

**GENETSKI POLIMORFIZAM PROTEINA KRVI AUTOHTONIH  
PASMINA KONJA U HRVATSKOJ****A. Ivanković, P. Caput****Sažetak**

Autohtone pasmine konja u Hrvatskoj udjelom dominiraju u ukupnoj populaciji konja, no veličina populacija svrstava ih u ugrožene pasmine. Svjesna potreba očuvanja genetskog i kulturološkog nasljeđa, šira i stručna javnost posvećuje im dužnu pozornost. Naša nastojanja su pouzdanije upoznavanje njihove genetske vrijednosti. U tom smislu elektroforetski su analizirani polimorfni proteini krvi (Hb, Tf, Al) uzoraka triju autohtonih pasmina konja (hrvatskog hladnokrvnjaka, posavskog i međimurskog konja), prikupljenih na području sedam županija. Utvrđene su dvije alelne varijante za Hb i Al, te šest alelnih varijanti za Tf. Najveća razina heterozigotnosti utvrđena je za Tf (0,6786) a najmanja za Al (0,5357). Najveća informativna vrijednost utvrđena je za Tf (0,685-0,744). Najmanja razina heterozigotnosti utvrđena je za posavskog konja (0,6078), a najveća za međimurskog konja (0,6667). Posavski konj filogenetski je udaljeniji spram međimurskog konja (0,0176) nego naspram hrvatskog hladnokrvnjaka (0,0124). Genetska distanca hrvatskog hladnokrvnjaka i međimurskog konja znatno je niža (0,0012), odnosno veća je genetska identičnost (0,9988). Do sada utvrđene genetske distance ne pružaju pouzdano uporište tvrdnji o genetskoj originalnosti postojećih autohtonih pasmina konja, odnosno ukazuju na znatnu međusobnu introdukciju genoma. Rezultati tipiziranja genotipova mogu znatno pripomoći uzgojnoj konsolidaciji, prilagodbi uzgojnog programa i očuvanju pasminske vitalnosti.

*Ključne riječi:* konji, autohtone pasmine, proteinski polimorfizam, frekvencija gena, genetske distance

*Uvod*

Na području Hrvatske do danas se održalo nekoliko pasmina konja (hrvatski hladnokrvnjak, posavski i međimurski konj) kojima se pridaje

Doc. dr. sc. Ante Ivanković, prof. dr. sc. Pavo Caput, Zavod za specijalno stočarstvo, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb (kontakt e-mail: aivankovic@agr.hr)

karakter autohtonosti odnosno originalnosti. Na navedene pasmine konja tijekom njihova oblikovanja djelovala su događanja iz bližeg i daljnijeg okruženja. Tako su osim direktnog utjecaja okoliša, na profiliranje autohtonih pasmina djelovala i druga događanja u okruženju (socijalna, politička, ekonomska). Opravdano je pretpostavljati da se u autohtonim pasminama ovoga podneblja nalazi krv konja koje su uzgajala ilirska, keltska i skitska plemena, kao i krv konja koje je koristilo Rimsko Carstvo. Povremeni prodori Gota, Avara i Mongola ostavljali su traga na temeljnoj populaciji konja ovoga područja. Svojim dolaskom hrvatska odnosno slavenska plemena predstavljala su dovedenu u zatečenu populaciju konja. Blizina Otomanskog carstva uvjetovala je introdukciju krvi arapskog konja u lokalni uzgoj. Rezultat tisućljetnih stihijskih i planiranih previranja u konjogojstvu ovih područja je konj "bušak" koji je činio "uzgojni temelj" konjogojstva ovoga područja tijekom minulih stoljeća. Uzgojni trendovi s kraja 19. stoljeća potakli su introdukciju gena teških europskih pasmina konja, primarno noričke, pešeronske i belgijske krvi u postojeću lokalnu populaciju, radi povećanja okvira, snage i mišićavosti. Diferenciranost bazne populacije te usmjeren selekcijski pristup uvjetovao je profiliranje ondašnje izvorne populacije u autohtone pasmine konja koje danas zatičemo na našem području. Stoga autohtone pasmine osim genetskog predstavljaju i kulturološko nasljeđe podneblja.

