

## Krajowy Bank Materiałów Biologicznych w realizacji programów ochrony zasobów genetycznych metodami *ex situ*

Jacek Sikora<sup>1</sup>, Jarosław Wiczorek<sup>2</sup>

*Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, 32-083 Balice k. Krakowa,*

*<sup>1</sup>Dział Ochrony zasobów Genetycznych Zwierząt,*

*<sup>2</sup>Dział Biotechnologii Rozrodu Zwierząt*

Ochrona bioróżnorodności zwierząt gospodarskich była i jest przedmiotem wielu działań na niwie międzynarodowej (FAO, 1998; Gandini i in., 2004). Polska od 1992 r. jest jednym ze 190 krajów, które ratyfikowały Konwencję o różnorodności biologicznej i aktywnie działają na rzecz jej wdrażania (Deklaracja z Rio de Janeiro..., 2002; United Nations Conference..., 1992).

Działania te były przez wiele lat skoncentrowane w głównej mierze na ochronie *in situ* (tab. 1). Wraz z powiększaniem się populacji zwierząt hodowlanych objętych programem ochrony zasobów genetycznych Polska z pozostałymi sygnatariuszami podjęła wysiłki na rzecz wykorzystania technik kriokonserwacji do ochrony metodą *ex situ* wszystkich chronionych gatunków (Krupiński, 2008).

Uchwalony na Międzynarodowej Konferencji dotyczącej Zasobów Genetycznych Zwierząt dla Wyżywienia i Rolnictwa, która odbyła się w 2007 r. w Interlaken, „Światowy plan działań na rzecz zasobów genetycznych zwierząt” zakładał w Strategicznym Priorytecie 9 – Opracowanie lub wzmocnienie programów ochrony *ex situ*. Strategia ta mówi między innymi o stworzeniu lub wzmocnieniu krajowej infrastruktury na rzecz ochrony *ex situ* oraz wspieraniu krajów, które chcą utworzyć bank materiałów biologicznych (Światowy plan działań... 2007; Anderson i Centonze, 2007).

Wychodząc naprzeciw wskazanym w Strategii działaniom Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy jako Krajowy Ośrodek Koor-

dynacyjny do spraw ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich podjął się szeregu działań wynikających z realizacji Strategicznego Priorytetu 9 (Światowy plan działań..., 2007). Działania te obejmowały i obejmują między innymi:

1. Stworzenie krajowej infrastruktury na rzecz ochrony *ex situ*, w szczególności możliwości kriokonserwacji;
2. Stworzenie procedur umożliwiających użycie materiału genetycznego zgromadzonego w bankach genów *ex situ* oraz zapewnienie jego pozyskiwania, przechowywania, dostępu i wykorzystania;
3. Opracowanie i wdrożenie mechanizmów dla zabezpieczenia banków *ex situ* przed utratą różnorodności genetycznej wskutek wybuchu chorób i innych zagrożeń, w szczególności poprzez stworzenie rezerwowych kolekcji;
4. Rozpoznanie i uzupełnienie braków w zbiorach *ex situ*.

W celu podwyższenia standardów funkcjonowania banku materiałów biologicznych oraz ochrony zgromadzonej w nim kolekcji niezbędne było także odniesienie się w działaniach do Strategicznego Priorytetu 11, dotyczącego opracowania metod i standardów ochrony, między innymi poprzez podejmowanie badań, w tym z zakresu rozwoju technik *ex situ*.

Szczegółowe zapisy Światowego Planu Działania znalazły odzwierciedlenie w pracach pro-

wadzonych od wielu lat w Instytucie Zootechniki PIB. Jako główny koordynator i realizator programów ochrony zasobów genetycznych w pierwszej dekadzie XXI w. Instytut zapoczątkował działania na rzecz zbudowania systemu ochrony *in situ*, a obecnie *ex situ* na terenie Polski. Efektem podjętej działalności jest uruchomienie Krajowego Banku Materiałów Biologicznych dla potrzeb realizacji „Krajowej strategii ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich”.

Podstawowym aktem prawnym obowiązującym w Polsce w zakresie ochrony zasobów genetycznych jest Ustawa z dnia 12 marca 2004 r. o zmianie ustawy o organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich (Dz. U., 2004, Nr

91, poz. 866) z późniejszymi zmianami – mówiąca o tym, że rasa zagrożona to populacja zwierząt gospodarskich danej rasy, której niska lub malejąca liczebność stwarza zagrożenie jej wyginięcia.

