



Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Vedran Klišanić

**FENOTIPSKE I GENETSKE ODLIKE
VANJŠTINE I PLODNOSTI
BANIJSKE ŠARE SVINJE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2024.



University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Vedran Klišanić

**PHENOTYPIC AND GENETIC
CHARACTERISTIC OF THE EXTERIOR
AND FERTILITY TRAITS OF BANIJA
SPOTTED PIG**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2024.



University of Zagreb

AGRONOMSKI FAKULTET

Vedran Klišanić

**FENOTIPSKE I GENETSKE ODLIKE
VANJŠTINE I PLODNOSTI
BANIJSKE ŠARE SVINJE**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

prof.dr.sc. Krešimir Salajpal

Zagreb, 2024.



University of Zagreb

FACULTY OF AGRICULTURE

Vedran Klišanić

**PHENOTYPIC AND GENETIC
CHARACTERISTIC OF THE EXTERIOR
AND FERTILITY TRAITS OF BANJA
SPOTTED PIG**

DOCTORAL THESIS

Supervisor:

prof. Krešimir Salajpal, PhD.

Zagreb, 2024.

Bibliografski podaci:

- Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
- Znanstveno polje: Poljoprivreda
- Znanstvena grana: Stočarstvo
- Institucija: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za opće stočarstvo
- Voditelj doktorskog rada: Prof. dr. sc. Krešimir Salajpal
- Broj stranica: 91
- Broj slika: 24
- Broj grafikona: 9
- Broj tablica: 23
- Broj kratica: 15
- Broj literaturnih referenci: 147
- Datum obrane doktorskog rada
- Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:
 1. Prof. dr. sc. Zoran Luković, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
 2. Prof. dr. sc. Danijel Karolyi, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
 3. Izv. prof. dr. sc. Sven Menčik, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Rad je pohranjen u:

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica Hrvatske bratske zajednice 4 p.p. 550, 10 000 Zagreb,

Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb.

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Agronomskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 06. lipnja 2017., te odobrena na 13. sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 13. studenog 2017. u 349. akademskoj godini (2017./2018.).

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Vedran Klišanić, izjavljujem da sam samostalno izradio doktorski rad pod naslovom:

FENOTIPSKU I GENETSKE ODLIKE VANJŠTINE I PLODNOSTI

BANIJSKE ŠARE SVINJE

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga dokorskog rada;
- da je doktorski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u izradi istoga nisam koristio drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

Zagreb, _____._____.2024. godine

Potpis doktoranda

Disertaciju je ocijenilo povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Zoran Luković, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Prof. dr. sc. Danijel Karolyi, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Izv. prof. dr. sc. Sven Menčik, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Javna obrana disertacije održana je na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu

dana _____._____ 2024. godine pred povjerenstvom u sastavu:

Predsjednik: _____

Prof. dr. sc. Zoran Luković

Članovi: _____

Prof. dr. sc. Danijel Karolyi

Izv. prof. dr. sc. Sven Menčik

Informacije o mentoru

Prof. dr. sc. Krešimir Salajpal

Krešimir Salajpal rođen je 02. svibnja 1976. godine u Koprivnici. Diplomirao je 2001. godine na Veterinarskom fakultetu te godinu dana kasnije i na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu – smjer stočarstvo. Poslijediplomski studij na Agronomskom fakultetu u Zagrebu - smjer stočarstvo upisao je 2002. godine. Magistarski rad obranio je u listopadu 2005. godine. Stupanj doktora biotehničkih znanosti, znanstveno polje poljoprivreda, stekao je u studenome 2007. godine. Zaposlen na Zavodu za opće stočarstvo, Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta u znanstveno nastavnom zvanju redovitog profesora u trajnom izboru. Trenutno obnaša i dužnost Predstojnika zavoda za opće stočarstvo te koordinatora odsjeka za animalne znanosti.

