

Kraniometrijska i genetička raznolikost plavobijelih dupina, *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833), Jadranskoga mora

Penzar, Marta

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:157455>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno – matematički fakultet
Biološki odsjek

Marta Penzar

**Kraniometrijska i genetička raznolikost
plavobijelih dupina, *Stenella coeruleoalba*
(Meyen, 1833), Jadranskoga mora**

Diplomski rad

Zagreb, 2021.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Marta Penzar

**Craniometric and genetic diversity of striped
dolphins, *Stenella coeruleoalba* (Meyen,
1833), in the Adriatic Sea**

Master thesis

Zagreb, 2021.

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod voditeljstvom izv. prof. dr. sc. Ane Galov, PMF Sveučilište u Zagrebu, i izv. prof. dr. sc. Martine Đuras, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra eksperimentalne biologije.

Najljepše hvala mojim mentoricama izv. prof. dr. sc. Ani Galov i izv. prof. dr. sc. Martini Đuras na susretljivosti, ljubaznosti, savjetima i vođenju kroz izradu ovog diplomskog rada. Zahvaljujem gđi Gordani Žakman i Idi Svetličić, mag. biol. exp., na mnogim savjetima i pomoći prilikom tehničke izvedbe istraživanja. Hvala i Magdaleni Kolenc, dr. med. vet., i Kim Korpes, dr. med. vet. na pruženoj pomoći i potpori. Na kraju, veliko hvala izv. prof. dr. sc. Tomislavu Gomerčiću na pomoći sa statističkom analizom, ali i što me zainteresirao za istraživanje morskih sisavaca.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

Kraniometrijska i genetička raznolikost plavobijelih dupina, *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833), Jadranskoga mora

Marta Penzar

Rooseveltova trg 6, 10 000 Zagreb

Plavobijeli dupin, *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833), je najučestalija vrsta kita u Sredozemnom moru. Populacija koja nastanjuje Sredozemno more klasificirana je prema IUCN-u kao osjetljiva. Smatra se da nije rezidentna vrsta Jadrana te je ovo istraživanje tek drugo na temu plavobijelih dupina Jadrana. U radu su analizirane kraniometrijske osobitosti plavobijelih dupina iz hrvatskog dijela Jadrana i uspoređene s plavobijelim dupinima drugih mora. Napravljena je analiza haplotipova kontrolne regije mitohondrijske DNA plavobijelih dupina Jadrana, 17 po prvi puta analiziranih i deset iz prijašnjeg istraživanja, te šest iz Ligurskog mora za usporedbu. Analizom 37 kraniometrijskih mjera 30 lubanja utvrđeno je da mužjaci imaju dulji rostrum, veći broj zubiju, šire zube te veće posttemporalne jame od ženki, dok ženke imaju veći neurokranij, očne i hoane. Prema kraniometrijskim vrijednostima plavobijeli dupini iz hrvatskog dijela Jadrana slični su onima iz talijanskih voda i manji od onih iz japanskog dijela Tihog oceana. Na 27 uzoraka mtDNA iz Jadrana utvrđeno je devet haplotipova koji se razlikuju u 32 polimorfna mjesta. Haplotipska raznolikost iznosi 0,832, a nukleotidna 0,00729, što ukazuje na veliku genetičku raznolikost plavobijelih dupina Jadrana. Jedan uzorak iz Ligurskog mora pripadao je haplotipu pronađenom u Jadranskom moru, dok je svaki od preostalih pet pripao jednom od pet novo-utvrđenih haplotipova.

(26 stranica, 3 slike, 8 tablica, 30 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Ključne riječi: kraniometrija, genetička raznolikost, plavobijeli dupin, mitohondrijska DNA, Jadransko more, haplotipovi

Voditelj: izv. prof. dr. sc. Ana Galov

izv. prof. dr. sc. Martina Đuras, Veterinarski fakultet

Ocjenitelji: izv. prof. dr. sc. Ana Galov

izv. prof. dr. sc. Renata Šoštarić

izv. prof. dr. sc. Duje Lisičić

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Master Thesis

Craniometric and genetic diversity of striped dolphins, *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833), in the Adriatic Sea

Marta Penzar

Rooseveltova trg 6, 10 000 Zagreb

Striped dolphin, *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833), is the most abundant cetacean species in the Mediterranean Sea. The population that inhabits the Mediterranean is classified as vulnerable by IUCN. It is considered a nonresident species in the Adriatic Sea and this is the second research on striped dolphins from the Adriatic. In this thesis we analyze the craniometric characteristics of striped dolphins from the Croatian part of the Adriatic and compare them to striped dolphins of other seas. An analysis of haplotypes of the control region of mitochondrial DNA of striped dolphins from the Adriatic was conducted, 17 samples were analyzed for the first time and ten were added from a previous research. Six samples from the Ligurian Sea were analyzed for comparison. Analysis of 37 craniometrical features on 30 skulls revealed that males have a longer rostrum, greater number of teeth, wider teeth and bigger temporal fossae than females, while females have a greater neurocranium, orbital bones and internal nares. When compared by craniometrical values, striped dolphins from the Croatian part of Adriatic are similar to those from Italian waters and smaller than those from the Japanese part of the Pacific Ocean. Nine haplotypes were found among 27 mtDNA samples from the Adriatic, differing in 32 polymorphic sites. Haplotype and nucleotide diversity were 0,832 and 0,00723, respectively, which indicates great genetic diversity of striped dolphins from the Adriatic. One sample from the Ligurian Sea belongs to a haplotype found in the Adriatic, while each of the other five belong to one of the five newly-found haplotypes.

(26 pages, 3 figures, 8 tables, 30 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in the Central biological library.

Keywords: craniometry, genetic diversity, striped dolphin, mitochondrial DNA, Adriatic Sea, haplotypes

Supervisors: Assoc. Prof. Ana Galov

Assoc. Prof. Martina Đuras

Reviewers: Assoc. Prof. Ana Galov

Assoc. Prof. Renata Šoštarić

Assoc. Prof. Duje Lisičić

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1 Ciljevi	3
2. Materijali i metode	4
2.1 Kranimetrija.....	6
2.2 Mitohondrijska DNA.....	8
2.2.1 Izolacija DNA.....	8
2.2.2 Mjerenje koncentracije DNA fluorimetrom	8
2.2.3. PCR	9
2.2.4 Elektroforeza u agaroznom gelu.....	9
2.2.5 Sekvenciranje PCR produkta.....	9
2.2.6 Analiza sekvenci.....	10
3. Rezultati	11
3.1 Kranimetrija.....	11
3.2 Analiza mitohondrijske DNA.....	15
4. Rasprava	19
4.1. Kranimetrija.....	19
4.2 Mitohondrijska DNA.....	20
5. Zaključak	22
6. Popis literature.....	23

POPIS KRATICA

bp – base pairs (engl.) / parovi baza

cm – centimetar

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

dNTP – deoksinukleotid trifosfat

dsDNA – double-stranded DNA (engl.)

kg – kilogram

L – litra

mA – miliamper

mg – miligram

min – minuta

ml – mililitar

mtDNA – mitohondrijska DNA

μl – mikrolitar

ng – nanogram

PCR – polymerase chain reaction (engl.) / lančana reakcija polimerazom

s – sekunda

TBE pufer – Tris /Borate/EDTA pufer

tzv. – tako zvan(a)

UV – ultraviolet (engl.) / ultraljubičasta

V – volt

1. Uvod

Plavobijeli dupin (engl. striped dolphin, lat. *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833)) pripada redu kitova (Cetacea), podredu kitova zubana (Odontoceti), porodici Delphinidae. To je srednje veliki dupin koji naseljava topla i tropska mora svijeta. Živi u Tihom i Atlantskom oceanu i smatra se najučestalijom vrstom kita u Sredozemnom moru. Uglavnom se zadržava dalje od obale, izvan kontinentalnog šelfa, često u zonama upwelling-a (uzdizanja vode iz dubokih slojeva mora). Preferira dublje vode i više površinske temperature vode (Archer, 2009; Azzolin, 2020). Plavobijeli dupini hrane se poglavito ribom i glavonošcima te, rjeđe, rakovima. Love u sumrak i u prvim noćnim satima (Ringelstein i sur., 2006). Međusobno komuniciraju glasanjem koje je specifično za skupine određenog područja te se smatra genetski određenim (Azzolin i sur. 2013). Pare se sezonski, a ženke nose mlado 12 do 13 mjeseci. Mužjaci postaju spolno zreli između sedme i petnaeste godine života, a ženke nešto ranije, između pete i trinaeste godine. Ne preživljavaju dobro u zatočeništvu, a kao glavni razlog navodi se neuspjelo hranjenje pri čemu dio životinja ne pokazuje interes za ponuđenu hranu (Archer, 2009). U prirodi su zabilježene miješane skupine dupina i to plavobijelih dupina s običnim dupinom (*Delphinus delphis* Linnaeus, 1758) i glavatim dupinom (*Grampus griseus* (G. Cuvier, 1812)) (Bearzi, 2007; Frantzi i Herzing, 2002).

Populacija koja nastanjuje Sredozemno more klasificirana je prema IUCN-u (International Union for the Conservation of Nature) kao „osjetljiva“ (engl. vulnerable) (Azzolin i sur., 2013; Azzolin i sur., 2020). U Jadranskome moru povremeno se prijavljuju viđenja živih plavobijelih dupina te se pronalaze lešine nasukane na obali. Između 1999. i 2007. u hrvatskom dijelu Jadranskoga mora pronađeno je ukupno 15 uginulih plavobijelih dupina, od tog broja pet dupina je pronađeno u sjevernom Jadranu, a deset u južnom. Utvrđeno je da se radi o šest mužjaka i osam ženki dok je jedna lešina bila previše raspadnuta za determinaciju spola. Dvije životinje bile su subadulti, dok su ostale jedinke bile odrasle (Galov i sur., 2009).

Bearzi i sur. (1998) opisali su opažanje plavobijelog dupina istočno od otoka Lošinja u Sjevernom Jadranu u proljeće 1996. Pratili su dupina gotovo pet sati i bilježili njegovo ponašanje te zaključili da se radilo o slučajno zalutalom dupinu dobrog zdravlja. Pribanić (1999) opisuje razlog smrti plavobijelog dupina nađenog nasukanog na otoku Krku 1998. godine. Pretpostavlja da je dupin uginuo od gladi zbog nakupljanja otprilike 1,5 L različitih predmeta od plastike u probavnom sustavu. Vuković i sur. (2010) uspoređivali su histološku građu nuzbubrežne žlijezde dobrog i plavobijelog dupina. Koristili su uzorke porijeklom od 11 dobrih dupina i pet plavobijelih dupina pronađenih nasukanih na obalama hrvatskog dijela Jadranskog mora.

