GENOTIPIZACIJA POPULACIJE KONJA U TIPU DALMATINSKOG BUŠAKA

Listeš, Ema

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:053486

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

Ema Listeš

GENOTIPIZACIJA POPULACIJE KONJA U TIPU DALMATINSKOG BUŠAKA

Dilpomski rad

Zagreb, 2022.

Zavod za uzgoj životinja i stočarsku proizvodnju

Predstojnica zavoda: prof. dr. sc. Anamaria Ekert Kabalin

Klinika za porodništvo i reprodukciju

Predstojnik: prof. dr. sc. Marko Samardžija

Mentorice: doc. dr. sc. Maja Maurić Maljković

prof. dr. sc. Nikica Prvanović Babić

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Sven Menčik
2. doc. dr. sc. Maja Maurić Maljković
3. prof. dr. sc. Nikica Prvanović Babić
4. prof. dr. sc. Anamaria Ekert Kabalin (zamjena)

Zahvala:

Zahvaljujem se svojim roditeljima prije svega što su mi dopustili da studiram veterinu (i dalje mi nije žao), što su imali izrazito puno strpljenja sa mojim dobrim i lošim danima kako na fakultetu tako i u privatnom životu, što su nesebično ulagali u moje znanje i iskustvo. Nadam se da ću biti odličan veterinar kao što su njih dvoje.

Zahvaljujem se svojim bakama, didama, rođacima, tetama i barbama što su godinama slušali moje jadikovanje i uvijek imali lijepe riječi da mi bude lakše. Hvala mom bratu Lovri što nikad nije slušao moje jadikovanje, ali je uvijek bio tu za mene i uljepšao mi studentske dane.

Hvala svim mojim prijateljima na svim lijepim trenucima koje smo proveli zajedno, na slušanju mojih priča o konjima (koje su znale ići u nedogled) i najviše hvala na podršci koju ste mi pružali tijekom studiranja.

Hvala cijeloj ambulanti Likomed na pruženoj mogućnosti i podršci tijekom volontiranja. Posebno hvala mom dečku koji je uvijek imao strpljenja i nije se prestao truditi iako sam više puta ubola njega nego izvadila krv ovci. Hvala dr. med. vet. Ljubici što me toliko toga naučila i što mi je sve omogućila.

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Maji Maurić Maljković na godinama truda oko ovih konjića, mog diplomskog i što se uopće upustila u sve ovo. Veliko hvala mojoj mentorici prof. dr. sc. Nikici Prvanović Babić na svemu što mi je omogućila, svi tereni, razgovori, znanje i podrška su mi puno pomogli da ne odustajem od svojih snova i držim se toga kakav veterinar želim postati.

Na kraju, ali ne i manje bitno, zahvaljujem se svom tvrdoglavom i bezobraznom konju Bavu. Radi njegova dva crna oka jednog dana će postojati pasmina dalmatinski bušak.

Popis kratica

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

FAO – Organizacija za hranu i poljoprivredu (engl. *Food and Agriculture Organization*)

F_{IS} – fiksacijski indeks

H_E – očekivana heterozigotnost

H_O – opažena heterozigotnost

H-W – Hardy – Weinbergov zakon

ISAG - Međunarodna udruga za animalnu genetiku (engl. *International Society of Animal Genetics*)

MAX – maksimalna vrijednost

MIN – minimalna vrijednost

mtDNK – mitohondrijska deoksiribonukleinska kiselina

PCR - lančana reakcija polimeraze (engl. polymerase chain reaction)

PIC - informacijski sadržaj polimorfizma (engl. polymorphism information content)

SD - standardna devijacija

$\bar{X}$ - aritmetička sredina

Popis slika

Slika 1. Razglednica sa stranice Zaboravljena Dalmacija, okolica Splita, 1899

Slika 2. Razglednica sa stranice Zaboravljena Dalmacija, nepoznata lokacija, 1900.

Slika 3. Razglednica sa stranice Zaboravljena Dalmacija, Obrovac, 1905.

Slika 4. Fotografija sa stranice Zaboravljena Dalmacija, Brusje na Hvaru, 1927.

Slika 5. Fotografija, Konzervatorski odjel Split, Danski arhitekta Ejnar Dyggv u okolici Knina, 1930-tih

Slika 6. Fotografija iz Slobodne Dalmacije, petogodišnji Mate Meštrović (sin Ivana Meštrovića), 1935.

Slika 7. Fotografija sa stranice Zaboravljena Dalmacija, Trogir, 1935.

Slika 8. Kobile iz „libretta delle cavalle“ autora Giacoma Gospodneticha Martinovichaiz.

Slika 9. Iz privatnog albuma obitelji Gospodnetić

Slika 10. Razglednica Eme Listeš (ustupio Igor Goleš), Vela Luka, 1963

Slika 11. Fotografija sa stranice Zaboravljena Dalmacija, Novalja, 1965

Slika 12. Fotografija Feđe Klarića: „Čovjek i konj na splitskoj rivi“ 1980-tih iz Slobodne Dalmacije

Slika 13. Fotografija iz fotomonografije Brač Alekdandra Kukeca, lokva na Vidovoj gori, 1967

Slika 14. Fotografija iz fotomonografije Brač Alekdandra Kukeca, Pražinci, 1967

Slika 15. Kobile Greta (u prvom planu) i Nera vlasnika Mihe Kukuljice

Slika 16. Ivo Grošeta sa svojom kobilom Cura Doruša

Slika 17. Dalmatinski bušaci u radu

Slika 18. *Median-joining* mreža haplotipova i haplogrupa konja u tipu dalmatinskog bušaka prema MtDNK. Haplotipovi su prikazani krugovima čija veličina je proporcionalna broju jedinki.

Slika 19. NeighborNet dijagram MtDNK haplotipovi populacije konja u tipu dalmatinskog bušaka prema MtDNK

Popis tablica

Tablica 1. Mjere visine grebena kobila iz knjige „Libretto delle cavalle“ autora Giacoma Gospodneticha Martinovicha.

Tablica 2. Srednje vrijednosti tjelesnih mjera istraživanih konja

Tablica 3. Prikaz broja alela u 16 analiziranih mikrosatelita, veličina odsječaka u parovima baza (pb), opažena heterozigotnost (H_O), očekivana heterozigotnost (H_E), fiksacijski indeks (F_{IS}), informacijski sadržaj polimorfizma (PIC), provjera ravnoteže alela prema Hardy-Weinbergovu zakonu (H-W; prikazana je p vrijednost), te broj kromosoma na kojem se nalazi opisani lokus (n=23).

Tablica 4. Prikaz broja alela u lokusu LEX3, veličina odsječaka u parovima baza (pb), opažena heterozigotnost (H_O), očekivana heterozigotnost (H_E), fiksacijski indeks (F_{IS}), informacijski sadržaj polimorfizma (PIC), provjera ravnoteže alela prema Hardy-Weinbergovu zakonu (H-W; prikazana je p vrijednost).

Tablica 5. Usporedba mjera dalmatinskog bušaka s ostalim hrvatskim autohtonim pasminama i s mjerama dalmatinskog bušaka od IVANKOVIĆ i sur. (2012). Prikazane su samo srednje vrijednosti.

SADRŽAJ:

1. 1

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA 2

2.1 Povijesni pregled 2

2.2. Odlike vanjštine 10

2.2.1 Važnost odlika vanjštine 10

2.2.2 Odlike vanjštine konja u tipu dalmatinskog bušaka 11

2.3. Genetske analize 12

2.3.1 Mikrosateliti 12

2.3.2 Mitohondrijska DNK 13

2.3.3 Važnost genetskih analiza 13

3. MATERIJALI I METODE 15

3.1 Životinje 15

3.2 Tjelesne mjere 15

3.3 Izolacija genomske DNK 15

3.4 Umnažanje mikrosatelitskih markera i detekcija mikrosatelita 16

3.5 Umnažanje kontrolne regije mitohondrijske DNK 16

3.6 Statistička obrada podataka 17

4. REZULTATI 18

4.1 Tjelesne mjere 18

4.2 Mikrosateliti 19

4.3 Mitohondrijska DNK 21

5. RASPRAVA 23

4.1 Tjelesne mjere 23

4.2 Mikrosateliti 24

4.3 Mitohondrijska DNK 26

6. ZAKLJUČCI 28

7. LITERATURA 29

8. SAŽETAK 33

9. SUMMARY 34

10. ŽIVOTOPIS: 35

1. UVOD

Sve je veća opasnost izumiranja rijetkih lokalnih populacija, a zajedno s njima i njihovog lokalno prilagođenog genetskog fonda (GALOV i sur., 2005.). U očuvanju biološke raznolikosti domaćih životinja bitan se naglasak stavlja na očuvanje i sprječavanje izumiranja autohtonih pasmina životinja, posebice lokalnih izvornih pasmina poput dalmatinskog bušaka. U Hrvatskoj, kroz povijest, više autora spominje malene konje naziva dalmatinski bušak. Danas je pasmina svrstana u nedovoljno poznate prema Zelenoj knjizi izvornih pasmina Hrvatske (BARAĆ i sur., 2011.) te u neocijenjene prema kategorizaciji FAO-a (engl. Food and Agriculture Organization). Na području Dalmacije nalazimo malu populaciju konja koja morfološkim karakteristikama odgovara jedinkama bušaka. Smatra se da je dalmatinski bušak nastao stoljetnim uzgojem na području mediteranske Hrvatske uz povremenu introdukciju gena arapskog i bosanskog konja te da je na oblikovanje konja prilikom nastajanja pasmine značajan utjecaj imao rimski poni. Poveznica s tim je definitivno konformacija dalmatinskog bušaka koja odgovara poniju. Dalmatinskog bušaka, koji je još poznat po imenima dalmatinski poni, dalmatinski konj i dalmatinski tovarni konj, to čini jedinom hrvatskom pasminom ponija koja bi se po svojim odlikama mogla svrstati u sportske ponije. Kako bi se očuvala biološka raznolikost areala i potvrdila autohtonost tih malih konja bitno je opisati njihovu genetsku sliku i fenotipski ih ukalupiti. Stoga su se za potrebe ovog rada prikupile mjere svih jedinki koje su eksterijerno odgovarale pasmini dalmatinski bušak s ciljem dobivanja fenotipskog prikaza sadašnje populacije i uspoređivanja sa svim poznatim povijesnim dokumentima dalmatinskog bušaka. Za potrebe genetske analize uzimao se uzorak dlake kako bi se dobio genetski prikaz populacije. S tim postupcima dobiva se potpuna slika dalmatinskog bušaka, što nam kasnije omogućava biranje konja koji su fenotipski u skladu s opisom te koji genetski ne odstupaju od populacije dalmatinskog bušaka. U budućnosti ovaj rad bi mogao biti dobar temelj za priznavanje pasmine dalmatinski bušak, zasada jedine poznate hrvatske pasmine ponija.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