Szczególnie ważny dla zdefiniowania problemu i określenia działań KBMB jest Art. 21a. pkt.1., który mówi, że rasy zagrożone obejmuje się ochroną zasobów genetycznych polegającą na utrzymaniu żywych zwierząt gospodarskich lub gromadzeniu i przechowywaniu materiału biologicznego pochodzącego od tych zwierząt. Ochrona zasobów genetycznych jest prowadzona w sposób określony w programie ochrony zasobów genetycznych (Ustawa o zmianie ustawy..., 2004).

Tabela 1. Liczba stad i zwierząt objętych programem ochrony zasobów genetycznych wg stanu na grudzień 2016 r. (dane Działu Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt IZ PIB)  
 Table 1. Number of herds and animals included in the genetic resources conservation programme as of December 2016 (data of the Department of Animal Genetic Resources Conservation, National Research Institute of Animal Production)

Gatunek zwierząt <i>Animal species</i>	Liczba ras/rodów/linii <i>No. of breeds/strains/lines</i>	Liczba stad (szt.) <i>No. of herds/flocks</i>	Liczba samic (szt.) <i>No. of females</i>	Średnia sztuk w stadzie <i>Mean no. of animals per herd/flock</i>
Konie – <i>Horses</i>	7	1409	6575	4,39
Bydło – <i>Cattle</i>	4	797	7933	9,76
Owce – <i>Sheep</i>	15	870	62279	71,25
Kozy – <i>Goats</i>	1	4	43	10,75
Świnie – <i>Pigs</i>	3	98	2389	24,38
Kury nieśne – <i>Laying hens</i>	11	20	10 891	858,95
Gęsi – <i>Geese</i>	14	15	5598	331,66
Kaczki – <i>Ducks</i>	10	10	3986	406,5
Króliki – <i>Rabbits</i>	1	8	350	43,75
Zwierzęta futerkowe (lisy, szynszyle, tchórze, nutrie) <i>Fur animals (foxes, nchillas, polecats, nutrias)</i>	12	28	862	30,79
Lokalne linie pszczół <i>Local bee lines</i>	5	–	1890 rodzin/ <i>families</i>	
Razem zwierzęta (bez pszczół) <i>Total animals (without bees)</i>	83	3 259	100 906	

Równoległe do stworzonego prawa funkcjonują programy ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich dotyczące wybranych gatunków i ras (Programy Ochrony Zasobów...). W programach opracowanych dla gatunków zwierząt gospodarskich, takich jak: bydło, konie, świnie, owce i kozy przewidziane są procedury mogące jak najszerszej określić sposób ochrony poszczególnych populacji. W opracowaniach tych zawarto informacje na temat chronionych gatunków i ras, dotyczące:

- Zakresu i metod konserwacji oraz przechowywania materiału biologicznego – wskazania celowości zgromadzenia i przechowywania określonej ilości porcji nasienia od najbardziej wartościowych samców, a także zarodków po wybitnych samcach i samicach. Głównym kryterium przy wyborze zwierząt-dawców ma być ich typowość i wartość hodowlana;
- Zamrożonego materiału biologicznego, który będzie gromadzony i przechowywany w Krajowym Banku Materiałów Biologicznych i w ramach potrzeb na bieżąco uzupełniany (Sikora, 2007).

Obecnie metodą *in situ* jest chronionych ponad 100 tys. szt. zwierząt, reprezentujących 83 rasy,rody i linie.

Na bazie obecnej populacji zwierząt utrzymywanych w naturalnych warunkach hodowli realizowana jest ochrona zasobów genetycznych metodami *ex-situ* przez kolekcjonowanie i przechowywanie materiału genetycznego w postaci nasienia, zarodków czy oocytów poddanych kriokonserwacji (ERFP, 2003; FAO, 2010). Materiał ten powinien być pobierany i przechowywany zgodnie z wymogami weterynaryjno-sanitarnymi na zasadach komercyjnych, co daje możliwość wykorzystania go nie tylko na potrzeby programów zachowawczych, ale także na potrzeby hodowlane.