Kraniometrija je metoda kojom se određuju mjere lubanje, primjerice minimalna i maksimalna širina i duljina, ili pak mjerenje razmaka između dvaju anatomske prepoznatljivih obilježja. Kasnije se

statističkim analizama obrađuju dobiveni podatci te se iz toga mogu vidjeti sličnosti i razlike koje nisu vidljive golim okom (Christensen i sur., 2014). Kranimetrija je učestala u istraživanjima lubanja ljudi (*Homo sapiens* Linnaeus, 1758) te usporedbe s drugim hominidima. U istraživanjima morskih sisavaca kranimetrija je vrlo korisna, jer se usporedbom mjera između populacija iste vrste stječe uvid u morfometrijske razlike između pojedinih populacija. Ako se kranimetrija provodi unutar iste populacije, stječu se podaci o standardnim veličinama životinja određene populacije i utvrđuje se eventualna prisutnost jednog ili više morfoloških tipova. Lešine morskih sisavaca uglavnom imaju vrlo dobro očuvane lubanje te su one zbog toga idealne za istraživanja (Liebig i sur., 2003). Kost lubanja pokazuju varijacije u veličini i obliku, ovisno o ontogenezi, spolu, geografskoj lokaciji i populaciji (Turner and Worthy, 2003). Kranimetrija kod dupina može se koristiti kako bi se procijenili morfološki dokazi izolacije i diferencijacije određenih populacija iste vrste (Loy i sur., 2010).

Istraživanja kranimetrije plavobijelih dupina proveli su Carlini i sur. (2013) koji su mjerili lubanje 67 plavobijelih dupina iz talijanskih voda, zatim Kiani i sur. (2013) koji su pronašli jednog dupina u pakistanskim vodama Indijskog oceana., Van Waerebeek i sur. (1998) su napravili kranimetrijska mjerenja dvaju plavobijelih dupina nađenih s tiho-oceanske strane Južne Amerike, od granice Paname i Kolumbije do rta Cape Horn, te su Ito i Miyazaki (1990) istraživali kosture 38 plavobijelih dupina iz japanskog dijela Tihog oceana.

Mitohondrijska DNA (mtDNA) je ekstra-nuklearna, haploidna i nerekombinirajuća DNA koja se nalazi u mitohondriju. Budući da se mitohondriji uglavnom nasljeđuju po majci, i mtDNA se nasljeđuje niz majčinsku liniju. MtDNA sadrži više segmenata, a najbrže evoluirajući segment, tzv. kontrolna regija, varijabilna je na intraspecijskom nivou što ju čini vrlo dobrom za istraživanja genetičke raznolikosti populacija, filogenije i forenzike (Kohn i Wayne, 1997; Galov i sur., 2009). Koristi se i u istraživanjima geografske varijabilnosti, specijacije, procesa hibridizacije, protoka gena, populacijske strukture i slično (García-Martínez i sur., 1995). Drugi razlog koji kontrolnu regiju mtDNA čini tako pogodnom za istraživanja jest što je omeđena vrlo konzerviranim sekvencama, idealnim za prijanjanje univerzalnih početnica tijekom amplifikacije lančanom reakcijom polimerazom. Kontrolna regija vrlo je osjetljiva na demografske promjene, poput učinka uskog grla i povećanja populacija zbog svoje haploidne prirode (Svetličić i sur., 2019).

Genetička raznolikost plavobijelih dupina u Jadranu istražena je, do sada, samo u jednom radu (Galov i sur., 2009). Analizirana je mtDNA plavobijelih dupina koja je uspješno ekstrahirana iz mišića 10 jedinki. Za genetičku analizu korišteno je 12 mikrosatelitskih lokusa kontrolne regije mtDNA. Na temelju malog ukupnog broja pronađenih jedinki (15 plavobijelih dupina u odnosu na 99 dobrih dupina (lat. *Tursiops trunactus* (Montagu, 1821)) pronađenih u istom razdoblju u hrvatskom dijelu Jadranskoga mora) te zbog

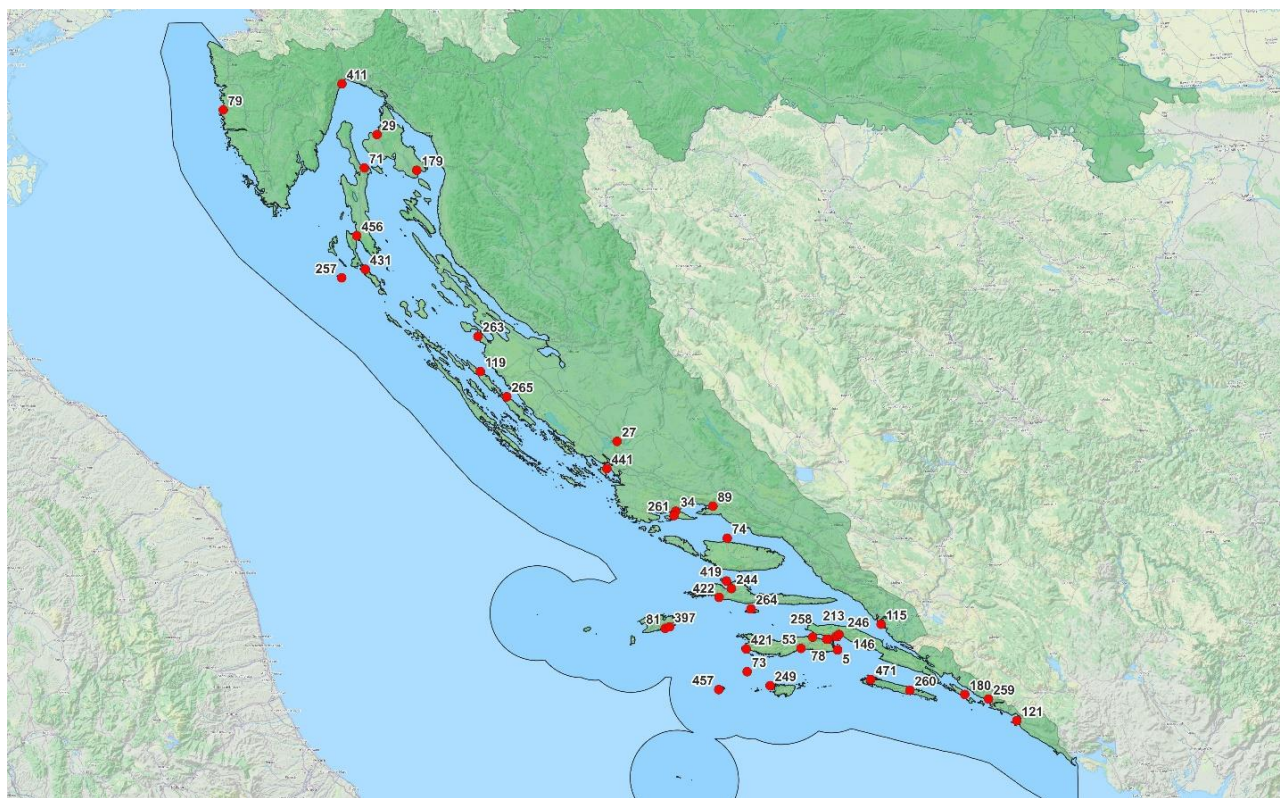
utvrđenog velikog broja različitih haplotipova (7 različitih haplotipova u ukupno 10 proučavanih sekvenci mtDNA plavobijelih dupina) Galov i sur. (2009) zaključili su da plavobijeli dupin nije rezidentna vrsta u Jadranskom moru. Izolirani haplotipovi odgovarali su haplotipovima pronađenim u Sredozemnom moru, sve do Francuske i Španjolske.

1.1 Ciljevi

Cilj ovog rada je na temelju vrijednosti kranimetrijskih mjera plavobijelih dupina koji su uginuli u hrvatskom dijelu Jadranskog mora odrediti njihove morfometrijske osobitosti. Također, cilj je molekularnom analizom nukleotidnih sljedova kontrolne regije mtDNA procijeniti genetičku raznolikost plavobijelih dupina koji su nađeni na ovom području. Dobiveni rezultati bit će uspoređeni s dostupnim podacima o plavobijelim dupinima drugih populacija te će se utvrditi njihove morfološke i genetičke sličnosti i razlike.

2. Materijali i metode

Lubanje i uzorci tkiva plavobijelih dupina korištene u ovom radu pripadaju jedinkama koje su pronađene mrtve od 1990. do 2020. duž hrvatskog dijela Jadranskog mora (slika 1). Uginule jedinke su pregledane te se podaci o nalazima, fotodokumentacija, uzorci tkiva i kosturi, čuvaju u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Osnovni podaci za svih 40 jedinki pronađenih u navedenom periodu prikazani su u tablici 1. Za kranimetrijsku analizu koristila sam lubanje 30 jedinki, jer mi ih 10 nije bilo dostupno. Dupinima identifikacijskih oznaka 260, 264, 397, 421, 422, 431, 441, 456, 457 i 471 nisam mogla mjeriti lubanje jer iz različitih razloga nisu bile na raspolaganju. Za molekularnu analizu kontrolne regije mtDNA koristila sam DNA 14 jedinki iz hrvatskog dijela Jadranskog mora (tablica 1).



Slika 1. Lokacije nalaza plavobijelih dupina u hrvatskom dijelu Jadranskog mora od 1990. do 2020.

