

# Genomska raznolikost i tragovi selekcije domaćih životinja

---

**Vorgić, Krunoslava Rafaela**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:840223>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI**

Krunoslava Rafaela Vorgić

Diplomski sveučilišni studij Zootehnika

Smjer Specijalna zootehnika

**GENETSKA RAZNOLIKOST I TRAGOVI SELEKCIJE DOMAĆIH  
ŽIVOTINJA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2022.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

**FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI**

Krunoslava Rafaela Vorgić

Diplomski sveučilišni studij Zootehnika

Smjer Specijalna zootehnika

**GENETSKA RAZNOLIKOST I TRAGOVI SELEKCIJE DOMAĆIH  
ŽIVOTINJA**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za obranu i ocjenu diplomskog rada:

1. izv.prof.dr.sc. Nikola Raguž, predsjednik
2. izv.prof.dr.sc. Boris Lukić, mentor
3. prof.dr.sc. Sonja Petrović, član

**Osijek, 2022.**

## SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
PREGLED LITERATURE .....	3
2. GENETSKA RAZNOLIKOST .....	3
2.1. Pasminska raznolikost u svijetu.....	5
2.2. Pasminska raznolikost u Republici Hrvatskoj.....	5
2.3. Hardy - Weinbergov zakon ravnoteže .....	6
2.4. Gubitak genetske raznolikosti zbog genetskog drifta .....	8
2.4.1. Uska grla.....	10
2.5. Gubitak genetske raznolikosti zbog selekcije .....	12
2.6. Utjecaj mutacija i inbridinga na genetsku raznolikost.....	12
2.7. Gubitak genetske raznolikosti zbog migracija .....	16
3. TRAGOVI SELEKCIJE KOD DOMAĆIH ŽIVOTINJA .....	17
3.1. LD – neravnoteža povezanosti alela u genomu domaćih životinja .....	17
4. METODE OTKRIVANJA TRAGOVA SELEKCIJE .....	19
4.1. Pristupi za otkrivanje tragova selekcije .....	20
4.1.1. Metode temeljene na spektru frekvencije lokusa (SFS) .....	21
4.1.2. Metode temeljene na neravnoteži povezanosti - LD-u.....	22
4.1.3. Metode zasnovane na smanjenoj lokalnoj varijabilnosti.....	24
4.1.4. Različitost populacije na jednom lokusu.....	24
4.1.5. Različitost populacije zasnovana na haplotipu .....	26
5. GENETSKA RAZNOLIKOSTI HRVATSKIH AUTOHTONIH PASMINA .....	28
5.1. Svinje .....	28
5.2. Goveda .....	28
5.3. Ovce .....	29
6. ZAKLJUČAK.....	31
7. POPIS LITERATURE .....	32

8. SAŽETAK.....	41
9. SUMMARY.....	42
10. POPIS SLIKA I GRAFIKONA.....	43
11. POPIS TABLICA.....	44

## 1. UVOD

Pripitomljavanje domaćih životinja je s djelovanjem glavnih evolucijskih sila, mutacija, migracija, drifta i selekcije, stvorilo ogromnu genetsku raznolikost pasmina kakvu danas poznajemo. Posljednjih nekoliko desetljeća, uzgojni programi više su bili usmjereni prema povećanju proizvodnosti i učinkovitosti, te su s vremenom značajno promijenili genetske karakteristike brojnih pasmina. Genetska se raznolikost može očuvati kontrolom efektivne veličine populacije, koja se smanjuje proporcionalno s povećavanjem razine inbridinga po generaciji. Ukratko, porast inbridinga dovodi do smanjenja genetske raznolikosti, stoga je važno pratiti i kontrolirati razinu inbridinga odgovarajućim metodama kao što je plansko sparivanje.

Trenutno u svijetu postoji veliki broj pasmina različitih vrsta životinja. Sve se te pasmine razlikuju na nekoliko razina: između pasmina, unutar populacije neke pasmine, te između jedinki (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.). Najjasnija razlika je ona koja se očituje putem fenotipskih karakteristika (boja dlake, oblik, okvir i dr.). No, za očuvanje genetske raznolikosti bitno je osim fenotipskih razlika utvrditi genetske osobine populacije kao što su stupanj uzgoja u srodstvu, heterozigotnost, efektivna veličina populacije itd., te brzo i praktično reagirati prema uzgojnom programu, kako ne bi došlo do gubitka genetske raznolikosti.

Nekoliko sila utječe na genetsku raznolikost, na neke čovjek može utjecati, dok na neke ne može. Na populaciju mogu utjecati sile koje povećavaju odnosno sile koje smanjuju genetsku raznolikost. Nove alele stvaraju mutacije koje kada se dogode u spolnim stanicama imaju određeni učinak na genetsku raznolikost. Također i migracije mogu imati veliki učinak na genetsku raznolikost, odnosno imigracija (kada nove životinje useljavaju u populaciju), dok iseljavanje (kada životinje odlaze iz populacije) ima mali učinak, posebno ako je populacija mala. Selekcija ima negativan učinak na genetsku raznolikost jer se uzgajaju samo životinje koje imaju određenu genetsku strukturu. Posljednja sila koja ima slabiji učinak na genetsku raznolikost je sila slučajnosti odnosno genetski drift, koji nije direktno pod utjecajem selekcijskih odluka (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.).

Gubitak raznolikosti djelovanjem genetskog drifta nastaje zbog više razloga. Jedan od razloga je što potražnja za određenim pasminama u svijetu konstanto opada, radi čega dolazi do smanjivanja njihovih veličina te posljedično i pojačanog učinka drifta. Također, jedna od

mogućnosti je i da aleli driftom iz populacije nestanu sasvim slučajno, što je posebno izraženo u malim populacijama.

Gubitak raznolikosti zbog selekcije podrazumijeva prirodnu (na koju čovjek ne može utjecati) i tzv. umjetnu selekciju (na koju čovjek neposredno utječe). Selekcijom uzgajivač odabire koje jedinke će se sparivati, dok prirodna selekcija djeluje Darwinovim zakonitostima. Jedan od mogućih uzroka gubitka genetske raznolikosti svakako je i pojava uskog grla, odnosno naglog smanjenja broja jedinki u populaciji zbog različitih uzroka, nakon čega slijedi oporavak populacije. Migracije su podijeljene na imigracije i migracije. Poremećaj raznolikosti populacije veći je kada se populaciji pridruži jedinka (imigracija) iz neke druge populacije iste ili neke druge pasmine, jer se tada unose novi aleli u populaciju. Prilikom emigracije odnosno kada jedinka napušta populaciju utjecaj na genetsku raznolikost populacije je manji, osim u slučaju kada je populacija mala ili kada životinja ima jedinstvene alele.

Kod promjena u DNK odnosno kod mutacija, stvara se novi alel koji povećava genetsku raznolikost. Mutacije se obično događaju na određenim mjestima u genomu, a većina je bezopasna. Također, važno je znati da ne dovode sve mutacije do promjene u funkciji gena, tj. samo rijetke utječe na promjenu funkcije proteina. Do pojave inbridinga dolazi sparivanjem genetski bliskih jedinki, koje mogu imati jednog ili više zajedničkih predaka. Razinu inbridinga kod životinja izražava se koeficijentom inbridinga, koji povećava homozigotnost što posljedično dovodi do smanjenja genetske raznolikosti.

S genetskom raznolikosti usko su povezani i tragovi selekcije koji nastaju prilikom selekcije. Tragovi selekcije su genetski obrasci odnosno otisci ostavljeni na genomskim regijama koje su bile pod selekcijom. Otkrivanje tragova selekcije jedan je od ključnih interesa prilikom istraživanja utjecaja selekcije životinja. Budući da pružaju saznanja o provedenoj selekciji na nekom genomu, mogu nam otkriti znanja o razvitku neke pasmine. Vrlo važan trenutak za otkrivanje tragova selekcije bilo je razvitak tehnologije sekvenciranja novijih generacija (od engl. *Next generation sequencing*). Za identificiranje tragova selekcije koriste se metode koje se temelje na neravnoteži povezanosti (LD – od engl. „*Linkage disequilibrium*“), spektru frekvencije lokusa (SFS – od engl. „*site frequency spectrum*“), smanjenoj lokalnoj varijabilnostite karakteristikama haplotipova.

U ovom radu istraženi su razlozi gubitka genetske raznolikosti, tragovi selekcije, te metode za njihovo otkrivanje. Također cilj ovog rada je pružiti opise svih navedenih parametara.

## PREGLED LITERATURE

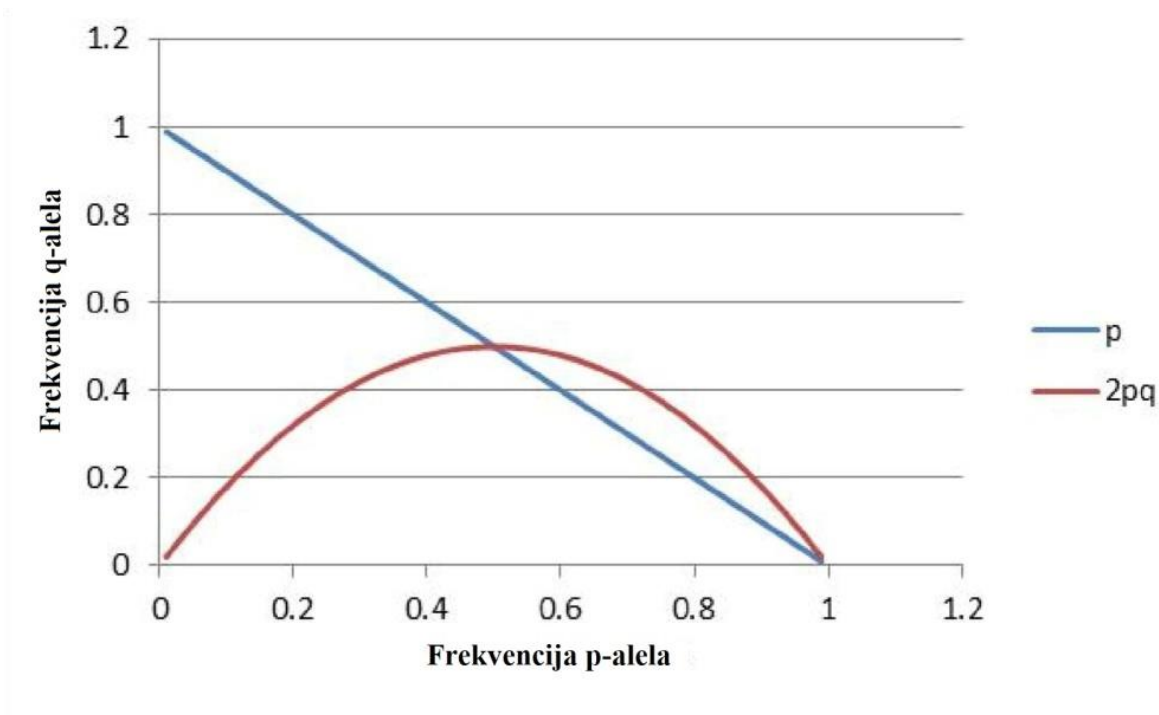
### 2. GENETSKA RAZNOLIKOST

Prema Oldenbroek-u i van der Waaij-u (2014.) genetska raznolikost je definirana kao prisutnost genetskih razlika između populacija, unutar populacija, ali i unutar jedinki. Broj alela prisutnih u populaciji mjerilo je genetske raznolikosti. Što je više alela prisutno, to je genetska raznolikost veća. Pojavnost ovih alela u populaciji također utječe na razinu genetske raznolikosti. Što su frekvencije alela ujednačenije, to je manja raznolikost (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.). Međunarodni savez za očuvanje prirode i prirodnih bogatstava (IUCN – od engl. „*International Union for Conservation of Nature*“) proglasili su genetsku raznolikost kao jednu od tri oblika bioraznolikosti koje zaslužuju očuvanje (Reed i Frankham, 2003.).

Kantanen (2000.) navodi da je prilikom analize genetske raznolikosti domaćih životinja, važno razlikovati dva pristupa: genetsku raznolikost između pasmina i genetsku raznolikost (između jedinki) unutar pasmina.

Oldenbroek i van der Waaij (2014.) u svom radu navode da ukoliko je frekvencija alela  $q = 1$ , frekvencija alela  $p$  biti će 0 i obrnuto, tj. visoka frekvencija jednog alela uvijek se podudara s niskom frekvencijom drugog alela. Frekvencija heterozigota, prikazana kao  $2pq$ , ovisi o obje frekvencije. Maksimalna frekvencija alela postiže se kada oba alela imaju što veću frekvenciju, s obzirom na drugu frekvenciju, i primjerice kada oba alela imaju jednaku frekvenciju od 0,5. Za gene s više alela princip je isti: maksimalna heterozigotnost na jednakim frekvencijama alela. Genetska raznolikost ovisi o prisutnosti velikog broja alela, ali i o frekvenciji tih alela u populaciji. Unutar životinje definira se kao genetska raznolikost temeljem toga je li životinja homozigotna ili heterozigotna za određeni gen ili dijelove genoma.





Slika 1. Odnos između frekvencije dva alela (plava ravna crta) i posljedica na heterozigotnost populacije (zakrivljena crta). Maksimalna heterozigotnost pri  $p = q = 0,5$ . (izvor: Textbook animal breeding: animal breeding and genetics for BCs students. Oldenbroek i Liesbeth van der, 2014.)

U genetici, najjasnija je razlika između populacija. Primjerice, različite pasmine imaju različite genetske specifičnosti za određena svojstva. Najbolji primjer su dakako razlike u veličinama i bojama, ali i svrsi ili namjeni uzgoja određene pasmine (npr. pasmina Holštajn se uzgaja za mlijeko, dok primjerice Belgijsko plavo govedo ili Limousin se uzgaja za meso). Također, genetska raznolikost postoji i unutar populacije, a povezana je s razlikama između životinja u toj populaciji. Potreba za očuvanjem genetske raznolikosti unutar populacije bazira se na dva argumenta: 1.) genetska raznolikost je potrebna da bi populacije evoluirale u skladu sa promjenom okoliša i 2.) razine heterozigotnosti koje su povezane sa smanjenim fitnessom populacije zbog inbriding depresije (Reed i Frankham, 2003.). Rijetko je moguće da ne postoji genetska varijabilnost u populaciji. Ovo se iznimno događa u populacijama u kojima je inbriding jako visok, odnosno ako su životinje genetski vrlo slične jedna drugoj. No, kako navode Oldenbroek i van der Waaij (2014.) to je vrlo rijetka situacija koja se uglavnom događa u genetskim linijama laboratorijskih životinja koje su posebno stvorene za tu svrhu ili čak u nukleusima kod svinja ili peradi. Svrha takvih populacija je pružiti životinje koje su genetski vrlo homogene, kako genetske razlike ne bi bile uzrok promjena tijekom primjerice ispitivanja novih lijekova ili u fiksiranju određenih alela s jakim učincima na svojstva od interesa. Klonovi su još bolji primjer genetski jednakih životinja. Populacije

klonova nemaju izraženu genetsku varijabilnost unutar populacije (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.).