Wynikiem prac prowadzonych w latach 2011–2014 na terenie Instytutu Zootechniki PIB było utworzenie Krajowego Banku Materiałów Biologicznych (KBMB). Został on uruchomiony w 2014 r. Utworzono w nim 4 działy jako banki gatunkowe dla: bydła, świń, koni oraz owiec z kozami. W poszczególnych bankach dokonano

kolejnego podziału na banki przechowujące oddzielnie nasienie oraz zarodki i oocyty. Każdy z banków uzyskał indywidualny numer identyfikacyjny nadany przez Powiatowy Inspektorat Weterynaryjny. Zgodnie z wpisem nadanym przez Powiatowy Inspektorat Weterynaryjny w ramach 4 działów KBMB funkcjonuje 8 niezależnych banków materiału biologicznego.

Wszystkie banki gatunkowe (działy) są zbudowane podobnie i składają się z tych samych pomieszczeń. Są to:

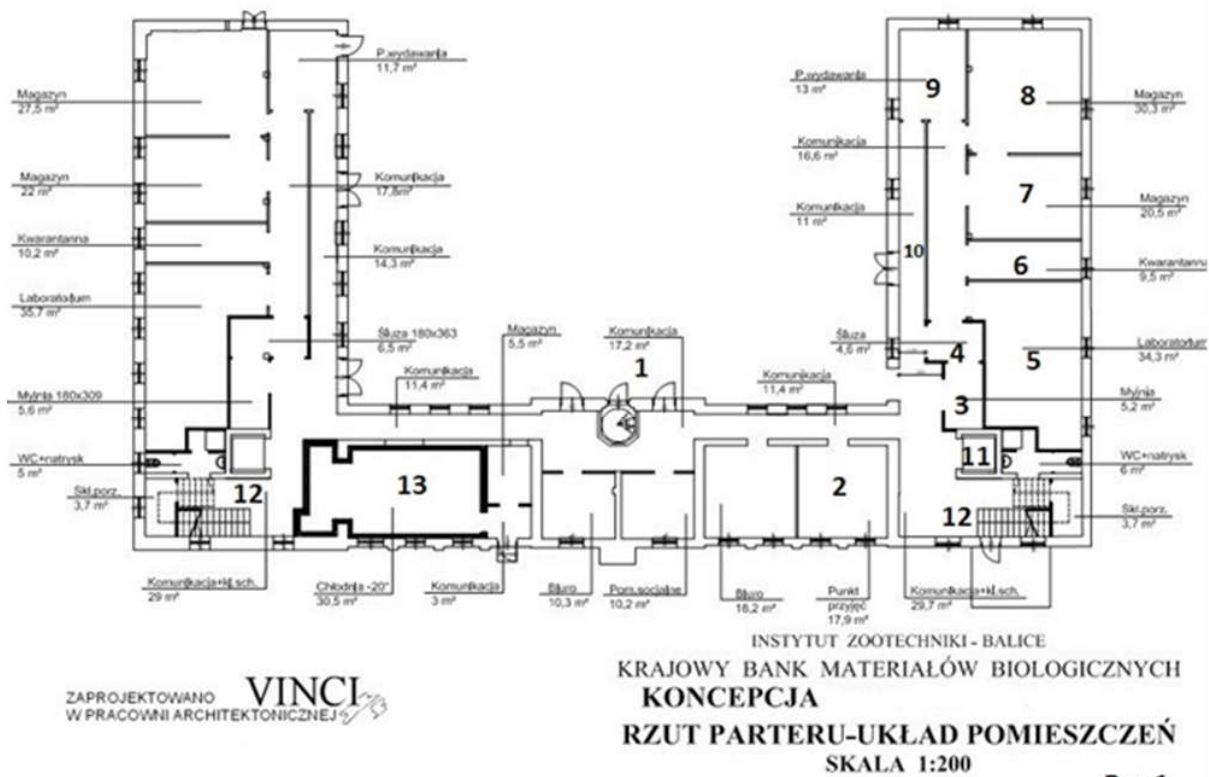
1. Punkt przyjęć – pomieszczenie w części ogólnodostępnej KBMB, gdzie odbywa się przyjmowanie i rejestrowanie dostarczonego materiału (nasienia, zarodków, oocytów). Znajduje się tam stanowisko komputerowe wraz ze specjalnym oprogramowaniem służącym do wpisania danych danego materiału do rejestru banku;
2. Myjnia – pomieszczenie, które znajduje się bezpośrednio przed wejściem do strefy „czystej” banku. Jest ono przystosowane do mycia i dezynfekcji pojemników dostarczanych na ścisły teren części magazynowej;
3. Śluza – pomieszczenie „graniczne”, przez które wchodzi pracownicy banku i dostarczany jest materiał biologiczny do części „czystej” banku. System drzwi uniemożliwia cofanie się osób, które po dezynfekcji weszły na teren strefy czystej, czyli drzwi otwierane są tylko z jednej strony;
4. System korytarzy łączy wszystkie pomieszczenia składające się na właściwą część banku;
5. Laboratorium – tu przyjmowane są próbki materiału genetycznego do wrywkowej oceny jakości. Może to odbywać się w momencie wprowadzania nowej dostawy nasienia do banku lub w razie konieczności; oceniany będzie też materiał już zdeponowany w magazynach banku;
6. Kwarantanna – pomieszczenie, w którym będą przechowywane czasowo kontenery z materiałem biologicznym, który z różnych względów nie może być w danym momencie umieszczony w magazynach