Kao istraživač – suradnik do sada je sudjelovao u provedbi 4. nacionalna znanstvena projekta (MZOS), dva međunarodna EUREKA projekta, jednom FP6 projektu (RISKSCRA: FP6- 2004-SME-COLL), dva HORIZONT 2020 projekta (TREASURE, 2016-2020 i GEroNIMO, 2021-2026) te je bio voditelj dva primijenjena znanstvena projekta (VIP): „Utjecaj suše na zdravlje i proizvodnost mliječnih krava“ (2012-2014) i „Revitalizacija uzgoja banijske šare svinje“ (2016-2018). Znanstvena aktivnost pristupnika usmjerena je ponajviše na područje primijenjene fiziologije domaćih životinja (fiziološki odgovor na stresne čimbenike iz okoline, metabolički poremećaji, fiziologija hranidbe), tehnologije i očuvanje ugroženih pasmina (svinje) te zaštite zdravlja domaćih životinja u otvorenim sustavima držanja. Kao autor ili koautor do sada je objavio više desetaka znanstvenih i stručnih radova te je sudjelovao na većem broju međunarodnih i domaćih znanstvenih skupova.

Bio je član više organizacijskih ili znanstvenih odbora međunarodnih znanstvenih skupova te je stalni član koordinacijskog odbora međunarodnog znanstvenog simpozija „Animal Science Days“.

Od 2011. do 2020. obnašao je dužnost pomoćnika glavnog urednika, a od 2020. do danas obnaša dužnost glavnog urednika znanstvenog časopisa „Stočarstvo“.

Aktivno je sudjelovao na većem broju stručnih skupova te sudjelovao u popularizaciji struke i znanosti kroz stručno-popularne članke i medijske istupe. Sudjelovao je u izradi većeg broja stručnih studija te provedbi edukaciju za farmera, djelatnika HAPIH, Ministarstva poljoprivrede i predstavnike prerađivačke industrije. Član je nekoliko znanstvenih i strukovnih udruženja. Aktivno se služi engleskim jezikom.

Sažetak

Banijska šara (BŠ) je izvorna pasmina svinja uvrštena na popis izvornih i zaštićenih pasmina i sojeva 2018. godine, od kada se nalazi u programu konzervacije. Navedeno, kao i činjenica da se radi o relativno maloj populaciji poznavanje njenih fenotipskih i genetskih karakteristika je neophodno za provedbu programa konzervacije, kao i provođenje ciljanih sparivanja kako bi se zadržala pasminska obilježja i genetska raznolikost unutar populacije. Veličina legla jedno je od najvažnijih proizvodnih svojstava u svinjogojskoj proizvodnji, a identifikacija kandidat gena za veličinu legla doprinosi povećanju reproduktivne učinkovitosti. Cilj ovoga istraživanja je bilo utvrditi morfometrijske karakteristike i obilježja vanjštine, reproduktivne pokazatelje i polimorfizam ESR1-Pvull i RBP4-Mspl gena te njihov utjecaj na svojstvo veličine legla kao i genetsku raznolikost i strukturu populacije BŠ svinje. Analizom morfometrijskih svojstva i obilježja vanjštine 50 odraslih reproduktivno aktivnih jedinki utvrđeno je da BŠ spada u pasmine svinja srednje velikog tjelesnog okvira s visinom do grebena između 72 i 77 cm i tjelesnom masom od oko 160 kg. Pasminu karakterizira prekrivenost tijela s pretežito sivo bijelom bojom dlake i nepravilnim crnih šarama koje zauzimaju više od 50% površine tijela te djelomična pigmentiranost sluznica i papaka. Analizom ukupno 184 legla BŠ svinje utvrđena je prosječna veličina legla od 8,4 ukupnooprasene (UO) odnosno 7,5 živooprasene (ŽO) prasadi što je za 2,0 praseta više u odnosu na crnu slavonsku svinju i 3,1 praseta više u odnosu na turopoljsku svinju. Na 25 krmača BŠ svinje provedena je genotipizacija ESR1 i RBP4 gena. Frekvencija genotipova za oba istraživana marker gena (ESR1 i RBP4) u populaciji BŠ svinje ne pokazuju značajno odstupanje od Hardy-Weibergove ravnoteže. Za ESR1 gen je karakterističan visoki udio alela A (0,78) odnosno visoki udio homozigotnih jedinki AA genotipa (0,60). Kod RBP4 gena prevladava prisutnost alela B (0,60) te jedinke BB genotipa (0,44). Polimorfizam ESR1 gena nije imao značajan utjecaj na pokazatelje plodnosti kod BŠ dok je taj utjecaj prisutan kod prvopraskinja u odnosu na RBP4 gen. Svinje BŠ pokazuju veliku genetsku raznolikost unutar populacije mjerenu pomoću pokazatelja opažene (H_o) i očekivane (H_e) heterozigotnosti (0,6349 i 0,6566), broja alela po lokusu (NA; 7,1875), sadržaja polimorfnih informacija (PIC; 0,6123) i Fis - koeficijenta inbridinga (0,03317), te se genetski se razlikuju od sličnih i geografski bliskih populacija svinja uključujući i one s kojima dijele zajedničke pretke (crna slavonska svinja) ili koje su imale utjecaja na njeno stvaranje (turopoljska svinja).

