C može čuvati 24 do 48 sati. Ukoliko su korišteni kompleksniji razrjeđivači, ohlađeno sjeme pastuha iznimno se može čuvati 72 sata na +4 C (BATELLIER i sur., 2001.). U Centru za reprodukciju u stočarstvu Hrvatske d.o.o. u Križevcima, za razrjeđivanje i čuvanje pothlađenog sjemena pastuha koristili su gotovi „one step“ razrjeđivač- EQUIPRO®, Njemačke tvrtke Minitube (NERVO i sur., 2013.). U svrhu dubokog smrzavanja sjemena pastuha koriste se razrjeđivači koji se sastoje od 4% glicerola, obranog mlijeka, glukoze, žumanjka ili laktoze te etilendiamin tetraoctene kiseline odnosno EDTA. Danas se DS sjeme rasplodnjaka u većini laboratorija pohranjuje i transportira u tekućem dušiku u obliku pajeta zapremnine 0,5 ili 1,0 ml (CERGOLJ i SAMARDŽIJA, 2006.). Svi postupci pri izradi doza ejakulata imaju za cilj sačuvati sposobnost oplodnje sjemena i smanjiti štetni utjecaj sjemene plazme razrjeđivanjem i filtriranjem s jedne strane te osjemenjivanje kobila s dozom koja zadovoljava brojem spermija i volumenom s druge strane. SIEME (2009.) navodi minimalne standarde koje treba zadovoljavati ejakulat pastuha kako bi se mogao koristiti za UO kobila te tako razrijeđeni ejakulata koji ide u transport mora sadržavati $>600 \times 10^6$ spermija: preporučeni maksimalni volumen trebao bi iznositi 40 ml (razrjeđenje 1:2), a UO se izvodi 24-36 sati nakon polučivanja ejakulata, s tim da u vrijeme osjemenjivanja mora biti najmanje 35% progresivno pokretljivih spermija. Za DS sjeme pastuha preporučuje minimalno 250 milijuna pps po dozi nakon odmrzavanja, a doza mora sadržavati minimalno 3 pajete s minimalno 35% pps. Prema nekim istraživanjima pokazalo se da se aplikacijom malih doza svježeg ili duboko smrznutog/ odmrznutog seksiranog sjemena pastuha (5 milijuna spermija u 1 ml) duboko u rog maternice, što bliže uterotubalnom spoju ili histeroskopskom inseminacijom također

moгу postići zadovoljavajući rezultati koncepcije kobila (LINDSEY i sur., 2002. i RIGBY i sur., 2001.). CROWE i sur. (2008.) postigli su bolju stopu koncepcije nakon osjemenjivanja kobila DS sjemenom (82,0%), duboko u rog maternice i nakon indukcije ovulacije, nego nakon UO kobila ohlađenim sjemenom (69,6%).

2.5.4. Indukcija ovulacije

Indukcija ovulacije bitna je radi smanjivanja broja osjemenjivanja po ciklusu, ali i kod ejakulata koji je ograničene dostupnosti ili doze. U tu svrhu moguće je koristiti humani korionski gonadotropin (hCG) ili potkožne umetke analoga gonadotropin releasing hormona (GnRH). Induciranje ovulacije kada na jajniku postoji predovulacijski folikul veći od 35 mm povisuje postotak koncepcije za 15% nego kod kobila kod kojih ovulacija nije inducirana (WOODS i sur., 1990.). Radi najveće ekonomske isplativosti najčešće se aplicira hCG i.v. u dozi od 1500 do 2000 i.j., a ovulacija će u 75 do 91% kobila nastupiti za 48 sati. Nakon indukcije ovulacije, za 24 sata slijedi osjemenjivanje kobila svježim ili ohlađenim sjemenom (BARBACINI i sur., 2010.). Ako se pak koristi duboko smrznuto sjeme, kobile je potrebno pregledavati svakih 6 do 8 sati nakon aplikacije hCG-a jer je takvo sjeme pogodno za oplodnju jajne stanice u prosječnom vremenu do 12 sati, nakon čega se osjemene. CROWE i sur. (2008.) su kod 139 kobila različitih pasmina, prosječne dobi 10,0 (3 do 24) godina postigli koncepciju od 82,0% nakon osjemenjivanja DS sjemenom pastuha, nakon indukcije ovulacije pomoću potkožnog umetka 2,2 mg deslorelin acetata (Ovuplant®).

2.5.5. Tehnike umjetnog osjemenjivanja kobila

Prilikom pripreme kobile za UO poželjno je korištenje stojnice, a sam postupak inseminacije nije kompliciran. Rep je potrebno umotati u, na primjer, plastičnu rukavicu za rektalnu pretragu i fiksirati u stranu. Kod samog postupka bitno je u spolne organe kobile uvoditi isključivo sterilan pribor te dobro oprati i osušiti perinealnu regiju to jest, vulvu, anus i okolinu te područje ispod dražice dezinficirati (najbolje betadinom ili nekim drugim prikladnim dezinficijensom) kako bi se moguća kontaminacija svela na minimum. Na ruku se navuče jednokratna sterilna plastična rukavica na koju je potrebno staviti malo nespermicidnog lubrikanta kako bi se njome lakše ušlo u vaginu. Postoji nekoliko opisanih tehnika UO kobila, ovisno o tome da li se koristi svježe, ohlađeno ili DS sjeme pastuha.

- **Standardna tehnika UO u tijelo maternice za svježe i ohlađeno sjeme pastuha:**

prstom uvođačem pronalazimo cervikalni kanal u koji zatim guramo kateter za UO u tijelo

maternice do desetak centimetara. Doza za osjemenjivanje svježim ili ohlađenim sjemenom pastuha može biti pripravljena u brizgalicama, epruvetama ili bočicama zapremnine 20 do 30 ml. Sjeme se aplicira pomoću staklene ili plastične sterilne brizgalice zapremnine 20 do 50 ml izravno u tijelo maternice kroz gumeni ili plastični kateter prikazan na slici 7 (GRIZELJ i sur., 2008.).



Slika 7: Kateter za UO kobila svježim i ohlađenim sjemenom pastuha. Izvor: <https://www.minitube.com/catalog/en/equine-universal-ai-pipette-p2003/>

- **Duboko intrauterino UO u ipsilateralni rog maternice za DS sjeme pastuha**

("deep intrauterine insemination"): kad kobile osjemenjujemo DS sjemenom pastuha preporuča se aplikacija odmrznutog DS sjemena što dublje u rog maternice na strani gdje se nalazi predovulacijski folikul. Prilikom uvođenja katetera u vaginu vrh katetera treba držati u zatvorenoj šaci kako bi ga maksimalno zaštitili od kontaminacije (GRIZELJ i sur., 2008.). Postupak osjemenjivanja DS sjemenom zahtjeva poseban sterilan pribor kojim se otopljena sperma (30-ak sekundi na 38 do 39 °C) u pajetama aplicira duboko u ipsilateralni rog maternice. Mogu se koristiti duži kateteri (75 cm) koji su pogodni za ohlađenu i DS spermu pastuha. U kombinaciji s metalnim mandrenom (slika 8.) omogućuju osjemenjivanje DS sjemena pohranjenog u 0,5 ml pajetama: kada se doza sastoji od više pajeta, plastični kateter ostaje u maternici, a metalnim mandrenom se apliciraju dodatne pajete do iskorištenja pune doze DS/odmrznutog sjemena (SAMPER i PLOUGH, 2010.).