Tablica 1. Osnovni podaci o plavobijelim dupinima pronađenim od 1990. do 2020. u hrvatskom dijelu Jadranskog mora. (ID= identifikacijski broj dupina, nep= nepoznato, m= muški, ž= ženski, a= adulta jedinka, j= juvenilna jedinka, ml= mladunče, G= analizirali Galov i sur. (2009))

ID	datum pronalaska	geografska širina	geografska dužina	spol	dobna skupina	ukupna tjelesna duljina (cm)	ukupna tjelesna masa (kg)	kraniome trijska analiza	mtDNA analiza
5	ljetu 1992	42,917	17,190	-	a	-	-	da	ne
27	23.06.1999	43,817	15,933	m	a	198	99	da	G
29	18.07.1999	45,119	14,517	ž	j	171	28,5	da	-
34	14.11.1999	43,518	16,269	m	j	140	40	da	G
53	15.03.2001	42,927	16,980	m	a	185	72	da	G
71	19.01.2002	44,977	14,443	m	a	208	99	da	G
73	05.02.2002	42,833	16,667	ž	a	207	89,5	da	G
74	08.02.2002	43,400	16,567	ž	a	199	100	da	G
78	21.02.2002	42,973	17,183	ž	a	202	86	da	da
79	25.02.2002	45,216	13,595	ž	a	198	91	da	G
81	30.03.2002	43,023	16,199	m	a	188	66,7	da	-
89	21.06.2002	43,537	16,487	m	a	209	98	da	G
115	16.04.2004	43,020	17,445	ž	a	197	96	da	G
119	29.05.2004	44,117	15,133	-	a	187	-	da	-
121	04.07.2004	42,593	18,207	ž	a	203	68	da	G
146	12.12.2005	42,963	17,137	ž	a	179	77	da	da
179	11.01.2008	44,968	14,756	m	a	192	59	da	da
180	06.02.2008	42,712	17,914	ž	a	204	68	da	ne
213	06.04.2010	42,963	17,129	ž	ml	15	109	da	da
244	24.01.2011	43,186	16,585	m	a	213	89	da	-
246	11.03.2011	42,982	17,201	m	a	206	80	da	da
249	22.04.2011	42,772	16,797	m	a	214	75	da	-
257	17.01.2012	44,511	14,313	m	a	201	75	da	da
258	25.01.2012	42,973	17,048	m	a	208	83	da	-
259	27.01.2012	42,689	18,049	ž	a	210	73	da	da
260	02.02.2012	42,737	17,599	-	-	-	-	ne	ne
261	09.02.2012	43,500	16,259	m	a	213	69	da	da
263	16.02.2012	44,265	15,119	m	a	210	78	da	da
264	17.03.2012	43,098	16,696	-	-	-	-	ne	ne
265	01.04.2012	44,009	15,288	m	a	198	89	da	da
397	04.02.2017	43,029	16,224	ž	j	-	-	ne	ne
411	15.07.2017	45,333	14,305	ž	a	196	57	da	da
419	05.09.2017	43,219	16,557	m	a	213	67	da	da
421	12.09.2017	42,929	16,664	ž	ml	94	9,6	ne	da
422	12.09.2017	43,150	16,513	-	-	-	-	ne	ne
431	15.02.2018	44,548	14,453	m	a	197	58,8	ne	da
441	20.08.2018	43,702	15,871	m	a	-	-	ne	ne
456	12.06.2019	44,690	14,400	-	-	-	-	ne	ne
457	07.07.2019	42,760	16,501	-	-	-	-	ne	ne
471	23.11.2019	42,787	17,377	ž	a	208	-	ne	ne

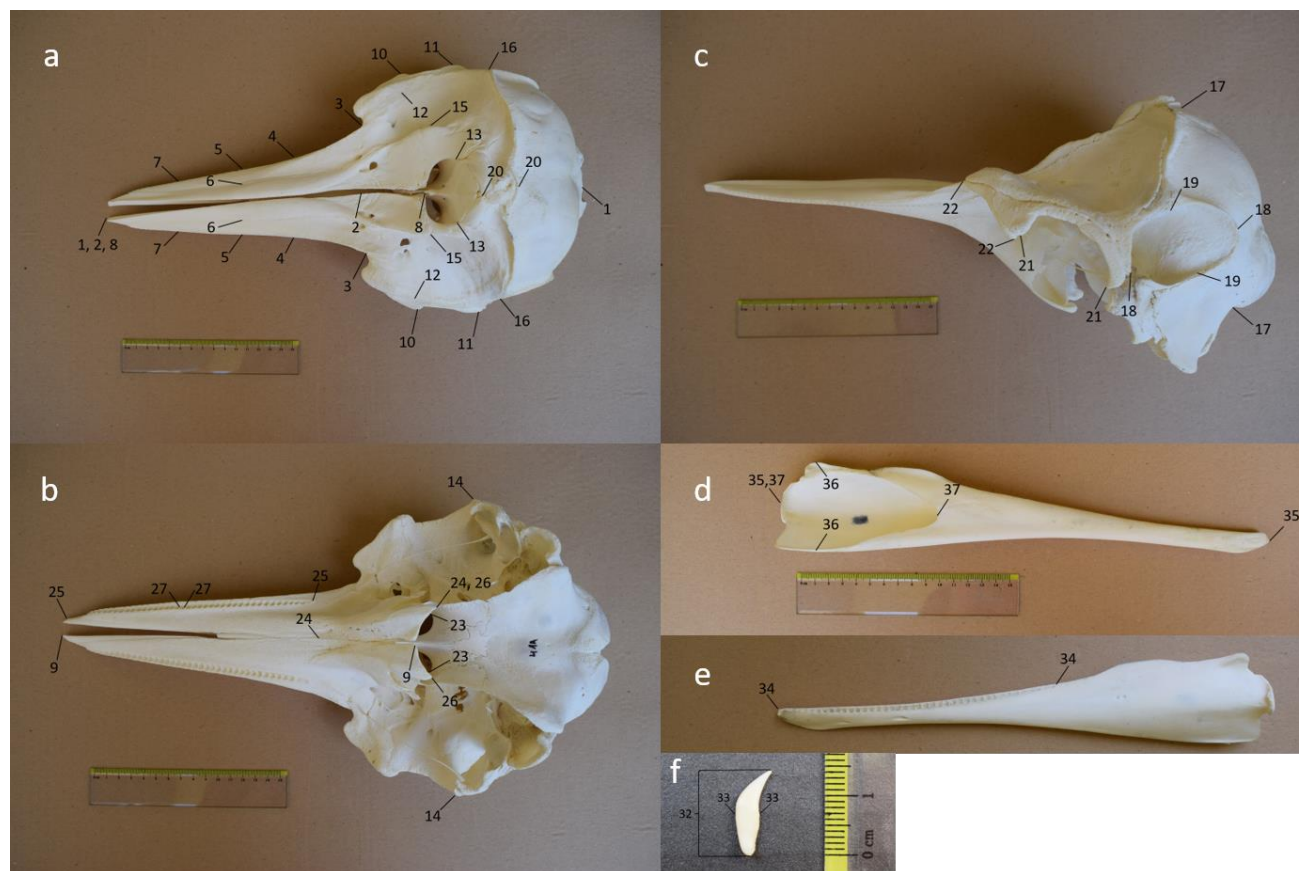
2.1 Kraniometrija

Ukupni broj lubanja obuhvaćen ovim istraživanjem je 30. Na svakoj od 30 lubanja mjerila sam 37 mjera i merističkih osobitosti (tablica 2, slika 2). Pri mjerenju koristila sam pomičnu mjerku i metar te su veličine zaokružene na najbližih 0,01 cm. Mjere i način mjerenja modificirani su prema Đuras i sur. (2014).

Tablica 2. Mjere lubanje i merističke osobitosti plavobijelog dupina korištene u ovom radu (modificirano prema Đuras i sur., 2014)

Oznaka	Naziv mjere
1	Kondilobazalna duljina
2	Duljina rostruma
3	Širina rostruma na bazi
4	Širina rostruma 60 mm oralno od linije koja spaja kaudalne rubove usjeka oralno uz očnicu
5	Širina rostruma na polovici njegove duljine
6	Širina sjekutične kosti na polovici duljine rostruma
7	Širina rostruma na $\frac{3}{4}$ njegove duljine mjerene od njegove baze
8	Udaljenost vrha rostruma do medijalnog kraja poprečnog kaudalnog ruba desne sjekutične kosti
9	Udaljenost vrha rostruma do hoana mjerena do ventromedijalnog kraja kaudalnog ruba desne krilaste kosti
10	Najveća preorbitalna širina
11	Najveća postorbitalna širina
12	Najmanja supraorbitalna širina
13	Najveća širina otvora između lijeve i desne sjekutične kosti
14	Najveća širina između jagodičnih izdanaka sljepoočne kosti
15	Najveća širina sjekutičnih kostiju
16	Najveća parietalna širina
17	Vanjska okomita visina lubanjske šupljine mjerena od sredine trupa bazisfenoida do najdorzalnije točke zatiljne kosti, ne uključujući supraokcipitalni greben
18	Najveća duljina posttemporalne jame
19	Najveća širina posttemporalne jame (pravi kut prema 18)
20	Udaljenost od oralnog spoja nosnih kostiju do najkaudalnije točke supraokcipitalnog grebena
21	Duljina očnice
22	Duljina antorbitalnog izdanka lijeve suzne kosti
23	Najveća širina hoana
24	Najveća duljina lijevog kaudoverbalnog izdanka krilaste kosti
25	Duljina gornjeg lijevog niza zubnica
26	Razmak između najlateranijih točaka kaudoverbalnih izdanaka krilastih kostiju
27	Najveći promjer središnje zubnice lijeve gornje čeljusti
28	Broj zubiju u lijevoj gornjoj čeljusti (broj udubina)
29	Broj zubiju u desnoj gornjoj čeljusti (broj udubina)
30	Broj zubiju u lijevoj donjoj čeljusti (broj udubina)
31	Broj zubiju u desnoj donjoj čeljusti (broj udubina)
32	Najveća visina zuba
33	Najveća širina zuba
34	Duljina donjeg lijevog niza zubnica
35	Najveća duljina grane lijeve donje čeljusti
36	Najveća visina grane lijeve donje čeljusti (pod pravim kutem od 35)
37	Duljina mandibularnog otvora

Podatci o dobnoj skupini, spolu i ukupnoj tjelesnoj duljini preuzeti su iz obrazaca za postmortalni pregled morskih sisavaca Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Za potrebe izračuna standardnih kranimetrijskih vrijednosti plavobijelih dupina pronađenih u Jadranskom moru i njihove usporedbe s vrijednostima plavobijelih dupina iz drugih mora korištene su mjere samo adultnih jedinki.



Slika 2. Mjere lubanje i merističke osobitosti plavobijelog dupina. Broj mjere odgovara nazivu iz tablice 2. a – lubanja dorzalno, b – lubanja ventralno, c – lubanja lateralno, d – medijalna strana donje lijeve čeljusti, e – lateralna strana donje lijeve čeljusti, f - zub

Dobivene podatke sam statistički obradila u programima Statistica 13 i Excel 2016 kako bih dobila srednje vrijednosti, standardne devijacije, varijance, minimalne i maksimalne vrijednosti. Pomoću programa Statistika usporedila sam razlike među spolovima t-testom, p-vrijednost $<0,05$. Pri usporedbi dobivenih podataka s drugim istraživanjima koristila sam podatke iz radova Carlini i sur. (2013) te Ito i Miyazaki (1990). Kiani i sur. (2013) obradili su samo jednu lubanju, dok su Van Waerebeek i sur. (1998) obradili dvije, te ih, zbog premalog broja uzoraka, nisam uzela u obzir prilikom usporedbe.

