



**SREDIŠNJI SAVEZ UZGAJIVAČA KONJA  
HRVATSKI POSAVAC**

**PROTOKOL PRIKUPLJANJA BIOLOŠKIH  
UZORAKA (DLAKE) ZA POHRANU U  
BANKU GENA  
SREDIŠNJEG SAVEZA UZGAJIVAČA KONJA  
HRVATSKI POSAVAC**

Topolovac, 30. kolovoza 2021. godine

## Sadržaj

<b>UVOD.....</b>	<b>3</b>
<b>1. UZORKOVANJE.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. PRIKUPLJANJE BIOLOŠKIH UZORAKA DLAKE.....</b>	<b>4</b>
<b>2. UZORKOVANJE DLAKE (GRIVE).....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. DLAKA KAO BIOLOŠKI UZORAK.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. UZORKOVANJE DLAKE.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3. POSTUPAK S UZORCIMA DLAKE .....</b>	<b>5</b>
<b>3. EVIDENCIJA POHRANJENIH UZORAKA.....</b>	<b>6</b>
<b>4. SPREMANJE UZORAKA U BANKU GENA SSHP-a.....</b>	<b>6</b>
<b>5. SLANJE UZORAKA U BANKU GENA REPUBLIKE HRVATSKE .....</b>	<b>6</b>
<b>6. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>6</b>

## UVOD

Pasmina Hrvatski posavac jedna je od izvornih pasmina domaćih životinja sukladno članku 12. stavku 1. Zakona o uzgoju domaćih životinja („Narodne novine“, broj 115/2018).

Ministarstvo poljoprivrede dana 15. ožujka 2019. godine donijelo je Odluku o Popisu izvornih i ugroženih pasmina domaćih životinja („Narodne novine“, broj 26/2019) na kojem se nalazi i pasmina konja hrvatski posavac.

Hrvatski posavac je hrvatska izvorna pasmina konja koja je na uzgojnom području obitavala stoljećima, a osim gospodarske funkcije, dio je tradicije, folklora i kulture življenja u mnogim ruralnim dijelovima Republike Hrvatske. U današnjem vremenu hrvatski posavac važan je i za očuvanje pašnjačkih površina kao i ukupne bioraznolikosti.

Uzgoj pasmine hrvatski posavac stoljetna je tradicija u Republici Hrvatskoj. Uzgoj je uglavnom orijentiran prema geografskom središtu sliva rijeke Save, no uzgojnim područjem ove pasmine smatra se cjelokupni prostor Republike Hrvatske. Također je neizostavan segment u održavanju brojnih tradicijskih kulturno-folklornih manifestacija na području Republike Hrvatske, što još potvrđuje hrvatskog posavaca kao važnu izvornu pasminu konja.

Veliki značaj hrvatskog posavca je održavanje sustava poplavnih područja u kojem je nastao i u kojem se uzgaja, velika sposobnost adaptacije, otpornost na različite uvjete držanja i dobro iskorištavanje krme loše kakvoće. Hrvatski posavac je značajan segment u očuvanju zaštićenih krajolika i biološke raznolikosti, a kroz to i značajan ekonomski dohodovan proizvođač ekološke hrane za ljude. Današnja namjena u očuvanju zaštićenih krajolika i razvoju ruralnih područja značajno olakšava očuvanje pasmine.

Razvoj društva i tehnologija utjecao je na područje istraživanja tijekom proteklih desetljeća. Sve se više fokusira na razvoj i provedbu strategija očuvanja genetskih resursa životinja. Razmatraju se komplementarne strategije očuvanja u živom obličju u svojem prirodnom okruženju (*in situ*) ili u bankama gena (*ex situ*) namijenjenim *in vivo* ili *in vitro* očuvanju životinjskih genetskih resursa. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) kao krovna globalna organizacija koja brine o sigurnosti proizvodnje hrane te očuvanju animalnih genetskih resursa oblikovala je i ponudila globalnu platformu (FAO, 2007; Global Plan of Action for Animal Genetic Resources) te smjernice za *in vivo* i *in vitro* očuvanje životinjskih genetskih resursa (FAO 2012., Cryoconservation of Animal Genetic Resources; FAO 2013., In vivo Conservation of Animal Genetic Resources). Navedene smjernice imaju globalnu i europsku važnost te ukazuju na tehnike u pogledu očuvanja genetskih resursa domaćih životinja.