Autohtone pasmine konja u Hrvatskoj dominantno su zastupljene u ukupnoj populaciji konja ( $\approx 70\%$ ), no veličina njihovih populacija svrstava ih u skupinu ugroženih pasmina. Svjesna potrebe očuvanja genetskih resursa kao dijela biološkog i kulturološkog naslijeđa, stručna i šira javnost posljednjih godina posvećuje im dužnu pozornost. Državna uprava je prepoznala potrebu njihova očuvanja, te je sustavom novčanih poticaja uzgajateljima uzgojno valjanih konja pripomogla zaustavljanju trenda pada veličine populacije. Posavski konj i hrvatski hladnokrvnjak zadržali su se na marginalnim pašnjačkim područjima, a veličina populacije iziskuje konstantan nadzor. Populacija međimurskog konja svedena je na nekoliko desetaka grla koja se pomno prate, a revitalizaciji bi pomogla suradnja sa susjednim državama u kojima se nekada uzgajao međimurski konj. Osim male veličine populacije, uzgojna nekonsolidiranost također predstavlja bitan otežavajući moment u osmišljavanju i provedbi uzgojnog programa kojim bi se najučinkovitije očuvala pasminska vitalnost.

Polimorfizam proteina koristi se u tipizaciji populacija već od šezdesetih godina 20. stoljeća, kad je uočena mogućnost elektroforetskog razdvajanja polimorfničkih alelnih varijanti. Ashton (1958) je koristeći elektroforetsku metodologiju prvi ukazao na polimorfizam serumskih proteina konja. Schmid (1965) je među prvima studioznije istražio polimorfizam hemoglobina (Hb),

uočavajući manju razlučivost u odnosu na neke druge vrste domaćih životinja. Braend i Stromont (1964) su istražujući polimorfizam transferina (Tf) utvrdili šest alelnih varijanti (D, F, H, M, O i R). Razvoj metodologije i usavršavanje opreme povećao je elektroforetsku razlučivost na gelu a time i broj polimorfni varijanti Tf. Osjetljivijim elektroforetskim tehnikama može se D alelna varijanta Tf razlučiti u tri polimorfne varijante D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub>, F alelna varijanta na F<sub>1</sub> i F<sub>3</sub>, a H alelna varijanta na H<sub>1</sub> i H<sub>2</sub>. Stromont i Suzuki (1963) uočili su da je albumin (Al) konja kodiran s dvije alelne varijante (A i B). Braend i Efremov (1965) su alelne varijante Al označili slovima F i S, no također su uočili samo dva polimorfna oblika.

Još su česte dvojbe o opravdanosti podjele ukupne hladnokrvne autohtone populacije konja u Hrvatskoj na tri pasmine. Neka ranija istraživanja genetske strukture nisu ukazala na njihovu jasnu diferenciranost odnosno različitost (Cothran i Kovač, 1997; Rossnagel i sur., 1998). Istraživanjem frekvencije polimorfizma krvnih proteina nastojat će se pripomoći jasnijem određenju naspram autohtonih hrvatskih pasmina konja. Nakon određivanja eksterijernih obilježja (Ivanković i Caput, 2004), utvrđivanje genetske strukture na više markerskih razina pripomoći će određivanju genetske originalnosti istraženih pasmina te njihove "genetske udaljenosti" naspram bližih i udaljenijih pasmina konja.

### *Materijal i metode*

Prikupljanje tkivnih uzoraka provedeno je u sklopu obilaska terena, na područjima Krapinsko-zagorske, Sisačko-moslavačke, Međimurske, Koprivničko-križevačke, Varaždinske, Bjelovarsko-bilogorske i Požeško-slavonske županije, u razdoblju od veljače do srpnja 2003. godine. Prikupljeno je 68 uzoraka krvi posavskog konja, 56 uzoraka hrvatskog hladnokrvnjaka i 16 uzoraka međimurskog konja.

Uzorci krvi su uzeti u epruvete u kojima se nalazio konzervans (EDTA). Hemolizat i serum su odvojeni nakon prikupljanja uzoraka i čuvani na -20°C do postupka elektroforeze. Alelne varijante hemoglobina određene su na tris-tricin separacijskim gelovima, u kontinuiranom puferskom sustavu. Polimorfizam transferina određen je elektroforetski, na celogel trakama, u kontinuiranom puferskom sustavu (tris-glicinski pufer). Genetske varijante albumina određene su na celogel trakama, u diskontinuiranom puferskom sustavu. Obrada podataka rađena je statističkim paketom Arlequin (Schneider i sur., 2000).