2.1 Povijesni pregled

Prvi pisani dokument o dalmatinskom bušaku nalazi se u izvještaju splitskog okruga iz 1822. godine kojeg je sastavio okružni poglavar Enrico Reha. Piše da su narodni konji bijedne rase, mjere dvanaest kvarti, rasplođuju se u krdu, potkivaju se na turski način, slabo se timare i žive većinom na pašnjaku bez zaklona. Konji služe isključivo za prijevoz robe i eventualno za jahanje, stoga na sebi prilikom rada imaju takozvane samare. Kako pisac navodi, konje jašu Vlaji pa ih naziva i vlaškim konjima. Smatra da takvi konji nisu pogodni za vojsku te da ih je potrebno oplemeniti s rasnim pastusima. Sljedeći pisani dokument nastaje 1830-tih, kada namjesnik Lilienberg u opisu o Habsburškoj pokrajini Dalmaciji također spominje konje koji su vrlo sitni i kako on kaže nikakve rase. Konji su loše držani, hranjeni i potkivani (TROGRLIĆ i sur., 2015). Kao i u prethodnom izvješću autor napominje da se nigdje ne upotrebljavaju za vuču, nego kao tovarne i jahače životinje. No, za razliku od prethodnog autora on smatra da se ti konji ne mogu oplemeniti jer bi genetski i dalje bili previše slični precima te bi ih narod u Dalmaciji i dalje tretirao jednako loše (prerana uporaba, loša hranidba, itd…). Navodi da je u Dalmaciji sveukupno bilo 14 096 konja. Zatim je napisano Izvješće o uzgoju konja na području Austro-Ugarske u razdoblju od 1848. do 1898. godine (BARAĆ i sur., 2011.) gdje major Hermann Gassebner spominje uzgoj manjih, ali vrlo živahnih konja koji se koriste kao tovarne životinje na području Dalmacije. U Izvješću o radu Zemaljske gospodarstvene Uprave Kraljevine Hrvatske i Slavonije za razdoblje 1896.-1905., prof. dr. Oton Frangeš u poglavlju o konjogojstvu piše o malenim konjima te prvi put spominje i njihovo ime. Navodi kako određeni krajevi (misli na Dalmaciju) nemaju dobre uvjete za razvoj konjogojstva. Stoga se u tim područjima nisu razvili konji lijepog izgleda kao posavski konj, već konji teške, mesnate glave, kratkog vrata, dugih leđa, velikih trbuha, strmih sapi i tankih nogu na kojima nalazimo suho mišićje. Kopita su čvrsta, no često plosnata zbog neodržavanja istih. Visina konja je od 110 cm do 140 cm te ih naziva i ponijima. Autor piše kako su konji i u najsiromašnijim krajevima žilavi i ustrajni te po strmim putevima kroz neprohodno kamenje nose težak teret. Često nose teret i vlasnika i u lošim vremenskim uvjetima (tijekom bure i kiše) sigurnim malim korakom. Naziva konje neuglednim, ali se divi ustrajnosti i sigurnosti koju imaju. Smatra da ne postoji strana pasmina koja bi mogla zamijeniti domaćeg konja. Piše: „…ovaj konj kraški razlikuje se donekle od konja »brdskog« u srednjem i iztočnom dielu zemlje; potonji je nešto veći, više sdepnast, narod mu veli »bušak«“.

U sljedećem stoljeću Babić (1939) navodi da su konji bili značajni za prijevoz grožđa, maslina i žita u primorskim selima na kopnu i otocima koja su raspolagala s više obradive zemlje. Nešto više o dalmatinskom bušaku piše Stanko Ožanić u Poljoprivredi Dalmacije u prošlosti iz 1955. godine. Naziva konje dalmatinskim konjem, svrstava ga u ponije izuzetnih vrlina koje se ne nalaze u pasmina ostalih zemalja. Josip Defilippis (2001) u Dalmatinskoj poljoprivredi u prošlosti piše o konjima koji su kržljavi i malog rasta, žive na otvorenom i hrane se ispašom. Konji se upotrebljavaju za nošenje tereta, a ne za vuču. Ne postoji konjogojski zavod pa se domaći konji razmnožavaju međusobno. Kao takav, domaći konj nije pogodan za vojsku. Zadnji dokument u kojem se govori o dalmatinskom bušaku je Zelena knjiga izvornih pasmina hrvatske (BARAĆ i sur., 2011): „Svi koji se konjima bave i koji su mogli da prouče dalmatinskog konja, složni su u tome da je dalmatinski konj izvrstan pony rijetkih vrlina koje se teško sreću u pasminama drugih zemalja. Dalmatinski bušak ima izuzetnu kulturno-povijesnu važnost za područje u kojem je oblikovan. Tijekom minulih stoljeća ova je pasmina bila utkana u svakodnevnicu života običnog čovjeka, prvenstveno u prijenosu ljudi i njegovih dobara a po potrebi i obrani od osvajača. Na starim fotografijama tradicijskih natjecanja poput Sinjske alke također zatičemo male konje u tipu dalmatinskog bušaka. Ranije iznesene tvrdnje ukazuju na više tisućljetnu tradiciju uzgoja ovoga konja na području Dalmacije. Potencijalnim izumiranjem dalmatinskog bušaka Dalmacija bi nepovratno izgubila dio kulturno-povijesnog identiteta.“

Uz povijesne zapise nalazimo prilično velik broj razglednica i fotografija dalmatinskog bušaka. Iako su konji na fotografijama u nepravilnim položajima za ikakve izmjere (na nekima se ni ne vide konji u potpunosti), ipak možemo opisati njihovu građu i zamijetiti da su jedinke poprilično homogene. Odnosno, konje na slikama možemo opisati kao niže konje. Teško je precizno odrediti visinu dalmatinskog bušaka u grebenu samo na temelju dostupnih fotografija, no jasno je vidljivo da dopire do prsa odrasle muške osobe (manji za trećinu visine odraslog muškarca) koja na fotografijama stoji pored njega. Temeljem dostupnih podataka o prosječnoj visini muškarca u Dalmaciji tijekom 19., 20 i 21. stoljeća, vidljivo je da se ista nije značajnije mijenjala te iznosi za 19. i 20. stoljeće kao i za danas 173 cm (VESNA JUREŠA i sur., 2012 i FRANO KASUM, 2015). Stoga je razumno pretpostaviti da je dalmatinski bušak u grebenu visok oko 125 cm. Dalmatinskog bušaka na povijesnim razglednicama i fotografijama možemo opisati kao konja suhe, umjereno velike glave, ravnoga do blago konveksnog profila, kratkih ušiju i izražajnih očiju. Umjereno dugog vrata (često u tipu jelenom), mišićavijeg u pastuha te se blagim prijelazom spaja s trupom. Greben je izražen i dug. Trup je pravokutna oblika. Leđa

su umjereno duga i kod nekih primjeraka blago ulegnuta. Neke jedinke su nešto kraćeg trupa. Sapni dio nije nadgrađen u odnosu na greben. Sapi su krovaste, blago ukošene i slabo obrasle mišićjem. Noge su također slabo obrasle snažnim mišićjem, pravilna položaja i snažnih tetiva (Listeš i sur., 2021). Poneki primjerci su nešto mišićaviji. Zglobovi su suhi, a kopita tvrda i mala. Dlaka je uglavnom tamna odnosno najviše imamo dorata koji često imaju bijele oznake po nogama ili/i glavi no, pronalazimo i konje svijetle dlake (alati i sivci) kao što je vidljivo na slici 3 i slici 7. Na slikama na kojima je prikazan konj u radu (slika 1, 2, 3, 4, 5 i 6) vidljivo je da se koristi za jahanje ili nošenje tereta, a ne postoji prikaz niti pisani dokaz da se koristio kao zaprežna životinja.



Slika 1. Razglednica sa stranice Zaboravljena Dalmacija, okolica Splita, 1899.



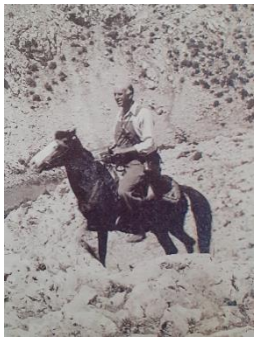
Slika 2. Razglednica sa stranice Zaboravljena Dalmacija, nepoznata lokacija, 1900.



Slika 3. Razglednica sa stranice Zaboravljena Dalmacija, Obrovac, 1905.



Slika 4. Fotografija sa stranice Zaboravljena Dalmacija, Brusje na Hvaru, 1927.



Slika 5. Fotografija, Konzervatorski odjel Split, Danski arhitekta Ejnar Dyggv u okolici Knina, 1930-tih



Slika 6. Fotografija iz Slobodne Dalmacije, petogodišnji Mate Meštrović (sin Ivana Meštrovića), 1935.



Slika 7. Fotografija sa stranice Zaboravljena Dalmacija, Trogir, 1935.

Od posebno velikog značaja je knjižica „Libretto delle cavalle“ autora Giacoma Gospodneticha Martinovichaiz iz 1935. koja je ustupljena od strane njegova praunuka uz pomoć Igora Goleša osnivača Zaboravljene Dalmacije. Radi se o bilježnici u kojoj je navedeni autor upisivao podatke o kupljenim kobilama. Njihovo ime, podrijetlo, starost, kada su stigle na njegovo imanje u Dolu na otoku Braču, visinu u grebenu i kada su ždrijebile uz podatak radi li se o muli ili konju.


a)


b)


c)


d)


e)


f)


g)

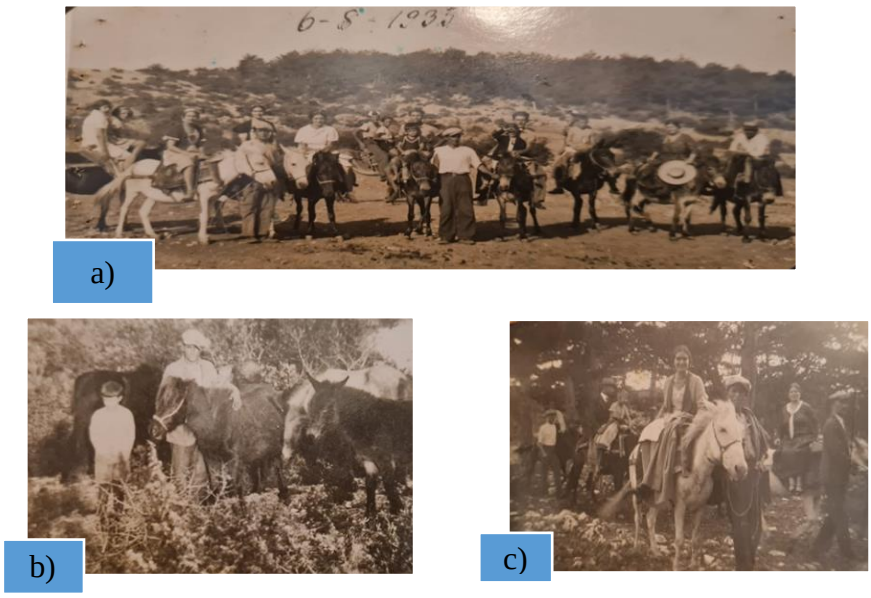
Slika 8. Kobile iz „libretta delle cavalle“ autora Giacoma Gospodneticha Martinovichaiz. a) Bizza iz Solina Slika b) Solinka iz Solina Slika c) Zvirka iz Solina Slika d) Bossa iz Zadvarja Slika e) Žurka iz Zadvarja Slika f) Siva iz Kaštela Slika g) Zeka iz Kaštela

Sve kobile su podrijetlom iz primorskih mjesta koja se nalaze u Splitsko-dalmatinskoj županiji. Tako da ih možemo povezati s klimatsko-geološkim područjem Dalmacije. Kobile odgovaraju opisu konja s prijašnjih slika. Uz nešto jačeg vrata kod kobile Solinke i šireg trupa kobile Zeke. Visine kobila dane su u Tablici 1.