2.2 Mitochondrijska DNA

Uzorci tkiva mišića plavobijelih dupina čuvaju u epruvetama u 70%-tnom etilnom alkoholu na -20°C u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Koristila sam 22 uzoraka plavobijelih dupina iz Hrvatske, od kojih je iz 18 već ranije izolirana DNA te se čuva u deioniziranoj vodi na -20°C na Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Uz njih, korišteni su i uzorci plavobijelih dupina pronađenih na obalama Italije. Od njih 12, samo su 3 pronađena na Jadranskoj strani Italije (T214, T218 i T221), dok su ostali sa zapadne obale Italije, Ligurskog mora (T119, T120, T153, T154, T157, T167, T170, T212, T222). Uzorci plavobijelih dupina iz Italije dobiveni su 2014. godine ljubaznošću Maristelle Giurisato, Mediterranean Marine Mammals Tissue Bank, Sveučilište u Padovi.

2.2.1 Izolacija DNA

Budući da je iz većine uzoraka DNA bila izolirana za ranija istraživanja, ja sam izolirala DNA iz tkiva samo četiriju uzoraka: 411, 419, 421 i 431. Pri izolaciji DNA iz tkiva koristila sam komplet Wizard Genomic DNA Purification Kit, Promega. Prvo sam u tubice od 1.5 mL dodala po 300 µL otopine *Nuclei Lysis Solution* kojeg sam prethodno promiješala. Usitnila sam pet do 10 mg tkiva svakog uzorka skalpelom te dodala u tubice. Tubice sam centrifugirala 15 s na maksimalnoj brzini. U svaku tubicu sam stavila 1.5 µL proteinaze K (20 mg/mL) te vorteksirala 15 s na maksimalnoj brzini. Tubice sam inkubirala preko noći na 55°C uz povremeno miješanje. Sljedeći dan sam pustila tubice da se ohlade na sobnu temperaturu, centrifugirala ih 15 s na maksimalnoj brzini te dodala po 100 µL otopine *Protein Precipitation Solution* u svaku tubicu. Tubice sam, zatim, ostavila 5 min na ledu. Centrifugirala sam tubice 3 min na 13 000. U talogu su pri tome ostali proteini, a DNA u supernatantu. U nove tubice od 1.5 mL sam stavila po 300 µL 100% etanola. Po 420 µL supernatanta iz starih tubica sam odpipetirala u nove te ih 8 puta pažljivo promiješala okretanjem. Centrifugirala sam tubice 1 min na 13 000. DNA je ostala u talogu, zbog čega sam dekantirala supernatant. Dodala sam po 300 µL 70% etanola u svaku tubicu i promiješala okretanjem. Centrifugirala sam tubice 1 min na 13 000 te odpipetirala supernatant. Preokrenula sam tubice na čisti filter papir i ostavila ih 60 min da se suše na zraku. Na kraju sam dodala 50 µL otopine *DNA Rehydration Solution* i inkubirala preko noći na 4°C te čuvala na istoj temperaturi u hladnjaku.

2.2.2 Mjerenje koncentracije DNA fluorimetrom

Uzorcima, čija je DNA izolirana ranije ranije te onima iz kojih sam sama izolirala DNA, izmjerila sam koncentraciju DNA pomoću fluorimetra kako bih točno podesila volumen DNA za PCR. Pri tome sam koristila dsDNA Broad Range DNA kit koji se sastoji od pufera AccuBlue Buffer, pojačivača AccuBlue Enhancer i boje AccuBlue Dye. Prvo sam ostavila otopine da odstoje na sobnoj temperaturi 30 min u tamnoj vrećici. Pojačivač i boju sam zatim kratko vorteksirala i centrifugirala. Radnu otopinu sam napravila

dodavanjem 11,3 mL pufera, 113 μ L pojačivača i 113 μ L boje te sam ju vorteksirala. U svaku fluorimetrijsku tubicu dodala sam 199 μ L radne otopine, osim u dvije fluorimetrijske tubice za standarde, u koje sam dodala 190 μ L radne otopine. Otopine standarda (0 i 200) sam kratko vorteksirala te ih dodala po 10 μ L u njihove fluorimetrijske tubice. U ostale fluorimetrijske tubice dodala sam po 1 μ L DNA. Za kalibraciju fluorimetra prvo sam izmjerila koncentracije standarda 0 pa 200. Zatim sam izmjerila koncentracije svih uzoraka DNA. Uzorci 5, 29, 81, 119, 180, T119, T120, T154 nisu sadržavali DNA, te su isključeni iz daljnje analize.

2.2.3. PCR

Za PCR sam koristila početnice MTCRF (5'-TTCCCCGGTCTTGTAAACC-3') (Hoelzel i Green, 1998) i DupR (5' GGTGAATATCAAAGCAGAGG 3') (Pauk, 2007). Otopinu početnica (PM 10x) sam napravila tako da je koncentracija svake početnice 2 μ M. Za svaki od 26 uzoraka koje sam amplificirala i za negativnu kontrolu, dodala sam u pojedinačnu tubicu za PCR po 20 μ L glavne PCR otopine 2x (koja sadrži Taq DNA polimerazu, dNTP, $MgCl_2$ i reakcijski pufer) te 4 μ L PM 10x. Za uzorke čija je koncentracija DNA bila manja od 20 ng/ μ L (uzorci: 419 i 431) u tubicu sam dodala po 16 μ L otopine određene DNA. Za uzorke čija je koncentracija DNA bila od 20 do 200 ng/ μ L (uzorci: 78, 146, 179, 244, 246, 249, 257, 258, 259, 261, 263, 265, 411, 421, T153, T157, T167, T214, T218, T221, T222) u tubicu sam dodala 12 μ L destilirane vode i 4 μ L otopine određene DNA. Za uzorke čija je koncentracija DNA bila veća od 200 ng/ μ L (uzorci: 213, T170, T212) u tubicu sam dodala 14 μ L destilirane vode i 2 μ L otopine određene DNA. U tubicu za negativnu kontrolu stavila sam 16 μ L destilirane vode. Zatim sam tubice stavila u PCR aparat na program: 95°C 3 min; 36 ciklusa 94°C 30 s, 61°C 90 s, 72°C 90 s; 72°C 20 min; 4°C ∞ .

2.2.4 Elektroforeza u agaroznom gelu

. Za elektroforezu u agaroznom gelu, napravila sam 2 agarozna gela, svaki od 40 mL TBE pufera, 0,4 g agaroze i 4 μ L Syber Safe boje. Agarozu sam stavila u pufer i zagrijavala iznad plamenika dok se agarozna nije otopila. Zatim sam dodala boju i izlila tekući gel u kalup. Dodala sam češalj za jažice i pričekala 20 min da se gel stvrdne. Izvadila sam češalj, stavila gel u kadu za elektroforezu koja je bila ispunjena s TBE puferom. Gel sam orijentirala tako da su jažice bliže katodi. Na parafilmu sam pomiješala po 4 μ L PCR proizvoda s 3 μ L pufera za nanošenje uzorka. Tako pripremljene otopine od 7 μ L prenijela sam u jažice te u zadnju jažicu u svakom gelu dodala marker BenchTop 100bp DNA Ladder za usporedbu veličine DNA fragmenata. Uređaj za elektroforezu podesila sam na 30 min pod naponom od 90 V i jakosti struje 400 mA. Na kraju sam gelove odnijela pod UV svjetlo i slikala ih pomoću uređaja za slikanje gelova.

2.2.5 Sekvenciranje PCR produkta

U tubice za slanje PCR produkta ispipetirala sam po 37 μ L uspješnih PCR produkata, označila tubice i poslala ih poštom u MacroGen servis na sekvenciranje.

2.2.6 Analiza sekvenci

Analizirala sam ukupno 23 sekvence, od čega je 14 pripadalo plavobijelim dupinima nađenim u hrvatskim vodama Jadranskog mora, tri su pripadale dupinima iz talijanskog dijela Jadranskog mora, a šest dupinima iz talijanskog dijela Ligurskog mora. Tome sam pridodala 10 sekvenci koje su obradili Galov i sur. (2009). U programu BioEdit 7.2 (Hall, 1999) sam od svih sekvenci, čije su početnice bile DupR, napravila reverzne komplemente. Zatim sam njih i sekvence s početnicama MTCRF poravnala s haplotipovima P1 – P7 (Galov i sur., 2009) te ih skratila na 737 bp. Za daljnju analizu dobivenih sekvenci koristila sam programe Mega X (Kumar i sur., 2018) te DnaSP 6 (Rozas i sur., 2017). Na temelju poravnatih sekvenci izračunala sam nukleotidnu raznolikost, broj haplotipova, haplotipsku raznolikost, broj polimorfnih mjesta te frekvenciju svakog haplotipa.

3. Rezultati

3.1 Kranijometrija

Od ukupno 30 lubanja obuhvaćenih ovim istraživanjem, 12 lubanja pripadalo je ženka, 16 mužjacima, a spol nije bio poznat u dva slučaja. Ukupno 27 lubanja pripadalo je odraslim jedinkama, dok su tri pripadale juvenilnim jedinkama. Tri lubanje juvenilnih jedinki nisam koristila za potrebe izračuna standardnih kranijometrijskih vrijednosti plavobijelih dupina pronađenih u Jadranskom moru i njihove usporedbe s vrijednostima plavobijelih dupina iz drugih mora. Rezultati statističke obrade svih podataka i usporedbe kranijometrijskih podataka za mužjake i ženke prikazani su u tablici 3, dok je usporedba kranijometrijskih podataka za plavobijele dupine Jadrana s onima iz mora oko Italije i japanskog dijela Tihog oceana prikazana u tablici 4.

U mužjaka su utvrđene veće duljine (2) i širine rostruma (4,5), veća kondilobazalna duljina (1), veća duljina (18) i širina postemporalne jame (19). Mužjaci u svim čeljustima imaju veći broj zubiju nego ženke (28, 29, 30, 31). Zubi mužjaka su širi (33) i duljina zubnice je veća (25, 34). Pri tome je statistički značajna razlika potvrđena pri sljedećim vrijednostima: broj zubiju u desnoj gornjoj čeljusti (29), udaljenost vrha rostruma od medijalnog kraja poprečnog kaudalnog ruba desne sjekutične kosti (8) i duljina rostruma (2). U ženki je utvrđena veća postorbitalna širina (11), parijetalna širina (16), duljina očnice (21) i širina hoana (23), te supraorbitalna širina (12). Od toga je statistički značajna razlika u duljini očnice (21). Mjere koje su bile vrlo slične u mužjaka i ženki su širina rostruma na bazi (3), udaljenost vrha rostruma od hoana (9), širina otvora između sjekutičnih kostiju (13), širina između jagodičnih izdanaka sljepoočnih kostiju (14), širina sjekutičnih kostiju (15), najveći promjer zubnice (27) i duljina mandubilarnog otvora (37). Mjere koje su gotovo jednake u adultnih mužjaka i ženki (p -vrijednost $>0,9$) su preorbitalna širina (10), vanjska okomita visina lubanje (17), visina zuba (32), duljina (35) i visina grane donje čeljusti (36). Budući da su krilaste kosti na većini lubanja bile slomljene, uzorak za mjere 24 i 26 je premalen da bi se uspoređivao.