U istom razdoblju napredak molekularne genetike osigurao je nove mogućnosti za bolju karakterizaciju pasmina i za optimizaciju strategija očuvanja i uzgoja. Mikrosateliti kao genetski markeri standardno se koriste u potvrđivanju rodoslovlja, no u cjelovitijoj molekularnoj karakterizaciji danas se nerijetko koriste SNP Chip-marker sustavi visoke gustoće koji pokrivaju sekvence cijelog genoma kopitara.

Sistematizacijom uzgoja i objavljivanjem matične knjige postavljeni su dobri temelji za daljnje sustavno genetsko unaprjeđenje pasmine uz obvezno uvođenje provjere porijekla laboratorijskim metodama molekularne genetike (DNK testiranje roditeljstva).

Banku gena SSHP-a čini sustavno pohranjivanje somatskih bioloških uzoraka dlake (grive).

## 1. UZORKOVANJE

Procedura prikupljanja bioloških uzoraka dlake za pohranu u Banku gena SSHP odnosi se na uzorkovanje, manipulaciju i pohranu bioloških uzoraka jedinki izvorne i zaštićene pasmine konja hrvatski posavac.

Procedura se u cijelosti odnosi na kontinuirano prikupljanje bioloških uzoraka dlake.

### 1.1 . Prikupljanje bioloških uzoraka dlake

Uzorkovanje dlake (grive) provodi se:

- prilikom označavanja ždrebad transponderom (mikročipom), a odnosi se na ždrebad koja ostaje za daljnji uzgoj,
- u slučaju da majka ždrebeta nema uzeti biološki uzorak dlake i njoj se uzima uzorak kada se uzima i ždrebetu,
- rasplodnom pomlatku u slučaju ako uzorak nije uzet pri označavanju transponderom,
- svim pastusima u rasplodu koji nemaju uzeti biološki uzorak dlake, a na njih se prijavljuje ždrijebe.

## 2. UZORKOVANJE DLAKE (GRIVE)

### 2.1. Dlaka kao biološki uzorak

Dlačni pokrivač je organ koji raste iz kože. Koža je važan organ koji štiti tijelo od mehaničkih, kemijskih i termičkih utjecaja, te patogenih mikroorganizama i UV zračenja. Zbog dobre prokrvljenosti koža ima važnu ulogu u termoregulaciji, a zbog žlijezda koje se u njoj nalaze, važan je sekretorni i ekskretorni organ.

Sastoji se od:

- 1) *površinskog sloja* (epidermis),
- 2) *srednjeg sloja* (corium) i
- 3) *dubokog sloja* ili *potkožja* (subkutis).

Dlake (pili) su orožnjale elastične tvorbe u obliku niti koje pokrivaju gotovo cijelu površinu tijela sisavaca, a nastaju iz površinskog sloja (epidermisa). Dio dlake koji se nalazi u koži ili korijen dlake (radix pili) i koji ima oblik lukovice nalazi se u epidermisu, a dio izvan kože je tzv. struk ili scapus ili stabljika dlake. Razlikujemo više tipova dlake: *čekinjaste* (pri osnovi tanje, a pri vrhu deblje: nozdrve i trepavice), *duge dlake* (iste

debljine cijelom dužinom: rep i griva), te *pokrovne* ili *senzitivne dlake* (korijen dlake je u kontaktu s živčanim završecima).