Tablica 1. Mjere visine grebena kobila iz knjige „Libretto delle cavalle“ autora Giacoma Gospodneticha Martinovicha.

Kobile	Visina	Starost
Bizza	124 cm	6 godina
Solinka	130 cm	2 godine
Zvirka	125 cm	3 godine
Bossa	126 cm	2 godine
Žurka	124 cm	4 godine
Siva	126 cm	2 godine
Zeka	132 cm	4 godine

Iako se radi o mlađoj populaciji i neke kobile su još u fazi rasta, današnja istraživanja pokazuju da konji dosežu skoro u potpunosti svoju visinu do druge godine života. Odnosno većina rasta kostiju i sazrijevanje je gotovo do druge godine života konja iako je pasminski uvjetovano (ROGERS i sur., 2021). Srednja vrijednost visine ove malene populacije kobila bila je 126,71 cm. Visina se podudara s visinom po opisima i ostalim fotografijama iz prošlosti. Osim bilježnice dobili smo i nekoliko slika nastalih u razdoblju kada je ona pisana (Slika 9.).



Slika 9. Iz privatnog albuma obitelji Gospodnetić, a) unutrašnjost Brača, 06.08.1935., b) unutrašnjost Brača, 1936., c) unutrašnjost Brača: „Na stan“ 14.09.1934.

Nadalje od pedesetih godina prošlog stoljeća uz fotografije nalazimo i snimku dalmatinskog bušaka u filmu Jesen na Braču, Croatia film, 1957. Pomoću filma možemo odrediti i hod bušaka te ga opisati kao pravilnog, energičnog, impulzivnog, elastičnog i umjereno izdašnog kako ga opisuje Ivanković i sur., 2012. u svom radu Odlike vanjštine tovarnih konja mediteranske Hrvatske.

Ulogu i bitnost dalmatinskog bušaka, za stanovnike otoka Brača, opisao je Jakov Gospodnetić podrijetlom iz Dola na Braču. Razgovor s njim je omogućio njegov sin Ermano Gospodnetić. Prisjeća se tako Jakov 70-tih godina prošlog stoljeća. Na sjevernoj strani Vidove gore nalaze se dvije lokve gdje bi se za vrijeme ljeta (najčešće 7 i 8 mjesec) puštali konji. Skupilo bi se tu 40-50 konja koji bi slobodno šetali po planinama i dolazi li bi se napajati na lokve. Tih mjeseci bi se obavljao i slobodan pripust. Preferirale su se mule pa se u slobodnom krdu najčešće moglo naći kobile i magarce. S obzirom da na Hvaru i Visu nije bilo prostora za uzgoj dosta se životinja prodalo (ponajviše magaraca i mula) na te otoke. Najčešće su konji prenosili masline i grožđe, a znali su ponijeti mješine sa po 150 litara mošta. Osim za teret i jahanje koristili su se i za vuču pluga gdje su bili puno ustrajniji i poslušniji od magaraca. Sto godina unazad žitelji otoka Brača preferirali su mule zbog njihove praktičnosti u transportu, ugodnije su bile za jahati i bile su manje tvrdoglave od magaraca. Dok im je temperament bio

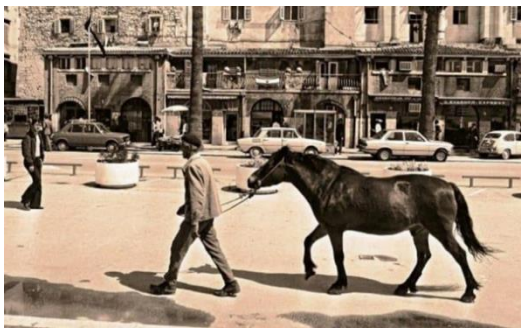
smireniji od konjskih ih majki te su bile manji potrošači vode od konja, a vode je na otoku Braču uvijek nedostajalo. Za vrijeme zima i mule i bušaci bili su uglavnom prehranjivani prućem (granama vinove loze koje se odrežu kako bi se biljka pripremila za zimski odmor). Stare konje koji više nisu mogli raditi puštalo bi se na visoravni Vidove gore gdje bi oni živjeli do prirodne smrti. No, s obzirom na mali broj strvinara na otoku ponekad bi lešine predstavljale problem ljeti. Stoga su se stari konji počeli otpremati u Nerežišća gdje bi Talijani dolazili po njih kako bi ih otkupili za klaonicu. Do 80-tih godina prošlog stoljeća još su se na Braču konji koristili za transport. Koliko su se konji upotrebljavali na otoku Braču jasno je i po tome da se na otoku izrađivao poseban bračk samar.



Slika 10. Razglednica Eme Listeš (ustupio Igor Goleš), Vela Luka, 1963



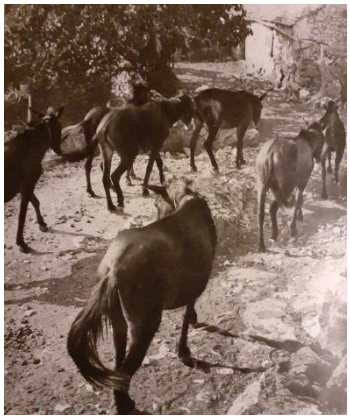
Slika 11. Fotografija sa stranice Zaboravljena Dalmacija, Novalja, 1965



Slika 12. Fotografija Feđe Klarića: „Čovjek i konj na splitskoj rivi“ 1980-tih iz Slobodne Dalmacije



Slika 13. Fotografija iz fotomonografije Brač Alekdandra Kukeca, lokva na Vidovoj gori, 1967.



Slika 14. Fotografija iz fotomonografije Brač Alekdandra Kukeca, Pražinci, 1967.

2.2. Odlike vanjštine

2.2.1 Važnost odlika vanjštine

Selekcijom jedinki u domaćih životinja, pa tako i konja, se nastoji poboljšati genetska osnova za određena svojstva. Poboljšanje se često postiže odabiranjem životinja poželjnih odlika vanjštine - fenotipa. Stoga za svaku pasminu bitno je odrediti poželjnu vanjštinu kako bi se moglo raditi na postizanju uzgojnog cilja. Uzgojni cilj je željeni izgled i karakter određene pasmine. Poznavanje odlika vanjštine određene pasmine omogućuje uzgajivačima odrediti tjelesnu i pripusnu dozrelost konja. Ako uzgajivač zna fenotipski izgled pasmine on uz pomoć pravilne hranidbe, načina držanja i njege donekle može utjecati na rast i razvitak konja te tako postići uzgojni cilj. Navedeno je vidljivo na primjeru lipicanaca, ergela Đakovo zauzima značajno mjesto u zaprežnom sportu jer je cilj uzgoja uzgojiti kvalitetna grla za vožnju u zaprezi

i jahanje. Danas đakovački lipicanac spada u najkrupniji uzgoj lipicanca (BABAN i sur., 2006.). Kod dalmatinskog bušaka trebalo bi ciljati na uzgoj grla kao sportskih ponija.

2.2.2 Odlike vanjštine konja u tipu dalmatinskog bušaka

Dalmatinskog bušaka opisujemo kao konja suhe, umjereno velike glave, ravnog do konveksnog profila, kratkih ušiju čiji vrhovi se lagano okreću put unutra kada uši stoje postranice. Oči su male, uvijek tamne, izražajne i živahne. Vrat je umjereno dug i tanak, ravnog do jelenskog oblika, nešto mišićaviji u pastuha, blagim prijelazom spojen s trupom. Prsa su uska i umjereno duboka. Greben je srednje izražen i dug. Prema vrijednostima iz „Zelene knjige izvornih pasmina Hrvatske“ (BARAĆ i sur., 2011.) primjećujemo da se radi o konjima čija visina u grebenu varira od 110 do 140 cm. Odnosno, prema radu Odlike vanjštine tovarnih konja mediteranske Hrvatske (Ivankovć i sur., 2012.) visina je iznosila 127 cm, a dužina trupa 135 cm. Nešto su duži nego viši što znači da su pravokutnog oblika. Leđa su umjereno duga i blago ulegnuta. Sapni dio nije nadgrađen u odnosu na greben (Ivanković i sur., 2012). Izmjereno je da su visina grebena i križa otprilike ista. Sapi su umjerene dužine i širine, spuštene, krovaste, obrasle suhim mišićjem. Noge su pravilnog položaja, u ponekih primjeraka je primijećen O stav. Mišićje na nogama je dobro vidljivo i suho, snažnih tetiva. Zglobovi su također dobro izraženi i suhi. Kopita su izrazito čvrsta i mala, veličinom slična kopitu magarca. Hod je ispravan, energičan i elastičan. Kas je spor, brzog ritma, a galop im je ugodan. Dlaka dalmatinskog bušaka najčešće je jednobojna i tamna, no prisutni su i sivci, alati i kulaši. Većina tamnih i alatih konja imaju bijele oznake na nogama i glavi. Karakterno su mirni, ali i poprilično temperamentni. No, u radu izrazito ustrajni, prilagodljivi, poslušni i spremni udovoljiti vlasniku.



Slika 15. Kobile Greta (u prvom planu) i Nera vlasnika Mihe Kukuljice



Slika 16. Ivo Grošeta sa svojom kobilom Cura Doruša



Slika 17. Dalmatinski bušaci u radu a) Pastuh Bavo u sklopu škole jahanja, vlasnica Listeš Ema, b) Kobila Zuka s vlanikom Mariom Sladom u dubrovačkoj nošnji, slika u vlasništvu Maria Slade

2.3. Genetske analize

Danas je razvijen veliki broj genetičkih markera koji su našli primjenu u mnogim genetskim istraživanjima pa tako i pri genotipizaciji konja. Genotipizacija konja provodi se u svrhu utvrđivanja genetičke varijabilnosti i strukture određene pasmine, križanja u srodstvu, utvrđivanja očinstva i za razne druge forenzičke svrhe. Najčešće primjenjivani genetički markeri u istraživanju genetike odnosno pasmina konja su mikrosateliti i mitohondrijska DNK.