Tablica 3. Prikaz srednjih kranimetrijskih vrijednosti plavobijelih dupina Jadranskog mora. (SD = standardna devijacija, N =broj validnih uzoraka, min =najmanja izmjerena vrijednost, max = najveća izmjerena vrijednost, * $p<0,05$).

Oznaka mjere	Svi plavobijeli dupini (SD, N)	Svi plavobijeli dupini (min-max) (cm)	Mužjaci (SD, N)	Ženke (SD, N)	p vrijednost
1	40,57±1,96 (23)	34,5-43,6	40,81±2,43 (12)	40,19±1,33 (9)	0,499196
2	23,40±1,23 (24)	21,4-25,5	23,92±1,20 (13)	22,68±1,01 (9)	0,019308*
3	9,89±0,36 (27)	9,1-10,8	9,87±0,42 (15)	9,93±0,34 (10)	0,694296
4	6,90±0,30 (25)	6,3-7,4	6,96±0,24 (13)	6,74±0,34 (10)	0,081095
5	6,13±0,34 (23)	5,3-6,9	6,18±0,26 (13)	5,98±0,44 (8)	0,187531
6	3,04±0,20 (24)	2,7-3,4	3,08±0,23 (13)	3,00±0,19 (9)	0,378021
7	5,14±0,32 (24)	4,2-5,7	5,25±0,23 (13)	4,99±0,42 (9)	0,079436
8	28,25±1,36 (24)	25,3-30,2	28,77±1,21 (13)	27,48±1,33 (9)	0,028001*
9	26,97±2,41 (24)	18,5-30,7	26,98±3,04 (13)	26,62±1,48 (9)	0,750584
10	18,44±0,67 (27)	17,5-20	18,40±0,66 (15)	18,38±0,77 (10)	0,945116
11	20,45±0,58 (22)	19,5-22	20,35±0,69 (13)	20,64±0,48 (7)	0,325268
12	18,96±0,63 (24)	18-20	18,86±0,69 (14)	19,13±0,64 (8)	0,380650
13	4,69±0,27 (27)	4,2-5,4	4,68±0,23 (15)	4,73±0,36 (10)	0,674383
14	18,45±1,32 (22)	16,5-21	18,23±1,29 (11)	18,39±1,43 (9)	0,793809
15	7,94±0,33 (27)	7,2-8,5	7,91±0,38 (15)	7,98±0,29 (10)	0,642591
16	16,92±0,77 (24)	15-18	16,75±0,89 (14)	17,13±0,64 (8)	0,310964
17	11,80±0,69 (22)	11-13	11,79±0,72 (12)	11,75±0,80 (8)	0,904958
18	6,52±0,37 (23)	5,8-7,1	6,58±0,34 (12)	6,43±0,46 (9)	0,430499
19	4,67±0,38 (25)	3,7-5,4	4,73±0,37 (13)	4,58±0,43 (10)	0,373544
20	2,50±0,55 (22)	1,1-3,5	2,67±0,39 (12)	2,20±0,73 (8)	0,078494
21	4,97±0,33 (25)	4,5-6	4,84±0,23 (14)	5,18±0,40 (9)	0,016157*
22	4,94±0,37 (23)	4,2-5,8	4,97±0,41 (12)	4,83±0,34 (9)	0,436279
23	5,53±0,31 (27)	4,8-6,5	5,44±0,28 (15)	5,65±0,36 (10)	0,114482
24	7,39±0,42 (7)	6,7-7,8	7,63±0,15 (3)	6,75±0,07 (2)	0,005157*
25	19,94±1,36 (24)	17,5-22	20,38±1,28 (13)	19,30±1,34 (9)	0,071689
26	4,69±0,27 (7)	4,1-5	4,80±0,10 (3)	4,35±0,35 (2)	0,110733
27	0,52±0,05 (25)	0,4-0,6	0,52±0,04 (13)	0,53±0,07 (10)	0,768658
28	40,17±2,94 (24)	34-44	40,85±2,67 (13)	38,89±3,26 (9)	0,137893
29	39,83±3,10 (24)	34-44	41,23±2,45 (13)	37,44±2,83 (9)	0,003248*
30	39,09±2,84 (23)	34-43	39,92±3,06 (12)	38,11±1,76 (9)	0,130896
31	38,96±3,86 (24)	32-45	40,08±4,05 (13)	37,33±2,45 (9)	0,085669
32	1,69±0,15 (23)	1,4-2,1	1,69±0,17 (14)	1,69±0,14 (8)	0,979633
33	0,41±0,04 (23)	0,3-0,5	0,41±0,04 (14)	0,40±0,05 (8)	0,463191
34	19,75±1,20 (24)	16,9-21,4	19,95±1,26 (13)	19,61±0,71 (9)	0,479755
35	34,50±2,09 (23)	27,1-37,2	34,52±2,59 (13)	34,60±1,15 (8)	0,931791
36	6,63±0,27 (24)	6,1-7,1	6,65±0,24 (14)	6,65±0,33 (8)	1,000000
37	11,90±0,65 (25)	11-13,1	11,91±0,70 (14)	11,98±0,69 (9)	0,813932

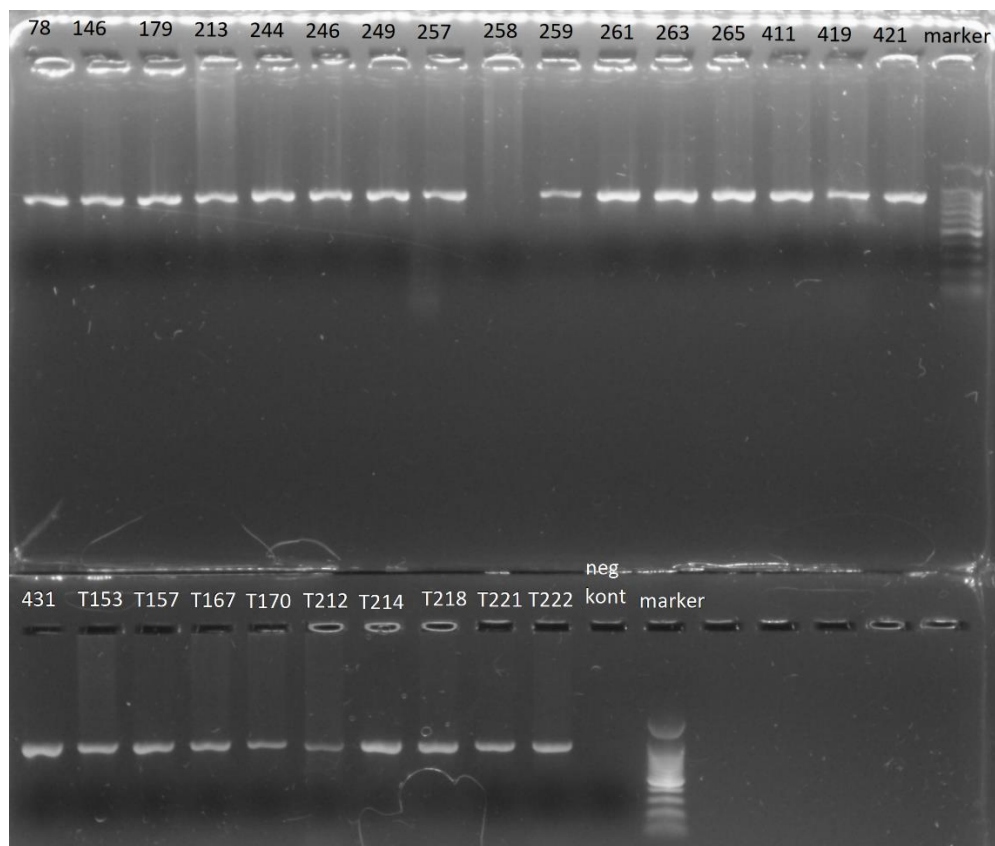
Tablica 4. Usporedba kranimetrijskih osobitosti plavobijelih dupina iz Jadranskoga mora s plavobijelim dupinima iz mora oko Italije (Carlini i sur., 2013) i japanskog dijela Tihog oceana (Ito i Miyazaki, 1990) (SD = standardna devijacija, N = broj validnih uzoraka, * $p < 0,05$).

Plavobijeli dupini iz hrvstskog dijela Jadranskoga mora		Carlini i sur, 2013			Ito i Miyazaki, 1990	
Oznaka mjere	Srednja vrijednost (SD, N)	Oznaka mjere	Srednja vrijednost (SD, N) - mužjaci	Srednja vrijednost (SD, N) - ženke	Oznaka mjere	Srednja vrijednost (SD, N)
1	40,57±1,96 (23)	1	40,3±1,3 (17)	40,8±2,2 (11)	1	45,8±1,6 (22)*
2	23,40±1,23 (24)	2	22,5±2,2 (17)	22,8±2,4 (11)	2	27,4±1,3 (22)*
3	9,89±0,36 (27)	3	10,1±0,7 (17)	10,2±0,8 (11)	3	11,2±0,6 (22)*
4	6,90±0,30 (25)	4	7,0±0,5 (17)	6,8±0,6 (11)	4	m 7,8±0,4 (12)* ž 7,4±0,5 (10)*
5	6,13±0,34 (23)	5	6,1±0,5 (17)	5,8±0,5 (11)*	5	m 6,5±0,3 (12)* ž 6,0±0,3 (10)
6	3,04±0,20 (24)	6	2,9±0,3 (17)	2,9±0,3 (11)	6	m 3,3±0,2 (12)* ž 2,9±0,3 (10)
7	5,14±0,32 (24)	7	5,0±0,5 (16)	4,6±0,5 (11)*	7	m 5,1±0,4 (12) ž 4,5±0,2 (10)*
8	28,25±1,36 (24)	8	26,1±1,7 (17)*	26,1±2,4 (11)*	8	32,7±1,5 (22)*
9	26,97±2,41 (24)	9	25,0±1,3 (15)*	24,6±1,6 (11)*	9	33,1±1,5 (21)*
10	18,44±0,67 (27)	10	18,3±1,1 (17)	18,4±1,0 (10)	10	20,2±0,8 (22)*
11	20,45±0,58 (22)	11	20,6±1,1 (17)	19,9±1,1 (11)	11	22,2±0,8 (22)*
12	18,96±0,63 (24)	12	18,2±1,1 (17)	17,8±1,0 (11)*	12	19,9±0,7 (22)*
13	4,69±0,27 (27)	13	4,6±0,3 (17)	4,6±0,3 (11)	13	4,7±0,3 (22)
14	18,45±1,32 (22)	14	19,1±0,8 (17)	19,1±0,9 (11)	14	22,0±0,7 (22)*
15	7,94±0,33 (27)	15	8,1±0,4 (17)	8,0±0,3 (11)	15	8,6±0,5 (22)*
16	16,92±0,77 (24)	16	16,3±0,8 (17)*	14,9±3,0 (11)*	16	18,7±0,6 (22)*
17	11,80±0,69 (22)				17	11,4±0,5 (22)*
18	6,52±0,37 (23)	17	6,6±0,5 (17)	6,7±0,4 (11)	18	6,5±0,6 (22)
19	4,67±0,38 (25)	18	5,2±0,3 (17)*	5,0±0,4 (11)*	19	4,5±0,4 (22)
20	2,50±0,55 (22)	22	2,8±0,5 (17)	2,8±0,8 (11)		
21	4,97±0,33 (25)	23	5,1±0,2 (17)	5,0±0,3 (11)	23	5,2±0,3 (22)*
22	4,94±0,37 (23)	24	5,1±0,4 (17)	5,1±0,4 (11)	24	5,7±0,5 (22)*
23	5,53±0,31 (27)	25	5,5±0,4 (17)	5,7±0,8 (11)	25	6,7±0,4 (22)*
24	7,39±0,42 (7)	26	8,0±1,3 (14)	6,9±1,5 (9)	26	8,6±0,7 (21)*
25	19,94±1,36 (24)	29	19,8±1,1 (16)	22,1±5,0 (10)	32	23,9±1,0 (22)*
26	4,69±0,27 (7)					
27	0,52±0,05 (25)					
28	40,17±2,94 (24)	30	39,3±4,6 (15)	40,7±3,6 (8)		
29	39,83±3,10 (24)	31	39,7±5,1 (16)	40,6±3,8 (8)		
30	39,09±2,84 (23)	32	40,0±3,0 (16)	39,6±2,8 (8)		
31	38,96±3,86 (24)	33	39,4±3,5 (16)	37,8±8,1 (8)		
32	1,69±0,15 (23)					
33	0,41±0,04 (23)					
34	19,75±1,20 (24)	34	19,9±1,0 (17)	21,7±4,4 (11)*	37	23,3±1,2 (22)*
35	34,50±2,09 (23)	35	34,3±1,5 (17)	32,7±8,9 (11)	38	39,2±1,5 (22)*
36	6,63±0,27 (24)	36	6,7±0,2 (17)	7,0±1,5 (11)	39	7,1±0,3 (22)*
37	11,90±0,65 (25)	37	11,8±0,6 (17)	12,0±0,6 (10)	40	13,0±0,8 (22)*