banku. Przechowywanie materiału może być spowodowane na przykład brakiem kompletu dokumentów, które powinny być dostarczone razem z przywiezionym materiałem. Po uzupełnieniu i uzgodnieniu ich kompletności materiał może być skierowany do laboratorium, a później do wskazanego magazynu;

- Magazyny – pomieszczenia, gdzie są umieszczone kontenery stacjonarne, w których zgromadzona jest kolekcja

banku. W obrębie banku wydzielone są osobne magazyny na deponowanie nasienia oraz zarodków wraz z oocytami;

- Punkt wydawania materiału – pomieszczenie do przygotowywania materiału do opuszczenia banku;
- System korytarzy części ogólnodostępnej banku służy do komunikacji pomiędzy pozostałymi pomieszczeniami części ogólnodostępnej, takimi jak: biura, magazyny, myjnia, pomieszczenia socjalne.



Rys 1.

Legenda:

- |                             |                             |
|-----------------------------|-----------------------------|
| 1. Wejście                  | 8. Pomieszczenia magazynowe |
| 2. Punkt przyjęć            | 9. Punkt wydawania          |
| 3. Myjnia kontenerów        | 10. Korytarz                |
| 4. Śluza                    | 11. Winda                   |
| 5. Laboratorium             | 12. Schody                  |
| 6. Kwarantanna              | 13. Bank DNA                |
| 7. Pomieszczenia magazynowe |                             |

W KBMB jest zainstalowany szereg systemów umożliwiających prawidłową i bezpieczną realizację powierzonych zadań. Są to:

1. System ciekłego azotu. Podstawą funkcjonowania kriobanku jest możliwość używania ciekłego azotu. Musi on być przetrzymywany i transportowany w specjalnych zbiornikach, pojemnikach, kontenerach i instalacjach. Instalacja ciekłego azotu składa się z centralnego zbiornika, umieszczonego na zewnątrz budynku. Zbiornik jest połączony z bankiem, a w banku z poszczególnymi pomieszczeniami systemem rurociągów. W każdym z tych pomieszczeń jest zainstalowany punkt poboru ciekłego azotu;
2. System wentylacji. Dla bezpieczeństwa osób pracujących w banku konieczne jest zastosowanie wysoko wydajnego specjalistycznego systemu wentylacji. Parujący azot, ze względu na większy ciężar właściwy od powietrza, gromadzi się przy podłodze. Dlatego też we wszystkich pomieszczeniach, w których jest używany ciekły azot są instalowane systemy wentylacji zbierające (wysysające) z nad podłogi wszelkie ewentualne gromadzące się tam opary. W części podsufitowej pomieszczeń znajdują się nawiewy, które powodują cyrkulację powietrza i wypychanie do rur ssących oparów azotu;
3. System bezpieczeństwa reaguje na wystąpienie zbyt dużego stężenia azotu w pomieszczeniach. Dlatego zaleca się instalowanie czujników zawartości tlenu w pomieszczeniach, a także wyposażenie pracowników w indywidualne czujniki stężenia tlenu. Czujniki powinny sygnalizować sygnałami świetlnymi i dźwiękowymi przekroczenie stężeń;
4. Awaryjny system energetyczny. Długotrwały brak prądu związany z jakąś nieprzewidzianą awarią może doprowadzić w ostateczności do utraty kolekcji. Utrata depozytu lub jego części może być równoznaczna z bezpowrotną stratą wielu cennych genotypów, a może i ras. Dlatego, aby zapobiec takim zdarzeniom zain-

stalowano alternatywne źródło prądu;