Slika 8: Metalni mandren za 0,5 ml
pajete DS sjemena. Izvor:

<https://www.minitube.com/catalog/en/equine/equine-insemination-and-diagnostics/>

Slika 9: Rezač za DS pajete.
Izvor:

Pri rezanju pajeta nakon odmrzavanja veoma je važno vrh pajete odrezati pomoću rezača (slika 9), da bi rez bio ravan i da ne dođe do gubitka sjemena, s obzirom na malu dozu (2 do 4 ml).

- **Endoskopsko osjemenjivanje za male doze DS sjemena pastuha:** Endoskop, zaštićen rukavicom (koja se izvuče prije nego što je endoskop prošao kroz cerviks), uvodi se transvaginalno kroz cerviks, do ispilateralnog roga maternice te omogućuje vizualizaciju papile uterotubalnog spoje gdje se polaže sjeme (SIEME i sur., 2004., MORRIS, 2004.). LINDSEY i sur. (2002.) postigli su dobru stopu koncepcije (47%) s vrlo malim dozama (5×10^6 DS/odmrznutog sjemena), te također nakon UO malim dozama seksiranog sjemena pastuha. S druge strane, ova tehnika osjemenjivanja nije prikladna za terensku primjenu.

2.5.6. Zakonski okvir umjetnog osjemenjivanja u Republici Hrvatskoj

Umjetno osjemenjivanje, stavljanje u promet i izvoz sjemena kopitara iz RH regulirani su Zakonom o veterinarstvu (NN 83/13, 148/13, 115/18, 52/21, 83/22), Zakonom o uzgoju domaćih životinja (NN 115/18, 52/21) i pravilnicima kojima se zakonodavstvo RH usklađuje sa zakonodavstvom Europske Unije, tzv. BALAI Direktiva vijeća 92/65/EEZ (ANONIMUS, 1993.):

- Pravilnik o veterinarsko-zdravstvenim zahtjevima za stavljanje u promet i uvoz životinja, sjemena, jajnih stanica i zametaka koji ne podliježu zahtjevima propisa iz dodatka A djela i Pravilnika o veterinarskim i zootehničkim pregledima određenih životinja i proizvoda u prometu s državama članicama Europske Unije (NN 137/13).
- Pravilnik o obrascu veterinarskog certifikata za stavljanje u promet sjemena kopitara kojim se određuju uvjeti za izdavanje certifikata za izvoz sjemena kopitara u države članice Europske unije (NN 110/09.).

To u praksi znači da sjeme pastuha koje se stavlja u promet bilo ohlađeno ili duboko zamrznuto, mora biti sakupljeno, obrađeno i skladišteno za potrebe umjetnog osjemenjivanja u EU odobrenim centrima, a svaki centar i tim mora dobiti odobreni broj. Nadležno tijelo izrađuje i ažurira listu odobrenih centara i timova te odobrenih brojeva koja je dostupna javnosti i drugim državama članicama. Liberalizacija europskog zakonodavstva o uzgoju domaćih životinja omogućila je da sjeme pastuha mogu slobodno naručiti i koristiti svi

veterinari, sve dok je ono prikupljeno u centru koje je odobrila EU. Svaku pošiljku sjemena prati veterinarski certifikat. Podaci o mjestu odredišta dostavljaju se putem TRACES sustava nadležnom tijelu (u RH to je Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane). Sve je ovo neophodno radi pravovaljane registracije ždrebadi osjemenjenih kobila, a većina uzgojnih organizacija također zahtjeva DNA testiranje osjemenjenih kobila i ždrebadi. Ovo također vrijedi i za pastuhe i rasplodne kobile obuhvaćene "Nacionalnim programom poticanja provedbe uzgojnih programa za toplokrvne pasmine konja u Republici Hrvatskoj 2021. - 2025." te kobila da bi vlasnik ostvario potporu za uzgoj kobila mora biti testirana na roditeljstvo ili imati registriran DNK tip. Ždrijebe također treba biti testirano na roditeljstvo, a kobila pripuštena/osjemenjena pod pastuha odabranog za rasplod prema kriterijima uzgojnog udruženja koje vodi matičnu knjigu u kojoj je navedeno žensko grlo upisano (APPRRR, 2021.a).

3. RASPRAVA

Kroz povijest konji su se koristili u razne svrhe, za vojsku, rad, prijevoz ljudi, tereta i pošte, za rad u poljoprivredi i drugo. Tako na prijelazu devetnaestog u dvadeseto stoljeće, najveći udio u populaciji zauzimaju radni konji. Prilike kao što su primjena mehanizacije, ratna događanja koja su pogodovala zapostavljanju kvalitetnog uzgoja dovele su do promjena u veličini populaciji konja kao i do promjena u pasminskoj strukturi populacije konja. Tijekom zadnjih pola stoljeća broj konja u zemljama Europe zabilježio je značajan pad: od 20,8 miliona 1962 na 5,7 miliona 2012. godine (IVANKOVIĆ, 2014.). Također se promijenila i pasminska struktura u uzgoju konja te gospodarski razvijenije zemlje EU svoje nacionalne uzgoje usmjeravaju prema povećanju toplokrvnih pasmina konja, namijenjenih za sport i rekreaciju. U Hrvatskoj je broj konja 1972. godine iznosio 260.000 jedinki, da bi 1982. godine pao na 92.000, a najznačajniji pad zabilježen je tijekom Domovinskog rata te je 2002. godine broj konja u RH iznosio svega 12.000 (IVANKOVIĆ, 2014.). Zadnjih 20 godina RH bilježi trend porasta ukupnog broja konja, s tim da preko 60% ukupnog broja čine konji hladnokrvnih pasmina (IVKIĆ i sur., 2022.). Međutim, i dalje smo zemlja na samom začelju država članica Europske unije prema broju konja u odnosu na ukupnu populaciju (oko 6,1 konja /1.000 stanovnika). Razvoj konjičkog sporta u Hrvatskoj 70-ih godina dvadesetog stoljeća, nametnuo je potrebu za kvalitetnim sportskim pasminama. Ukidanjem brojnih ergela koje su do tada proizvodile jahaće konje za potrebe vojske, nestalo je osnovne

populacije koja je mogla poslužiti kao temelj za uzgoj kvalitetnih konja za potrebe sporta te se započelo s uvozom konja iz inozemstva. Međutim, zbog ograničenih financijskih resursa uzgajivači najčešće nisu kupovali najkvalitetnija grla. Nadalje, premda postoje uzgojna udruženja kao i odgovarajući uzgojni programi, još uvijek u Hrvatskoj proizvodimo značajno manje sportskih konja nego što su potrebe sportskih i rekreativnih jahača.