U odnosu na plavobijele dupine iz mora oko Italije (Carlini i sur., 2013) plavobijeli dupini iz Jadranskoga mora imaju manju širinu rostruma na bazi (3), širinu između jagodičnih izdanaka sljepoočne kosti (14), širinu sjekutičnih kostiju (15), duljinu (18) i širinu posttemporalne jame (19), udaljenost od nosnih kostiju do supraokcipitalnog grebena (20), duljinu antorbitalnog izdanka lijeve suzne kosti (22), duljinu gornjeg (25) i donjeg niza zubnica (34) i visinu grane donje čeljusti (36), od čega je statistički značajna razlika u širini posttemporalne jame (19), duljini donjeg niza zubnica kod ženki (34). Suprotno tome imaju veću duljinu rostruma (2), širinu rostruma (5, 7) i sjekutičnih kostiju (6), udaljenost vrha rostruma od hoana (9), supraorbitalnu širinu (12), parijetalnu širinu (16) i duljinu grane donje čeljusti (35), pri čemu postoji statistički značajna razlika u širini rostruma na $\frac{3}{4}$ njegove duljine kod ženki (7), udaljenosti vrha rostruma od hoana (9), supraorbitalnoj širini kod ženki (12) te parijetalnoj širini kod ženki (16). Plavobijeli dupini iz mora oko Italije i onih iz Jadranskoga mora imaju slične vrijednosti kondilobazalne duljine (1), preorbitalne (10) i postorbitalne širini (11), širine otvora između lijeve i desne sjekutične kosti (13), duljine očnice (21), širine hoana (23), izdanaka krilaste kosti (24), broja svih zubiju (28, 29, 30, 31) i duljine mandibularnog otvora (37). U odnosu na plavobijele dupine iz japanskog dijela Tihog oceana (Ito i Miyazaki, 1990) dupini iz Jadranskoga mora imaju veću širinu sjekutične kosti na polovici duljine rostruma (6), širinu rostruma na $\frac{3}{4}$ njegove duljine (7), vanjsku okomitu visinu lubanjske šupljine (17) i širinu posttemporalne jame (19). Vrlo su slične vrijednosti širine otvora između lijeve i desne sjekutične kosti (13) i duljine posttemporalne jame (18). U svim ostalim mjerama, plavobijeli dupini iz japanskog dijela Tihog oceana (Ito i Miyazaki, 1990) veći su od plavobijelih dupina iz Jadranskoga mora, pri čemu statistički značajna razlika ne postoji samo kod širine rostruma na polovici njegove duljine kod ženki (5), širine sjekutične kosti kod ženki (6), širine rostruma na $\frac{3}{4}$ njegove duljine kod mužjaka (7), najmanje širine otvora sjekutičnih kostiju (13), te duljine i širine posttemporalne jame (18 i 19).

3.2 Analiza mitohondrijske DNA

Uspješno je umnožen željeni odsječak kontrolne regije mtDNA 25 uzoraka, 16 iz hrvatskog dijela Jadranskog mora i devet iz talijanskih voda. Samo uzorak 258 nije uspješno umnožen pa nije slan na sekvenciranje (slika 3). Pri sekvenciranju nisu uspjela dva uzorka, 244 i 249, tako da su u daljnoj analizi korištene 23 sekvence, od toga 14 iz hrvatskog dijela Jadrana, tri iz talijanskog dijela Jadrana i šest iz Ligurskog mora. Uz to je dodano i 10 sekvenci iz rada Galov i sur. (2009).



Slika 3. Elektroforeza PCR produkata kontrolne regije mtDNA plavobijelih dupina Jadranskog i Ligurskog mora u agaroznom gelu. Označeni s T su uzorci iz talijanskih voda. Desno je na svakom gelu marker BenchTop 100 bp Ladder. (neg kont= negativna kontrola)

Ukupno je pronađeno 14 različitih haplotipova duljine 737 bp kontrolne regije mtDNA, od toga sedam već poznatih iz Galov i sur. (2009), dva nova u Jadranu (P8 i P9) (tablica 5), te pet novih iz Ligurskog mora (P10 – P14)(tablica 6). Ukupan broj polimorfnih mjesta je 38 za svih 14 haplotipova, odnosno 32 za haplotipove iz Jadranskog mora (tablica 7). Sva polimorfna mjesta prikazana su u tablici 7. Najučestalijim haplotipom plavobijelih dupina u Jadranskom moru se pokazao P1 s učestalošću od 37%, zatim P5 s učestalošću od 15%, nakon njega P2 i P6 s učestalošću od 11%. Ostali haplotipovi imali su učestalost manju od 10% (tablica 5).

Tablica 5. Haplotipovi kontrolne regije mtDNA (737 bp) plavobijelih dupina pronađenih u hrvatskom i talijanskom dijelu Jadranskog mora. Uzorci s oznakom S analizirani su u radu Galov i sur. (2009). U istom su radu definirani haplotipovi P1 – P7. Uzorci s oznakom T su iz talijanskog dijela Jadrana.

Oznaka haplotipa	Broj uzoraka	Učestalost haplotipa	Uzorci
P1	10	0,37	S34, S79, S89, 179, 213, 261, 265, 411, 419, 421
P2	3	0,11	S27, S71, T214
P3	1	0,04	S73
P4	1	0,04	S74
P5	4	0,15	S53, 146, 259, T218
P6	3	0,11	S115, 246, 431
P7	2	0,07	S121, 78
P8	2	0,07	257, 263
P9	1	0,04	T221

Tablica 6. Haplotipovi kontrolne regije mtDNA (737 bp) plavobijelih dupina pronađenih u talijanskom dijelu Ligurskog mora. Haplotip P5 je definiran u radu Galov i sur. (2009), dok su ostali haplotipovi novodefinirani.

Oznaka haplotipa	Broj uzoraka	Uzorci
P5	1	T212
P10	1	T153
P11	1	T157
P12	1	T167
P13	1	T170
P14	1	T222

Tablica 7. Polimorfna mjesta u 14 haplotipova kontrolne regije mtDNA (fragment od 737 bp) plavobijelih dupina nađenih u Jadranskom i Ligurskom moru. Polimorfna mjesta u haplotipovima Jadranskog mora (P1-P9) zatamnjena su.

haplotip	75	82	86	96	102	103	112	134	148	203	246	263	271	279	280	281	290	291	298	300	354	367	388
P1	T	A	A	C	T	A	T	G	A	T	A	G	C	T	C	C	C	C	T	T	T	T	T
P2	T	A	A	C	T	A	T	G	A	T	A	G	C	T	C	C	C	C	T	T	T	T	T
P3	T	A	A	C	T	A	T	G	A	T	A	G	C	T	C	C	C	T	T	T	T	T	T
P4	T	G	A	C	C	G	T	G	A	C	G	G	T	C	C	T	C	C	T	G	C	T	T
P5	T	A	A	C	T	A	T	G	A	T	A	G	C	T	C	T	C	C	T	T	T	T	T
P6	T	A	A	C	T	A	T	G	A	T	A	G	C	T	C	C	C	C	T	T	T	T	T
P7	T	A	A	C	T	A	T	G	A	T	G	G	C	T	C	C	C	C	T	T	T	T	T
P8	T	G	G	C	C	A	C	G	A	T	A	A	C	T	T	T	T	C	C	G	C	C	C
P9	T	A	A	C	T	A	T	G	A	T	A	G	C	T	C	C	C	T	T	T	T	T	T
P10	T	G	G	C	C	A	C	G	A	T	A	A	C	T	T	T	C	C	C	G	C	C	C
P11	T	A	A	C	T	A	T	G	A	T	A	G	C	T	C	T	C	C	T	T	T	T	T
P12	T	A	A	C	T	A	T	G	G	T	A	G	C	T	C	T	C	C	T	T	T	T	T
P13	T	G	A	T	C	A	T	A	A	T	G	G	C	T	C	C	T	C	T	G	T	C	C
P14	C	G	A	T	C	A	T	G	A	T	A	A	C	T	C	T	T	T	T	G	C	C	C

haplotip	391	405	448	453	454	475	498	499	502	522	553	601	613	705	726
P1	C	A	C	T	C	T	A	C	A	T	C	A	A	G	A
P2	C	A	C	T	C	C	A	C	A	T	C	A	A	G	A
P3	C	A	C	T	C	T	A	C	A	T	C	A	A	G	A
P4	T	A	T	C	T	C	A	T	G	T	T	A	A	A	A
P5	C	A	C	T	C	T	A	C	A	T	C	A	A	G	A
P6	C	A	C	T	C	T	A	C	A	T	T	A	A	G	A
P7	C	A	C	T	C	T	A	C	A	T	C	A	A	G	A
P8	C	G	T	C	T	C	A	T	A	C	T	G	A	G	G
P9	C	A	C	T	C	C	A	C	A	T	C	A	A	G	A
P10	C	G	T	C	T	C	A	T	A	C	T	G	A	G	G
P11	C	A	C	T	C	T	A	C	A	T	T	A	A	G	A
P12	C	A	C	T	C	T	A	C	A	T	C	A	A	G	A
P13	T	A	T	T	T	T	A	C	A	C	T	G	A	G	A
P14	C	A	T	T	T	T	G	T	A	T	T	G	G	G	A

Na 27 uzoraka iz Jadranskog mora izračunati su indeksi genetičke raznolikosti: haplotipska raznolikost iznosila je 0,832, a nukleotidna raznolikost 0,00729 (tablica 8).