2.3.1 Mikrosateliti

Mikrosateliti čine kratke ponavljajuće sekvence dužine 2 - 6 parova baza koje se nalaze na određenom lokusu, pojednostavljeno rečeno na jednom mjestu kod homolognih kromosoma. Na određenom lokusu baze se ponavljaju. Broj ponavljanja mikrosatelita (kratkih sekvenci) je poprilično različit tako da njihova dužina varira od nekoliko desetaka do nekoliko stotina

nukleotida. Razlika u broju ponavljanja parova baza omogućuje utvrditi identitet svake jedinke. S obzirom da su konji diploidna vrsta nalazimo dvije kopije svakoga mikrosatelitskog biljega. Kod homozigota te su kopije iste dužine što znači da sadrže identične alele na određenom lokusu, dok su kod heterozigota kopije različite duljine odnosno imaju dva različita alela na određenom lokusu. Utvrđivanje DNK profila neke jedinke provodi se analizom određenog broja mikrosatelitskih lokusa koji su karakteristični za konje kao vrstu. Odabrani su polimorfni lokusi koji nisu smješteni na istom kromosomu jer to smanjuje broj promatranih lokusa. Što je veći broj promatranih lokusa manja je mogućnost istog DNK profila u različitih jedinki (LORBER i sur., 2018). Lokusi se nasljeđuju i s tim omogućuju prikaz podudarnosti između generacija pa tako i između jedne populacije-u ovom slučaju pasmine.

Za genetski opis uzorkovanih konja koristio se set od 17 mikrosatelitskih markera. Markeri se nalaze na standardiziranoj listi Međunarodne udruge za animalnu genetiku (engl. *International Society of Animal Genetics*, ISAG) za genetsko profiliranje konja kako bi se različita istraživanja mogla međusobno uspoređivati (ANONIMUS, 2018.a).

2.3.2 Mitohondrijska DNK

Mitohondrijska DNK (mtDNK) je kružna dvolančana molekula koja se nasljeđuje od majke što je čini bitnim kao genetičkom markeru. Ista nukleotidna sekvenca (halotip) se može naći u svim potomcima jedne majke. MtDNK ima stopu mutacije čak deset puta veću nego jezgrina DNK. Ipak, slučajne mutacije nukleotidnih sekvenci su rijetke. To joj omogućava veću važnost kod identificiranja populacije, a dovoljnu pouzdanost da se može pratiti majčinska linija između pasmina. Pored kodirajućeg, mtDNK sadrži i ne kodirajući dio koji se naziva D - petlja (D loop, engl.). Predstavlja mjesto početka procesa replikacije i transkripcije, tako da je u ovom dijelu varijabilnost nukleotida i dužina sekvenci najveća stoga se u njemu akumuliraju mutacije. Brzina mutacije nukleotida D-petlje je tri do pet puta veća u odnosu na preostali dio mitohondrijskog DNK genoma. S obzirom da brzo prikuplja i mijenja genetske informacije, može se koristiti za opisivanje evolucijskih događaja na razini vrsta ili populacija. (ŠNJEGOTA, 2018.). MtDNK halotipovi konja podijeljeni su u 18 glavnih grupa koje se pojavljuju zadnjih 130-160 tisuća godina (ACHILLI i sur., 2012).

2.3.3 Važnost genetskih analiza

Osim fenotipa, u selekciji je bitno i poznavanje genotipa zbog čega se danas razvija sve veći broj genetskih analiza. Genetske analize nam omogućuju izdvajanje poželjnih od

nepoželjnih jedinki za određena svojstva. Genetsko opisivanje populacije tek je početak onoga što genetske analize omogućuju jednoj pasmini. Jedna od primjena genetskih analiza je za sprječavanje parenje u srodstvu. Dosta istraživanja se bavi utjecajem parenja u srodstvu na određene patologije. Često se kao istraživana skupina uzimaju frizijski konji jer je u jednom trenutku opstanak pasmine ovisio o samo nekoliko pastuha što je dovelo do velikog parenja u srodstvu. Jedan od problema proizašlih iz toga je češće zaostajanje posteljica kod frizijskih kobila čija je ždrebad nastala parenjem u srodstvu (SEVINGA i sur., 2004). Osim toga, povećao se broj ždrijebati sa hidrocefalusom. Istraživanjem je pronađeno da se hidrocefalus kod frizijskih konja nasljeđuje autosomalno recesivno, odnosno da se javlja u recesivnih homozigota. Stoga se uz pomoć genotipizacije svakog pastuha smanjila mogućnost parenja jedinki koje bi dobile ždrijebad s hidrocefalusom (DUCRO i sur., 2015). Također, ako pripazimo da se jedinke ne pare u srodstvu, smanjujemo rizik od gubljenja genetskih varijanci populacije i smanjujemo depresijski efekt populacije. Stoga, iako je broj jedinki dalmatinskog bušaka mali, uz pravovaljane genetske podatke možemo omogućiti normalan razvoj i rast populacije uz minimalne loše utjecaje parenja u srodstvu.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 Životinje

Ovim istraživanjem obuhvaćeno je 38 jedinki konja (11 mužjaka i 27 ženki) koji fenotipski odgovaraju opisu stare autohtone pasmine dalmatinski bušak. Konji su starosne dobi od 0,5 do 16 godina. Svi konji su pašno držani na 10 imanja u području Splitsko-dalmatinske i Dubrovačko-neretvanske županije.

3.2 Tjelesne mjere

Mjerenje konja provedeno je na 25 jedinki s obzirom da većina konja nije ujahana, a dio nije naučen na ikakvu manipulaciju od strane ljudi. Od svih jedinki prikupljene su tjelesne mjere pomoću Lydtinovog štapa (preciznost 0,5 cm), vrpce (sa preciznošću 0,1 cm) ili šestila (preciznost 0,5 cm). Lydtinovim štapom mjerena je visina grebena (od najviše točke grebena okomito na dolje slijedeći kosti prednje noge do površine na kojoj konj stoji, sa strane i malo odostraga kopita), visina križa (visina od najvišeg dijela križne kosti okomito do površine na kojoj konj stoji), dužina trupa (od prednje točke lopatično-ramenog zgloba pa do najudaljenije točke sjedne kvrge), dubina prsa (razmak od vrha grebena do najniže točke prsne kosti), šestilom širina prsa (razmak između lijevog i desnog ramenog zgloba), širina sapi (razmak između lijevog i desnog leđnog grebena crijevne kosti), dužina sapi (od leđnog grebena crijevne kosti do najudaljenije točke sjedne kvrge), a vrpcom opseg prsa (oko prsnog koša, iza lopatice, na najužem mjestu prsnoga koša) i opseg cjevanice (na najtanjem mjestu prednje cjevanice, metacarpus, lijeve noge).

3.3 Izolacija genomske DNK

Od 23 konja prikupljen je uzorak dlake na način da je počupano 10-50 vlasi sa korijenom iz grive. Izolacija genomske DNK provedena je pomoću kita NucleoSpin Tissue (Macherey-Nagel, Njemačka) prema uputama proizvođača. Odrezani korijeni dlake su dodani u lizirajući pufer (Lysis Buffer T1) otopinu te zatim četri puta smrznuti u tekućem dušiku pa otopljeni u vodenoj kupelji na 56°C. Zatim je dodana proteinaza K i smjesa je inkubirana na 56°C preko noći. Nakon inkubacije, dodaa je drugi lizirajući pufer (Lysis Buffer B3) te je smjesa inkubirana na 70°C tijekom 10min. Slijedeće je dodano je 210 µL etanola te je lizat prenesen na silika-membranu kolone. Zatim je reakcijska smjesa centrifugirana 1 minutu na 11000 x g. Nakon centrifugiranja je kolona prenesena u novu sterilnu mikro tubu. Serijom uzastopnog nanošenja pufera za ispiranje na membrani kolone na kojoj se nalazi vezana DNK te uzastopnog

centrifugiranja DNK se isprala od zaostalih bjelančevina. Nakon toga DNK je s kolone spuštena puferskom otopinom za otpuštanje. Otopljena DNK centrifugiranjem je prošla silika-membranu i skupila se u sterilnu mikro tubu. Koncentracija i čistoća dobivene DNK očitana je na spektrofotometru BioDrop µLITE (BioDrop, Cambridge, UK). Čistoća izdvojene DNK određena je pomoću omjera apsorbancija valnih duljina 260/280 nm, a očitane vrijednosti bile su u preporučenom rasponu 1,8-2,0. Nakon toga izolirana DNK pohranjena je u zamrzivaču na -20 °C.

3.4 Umnažanje mikrosatelitskih markera i detekcija mikrosatelita

Lančanom reakcijom polimerazom umnoženo je 17 mikrosatelitskih lokusa komerijcalnim kitom StockMarks™ for Horses 17-Plex Genotyping Kit (ThermoFiser Scinetific, Finska) prema uputama proizvođača u uređaju Mastercycler R Personal 5332 (Eppendorf AG, Njemačka) u 23 konja. Korišteni lokusi bili su slijedeći: VHL20, HTG4, AHT4, HMS7, HTG6, AHT5, HMS6, ASB23, ASB2, HTG10, HTG7, HMS3, HMS2, ASB17, LEX3, HMS1 i CA425. Združena lančana reakcija polimerazom (PCR; engl. polymerase chain reaction) provedena je u volumenu od 15 µl. Osim umnažanja uzoraka, također je napravljena po jedna pozitivna i negativna kontrola. Program PCR reakcije započinje grijanjem uzoraka na 95ºC tijekom 10 minuta radi aktivacije polimeraze, nakon čega slijedi 30 ciklusa umnažanja (95ºC/30 sek, 60ºC/30 sek, 72ºC/60 sek) te konačno produljenje umnoženih slijedova DNK na 72ºC tijekom 60 minuta. Po svakom uzorku 1,5 µl mikrosatelitelitnih PCR produkata pomiješano je s 10 µl formaldehida i 0,5 µl DNK standarda 500 LIZ (Applied Biosystems ®). Uzorci su 3 minute denaturirani na 95° C te neposredno nakon toga smješteni na led. Umnoženi mikrosateliti detektirani su kapilarnom elektroforezom uz pomoć automatskog sekvencera ABI Prism 3130 i «Dye set» Fam, Vic, Ned i Rox. Nakon kapilarne elektroforeze mikrosatelitni fragmenati DNK bili su vidljivi u obliku .fsa podataka. Pregledavanje .fsa podataka i određivanje mikrosatelitnih alela izvršeno je uz pomoć računalnog programa GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems).