Umjetno osjemenjivanje, kao daleko najjednostavnija i u Europi najčešće primijenjena metoda asistirane reprodukcije, nudi velike prednosti za uzgajivače. Ono omogućava odabir i distribuciju širokog spektra genetskog materijala čime se izbjegava stres uvjetovan transportom rasplodnih grla. Putovanje za kobilu je posebno stresno što znatno može umanjiti njenu plodnost. Umjetno osjemenjivanje zapravo ubrzava postupke oplemenjivanja pasmina i uzgojnih tipova te ubrzava selekcijski učinak jer najkvalitetniji pastusi kroz umjetno osjemenjivanje ostavljaju znatniji uzgojni trag (PRVANOVIĆ BABIĆ, 2014.), a duboko smrznuto sjeme rasplodnjaka može se i nakon njegova uginuća koristiti u rasplodu. Prednosti umjetnog osjemenjivanja ogledaju se u sprječavanju prijenosa spolno zaraznih, nametničkih i drugih bolesti, a sa zdravstvenog gledišta ujedno se smanjuje i rizik od raznih povreda prilikom manipulacije sa životinjama i uklanjaju tzv. «profesionalne» bolesti usko vezane s pojačanom seksualnom aktivnosti, poput impotencije i psihičkih problema (PRVANOVIĆ BABIĆ, 2014.). Prateći trendove u Europi, hrvatsko konjogojstvo konstantno kroči naprijed što pokazuje interes i broj uzgajivača i držatelja konja. Međutim, gledajući Europu gdje je postotak ždrebadi koja dolazi na svijet kao rezultat osjemenjivanja ohlađenim ili zamrznutim sjemenom dosegao oko 90%, kod nas je broj ždrebadi prema broju kobila daleko ispod europskog prosjeka, a to pokazuje Godišnje izvješće Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (HAPIH), (IVKIĆ i sur., 2022.). Na osnovu toga očito je da je plodnost konja svih pasmina u Hrvatskoj nezadovoljavajuća na što stručna javnost upozorava već dulji niz godina. Upravo bi poticanje primjene umjetnog osjemenjivanja na većem broju kobila direktno i indirektno pridonijelo postizanju cilja poboljšanja plodnosti i mjera kontrole plodnosti kobila, te dostizanju rezultata iz drugih zemalja, članica Europske unije u kojima postotak kobila na kojima se provodi umjetno osjemenjivanje iznosi 40-60%. KOWALCZYK i sur. (2019.) u svom su istraživanju, provedenom u 3 vodeća centra za UO kobila (u sjevernoj Francuskoj, Poljskoj i Njemačkoj) ukazali su na porast broja osjemenjenih sportskih kobila u razdoblju od 2013. do 2017. godine, s 49% na čak 67% te dokazali sve veću popularnost umjetnog osjemenjivanja u uzgoju sportskih konja. Usporedili su također i odabir vlasnika između ohlađenog i DS sjemena pastuha te iznijeli podatak da

je 2013. i 2014. više od 53%, odnosno 55% kobila bilo osjemenjeno DS sjemenom. Od 2015. do 2017. više od 60% kobila osjemenjeno je ohlađenim sjemenom te je udio kobila osjemenjenih DS sjemenom iznosio ispod 40%. S ekonomskog gledišta za uzgajivače je najisplativija opcija indukcija ovulacije i $\frac{1}{2}$ kobila što bliže ovulaciji, uz primjenu što manjeg broja doza sjemena. S obzirom da većina pastuharni u EU nudi pojedinačne doze sjemena (1 pajeta od 0,5 ml ili 1 doza od 20 ml ohlađenog sjemena) u cjenovnom rasponu od 450 do 3500 eura i više, jasno je da utrošeni broj doza smanjuje trošak uzgajivačima do koncepcije kobile (KOWALCZYK i sur., 2019.). Kako navode AURICH i AURICH (2006.) u Njemačkoj je svega 11% uzgajivača sportskih konja navelo jeftiniju cijenu sjemena pastuha kao važan čimbenik za odabir pastuha, a za više od 70% je pedigree pastuha imao ključnu ulogu pri odabiru. Stoga je kod rasplodnih pastuha vrlo bitna procjena sjemena pastuha prije njegova korištenja u rasplodu i umjetnom osjemenjivanju. Loša kvaliteta ejakulata može rezultirati lošom koncepcijom kobila. Procjena kvalitete sjemena pastuha stoga je veoma važan korak u uspješnosti primjene UO kobila (PRVANOVIĆ BABIĆ i sur., 2019.). Sjeme pastuha koje se stavlja u promet bilo ohlađeno ili duboko zamrznuto, mora biti sakupljeno, obrađeno i skladišteno za potrebe umjetnog osjemenjivanja u EU odobrenim centrima. Primjena ohlađenog sjemena jednostavnija je za UO kobila koje nisu u stacionirane u nekom od centara za UO ili veterinarskoj klinici, ali nosi svoje rizike jer se može dogoditi da ohlađeno sjeme ne stigne na vrijeme ili pak da nije dostupno u vrijeme kada bi kobilu trebalo osjemeniti (vikendi i praznici). Na koncepciju kobila nakon osjemenjivanja DS sjemenom utječu kvaliteta sjemena, odabir pastuha, vrsta korištenog razrjeđivača i postupka krioprezervacije kao i odabir i postupak s kobilom te vrijeme i tehnika osjemenjivanja (MORRIS, 2004.; METCALF, 2007.). Također, pokazalo se da se i vrlo malim dozama duboko smrznutog sjemena može postići zadovoljavajuća koncepcija kada se osjemenjivanje izvrši histeroskopski ili duboko u rog maternice (SAMPER i PLOUGH, 2010.). Tako CROWE i sur. (2008.) navode puno bolje rezultate nakon osjemenjivanja kobila DS sjemenom (82,0%), nego primjenom ohlađenog sjemena (69,6%). Oni su u svom istraživanju koristili po dvije doze DS sjemena po ciklusu, uz indukciju ovulacije pomoću potkožnog umetka 2,2 mg deslorelin acetata (Ovuplant®) te kobile osjemenili u fiksno vrijeme, prije i poslije ovulacije, duboko u rog maternice. Na ovaj su način ograničili potreban broj pregleda po ciklusu te time i trošak samog postupka UO kobila. Ipak, važno je napomenuti kako DS sjemenom pastuha treba biti posebno oprezan zbog mogućnosti prijenosa zaraznih bolesti. Tako se u više navrata virusni arteritis konja prenio umjetnim osjemenjivanjem, a