Ključne riječi: banijska šara, obilježja vanjštine, veličina legla, genotipizacija, plodnost

The Extended (Structured) Abstract

In 2018, the Banija spotted pig breed (*Banijska šara*, BS) was added to the list of native and protected pig breeds and strains. This, along with the fact that the population is small in comparison, confirms that information about its phenotypic and genetic traits is required for the implementation of targeted pairings and conservation programs aimed at preserving genetic diversity and breed characteristics within the population. Identifying potential genes for litter size increases the efficiency of reproduction, making litter size one of the most significant production characteristics in pig production. The extended goal of this research was to determine morphometric characteristics, external features, reproductive indicators, and the polymorphism of the ESR1, PvuII, and RBP4-MspI genes, along with their impact on litter size, genetic diversity, and population structure of BS pigs. Body mass and morphometric properties (withers' height, height at the sacrum, and root of the tail; seven measurements on the trunk and four on the extremities) were determined on fifty adult and reproductively active individuals (38 sows and 12 boars), aged 14 to 44 months, in various reproductive stages. For morphometric measurements, Lydtin's rod, a measuring tape, and a protractor were utilised. A livestock scale (TehnoNet) was used to determine body mass. In order to compare the reproductive indicators of the Banija spotted pig with those of two other autochthonous breeds (Black Slavonian and Turoplje pigs), an analysis was conducted on 184 litters of Banija spotted pigs, 1174 litters of Turoplje pigs, and 18228 litters of Black Slavonian pigs. DNA isolation was done on twenty individuals of the Turoplje, Black Slavonian, and Landrace pig breeds, as well as on reproductively active, non-related Banija spotted sows and boars that were included in the study (N=30). 24 MS and 16 MS markers were selected from the ISAG-FAO recommendation list. 25 Banija spotted pigs were used for the genotyping of the candidate genes for litter size (ESR1-PvuII and RBP4-MspI), with at least one litter recorded and assessed using the PCR-RFLP method.

The average body mass of the sows and boars that were measured was roughly the same (162.6 kg vs. 162.2 kg), with the sows having slightly bigger variances between the minimum and maximum values (209 kg) than the boars (155 kg). Sows measured 72.1 cm at the withers, which was 5 cm less than boars' average height. Boars had values that were, on average, 5-7 cm higher than sows for both the height at the withers and the height to the base of the tail. The sows' average carcass length was 116.3 cm, which was roughly 2 cm less than the boars'. Chest circumference (131.1 cm or +7 cm), abdominal circumference (132.6 cm or +7.4 cm), and chest width (33.6 cm or +0.3 cm) were all greater in sows than in boars. The average head length and head width measured in sows were 31.1 cm and 16.1 cm, respectively. The average nose length of sows was found to be shorter (-0.7 cm)

than that of boars, whereas their average nose width was slightly greater (+0.3 cm). Comparing male categories (boars and young boars) to female categories (sows and gilts), the measured values of tail length were greater in the former. With respect to ear position, the majority of the individuals under analysis had flat ears, with semi-flat ears following closely behind. Only one male (a boar) showed projecting ears. In terms of back line appearance, 91.7% of sows and all other categories (boars, gilts, and young boars) have a straight back line. Only 8.3% of sows had a convex dorsal line. Regarding the nasal profile of BS pigs, 56.8% of sows and 66.7% of boars were found to have a flat nasal profile. On the other hand, sows accounted for 43.2% and boars for 33.0% of the total number of individuals with a sunken nasal profile. Of the sows, 55.6% had short hair and 25% had long hair; of the boars, 44.4% had long hair and 75% had short hair. Of the sows, 52.8% had black pigment on their hooves, while the boars had 8.3%. 52.8% of sows and 58.3% of boars had a flat tail, according to an analysis of the tail's appearance in several BS pig groups. On average, 51.9% of the body surface was covered in black patterns, compared to 48.1% in white patterns. In 50% of sows with the right ear and 66.7% of sows with the left, the pigment content was undetermined. For both the left and right ears, more than one-third of the coloured ear was present in 64.9% and 62.2% of the sows, respectively. The average litter size of 184 BS pigs, or 8.4 total born (TB) or 7.5 born alive (FL) piglets, was found by analysis of the observed litters. A slightly greater proportion of FL female piglets (3.9) than male piglets (3.6) was discovered after the sexes' relationship was analysed. There were statistically significantly lower values ($P < 0.05$) of all observed fertility indicators in the two other original breeds of pigs in the Republic of Croatia, the Turopolje pig (TP) and the Black Slavonian pig (BSP), as compared to BS.