3.5 Umnažanje kontrolne regije mitohondrijske DNK

Umnažanje D-petlje kontrolne regije mitohondrijske DNK (mtDNK) analiziranog u istraživanju provedeno je PCR metodom u 18 konja. Za njegovo umnažanje korištene su uzvodna početnica 5'-AAC GTT TCC TCC CAA GGA CT-3' i nizvodna početnica 5'-GCA TTT TCA GTG CCT TG CTT-3'. Umnažanje ciljnog odsječka odvijalo se u ukupnom volumenu od 25 µL, a sadržavala je slijedeće komponente: 2,5 µl 10x Taq pufera, 1 µl smjese

nukleotida (2mM), 1 µl svake početnice (10 pM), 1,5 µl MgCl2 (2,5mM), 0,2 µl Taq DNK polimeraze, 13,8 µl dH2O i 4 µl mitohondrijske DNK (50ng/µl). Uz uzorke rađena je i negativna kontrola. Uvjeti provođenja reakcije za umnažanje željnog odsječka bili su slijedeći: početno grijanje uzoraka na 95ºC tijekom 5 minuta radi aktivacije polimeraze, zatim 35 ciklusa umnažanja (95ºC/40 sek, 58ºC/40 sek, 72ºC/80 sek) te konačno produljenje umnoženih slijedova DNK na 72ºC tijekom 10 minuta. Uspješnost PCR reakcije potvrđena je prisutnošću produkata na agaroznom gelu elektroforezom. Uzorci su razdvojeni elektroforezom u TAE puferu na 1% agaroznom gelu u koji se dodaje 0,1 mg/mL etidij bromida (BIO-RAD, PowerPacTM HC-Cleaver Scientific Ltd MS mini, UK). Uspješno umnoženi odsječci su zatim pročišćeni E.Z.N.A.® Gel Extraction kitom (Omega Bio-tek, SAD) prema uputama proizvođača. Iste početnice su korištene za sekvenciranje odsječaka na ABI3730XL sekvenceru u Macrogen laboratoriju (Macrogen, Europe B.V., Nizozemska). Umnoženi odsječak je veličine 1320 parova baza (pb).

3.6 Statistička obrada podataka

Deskriptivna statistika rezultata izmjera napravljena je pomoću statističkog programa Statistica v.14 (TIBCO SOFTWARE INC., 2020). Frekvencije alela, opažena (H_O) i očekivana (H_E) heterozigotnost te vrijednost informacijskog sadržaja polimorfizma (PIC) za svaki mikrosatelit dobivene su pomoću programa Cervus, verzija 3.0.7 (MARSHALL i sur., 1998.; KALINOWSKI i sur., 2007.). Vrijednosti fiksacijskog indeksa (F_{IS}) te provjera ravnoteže učestalosti promatranih alela u skladu s Hardy-Weinbergovim zakonom svakog mikrosatelila izračunate su u programu R, vezija 4.0.5 (R CORE TEAM, 2021.) pomoću paketa adegenet (JOMBART i AHMED, 2011.). Svi lokusi su analizirani zajedno, osim lokusa LEX3 koji je vezan za X kromosom te je zbog toga obrađen zasebno. Nukleotidni sljedovi mtDNK su otvoreni i analizirani pomoću programa FinchTV v. 1.4.0 (Geospiza Inc.). Zatim su poravnati pomoću programa Clustal Omega (MADEIRA i sur., 2019.) i MEGA X (KUMAR i sur., 2018.). Program PopART v. 1.7 (LEIGH i BRYANT, 2015.) korišten je za izradu *median-joining* mreže (BANDELT i sur., 1999.) kako bi se vizualizirao filogenetski odnos haplotipova i haplogrupa analiziranih mtDNA. Filogenetski odnosi prikazani su i korištenjem NeighborNet dijagrama pomoću programa SplitsTree v.4 (HUSON i BRYANT, 2005).

4. REZULTATI

4.1 Tjelesne mjere

Rezultati dobivenih tjelesnih mjera istraživanih konja prikazani su u Tablici 2. Uz najčešće korištene mjere u uzgoju konja, a to su visina grebena, opseg prsa i opseg cjevanice (MESARIČ i sur., 2015.), izmjerene su još i visina križa, dužina trupa, dubina i širina prsa te širina i dužina sapi.

Tablica 2. Srednje vrijednosti tjelesnih mjera istraživanih konja (u cm, n=25). Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ($\bar{X}$), standardna devijacija (SD), minimalna (MIN) i maksimalna (MAX) vrijednost.

	$\bar{X}$	SD	MIN	MAX
Visina grebena	129,88	3,94	122	136
Visina križa	129,62	4,33	123	137
Dužina trupa	136,11	7,04	124,50	148
obujam prsa	156,81	10,60	140	180
obujam cjevanice	17,57	1,29	15	20
širina prsa	28,57	2,62	23	34,50
širina sapi	41	2,76	34	44
dužina sapi	43,98	2,65	38	49
dubina prsa	58,14	4,48	50	65

Od boja, najviše su bili zastupljeni dorati (15), a osim njih bila su prisutna 2 alata konja, 4 vranca, 3 sivca i 1 kulaš.

4.2 Mikrosateliti

U Tablici 3. prikazan je broj alela pronađenih po svakom istraživanom lokusu, opažena heterozigotnost (H_O), očekivana heterozigotnost (H_E), fiksacijski indeks (F_{IS}), informacijski sadržaj polimorfizma (PIC) te p vrijednost utvrđena prilikom provjere genetske ravnoteže alela prema Hardy-Weinbergovu zakonu. Broj pronađenih alela se kretao od najniže 4 (lokus HTG7) do najviše 12 (lokus ASB 17). Analizom 16 mikrosatelita, pronađeno je ukupno 116 alela. Raspon opažene heterozigotnosti kretao se od 0,52 (lokus HTG4) do 0,96 (lokusi HTG10 i CA425), a očekivane od 0,44 (lokus HTG4) do 0,86 (lokus ASB17). Fiksacijski indeks, koji ukazuje na višak odnosno manjak heterozigotnosti, bio je najniži u lokusu HTG7 (-0,23), a najviši u lokusu HTG6 (0,43). Vrijednosti PIC-a iznosile su od 0,40 u lokusu HTG4 do 0,82 u lokusu ASB17. Prilikom provjere genetske ravnoteže alela prema Hardy-Weinbergovu zakonu u genetskoj ravnoteži nisu bili lokusi HTG6, ASB23 i ASB2 ($p<0,05$).

Lokus LEX 3 analiziran je samo u kobila (16) jer se on nalazi na spolnom kromosomu (X). U pastuha se navedeni lokus ne može analizirati jer je haploidan. Rezultati LEX3 lokusa prikazani su u Tablici 4.

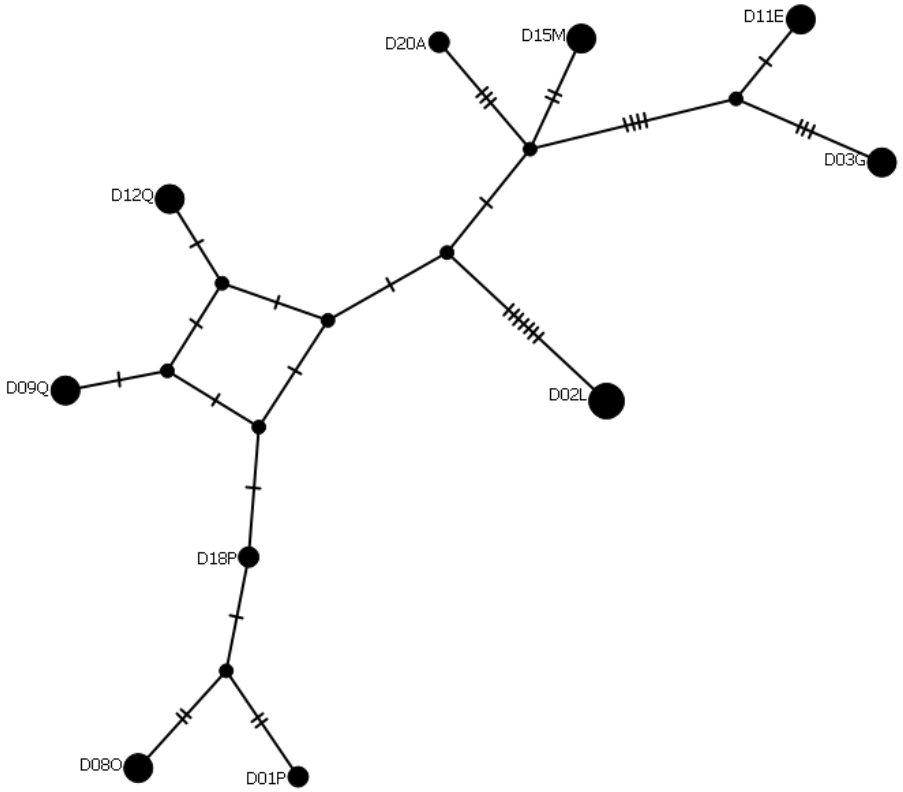
Tablica 3. Prikaz broja alela u 16 analiziranih mikrosatelita, veličina odsječaka u parovima baza (pb), opažena heterozigotnost (H_O), očekivana heterozigotnost (H_E), fiksacijski indeks (F_{IS}), informacijski sadržaj polimorfizma (PIC), provjera ravnoteže alela prema Hardy-Weinbergovu zakonu (H-W; prikazana je p vrijednost), te broj kromosoma na kojem se nalazi opisani lokus (n=23).