BALASURIVA i sur. (2018.) naglašavaju kako, postupak smrzavanja sperme dodatno konzervira virus. Virus ne ubijaju antibiotici koji se koriste u razrjeđivačima sjemena te on preživljava proces hlađenja i smrzavanja/odmrzavanja, tako da je UO vrlo važan način prijenosa. Stoga Ministarstvo poljoprivrede donosi Pravilnik o mjerama kontrole arteritisa konja (ANONIMUS, 2009.), a Naredbom o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2009. godini se po prvi puta propisuje kontrola svih pastuha koji se koriste za rasplod kao i svih kobila u slučaju pobačaja. Stroga su kontrola i nadzor nad prometom sjemena pastuha prijeko potrebni i u sprječavanju širenja zaraznog metritisa kobila (*Contagious equine metritis*, CEM). Iako se čini da je rizik od infekcije manji kod kobila uzgojenih UO nego prirodnim pripustom, a jedna je studija objavila da su antibiotici u razrjeđivačima sjemena značajno smanjili stopu infekcije, svejedno je potrebno na početku sezone pretražiti sjeme pastuha na prisutnost uzročnika ove bolesti (KLEIN i sur., 2012.). Jednom kad se pojavi, uzročnika je teško suzbiti pri čemu je otežano i njegovo dijagnosticiranje jer zahtjeva posebne uvjete za uzgoj. Različiti sojevi cirkuliraju s različitom kliničkom slikom koja je često blaga i neprimjetna te se bolest može pojaviti na području gdje do tada nije dijagnosticirana. Tako se uzročnik 2012.godine pojavio u Južnoafričkoj Republici, iako se smatralo da je to zemlja bez CEM-a (MAY i sur., 2016.). Bitno je naglasiti da kobile prilikom postupka umjetnog osjemenjivanja traže dodatni veterinarski stručni nadzor što dovodi do pravovremenog otkrivanja i liječenja zaraznih i nezaraznih uzroka neplodnosti što također utječe na bolju uspješnost rasplodivanja. Ukoliko je kobila prije osjemenjivanja pravilno pripremljena, te ukoliko se svi postupci umjetnog osjemenjivanja sa svježom i rashlađenom spermom provedu stručno i savjesno, postotak koncepcije kobila je čak i veći nego kod prirodnog pripusta i iznosi preko 75%, jer se ranije uoče i izliječe potencijalni uzroci neplodnosti, embrionalne smrtnosti i pobačaja (PRVANOVIĆ BABIĆ, 2014).

U našoj se zemlji UO kobila uspješno provodi dugi niz godina, no jedini sustavni podatci o koncepciji kobila analizirani su u CRSH d.o.o. (NERVO i sur., 2013.) tijekom tri pripusne sezone: pokazali su da je koncepcija kobila u prvom ciklusu iznosila 80% za svježe sjeme, 90,9% za ohlađeno te 45,5% za duboko smrznuto sjeme rasplodnjaka. Ukupna koncepcija tijekom prvog i drugog ciklusa, odnosno ukupna koncepcija po sezoni iznosila je 90% za svježe sjeme te 100% za ohlađeno i duboko smrznuto/odmrznuto sjeme pastuha (NERVO i sur., 2013.).

Što se tiče razvoja umjetnog osjemenjivanja u Republici Hrvatskoj ono se može

usmjeriti u dva smjera. Prvo je uvoz kvalitetnog genetskog materijala, odnosno sperme kvalitetnih rasplodnjaka, što ima veliku značajnost u pogledu oplemenjivanja i osvježavanja krvi pri čemu bi se svakako stvorila dobra baza za uzgoj kvalitetnijih sportskih konja. U drugom pak smjeru razvoj umjetnog osjemenjivanja može se usmjeriti ka stvaranju banke sperme, što bi imalo za cilj bolju kontrolu sjemena kvalitetnih pastuha te povećanje njegove dostupnosti u svim dijelovima naše države, kao i veće mogućnosti njegovog izvoza (PRVANOVIĆ BABIĆ i sur., 2012.).

Daljnji preduvjet za uvođenje umjetnog osjemenjivanja i njegova šira primjena na terenu je edukacija doktora veterinarske medicine u području asistirane reprodukcije. Liberalizacija propisa u području uzgoja domaćih životinja unutar granica EU omogućuje da svaki veterinar može naručiti i koristiti ohlađeno sjeme pastuha. Prema Zakonu o uzgoju domaćih životinja (NN 115/18, 52/21) i fizičke osobe (uzgajivači, članovi obiteljskog poljoprivrednog gospodarstva, zaposlenici na poljoprivrednom gospodarstvu), ako su za to osposobljene te raspolažu propisanom opremom i priborom, mogu obavljati na vlastitom stadu (čl. 18. navedenog Zakona). Edukacija u ovom području bi pridonijela da mnoge veterinarske stanice koje vrše stručni nadzor rasplodivanja provodeći ginekološke i transrektalne ultrazvučne preglede kobila mogu na sebe preuzeti UO kobila ohlađenim sjemenom, kao tehniku asistirane reprodukcije. Važnost primjene UO kobila se povećava te sve više uzgajivača konja traži uslugu osjemenjivanja svojih kobila, što je najčešće povezano i s liječenjem smanjene plodnosti kobila, pogotovo zbog činjenice da sportske kobile često kasno ulaze u rasplod, nakon završene sportske karijere, kada je njihova plodnost fiziološki smanjena (PRVANOVIĆ BABIĆ i sur., 2014.). Za terensku primjenu mnogo je jednostavnije UO kobila ohlađenim sjemenom pastuha, uz uvjet da se može organizirati adekvatan transport unutar 24 sata. Razrijeđeno i ohlađeno sjeme također je pogodno za ergelski uzgoj te se već duži niz godina primjenjuje na Državnoj ergeli Đakovo i Lipik, gdje se provodi polučivanje i razrjeđivanje ejakulata lipicanskih pastuha te UO lipicanskih kobila, čime se smanjuje potreban broj skokova pojedinih pastuha. Na dnevnoj bazi izračunava se potreban broj doza sjemena te se pastusi ne iscrpljuju višekratnim skokovima, a kobile u postupku UO se svakodnevno pregledavaju te se na taj način postiže bolja plodnost pastuha i bolja koncepcija kobila. Primjena DS sjemena, s druge strane, još je uvijek ograničena na centre i specijalizirane klinike, jer zahtjeva višekratne preglede kobila, da bi se osjemenile unutar 6 sati od ovulacije te postigla zadovoljavajuća koncepcija.

Šira primjena UO kobila zahtijeva doktore veterinarske medicine, specijalizirane za

reprodukciju konje te kontinuirano stručno usavršavanje u ovom polju. Kako navode AURICH i AURICH (2006.) rasplodivanje konja i UO kobila ne smiju se zanemariti u nastavnim programima studija veterinarske medicine. Praksa nekih vlasnika konja da svoje kobile vode na osjemenjivanje izvan RH, dijelom je posljedica nedovoljnog broja stručnjaka u području reprodukcije konja. Kako navode AURICH i AURICH (2006.) "ako se među veterinarima na osigura stručan kadar za primjenu UO kobila, taj bi segment posla mogli preuzeti tehničari pod vodstvom drugih srodnih struka vezanim za znanost o životinjama".