### **2.1. Pasminska raznolikost u svijetu**

Ovakav pristup u kojem se uzgajaju životinje s vrlo specifičnim namjenama, dovodi do zabrinutosti svjetskih institucija zbog erozije genetskih resursa (FAO, 2007.). Čovjek za svoje potrebe intenzivno uzgaja šest kategorija životinja: goveda, kopitare, perad, svinje, ovce i koze. Trenutno se u svijetu uzgaja 1 485 000 000 goveda, 1 169 000 000 ovaca, 996 000 000 koza, 966 000 000 svinja, te 21 867 000 000 peradi. Također, u svijetu je prepoznato 1224 pasmine goveda, 602 pasmine svinja, 664 pasmina koza, 1383 pasmine ovaca, 988 pasmina konja, te 2543 pasmine peradi uključujući sve pasmina različitih vrsta životinja (FAO, 2015.). Međutim, veliku većinu od prethodno iskazanih brojki predstavljaju visoko-proizvodne pasmine koje se najčešće uzgajaju u intenzivnim sustavima u svijetu primjerice za goveda to su: holštajn, Jersey, belgijsko plavo govedo, limuzin, šarole, Angus i dr., dok se kod svinja se u intenzivnom uzgoju najčešće koriste: landras, pietren, durok, hemšir i jorkšir. Od peradi se u intenzivnom sustavu najčešće uzgajaju: Leghorn, Minorca, New Hampshire, Sussex za kokoši, White Holland, Norkfolk Black i Beltsville Small White za pure. Ovčarstvo i kozarstvo su grane poljoprivrede koje karakterizira veliki broj pasmina, od ovaca pasmine koje se najčešće uzgajaju su: merino, suflok, awassi ovca, romanovska ovca, Ile de France, sardinijska ovca, Southdown, sakon, karakulska ovca i druge, dok su najčešće uzgajane koze: sanska koza, burska koza, angorska koza, kašmirska koza, Boer, togenburška koza, La Mancha, alpska koza (alpina) i mnoge druge. U konjogojstvu u intenzivnom uzgoju uzgajaju se brojne pasmine ovisno o namjeni konja, a najčešće su to: arapski punokrvnjak, engleski punokrvnjak, frizijski konj, andaluzijski konj, hanoveranac, trakener, haflinger, šetlandski poni i morgan (FAO 2007.).

### **2.2. Pasminska raznolikost u Republici Hrvatskoj**

Republika Hrvatska se može pohvaliti velikim brojem lokalnih autohtonih pasmina, od goveda to su: buša, istarsko govedo, te slavonsko-srijemski podolac, kod svinja su: crna slavonska svinja i turopoljska svinja. Autohtone pasmine peradi u Hrvatskoj su: zagorski puran i kokoš hrvatica, a autohtone pasmine koza su: hrvatska šarena koza, hrvatska bijela koza i istarska koza, te ovaca: dalmatinska pramenka, dubrovačka ruda, cigaja, creska ovca, istarska ovca, krčka ovca, lička pramenka, paška ovca, te rapska ovca, dok su kod konja autohtone pasmine su: hrvatski posavac, međimurski konj, hrvatski hladnokrvnjak, lipicanac

(Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, 2010.). Budući da genetska raznolikost lokalnih pasmina može doprinijeti trenutnim ili budućim svojstvima od interesa (Toro i sur. 2008.), smatraju se ključnim za održavanje uzgoja domaćih životinja u budućnosti. Prema FAO-u (2015.), broj pasmina u odnosu na izvješće iz 2007. godine se povećao za otprilike 852 pasmine domaćih životinja prijavljenih širom svijeta odnosno u 182 države (FAO, 2015.). Ovaj porast ne znači da su stvorene nove lokalne pasmine u ovom kratkom razdoblju, nego da se veliki broj starih i zaboravljenih pasmina počeo evidentirati te da ih je novim i suvremenim pristupima potrebno očuvati.

Notter (1999.) navodi da je genetska raznolikost domaćih životinja potrebna kako bi se moglo udovoljiti različitim životnim i proizvodnim okruženjima (poput razlika u temperaturi, hranidbi i sl.) te kako bi se omogućilo kontinuirano genetsko poboljšanje pasmina i olakšala brza prilagodba promjenjivim ciljevima uzgoja. Učinkovitost proizvodnje životinja u populacijama usko je povezana s upotrebom različitih genotipova. Kod peradi i svinja, internacionalne kompanije donose selekcijske odluke koje se temelje na vrlo strogim kriterijima (visoki intenziteti selekcije), korištenju različitih proizvodnih linija i vrlo velikim populacijama. Zbog intenzivnog odabira najboljih očeva relativno se brzo postižu visoke stope uzgoja u srodstvu, što dugoročno umanjuje učinke mutacija i genetskog drifta, ali i do ključnog pitanja o upravljanju genetskom raznolikošću domaćih životinja, uključujući raspodjelu potencijalno korisnih alela nekog kvantitativnog svojstva kod pasmina domaćih životinja koje se koriste u intenzivnom uzgoju (Notter, 1999.).

### **2.3. Hardy - Weinbergov zakon ravnoteže**

Godine 1908. engleski matematičar G. H. Hardy i njemački liječnik W. Weinberg donijeli su pravilo tzv. „zakon“ o konstantnoj frekvenciji alela i genotipova. Hardy - Weinbergov zakon pokazuje da u velikoj populaciji gdje je sparivanje u potpunosti slučajno, frekvencije alela i genotipova su stalne i nepromjenjive. Pojednostavljeno, populacija tako zadovoljava određene uvjete koji osiguravaju konstantnost frekvencija alela u njoj. Pod takvim uvjetima, dakako, dolazi do izostanka evolucije i možemo reći da je populacija u stanju Hardy - Weinbergove ravnoteže (Hardy, 1908., Weinberg 1908.). Uvjeti koje populacija mora zadovoljiti kako bi bila u genetskoj ravnoteži su:

- da je populacija dovoljno velika i da zato omogućava slučajno sparivanje jedinki,
- da nema mutacija,

- da nema migracija,
- da nema genetskog drifta,
- da nema prirodne selekcije, odnosno da sve životinje u jednakoj mjeri stvaraju potomstvo.

U realnosti je gotovo nemoguće postići Hardy – Weinbergov zakon o ravnoteži, zbog nedostatka bar jednog od gore navedenih uvjeta. Ipak, Hardy – Weinbergov zakon ravnoteže nije previše osjetljiv na određena odstupanja. Tako da nepotpuno ispunjenje ovih uvjeta ne mora nužno dovesti do vidljivih odstupanja od ravnoteže, ali i malo odstupanje sugerira da je barem jedan uvjet zadovoljen. Postoje puno razloga za značajno odstupanje od Hardy – Weinbergovog zakona ravnoteže (Chen, 2010.). Kako navodi Chen (2010.) jedan od mogućih razloga za značajno odstupanje od ravnoteže može biti zbog populacijske stratifikacije, nastale iz brojnih razloga. Na slici 2. grafički je prikazana krivulja koja predstavlja točku u kojoj su aleli u stanju Hardy-Weinbergove ravnoteže.

Matematička jednadžba Hardy – Weinbergovog zakona ravnoteže glasi:

$$pA + qa = 1$$

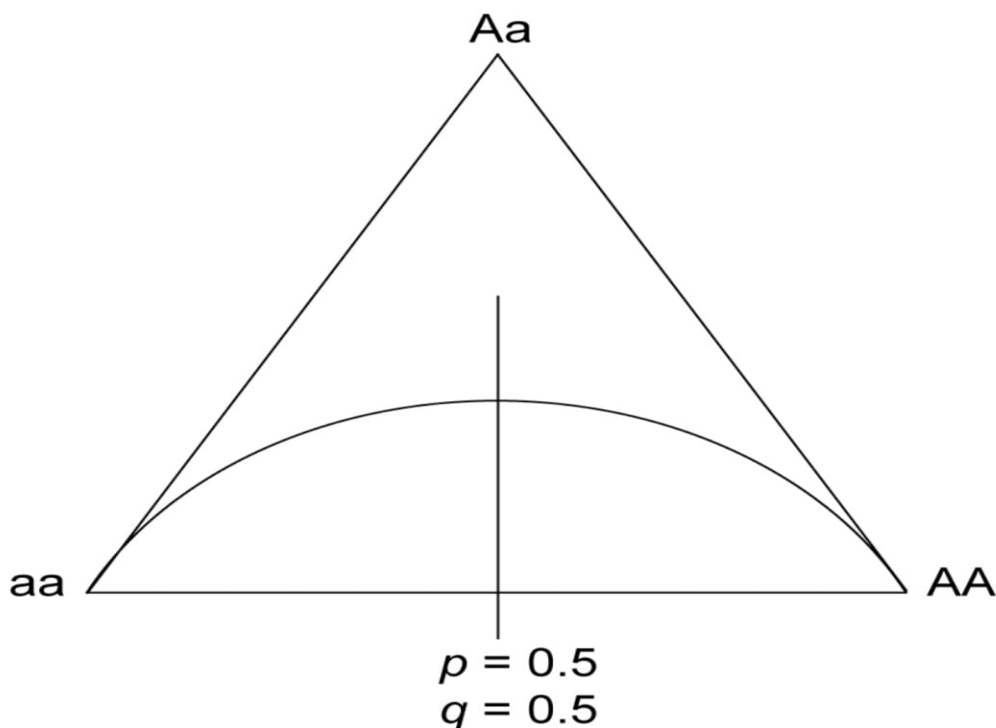
$$(pA + qa)(pA + qa) = p^2AA + 2pqAa + q^2aa$$

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

gdje je:

p = frekvencija alela A

q = frekvencija alela a (Hardy, 1908.).



Slika 2. Grafički prikaz Hardy-Weinbergove parabole. Krivulja predstavlja točku u kojoj su aleli u stanju Hardy-Weinbergove ravnoteže.

(izvor: [https://practical-haemostasis.com/Genetics/hardy\\_weinberg\\_principle.html](https://practical-haemostasis.com/Genetics/hardy_weinberg_principle.html))

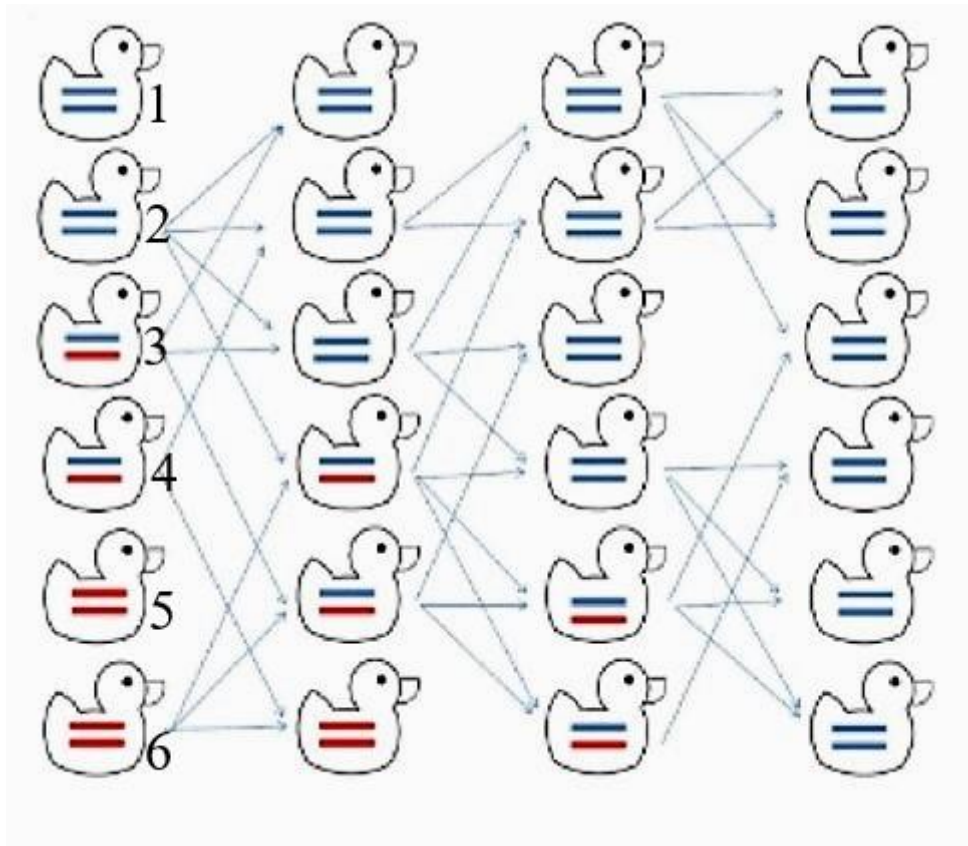
#### 2.4. Gubitak genetske raznolikosti zbog genetskog drifta

Gubitak alela ili njegova fiksacija u populaciji čistom slučajnošću zove se genetski drift. Najvažniji čimbenik koji utječe na genetski drift je veličina populacije tj. što je populacija manja, veći je potencijal za genetski drift. Genetski drift može se promatrati i kao slučajno kolebanje frekvencije alela zbog veličine populacije (Pavlica, 2012.) ili kao proces slučajnih promjena u frekvencijama alela i haplotipova u populacijama različitih veličina (Biswas i Akey, 2006.). Kada je broj jedinki u populaciji mali, slučajnost može biti ključni čimbenik koji će odrediti prijenos alela u sljedeću generaciju. U malim populacijama zbog genetskog drifta vjerojatnost nestanka svakog mutanog alela vrlo je velika (Šolić, 2005.).

Kako se u intenzivnom uzgoju životinja uglavnom preferiraju visoko-proizvodne pasmine, tako se populacije lokalnih i nisko-proizvodnih pasmina smanjuju te su postale vrlo male. Povećanje homozigotnosti jedinki u populaciji je neposredni učinak smanjenja genetske varijabilnosti što često dovodi do smanjenja održivosti i plodnosti („inbriding depresija“) (Ralls i Ballou, 1983.).

Jedan od razloga za gubitak alela može biti taj što se sve životinje ne sparuju bez obzira na odluke o selekciji, budući da sve životinje koje su odabrane za uzgoj možda neće uspjeti dati potomstvo. Neke mogu neočekivano uginuti, dok se neke nikad ne uključuju u rasplod (primjerice kod pasa i konja gdje vlasnici superiornih životinja nisu uvijek zainteresirani za uzgoj potomaka) (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.).

Ako frekvencija alela uslijed određenih utjecaja dosegne nulu, u sljedećoj se generaciji to ne može poništiti, te će taj alel ostati izgubljen, osim ako se ne pojavi uz pomoć mutacija. Kako bi dokazao da se genetski drift može testirati u laboratoriju, u jednom eksperimentu 1956. godine, Peter Buri (1956.) uzgojio je više od 100 populacija *Drosophila* slučajnim odabirom osam mužjaka i osam ženki kroz 19 generacija. Sve jedinke bile su heterozigoti za boju očiju (crveno-narančasta i bijela boja). U pola populacije frekvencija alela je porasla, dok je u drugoj polovici opala, tj. alel nije bio pod selekcijom što je omogućilo da se testira na genetski drift. Prema teoriji genetskog drifta, varijance u frekvenciji alela između populacija trebale bi se povećati za faktor  $p(1 - p) / 2N$  svake generacije, gdje  $p$  predstavlja trenutnu frekvenciju, a  $N$  veličinu populacije. Buri je nacrtao promjenu frekvencije alela u funkciji  $p$  i dobio krivulju ispravnog oblika za  $N_e = 11,5$ , ali ne i za  $N_e = 16$ . Ovi rezultati dobro potvrđuju teoriju o genetskom driftu, tj. što je manja veličina populacije to je veći učinak genetskog drifta i obrnuto.



Slika 3. Primjer genetskog drifta kroz četiri generacije pataka (izvor: *Textbook animal breeding: animal breeding and genetics for BCs students*. Oldenbroek i Liesbeth van der Waaij, 2014.)