Genotype frequencies for both examined marker genes (ESR1 and RBP4) in the BS pig population do not show significant deviation from the Hardy-Weiberg equilibrium. The ESR1 gene is characterised by a high proportion of allele A (0.78), i.e., a high proportion of homozygous individuals of the AA genotype (0.60) and heterozygous AB (0.36), while only one individual had the BB genotype (0.04). Allele B (0.60) is the most common and accounts for the biggest proportion of genotypes with BB (0.44), according to the study of RBP4 gene polymorphism. Next in frequency (0.32) are heterozygotes, with the AA of homozygous individuals having the lowest number observed. In BS pigs, the polymorphism of the ESR1 gene did not significantly affect fertility indicators; however, in primiparous sows, this influence is evident with respect to the RBP4 gene.

For the purposes of defining the genetic diversity of the BS pig breed and its differentiation in relation to other native and pure pig breeds in Croatia, an analysis of genetic variability and comparison with Turopolje pigs (TP), and Black Slavonian pigs (BSP), and pure pig breeds bred in the Republic of Croatia, Landrace (L), Large Yorkshire (LY), Duroc (D), and Pietrain (P) were done. According to the findings, BS had the highest average number of alleles per locus (7.36), whereas TP had the lowest average (2.92). In Y (0.7221), the observed heterozygosity (H_o) was highest, whereas in TP (0.342), it was lowest. The inbreeding coefficient was the highest for TP (0.08830), slightly lower for BS (0.08691) and the lowest for D (-0.01172). The highest F_{ST} value for the Banija spotted pig breed was 0.2868 (between BS and TP), while the lowest was 0.1052 between BS and BSP. Of the pure breeds, the Pietrain (0.2492) is the farthest from it, and the Landrace (0.206) is the closest. An average of 578 animals was genotyped using 16 MS markers, 127 of which were BS. The observed heterozygosity (H_o) in the BS was 0.6349, and the expected heterozygosity (H_e) was 0.6566, while the lowest values were recorded in the Turopolje pigs (H_o 0.369; H_e 0.3787), and the highest in the Large Yorkshire pigs (H_o 0.7221; H_e 0.7059). The lowest F_{ST} value was recorded between BS and L (0.0878), while the highest was 0.3112 (between BS and TP). Out of all the native pig breeds, BS and BSP had the closest fixation index value, at 0.1079. As a result, the BS pig population exhibits high genetic diversity within itself and differs genetically from other similar and geographically close pig populations, such as the Black Slavonian or Turopolje pigs, with whom it shares common ancestors.

Key words: Banija spotted pig breed, external characteristics, litter size, genotyping, fertility