Kako bi uzgojili vrhunske sportske i jahaće konje nužno je posezati za elitnim genetskim materijalom. Kako je već rečeno, ulaskom Hrvatske u Europsku Uniju, međunarodna trgovina kvalitetnim genetskim materijalom značajno je olakšana, kao i šira primjena UO u konjogojstvu, čime je omogućen napredak i provedba uzgojnih programa sportskih toplokrvnih, kao i izvornih i zaštićenih pasmina konja. Jedna od perspektiva uzgoja konja u Hrvatskoj temelji se na jačanju kvalitete sportskih konja kao konkurentnog proizvoda za hrvatsko i europsko tržište. Tako je preponski konjički sport u Hrvatskoj najzastupljeniji po broju licenciranih konja, jahača i natjecanja dok je dresurno jahanje po broju registriranih jahača druga disciplina konjičkog sporta (BABAN i sur., 2013.). Što se tiče zaprežnog sporta u Hrvatskoj, on se počeo razvijati devedesetih godina prošlog stoljeća. Pasma koja za sada dominira u zaprežnom sportu je lipicanska pasmina, ali postoji sve veći opravdan interes za uključivanjem drugih toplokrvnih pasmina u ovu disciplinu. Nešto manji broj jahača aktivan je u trkaćim, galopskim i kasačkim natjecanjima. Premda državne ustanove posredno podupiru razvoj uzgoja konja za sport kao djelatnosti koja potiče razvoj ukupne društvene zajednice (sport, rekreacija, turizam i drugo), on nije dovoljan da bi ubrzao rast u kvaliteti i kvantiteti toplokrvnih sportskih konja za profesionalno i rekreativno bavljenje. Uzgajivači sportskih konja očekuju određene neposredne poticaje tijekom ograničenog vremenskog razdoblja kako bi uzgoj postao gospodarski održiv i prepoznatljiv prvenstveno na domaćem, a kasnije i inozemnom tržištu. Nadalje, problem predstavlja to što još uvijek nisu utvrđene jasne mjere koje će doprinijeti razvoju konjičkog sektora, a one se svode na materijalni i zakonodavni poticaj držateljima i uzgajivačima kako bi brojem i kvalitetom toplokrvnih konja u razumnom roku dostigli zadovoljavajuću razinu uzgoja. Donesena su dva Nacionalna programa poticanja provedbe uzgojnih programa za toplokrvne pasmina konja u RH: za razdoblje od 2015. do 2020. te novi program za razdoblje od 2021. do 2025. godine. Skupina toplokrvnih konja, koji se drže u svrhu sporta i rekreacije, bilježi lagani rast tijekom posljednjih 10 godina. Udio toplokrvnih pasmina u ukupnoj populaciji konja 2003. godine

iznosio je 27,6%, dok je taj udio 2019. godine povećan na 40,0%, ali zadnji podatci iz 2021. godine pokazuju ponovni pad na 32% u odnosu na ukupnu populaciju konja u RH (IVKIĆ i sur., 2022.). Također je pao i broj oždrebljene ždrebadi toplokrvnih pasmina konja te iznosi samo 11% u ukupnom broju oždrebljene ždrebadi (IVKIĆ i sur., 2022.). Ovo pokazuje da donesene mjere nisu polučile željene rezultate u pogledu uzgoja toplokrvnih pasmina konja. Ministarstvo poljoprivrede radi na jačanju uzgoja sportskih konja što je izrazito važno iz razloga što su sportske pasmine u modernim zemljama najvažniji pokretač konjičke industrije i inkubatori značajnih financijskih sredstava koja su direktno vezana za konjogojstvo i konjički sport. U Programu naglasak je stavljen na testiranje radne sposobnosti grla na sportskim natjecanjima, kao i potpore organizaciji konjičkih sportskih natjecanja, dok se potpore uzgoju rasplodnih kobila i pastuha ostvaruju po oždrebljenju i DNA testiranju kobila i ždrebeta te pastuha, za 10 odabranih uzgojnih udruženja. Treba naglasiti da se i vlasnici kobila osjemenjenih sjemenom pastuha etabliranih pasmina sportskih konja, kao što su Holstein, AES, Zangersheide, KWPN i drugih, često odlučuju za registraciju ždrebadi u navedena uzgoja udruženja. Stoga se događa da se najkvalitetnija ždrebada oždriježbljena u Republici Hrvatskoj, prijavljuje u strana uzgoja udruženja. Umjetno osjemenjivanje kao važna metoda asistirane reprodukcije koja omogućava značajan selekcijski učinak u konjogojstvu, korištenjem sjemena najkvalitetnijih pastuha u uzgoju, još uvijek nije prepoznato kao važna komponenta jačanja uzgoja te, stoga, i dalje znatno kaskamo za drugim zemljama Europske Unije u pogledu uzgoja toplokrvnih pasmina konja.

4. ZAKLJUCCI

- 1.** Umjetno osjemenjivanje kobila učinkovita je i pouzdana metoda biotehnologije rasplodivanja, koja omogućava genetski napredak u uzgoju toplokrvnih konja, korištenjem sjemena najkvalitetnijih sportskih pastuha.
- 2.** Primjena umjetnog osjemenjivanja u konjogojstvu RH nije još adekvatno prepoznata i korištena od većine uzgojnih udruženja toplokrvnih pasmina.
- 3.** Ulaskom Republike Hrvatske u EU olakšan je transport sjemena pastuha te donesena zakonska regulativa za primjenu umjetnog osjemenjivanja kobila.
- 4.** Neophodno je kontinuirano stručno usavršavanje doktora veterinarske medicine u području reprodukcije konja koje će omogućiti širu primjenu UO u uzgoju toplokrvnih pasmina konja u Republici Hrvatskoj.