Na slici 3 prikazan je primjer kako djeluje genetski drift odnosno kako se u maloj populaciji pataka alel gubi bez ikakvog usmjeravanja. Sasvim slučajno, sve životinje se nisu uspjele razmnožiti te ga nositelji crvenoga alela nisu prenijeli na svoje potomke. Unutar četiri generacije crveni alel je izgubljen u populaciji, a na isti se način mogao se izgubiti i plavi alel. Jedinica 2 imala je najviše potomaka, svojim potomcima mogla je prenijeti samo plavi alel, dok su jedinke 3 i 4 obje heterozigoti, a jedinka 6 homozigot za crveni alel. Ipak, od heterozigotnih jedinki samo je jedinka 4 prenijela samo jednom crveni alel. U drugoj generaciji, frekvencija plavog alela se povećala na  $8/12$  odnosno  $2/3$ . Ponovno se sve jedinke nisu uspjele razmnožiti, a u trećoj generaciji frekvencija crvenog alela smanjila se na  $2/12$  odnosno  $1/6$ . Crveni alel se slučajno nije prenio na četvrtu generaciju te je populacija postala homozigotna i plava (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.).

#### 2.4.1. Uska grla

Usko grlo u populaciji odnosi se na izrazito smanjenje veličine populacije, nakon čega je nastupio oporavak populacije. Usko grlo često ima veliki utjecaj na frekvencije alela u populaciji, a time i na genetsku raznolikost (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.).

Nei i sur. (1975.) ,prema Kimura (1968.), navode da su u populaciji konstantne veličine očekivana heterozigotnost za neutralni lokus (koji se nalaze blizu odabranih lokusa) kada su mutacija i genetski drift uravnoteženi iznosi  $4Nv / (4Nv + 1)$ , pod pretpostavkom da se nove mutacije uvijek razlikuju od već postojećih alela u populaciji. U ovoj formulaciji N je efektivna veličina populacije, a v stopa mutacije po lokusu po generaciji. Veličina neke populacije u prirodi često se drastično mijenja tijekom evolucije (Nei i sur., 1975.).

Kada se naglo smanji veličina populacije, očekuje se i smanjenje prosječne heterozigotnosti po lokusu što ovisi o efektivnoj veličini populacije, no ukoliko populacija raste, očekuje se i povećanje prosječne heterozigotnosti zbog novih mutacija (Wright, 1931.). Vrlo jaka prirodna selekcija koja nastaje primjerice zbog posljedica izbijanja neke vrlo zarazne i smrtonosne bolesti rezultira značajnim smanjenjem brojnosti jedinki u populaciji te tako i s promjenom frekvencije alela. Životinje s visokim stupnjem otpornosti preživjeti će infekciju, zajedno s nekolicinom nezaraženih životinja. Te životinje bi u teoriji trebale ponovno izgraditi populaciju. Uslijed toga, frekvencija alela u budućim generacijama ovisi o frekvenciji alela u toj generaciji neposredno nakon uskog grla odnosno velikog smanjenja veličine populacije. Neki aleli, koje imaju životinje posebno osjetljive na bolesti, drastično se smanjuju u frekvenciji ili se potpuno gube. Kako navodi Mack (1970.) dobar primjer uskog grla je izbijanje goveđe kuge u Africi 1890., koja je zahvatila cijeli kontinent i usmrtila od 80 do 90% populacija domaćih životinja, ali i nekih divljih vrsta (bivola, žirafa, antilopa i dr.). Iako, čak i ako se populacija koja je prošla kroz usko grlo brojčano oporavi, može imati nižu heterozigotnost tijekom dužeg vremena, zbog širenja genetskog drifta kada je populacija bila mala (Reece i sur., 2011.).

Također, dobar primjer pojave uskog grla je u populaciji crne slavonske svinje. Naime, početkom intenzivnijeg uzgoja hibrida sredinom 1950-tih, s vremenom je došlo do značajnog smanjenja uzgoja ove autohtone pasmine zbog njezinih slabijih proizvodnih svojstava. Oporavak pasmine započeo je 1996. godine kada je broj krmača iznosio svega 46 jedinki, a broj nerasta šest (Lukić i sur., 2015.). Trenutna brojka prema posljednjem godišnjem izvješću Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu iz 2022. godine za krmača u kontroli proizvodnosti iznosi 2418, a za neraste 152.



## **2.5. Gubitak genetske raznolikosti zbog selekcije**

Selekcija (lat. *selectio*) podrazumijeva izbor ili odabiranje. Postoje dvije vrste selekcije životinja: prirodna i umjetna. Prirodna selekcija podrazumijeva selekciju pod utjecajem prirodnih zakonitosti, koje je Darwin sažeo u svoju teoriju da priroda odabire one jedinke koje se uspijevaju prilagoditi životnoj sredini, a uklanja one koje nisu sposobne za život u slobodnom prirodnom okruženju. Prema tome, prirodna selekcija djeluje na jedinke na taj način da utječe na njihov fitnes. Umjetna selekcija se odnosi na selekciju domaćih životinja koja je pod kontrolom uzgajivača. Odnosno selekcija je uzgojni postupak kojim uzgajivač izabire roditelje za stvaranje budućih generacija životinja. Za razliku od prirodne selekcije gdje uzgajivač planskim odabirom muških i ženskih životinja za daljnju reprodukciju utječe na promjenu frekvencije alela u populacijama domaćih životinja jer ne daje svim životinjama jednake šanse za reprodukciju (Jovanovac, 2012.).

Budući da selekcija favorizira neke alele u odnosu na druge, to ima posljedice na frekvencije alela u sljedećoj generaciji. U odnosu na genetski drift, selekcija ima sustavnu i usmjerenu silu na promjenu frekvencija alela. Frekvencija povoljnog alela povećava se na štetu manje povoljnog alela. Posljedica toga je da će veći broj životinja postati homozigotno za povoljan alel te na taj način dovesti do smanjenja genetske raznolikosti. Ipak, iznimka ovog pravila su svojstva u kojima se favoriziraju heterozigoti. Tada selekcija ima veći učinak na genetsku raznolikost. Prirodna selekcija djeluje na alele koji doprinose preživljavanju i reproduktivnom uspjehu, odnosno kondiciji. Primjerice, životinje koje imaju smanjeni potencijal za preživljavanje do odrasle dobi imaju nižu kondiciju od životinja koje su jače i zdrave, koje će sigurno doživjeti odraslu dob. Isto tako životinje koje imaju smanjenu mogućnost reprodukcije imati će smanjenu kondiciju u odnosu na one kojima je plodnost na visokom nivou. Uzgojno okruženje u kojem se životinje drže zahtjeva određeni stupanj prilagodbe. Na primjer, životinje koje se drže u zatvorenom prostoru moraju biti sposobne izdržati nedostatak sunčeve svjetlosti, dok će životinje koje se drže na otvorenom morati izdržati klimatske promjene i veću prilagodljivost vanjskim uvjetima. Neuspjeh u rješavanju ovakvih problema rezultirati će smanjenom kondicijom životinje (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.).

## **2.6. Utjecaj mutacija i inbridinga na genetsku raznolikost**

Mutacija je promjena u alelima na DNK koja rezultira s novim varijantama gena (Carlin, 2011.). Frekvencija kojom se to događa je mala, ali se razlikuje između vrsta. Kod ljudi,

stopa mutacija procjenjuje se na  $10^{-5}$  po genu po mejozi (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.). Mutacije se obično javljaju na posebno određenim regijama u genomu tzv. žarištima mutacija (Elez i sur., 2010.). Većina mutacija su bezopasne, a postoje i mutacije koje su pozitivne i negativne s obzirom na njihov učinak. Pozitivne mutacije predmet su selekcije stoga se frekvencija tih mutacija može povećavati. Ne rezultiraju sve mutacije promjenom funkcije alela, takve mutacije se nazivaju tihim mutacijama. Mnogi od SNP-ova (od engl. „*Single-nucleotide polymorphism*“) su tihe mutacije, te se koriste kao genetski markeri (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.).

Pojava cistične fibroze kod ljudi može malo pobliže opisati utjecaj pojave homozigotnosti alela. Cistična fibroza je autosomno recesivna nasljedna bolest koja zahvaća epitele mnogih organa, naročito egzokrine žlijezde. Do razvoja bolesti dolazi ukoliko dijete naslijedi mutirani CFTR (od engl. „*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene*“) gen i od majke i od oca. Ukoliko od jednog roditelja naslijedi mutirani gen, a od drugoga zdravi (normalni) gen, dijete će biti zdravo, no biti će nositelj mutacije. Dakle, ukoliko je dijete heterozigot ono će biti zdravo, no ukoliko je recesivni homozigot doći će do razvoja bolesti. Ukoliko roditelji imaju više djece, ne moraju sva djeca biti bolesna, mogu biti ili nositelji ili potpuno zdravi (Čule, 2018.).

Genetska raznolikost često je predstavljena heterozigotnošću i alelnom raznolikošću. Iako inbriding nema izravan učinak na alelnu raznolikost, inbriding izravno smanjuje heterozigotnost povećanjem udjela homozigota (Willoughby i sur., 2014.). Do inbridinga odnosno uzgoja u srodstvu dolazi sparivanjem usko povezanih jedinki. Sparene jedinke imaju jednog ili više zajedničkih predaka. Posljedica sparivanja jedinki u srodstvu je da će potomak tih roditelja naslijediti iste gene od svakog roditelja. Iz toga proizlazi da inbriding raste s porastom homozigotnosti (Wright, 1949.). Razina inbridinga kod životinje može se izraziti koeficijentom inbridinga. Koeficijent inbridinga ukazuje da je jedinka primila isti alel od oba roditelja, jer su roditelji u srodstvu. Koeficijent inbridinga iskazuje se u rasponu između 0 i 1 (Rousset, 2002.). U tablici 1 prikazane su vrijednosti efektivne veličine populacije, koeficijenta inbridinga, očekivane, te promatrane heterozigotnosti za divlje vrste, lokalne te suvremene pasmine, dok su u tablici 2 prikazane vrijednosti za različite pasmine goveda.

Tablica 1. Veličina uzorka –  $N$ , promatrana heterozigotnost –  $H_O$ , očekivana heterozigotnost –  $H_E$ , koeficijenta inbridinga –  $F_{ROH}$ ,  $F_{ROH4} > Mb$ ,  $F_{ROH8} > 8Mb$ , efektivna veličina populacije –  $N_e$ .

<b>DIVLJE VRSTE</b>	<b>N</b>	<b><math>F_{ROH}</math></b>	<b><math>F_{ROH4}</math></b>	<b><math>F_{ROH8}</math></b>	<b><math>N_e</math></b>	<b><math>H_O</math></b>	<b><math>H_E</math></b>
Španjolska divlja svinja (Muñoz i sur., 2019.)	7	/	/	/	23,01	0,240	0,254
Rumunjska divlja svinja (Bâlteanu i sur., 2019.)	18	0,09	/	/	/	0,28	0,32
Mađarska divlja svinja (Bâlteanu i sur., 2019.)	28	0,14	/	/	/	0,30	0,32
<b>LOKALNE PASMINE</b>	<b>N</b>	<b><math>F_{ROH}</math></b>	<b><math>F_{ROH4}</math></b>	<b><math>F_{ROH8}</math></b>	<b><math>N_e</math></b>	<b><math>H_O</math></b>	<b><math>H_E</math></b>
Turopoljska svinja (Lukic i sur., 2020.)	16		0,400	0,098	/	/	/
Crna slavonska svinja (Lukic i sur., 2020.)	16		0,098	0,074	/	/	/
Turopoljska svinja (Muñoz i sur., 2019.)	50	/	/	/	10,21	0,195	0,187
Crna slavonska svinja (Muñoz i sur., 2019.)	49	/	/	/	33,11	0,332	0,346
<b>SUVREMENE PASMINE</b>	<b>N</b>	<b><math>F_{ROH}</math></b>	<b><math>F_{ROH4}</math></b>	<b><math>F_{ROH8}</math></b>	<b><math>N_e</math></b>	<b><math>H_O</math></b>	<b><math>H_E</math></b>
Pietren (Yue i Wang, 2003.)	32	/	/	/	/	0,58	0,66
Landras (Yue i Wang, 2003.)	40	/	/	/	/	0,54	0,59
Durok (Bâlteanu i sur., 2019.)	56	016	/	/	/	0,31	0,30
Hempšir (Bâlteanu i sur., 2019.)	11	0,14	/	/	/	0,29	0,25

Tablica 2. Veličina uzorka –  $N$ , promatrana heterozigotnost –  $H_O$ , očekivana heterozigotnost –  $H_E$ , efektivna veličina populacije –  $N_e$ , koeficijenta inbridinga –  $F_{ROH}$ ,  $F_{ROH4} > 4Mb$ ,  $F_{ROH8} > 8Mb$ ,  $F_{ROH16} > 16Mb$ .

	<b>N</b>	<b>N<sub>e</sub></b>	<b>H<sub>O</sub></b>	<b>H<sub>E</sub></b>	<b>F<sub>ROH</sub></b>	<b>F<sub>ROH4</sub></b>	<b>F<sub>ROH8</sub></b>	<b>F<sub>ROH16</sub></b>
Jersey (Kasarda i sur., 2021.)	29	7,10	0,31	0,30	/	9,58	5,95	2,87
Šarole (Kasarda i sur., 2021.)	71	7,10	0,35	0,34	/	2,20	1,17	0,58
Limuzin (Kasarda i sur., 2021.)	17	14,52	0,34	0,32	/	1,79	0,74	0,43
Slovak Pinzgau (Kasarda i sur., 2021.)	152	7,10	0,36	0,35	/	2,12	1,45	0,79
Boškarin (Zsolnai i sur., 2020.)	/	/	0,47	0,38	0,18	/	/	/
Buša (Zsolnai i sur., 2020.)	/	/	0,38	0,38	0,14	/	/	/
Mađarsko sivo govedo (Zsolnai i sur., 2020.)	/	/	0,43	0,37	0,09	/	/	/
Rumunjsko sivo govedo (Zsolnai i sur., 2020.)	/	/	0,50	0,37	0,06	/	/	/
Holštajn – Frizijsko govedo (Kelleher i sur., 2016.)	1261	/	0,37	0,37	/	/	/	/

## 2.7. Gubitak genetske raznolikosti zbog migracija

Migracije životinja su relativno duga kretanja karakteristična za velik broj životinjskih vrsta, koja rezultiraju s promjenom u strukturi sparivanja. Migracije nastaju kao posljedica složenih interakcija između unutarnjih (genetika, fiziologija i ponašanje) i vanjskih čimbenika (Åkesson and Hedenström, 2007.). U divljim populacijama, uglavnom predstavljaju kolektivna putovanja u svrhu potrage za hranom, mjestima za razmnožavanje ili radi izbjegavanja nepovoljnih uvjeta mjesta s kojeg je putovanje počelo. Ono po čemu se razlikuje migracija od drugih oblika kretanja je da migracija obično uključuje putovanje iz jedne vrste staništa u drugu (Aidley, 1981). Imigracija iz velike populacije može iznenađujuće usporiti, zaustaviti ili čak okrenuti gubitak genetske varijabilnosti, čak i sa samo jednim ili nekoliko imigranata po generaciji (Lacy, 1987.). Kada se populaciji pridruži nova jedinka iz druge populacije iste pasmine ili neke druge pasmine, to uključuje i uvođenje novih alela. U takvom slučaju uvođenje nove životinje u populaciju rezultira povećanjem genetske raznolikosti. Što je populacija iz koje životinja dolazi različitija, to postoji veća šansa za uvođenje novih alela, a samim time i za povećanje genetske raznolikosti. Suprotno od imigracije je emigracija odnosno kada životinja napušta populaciju. Općenito govoreći taj postupak ima zanemariv učinak na genetsku raznolikost, osim u slučaju ako je populacija ili vrlo mala ili životinja ima jedinstvene ili vrlo rijetke alele (Oldenbroek i van der Waaij, 2014.). Za populacije životinja u koju dolazi nova jedinka iz relativno velike pasmine to predstavlja mehanizam za povećanje genetske varijabilnosti slično kao i mutacija. Ipak, imigracija se po nekoliko aspekata razlikuje od migracije. Razina imigracije mora biti veća od razine mutacija, dapače uvođenje novih jedinki je pod utjecajem uzgajivača. Dovođenjem nove jedinke u populaciju i genetske varijabilnosti djeluje na populaciju u koju se useljava obnavljanjem alela koje su donijeli (Lacy, 1987.).