Tablica 8. Indeksi genetičke raznolikosti kontrolne regije mtDNA (737 bp) plavobijelih dupina pronađenih u hrvatskom i talijanskom dijelu Jadranskog mora. (N= broj uzoraka, H= broj haplotipova, Hd= haplotipska raznolikost, Π = nukleotidna raznolikost, S= broj polimorfni mjesta)

N	H	Hd	Π	S
27	9	0,832	0,00729	32

4. Rasprava

4.1. Kranimetrija

Istraživanja morskih sisavaca su izrazito složena i smatraju se zahtjevnijima od istraživanja kopnenih sisavaca. Tako se morfometrijska istraživanja u pravilu provode na uginulim jedinkama jer je živu jedinku teško uloviti. Naime, nakon što se životinja locira, pri čemu može biti bilo gdje u stupcu vode pa se umjesto dvodimenzionalne površine kao na kopnu, pretražuje se trodimenzionalan volumen vode, mora ju se uloviti i obuzdati, pritom pazeći da ju se ne ozlijedi, što je iznimno teško i zahtjevno jer sedacija kitova može uzrokovati gubitak svijest, potonuće i utapanje. U tom je smislu kranimetrija lubanja pronadenih na obalama vrlo dobra metoda istraživanja morfologije pojedinih populacija morskih sisavaca. Čak i kad je stupanj raspadanja lešine visok, kosti ostaju dobro sačuvane. Lubanja je vrlo kompleksna koštana tvorevina s karakterističnim anatomskim strukturama čijim mjerama se može dobiti puno podataka o morfologiji jedinki. Takvi podaci omogućavaju usporedbu različitih populacija ili pak jedinki unutar iste populacije.

Kranimetrijski podaci iz ovog istraživanja pokazuju da mužjaci plavobijelih dupina pronađeni u hrvatskom dijelu Jadranskoga mora imaju dulji rostrum, veći broj zubiju i šire zube. Također, imaju veće posttemporalne jame od ženki, što neki autori povezuju s većim temporalnim mišićima, odnosno hranjenjem većim plijenom (Galatius i sur., 2020). Suprotno tome, ženke imaju generalno veći neurokranijalni dio lubanje te očnice i hoane. Unatoč ovim razlikama, plavobijeli dupini hrvatskog dijela Jadrana ne pokazuju veliku varijaciju između spolova u veličinama mjenjenim u ovom istraživanju. Mjere koje imaju najveću standardnu devijaciju, odnosno najvarijabilnije su, su: udaljenost vrha rostruma od hoana (9), ukupni brojevi svih zubiju (28, 29, 30, 31) te duljina donje čeljusti (35). Sam vrh rostruma i donje čeljusti je s obje strane lateralno bio okrhnut i izlizan kod mnogih lubanja te je nedostajao dio prednjih zubnica što objašnjava varijabilnost u mjerama 28, 29, 30, 31 i 35.

Pri usporedbi rezultata ovog istraživanja s kranimetrijskim vrijednostima plavobijelih dupina iz talijanskih voda (Carlini i sur., 2013) pronađeno je mnogo sličnosti. Dupini iz hrvatskih voda su veći od dupina iz talijanskih voda u 11 mjera, manji u devet te se nisu mnogo razlikovali u 13 mjera. Statistički značajna razlika postoji samo za osam mjera. Iz ovoga se može zaključiti da su plavobijeli dupini koje obitavaju u hrvatskim i talijanskim vodama morfometrijski slični što odgovara njihovom mjestu nalaza. Drugim riječima, geografski su podrijetlom iz istog dijela Sredozemnog mora koje nema prirodne fizičke barijere koja bi sprječavala migraciju plavobijelih dupina iz talijanskih u hrvatske vode.

Za razliku od plavobijelih dupina iz talijanskih voda, oni iz japanskog dijela Tihog oceana (Ito i Miyazaki, 1990) vrlo su različiti od dupina iz hrvatskog dijela Jadrana. U čak 22 mjere su dupini iz japanskog dijela Tihog oceana veći od onih iz hrvatskih voda, manji su samo u četiri mjere, a slični u dvije.

Pri tome je razlika statistički značajna čak u 25 mjera. Veća veličina dupina iz Tihog oceana može se povezati sa životom u oceanu u odnosu na život u zatvorenom moru. Pretpostavljam da je veća veličina cijelog tijela, a sukladno tome i lubanje, mogla biti adaptivna prilagodba životu u oceanu. S obzirom na velike morfometrijske razlike može se zaključiti da se plavobijeli dupini iz Sredozemnog mora ne miješaju s plavobijelim dupinima iz Tihog oceana zbog velike geografske udaljenosti i razdvojenosti kopnom.

4.2 Mitohondrijska DNA

Unatoč tome što su neki od uzoraka vrlo stari te su lešine bile u stanju visoke raspadnutosti, iznenađujuće je dobra uspješnost cijelog procesa izolacije i sekvenciranja kontrolne regije mtDNA plavobijelih dupina Jadrana u ovom istraživanju. Od ukupno 34 uzorka (22 iz hrvatskog dijela Jadranskog mora, tri iz talijanskog dijela Jadrana i devet iz Ligurskog mora), osam je imalo premalu koncentraciju DNA za daljnje analize, jedan se nije uspio umnožiti, dva nisu uspješno sekvencirana. Konačno je dobiveno 23 uzorka (14 iz hrvatskog i tri iz talijanskog dijela Jadrana te šest iz Ligurskog mora) za analizu, što je uspješnost od 67%. Takva relativno visoka učinkovitost se vrlo vjerojatno može pripisati korištenju spektrofotometra, odnosno mjerenju koncentracije DNA te korištenju većeg volumena otopine DNA za PCR kod uzoraka koji su imali manju izmjerenu koncentraciju DNA i obrnuto.

U odnosu na ranije istraživanje (Galov i sur., 2009) gdje je broj uspješno analiziranih uzoraka bio samo deset, u ovom istraživanju je uspješno sekvencirano 17 dodatnih uzoraka iz Jadranskog mora (od toga 14 iz hrvatskog dijela i tri iz talijanskog dijela). Pri tome je broj pronađenih haplotipova sa sedam iz ranijeg istraživanja porastao za dva, te ukupan broj haplotipova kontrolne regije mtDNA plavobijelih dupina iz Jadranskog mora identificiranih na uzorku od 17 jedinki iznosi devet. Iz toga bi se dalo zaključiti da je već tih deset analiziranih uzoraka iz istraživanja Galov i sur. (2009.) relativno dobro predstavljalo veliku genetičku raznolikost plavobijelih dupina iz Jadranskog mora. Za usporedbu, u istom razdoblju u hrvatskom dijelu Jadrana kod 164 dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) identificirano je samo 13 haplotipova (Galov, neobjavljeni podaci).

Gotovo su svi uzorci iz talijanskog dijela Ligurskog mora različitih haplotipova od devet haplotipova pronađenih u Jadranskom moru. Samo je jedan uzorak pripadao Jadranskom haplotipu P5, dok je svaki od ostalih pet uzoraka svoj posebni haplotip (tablica 6). Ti rezultati upućuju na veliku raznolikost plavobijelih dupina u Sredozemnom moru. Analizom većeg broja uzoraka plavobijelih dupina iz Ligurskog mora te ostalih regija Sredozemnog mora moglo bi se zaključiti o eventualnoj strukturiranosti populacije plavobijelih dupina Sredozemnog mora. Na žalost, istraživanja kontrolne regije mtDNA plavobijelih dupina općenito manjka pa su rezultati ovog istraživanja teško usporedivi.

Haplotipska raznolikost označava vjerojatnost da su dva nasumično odabrana alela, odnosno haplotipa, različita. Haplotipska raznolikost kontrolne regije mtDNA plavobijelih dupina Jadrana je visoka i iznosi 0,832, no manja je od one izračunate u ranijem istraživanju (Galov i sur., 2009) koja je iznosila 0,911. Razlog tome je što je povećanje broja uzoraka od 63% dovelo do povećanja u broju haplotipova od samo 22%. Jedino drugo istraživanje kontrolne regije mtDNA (García-Martínez i sur., 1995) rađeno na populaciji plavobijelih dupina Španjolskih voda iznosi haplotipsku raznolikost 0,7886. No, budući da nije rađeno metodom sekvenciranja, nije idealno za usporedbu. Haplotipska raznolikost 164 dobrih dupina iz Jadranskog mora iznosi manje od one izračunate u ovom istraživanju, točnije iznosi 0,6327 (Galov, neobjavljeni podaci), što znači da je populacija dobrih dupina manje raznolika od jedinki plavobijelih dupina, barem što se tiče haplotipske raznolikosti. Na uzorku 162 istočnopacifička dupina (*Stenella longirostris*, Gray 1828) iz južnog Atlantskog oceana pronađeno je 11 haplotipova duljine 431 bp uz haplotipsku raznolikost 0,3747 (Faria i sur., 2020), što je mnogo manje od haplotipske raznolikosti iz ovog istraživanja.