*Rezultati i rasprava*

Analizom polimorfnih proteina autohtonih hrvatskih pasmina konja utvrđena je polimorfnost za tri proteina (Hb, Tf i Al). Za Hb utvrđene su dvije alelne varijante (Hb<sub>BI</sub> i Hb<sub>BII</sub>), no nije uočena alelna varijanta Hb<sub>AI</sub>, koja je uglavnom nazočna u niskim frekvencijama (Kelly, 2002; Cothran i Kovač, 1997). Uočene su dvije alelne varijante za Al (Al<sub>A</sub> i Al<sub>B</sub>), dok je za Tf utvrđeno šest alelnih varijanti (Tf<sub>D</sub>, Tf<sub>F</sub>, Tf<sub>H</sub>, Tf<sub>M</sub>, Tf<sub>O</sub> i Tf<sub>R</sub>). Transferin ima najveći efektivni broj alela (3,605-4,494), dok ostala dva istražena proteina (Hb, Al) zaostaju (1,692-1,992). Osnovni pokazatelji o istraženim polimorfim proteinima autohtonih pasmina konja prikazani su na tablici 1.

Tablica 1. - BROJ ALELA, EFEKTIVNI BROJ ALELA (ENA), UOČENA HETEROZIGOTNOST (Ho), OČEKIVANA HETEROZIGOTNOST (He), SHANNON INDEKS INFORMATIVNOSTI (I), INFORMATIVNA VRIJEDNOST LOKUSA (PIC) I SREDNJA VJEROJATNOST ISKLJUČENJA (AEP) ZA POLIMORFNE KRVNE PROTEINE AUTOHTONIH PASMINA KONJA

Table 1. - NUMBER OF ALLELES, EFFECTIVE NUMBER OF ALLELES (ENA), OBSERVED HETEROZYGOSITY (Ho), EXPECTED HETEROZYGOSITY (He), SHANNON'S INFORMATION INDEX (I), POLYMORPHIC INFORMATIVE CONTENT (PIC) AND AVERAGE EXCLUSION PROBABILITY (AEP) FOR POLYMORPHIC BLOOD PROTEINS OF THE AUTOCHTHONOUS HORSE BREEDS

Lokus	Broj alela	ENA	Ho	He	I	PIC	AEP
Hrvatski hladnokrvnjak							
Hb	2	1,9773	0,6429	0,4987	0,6874	0,372	0,186
Tf	6	3,6087	0,6250	0,7294	1,4663	0,685	0,501
Al	2	1,8491	0,5714	0,4633	0,6518	0,354	0,177
Pros.	3,33	2,4784	0,6131	0,5638	0,9352	0,470	Σ 0,666
Posavski konj							
Hb	2	1,8951	0,6176	0,4758	0,6652	0,361	0,180
Tf	6	4,4937	0,7206	0,7832	1,6135	0,744	0,570
Al	2	1,6922	0,4853	0,4121	0,5992	0,325	0,163
Pros.	3,33	2,6937	0,6078	0,5570	0,9593	0,477	Σ 0,705
Međimurski konj							
Hb	2	1,9922	0,6875	0,5241	0,6912	0,374	0,187
Tf	6	3,6056	0,6875	0,7460	1,4877	0,685	0,502
Al	2	1,8824	0,6250	0,4839	0,6616	0,359	0,179
Pros.	3,33	2,4934	0,6667	0,5813	0,9468	0,473	Σ 0,668

Od tri istražena polimorfna proteina (Hb, Tf i Al) najveća heterozigotnost utvrđena je za Tf (Ho=0,6786; He=0,7559), dok je za Al bila najmanja (Ho=0,5357; He=0,4403). Najveća informativna vrijednost utvrđena je za Tf

(PIC; 0,685 - 0,744), u koga je utvrđen najveći broj alelnih varijanti. Najmanju informativnu vrijednost ima AI (PIC; 0,325-0,359), neznatno nižu od informativne vrijednosti Hb (PIC; 0,361-0,374). Uočena heterozigotnost (Ho) veća je od očekivane (He) za Hb i AI, dok je za Tf očekivana heterozigotnost veća od uočene. S obzirom na istražene autohtone pasmine, najmanja heterozigotnost utvrđena je za posavskog konja (0,6078), nešto veća za hrvatskog hladnokrvnjaka (0,6131), te najveća za međimurskog konja (0,6667). Pokazatelj vjerojatnosti isključenja roditelja (AEP) najveća je za posavskog konja (0,705) a najmanja za hrvatskog hladnokrvnjaka (0,666).