Male izolirane populacije životinja mogu se suočiti sa sve većim rizikom od izumiranja zbog gubitka genetske raznolikosti. Taj će se sve veći rizik možda nadoknaditi protokom alela tijekom migracija, pod uvjetom da populacija neke vrste životinja prima odgovarajući broj migranata po generaciji (Vucetich i sur., 2000.).

### 3. TRAGOVI SELEKCIJE KOD DOMAĆIH ŽIVOTINJA

Prirodna selekcija glavna je pokretačka snaga za oblikovanje obrasca genetske varijabilnosti na takav način da poboljšava šanse za preživljavanje i reproduktivnu sposobnost populacije životinja (Falconer i Mackay, 1996). U početcima uzgoja životinja selekcija nije bila usmjerena primarno na unaprjeđenje pasmine, no s vremenom uzgajivači su provodili selekciju koja je bila usmjerena prema određenom cilju. Takve strategije selekcije imaju tendenciju da uzrokuju promjene na određenim regijama genoma koje kontroliraju određena svojstva pasmine poput morfologije, tjelesne konformacije, proizvodnih karakteristika, fitnesa, razmnožavanja i mnogih drugih (Saravanan i sur., 2020.).

Selekcijskim „potpisima“ odnosno tragovima selekcije nazivaju se jedinstveni genetski obrasci ili otisci ostavljeni na genomskim regijama koje su bile podvrgnute selekciji (Jensen i sur., 2016.). Smanjenje genetske varijabilnosti određenih regija prije i poslije korisne mutacije, rezultira njenom brzom fiksacijom kroz nekoliko generacija. Pojava kojom se nova korisna mutacija povećava u učestalosti u populaciji i time smanjuje varijabilnost na okolnim neutralnim lokusima naziva se: „seleksijska oznaka“ ili „*hitchhiking*“ efekt (Saravanan i sur., 2020.). Identifikacija tragova selekcije jedan je od ključnih interesa u istraživanjima selekcije životinja jer se pomoću njih mogu identificirati geni i korisne mutacije koje imaju selektivnu prednost u određenoj populaciji domaćih životinja (Zhao i sur., 2015.). Također, ove spoznaje pružaju znanja o evolucijskoj povijesti razvoja različitih pasmina domaćih životinja (Otto, 2000.). Značajan razvoj tehnologija sekvenciranja novijih generacija, SNP nizovi s velikom gustoćom, napredni statistički i bioinformatički alati uvelike su poboljšali mogućnost otkrivanja genomskih regija pod selekcijom kod domaćih životinja. Za identifikaciju selekcijskih oznaka predloženi su različiti pristupi koji uključuju metode temeljene na neravnoteži povezanosti alela (LD“), spektru frekvencije lokusa, smanjenoj lokalnoj varijabilnosti i karakteristikama haplotipova (Qanbari i Simianer, 2014).

#### 3.1. LD – neravnoteža povezanosti alela u genomu domaćih životinja

Neravnoteža povezanosti alela (LD) definirana je kao povezanost alela dvaju ili više lokusa koja nije slučajna i koja se pojavljuje češće ili rjeđe od očekivanoga (Struna 2013.). Neravnoteža povezanosti (LD) je rezultat ne-slučajnog poretka alela na različitim mjestima. U praksi to znači da će geni odnosno aleli koji se nalaze blizu jedan drugoga, biti u pozitivnoj korelaciji i da će se pojavljivati češće u kombinacijama u odnosu na druge alele koji se nalaze dalje od njih. Prema navodu Slatkina (2008.), LD je jedan od onih pojmova koji ne otkriva

njegovo značenje na jednostavan način odnosno da LD podrazumijeva korelaciju između alela, a otkrivanje LD-a ne osigurava niti povezanost niti nedostatak ravnoteže. To proizlazi iz činjenice da drugi mehanizmi osim fizičke bliskosti na kromosomu (veze između njih), poput mutacija, genetskog drifta i epistatičkih kombinacija, također mogu uzrokovati neravnotežu između nepovezanih markera. LD također može nastati zbog stratifikacije populacije i kriptičnih odnosa unutar populacije što rezultira korelacijom između alela i njihovih frekvencija (Hellwege i sur., 2017.; Qanbari, 2020.).

Neravnotežu povezanosti alela može se izračunati na dva načina. Najjednostavniju i najstariju mjeru uveo je Lewontin 1964. godine koja se označava s  $D'$ . On je definirao neravnotežu povezanosti alela odnosno LD kao razliku između stvarne i očekivane (temeljene na stvarnoj frekvenciji alela) frekvencije haplotipova dvaju lokusa ukoliko aleli nasumično segregiraju. Ukoliko je  $D'$  značajno različit od nule (procijenjeno Fisherovim testom), kažemo da postoji LD. No, iako je ova mjera privlačna zbog jednostavnosti izračuna, velika mana joj je ovisnost o frekvencijama alela što usporedbu čini ograničeno uporabljivom. Češće korištena mjera je  $r^2$  (Lewontin, 1964.). Hill i Weir (1994.) navode da se  $D$  koristi u standardiziranom obliku:  $r = \frac{D}{(p_1 p_2 q_1 q_2)^{1/2}}$  ili kao njegova kvadrirana vrijednost  $r^2$  (također opisana kao  $\Delta^2$ ).  $r^2$  se računa kao kvadrat koeficijenta korelacije između dva lokusa. Pretpostavlja se da je vrijednost 1 ukoliko su prisutna samo dva haplotipa. Za usporedbe po lokusima s različitim frekvencijama  $D'$  je vrlo informativan, dok je za niske frekvencije alela  $r^2$  pouzdanija mjera (Oraguzie i sur., 2007.).

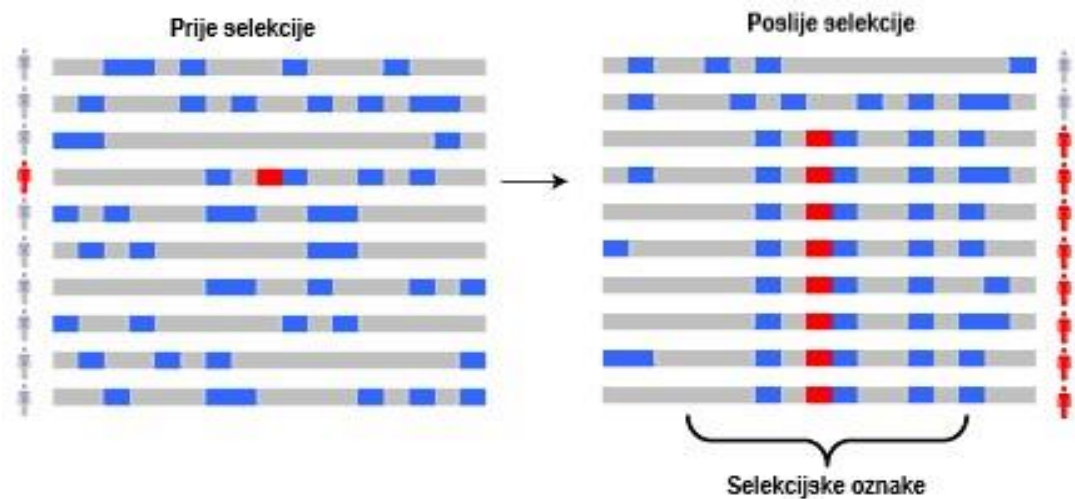
#### 4. METODE OTKRIVANJA TRAGOVA SELEKCIJE

Otkrivanje regija genoma na kojima je selekcija ostavila tragove jedan je od glavnih ciljeva teorijske i primijenjene evolucijske genetike (Gouveia i sur., 2014.). Selekcija ima tendenciju uzrokovati specifične promjene u obrascima varijabilnosti između odabranih lokusa (koji su bili pod utjecajem selekcije) i unutar neutralnih lokusa (koji se nalaze blizu odabranih lokusa) povezanih s njima. Ovi genetski tragovi ostavljeni selekcijom nazivaju se selekcijske oznake odnosno tragovi selekcije, te se mogu koristiti za otkrivanje lokusa pod selekcijom (Kreitman, 2000.). Na slici 4. prikazan je način nastanka selekcijske oznake. Otkrivanje tragova selekcije jedan je od glavnih interesa genetičara, jer mogu pružiti osnovne informacije o evolucijskim procesima koji mijenjaju genom do funkcionalnih spoznaja o genima odnosno genomskim regijama (Nielsen, 2001.). Primjerice, regija koja prethodno nije otkrivena kao regija s utjecajem na neko svojstvo, te spoznaje bi mogle dovesti do početnog zaključka o funkcionalnim svojstvima te regije. Ovaj pristup može dovesti do otkrivanja alela povezanih s nekim svojstvima (poput alela koji su povezani sa prilagodbom na tropske uvjete) koje je teško otkriti laboratorijskim pokusima, također bi mogli biti korisni u potvrđivanju pokusa mapiranja kvantitativnih lokusa svojstva (QTL – od engl. „*Quantitative trait locus*“) na domaćim životinjama. Također, jedan od najambicioznijih ciljeva je otkriti uzročne mutacije koje daju selekcijsku prednost nekim populacijama odnosno vrstama (Hayes i sur., 2008.).

Selekcijske oznake mogu biti jake ili slabe, cjelovite ili djelomične, ovisno o podrijetlu, vrsti i učestalosti mutacije. U slučaju jake selekcijske oznake, učestalost rijetke, ali korisne mutacije brzo se povećava nakon selekcije i u završnoj fazi alel postaje fiksiran u cijeloj populaciji. Na taj način se smanjuje genetska raznolikost u populaciji s porastom varijabilnosti frekvencija, dugih homozigotnih regija i visoke razine LD-a (Pritchard i sur., 2010.). Kod jakih oznaka, svi korisni aleli u populaciji imaju zajedničko mutacijsko podrijetlo. Suprotno od toga, slaba oznaka je podijeljena u dvije vrste: slaba oznaka s jednim podrijetlom ili s višestrukim podrijetlom (Hermisson i Pennings, 2017.). Kod prvoga tipa, selekcija djeluje na stalnu genetsku varijabilnost koja je prije bila ili neutralna ili štetna, ali je postala korisna ili prilagodljiva zbog okoliša ili genetskih promjena (Hermisson i Pennings, 2005.). Taj povoljni alel povećava svoju frekvenciju prema fiksaciji i ostavlja određenu genetsku varijabilnost. Druga vrsta se uglavnom javlja kod velikih populacija gdje su mutacije češće. Višestruke korisne mutacije javljaju se u jednom lokusu na različitim genomskim lokacijama i sve se mutacije javljaju na način da niti jedna od njih ne može



postići fiksaciju (Pennings i Hermisson, 2006.). Tragovi selekcije imaju tendenciju da budu slabije izraženi u slabijim oznakama i što neće ostaviti drastične učinke na smanjenje genetske varijabilnosti u populaciji (Pritchard i sur., 2010.). Također oznake mogu biti i potpune, gdje dolazi do potpune fiksacije favoriziranog alela ili mogu biti djelomični gdje favorizirani aleli i dalje segregiraju zajedno s neutralnim mjestima u populaciji (Hermisson i Pennings, 2017., Saravanan i sur., 2020.).

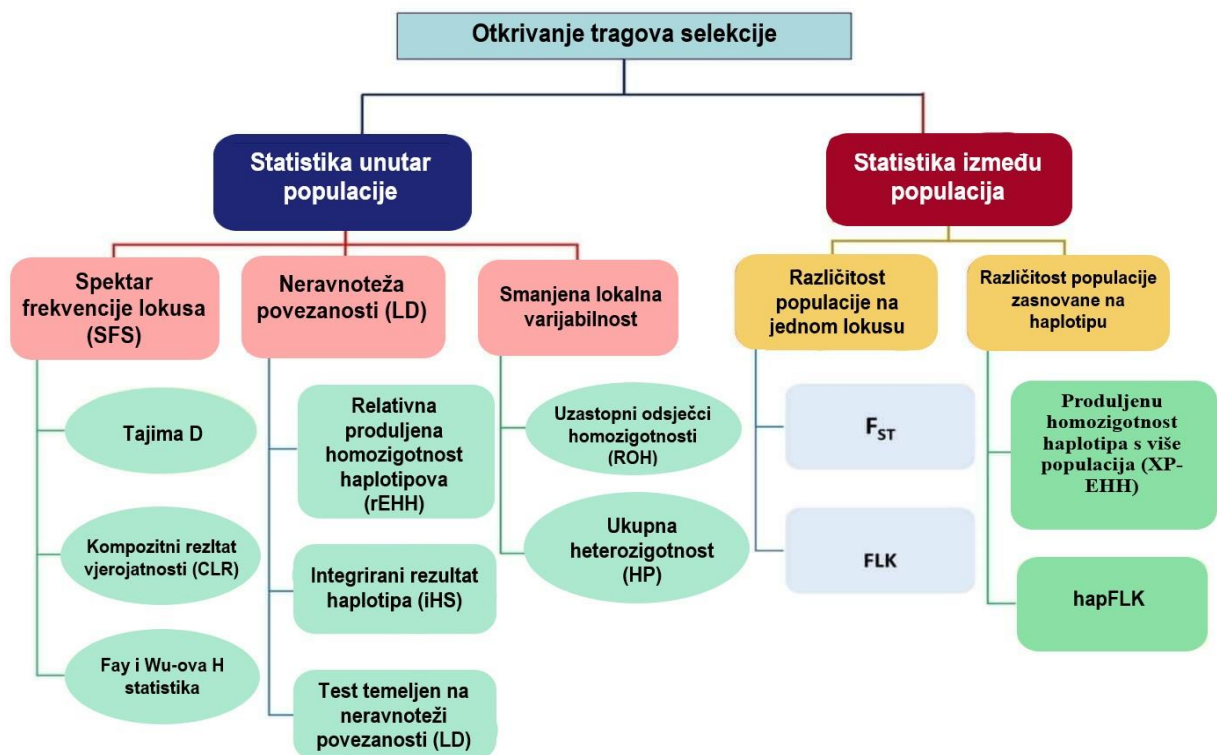


*Slika 4. Slika prikazuje polimorfizme uzduž kromosoma, uključujući odabrani alel, prije i nakon selekcije. Ancestralni aleli prikazani su sivom bojom, a derivirani (neancestralni) aleli su prikazani plavom bojom. Kako novi pozitivno odabrani alel (crveni) raste do visoke frekvencije, obližnji povezani aleli na kromosomu 'stopiraju' zajedno s njim na visoku frekvenciju, stvarajući 'selekcijske oznake'. (izvor: Schaffner i Sabeti, 2008.)*

#### 4.1. Pristupi za otkrivanje tragova selekcije

Tijekom 90-tih razvijeno je nekoliko vrsta testova, npr.  $d_N/d_S$ , Hudson Kreitman Aguade test (HKA), McDonald Kreitman test (MKT) koji su temeljeni na usporedbi uzoraka supstitucije alela i različitosti na razini vrsta (Goldman i Yang, 1994.; Nielsen, 2005.). MKT test u početku je korišten za otkrivanje tragova adaptivne molekularne evolucije između vrsta temeljem različitosti nukleotida (McDonald i Kreitman, 1991.). Napredak u visokopropusnom sekvenciranju (od engl. „*High throughput genotyping*“) i tehnologijama genotipizacije SNP doveo je do skeniranja cijelog genoma i otkrivanja tragova selekcije između populacija unutar neke vrste (Saravanan i sur., 2020.). Poslije razvoja genomskog SNP-a za goveda 2008. godine, vrlo brzo su napušteni mikrosatelitski markeri te su se počele koristiti guste mape SNP markera (Matukumalli i sur., 2009.). Razvijene su različite statističke metode za otkrivanje tragova selekcije pomoću DNK

sekvenci ili SNP genotipova u populacijama domaćih životinja (Oleksyk i sur., 2010.; Qanbari i Simianer, 2014.). Takve metode se mogu klasificirati u dvije skupine (slika 5.): (1.) statistike unutar populacije i (2.) statistike između populacija. Statistika unutar populacije uključuje tri metode koje se temelje na spektru frekvencije lokusa, LD-u i smanjenoj varijabilnosti (Weigand i Leese, 2018.). Statistika između populacija uglavnom uključuje mjeru različitosti zbog frekvencija alela specifičnih za lokuse između populacija (Zhao i sur., 2015.). Takve metode se mogu grupirati kao različitost na jednom lokusu ili na haplotipovima (Saravanan i sur., 2020.).