5. System dezynfekcyjny to zainstalowanie lamp UV we wszystkich pomieszczeniach strefy „czystej”, które w czasie, gdy w banku nie przebywają pracownicy, mogą być włączone celem dezynfekcji przestrzeni banku;
6. System informatyczny. Podstawą działania banku materiałów biologicznych jako magazynu jest ścisła identyfikacja określonej próbki materiału – słomki z nasieniem lub zarodkiem i ścisła kontrola miejsca przechowywania, w którym dana próbka się znajduje z możliwością śledzenia przemieszczeń materiału. Do tego celu przygotowano system informatyczny, składający się z serwera i terminali usytuowanych w punkcie przyjęć, laboratoriach, punktach wydawania materiału i pomieszczeniach biurowych, połączonych w sieć informatyczną oraz specjalnie dedykowanego dla KBMB oprogramowania.

Tworzona kolekcja w poszczególnych bankach gatunkowych jest podzielona na kilka części. Część historyczna składa się z materiału produkowanego przed 1.05.2004 r., czyli przed przestąpieniem naszego kraju do struktur Unii Europejskiej; jest kolekcją utrzymywaną w wydzielonym pomieszczeniu i osobnych kontenerach. Następną część puli materiału to ta, która będzie pozyskiwana i uzupełniana o materiał reprezentujący aktualne populacje chronione *in situ*, natomiast materiał tam zgromadzony nie będzie opuszczał banku. Kolejną część to materiał, który będzie mógł być wykorzystany do ewentualnego użycia w aktywnej hodowli; materiał, który będzie wykorzystywany do badań oraz taki, który będzie służył kontroli jakości puli zgromadzonego materiału.

Kolekcjonowanie materiału biologicznego wymaga współpracy z centrami jego pobierania (np. Stacja Hodowli i Unasieniania Zwierząt w Bydgoszczy czy Małopolskie Centrum Biotechniki w Krasnem i in.) oraz opracowania koncepcji utworzenia tych centrów, których nie ma w Polsce (owce i kozy).

Od 2015 r. we współpracy z wyżej

wymienionymi podmiotami w Krajowym Banku Materiałów Biologicznych zdeponowano 27 488 porcji nasienia od 60 buhajów. W 2017 r. rozpoczął

także działalność Bank Materiałów Biologicznych Świń. Zgromadzono w nim 11 zarodków świń rasy puławskiej.

Tabela 2. Liczba materiału biologicznego zdeponowanego w KBMB (źródło: KBMB)  
 Table 2. Number of biological material collected in KBMB (source: KBMB)

Lp. No.	Dostawca Supplier	Rasy/ liczba – Breed/number										Razem Total	
		RP-pc Polish Red		ZR-czb Polish Red-and-White		ZB-cb Polish Black-and- White		BG-białogrzb. White-backed		HO-cb HF Black-and- White			
		buh. bulls	porcji doses	buh. bulls	porcji doses	buh. bulls	porcji doses	buh. bulls	porcji doses	buh. bulls	porcji doses	buh. bulls	porcji doses
	Krasne	35	8765	17	15328	3	600			2	2195	57	26888
	Bydgoszcz							3	600			3	600