Testiranje  $\chi^2$  vrijednosti potvrdilo je da odstupanje utvrđenih frekvencija genotipova spram očekivanih vrijednosti statistički uglavnom nije signifikantno, izuzev za Tf posavskog konja. Frekvencije genotipova polimorfnih krvnih proteina prikazane su na tablici 2.

Tablica 2. - RASPODJELA Hb, Tf, AI GENOTIPOVA AUTOHTONIH HRVATSKIH PASMINA KONJA  
Table 2. - DISTRIBUTION OF Hb, Tf AND AI GENOTYPES OF THE AUTOCHTHONOUS HORSE BREEDS IN CROATIA

Genotip	Hrvatski	Posavski	Međimurski	$\chi^2$		
	hladnokrvnjak	konj	konj			
	Uočeni broj genotipova					
DD	4	3	1			
DF	9	15	2			
DH	2	5	1			
DO	1	1	1			
DR	3	6	1			
FF	13	9	3			
FH	4	2	1			
FM	1	2	1			
Tf FO	4	3	2	10,260	21,999	5,136
FR	5	5	2			
HH	1	2	0			
HM	0	2	0			
HO	0	2	0			
HR	2	2	0			
OO	1	3	0			
OR	4	4	0			
RR	2	2	1			
BI BI	13	21	3			
Hb BI BII	36	42	11	5,064	6,442	2,315
BII BII	7	5	2			
AA	4	3	1			
AI AB	32	33	10	3,347	2,359	1,777
BB	20	32	5			

Vrijednosti F koeficijenta istraženih alelnih varijanti za Hb, Tf i Al prikazane su na tablici 3. Vrijednosti Fis i Fit su pozitivne za Tf (0,0854; 0,0899), dok su za Hb i Al negativne. Za Tf očekivano je uočena najmanja vrijednost Fst (0,0049) odnosno najveća vrijednost Nm (50,9435).

Tablica 3. – POKAZATELJI F-KOEFICIJENATA ISTRAŽENIH POLIMORFNIH PROTEINA AUTOHTONIH PASMINA KONJA

Table 3. - F-COEFFICIENT VALUES OF POLYMORPHIC BLOOD PROTEINS OF THE AUTOCHTHONOUS HORSE BREEDS

	Fis	Fit	Fst	Nm
Hb	-0,3300	-0,3228	0,0055	45,5102
Tf	0,0854	0,0899	0,0049	50,9435
Al	-0,2578	-0,2497	0,0065	38,3975
Prosjek	-0,1246	-0,1185	0,0055	45,4883

Deviation in heretozygosity within subpopulations (Fis), in the total population (Fit), due to subdivision alone (Fst); gene flow (Nm)

Vrijednost Fis koeficijenta za posavskog konja je niža (-0,0993) od vrijednosti utvrđene u ranijem istraživanju (0,020; Cothran i Kovač, 1997). Vrijednost Fis za hrvatskog hladnokrvnjaka (-0,0972) ne odstupa značajno u odnosu na vrijednost utvrđenu za posavskog konja.

Raspodjela frekvencija uočenih alelnih varijanti za Hb, Tf i Al prikazana je na tablici 4. Nisu uočene specifične (privatne) alelne varijante polimorfni proteina s obzirom na istražene pasmine konja.

Tablica 4. - RASPODJELA FREKVENCIJA ALELNIH VARIJANTI Hb, Tf I Al AUTOHTONIH HRVATSKIH PASMINA KONJA

Table 4. - DISTRIBUTION OF Hb, Tf AND Al ALLELIC VARIANTS OF THE AUTOCHTHONOUS HORSE BREEDS IN CROATIA

	Alel	Hrvatski hladnokrvnjak	Posavski konj	Međimurski konj
Tf	Tf <sup>D</sup>	0,205 ± 0,0382	0,243 ± 0,0368	0,219 ± 0,0731
	Tf <sup>F</sup>	0,438 ± 0,0469	0,331 ± 0,0403	0,438 ± 0,0877
	Tf <sup>H</sup>	0,089 ± 0,0269	0,125 ± 0,0284	0,063 ± 0,0428
	Tf <sup>M</sup>	0,009 ± 0,0089	0,029 ± 0,0145	0,031 ± 0,0308
	Tf <sup>O</sup>	0,098 ± 0,0281	0,118 ± 0,0276	0,094 ± 0,0515
	Tf <sup>R</sup>	0,161 ± 0,0347	0,154 ± 0,0310	0,156 ± 0,0642
Hb	Hb <sup>BI</sup>	0,554 ± 0,0470	0,618 ± 0,0417	0,531 ± 0,0882
	Hb <sup>BII</sup>	0,446	0,382	0,469
Al	Al <sup>A</sup>	0,357 ± 0,0453	0,287 ± 0,0388	0,375 ± 0,0856
	Al <sup>B</sup>	0,643	0,713	0,625