5. LITERATURA

1. ALLEN, W.R. (2005.): The Development and Application of the Modern Reproductive Technologies to Horse Breeding. *Reprod. Dom. Anim.* 40, 310-329.
2. ANONIMUS (1993): Direktiva vijeća 92/65/EEZ od 13. srpnja 1992. o utvrđivanju uvjeta zdravlja životinja kojima se uređuje trgovina i uvoz u Zajednicu životinja, sjemena, jajnih stanica i zametaka koji ne podliježu uvjetima zdravlja životinja utvrđenima u određenim propisima Zajednice iz Priloga A dijela I. Direktive 90/425/EEZ. *Službeni list Europske unije* 13(3), 133-151. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:31992L0065&from=EN>
3. (preuzimanje: 2. 7. 2022.).
4. ANONIMUS (2009.): Pravilnik o mjerama kontrole arteritisa konja. *Narodne novine* 62/2009.
5. ANONIMUS (2013.): Zakon o veterinarstvu. *Narodne novine* 83/13.
6. ANONIMUS (2021): Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o veterinarstvu. *Narodne novine* 52/21.
7. ANONINUS (2018.): Zakon o uzgoju domaćih životinja. *Narodne novine* 115/18.
8. ANONIMUS (2021.): Zakon o izmjenama i dopuni Zakona o uzgoju domaćih životinja. *Narodne novine* 52/21.
9. APPRRR (2021.a): Provedba mjera novog Nacionalnog programa poticanja provedbe uzgojnih programa za toplokrvne pasmine konja u Republici Hrvatskoj 2021. - 2025. Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju, Ministarstvo poljoprivrede, 2021., Zagreb. [https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/pristup info/zakoni propisi/za koni poljoprivreda/Nacionalni program za toplokrvne pasmine 2021-2025.pdf](https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/pristup%20info/zakoni%20propisi/za%20koni%20poljoprivreda/Nacionalni%20program%20za%20toplokrvne%20pasmine%202021-2025.pdf) (preuzimanje: 2. 7. 2022.)
10. APPRRR (2021.b): Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj 2021. - 2025. [http://www.azrri.hr/fileadmin/dokumenti-download/Nacionalni program o%C4%8Duvanja izvornih i za%C5%A1ti%C4%87e nih pasmina doma%C4%87ih %C5%BEivotinja u RH.pdf](http://www.azrri.hr/fileadmin/dokumenti-download/Nacionalni_program_o%C4%8Duvanja_izvornih_i_za%C5%A1ti%C4%87e_nih_pasmina_doma%C4%87ih_%C5%BEivotinja_u_RH.pdf) (preuzimanje: 2. 7. 2022.)
11. ARTHUR ,G. H., D. E. NOAKES, T. J. PARKINSON, G. C. W. ENGLAND (2001): *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 8TH ed., Saunders Ltd.
12. AURICH, J., C. AURICH (2006.): *Developments in European Horse Breeding and*

- Consequences for Veterinarians in Equine Reproduction. *Reprod. Dom. Anim.* 41, 275279.
13. BABAN, M. M. GREGIĆ, N. KORABI, B. ANTUNOVIĆ (2013): Konjogojstvo u Republici Hrvatskoj- stanje i perspektiva. *Krmiva* 54, 89-98.
 14. BALASURIYA, U.B.R., M. CARROSSI, P. J. TIMONEY (2018): Equine viral arteritis: A respiratory and reproductive disease of significant economic importance to the equine industry. *Equine Vet. Educ.* 30 (9), 497-512.
 15. BARBACINI, S., G. ZAVAGLIA, P. GULDEN, V. MARCHI, D. NECCHI (2010): Retrospective study on the efficacy of hCG in an equine artificial insemination programme using frozen semen. *Equine Vet. Journal* 2, 404-408.
 16. BARBIĆ, LJ., V. STEVANOVIĆ, L. RADMANIĆ, J. MADIĆ (2019): Virusni arteritis konja - nadzor i suzbijanje na području RH 2009. - 2019. Zbornik predavanja 6. Savjetovanja uzgajivača konja u Republici Hrvatskoj. 15. ožujak 2019., Kutina; str., 915.
 17. BATELLIER, F., M. VIDAMENT, J. FAUQUANT, G. DUCHAMP, G. ARNAUD, J.M. YVON, M. MAGISTRINI (2001.): Advances in cooled semen technology. *Anim. Reprod. Sci.* 68 (3,4), 181-190.
 18. BLANCHARD, T. L., D. VARNER, J. SCHAUMACHER, C. C. LOVE, S. P. BRINSKO, S. L. RIGSBY (2003.): *Manual of equine reproduction*, 2TH ed. Mosby Inc., St. Louis.
 19. CERGOLJ, M., M. SAMARDŽIJA (2006.): Umjetno osjemenjivanje kobilica. U: *Veterinarska andrologija*. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
 20. CROWE CAM., P.J. RAVENHILL, R.J. HEPBURN, C.H. SHEPHERD (2008): A retrospective study of artificial insemination of 251 mares using chilled and fixed time frozen-thawed semen. *Equine vet. J.* 40 (6) 572-576.
 21. ČAČIĆ, M. (2010.): Što je to konjička industrija? *Stočarstvo* 64 (1). 49-64.
 22. [FERREIRA-DIAS, G., F. CLAUDINO, H. CARVALHO, R. AGRÍCOLA, J. ALPOIM-MOREIRA, J. ROBALO SILVA](#) (2005.): Seasonal reproduction in the mare: possible role of plasma leptin, body weight and immune status. *Domest. Anim. Endocrinol.* 29(1):203-13
 23. GALLI C, I. LAGUTINA, G. CROTTI, [S. COLLEONI, P. TURINI, N. PONDERATO, R. DUCHI, G. LAZZARI](#) (2003.): A cloned horse born to its dam twin. *Nature* 2003; 424:635.
 24. GAMBINI, A., M. MASERATI (2017.): A journey through horse cloning. *Reprod. Fertil. Dev.* 30 (1), 8-17.
 25. GETZ, I. (2020.): Licencirana sportska grla iz stranog i domaćeg uzgoja unutar sustava HKS-a starosti 4, 5, 6 i 7 godina (podatci dobiveni iz ureda HKS-a: popis licenciranih konja) Sastanak Odbora za uzgoj Hrvatskog Konjičkog Saveza (HKS), 29. rujan 2020. Neobjavljeni

podatci.

26. GETZ, I., M RADOSAVLJEVIĆ, T. KARADJOLE, J. GRIZELJ, M. SAMARDŽIJA, T. DOBRANIĆ, G. BAČIĆ, N. MAČEŠIĆ, S. VINCE, I. FOLNOŽIĆ, M. EFENDIĆ, I. HARAPIN, N. PRVANOVIĆ-BABIĆ (2013.): [Pregled slučajeva konja - pacijenata Klinike za porodništvo i reprodukciju u razdoblju od 2008. do 2012. godine.](#) Zbornik radova "Veterinarski dani 2013.", Opatija 09.-12. listopada 2013. Hrvatska veterinarska komora, Veterinarski fakultet u Zagrebu, 183-197.
27. [GINTHER, O.J., M.O. GASTAL, E.L. GASTAL, J.C. JACOB, M.A.R. SIDDIQUI, M.A. BEG](#) (2008.): Effects of age on follicle and hormone dynamics during the oestrous cycle in mares. *Reprod. Fert. Dev.* 20(8):955-963.
28. GRIZELJ, J., A. GRIZELJ, I. GETZ, N. PRVANOVIĆ, S. VINCE, L. TURMALAJ, P. GJINO, M. SAMARDŽIJA, M. BELIĆ, M. LIPAR, T. DOBRANIĆ (2008): Umjetno osjemenjivanje kobila- ogledan primjer suradnje veterinara i uzgajivača. Zbornik radova 2. Hrvatskog simpozija o lipicanskoj pasmini s međunarodnim sudjelovanjm. Ur: M. Čačić str. 147-155, Neron d.o.o. Bjelovar.
29. HAJČIĆ, B.; M. SAMARDŽIJA, J. GRIZELJ, T. DOBRANIĆ, Z. MAKEK, I. GETZ, N. PRVANOVIĆ (2008.): [Embriotransfer u kobila.](#) Veterinarska stanica 39(6), 335-348.
30. HERAK, M. (1989.): Umjetno osjemenjivanje domaćih životinja: Reprodukcijska domaćih životinja, str. 181-209. U: Veterinarski priručnik, Jumena, Zagreb.
31. HINRICHS, K. (2006): A Review of Cloning in the Horse. *AAEP PROCEEDINGS* Vol 52., 398-401.
32. IVANKOVIĆ, A. (2014.): Stanje konjogojstva u zemljama Europske Unije. Zbornik predavanja I. Savjetovanja uzgajivača konja u Republici Hrvatskoj, Hrvatska poljoprivredna agencija, Vrbovec, 25. travnja 2014.; 12-18.
33. IVANKOVIĆ, A. (2020.): Uzgojni programi i selekcija - izazov suvremenog konjogojstva. Zbornik predavanja VII. Savjetovanja uzgajivača konja u Republici Hrvatskoj, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Osijek, 6. 11. 2020.; 15-20.
34. IVKIĆ, Z., D. PAŠALIĆ, F. POLJAK, D. SOLIĆ, M. MOLNAR, J. PAVIČIĆ, V. TOMŠE ĐURANEC, D. TADIĆ, M. ŠOŠIĆ, V. TISSAUER, J. CVITAŠ (2021): Godišnje izvješće za 2020. godinu - Kopitari. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu. Centar za stočarstvo, Osijek, 2021.
35. IVKIĆ, Z., D. SOLIĆ, M. MOLNAR, D. PAŠALIĆ, F. POLJAK, V. TOMŠE ĐURANEC, J. PAVIČIĆ, D. TADIĆ, M. ŠOŠIĆ, V. TISSAUER, F. VRBANIĆ, J. CVITAŠ (2022.):