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja.....	3
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA.....	4
2.1. Prikaz razvoja i nastanka banijske šare svinje kroz povijest.....	4
2.2. Stanje u populaciji banijske šare svinje.....	8
2.3. Osobine plodnosti i utjecaj marker gena.....	10
2.4. Genetska struktura populacije i sličnost s ostalim pasminama.....	13
3. MATERIJAL I METODE RADA.....	15
3.1. Analizirana populacija.....	15
3.2. Morfometrijska svojstva.....	15
3.3. Obilježja vanjštine.....	19
3.4. Plodnost.....	20
3.5. Prikupljanje uzoraka krvi i tkiva.....	20
3.6. Izolacija genomske DNA.....	22
3.7. Genotipizacija polimorfničkih mikrosatelitnih markera (MS).....	23
3.8. Genotipizacija kandidat gena ESR1 i RBP4.....	26
3.9. Statistička obrada podataka.....	26
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	29
4.1. Morfometrijska svojstva.....	29
4.2. Obilježja vanjštine.....	33
4.3. Plodnost svinja banijske šare.....	38
4.4. Polimorfizam ESR1 i RBP4 gena te njihov utjecaj na svojstva veličine legla.....	39
4.5. Genetska raznolikost i struktura populacije.....	41
5. RASPRAVA.....	55
5.1. Morfometrijska svojstva i obilježja vanjštine.....	55
5.2. Plodnost svinja BŠ i polimorfizam ESR i RBP4 gena.....	57
5.3. Polimorfizam ESR1 i RBP4 gena.....	58
5.4. Genetska raznolikost i struktura populacije.....	61
5.4.1. Genetska raznolikost unutar pasmina.....	61
5.4.2. Genetska udaljenost između pasmina.....	64

5.4.3. Strukturiranost populacije BŠ	65
6. ZAKLJUČCI.....	68
7. POPIS LITERATURE.....	69
8. ŽIVOTOPIS AUTORA.....	84
9. POPIS RADOVA.....	85

Popis kratica

ANOVA	Hijerarhijska analiza molekularne varijance
ESR1	Estrogeni receptor 1
Fis	Vrijednosti koeficijenta inbreedinga
Fst	Indeks fiksacije
HAPIH	Hrvatska agencija za poljoprivedu i hranu
He	Očekivana heterozigotnost
Ho	Opažena heterozigotnost
HPA	Hrvatska poljoprivredna agencija
MP	Ministarstvo poljoprivrede
NA	Prosječni broj alela po MS lokusu
PIC	Sadržaj polimorfnih informacija
RBP4	Retinol vezujući protein 4

Popis tablica

Tablica 1. Promatrana morfometrijska svojstva trupa kod svinja banijske šare.....	16
Tablica 2. Promatrana morfometrijska svojstva glave i nogu kod banijske šare.....	17
Tablica 3. Analizirana obilježja vanjštine kod svinja banijske šare.....	20
Tablica 4. Popis početnih 27 MS markera za genotipizaciju svinja.....	24
Tablica 5. Popis optimiziranog seta 16 MS markera za genotipizaciju svinja.....	25
Tablica 6. Tjelesna masa i morfometrijske osobine trupa i ekstremiteta krmača banijske šare.....	29
Tablica 7. Tjelesna masa i morfometrijske osobine trupa i ekstremiteta nerasta banijske šare.....	30
Tablica 8. Tjelesna masa i morfometrijske osobine trupa i ekstremiteta nazimica banijske šare.....	31
Tablica 9. Tjelesna masa i morfometrijske osobine trupa i ekstremiteta nerastića banijske šare.....	31
Tablica 10. Morfometrijske osobine glave i uški krmača banijske šare	32
Tablica 11. Morfometrijske osobine glave i uški nerasta banijske šare.....	32
Tablica 12. Morfometrijske osobine glave i uški nazimica banijske šare.....	32
Tablica 13. Morfometrijske osobine glave i uški nerastića banijske šare.....	33
Tablica 14. Broj i udio (%) odraslih jedinki banijske šare svinje s obzirom na prisutnost crnih šara u ukupnoj površini tijela.....	37
Tablica 15. Prisutnost crnog pigmenta na lijevoj ili desnoj uški kod različitih kategorija svinja banijske šare.....	38
Tablica 16. Pokazatelji plodnosti banijske šare u odnosu na turopoljsku i crnu slavonsku svinju.....	39
Tablica 17. Frekvencija genotipova i alela za ESR1 i RBP4 gen kod svinja banijske šare.....	39
Tablica 18. Utjecaj ESR1 genotipa na svojstva veličine legla krmača banijske šare.....	40
Tablica 19. Utjecaj RBP4 genotipa na svojstva veličine legla.....	40
Tablica 20. Statistički podaci za set 24 MS markera.....	41
Tablica 21. Genetska diferencijacija populacija.....	42
Tablica 22. Statistički podaci za set 16 MS markera.....	46
Tablica 23. Genetska diferencijacija populacija.....	47