	Broj alela	Veličina (pb)	H_O	H_E	F_{IS}	PIC	H-W (p)	Kromosom
VHL20	9	83-102	0,83	0,84	0,01	0,80	0,93	30
HTG4	5	116-137	0,52	0,44	-0,19	0,40	0,98	9
AHT4	8	140-166	0,83	0,83	0,00	0,79	0,79	24
HMS7	7	167-187	0,74	0,79	0,06	0,74	0,28	1
HTG6	6	74-103	0,39	0,68	0,43	0,62	<0,01	15
AHT5	6	126-147	0,74	0,74	0,00	0,69	0,19	8
HMS6	6	154-170	0,74	0,77	0,04	0,71	0,34	4
ASB23	7	176-212	0,61	0,83	0,27	0,79	<0,01	3
ASB2	9	237-268	0,83	0,85	0,03	0,81	0,04	15
HTG10	10	83-110	0,96	0,83	-0,15	0,79	0,32	21
HTG7	4	114-128	0,83	0,63	-0,23	0,61	0,11	4
HMS3	7	146-170	0,65	0,74	0,13	0,70	0,46	9
HMS2	8	215-236	0,83	0,83	0,00	0,78	0,23	10
ASB17	12	104-106	0,87	0,86	-0.01	0,82	0,06	2
HMS1	6	166-178	0,61	0,72	0,16	0,66	0,16	15
CA425	6	224-247	0,96	0,82	-0,17	0,77	0,91	17
$\bar{X}$ ± SD	7,25 ± 2,02		0,74 ± 0,15	0,76 ± 0,11	0,23 ± 0,17	0,72 ± 0,11		

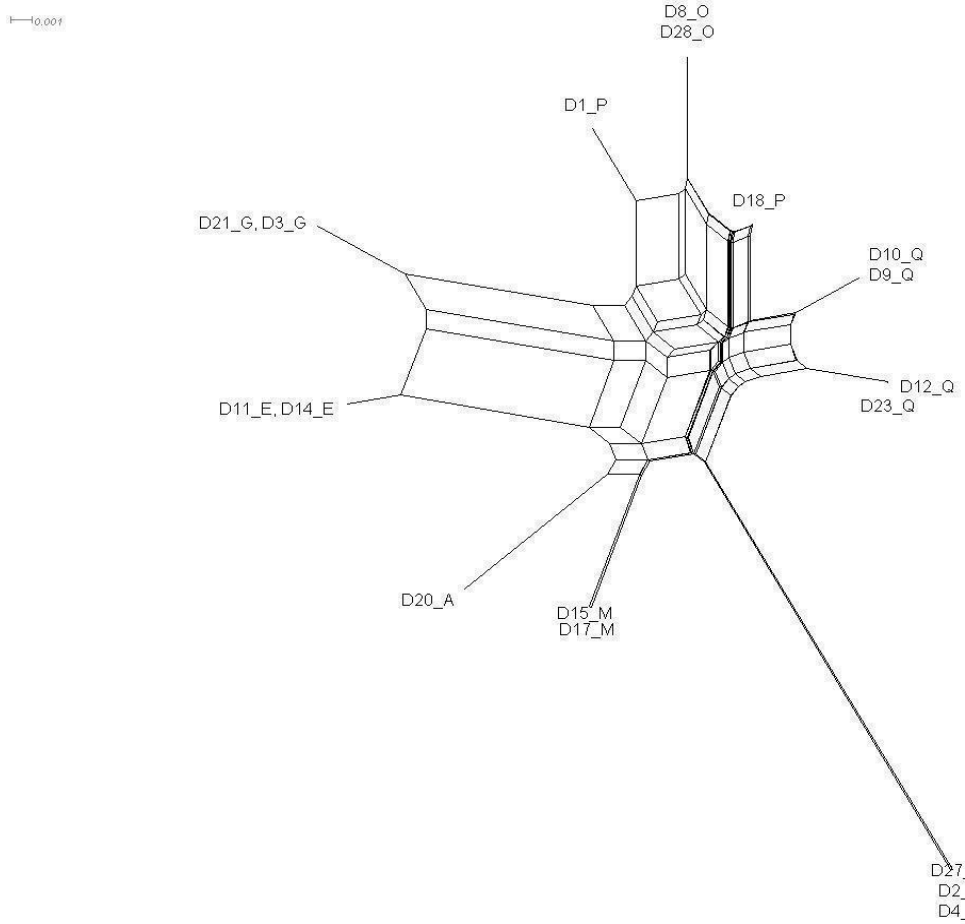
Tablica 4. Prikaz broja alela u lokusu LEX3, veličina odsječaka u parovima baza (pb), opažena heterozigotnost (H_O), očekivana heterozigotnost (H_E), fiksacijski indeks (F_{IS}), informacijski sadržaj polimorfizma (PIC), provjera ravnoteže alela prema Hardy-Weinbergovu zakonu (H-W; prikazana je p vrijednost).

LEX3	Broj alela	Veličina (pb)	HO	HE	FIS	PIC	H-W (p)
	9	141-161	0,75	0,88	0,15	0,84	0,33

4.3 Mitohondrijska DNK



Slika 18. *Median-joining* mreža haplotipova i haplogrupa konja u tipu dalmatinskog bušaka prema MtDNK. Haplotipovi su prikazani krugovima čija veličina je proporcionalna broju jedinki.



Slika 19. NeighborNet dijagram MtDNK haplotipovi populacije konja u tipu dalmatinskog bušaka prema MtDNK

Prema analizama mtDNK (slike 18 i 19), kod konja u tipu dalmatinskog bušaka nalazimo 10 različitih haplotipova koji su raspodijeljeni u 8 glavnih grupa (A, E, G, L, M, O, P i Q). Najviše se jedinki nalazi u grupi Q (4), zatim u grupi L (3), te jednak broj jedinki u grupama E, G, M, O i P (2),a samo jedna jedinka u grupi A

5. RASPRAVA

4.1 Tjelesne mjere

Rezultati dobiveni tjelesnim mjerama istraživanih konja ukazuju na skupinu konja manjeg tjelesnog okvira (Tablica 2.). S obzirom na malu dostupnost informacija o mjerama dalmatinskog bušaka iz literature, mjere konja iz ovog istraživanja moguće je usporediti samo s mjerama kobila iz knjige „Libretto delle cavalle“ autora Giacoma Gospodneticha Martinovicha iz 1935. godine, mjerama iz rada IVANKOVIĆ i sur. (2012.). te, također, i mjerama ostalih hrvatskih autohtonih pasmina konja (LISTEŠ i sur., 2019.). Uspoređujući podatke, mjere istraživanih konja nemaju velika odstupanja od onih iz literature. U usporedbi sa srednjom vrijednosti mjera iz knjige „Libretto delle cavalle“, koja je iznosila 126,71 cm, visina grebena kobila u ovom istraživanju je veća za 3,82 cm (prosječna visina za kobile je 130,5 cm).

U odnosu na rad IVANKOVIĆ i sur. (2012.), konji koji su mjereni za ovaj rad viši su u grebenu za 2,9 cm,a u križima za 1,72 cm, dužeg su trupa za 1,1 cm, opseg prsa im je veći za 4,8 cm, opseg cjevanice je veći za 1,6 cm. Dok im je širina prsa (3,23), širina sapi (4,4), dužina sapi (1,82) i dubina prsa (0,66) manja u odnosu na Ivankovićev rad. Zaključak je da se radi o malim odstupanjima, koja su djelomično moguća i zbog razlika u načinu uzimanja mjera od osobe do osobe, i vanjštinom vrlo sličnim jedinkama.

Mjere populacije konja u tipu dalmatinskog bušaka uvelike se razlikuju od mjera svih ostalih priznatih autohtonih pasmina u Republici Hrvatskoj, kao što je navedeno i u radu LISTEŠ i sur. (2019), što nije začuđujuće s obzirom da one pripadaju skupini hladnokrvnjaka, a dalmatinski bušak malim tovarnim konjima odnosno ponijima.

S obzirom na sve izneseno, definitivno se radi o konjima koji ne odudaraju međusobno u tjelesni mjerama, odgovaraju svojim precima i razlikuju se od svih ostalih hrvatskih pasmina. Toliko mala odstupanja s literaturom i prethodnim istraživanjima daju nam zaključak da u Dalmaciji već kroz stoljeća obitava jedna homogena skupina konja odnosno ponija naziva dalmatinski bušak. S vremenom bi trebalo opisati karakteristike i mogućnosti koje dalmatinski bušak može postići u konjičkom sportu.

Tablica 5. Usporedba mjera dalmatinskog bušaka s ostalim hrvatskim autohtonim pasminama i s mjerama dalmatinskog bušaka od IVANKOVIĆ i sur. (2012). Prikazane su samo srednje vrijednosti.

Tjelesne mjere	Dalmatinski bušak	Posavac	Hrvatski hladnokrvnjak	Međimurski konj	Dalmatinski bušak Ivanković i sur. (2012)
Visina grebena	129.88	140.85	148.52	147.27	127.20
Visina križa	129.62	143.34	150.79	150.79	127.90
Dužina trupa	136.11	157.91	160.07	161	135
Obujam prsa	156.81	190.18	199.74	197.96	151.70
Obujam cjevanice	17.57	20.94	22.13	21.61	16.65
Širina prsa	28.57	48.33	52.22	49.83	31.80
Širina sapi	41	54.53	58.63	61.17	45.50
Dužina sapi	43.98	54.38	56.85	56.27	45.80
Dubina prsa	58.14	69.14	72.16	70.08	58.80

4.2 Mikrosateliti

Svi istraživani lokusi bili su polimorfični te imali najmanje 4 različita alela. Ukupan broj pronađenih alela bio je 25. Ukupan broj pronađenih alela na autosomalnim lokusima bio je 116 (izuzev lokusa LEX3), a prosječan broj alela po svakom lokusu 7,25 (Tablica 3). Zastupljenost velikog broja alela u različitih mirkosatelita dobar je pokazatelj genetske raznolikosti populacije.

Opažena heterozigotnost (H_O) je udio heterozigotnih jedinki u analiziranoj populaciji. U istraživanih konja ona je u prosjeku iznosila 0,74 (tj. 74%, Tablica 3.). Očekivana heterozigotnost (H_E) predstavlja udio jedinki u populaciji koje bi bile heterozigotne kad bi populacija bila u genetskoj ravnoteži prema Hardy-Weinbergovom zakonu. Prosječna vrijednost H_E iznosila je 0,76, odnosno 76%. Fiksacijski indeks (F_{IS}), još se zove koeficijent uzgoja u srodstvu (engl. *inbreeding coefficient*), upućuje na smanjenje odnosno povećanje heterozigotnosti u populaciji u odnosu na populaciju koja je u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži (WRIGHT, 1931.). Ako je F_{IS}=0 populacija je u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži, ako je $F_{IS} > 0$ u populaciji je manjak heterozigota, a kod $F_{IS}<0$ postoji višak heterozigota u populaciji. Uspoređujući H_O i H_E, utvrđena je veća ukupna očekivana (H_E) od opažene (H_O) heterozigotnosti, iz čega se može zaključiti da ova populacija ima nešto manje heterozigotnih jedinki (razlika od 2%) u odnosu na Hardy-Weinbergovu ravnotežu. Pronađeni manjak heterozigotnosti utječe i na vrijednosti fiksacijskog indeksa (F_{IS}) koji je pozitivan (0,02), no gotovo jednak nuli što ukazuje na to da, iako se procjenjuje da ima malo uzgoja u srodstvu, populacija je u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži. Veća H_E od H_O je utvrđena u 10 od promatranih 16 lokusa, za 6 lokusa (HTG4, AHT5, HTG10, HTG7, ASB17 i CA425) H_O je veća od H_E. U 5 od 10 lokusa sa većom H_E od H_O utvrđen je i pozitivan F_{IS}, za lokus AHT4 i HMS2 jednak je nuli, a za lokuse VHL20 (0,01), HMS6 (0,04) i ASB2 (0,03) F_{IS} je gotovo jednak nuli. Od 6 lokusa sa većom H_O od H_E, 5 imaju negativne vrijednosti F_{IS} -a, a jedan (AHT5) ima vrijednost jednaku nuli. Lokus LEX3 posebno je obrađen jer se nalazi na ženskom spolnom kromosomu (X). Pa je tako očekivana (H_E - 88%) veća od opažene heterozigotnost (H_O -75%) što označava da na lokusu LEX3 imamo manje heterozigota u odnosu na Hardy-Weinbergovu ravnotežu. Prema tome je i očekivano da je F_{IS} za lokus LEX3 veći od nule (0,15).