Slika 5. Podjela metoda za otkrivanje tragova selekcije. (izvor: Saravanan i sur., 2020.)

#### 4.1.1. Metode temeljene na spektru frekvencije lokusa (SFS)

Spektar frekvencije lokusa (SFS) opisuje raspodjelu frekvencija alela po lokusima u genomu određene populacije. SFS je od primarnog interesa za populacijsku genetiku, jer vrlo sažeto i potpuno prikazuje varijabilnost sekvenci na nepovezanim mjestima, a njegovi obrasci odražavaju temeljne populacijske genetske procese, poput rasta populacije, uskih grla i selekcije. Štoviše, niz zaključaka o genetskoj strukturi populacije može proizaći izravno iz SFS metoda (Han i sur., 2015.). Seleksijske oznake povećavaju broj visokofrekventnih alela, a smanjuju broj niskofrekventnih alela (Achaz, 2009.). Testovi neutralnosti temeljeni na frekvenciji alela uključuju Tajimin D (Tajima, 1989.), Fay i Wuovu H statistiku (Fay i Wu,

2000.) i test omjera vjerojatnosti (CLR – od engl. „*composite likelihood ratio test*,,) (Lindsay, 1988.). Tajima (1989.) je razvio metodu koju je predstavio kao: „*statističku metodu za testiranje hipoteze o neutralnoj mutaciji korištenjem DNK polimorfizma*“. Tajima D je statistička metoda koja uspoređuje prosječan broj razlika između parova baza u populaciji s ukupnim brojem varijantnih mjesta u populaciji, odnosno može se reći da Tajimin D pokazuje prati li određena regija genoma u populaciji pretpostavke neutralnosti. U slučaju neutralnosti, vrijednost D biti će nula. U slučaju pozitivne selekcije, vrijednost D biti će negativna ( $D < 0$ ). Suprotno tome, balansirana selekcija dovodi do srednjih frekvencija alela, a vrijednosti D će biti pozitivne (Tajima, 1989.; Saravanan i sur., 2020.). Međutim, rezultati ovog testa nisu uvijek jasni jer je u nekim situacijama nemoguće razlikovati pozitivnu i negativnu selekciju (Gouveia i sur., 2014.). Iako smanjenje heterozigotnosti i višak rijetkih alela nisu nužno određeni obrazac nastao selekcijom, višak deriviranih alela je identificirana kao jedinstvena značajka nastala pozitivnom selekcijom (Fay i Wu, 2000.). Kako bi pristupili ovoj značajki, Fay i Wu (2000.) predložili su Fay-ovu i Wu-ovu statistiku H koja se temelji na frekvencijskom spektru ancestralnih i deriviranih alela, pod pretpostavkom da su aleli predaka poznati. Ova statistika usmjerena je na otkrivanje nedavne pozitivne selekcije, uglavnom za alele koji nisu derivirani od srednje do visoke frekvencije te je komplementarna Tajiminom D koji može prepoznati alele od niske do srednje frekvencije (Cadzow i sur., 2014.; Saravanan i sur., 2020.).

Ipak, ove metode temeljene na SFS-u nisu bile prikladne za lociranje SNP-ova širom genoma. Nakon pojave novijih tehnologija u genomici poput faziranja i imputiranja haplotipova, došlo je do razvijanja naprednijih metoda koje se temelje na neravnoteži povezanosti (LD) i haplotipskoj homozigotnosti (Saravanan i sur., 2020.).

#### **4.1.2. Metode temeljene na neravnoteži povezanosti - LD-u**

Iskorištavanje LD obrazaca fokus je na nekoliko testova za otkrivanje selekcije (Gouveia i sur., 2014.). Seleksijske oznake generiraju visokofrekventni haplotip koji nosi korisnu mutaciju. Metode koje se temelje na LD-u ciljaju te duge homozigotne regije s haplotipovima visokih frekvencija generiranim selekcijskim oznakama. Metode temeljene na LD posebno su korisne u otkrivanju alela pod djelomičnim ili slabim selekcijskim oznakama (Sabeti i sur., 2002.; Saravanan i sur., 2020.). Sabeti i sur. (2002.) predložili su pristup koji se naziva testom dugih haplotipova (LRH – od engl. „*long range haplotype*“) za otkrivanje nedavnih selekcijskih oznaka usredotočujući se na odnos između frekvencije

alela i razine LD-a koja ga okružuje. Ovaj test započinje otkrivanjem središnjih točkaka haplotipova genotipiziranjem grupe polimorfizama s jednim nukleotidom (SNP) u regiji tako maloj da se vjerojatno neće dogoditi rekombinacija. Potom se analiziraju drugi SNP-ovi na sve većim udaljenostima od središnje točke haplotipa kako bi se procijenio umanjeni LD u odnosu na udaljenost. LD se mjeri na sve većim udaljenostima od središta haplotipova izračunom produljene homozigotnosti haplotipa (EHH – od engl. „*extended haplotype homozygosity*“), što je vjerojatnost da su dva kromosoma koji nose određenu središnju točku haplotipa homozigotnu za cijelu regiju od jezgre do udaljenosti  $x$ . Relativni EHH (rEHH – relativna produljena homozigotnost haplotipova) tada se izračunava za usporedbu raspada EHH jednog specifičnog haplotipa do raspada EHH svih ostalih središnjih točkaka haplotipa zajedno. Kako bi se testirao utjecaj selekcije, rEHH i frekvencije svake središnje točke haplotipa uspoređuje se s rEHH i učestalošću ostalih središnjih točkaka haplotipa (Sabeti i sur., 2002., Gouveia i sur., 2014.). Središnje točke haplotipa s visokim vrijednostima rEHH i velikom frekvencijom u populaciji ukazuju na pozitivnu selekciju. Metoda relativne produljene homozigotnosti haplotipa (rEHH) koristi se za otkrivanje regija koje su nedavno podvrgnute pozitivnoj selekciji i ne zahtijevaju opis ancestralnih alela (Sabeti i sur., 2002.). Kao nastavak LRH testa, Voight i sur. (2006.) razvili su iHS test (iHS – od engl. „*integrated haplotype score*“) uključivanjem rekombinacijske udaljenosti u statistiku. Nakon razvoja SNP čipova, ovo je bila najčešće primjenjivana metoda za otkrivanje nedavnih tragova selekcije. Vrijednost iHS-a može se jednostavno definirati kao mjera koliko su haplotipovi oko SNP-a različiti u usporedbi s ostalim regijama u genomu.

U ovoj metodi se svaki SNP tretira kao SNP središnje točke haplotipa, a ispitivanje započinje izračunavanjem EHH za svaki SNP od središnje točke haplotipa. Budući da su SNP-ovi bialelni lokusi, svaki SNP središnje točke haplotipa može biti ancestralni ili derivirani. Test pokazuje točku u kojoj vrijednost ancestralnih i deriviranih EHH padaju ispod određene razine. Zatim se vrijednosti EHH integriraju u udaljenost od alela središnje točke haplotipa do ovako utvrđenih SNP-ova. Za ispitivanje se izračunava integral promatranog EHH-a iz središnje točke haplotipa SNP-a, sve dok EHH ne dosegne 0,05. Ta vrijednost se naziva integrirani EHH (iHH) i definira se kao  $iHH_A$  ili kao  $iHH_D$ , ovisno o tome je li izračunato iz ancestralnog ili deriviranog alela središnjeg SNP-a. Potom se ta vrijednost standardizira kako bi se omogućile izravne usporedbe između različitih SNP-ova bez obzira na frekvencije alela (Voight i sur., 2006.).

#### **4.1.3. Metode zasnovane na smanjenoj lokalnoj varijabilnosti**

Metode zasnovane na smanjenoj lokalnoj varijabilnosti usmjerene su na identificiranje genomskih regija sa smanjenom varijabilnosti u odnosu na prosječnu varijabilnost genoma. U ovu skupinu pripadaju metode uzastopnih homozigotnih odsječaka (ROH – od engl. „*Runs of Homozygosity*“) i ukupne heterozigotnosti ( $H_P$ ) (Rubin i sur., 2010.). Uzastopni odsječci homozigotnosti (ROH) su kontinuirani, neprekidni odsječci homozigotnih genotipova bez heterozigotnosti u diploidnom stanju (Gibson i sur., 2006.). Drugim riječima, ROH su susjedne homozigotne regije genoma nastale zbog rekombinacije identičnih haplotipova roditelja na potomstvo te se smatra da je uzrok njihove pojave sparivanje u srodstvu) (Zhang i sur., 2015.; Ferenčaković i sur., 2013.; Shihabi i Turkalj, 2021.). Opseg i učestalost ROH-a daje informacije o podrijetlu jedinke i njene populacije (Purfield i sur., 2012.). Pod pojmom alela identičnih po podrijetlu (IBD – od engl. „*identical by descent*“) podrazumijeva se da dva alela unutar lokusa koji potječu od istog alela tj. zajedničkog pretka. Suprotno od toga, postoje fizički identični aleli koji ne potječu od zajedničkog pretka, a nazivaju se „*identical by state*“ (IBS) (Shihabi i Turkalj, 2021.). Korištenje ROH-a može se koristiti za poboljšavanje sustava sparivanja i smanjivanja inbridinga, posebno kada za populaciju nije dostupan rodovnik (Zhang i sur., 2015.; Ferenčaković i sur., 2013.; Shihabi i Turkalj, 2021.). Također, prema duljini homozigotnih odsječaka moguće je odrediti broj generacija od zajedničkog pretka. Općenito, dugi odsječci dugi predstavljaju inbriding nastao unazad nekoliko generacija, dok kraći homozigotni odsječci predstavljaju inbriding koji se dogodio prije dužeg vremenskog perioda (Ferenčaković i sur., 2013.). Međutim, neuobičajeno dugi ROH-ovi također mogu postojati i kod jedinki koje nemaju zajedničkog pretka, možda zbog neobičnih mutacija, neravnoteže povezanosti (LD) ili stope rekombinacije u određenim genomskim regijama (Purfield i sur., 2012.).

#### **4.1.4. Različito populacije na jednom lokusu**

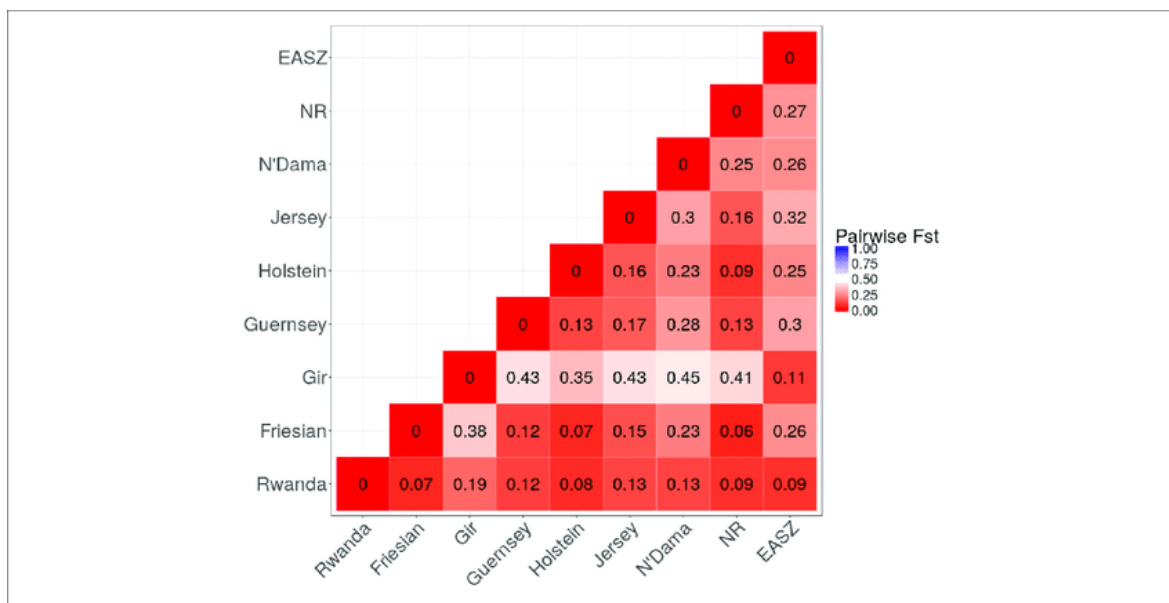
Metode za utvrđivanje razlika između populacija na temelju frekvencije alela pojedinih lokusa uključuju  $F_{ST}$  i FLK (Wright, 1949.; Bonhomme i sur., 2010.). Fiksacijski indeks ( $F_{ST}$ ) temelji se na razlici u frekvencijama alela između populacija odnosno lokusa koji su različito fiksirani u različitim subpopulacijama (Wright, 1949.). Vrijednosti  $F_{ST}$  kreću se od 0 – bez različitosti, do 1 – potpuna razlika između populacija. Velike razlike u frekvencijama alela između populacija na bilo kojem promatranom lokusu rezultiraju s većim vrijednostima  $F_{ST}$ -a što ukazuje na pozitivnu selekciju, dok niske vrijednosti  $F_{ST}$ -a ukazuju na negativnu

selekciju (Zhao i sur., 2015.). Wrightov  $F_{ST}$  pretpostavlja je beskonačno velike populacije, što bi moglo dovesti do precjenjivanja  $F_{ST}$ -a za male veličine uzorka. Willing i sur. (2012.) sugeriraju da, veći broj SNP-ova (>500) povećava učinkovitost otkrivanja genetske različitosti čak i u slučaju male veličine uzorka. Osim Wrightovog  $F_{ST}$ -a, predloženo je nekoliko procjenitelja  $F_{ST}$ -a, poput: Nei-ovog  $G_{ST}$ -a (Nei, 1973.), Weira i Cockerhamovog  $F_{ST}$ -a (Weir i Cockerham, 1984.), Hudsonovog  $F_{ST}$ -a (Hudson i sur., 1992.), Holsingerovog  $F_{ST}$ -a (Holsinger, 2004.), populacijski  $F_{ST}$  (Weir i Hill, 2002.),  $F_{ST}$  zasnovan na drift modelu (Nicholson i sur., 2002.) i Bayesov  $F_{ST}$  (Gianola i sur., 2010.). Različiti softver koristi različite procjenitelje i svaki ima svoje prednosti i nedostatke (Bhatia i sur., 2013). Prednost  $F_{ST}$ -a u odnosu na druge metode poput onih zasnovanih na LD-u ili SFS-u je u tome što je  $F_{ST}$  specifičan za SNP i može otkriti stvarne genetske varijabilnosti u selekciji. Umjesto da se analizira svaki SNP zasebno, korisnije je skenirati nekoliko uzastopnih SNP-a s prosječnim  $F_{ST}$  rezultatom. Kada se koriste hijerarhijski strukturirani skupovi podataka,  $F_{ST}$  statistika može otkriti lažno pozitivne odnosno negativne rezultate (Fariello i sur., 2014.).