Popis slika

Slika 1. Krmača u tipu banijske šare s prasadi na području Banskog Drenovca (Izvor: Pavlinić, 1944.).....	6
Slika 2. Svinjokolja u Glinskom Novom Selu gdje se u pozadini nalazi krmača banijske šare (Izvor: obiteljski album Stjepana i Nikole Horvatić, 1974.).....	7
Slika 3. Nazimica banijske šare svinje.....	7
Slika 4. Krmača banijske šare svinje	8
Slika 5. Banijska šara u slobodnom načinu držanja.....	10
Slika 6. Mjerni uređaji korišteni prilikom određivanja tjelesnih mjera.....	18
Slika 7. Krmača banijske šare u boksu pri uzimanju tjelesnih mjera Lydtinovim štapom...18	
Slika 8. Nerastić banijske šare u boksu pri mjerenju dužine trupa mjernom vrpcom.....	19
Slika 9. Krmača banijske šare pri ocjeni vanjštine	19
Slika 10. Fiksacija odrasle jedinke BŠ pri sigurnoj manipulaciji i uzimanja uzoraka krvi za analizu.....	21
Slika 11. Uzorkovanje biološkog uzorka tkiva banijske šare svinje s uške pomoću kliješta za uzorkovanje tkiva	22
Slika 12. Populacijska struktura 7 analiziranih populacija svinja.....	42
Slika 13. PCoA analiza istraživanih populacija svinja.....	43
Slika 14. Populacijska struktura izvornih pasmina svinja – turopoljske, crne slavonske, banijske šare i plemenitih pasmina svinja.....	44
Slika 15. Populacijska struktura izvornih pasmina svinja (banijske šare i crne slavonske svinje) i plemenitih pasmina svinja.....	44
Slika 16. Neighbor joining filogenetsko stablo pasmina svinja na osnovi genetske udaljenosti između pojedinih uzoraka (<i>Nei's D_A genetic distance</i>).....	45
Slika 17. Populacijska struktura 7 analiziranih populacija.....	48
Slika 18. PCoA analiza istraživanih populacija svinja.....	49
Slika 19. PCoA analiza istraživanih populacija svinja bez turopoljske svinje.....	50
Slika 20. 2D prikaz FCA (<i>factorial correspondence analysis</i>) hrvatskih izvornih pasmina svinja.....	51
Slika 21. 2D prikaz FCA (<i>factorial correspondence analysis</i>) 2 hrvatske izvorne pasmine svinja.....	51
Slika 22. Neighbor joining filogenetsko stablo pasmina svinja na osnovi genetske udaljenosti između populacija.....	52
Slika 23. Neighbor joining filogenetsko stablo pasmina svinja na osnovi genetske udaljenosti između pojedinih uzoraka svinja (<i>Nei's D_A genetic distance</i>).....	53

Slika 24. Analiza glavnih komponenti (PCA) izvornih pasmina svinja i divljih svinja.....	54
------------------------------------------------------------------------------------------	----

Popis grafikona

Grafikon1. Kretanje broja uzgojno valjanih krmača banijske šare svinje od 2015 do 2022. Izvor: HPA (2015–2017), Ministarstvo poljoprivrede (2018), HAPIH (2019–2022).....	8
Grafikon 2. Kretanje broja uzgojno valjanih nerasta banijske šare od 2015 do 2022. Izvor: HPA (2015–2017), Ministarstvo poljoprivrede (2018), HAPIH (2019–2022).....	9
Grafikon 3. Kretanje broja uzgajivača banijske šare od 2015 do 2022. Izvor: HPA (2015–2017), Ministarstvo poljoprivrede (2018), HAPIH (2019–2022).....	9
Grafikon 4. Zastupljenost pojedinih oblika položaja uški kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)......	34
Grafikon 5. Zastupljenost pojedinih oblika usmjerenja uški kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)......	34
Grafikon 6. Zastupljenost pojedinih oblika leđne linije kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)......	35
Grafikon 7. Zastupljenost pojedinih oblika nosnog profila kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)......	35
Grafikon 8. Zastupljenost kratke i duge dlake kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)......	36
Grafikon 9. Zastupljenost nijansi svijetle boje dlake kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)......	37