Informacijski sadržaj polimorfizma (PIC) opisuje genotipske varijacije unutar promatranog lokusa s obzirom na broj alela i njihovu frekvenciju. PIC kao mjerilo alelne raznolikosti predstavlja udio informativnog potomstva, to jest vjerojatnost da će se genotip potomstva moći upotrijebiti u svrhu saznanja od kojeg roditelja potječu pojedini aleli. Vrijednost PIC-a se kreću od 0 do 1. Vrijednosti blizu nule ukazuju da nema varijacije u alelima, veća vrijednost ukazuje na veću varijaciju alela, a vrijednost 1 ukazuje da lokus ima samo različite alele. Na skali vrijednosti, PIC > 0,5 ukazuje na visoko informativne markere, 0,25 < PIC > 0,5 srednje informativne, a PIC < 0,25 na nisko informativne markere. Od 16 istraživanih lokusa, 15 se pokazalo visoko informativnog, a samo jedan (HTG4) kao srednje informativnog karaktera. Lokus LEX3 također se pokazao kao visoko informativan (0,84). Unatoč

vjerojatnosti uzgoja u srodstvu zbog male populacije dalmatinskih bušaka (točan broj je nepoznat, procjena je da se nalazi oko 50-tak živućih jedinki), većina promatranih lokusa je polimorfna i razlikuje se među individualnim konjima. Također, prilikom provjere genetske ravnoteže alela prema Hardy-Weinbergovom zakonu nisu pronađena statistički značajna odstupanja za većinu lokusa. Lokusi HTG6, ASB23 i ASB2 nisu u genetskoj ravnoteži prema Hardy-Weinbergovom zakonu. Prema Tablici 3. vidljivo je da su vrijednosti H_E veće od vrijednosti H_O pa njihovu genetsku neuravnoteženost možemo pripisati manjku heterozigotnosti.

Prema Hardy-Weinbergovom zakonu populacija dalmatinskog bušaka je u ravnoteži što bi značilo da populacija ima mogućnost evolucije. Ispitivane jedinke dalmatinskog bušaka čine jednu zdravu populaciju koja ima mogućnost razvoja.

4.3 Mitohondrijska DNK

Haplotipovi mtDNK domaćih konja svrstani su u 18 većih skupina (haplogrupa) (ACHILLI i sur., 2012). Razlike u haplotipovima (od zajedničkog pretka s majčine strane) su se razvile u zadnjih 130-160 tisuća godina (MESARIČ i sur., 2015). S obzirom da je opseg migracija konja uvijek bio visok u svih pasmina, čak i u vrlo starih, tako i haplotipovi pronađeni u ovom radu spadaju u različite skupine. Prema analizama mtDNK kod konja u tipu dalmatinskog bušaka nalazimo 10 različitih haplotipova koji su raspodijeljeni u 8 glavnih grupa (A, E, G, L, M, O, P i Q) (slike 19 i 20).

Haplogrupa A najzastupljenija je u Aziji. Najstariji konji s haplotipom A bili su iz sjeverne Armenije i Iberske peninsule (poluotoka). Danas se haplotip A može naći u mnogim populacijama, poput: akhal-teke, lipicaner, noriker, maremmano itd. (ACHILLI i sur., 2012). Kod dalmatinskih bušaka zastupljen je 5,56 %. Haplogrupa E je malena grupa zastupljena na jugu Europe (ACHILLI i sur.,2012), nalazimo je u populaciji maremmano konja (radni konji s područja Toskane), a kod dalmatinskog bušaka zastupljena je 11,11 %. Haplogrupa G najsličnija je haplogrupi F koja je tipična za E. przewalskog. Najstariji haplotip iz grupe G pronađen je u konja iz Irske (MESARIĆ i sur. 2015). No, G grupa najzastupljenija je u Aziji (ACHILLI i sur., 2012). Može se pronaći kod pasmina: arap, noriker, irski hladnokrvnjak, maremmano, lipicaner, haflinger, akhal-teke te u ostalih kineskih i talijanskih pasmina. Kod dalmatinskog bušaka javlja se u postotku od 11,11 %. Haplogrupa L danas je najraširenija grupa haplotipova. Najzastupljenija je u Europi, no prisutna je u Iberiji. Također je česta u Africi i Americi (ACHILLI i sur., 2012). Dosta je zastupljena i kod dalmatinskog bušaka (16,67%).

Haplogrupa M danas je najzastupljenija u pasminama zapadne Europe, iako se njezini haplotipovi mogu također naći na području Iberske peninsule smatra se da su potomci domestificirani na području zapadne Europe. Najstariji nalazi haplotipa ove grupe pronađeni su u divljih konja (konji koji su domestificirani, ali pušteni na slobodu) Njemačke (ACHILLI i sur., 2012). Kod bušaka je zastupljena u 11,11 %. Haplogrupa O kod bušaka zauzima 11,11%, a radi se o maloj grupi zastupljenoj u središnjoj Aziji koja se javlja kod Iranskih konja (ACHILLI i sur., 2012). Haplogrupa P također je manja grupa haplotipova zastupljena u središnjoj Aziji (ACHILLI i sur., 2012). Javlja se kod konja iranske pasmine, arapa te kaspijskog ponija. Kod bušaka čini 11,11 %. Zadnja haplogrupa Q najzastupljenija je u Aziji i smatra se da je domestifikacija konja te haplogrupe nastala u Kini ili Indiji (ACHILLI i sur., 2012). Česta je kod pasmina akhal-teke, maremmano i iranske pasmine. Najzastupljenija je kod bušaka sa 22,22 %.

Skoro sve haplogrupe pronađene u ovom radu moguće je pronaći na jugu Europe, u talijanskih konja, što se povijesno može povezati sa činjenicom da je je dalmatinski bušak potekao od talijanskih konja - rimskih ponija. Neke od tih haplogrupa su i dalje najrasprostranjenije u Aziji (A, O, P i Q), a neke su učestalije u europskih pasmina (L i M). Također, zanimljiva je prisutnost haplogrupe G koja je genetički najsličnija haplogrupi F – a to je haplogrupa tipična za przewalskog konja. S ovim informacijama možemo upotpunosti pratiti i istraživati početke razvoja pasmine dalmatinski bušak. Prema očitanim haplogrupama možemo nagađati da je predak dalmatinskog bušaka došao iz Azije u područje Hrvatske zajedno s Hrvatima. Zatim se pomiješao s rimskim ponijima uz upliv drugih europskih pasmina tijekom stoljeća te je tako dobiven današnji dalmatinski bušak. Genetska bliskost dalmatinskog bušaka s E. przewalskim navodi nas na razmišljanje da li je bušak zapravo jedna od starijih pasmina konja prisutna u Europi.

6. ZAKLJUČCI

Rezultati dobiveni ovim istraživanjem pokazuju da::

- vanjština konja u tipu dalmatinskog bušaka uz vrlo mala odstupanja odgovara vanjštini konja iz povijesnih zapisa te iz prethodnih istraživanja, a izrazito su manjeg tjelesnog okvira od ostalih hrvatskih autohtonih pasmina konja
- konji u tipu dalmatinskog bušaka vanjštinom su slični, a mjere su homogene unutar populacije
- u 17 istraživanih lokusa mikrosatelitnih markera (uključujući LEX3) pronađeno je ukupno 125 različitih alela, broj po pojedinom lokusu se kretao od 4 do 12, a svi istraživani lokusi su bili polimorfni
- Prosječna opažena heterozigotnost (H_O) iznosi 74%, očekivana (H_E) 76% te posljedično tome fiksacijski indeks je približno jednak nuli (F_{IS}=0,02). Prosječni informacijski sadržaj polimorfizma (PIC), kao i za većinu lokusa zasebno (16, uključujući LEX3), ukazuje na visoko informativne markere prema Hardy-Weinbergovu zakonu većina lokusa je u genetskoj ravnoteži (14).
- Prema analizama mtDNK, kod konja u tipu dalmatinskog bušaka nalazimo 10 različitih haplotipova koji su raspodijeljeni u 8 glavnih grupa (A, E, G, L, M, O, P i Q). Najviše se jedinki nalazi u grupi Q (4), zatim u grupi L (3), jednak broj jedinki u grupama E, G, M, O i P (2) te samo jedna jedinka u grupi A.
- Konačni zaključak je da se radi o homogenoj populaciji konja koji svojim mjerama ne odstupaju od povijesnih izvora i prethodnih istraživanja. Genetski populacija je u ravnoteži, ima svoj normalni tijek razvoja. Odredili smo podrijetlo populacije te se ono slaže s literaturnim navodima. Na kraju, ovaj rad dokazuje da dalmatinski bušak kao pasmina zasigurno postoji. No, daljni razvoj i opstanak jedinog hrvatskog ponija ovisi o popularizaciji i priznavanju pasmine.

7. LITERATURA

1. ANONIMUS (2018): FAO – Biodiversity for a world without hunger. Dostupno na: http://www.fao.org/biodiversity/components/animals/en/
2. ACHILLI A., A. OLIVIERI, P. SOARES, H. LANCIONI, B. HOOSHIAR KASHANI, U. A. PEREGO,S. G. NERGADZE, V. CAROSSA, M. SANTAGOSTINO, S. CAPOMACCIO, M. FELICETTI, W. AL-ACHKAR, M. CECILIA T. PENEDO, A.VERINI-SUPPLIZI, M. HOUSHMAND, S. R. WOODWARD, ORNELLA SEMINO, M. SILVESTRELLI, E. GIULOTTO, L. PEREIRA, H-J. BANDELT, A. TORRONI (2012): Mitochondrial genomes from modern horses reveal the major haplogroups that underwent domestication, February 14, 2012, PNAS,vol. 109, no. 7, 2449–2454, DOI: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1111637109
3. BABAN M., I. ČURIK, BARICA MAIĆ, T. RASTIJA, M. ČAČIĆ, P. MIJIĆ (2006): Morfološka svojstva đakovačkog lipicanca, Krmiva 48, Zagreb, 3; 113-119
4. BARAĆ Z., LJ. BEDRICA, M. ČAČIĆ, M. DRAŽIĆ, M. DADIĆ, M. ERNOIĆ, M. FURY, Š. HORVATH, A. IVANKOVIĆ, Z. JANJEČIĆ, J. JEREMIĆ, N. KEZIĆ, D. MARKOVIĆ, B. MIOČ, R. OZIMEC, D. PETANJEK, F. POLJAK, Z. PRPIĆ, M. SINDIČIĆ (2011): Zelena knjiga izvornih pasmina Hrvatske, Kerschoffset d.o.o., Republika Hrvatska
5. BANDELT H., P. FORSTER, A. ROHL (1999): Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution 16, 37–48. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036
6. DUCRO B. J., A. SCHURINK, J. W. M. BASTIAANSEN, I. J. M. BOEGHEIM, F. G. VAN STEENBEEK, M. VOS-LOOHUIS, I. J. NIJMAN, G. R. MONROE, I. HELLINGA, B. W. DIBBITS, W. BACK, P.R A. J. LEEGWATER (2015): A nonsense mutation in B3GALNT2 is concordant with hydrocephalus in Friesian horses, Research article, BioMed Central, Open access
7. DEFILIPPIS J. (2001): Dalmatinska poljoprivreda u prošlosti, Književni krug, Split, Hrvatska.
8. GALOV A., K. BYRNE, M. ĐURAS-GOMERČIĆ, T. GOMERČIĆ, Z. NUSHOL, D. VINCEK, I. KOCIJAN, Z. TADIĆ, V. BENKOVIĆ, I. BAŠIĆ, S. M. FUNK (2005): Effectivenes of nine polymorphic microsatellite markers in parentage testing in

Posavina, Croatian Coldblood and Lipizzaner horse breeds in Croatia. Livestock Prod. Sci. 93, 277-282.