Tablica 3. prikazuje srednje  $F_{ST}$  vrijednosti između pasmina goveda koje se najčešće uzgajaju u Irskoj. Može se primjetiti da su pasmine koje su geografski bliske međusobno bliske i genetski.

Tablica 3. Srednje  $F_{ST}$  vrijednosti između pasmina goveda. (izvor: Kelleher i sur., 2016.)

PASMINA	Belgijsko plavo	Šarole	Hereford	Holštajn	Jersey	Limuzin	Montbéliarde	Simental
<b>Agnus</b>	0,094	0,095	0,141	0,100	0,152	0,108	0,142	0,121
<b>Belgijsko plavo</b>		0,070	0,123	0,067	0,131	0,085	0,117	0,097
<b>Šarole</b>			0,119	0,074	0,119	0,049	0,088	0,066
<b>Hereford</b>				0,124	0,165	0,124	0,155	0,136
<b>Holštajn</b>					0,126	0,082	0,112	0,093
<b>Jersey</b>						0,120	0,152	0,133
<b>Limuzin</b>							0,086	0,063
<b>Montbéliarde</b>								0,073
<b>Simental</b>								



Grafikon 1. Prikaz  $F_{ST}$ -a za ruandsko govedo i referentne populacije. Između ruandskog goveda te frizijskog i gir goveda,  $F_{ST}$ -vrijednosti bile su male u rasponu od 0,07 do 0,19. Velika razlika u rasponu od 0,35 do 0,43 uočena je između Gir-a i divljih pasmina goveda, od 0,35 do 0,43 uočena je između Gir-a i divljih pasmina goveda, odražavajući povijesno razilaženje između ovih pasmina (Loftus i sur., 1994.). (izvor: Chagunda, 2018.)

FLK (ili  $T_{FLK}$ ) je nastavak izvorne LK statistike (Lewontin i Krakauer, 1973.) koja uspoređuje stvarnu i očekivanu varijabilnost  $F_{ST}$ -a procijenjene iz podataka. FLK koristi filogenetsku procjenu matrice srodstva populacije (F) i na taj način obračunava dinamičke promjene efektivne veličine populacije tijekom vremena i uključuje hijerarhijsko grananje populacije (Bonhomme i sur., 2010.). F matrica je mjera očekivanog genetskog drifta svake populacije i očekivane kovarijance između njih. FLK je moćan parametarski test koji može lako upravljati velikim skupovima podataka genotipa za otkrivanje tragova selekcije između različitih populacija. Usporedno s  $F_{ST}$  pristupom, FLK učinkovito smanjuje pogreške tipa 1 (lažno pozitivne tijekom otkrivanja tragova selekcije) (Bonhomme i sur., 2010.; Saravanan i sur., 2020.).

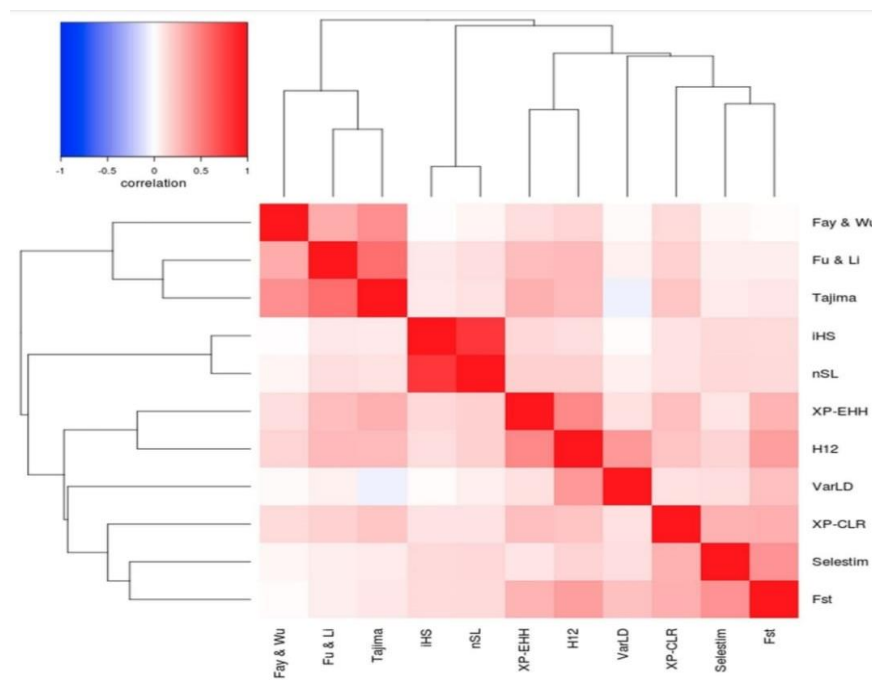
#### 4.1.5. Različitost populacije zasnovana na haplotipu

Metode različitosti temeljene na haplotipovima uključuju pristup produljene homozigotnosti haplotipova u više populacija (XP-EHH) i hapFLK, te nadograđenu metodu FLK statistike (Fariello i sur., 2013.). Ove metode koriste informacije o haplotipovima iz više populacija, a pristranost utvrđivanja pomoću SNP-ova je niska (Saravanan i sur., 2020.). Kako bi se izračunao XP-EHH između populacije A i populacije B, prvo se izračunavaju vrijednosti iHH za svaku populaciju zasebno. Dobiveni rezultat XP-EHH je direktan, a pozitivni i negativni rezultati sugeriraju da se selekcija dogodila u populaciji A, odnosno populaciji B.

(Sabeti i sur., 2007.). Fariello i sur. (2013.) predložili su metodu FLK zasnovanu na haplotipu koja se naziva hapFLK. Ova statistika nadograđuje se na izvornu FLK statistiku (Bonhomme i sur., 2010.). Kao i FLK, ova metoda uključuje hijerarhijsku strukturu populacija, ali je test proširen kako bi se u obzir uzela struktura haplotipova u uzorku.

Prema González-Rodríguez i sur. (2016.) metode za otkrivanje selekcije mogu se podijeliti u tri, već nabrojane glavne skupine te su analizom korelacija između dobivenih rezultata 11 testova temeljenih na SNP-ovima potvrdila je da se one mogu grupirati u ove tri glavne skupine.

Za dobivanje što preciznijih rezultata preporučljivo je koristiti ukoliko je moguće više metoda. Na slici 6. prikazana je povezanost testova za otkrivanje tragova selekcije, što je boja tamnija odnosno crvenija to postoji veća korelacija između dva testa.



Slika 6. Prikaz korelacije između rezultata 11 testova primijenjenih za otkrivanje tragova selekcije i njihovo grupiranje u tri skupine. (izvor: González-Rodríguez i sur., 2016.)



## 5. GENETSKA RAZNOLIKOSTI HRVATSKIH AUTOHTONIH PASMINA

### 5.1. Svinje

Lukić i sur. (2020.) su proveli istraživanje genetske strukture i selekcijskih oznaka dvije Hrvatske autohtone pasmine svinja, crne slavonske svinje i turopoljske svinje u odnosu na brojne svjetske pasmine. Analizom dužine homozigotnih odsječaka koristeći SNP markere utvrdili su da turopoljska svinja ima izrazito visoke vrijednosti inbridinga ( $F_{ROH} > 4 \text{ Mb} = 0,400$  i  $F_{ROH} > 8 \text{ Mb} = 0,332$ ), a takve visoke vrijednosti utvrđene su samo još kod mađarske mangulice ( $F_{ROH} > 4 \text{ Mb} = 0,415$ , i  $F_{ROH} > 8 \text{ Mb} = 0,371$ ). Suprotno tome, crna slavonska svinja imala je znatno niži inbriding ( $F_{ROH} > 4 \text{ Mb} = 0,098$  i  $F_{ROH} > 8 \text{ Mb} = 0,074$ ). Što se tiče različitosti populacije, ona je pokazala prosječne  $F_{ST}$  vrijednosti za turopoljsku svinju i svih istraživanih pasmina 0,32, dok je za crnu slavonsku svinju prosječna  $F_{ST}$  vrijednost iznosila 0,21.

Iz ovog je istraživanja zaključak je da je genetska raznolikost turopoljske svinje vrlo niska, te da postoji potreba za izradu novog konzervacijskog programa radi očuvanja ove pasmine. U slučaju crne slavonske svinje, iz navedenih podataka vidljivo je da je razina inbridinga značajno niža, što dovodi do zaključka da je genetska raznolikost na zadovoljavajućoj razini. Također, prema Godišnjem izvješću HAPIH-a („*Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu*“) za 2021. godinu broj jedinki crne slavonske svinje je u odnosu prema broju turopoljskih svinja za deset puta veći.

### 5.2. Goveda

Ramljak (2010.) je provela istraživanje kojem je cilj bio utvrditi genetsku strukturu tri autohtone pasmine goveda u Hrvatskoj, uspoređujući ih sa 16 europskih pasmina goveda s područja jugoistočne, sjeverozapadne i sjeverne Europe. Obuhvatila je 872 jedinke genotipizirane na 105 mikrosatelitskih biljega. Iz analize je isključeno 12 mikrosatelitnih biljega, zbog odstupanja od Hardy-Wenibergove ravnoteže ili zbog neiskazane neutralnosti. Analiza ostalih mikrosatelita pokazala je visoku polimorfnost s prosječnim indeksom polimorfnosti od 0,700, dok je po mikrosatelitnom biljegu utvrđeno od 6 do 25 alelnih varijanti, s prosječnom vrijednosti od 12,4 alela po lokusu. Najveću uočenu ( $H_0 = 0,648$ ) i očekivanu ( $H_E = 0,677$ ) heterozigotnost, ali i genetsku raznolikost imala je buša, kao i najveći prosječan broj alela ( $n_A = 6,82$ ), koja je na razini s alpskim pasminama i pasminama

sjeverozapadne Europe. Kod slavonsko-srijemskog podolca uočena heterozigotnost iznosila je 0,593, očekivana heterozigotnost iznosila je 0,583, dok je prosječan broj alela iznosio 4,85, što predstavlja najmanju genetsku raznolikost kod tri hrvatske autohtone pasmine goveda. „Mala efektivna veličina populacije i izraženo djelovanje genetskog drifta pogodovalo je najizraženijem distanciranju slavonsko-srijemskog podolca naspram ostalih 18 pasmina goveda obuhvaćenih ovim istraživanjem.“ (Ramljak, 2010.).

### 5.3. Ovce

Drzaic i sur. (2022.) proveli su sveobuhvatnu analizu hrvatskih pasmina ovaca, genotipizirali su 201 jedinku hrvatskih autohtonih pasmina ovaca. Koeficijenti inbridinga ( $F_{ROH>2Mb}$ ) kretali su se između 0,025 kod dalmatinske pramenke i paške ovce i 0,070 kod dubrovačke ovce. Efektivna veličina populacije bila je 61 za krčku ovcu te 1039 za dalmatinsku pramenku. Tablica 5. prikazuje  $F_{ST}$  između hrvatskih autohtonih pasmina ovaca. U Tablici 6. prikazane su vrijednosti koeficijenta inbridinga, očekivane, te promatrane heterozigotnosti za hrvatske pasmine ovaca.

Tablica 4.  $F_{ST}$  autohtonih pasmina ovaca. (izvor: Drzaic i sur. (2022.))

	DPS	RIS	PIS	LPS	KIS	ISS	DRS	CIS
<b>Dalmatinska pramenka (DPS)</b>								
<b>Rapska ovca (RIS)</b>	0,016							
<b>Paška ovca (PIS)</b>	0,015	0,011						
<b>Lička pramenka (LPS)</b>	0,003	0,021	0,020					
<b>Krčka ovca (KIS)</b>	0,029	0,024	0,025	0,033				
<b>Istarska ovca (ISS)</b>	0,040	0,040	0,041	0,044	0,051			
<b>Dubrovačka ovca (DRS)</b>	0,026	0,041	0,039	0,030	0,053	0,065		
<b>Creska ovca (CIS)</b>	0,031	0,020	0,022	0,036	0,034	0,053	0,055	

Tablica 5. Veličina uzorka – N, promatrana heterozigotnost –  $H_O$ , očekivana heterozigotnost -  $H_E$ , koeficijenta inbridinga –  $F_{ROH}$  dužine ROH-a preko 2Mb. (izvor: Držić i sur. (2022.))

<b>PASMINA</b>	<b>N</b>	<b><math>H_O</math></b>	<b><math>H_E</math></b>	<b><math>F_{ROH&gt;2Mb}</math></b>
<b>Creska ovca</b>	20	0,340	0,341	0,049
<b>Dalmatinska pramenka</b>	26	0,346	0,348	0,025
<b>Dubrovačka ovca</b>	26	0,339	0,341	0,070
<b>Istarska ovca</b>	25	0,342	0,336	0,053
<b>Krčka ovca</b>	20	0,340	0,340	0,058
<b>Lička pramenka</b>	20	0,345	0,347	0,033
<b>Paška ovca</b>	45	0,339	0,345	0,035
<b>Rapska ovca</b>	20	0,337	0,345	0,055

Šalamon sa suradnicima (2012.) provela je istraživanje na 103 ovce iz četiri pasmine iz Hrvatske (Istarska i Krčka ovca, te Lička pramenka) i Slovenije (Istarska ovca), te koristeći 24 mikrosatelita. Parametri koje su analizirali za procjenu genetske raznolikosti su očekivana i uočena heterozigotnost, prosječan broj alela, te koeficijent inbridinga. Istarske ovce iz Hrvatske (IST) i istarske ovce uzgajane u Sloveniji (ISTs) imale su vrijednosti svih parametara na vrlo sličnim razinama. Uočena heterozigotnost kod Istarske ovce iz RH iznosila je 0,695, a kod one iz Slovenije 0,694, dok je kod hrvatske Istarske ovce očekivana heterozigotnost iznosi 0,714, a iz Slovenije 0,710. Kod IST koeficijent inbridinga iznosio je 0,042, dok je kod ISTs prosječan broj alela iznosilo 6,08, a koeficijent inbridinga 0,052.

## 6. ZAKLJUČAK

Genetska raznolikost uključuje razlike u genomu između populacija, unutar populacije, te između zasebnih jedinki populacije. Genetska raznolikost u uzgoju domaćih životinja je bitna kako bi se omogućilo sparivanje jedinki uz izbjegavanje uzgoja u srodstvu, koje može dovesti do različitih poremećaja u genomu životinje, ali i do brojnih abnormalnosti organizama. Možemo zaključiti da je prvi utjecaj čovjeka na genetsku raznolikost započeo onda kada je prva životinja udomaćena. Također, početkom domesticiranja i početkom provođenja selekcije od strane čovjeka započeo je i proces gubitka genetske raznolikosti i do smanjivanja populacija odnosno vrsta, od kojih danas nekima prijeti i izumiranje. Smanjivanje brojnosti populacija ne može se vezati samo uz čovjekovo upravljanje neke populacije, jer se smanjenje broja jedinki u populaciji može pojaviti i zbog neke nenadane bolesti, virusa i slično. Do gubitka genetske raznolikosti može doći zbog genetskog drifta koji nije direktno pod utjecajem selekcijskih odluka. Zatim, do gubitka može doći zbog mutacija koje mogu biti pozitivne ili negativne odnosno mogu djelovati na genom pozitivno ili negativno na organizam. Potom do gubitka raznolikosti može doći i zbog migracija, odnosno zbog emigracije, naročito ukoliko je uvezena životinja iz male populacije ili ima neke rijetke alele, dok imigracija može dovesti do povećanja genetske raznolikosti.