1. UVOD

Prvi zapis o nastanku banijske šare svinje (BŠ) potječe iz 1890 godine kada je u listu „Banovac“ od 26. travnja iste godine objavljen članak „Riedka pasmina svinja“ u kojem nepoznati autor iznosi svoje zapažanje kako se u to vrijeme na sajmištu u Petrinji prodaju svinje osobita lijepa ustroja, čvrstih nogu, obrasle jakim četinjama koje odolijevaju zimi i svakoj nepogodi, a nastale su križanjem s berkšiom. Detaljan opis pasmine i njene karakteristike opisuje Šram (1950). Prema njegovom opisu svinje su žutosive boje dlake s velikim nepravilnim crnim mrljama koje su nepravilno raspoređene po tijelu. Dlaka je oštra do sjajna i priljubljena uz tijelo. Glava je srednje velika s dosta uleknutom nosnom linijom, uške su srednje velike do velike te klopave, a tijelo dugačko i duboko. Leđna linija je blago svedena. Odrasla svinja doseže težinu 150-200 i više kg. Isti autor navodi da je ova pasmina nastala križanjem crnog berkšira i domaće bijele svinje s klopavim uškama od koje je naslijedila svoju veličinu i veliku plodnost te da se na Republičkom poljoprivrednom dobru u Božjakovini provodi sustavni uzgoj ove pasmine radi ustaljivanja njenih vrlo dobrih proizvodnih svojstava. S druge pak strane Ilančić (1958) navodi da su se na uzgojno područje turopoljske svinje uveli nerasti berkšir pasmine s ciljem unapređenja uzgoja. Isti autor navodi da se križanci s jačim udjelom berkšira ističu s većim površinama crne dlake, a katkad i crvenom dlakom („cijepanje berkšira, pasmine koja u sebi ima dispoziciju za crvenu boju dlake“) te da su takove svinje posebno raširene u području prema Glini gdje se nazivaju „šarena banijska svinja“. Nadalje, Vukina (1961) navodi kako je „banijska svinja“ nastala križanjem turopoljske svinje i berkšira. Isto navode Gugić i Posavi (2000) kao i da je ova pasmina raširena na području Gornje i Srednje Posavine gdje je istisnula turopoljsku svinju. Da postoji veza između ovih dviju populacija na navedenom području ukazuju rezultati istraživanja genetske raznolikosti i strukture populacije turopoljske svinje u Hrvatskoj i Austriji na temelju analize 25 mikrosatelitskih markera koje su proveli Druml i sur. (2012). Navedeni autori su utvrdili postojanje dvaju genetskih klastera od kojih je jedan visokokonzerviran karakterističan za jedinke na području Turopolja (Turopoljski Lug) dok je drugi karakterističan za turopoljske svinje koje vuku porijeklo iz Lonjskog polja (tzv. „Posavski tip“ karakterističan za jedinke u Austriji i velikim dijelom za jedinke iz Hrvatske s područja Lonjskog polja). Nadalje, za „Posavski tip“ turopoljske svinje, koji karakterizira prisutnost većih šara crne boje utvrđeno je postojanje zajedničkih alela s crnom slavonskom svinjom. Navedeno potvrđuje povijesne navode i sugerira da je na području Lonjskog polja došlo do spomenutog križanja turopoljske svinje i berkšira, pasmine koja je sudjelovala u nastanku i crne slavonske svinje Uremović i Uremović (1997). Analiza polimorfnosti mikrosatelitnih lokusa je često korištena metoda u izučavanju struktura populacija i