## 2.2. Uzorkovanje dlake

Dlaka se prikuplja radi deoksiribonukleinske kiseline (DNA) kao nosioca genetskog nasljeđa koja se u njoj nalazi. DNA ima znatno manje i teže ju je izolirati iz vanjskog dijela dlake. Stoga u cilju prikupljanja i pohrane veće količine DNA od pojedine životinje treba dlaku čupati s korijenom, jer se u dijelu dlake koji je u koži i posebno u korijenu nalazi znatno veća količina DNA u odnosu na tijelo dlake i koja nakon izolacije daje kvalitetniju DNA za vjerodostojniju analizu genetske strukture. Stoga je preporuka uzorkovati što deblju dlaku s korijenom, jer ista sadrži i veću količinu DNA.

Pri uzorkovanju dlake uzorkuju se duge dlake grive.

Uzorkovanje dlake provodi se isključivo čupanjem kako bi ostala u cjelini, tj. iščupana s korijenom.

Količina uzorka koja je dostatna za pohranu u Banku gena je oko 300 dlaka sa korijenom.

## 2.3. Postupak sa uzorcima dlake

Dlaka se na terenu sprema u male PVC vrećice sa patentnim zatvaranjem. Na naljepnici za vrećice ispisuje se:

- Vrsta: konj
- Pasma: hrvatski posavac
- spol
- ime grla
- UELN/životni broj
- broj mikročipa
- mjesto uzorkovanja
- datum uzorkovanja
- potpis osobe koja je uzorkovanje obavila

Nakon ispisivanja podataka na naljepnice i pohranjivanja uzoraka dlake u njih, vrećice treba ostaviti otvorene na sobnoj temperaturi i u prostoru bez vlage najmanje 24 –48 sati.

Nakon što su uzorci osušili radi se još jedan biološki uzorak dlake za slanje u Banku gena domaćih životinja Republike Hrvatske. Biološki uzorak dlake se stavlja u male PVC vrećice sa patentnim zatvaranjem te se na vrećice stavlja naljepnica s istim podacima koji su na uzorku od Banke gena SSHP.

### 3. EVIDENCIJA POHRANJENIH UZORAKA

Nakon što su uzorci osušili vrećicu je potrebno zatvoriti i podatke s uzorka dlake unijeti u evidenciju pohranjenih uzoraka koja će se voditi elektronskim putem tablicom u programu Microsoft Excel. Tablica će sadržavati životni broj grla (UELN), broj mikročipa, ime grla, spol, mjesto uzorkovanja, datum uzorkovanja, ime i prezime osobe koja je uzela uzorak.

### 4. SPREMANJE UZORAKA U BANKU GENA SSHP-a

Nakon evidencije uzorka on se skladištiti u rashladnom uređaju od -20 do -80 C°.

Uzorci će se spremati u Banku gena prema godini rođenja unutar koje su uzorci poredani slijedom od najmanjeg prema najvećem životnom broju.

### 5. SLANJE UZORAKA U BANKU GENA REPUBLIKE HRVATSKE

Biološki uzorak dlake koji je pripremljen za slanje u Banku gena domaćih životinja Republike Hrvatske šalje se kao samostalni uzorak ili kao grupe uzoraka te se prilikom slanja ispunjavaju obrasci Specifikacije uzoraka dlake (griva).

### 6. ZAKLJUČAK

Ovaj Protokol za prikupljanja bioloških uzoraka (dlake) za pohranu u Banku gena Središnji savez izrađen je sukladno Proceduri prikupljanja bioloških uzoraka dlake (grive) kopitara za potrebe Banke gena domaćih životinja Republike Hrvatske propisanu od strane Banke gena domaćih životinja Republike Hrvatske, Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske.

Protokol prikupljanja bioloških uzoraka (dlake) za pohranu u banku gena Središnjeg saveza uzgajivača konja hrvatski posavac donesen je na sjednici Upravnog odbora održanoj dana 30. kolovoza 2021. godine u Topolovcu.

**PREDSJEDNIK  
SREDIŠNJEG SAVEZA UZGAJIVAČA  
KONJA HRVATSKI POSAVAC**



Juraj Čiček