Prilikom svake selekcije na genomu ostaju tragovi koje nazivamo tragovi selekcije ili selekcijske oznake. Oni su koristan alat za otkrivanje područja na genomskim regijama koje su bile podvrgnute selekciji, pomoću kojih možemo identificirati gene i mutacije koje imaju prednost prilikom selekcije u određenoj populaciji. Jedna od dobrih strana otkrivanja tragova selekcije je i to što pomoću njih se može dobiti i informacije o evoluciji neke pasmine.

Budući da se domaće životinje uzgajaju za specifične namjene, primjena selekcijskih oznaka utvrđenih sa suvremenim genomskim alatima mogu značajno doprinjeti u razvoju konzervacijskih programa različitih populacija domaćih životinja.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Achaz, G. (2009.): Frequency Spectrum Neutrality Tests: One for All and All for One. *Genetics*, 183:249–258.
2. Aidley, D. J. (1981.): *Animal migration*. Cambridge university, Cambridge.
3. Åkesson, S., Hedenström, A. (2007): How Migrants Get There: Migratory Performance and Orientation. *BioScience*, 57(2): 123–133.
4. Bâlțeanu, V. A., Cardoso, T. F., Amills, M., Egerszegi, I., Anton, I., Beja-Pereira, A., Zsolnai, A. (2019). The footprint of recent and strong demographic decline in the genomes of Mangalitza pigs. *Animal*, 13(11): 1-7.
5. Bhatia, G., Patterson, N., Sankararaman, S., Price, A. L. (2013.): Estimating and interpreting  $F_{ST}$ : The impact of rare variants. *Genome Research*, 23: 1514-1521.
6. Bonhomme, M., Chevalet, C., Servin, B., Boitard, S., Abdallah, J., Blott, S., Sancristobal, M. (2010.): Detecting Selection in Population Trees: The Lewontin and Krakauer Test Extended. *Genetics*, 186:241–262.
7. Biswas, S., Akey, J. M. (2006.): Genomic insights into positive selection. *Trends in Genetics*. 22 (8): 437-446.
8. Buri, P. (1956.): Gene Frequency in Small Populations of Mutant *Drosophila*. *Evolution*, 10(4): 367-402.
9. Fay, J. C. i Wu, C. I. (2000.): Hitchhiking under positive Darwinian selection. *Genetics*, 155:1405–1413.
10. Carlin, J. L. (2011.): Mutations Are the Raw Materials of Evolution. *Nature Education Knowledge*, 3(10):10.
11. Chagunda, M. G. G., Mujibi, F. D. N., Dusingizimana, T., Kamana, O., Cheruiyot, E., Mwai, O. A. (2018.): Use of High Density Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Arrays to Assess Genetic Diversity and Population Structure of Dairy Cattle in Smallholder Dairy Systems: The Case of Girinka Programme in Rwanda. *Frontiers in Genetics*, 9: 438.
12. Chen, J. J. (2010.): The Hardy-Weinberg principle and its applications in modern population genetics. *Frontiers in Biology*, 5(4): 348-353.

13. Čule, A. M. Individualizirani pristup liječenju cistične fibroze. Specijalistički rad. Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 2018.
14. Darwin, C. (1859.): On the Origin of Species by Means of Natural Selection. Murray, London.
15. de Simoni Gouveia, J. J., da Silva, M.V., Paiva, S. R., de Oliveira, S. M. (2014.): Identification of selection signatures in livestock species. *Genetics and Molecular Biology*. 37 (2): 330-342.
16. Držaić, I., Čurik, I., Lukić, B., Shihabi, M., Li, M.-H., Kantanen, J., Mastrangel, S., Ciani, E., Lenstra, J.A., Čubric-Čurik, V. (2022.): High-Density Genomic Characterization of Native Croatian Sheep Breeds. *Frontiers in Genetics*, 13: 940736.
17. Elez, M., Murray A.W., Bi, L.-J., Zhang, X.-E., Matic, I., Radman, M. (2010.): Seeing Mutations in Living Cells. *Current Biology*, 20(16): 1432-1437.
18. Falconer, D. S., Mackay, T. F. C. (1996.): Introduction to Quantitative Genetics. Longman, Essex.
19. FAO (2007.): Global Plan of Action for Animal Genetic Resources and the Interlaken Declaration. Dostupno na: (<http://www.fao.org/docrep/010/a1404e/a1404e00.HTM>). Datum pristupa: 15. lipnja 2021.
20. FAO (2015.): The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. (ur.) Scherf, B.D. i Pilling, D. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments, Rome. Dostupno na: (<http://www.fao.org/3/a-i4787e/index.html>.) Datum pristupa: 15. lipnja 2021.
21. Fariello, M.-I., Servin, B., Tosser-Klopp, G., Rupp, R., Moreno, C., International Sheep Genomics Consortium, San Cristobal, M., Boitard, S. (2014.): Selection Signatures in Worldwide Sheep Populations. *population*. *Campbell Biology* (9th Edition). 476-480. Dostupno na: ([https://archive.org/details/isbn\\_9781256158769](https://archive.org/details/isbn_9781256158769))
22. Fay, J. C., Wu, C. I. (2000.): Hitchhiking under positive Darwinian selection. *Genetics*, 155:1405–1413.
23. González-Rodríguez, A., Munilla, S., Mouresan, E. F., Cañas-Álvarez, J. J., Díaz, C., Piedrafita, J., Piedrafita, J., Baro, J. Á., Molina, A., Varona, L. (2016.): On the performance of tests for the detection of signatures of selection: a case study with the Spanish autochthonous beef cattle populations. *Genetics Selection Evolution*, 48: 81.

24. Gianola, D., Simianer, H., Qanbari, S. (2010.): A two-step method for detecting selection signatures using genetic markers. *Genetics Research*, 92(2): 141-155.
25. Gibson, J., Morton, N. E., Collins, A. (2006.): Extended tracts of homozygosity in outbred human populations. *Human Molecular Genetics*, 15(5): 789-795.
26. Goldman, N., Yang, Z. (1994.): A codon-based model of nucleotide substitution for protein-coding DNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 11:725–736.
27. Groeneveld, L. F., Lenstra, J. A., Eding, H., Toro, M. A., Scherf, B., Pililng, D., Negrini, R., Kantanen, J., Olsaker, I., Holm, L-E, Lien, S., Vilkki, J., Brusgaard, K., Eythorsdottir, E., Danell, B., Adalsteinsson, S. (2000.): Genetic diversity and population structure of 20 north European cattle breeds. *Journal of Heredity*. 91 (6): 446-457.
28. Gvozdanović, K., Margeta, V., Margeta, P., Djurkin Kušec, I., Galović, D., Dovč, P., Kušec, G. (2018.): Genetic diversity of autochthonous pig breeds analyzed by microsatellite markers and mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. *Animal Biotechnology*, 30(3): 242-251.
29. Han, E., Sinsheimer, J. S., Novembre, J. (2015.): Fast and accurate site frequency spectrum estimation from low coverage sequence data. *Bioinformatics*, 31(5): 720-727.
30. Hardy, G. H. (1908.): Mendelian proportions in a mixed population. *Science*, 28 (706): 49–50.
31. Hayes, B. J., Lien, S., Nilsen, H., Olsen, H., G., Berg, P., Maceachern, S., Potter, S., Meuwissen, T. H. E. (2008.): The origin of selection signatures on bovine chromosome 1. *Animal Genetics*, 39(2): 105-111.
32. Hellwege, J., Keaton, J., Giri, A., Gao, X., Velez, D., Edwards, D. R., Edwards, T. L. (2017.): Population Stratification in Genetic Association Studies. *Current Protocols Human Genetics*, 95(1): 1-22.
33. Hermisson, J., Pennings, P. S. (2005.): Soft sweeps: molecular population genetics of adaptation from standing genetic variation. *Genetics*, 169(4): 2335–2352.
34. Hermisson, J., Pennings, P. S. (2017.): Soft sweeps and beyond: understanding the patterns and probabilities of selection footprints under rapid adaptation. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(6): 700-716.

35. Hill, W. G., Weir, B. S. (1994.): Maximum-likelihood estimation of gene location by linkage disequilibrium. *American journal of human genetics*, 54(4): 705-714.
36. Holsinger, K. (2004.): Analysis of Genetic Diversity in Geographically Structured Populations: A Bayesian Perspective. *Hereditas*, 130(3): 245 – 255.
37. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu. Svinjogojstvo – Godišnje izvješće 2021. 2022. Dostupno na: (<https://www.hapih.hr/cs/publikacije/svinjogojstvo/>). Datum pristupa: 16. rujna 2022.
38. Hudson, R. R., Slatkin, M., Maddison, W. (1992.): Estimation of gene flow from DNA sequence data. *Genetics*, 132(2): 583-589.
39. Jensen, J. D., Foll, M., Bernatchez, L. (2016.): The past, present and future of genomic scans for selection. *Molecular Ecology*, 25(1): 1-4.
40. Jovanovac, S. (2012.): Principi uzgoja životinja. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.
41. Kasarda R., Vostrý L., Vostrá-Vydrová H., Candráková K., Moravčíková N. (2021.): Food Resources Biodiversity: The Case of Local Cattle in Slovakia. *Sustainability*, 13(3): 1296.
42. Kelleher, M. M., Berry, D. P., Kearney, J. F., McParland, S., Buckley, F., Purfield, D. C. (2016). Inference of population structure of purebred dairy and beef cattle using high-density genotype data. *Animal*, 11(01), 15–23.
43. Kimura, M. (1968.): Evolutionary Rate at the Molecular Level. *Nature*, 217: 624-626.
44. Lacy, R. C. (1987.): Loss of Genetic Diversity from Managed Populations: Interacting Effects of Drift, Mutation, Immigration, Selection, and Population Subdivision. *Conservation Biology*. 1(2): 143-158.
45. Lewontin, R. C. (1964.): The Interaction of Selection and Linkage. I. General Considerations; Heterotic Models. *Genetics*, 49(1): 49–67.
46. Lewontin, R., C., Krakauer, J. (1973.): Distribution of gene frequency as a test of the theory of the selective neutrality of polymorphisms. *Genetics*, 74:175–195.



47. Loftus, R. T., MacHugh, D. E., Bradley, D. G., Sharp, P. M., and Cunningham, P. (1994.): Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(7): 2757–2761.
48. Lindsay, B. G. (1988.): Composite likelihood methods. *Contemporary Mathematics*, 80:221–239.
49. Lukić B., Ferencaković M., Šalamon D., Čačić M., Orehovački V., Iacolina L., Čurik I., Čubrić-Čurik V. (2020.): Conservation Genomic Analysis of the Croatian Indigenous Black Slavonian and Turopolje Pig Breeds. *Frontiers in Genetics*, 11:261.
50. Lukić B., Smetko A., Mahnet Ž., Klišanić V., Špehar M., Raguž N., Kušec G. (2015.): Population genetic structure of autochthonous Back Slavonian Pig. *Poljoprivreda*, 21(1 SUPPLEMENT): 28-32.
51. Mack R. (1970.): The great African cattle plague epidemic of the 1890's. *Tropical Animal Health and Production*, 2: 210-219.
52. Matukumalli L. K., Lawley C. T., Schnabel R. D., Taylor J. F., Allan M. F., Heaton M. P., O'Connell J., Moore S. S., Smith T. P. L., Sonstegard T. S., van Tassell C. P. (2009.): Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PloS One*, 4(4): e5350.
53. McDonald J. H., Kreitman M. (1991): Adaptive protein evolution at the Adh locus in *Drosophila*. *Nature*, 351:652–654.
54. Muñoz M., Bozzi R., García-Casco J., Núñez Y., Ribani A., Franci O., García F., Škrlep M., Schiavo G., Bovo S., Utzeri V. J., Charneca R., Martins J. M., Quintanilla R., Tibau J., Margeta V., Djurkin-Kušec I., Mercat M. J., Riquet J., Estellé J., Zimmer C., Razmaite V., Araujo J. P., Radović Č., Savić R., Karolyi D., Gallo M., Čandek-Potokar M., Fernández A. I., Fontanesi L., Óvilo C. (2019). Genomic diversity, linkage disequilibrium and selection signatures in European local pig breeds assessed with a high density SNP chip. *Scientific Reports*, 9(1): 13546.
55. Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj (2010.), Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, Zagreb.

56. Nei M., Maruyama T., (1973.): Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings National Academy of Sciences of the United States of America*, 70(12): 3321-3323.
57. Nei M., Maruyama T., Chakraborty R. (1975.): The Bottleneck Effect and Genetic Variability in Populations. *Evolution*, 29(1): 1-10.
58. Nicholson G., Smith A. V., Jónsson F., Gústafsson Ó., Stefánsson K., Donnelly P. (2002.): Assessing population differentiation and isolation from single-nucleotide polymorphism data. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*, 64(4): 695-715.
59. Nielsen R. (2001.): Statistical tests of selective neutrality in the age of genomics. *Heredity*, 86(6): 641 – 647.
60. Nielsen R. (2005.): Molecular signatures of natural selection. *Annual Review of Genetics*, 39:197–218.
61. Notter D. R. (1999.): The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. *Journal of Animal Science*, 77(1): 61–69.
62. Oldenbroek K., van der Waaij L. (2014.): Textbook animal breeding : animal breeding and genetics for BSc students. Centre for Genetic Resources and Animal Breeding and Genomics Group, Wageningen University and Research Centre. 311.
63. Oraguzie N. C., Wilcox P. L., Rikkerink E. H. A., de Silva H. N. (2007.): Linkage Disequilibrium. U: Oraguzie N. C., Rikkerink E. H. A., Gardiner S. E., de Silva H. N. (ur.) *Association Mapping in Plants*. Springer New York, New York, 11-39.
64. Otto S. P. (2000.): Detecting the form of selection from DNA sequence data. *Trends in Genetics*, 16(12): 526-529.
65. Pavlica M. (ur.), (2012.). *Kloniranje i tehnologija rekombinantne DNA* U: Mrežni udžbenik iz genetike. Pavoković D., Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
66. Pennings P. S., Hermisson J. (2006.): Soft Sweeps II—Molecular Population Genetics of Adaptation from Recurrent Mutation or Migration. *Molecular Biology and Evolution*, 23(5): 1076–108.

67. Pritchard J. K., Pickrell J. K., Coop, G. (2010.): The Genetics of Human Adaptation: Hard Sweeps, Soft Sweeps, and Polygenic Adaptation. *Current Biology*, 20(4): 208-215.
68. Purfield D. C., Berry D. P., McParland S., Bradley D. G. (2012.): Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC Genetics*, 13: 70.
69. Ralls K., Ballou J. D., Templeton A. (1988.): Estimates of Lethal Equivalents and the Cost of Inbreeding in Mammals. *Conservation Biology*, 2(2): 185-193.
70. Ramljak J. Procjena genetske raznolikosti unutar i između hrvatskih autohtonih pasmina goveda. Doktorska disertacija. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Zagreb, 2011.
71. Reed D. H., Frankham R. (2003.): Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology*, 17(1): 230–237.
72. Reece J. B., Urry L. A., Cain M. I., Wasserman S. A., Minorsky P. V., Jackson R. B. (2011.): Natural selection, genetic drift, and gene flow can alter allele frequencies in a population. *Campbell Biology* (9th Edition). 476-480. Raspoloživo: [https://archive.org/details/isbn\\_9781256158769](https://archive.org/details/isbn_9781256158769)
73. Rousset F. (2002.): Inbreeding and relatedness coefficients: what do they measure?. *Heredity*, 88(5): 371–380.
74. Rubin C.-J., Zody M. C., Eriksson J., Meadows J. R. S., Sherwood E., Webster M. T., Jing L., Ingman M., Sharpe T., Ka S., Hallböök F., Besnier F., Carlborg Ö., Bed'hom B., Tixier-Boichard M., Jensen P., Siegel P., Lindblad-Toh K., Andersson L. (2010.): Whole-genome resequencing reveals loci under selection during chicken domestication. *Nature*, 464: 587-591.
75. Sabeti P. C., Reich D. E., Higgins J. M., Levine H. Z. P., Richter D. J., Schaffner S. F., Gabriel S. B., Platko J. V., Patterson N. J., McDonald G. J., Ackerman H. C., Campbell S. J., Altshuler D., Cooper R., Kwiatkowski D., Ward R., Lander E. S. (2002.): Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature*. 419(6909): 832-837.
76. Saravanan K. A., Panigrahi M., Kumar H., Bhushan B., Dutt T., Mishra B. P. (2020.): Selection signatures in livestock genome: A review of concepts, approaches and applications. *Livestock Science*. 241: 1-11.