### Literatura

- Anderson S., Centonze R. (2007). Property rights and the management of animal genetic resources. *World Development*, 35 (9): 1529–1541.
- Deklaracja z Rio de Janeiro w sprawie środowiska i rozwoju. Preambuła (2002); ([http://www.mipe.oswiata.org.pl/rozwoj/doc/deklaracja\\_z\\_rio.pdf](http://www.mipe.oswiata.org.pl/rozwoj/doc/deklaracja_z_rio.pdf)).
- ERFP (2003). Guidelines for the constitution of national cryopreservation programmes for farm animals. Publication No. 1 of the European Regional Focal Point on Animal Genetic Resources. Hiemstra S.J. (ed.).
- FAO (1998). Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans – management of small populations at risk, FAO.
- FAO (2010). Guidelines for cryopreservation of animal genetic resources (draft). FAO, Rome, Italy; ([http://documents.plant.wur.nl/cgn/seminars/Workshop20100601/FAO%20Guidelines%20for%20the%20Cryoconservation%20of%20Animal%20Genetic%20Resources\(Draft\).pdf](http://documents.plant.wur.nl/cgn/seminars/Workshop20100601/FAO%20Guidelines%20for%20the%20Cryoconservation%20of%20Animal%20Genetic%20Resources(Draft).pdf)).
- Gandini G.C., Ollivier L., Danell B., Distl O., Georgoudis A., Groeneveld E., Martyniuk E., van Arendonk J.A.M., Woolliams J.A. (2004). Criteria to assess the degree of endangerment of livestock breeds in Europe. *Livest. Prod. Sci.*, 91 (1–2): 173–182.
- Krupiński J. (2008). Ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w Polsce; (<http://www.izoo.krakow.pl/czasopisma/wiadzoot/2008/1/1-Wstep-Krupinski-FAO.pdf>).
- Programy Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt Gospodarskich. Dział Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt Gospodarskich IZ PIB; (<http://www.bioroznorodnosc.izoo.krakow.pl>).
- Sikora J. (2007). Sympozjum: Ochrona zasobów genetycznych owiec w Polsce w latach 2004–2013. *Wiad. Zoot.*, XLV, 4: 3–5.
- Światowy plan działań na rzecz zasobów genetycznych zwierząt oraz Deklaracja z Interlaken; (<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1404pl/a1404pl100.pdf>).
- United Nations Conference on Environment and Development (UNCED). Rio de Janeiro, 3–14.06.1992; (<http://www.un.org/geninfo/bp/enviro.html>).
- Ustawa o zmianie ustawy o organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich z dnia 12 marca 2004 r. z późniejszymi zmianami (Dz. U., 2007, Nr 133, poz. 921).

## THE NATIONAL BIOBANK AND THE IMPLEMENTATION OF *EX SITU* GENETIC RESOURCES CONSERVATION PROGRAMMES

### Summary

Since 1992, Poland has been one of the 190 countries ratifying the Convention on Biological Diversity and actively contributing to the conservation of farm animal genetic resources. For many years, these activities focused largely on *in situ* conservation. As the population of breeding animals included in the genetic resources conservation increased, the protected species of breeding animals began to be conserved using the *ex situ in vitro* method.

The Global Plan of Action for Animal Genetic Resources was adopted in 2007 in Interlaken. In this connection, the National Research Institute of Animal Production launched the National Biobank (KBMB) to implement the National Strategy for the Conservation of Farm Animal Genetic Resources. The work conducted during 2011–2014 led to the launching of the KBMB in 2014. It was divided into 4 species banks for cattle, pigs, horses, sheep and goats. Each species bank was further subdivided into banks that stored semen separately from embryos and oocytes. Each bank was assigned an individual identification number by the District Veterinary Inspectorate (PIW). In keeping with the registration assigned by the PIW, 8 independent biobanks operate as part of the 4 KBMB divisions. All the species banks (divisions) are built similarly with the same facilities. These include a collection station, a washing station, an airlock, a corridor system, a laboratory, a quarantine station, storage facilities, the material issue station, offices, and social rooms. The KBMB is fitted with several systems ensuring the normal and safe implementation of the assigned tasks. These include a liquid nitrogen system, a ventilation system, a safety system, an emergency power system, a disinfection system, and an IT system. The collection in each species bank is divided into several parts. The historic part, comprised of the material produced prior to 1 May 2004 (i.e. before Poland joined the European Union) is kept in a dedicated room in separate containers. Another part is collected and extended with the material representing populations currently under *in situ* conservation. The material collected therein will not leave the bank. The next part contains the material that may possibly be used in active breeding for research and will serve to check the quality of the collected material. The collection of the biological material requires collaboration with the collection centres (e.g. the Animal Breeding and Insemination Centre in Bydgoszcz, the Małopolska Biotechnical Centre in Krasne) and development of a concept for the establishment of the centres non-existent in Poland (sheep and goats).

Since 2015, in cooperation with the entities mentioned above, 27 488 doses of semen from 60 bulls have been deposited in the KBMB. The Pig Biobank, launched in 2017, stores 11 embryos from Puławska pigs.



Fot. A. Kawęcka