Godišnje izvješće za 2021. godinu - Kopitari. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu. Centar za stočarstvo, Osijek, 2022.

36. JANEŠ, ANA (2020.): Uloga veterinara u reprodukciji sportskih konja. Diplomski rad. Veterinarski fakultet, Zagreb. 33
37. KLEIN C., J.M. DONAHUE, S.F. SELLS, E.L. SQUIRES, P.J. TIMONEY, M.H.TROEDSSON (2012.): Effect of antimicrobial-containing semen extender on risk of dissemination of contagious equine metritis. J Am Vet Med Assoc. 241(7), 916-921.
38. KOWALCZYK, A., E. CZERNIAWSKA-PIATKOWSKA, M. KUCZAJ (2019): Factors Influencing the Popularity of Artificial Insemination of Mares in Europe. Animals 9, 460; doi: [10.3390/ani9070460](https://doi.org/10.3390/ani9070460)
39. LINDSEY A C., L.H.A. MORRIS, W.R. ALLEN, J.L. SCHENK, E.L. SQUIRES, J.E. BRUEMMER (2002.): Hysteroscopic insemination of mares with low numbers of nonsorted or flow sorted spermatozoa. Equine Vet J 34(2):128-32.
40. MAKEK, Z. (2003.): [Primjena asistiranе reprodukcije u hrvatskoj veterinarskoj medicini](#). Zbornik predavanja IV srednjoeuropskog bujatričkog kongresa, Lovran 23.-27. travnja 2003., str. 13-19.
41. MAKEK, Z., I. GETZ, N. PRVANOVIĆ, A. TOMAŠKOVIĆ, J. GRIZELJ (2009): Rasplodivanje konja. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
42. MATKOVIĆ M., I. GETZ, Z. MAKEK, P. BOŽIĆ, A. TOMAŠKOVIĆ, M. CERGOLJ (2000): Biotehnologija rasplodivanja: mogućnosti primjene u stočarstvu Hrvatske. Zbornik radova Drugog hrvatskog veterinarskog kongresa s međunarodnim sudjelovanjem, Cavtat, 10.-12. listopada 2000., 215-224.
43. MAY, C.E., A.J. GUTHRIE, B. KEYS, C. JOONE, M. MONYAI, M L. SCHULMAN (2016.): Polymerase chain reaction-based national surveillance programme to determine the distribution and prevalence of Taylorella equigenitalis in South African horses. Equine Vet J. 48(3), 307-311.
44. MCKINON, A. O., J. L. VOSS (1992): Equine reproduction. Lea & Febiger, Philadelphia.
45. METCALF, E.L. (2007.): The efficient use of equine cryopreserved semen. Theriogenology 68 (5), 423-428.
46. MORRIS, L.H.A. (2004.): Low dose insemination in the mare: an update. Anim. Reprod. Sci. 82-83, 625-632.
47. NERVO, V., A: ORAK, M KAJGANIĆ, N PRVANOVIĆ BABIĆ, J. GRIZELJ, JURAJ, I. GETZ (2013): [Učinkovitost umjetnog osjemenjivanja kobilа svježim, ohlađenim i duboko](#)

- [smrznutim sjemenom pastuha](#). Veterinarska stanica 44 (5), 351-358.
48. POLJAK, F., D. TADIĆ, M. ŠABANOVIĆ, M. ŽALAC, M. ČABRAJEC, P. BAGOVIĆ (2014.): Konjogojstvo - Izvješće za 2013. godinu. Hrvatska poljoprivredna agencija. Odjel za razvoj konjogojstva. Križevci, 2014. 34
 49. POLJAK, F., D. TADIĆ, V. TOMŠE ĐURANEC, M. ŠABANOVIĆ, M. ŠOŠIĆ, P. BAGOVIĆ, M. ČABRAJEC (2015.): Konjogojstvo - Izvješće za 2014. godinu. Hrvatska poljoprivredna agencija. Odjel za razvoj konjogojstva. Križevci, 2015.
 50. PRVANOVIĆ, N., M. CERGOLJ, M. ČAČIĆ, A. GAŠPAR, S. HORVAT, J. GRIZELJ, I. GETZ, M. SAMARDŽIJA, T. DOBRANIĆ (2008.): Utjecaj pasmine, pariteta i dobi na uspješnost rasplodne sezone i postotak koncepcije kobila. Zbornik radova 4. Hrvatskog veterinarskog kongresa, Šibenik, 5.-8. 11. 2008. Intergrafika TTŽ doo, 239-245.
 51. PRVANOVIĆ BABIĆ, N., P. FRANKO, A. ORAK, I. GETZ, T. DOBRANIĆ, J. GRIZELJ, I. FOLNOŽIĆ, G. BAČIĆ, T. KARADJOLE, M. SAMARDŽIJA (2012): Analiza postojećeg stanja i mogućnosti šire primjene umjetnog osjemenjivanja konja u Republici Hrvatskoj. Veterinarska stanica 43, 35-43.
 52. PRVANOVIĆ BABIĆ, N. (2014.): Primjena umjetnog osjemenjivanja u konjogojstvu. Zbornik predavanja I. Savjetovanja uzgajivača konja u Republici Hrvatskoj, Hrvatska poljoprivredna agencija, Vrbovec, 25. travnja 2014.; 36-42.
 53. PRVANOVIĆ BABIĆ, N., I. GETZ, J. GRIZELJ, G. BAČIĆ, N. MAČEŠIĆ, T. KARADJOLE, M. BABAN, N. KORABI, M. SAMARDŽIJA, T. DOBRANIĆ (2014): [Primjena metoda asistirane reprodukcije u hrvatskih autohtonih i sportskih pasmina konja](#). Proceedings and abstracts, 7th international scientific/professional conference, Vukovar, 28th - 30th May 2014. Agriculture in nature and environment protection. Glas Slavonije d. d., Osijek, str. 122-126.
 54. PRVANOVIĆ BABIĆ, N., M. LOJKIĆ, T. KARADJOLE, N. MAČEŠIĆ, G. BAČIĆ, I. GETZ, A. KOSTELIĆ (2019.): Reproaktivno zdravlje rasplodnih pastuha. Zbornik radova 6. savjetovanja uzgajivača konja u Republici Hrvatskoj, 15. ožujak 2019., Kutina; str., 22-26.
 55. RIGBY, S.L., A.C. LINDSEY, S.P. BRINSKO, T.L. BLANCHARD, C.C. LOVE, D.D. VARNER (2001.): Pregnancy rate in mares following hysteroscopic or rectally-guided uterotubal insemination with low sperm number. Proceedings of 3rd International Symposium on Stallion Reproduction. Fort Collins, CO, 48.
 56. SAMPER, J.C., T. PLOUGH (2010.): Techniques for the insemination of low doses of