Genetske distance izračunate na temelju utvrđenih frekvencija alelnih varijanti istraženih polimorfnih proteina ukazuju na bliskost odnosno udaljenost istraženih pasmina (tablica 5).

Tablica 5. - NEI-EVA MJERA GENETSKE IDENTIČNOSTI (IZNAD DIJAGONALE) I GENETSKE DISTANCE (ISPOD DIJAGONALE) AUTOHTONIH HRVATSKIH PASMINA KONJA

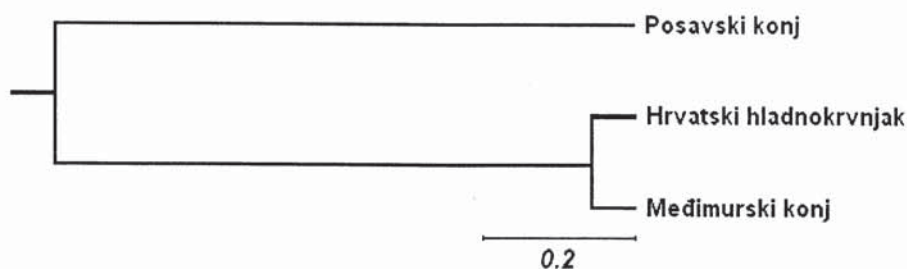
Table 5. - NEI' GENETIC IDENTITY (ABOVE THE DIAGONAL) AND GENETIC DISTANCE (BELOW THE DIAGONAL) OF THE AUTOCHTHONOUS HORSE BREEDS IN CROATIA

	Posavski konj	Hrvatski hladnokrvnjak	Međimurski konj
Posavski konj	-	0,9876	0,9824
Hrvatski hladnokrvnjak	0,0124	-	0,9988
Međimurski konj	0,0176	0,0012	-

Posavski konj filogenetski je udaljeniji spram međimurskog konja (0,0176) nego spram hrvatskog hladnokrvnjaka (0,0124). Hrvatski hladnokrvnjak i međimurski konj imaju znatno nižu vrijednost genetske distance (0,0012) odnosno znatnu vrijednost genetske identičnosti (0,9988). Posavski konj spram hrvatskog hladnokrvnjaka i međimurskog konja ima nižu razinu genetske identičnosti (0,9876: 0,9824). Na osnovi frekvencija alelnih varijanti istraženih polimorfnih krvnih proteina konstruirano je filogenetsko stablo (grafikon 1).

Grafikon 1. - UPGMA NEIGHBOUR-JOINING DENDROGRAM KONSTRUIRAN NA FREKVENCIJAMA POLIMORFNIH KRVNIH PROTEINA AUTOHTONIH HRVATSKIH PASMINA KONJA

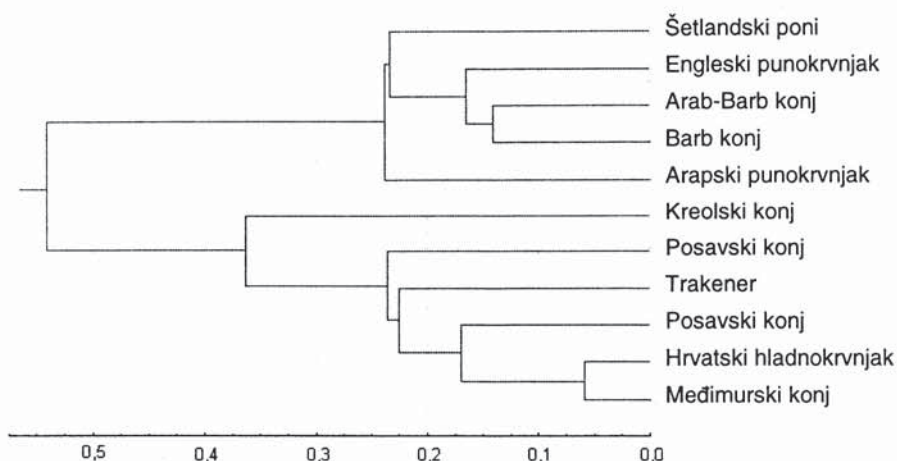
Graph 1. – UPGMA NEIGHBOUR-JOINING TREE CONSTRUCTED ON POLYMORPHIC BLOOD PROTEIN FREQUENCIES OF THE AUTOCHTHONOUS HORSE BREEDS IN CROATIA