9. HUSON D. H., D. BRYANT (2006): Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. Molecular Biology and Evolution 23, 254-267. DOI: 10.1093/molbev/msj030
10. IVANKOVIĆ A., J. RAMLJAK, Š. HORVAT (2012): Odlike vanjštine tovarnih konja mediteranske Hrvatske. Proceedings of the 47th Croatian and 7th International Symposium on Agriculture, 13 – 17 February, Opatija, Croatia, 688-692.
11. JOMBART T., I. AHMED (2011): *adegenet 1.3-1*: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. Bioinformatics 27, 3070-3071. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr521
12. JUREŠA V., V. MUSIL, M. KUJUNDŽIĆ (2012): Growth Charts for Croatian School Children and Secular Trends in Past Twenty Years [citirano 13. travnja 2021], https://www.researchgate.net/publication/221836422_Growth_charts_for_Croatian_school_children_and_secular_trends_in_past_twenty_years
13. KALINOWSKI S. T., M.L. TAPER, T.C. MARSHALL (2007): Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. Molecular Ecology 16, 1099-1106. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03089.x
14. KASUM F. (2015): Usporedba prosječnih tjelesnih visina antičke i srednjovjekovne populacije Dalmacije, diplomski rad, Sveučilišni odjel za forenzične znanosti, Split, Hrvatska.
15. KUMAR S., G. STECHER, M. LI, C. KNYAZ, K. TAMURA (2018): MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. Molecular Biology and Evolution 35, 1547-1549.
16. LEIGH J.W., D. BRYANT (2015): POPART: full-feature software for haplotype network construction. Methods in Ecology and Evolution 6, 1110–1116. DOI: 10.1111/2041-210X.12410
17. LISTEŠ E., E. LISTEŠ, LJ. BARBIĆ, M. MAURIĆ (2019): Exterior measurements of Dalmatian bušak type population, Book of Abstracts, 8th International Congress „Veterinary Science and Profession", 10-12, October, Zagreb, Croatia, pp 164 (Poster presentations)

18. LISTEŠ E., M. MAURIĆ, N. PRVANOVIĆ BABIĆ., P. MARGETA (2021): Mali konji u Dalmaciji, Zbornik predavanja trećeg simpozijuma, Zaštita agrobiodiverziteta i očuvanje autohtonih rasa domaćih životinja, 25–27. jun 2021, Dimitrovgrad, 459-467 (Poster sekcija)
19. LISTEŠ E., K. STARČEVIĆ., K. SEVERIN., M. COTMAN, LJ. BARBIĆ, M. MAURIĆ (2018): Istraživanje prisutnosti konja u tipu Dalmatinskog bušaka na području Dalmacije. Veterinar 56 (2), 2-10
20. LORBER M., K. STARČEVIĆ, M. MAURIĆ, M. COTMAN, P. DŽAJA, K. SEVERIN (2018): Genotipizacija konja – utvrđivanje identiteta spornog ždrebeta, Hrvatski veterinarski vjesnik 26
21. MADEIRA F., Y. M. PARK, J. LEE, N. BUSO, T. GUR, N. MADHUSOODANAN, P. BASUTKAR, A. R. N. TIVEY, S. C. POTTER, R. D. FINN, R. LOPEZ (2019): The EMBL-EBI search and sequence analysis tools APIs in 2019. Nucleic Acids Research 47 (W1), W636-W641. DOI: 10.1093/nar/gkz268
22. MARSHALL T. C., J. SLATE, L. E. B. KRUUK, J. M. PEMBERTON (1998): Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. Molecular Ecology 7, 639-655. DOI: 10.1046/j.1365-294X.1998.00374.x
23. MESARIČ M., A. DOLINŠEK, P. DOVČ (2015):Bosanski planinski konj: najsarejša avtohtona pasma na Balkanu v izumiranju. Založba Grahovac d.o.o., Ljubljana, Slovenija.
24. OŽANIĆ S. (1955): Poljoprivreda Dalmacije u prošlosti, Izdanje Društva agronoma NRH-Podružnica Split, Split
25. R CORE TEAM (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/
26. REHA E. (izvještaj sastavio 1822), ŠIMUNKOVIĆ LJ. (transkribirala, prevela i priredila 2016): Splitski okrug 1822. godine, Dante Alighieri, Split, Hrvatska.
27. ROGERS C.W., E. K. GEE, K. E. DITTMER (2021): Growth and Bone Development in the Horse: When Is a Horse Skeletally Mature?. Animals, 11, 3402. https://doi.org/10.3390/ani11123402
28. ŠNJEGOTA D. (2018): Genetička struktura i filogeografski položaj populacije vuka (Canis lupus L. 1758) Bosne i Hercegovine, doktorska disertacija, Novi Sad
29. TIBCO SOFTWARE INC. (2020): Data Science Workbench, version 14. http://tibco.com

30. TROGRLIĆ M., K. CLEWING (2015): Dalmacija-neizbrušeni dijamant Habsburška pokrajina Dalmacija u opisu namjesnika Lilienberga, Leykam International i Odsjek za povijest filozofskog fakulteta u Splitu, Zagreb-Split, Hrvatska

8. SAŽETAK

Sve je veća opasnost izumiranja rijetkih lokalnih populacija, a zajedno s njima i njihovog lokalno prilagođenog genetskog fonda. U očuvanju biološke raznolikosti domaćih životinja bitan se naglasak stavlja na očuvanje i sprječavanje izumiranja autohtonih pasmina životinja, posebice lokalnih izvornih pasmina poput dalmatinskog bušaka. Danas je dalmatinski bušak svrstan u nedovoljno poznate odnosno neocijenjene pasmine. Na području Dalmacije nalazimo malu populaciju konja koja morfološkim karakteristikama odgovara konjima u tipu bušaka. Istraživanje je provedeno na 38 jedinki konja (11 mužjaka i 27 ženki). Istraživanoj populaciji uzete su mjere i uspoređene su sa pronađenim podacima iz povijesti te sa postojećom literaturom. Molekularno-genetičkim metodama određena je zastupljenost pojedinih mikrosatelitnih lokusa i haplogrupa mtDNK pasmine. Mjereni konji su vanjštinom, uz vrlo mala odstupanja, odgovarali vanjštini konja iz povijesnih zapisa te iz prethodnih istraživanja, a izrazito su manjeg tjelesnog okvira od ostalih hrvatskih autohtonih pasmina konja. Svi analizirani mikrosatelitni lokusi bili su svi polimorfni. Prosječna opažena heterozigotnost (H_O) iznosi 74%, očekivana (H_E) 76% te posljedično tome fiksacijski indeks je približno jednak nuli (F_{IS}=0,02). Prosječni informacijski sadržaj polimorfizma (PIC), kao i za većinu lokusa zasebno, ukazuje na visoko informativne markere. Prema analizama mtDNK, kod konja u tipu dalmatinskog bušaka nalazimo 10 različitih haplotipova koji su raspodijeljeni u 8 glavnih grupa (A, E, G, L, M, O, P i Q).

Ključne riječi: dalmatinski bušak, autohtone pasmine, bioraznolikost, mikrosateliti, mtDNK

9. SUMMARY

GENOTYPING OF DALMATIAN BUŠAK HORSE TYPE POPULATION

The growing concern of extinction of rare local populations, and with them their locally adapted genetic fund. In preserving the biodiversity of domestic animals, significant acent is placed on the preservation and prevention of extinction of indigenous animal breeds, especially local native breeds such as the Dalmatian bušak. Today, the Dalmatian bušak is classified as an insufficiently known or not evaluated breed. In Dalmatia there is a small population of horses whose morphological characteristics correspond to horses in the type of dalamtian bušak. This study was conducted on 38 horses (11 males and 27 females). The studied horses were measured to compare them to histrocal and literature data. Molecular genetic methods were used to determine the prevalence of individual microsatellite loci and haplogroups of the mtDNA. The exterior of all measured horses, with very small deviations, corresponded to the appearance of horses from historical and literature data. Also, they were distinctively smaller than other Croatian autochthonous horse breeds. All investigated microsatellite loci were polymorphic. The mean observed heterozygosity (H_O) was 74%, expected (H_E) 76% and, consequently, the fixation index was approximately zero (F_{IS} = 0.02). The mean information content of polymorphisms (PIC) indicated highly informative markers. According to mtDNA analyzes, in horses of the Dalmatian bušak type we found 10 different haplotypes that were divided into 8 main groups (A, E, G, L, M, O, P and Q).

Key words: Dalmatian bušak, autochthonous breeds, biodiversity, microsatellites, mtDNA

10. ŽIVOTOPIS:

Ema Listeš, rođena je 14.9.1996. godine u Splitu. Pohađala je osnovnu školu Petra Berislavića u Trogiru, a zatim sam upisala Prirodoslovno-tehničku školu smjer prirodoslovna gimnazija u Splitu. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu je upisala 2015. godine. Prve dvije godine fakulteta nagrađena je Dekanovom nagradom za izniman uspjeh. Na šestoj godini postaje zamjenica predstavnika studenata svoje generacije i član studentskog zbora veterinarskog fakulteta. Tijekom studija kratko je bila volonter za konje na klinikama fakulteta. Također, bila je volonter za konje na Klinici za porodništvo i reprodukciju jednu godinu te volontirala nekoliko ljeta u veterinarskoj ambulanti za velike i male životinje Likomed Veterina d.o.o. u Sinju gdje je odradila i stručnu praksu. U razdoblju od tri mjeseca otišla je na Erasmus+ stručnu praksu na kliniku za konje - Equine clinique Acy-Romance u Francuskoj. Rekreativnim jahanjem sam se bavi tokom osnovne i srednje škole, a tijekom fakulteta počinje sa sportskim jahanjem od kuda potječe i njena želja za istraživačkim radom vezanim uz konje, a radove na temu dalmatinskog bušaka piše od treće godine fakulteta.