- stallion sperm. *Reprod. Dom. Anim.* 45 (2), 35-39.
57. SIEME, H., A. BONK, H. HAMANN, E. KLUG, T. KATILA (2004): Effects of different artificial insemination techniques and sperm doses on fertility of normal mares and mares with abnormal reproductive history. *Theriogenology* 62, 915-928.
 58. SIEME, H. (2009): Semen evaluation. U: *Equine breeding management and artificial insemination* 2nd. Ed. (J. C. Samper, Ur.). Saunders Elsevier. St. Louis, 60-73.
 59. SQUIRES, E., S. BARBACINI, P. MATTHEWS, W. BYERS, K. SCHWENZER, J. STEINER, P. LOOMIS (2006.): Retrospective study of factors affecting fertility of fresh, cooled and frozen semen. *Equine Vet. Educ.* 18, 96-99.
 60. STICE, S. L., J. M. ROBL, F. A. PONCE DE LEON, J. JERRY, P. G. GOLUEKE, J. B. CIBELLI, J. J. KANE (1998.): Cloning: new break throughs leading to commercial opportunities. *Theriogenology* 49, 129-138.
 61. WOODS, J., D. R. BERGFELT, O. J. GINTHER (1990): Effects on time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic loss rate in mares. *Eq. Vet. J.*, 22, 410-415.

6. SAŽETAK

Umjetno osjemenjivanje kao najraširenija, najdugovječnija i najjednostavnija metoda biotehnologije rasplodivanja sa brojnim prednostima za uzgajivače ima veliku važnost u hrvatskom konjogojstvu koje, prateći trendove u Europi, konstantno kroči naprijed. Osim što u uzgoju i selekciji ima najveći učinak na genetski napredak, ono omogućuje iskorištavanje i kontrolu plodnosti kobila i pastuha, sprječavanje širenja spolno prenosivih zaraznih bolesti konja, međunarodnu trgovinu ohlađenim i smrznutim sjemenom te korištenje najkvalitetnijih pastuha za rasplod i učinkovitije progno testiranje preko njegovog potomstva. Osobita važnost iskazuje se i u očuvanju ugroženih izvornih i zaštićenih pasmina konja kroz dugoročnu pohranu duboko smrznutog sjemena pastuha. U Republici Hrvatskoj, umjetno osjemenjivanje se može razvijati u smjeru uvoza kvalitetnog genetskog materijala što je značajno za osvježavanje i oplemenjivanje krvi što bi stvorilo bazu za uzgoj kvalitetnih sportskih konja ili pak u smjeru stvaranju banke sperme čime bi se bolje kontroliralo sjeme rasplodnjaka i povećalo njegovu dostupnost u svim dijelovima naše države. No, unatoč izrazitoj važnosti UO, Godišnje izvješće Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu pokazuje kako je broj ždrebadi prema broju kobila daleko ispod europskog prosjeka iz čega se zaključuje da je plodnost konja svih pasmina u Hrvatskoj nezadovoljavajuća. Zbog toga što ova važna metoda asistiranе reprodukcije još uvijek nije prepoznata kao komponenta jačanja uzgoja s jedne strane, te zbog stalne potrebe za usavršavanjem doktora veterinarske medicine s druge strane i dalje znatno zaostajemo za drugim zemljama Europske unije u pogledu uzgoja toplokrvnih pasmina konja.

Ključne riječi: umjetno osjemenjivanje, kobila, pastuh, sjeme, ohlađeno, smrznuto.

7. SUMMARY

THE IMPORTANCE OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN THE BREEDING OF WARMBLOOD HORSES IN THE REPUBLIC OF CROATIA

37

Artificial insemination (AI) is the most widespread, commonly used and simplest method of assisted reproductive technology (ART) with numerous advantages for breeders. It also has the great importance in Croatian horse breeding, which, following the trends in Europe, is constantly moving forward. AI has significant effect on genetic progress in horse breeding and selection programmes and enables the efficient exploitation and control of the fertility of mares and stallions, the prevention of the dissemination of sexually transmitted infectious diseases in horses, the international trade of chilled and frozen semen and the use of the best quality stallions for breeding and more effective genetic testing through his offspring. Special importance is shown in the preservation of endangered autochthonous and protected horse breeds through long-term storage of deep-frozen stallion semen. In the Republic of Croatia, AI could be used for import of high-quality genetic material in breeding and selection programmes, which would create a base for breeding high-quality sports horses, and also for genetic rescue and cryopreserved semen banking of endangered autochthonous horse breeds. However, despite the extreme importance of the AI use in horse breeding, the Annual Report of the Croatian Agency for Agriculture and Food shows that the number of foals in relation to the number of mares is far below the European average, from which it can be concluded that the fertility of horses of all breeds in Croatia is unsatisfactory. Due to the fact that this important method of ART is still not recognized as a component of strengthening breeding on the one hand, and due to the constant need to train doctors of veterinary medicine on the other hand, we are still far behind other countries of the European Union in terms of breeding warm-blooded horse breeds.

Key words: artificial insemination, mare, stallion, semen, chilled, frozen.

8. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 03. srpnja 1997. u Zagrebu. Od svoje šeste godine živim u Pakracu gdje sam završila osnovno i srednjoškolsko obrazovanje. Pohađala sam opću gimnaziju Srednje škole Pakrac koju završavam 2016. godine te iste³⁹ upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Od malena gajim veliku ljubav i interes prema životinjama, te sam u slobodno vrijeme od fakulteta volontirala u Karaula veterinarskoj ambulanti u Daruvaru gdje sam se upoznala s velikom i malom praksom te iz oba područja naučila puno toga.