77. Shihabi M., Turkalj K. Procjena koeficijenta inbridinga na temelju X kromosoma istarske i paške ovce. Rad za rektorovu nagradu. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, 2021.
78. Slatkin M. (2008.): Linkage disequilibrium — understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nature Reviews Genetics*, 9: 477-485.
79. Struna 2011. Institut za hrvatski jezik i jezikoslovlje. Dostupno na: (<http://struna.ihjj.hr/naziv/neravnoteza-vezanosti-gena/24886/>). Datum pristupa: 09. ožujka 2021.
80. Šalamon D., Gutierrez-Gil B., Kostelić A., Gorjanc G., Kompan D., Džidić A. (2012.): Preliminary study on the genetic diversity of the Istrian sheep, Lika and Krk pramenka sheep populations using microsatellite markers. *Acta agriculturae Slovenica, Suppl. 3*, 125-129.
81. Šolić M. (2005.): Ekologija, interna skripta. Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split.
82. Šuvak N. (2005.): Hardy-Weinbergov model ravnoteže. *Osječki matematički list*, 5(2): 91-99.
83. Tajima F. (1989.): Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism. *Genetics*. 123 (3): 585-595.
84. Toro M., Fernández J., Caballero A. (2009.): Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livestock Science*, 120: 174-195.
85. Voight B. F., Kudaravalli S., Wen X., Pritchard J. K. (2006.): A Map of Recent Positive Selection in the Human Genome. *PLoS Biology*, 4 (3): 72.
86. Zsolnai A., Maróti-Agóts Á., Kovács A., Bâlteanu A. V., Kaltenecker E., Anton I. (2020.): Genetic position of Hungarian Grey among European cattle and identification of breed-specific markers. *Animal*, 14(9): 1786-1792.
87. Zhao F., McParland S., Kearney F., Lixin D., Berry D. P. (2015.): Detection of selection signatures in dairy and beef cattle using high-density genomic information. *Genetics Selection Evolution*. 47 (1): 49.
88. Qanbari S., Simianer H. (2014.): Mapping signatures of positive selection in the genome of livestock. *Livestock Science*. 166: 133-143.

89. Weigand H., Leese F. (2018.): Detecting signatures of positive selection in non-model species using genomic data. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 184:528–583.
90. Weinberg W. (1908.): Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. *Jahreshefte des Vereins für vaterländische Naturkunde in Württemberg*, 64: 368-382. Dostupno na: (<https://wellcomecollection.org/works/ek48psze>).
91. Weir B. S., Cockerham C. C. (1984.): Estimating F-Statistics. *Annual Review of Genetics*, 36: 721-750.
92. Weir B. S., Hill W. G. (2002): Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, 38(6): 1358-1370.
93. Willing E.-M., Dreyer C., van Oosterhout C. (2012.): Estimates of Genetic Differentiation Measured by  $F_{ST}$  Do Not Necessarily Require Large Sample Sizes When Using Many SNP Markers. *PloS One*, 7(8): e42649.
94. Willoughby J. R., Fernandez N. B., Lamb M. C., Ivy J. A., Lacy R. C., DeWoody J. A. (2015.): The impacts of inbreeding, drift and selection on genetic diversity in captive breeding populations. *Molecular Ecology*, 24(1): 98-110. Epub 2014.
95. Wright S. (1949.): The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15: 323–354.
96. Yue G. H., Wang G. L. (2003.): Molecular genetic analysis of the Chinese Erhualian pig breed. *South African Journal of Animal Science*, 33(3): 159-165.

## 8. SAŽETAK

Stvaranje životinja sa visokim proizvodnim svojstvima (primjerice: količine mlijeka, mesnatosti, otpornosti, kondicije i sl.), dovelo je do gubitka raznolikosti domaćih životinja. Nekoliko je razloga zbog kojih je raznolikost umanjena, te je za neke razloge čovjek direktno odgovoran. Zbog intenzivnog uzgoja suvremenih pasmina, smanjuje se broj lokalnih pasmina, te zbog smanjenja broja jedinki u populacijama lokalnih pasmina dolazi do pojave inbridinga, smanjenja efektivne veličine populacije kao i drugih indikatora gubitka raznolikosti. Populacije domaćih životinja selekcijom se kontinuirano poboljšavaju u smislu učinka i produktivnosti te se kao rezultat ovih procesa pojavljuju tragovi u genomu koji se nazivaju selekcijske oznake. Tragovi selekcije su proizašle kao rezultat selekcije, mutacija ili genetskog drifta. Selekcijske oznake mogu biti jake ili slabe, cjelovite ili djelomične, ovisno o podrijetlu, vrsti i učestalosti mutacije. Također oznake mogu biti i potpune, gdje dolazi do potpune fiksacije favoriziranog alela ili mogu biti djelomične, gdje favorizirani aleli i dalje segregiraju zajedno s neutralnim lokusima u populaciji. Postoji veliki broj metoda za otkrivanje tragova selekcija, koje se sve više koriste i primjenjuju nakon otkrića SNP markera. Budući da se domaće životinje uzgajaju za specifične namjene, primjena selekcijskih oznaka utvrđenih sa suvremenim genomskim alatima mogu značajno doprinjeti u razvoju konzervacijskih programa različitih populacija domaćih životinja.

Ključne riječi: genetska raznolikost, tragovi selekcije, genetski drift, selekcijske oznake, selekcija

## 9. SUMMARY

The animal production with high yields (for example: milk production, carcass leanness, disease resistance, fitness, etc.) has led to the loss of the genetic diversity of livestock populations. Due to the intensive selection of modern breeds, the number of local breeds is decreasing, and due to the decrease in population size inbreeding occurs, while the effective population size decreases together with other indicators of diversity. Livestock populations are continuously improved in terms of performance and productivity through selection, and as a result of these processes specific footprints called selection signatures are left in the genome. Selection signatures are primarily result of selection, mutations or genetic drift. Selection signatures can be strong or soft, complete or partial, depending on the origin, type and frequency of the mutations. Also, selection signature can be complete, if there is a complete fixation of the favored alleles, or partial, if the favored alleles continue to segregate together with neutral loci in the population. There are a large number of methods for detecting signatures of selection, and they are intensively used especially after SNP markers become commercially available. As the livestock breeds are bred for specific purposes, the application of selection signatures detected by modern genomic tools can significantly contribute to the development of conservation programs of both local and modern livestock breeds.

Key words: genetic diversity, selection signatures, genetic drift, selection sweeps, selection

## 10. POPIS SLIKA I GRAFIKONA

- Slika 1. Odnos između frekvencije dva alela (plava ravna crta) i posljedica na heterozigotnost populacije (zakrivljena crta). Maksimalna heterozigotnost pri  $p = q = 0,5$ . (izvor: Textbook animal breeding: animal breeding and genetics for BCs students. Oldenbroek i Liesbeth van der, 2014.) ..... 4
- Slika 2. Grafički prikaz Hardy-Weinbergove parabole. Krivulja predstavlja točku u kojoj su aleli u stanju Hardy-Weinbergove ravnoteže. .... 8
- Slika 3. Primjer genetskog drifta kroz četiri generacije pataka (izvor: Textbook animal breeding: animal breeding and genetics for BCs students. Oldenbroek i Liesbeth van der Waaij, 2014.) ..... 10
- Slika 4. Slika prikazuje polimorfizme uzduž kromosoma, uključujući odabrani alel, prije i nakon selekcije. Ancestralni aleli prikazani su sivom bojom, a derivirani (neancestralni) aleli su prikazani plavom bojom. Kako novi pozitivno odabrani alel (crveni) raste do visoke frekvencije, obližnji povezani aleli na kromosomu 'stopiraju' zajedno s njim na visoku frekvenciju, stvarajući 'seleksijske oznake'. (izvor: Schaffner i Sabeti, 2008.) ..... 20
- Slika 5. Podjela metoda za otkrivanje tragova selekcije. (izvor: Saravanan i sur., 2020.) .. 21
- Slika 6. Prikaz korelacije između rezultata 11 testova primijenjenih za otkrivanje tragova selekcije i njihovo grupiranje u tri skupine. (izvor: González-Rodríguez i sur., 2016.) ... 27
- Grafikon 1. Prikaz  $F_{ST}$ -a za ruandsko govedo i referentne populacije. Između ruandskog goveda te frizijskog i gir goveda,  $F_{ST}$ -vrijednosti bile su male u rasponu od 0,07 do 0,19. Velika razlika u rasponu od 0,35 do 0,43 uočena je između Gir-a i divljih pasmina goveda, od 0,35 do 0,43 uočena je između Gir-a i divljih pasmina goveda, odražavajući povijesno razilaženje između ovih pasmina (Loftus i sur., 1994.). (izvor: Chagunda, 2018.) ..... 26



## 11. POPIS TABLICA

Tablica 1. Veličina uzorka – N, promatrana heterozigotnost – HO, očekivana heterozigotnost - HE, koeficijenta inbridinga – $F_{ROH}$ , $F_{ROH4} > Mb$ , $F_{ROH8} > 8Mb$ , efektivna veličina populacije – $N_e$ . .....	14
Tablica 2. Veličina uzorka – N, promatrana heterozigotnost – HO, očekivana heterozigotnost - HE, efektivna veličina populacije – $N_e$ , koeficijenta inbridinga – $F_{ROH}$ , $F_{ROH4} > Mb$ , $F_{ROH8} > 8Mb$ , $F_{ROH16} > 16Mb$ . .....	15
Tablica 3. Srednje $F_{ST}$ vrijednosti između pasmina goveda. (izvor: Kelleher i sur., 2016.) .....	25
Tablica 4. $F_{ST}$ autohtonih pasmina ovaca. (izvor: Drzaic i sur. (2022.) .....	29
Tablica 5. Veličina uzorka – N, promatrana heterozigotnost – HO, očekivana heterozigotnost - HE, koeficijenta inbridinga – $F_{ROH}$ dužine ROH-a preko 2Mb. (izvor: Drzaic i sur. (2022.) .....	30

Genetska raznolikost i tragovi selekcije domaćih životinja

Krunoslava Rafaela Vorgić

**Sažetak:**

Stvaranje životinja sa visokim proizvodnim svojstvima (primjerice: proizvodnje mlijeka, povećanja muskulature, otpornosti, kondicije i sl.), dovelo je do gubitka raznolikosti domaćih životinja. Nekoliko je razloga zbog kojih gubitak nastaje, za neke razloge je čovjek direktno odgovoran, dok za neke nije. Zbog intenzivnog uzgoja suvremenih pasmina, smanjuje se broj lokalnih pasmina, te zbog smanjenja broja jedinki u populacijama lokalnih pasmina dolazi do pojave inbridinga, smanjenja efektivne veličine populacije kao i drugih indikatora gubitka raznolikosti. Populacije domaćih životinja selekcijom se kontinuirano poboljšavaju u smislu učinka i produktivnosti te se kao rezultat ovih procesa pojavljuju tragovi u genomu koji se nazivaju selekcijske oznake. Tragovi selekcije su proizašle kao rezultat selekcije, mutacija ili genetskog drifta. Selekcijske oznake mogu biti jake ili slabe, cjelovite ili djelomične, ovisno o podrijetlu, vrsti i učestalosti mutacije. Također oznake mogu biti i potpune, gdje dolazi do potpune fiksacije favoriziranog alela ili mogu biti djelomični gdje favorizirani aleli i dalje segregiraju zajedno s neutralnim mjestima u populaciji. Postoji veliki spektar metoda za otkrivanje tragova selekcija, od otkrića SNP markera koriste se metode razvijene za otkrivanje tragova pomoću DNK sekvenci ili SNP geonotipova u populacijama domaćih životinja. Te metode se mogu klasificirati u dvije skupine: (1.) statistike unutar populacije i (2.) statistike između populacija. Statistika unutar populacije uključuje tri metode koje se temelje na spektru frekvencije lokusa, LD-u i smanjenoj varijabilnosti, a statistika između populacija koristi metode koje se mogu grupirati u različitost na jednom lokusu ili na haplotipovima. Budući da se domaće životinje uzgajaju za specifične namjene, primjena selekcijskih oznaka utvrđenih sa suvremenim genomskim alatima mogu značajno doprinjeti u razvoju konzervacijskih programa različitih populacija domaćih životinja.

**Rad je izrađen pri:** Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** izv.prof.dr.sc. Boris Lukić

**Broj stranica:** 44

**Broj grafikona i slika:** 7

**Broj tablica:** 5

**Broj literaturnih navoda:** 96

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** genetska raznolikost, tragovi selekcije, genetski drift, selekcijske oznake, selekcija

**Datum obrane:**

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. izv.prof.dr.sc. Nikola Raguž, predsjednik

2. izv.prof.dr.sc. Boris Lukić, mentor

3. prof.dr.sc. Sonja Petrović, član

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku, Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1d.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Graduate Studies, Special zootechnics**

**Graduate thesis**

Genomic diversity and selection signature in domestic animals

Krunoslava Rafaela Vorgić

### **Abstract:**

The creation of animals with high production properties (for example: milk production, increase in musculature, resistance, fitness, etc.) has led to the loss of the diversity of domestic animals. There are several reasons for which the loss occurs, for some reasons the person is directly responsible, while for others he is not. Due to the intensive cultivation of modern breeds, the number of local breeds is decreasing, and due to the decrease in the number of individuals in the populations of local breeds, inbreeding occurs, the effective size of the population decreases, as well as other indicators of loss of diversity. Populations of domestic animals are continuously improved in terms of performance and productivity through selection, and as a result of these processes, signature appear in the genome called selection sweeps. Selection signatures arose as a result of selection, mutation or genetic drift. Selection sweeps can be strong or weak, complete or partial, depending on the origin, type and frequency of the mutation. Sweeps can also be complete, where there is a complete fixation of the favored allele, or they can be partial, where the favored alleles continue to segregate together with neutral sites in the population. There is a wide range of methods for detecting selection signatures, since the discovery of SNP markers, developed methods have been used to detect signatures using DNA sequences or SNP geotypes in domestic animal populations. These methods can be classified into two groups: (1.) statistics within a population and (2.) statistics between populations. Within-population statistics include three methods based on locus frequency spectrum, LD, and reduced variability, and between-population statistics use methods that can be grouped into diversity at a single locus or at haplotypes. Since domestic animals are bred for specific purposes, the application of selection signatures established with modern genomic tools can significantly contribute to the development of conservation programs for different populations of domestic animals.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** Associate.Prof. Ph. D. Boris Lukić

**Number of pages:** 44

**Number of figures:** 7

**Number of tables:** 5

**Number of references:** 96

**Original in:** Croatian

**Key words:** genetic diversity, selection selection signatures, genetic drift, selection sweeps, selection

**Thesis defended on date:**

**Reviewers:**

1. AssociateProf. Ph. D. Nikola Raguž, president of the Commission
2. AssociateProf. Ph. D. Boris Lukić, mentor
3. Full Prof. Ph. D. Sonja Petrović, member of the Commission

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d.