Uzimajući u obzir frekvencije alela polimorfnih krvnih proteina nekih drugih pasmina konja (Buis, 1976; Ouragh i sur., 1994; Cothran i Kovač, 1997; Kelly i sur., 2002), načinjen je dendrogram koji prikazuje međuodnos istraženih autohtonih pasmina spram drugih pasmina konja (grafikon 2.).

Grafikon 2. - UPGMA NEIGHBOUR-JOINING DENDROGRAM KONSTRUIRAN NA TEMELJU FREKVENCIJA POLIMORFNIH KRVNIH PROTEINA JEDANAEST RAZLIČITIH PASMINA KONJA

Graph 2. UPGMA NEIGHBOUR-JOINING TREE CONSTRUCTED ON THE BASIS OF POLYMORPHIC BLOOD PROTEIN FREQUENCIES OF ELEVEN DIFFERENT HORSE BREEDS.



Uočljivo je grupiranje istraženih hrvatskih autohtonih pasmina konja spram ostalih pasmina konja uključenih u konstrukciju dendrograma. Također je potvrđena veća bliskost hrvatskog hladnokrvnjaka i međimurskog konja, što je osobito uočljivo na grafikonu 1. Ranije istraživanje frekvencija polimorfnih krvnih proteina posavskog konja (Colthran i Kovač, 1997) u odnosu na aktualno istraživanje ukazuje na nešto veću genetsku distanciranost.

S obzirom na dosadašnje spoznaje o genezi i oblikovanju autohtonih pasmina konja nije očekivana veća međusobna filogenetska udaljenost. Rezultati pokazuju da hrvatski hladnokrvnjak i međimurski konj imaju veliku razinu genetske identičnosti, odnosno da na razini frekvencija polimorfnih krvnih proteina ne postoji značajna razlika. Posavski konj je distanciraniji u odnosu na druge dvije autohtone pasmine, no genetske distance ne pružaju pouzdano uporište tvrdnji o genetskoj originalnosti pasmine. Rezultati u određenoj mjeri pokazuju da nastojanja konsolidacije uzgoja posavskog konja daju pozitivne pomake.

Rezultate istraživanja treba uzeti s oprezom, budući da se radi o tipizaciji malog broja proteina s relativno malim stvarnim brojem alelnih varijanti. Spoznaje o DNA strukturi autohtonih pasmina konja upotpunit će se tipizacijom seta DNA markera (mikrosatelita i mtDNA), nakon čega ćemo imati znatno bolji uvid u originalnost autohtonih hrvatskih pasmina konja.



### *Zaključak*

Istraživanje polimorfizma proteina krvi (Hb, Tf, Al) autohtonih hrvatskih pasmina konja ukazuje na njihovu genetsku strukturu. Utvrđene su frekvencije dviju alelnih varijanti hemoglobina i albumina, te šest alelnih varijanti transferina. Najveća razina heterozigotnosti utvrđena je za transferin (0,6786) koji je istodobno i najinformativniji (PIC; 0,685-0,744). Razina heterozigotnosti najmanja je za albumin (0,5357). S obzirom na pasminu, najmanja razina heterozigotnosti utvrđena je za posavskog konja (0,6078), a najveća za međimurskog konja (0,6667). Posavski konj filogenetski je udaljeniji spram međimurskog konja (0,0176) nego naspram hrvatskog hladnokrvnjaka (0,0124). Hrvatski hladnokrvnjak i međimurski konj filogenetski su znatno srodniji, što potvrđuje manja genetska distanca (0,0012), odnosno veća razina genetske identičnosti (0,9988). Posavski konj naspram hrvatskog hladnokrvnjaka i međimurskog konja ima znatno nižu razinu genetske identičnosti, odnosno veću genetsku distancu (0,0124; 0,0176). Posavski konj je udaljeniji spram druge dvije autohtone pasmine, no genetske distance ne pružaju pouzdano uporište tvrdnji o genetskoj originalnosti istraženih autohtonih pasmina, odnosno ukazuje na znatnu međusobnu introdukciju genoma. Pouzdanim zaključci moći će se izvesti nakon tipiziranja dodatnog seta DNA markera, što će upotpuniti postojeće spoznaje.