Nukleotidna raznolikost je srednja vrijednost broja razlika u nukleotidima pri uspoređivanju parova sekvenci DNA. Ona je u ovom istraživanju veća nego u ranijem istraživanju (Galov i sur., 2009), 0,00729 u odnosu na 0,006. Također je veća i od nukleotidne raznolikosti dobivene u istraživanju plavobijelih dupina Španjolskih voda (García-Martínez i sur., 1995) i plavobijelih dupina cijelog Sredozemnog mora i europskog dijela Atlantskog oceana (García-Martínez i sur., 1999), no to je vjerojatno posljedica metode koja je u tim istraživanjima korištena. Sekvenciranje ima mnogostruko bolju razlučivost nukleotida od metode polimorfizama baziranih na duljini restrikcijskih fragmenata (eng. *Restriction Fragment Length Polymorphism*), tako da je ovakav rezultat očekivan. U odnosu na plavobijele dupine u Jadranu, populacija dobrih dupina Jadrana ima veću nukleotidnu raznolikost, koja iznosi 0,0107 (Galov, neobjavljeni podaci). Dakle dobri dupini pokazuju veće razlike između pojedinih haplotipova od plavobijelih dupina u Jadranskom moru. Što se tiče istočnopacifičkih dupina južnog Atlantika, njihova je nukleotidna raznolikost bila malo manja od one dobivene u ovom istraživanju, iznoseći 0,006 (Faria i sur., 2020).

5. Zaključak

U ovom je istraživanju napravljena analiza 30 lubanja plavobijelih dupina pronađenih u hrvatskom dijelu Jadranskoga mora na temelju 37 kraniometrijskih mjera. Utvrđeno je da mušjaci imaju dulji rostrum, veći broj zubiju, šire zube te veće posttemporalne jame od ženki. Isto tako, ženke imaju veći neurokranijalni dio lubanje, očne i hoane. U 12 mjera nije bilo razlika u veličini kod mužjaka i ženki.

Plavobijeli dupini hrvatskog dijela Jadranskog mora vrlo su sličnih kraniometrijskih mjera onima iz talijanskih voda, ali su im kraniometrijske mjere znatno manje od plavobijelih dupina iz japanskog dijela Tihog oceana.

U ovom radu uspješno je sekvencirano 17 uzoraka mišića plavobijelih dupina iz Jadranskog mora te šest uzoraka plavobijelih dupina Ligurskog mora. Tome je pridodano deset uzoraka iz istraživanja Galov i sur. (2009). Na ukupno 27 uzoraka iz Jadrana, na sekvenci dugačkoj 737 bp, pronađeno je devet haplotipova kontrolne regije mtDNA (P1-P9).

Od šest uzoraka iz Ligurskog mora, jedan (T212) je pripadao haplotipu pronađenom u Jadranskom moru (P5), dok je svaki od preostalih pet uzoraka pripao jednom od pet novo-utvrđenih haplotipova (P10-P14).

Analizom 27 uzoraka iz Jadrana utvrđeno je da se haplotipovi kontrolne regije mtDNA međusobno razlikuju u 32 polimorfna mjesta. Haplotipska raznolikost iznosila je 0,832, a nukleotidna 0,00729, što ukazuje na veliku genetičku raznolikost plavobijelih dupina Jadranskog mora.

6. Popis literature

- Archer F. I. II (2009). Striped dolphin: *Stenella coeruleoalba*. U: Würsig B., Perrin W. F., Thewissen, J. G. M. (Eds.) (ur.) Encyclopedia of Marine Mammals (Second Edition). Amsterdam, Academic Press, str. 1127-1129.
- Azzolin M., Arcangeli A., Cipriano G., Crosti R., Maglietta R., Pietroluongo G., Saintingan S., Zampollo A., Fanizza C., Carlucci R. (2020). Spatial distribution modelling of striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) at different geographical scales within the EU Adriatic and Ionian Sea Region, central-eastern Mediterranean Sea. Aquatic Conservation 30, 1194-1207.
- Azzolin M., Papale E., O Lammers M., Gannier A., Giacoma C. (2013). Geographic variation of whistles of the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) within the Mediterranean Sea. The Journal of the Acoustical Society of America 134, 694-705.
- Bearzi G., Fortuna C. M., di Sciara G. N. (1998). Unusual sightings of a striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in the Kvarnerić, Northern Adriatic Sea. Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici, 7, 169-176.
- Bearzi M. (2007). Dolphin sympatric ecology. Marine Biology Research 1, 165-175.
- Carlini R., Della Libera S., De Francesco M. C. (2013). The sexual dimorphism in cranial features of the *Stenella coeruleoalba* (Cetacea, Delphinidae): a case study of an Italian sample. Natura Rerum, 3, 13-24.
- Christensen A. M., Passalacqua N. V., Bartelink E. J. (2014). Forensic Anthropology, Current Methods and Practice. London, Academic Press. str 223-242.
- Đuras M., Divac Brnić D., Gomerčić T., Galov A. (2014). Craniometry of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Adriatic Sea. Veterinarski arhiv 84, 649-666.
- Faria D. M., da Silva J. M. Jr, Pires Costa L., Rezende Paiva S., Marino C. L., Rollo M. M. Jr, Baker C. S., Cazerta Farro A. P. (2020). Low mtDNA diversity in a highly differentiated population of spinner dolphins (*Stenella longirostris*) from the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. PLoS ONE 15: e0230660.

- Frantzis A., Herzing D. (2002). Mixed-species associations of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*), short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*), and Risso's dolphins (*Grampus griseus*) in the Gulf of Corinth (Greece, Mediterranean Sea). *Aquatic Mammals* 28, 188-197.
- Galatius A., Racicot R., McGowen M., Tange Olsen M. (2020): Evolution and diversification of delphinid skull shapes. *iScience*, 23: 101543.
- Galov A., Lauc G., Nikolić N., Šatović Z., Gomerčić T., Đuras Gomerčić M., Kocijan I., Šeol B., Gomerčić H. (2009). Records and genetic diversity of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Croatian coast of the Adriatic Sea. *Marine Biodiversity Records* 2, e98.
- García-Martínez J., Barrio E., Raga J. A., Latorre A. (1995). Mitochondrial DNA variability of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) in Mediterranean Spanish waters. *Marine Mammal Science*, 11, 183–199.
- Garcia-Martinez J., Moya A., Raga J. A., Latorre A. (1999). Genetic differentiation in the striped dolphin *Stenella coeruleoalba* from European waters according to mitochondrial DNA (mtDNA) restriction analysis. *Molecular Ecology*, 8, 1069-1073.
- Hall T. A. (1999) BioEdit: An user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Hoelzel A. R., Green A. (1998): PCR protocols and population analysis by direct DNA sequencing and PCR-based DNA fingerprinting. U: Hoelzel A.R. (ur). *Molecular Genetic Analysis of Populations, a Practical Approach*. Second edition. Oxford University Press, Oxford, 201-236.
- Ito H., Miyazaki N. (1990). Skeletal development of the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in Japanese waters. *Journal of the Mammalogical Society of Japan*, 14(2), 79-96.
- Kiani M. S., Iqbal P., JASiddiqui P., Moazzam M. (2013). First records of the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) and rough-toothed dolphin (*Steno bredanensis*) in Pakistani waters: a review of occurrence and conservation status in the Indian Ocean. *Pakistan Journal of Zoology*, 45, 1113-1123.
- Kohn M. H., Wayne R. K. (1997). Facts from feces revisited. *Trends in ecology & evolution*, 12, 223-227.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. (2018): MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547 -1549.

- Liebig P. M., Taylor T. S. A., Flessa K. W. (2003). Bones on the beach: marine mammal taphonomy of the Colorado Delta, Mexico. *Palaios*, 18, 168-175.
- Loy A., Tamburelli A., Carlini R., Slice D. E. (2011). Craniometric variation of some Mediterranean and Atlantic populations of *Stenella coeruleoalba* (Mammalia, Delphinidae): A three-dimensional geometric morphometric analysis. *Marine Mammal Science*, 27, E65-E78.
- Pauk M. (2007): Određivanje slijeda kontrolne regije mitohondrijske DNA dobrog dupina *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821). Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno – matematički fakultet. Zagreb.
- Pribanić S., Holcer D., Mioković D. (1999). First report of plastic ingestion by striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in the Croatian part of the Adriatic Sea. *European Research on Cetaceans* 13, 443-446.
- Ringelstein J., Pusineri C., Hassani, Meynier L., Nicolas R., Ridoux V. (2006). Food and feeding ecology of the striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*, in the oceanic waters of the north-east Atlantic. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 86, 909-918.
- Rozas J., Ferrer-Mata A., Sanchez J. C., Guirao-Rico S., Librado P., Ramos-Onsins S. E., Sanchez-Gracia (2017): DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution* 34: 3299-3302.
- Svetličić I., Kralj J., Martinović M., Tome D., Basle T., Božić L., Škornik I., Jurinović L., Galov A. (2019). Mitochondrial DNA control region diversity in common terns *Sterna hirundo* from Slovenia and Croatia. *Acrocephalus*, 40, 69-78.
- Turner J. P., Worthy G. A. (2003). Skull morphometry of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Gulf of Mexico. *Journal of Mammalogy*, 84, 665-672.
- Van Waerebeek K., Felix F., Haase B., Palacios D. M., Mora-Pinto D. M., Munoz-Hincapie M. (1998). Inshore records of the striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*, from the Pacific coast of South America. *Reports of the International Whaling Commission*, 48, 525-532.
- Vuković S., Lucić H., Živković A., Đuras Gomerčić M., Gomerčić T., Galov A. (2010). Histological structure of the adrenal gland of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the Adriatic Sea. *Anatomia Histologia Embryologia* 39, 59-66.

Životopis

Marta Penzar

Rođena sam 13. svibnja 1997. u Zagrebu, gdje sam 2016. završila XV. gimnaziju. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja bila sam na jednogodišnjoj razmjeni učenika u Sjedinjenim Američkim Državama te pohađala tamošnju školu. Akademске godine 2016./2017. upisala sam preddiplomski studij biologije na Biološkom odsjeku Prirodoslovno – matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Tri godine kasnije upisala sam diplomski sveučilišni studij Eksperimentalne biologije, modul Zoologija na istom fakultetu. Tijekom studija sudjelovala sam na istraživačko-edukacijskim projektima „Insula Tilagus 2017“, „Šuma Žutica 2018“, „Posjetitelji bez ulaznica“ te „Mala škola mamalogije“ u sklopu udruge studenata biologije BIUS. Također sam sudjelovala na studentskom seminaru o invazivnim vrstama Srbije (SIVS). 2021. godine dobila sam potvrdu o položenom tečaju za osposobljavanje osoba koje rade s laboratorijskim životinjama.

Imam pet godina radnog iskustva u radu s djecom i mladima na području edukacije, animacije i outdoor-a. Honorarno radim kao voditeljica engleskog kampa za djecu za Fokus Camps u Njemačkoj te kao Outward Bound instruktora. Od 2019. godine volontiram u udruzi Bioteka pomažući u provođenju edukativnih radionica za djecu u STEM području.

Govorim engleski (C2) i njemački (B2) jezik. Odlično poznajem Microsoft office alate te imam osnovno znanje o programiranju u programskom jeziku Python. Slobodno vrijeme volim provoditi u prirodi, šecući psa, planinareći, plešući po svili i u društvu prijatelja.