### *Zahvala*

Istraživanje je potpomognuto sredstvima Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa RH, u sklopu provedbe projekta "Fenotipske i genetske odlike izvornih pasmina konja u Hrvatskoj".

### **LITERATURA**

1. Ashton, G.C. (1958): Serum protein variants in horses. *Nature* 182: 1029-1030.
2. Braend, M., Stormont, C. (1964): Studies on haemoglobin and transferrin types of horses. *Nord. Vet. Med.*, 16: 31-37.
3. Braend, M., Efremov, G. (1965): Haemoglobins, haptoglobins and albumins of horses. *Proceedings of the 9th European Animal Blood Group Conference, Prague, 18-22. August 1964: 253-259.*
4. Buis, R.C. (1976): Genetic polymorphism of blood proteins in a population of shetland pony. Wageningen.
5. Cothran, E. G., Kovač, M. (1997): Genetic analysis of the Croatian trakehner and Posavina horse breeds. *Czech Journal of Animal Science*, 42.

6. Ivanković, A., Caput, P. (2004): Eksterijerne odlike hrvatskih autohtonih hladnokrvnih pasmina konja. *Stočarstvo*, 58: 15-36.
7. Kelly, L., Postiglioni, A., De Andres, D.F., Vega-Pla, J.L., Gagliardi, R., Biagetti, R., Franco, J. (2002): Genetic characterisation of the Uruguayan Creole horse and analysis of relationship among horse breeds. *Research in Veterinary Science*, 72: 69-73.
8. Ouragh, L., Meriaux, J. C., Braun, J. P. (1994): Genetic blood markers in Arabian, Barb and Arab-Barb Horses in Maroco. *Animal Genetics*, 25: 45-47.
9. Rossnagel, I., Medjugorac, I., Habe, F., Posavi, M., Förster, M. (1998): Genetic Diversity and Breed Relationships of Central European Heavy Draught Horse Breeds. 49<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 24-27. 08. 1998, Warsaw.
10. Schmid, D. O. (1965): Über den Hämoglobin-Polymorphismus beim Pferd. *Imm. und Allergieforsch*, 128: 499-503.
11. Schneider, S., Roessli, D., Excoffier, L., (2000): Arlequin: A software for population genetics data analysis. Ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva.
12. Stromont, C., Suzuki, Y. (1963): Genetic control of albumin phenotypes in horses. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 114: 673-675.

#### BLOOD PROTEINS GENETIC POLYMORPHISM OF THE AUTOCHTHONOUS HORSE BREEDS IN CROATIA

##### Summary

Autochthonous horse breeds in Croatia dominate in the total horse population, but by the size of their population they have been categorised as endangered breeds. Fully aware of the need to preserve their genetic and cultural heritage, the public and the profession are dedicating their attention to this issue. Our efforts are aimed at reliably determining their genetic values. To this aim, polymorphic blood proteins (Hb, Tf, Al) of samples of three autochthonous horse breeds (Posavina horse, Croatian coldblood and Murinsulaner horse) were analysed by electrophoresis. Blood samples were collected in seven counties. The results indicate two allele variations for Hb and Al, and six allele variations for Tf. The highest level of heterozygosity was established for Tf (0.6786) and the lowest for Al (0.5357). The highest informative value was found for Tf (0.685-0.744). The lowest level of heterozygosity was established for the Posavina horse (0.6078), and the highest in the Murinsulaner horse (0.6667). The Posavina horse is phylogenetically more distant from the Murinsulaner horse (0.0176) than from the Croatian coldblood (0.0124). The genetic distance between the Croatian coldblood and the Murinsulaner horse is significantly smaller (0.0012), or rather shows a much higher genetic identity (0.9988). To date, the genetic distances established have not provided a reliable support for the claim of genetic originality of the existing autochthonous horse breeds, but instead suggest a substantial mutual introduction of genomes. The results of typing these genotypes could significantly aid in breeding consolidation, adapting breeding programs and preserving the breed fitness.

Key words: horses, autochthonous breeds, protein polymorphism, gene frequencies, genetic distance

Primljeno: 3. 12. 2004.