genetske raznolikosti (Martínez i sur., 2006; Peter i sur., 2007). Ona nam omogućava utvrditi razlike između populacija i jedinki iste vrste, stupanj uzgoja u srodstvu, fragmentiranosti populacije i izračun njene efektivne veličine (Olivier i Toro, 2008). Budući da je BŠ na popisu izvornih i zaštićenih pasmina i sojeva domaćih životinja tek od 2018 godine (Narodne novine, br. 101/2018), te s obzirom na mali broj jedinki (Klišanić i sur., 2016; HPA, 2016). poznavanje njenih genetskih karakteristika je neophodno za provedbu programa konzervacije kao i provođenje ciljanih sparivanja kako bi se održala genetska raznolikost unutar populacije. Znanstvena istraživanja o genetskim karakteristikama BŠ svinja kao i njihovoj povezanosti sa pasminama koje su mogle sudjelovati u njenom nastanku (turopoljska svinja, pasmina landras) ili s kojom dijele zajedničke pretke (crna slavonska) rijetka su i provedene tek na malom broju jedinki. Nadalje, nedostaju detaljnije znanstvene spoznaje o fenotipskim karakteristikama kao i proizvodnim svojstvima današnje populacije BŠ. Veličina legla jedno je od najvažnijih proizvodnih svojstava u svinjogojskoj proizvodnji. Prema ranijim navodima literature (Šram, 1950) BŠ svinja se odlikuje ranozrelošću i velikom plodnošću. Krmače su spolno zrele sa 8-10 mjeseci i u jednom leglu oprase 8-14 prasadi. Prema podacima Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (u daljnjem tekstu HAPIH, 2016) u današnjoj populaciji BŠ temeljem analize 12 legala prvopraskinja utvrđeno je prosječno 8,08 prasadi u leglu. Veličinu legla kao jedno od svojstava koje opisuje reproduktivne karakteristike kod svinja karakterizira značajna varijabilnost (fenotipska standardna devijacija iznosi 2,5-3 praseta) i heritabilitet između 0,1-0,15 (Johnson i sur., 1999). Identifikacija kandidat gena odgovornih za veličinu legla dijelom objašnjava navedenu varijabilnost dok njena primjena u praksi može doprinijeti povećanju reproduktivne učinkovitosti. Estrogen receptor 1 (ESR1) jedan je od kandidatnih gena za veličinu legla kod svinja, smješten je na 1 kromosomu. Pvu11 polimorfizam karakterizira alelni dimorfizam (alel A i B) pri čemu se alel B povezuje s porastom veličine legla (Short i sur., 1997; Isler i sur., 2002). Nadalje, Retinol vezujući protein 4 (RBP4) gen smješten na 14 kromosomu kod svinja također se navodi kao kandidat gen za veličinu legla (Rothschild i sur., 2000; Marantidis i sur., 2016). RBP4 je važan u ranom razvoju embrija i stvaranju uvjeta u endometriju za prihvata i preživljavanje embrija odnosno prevenciju rane embrionalne smrtnosti. Polimorfizam RBP4-Msp1 i prisutnost alela A dovodi se u vezu s većim brojem ukupno i živo oprasene prasadi (Rothschild i sur., 2000). Istraživanje polimorfizma ESR1-Pvu11 i RBP4-Msp1 u populaciji BŠ svinje pomoći će u razumijevanju njihova utjecaja na veličinu legla ali i mogućnosti korištenja dobivenih spoznaja u unapređenju uzgoja ove pasmine.

1.1. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Hipoteze:

- Svinje u tipu banijska šara (BŠ) se po svojim fenotipskim i genetskim obilježjima razlikuju od drugih pasmina svinja
- Plodnost BŠ svinja je veća u odnosu druge autohtone pasmine svinja u RH
- Polimorfizam gena estrogenog receptora 1 (*ESR1-PvuII*) i retinol vezujućeg proteina 4 (*RBP4-MspI*) u populaciji BŠ svinje imat će značajan utjecaj na reproduktivne pokazatelje

Ciljevi:

- Opisati fenotipske odlike svinja u tipu BŠ (odlike vanjštine i morfometrijske osobine)
- Utvrditi genetsku raznolikost u odnosu na turopoljsku svinju (TS), crnu slavonsku (CS) te plemenite pasmine svinja
- Utvrditi reproduktivne pokazatelje BŠ
- Utvrditi prisutnost polimorfizma *ESR1-PvuII* i *RBP4-MspI* gena u populaciji BŠ svinje te njihov utjecaj na svojstva veličine legla

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Prikaz razvoja banijske šare svinje kroz povijest

Kroz povijest, banijska šara (BŠ) svinja prošla je kroz nekoliko etapa u svom razvoju. Sami počeci vezuju se uz stvaranje novog tipa svinje koja bi bila boljih proizvodnih osobina u odnosu na tadašnje svinje. Posebno se pridavalo pozornosti svojstvima plodnosti i fenotipskim osobinama koja su bile pokazatelji razvijenosti važnih dijelova trupa (butovi, leđa, tjelesni okvir svinje). Od tada pa sve do danas prošlo je više od 100 godina, a da su neka od tada važnih svojstava aktualni i danas.

Temeljem povijesnih zapisa, stvaranje BŠ svinje počinje krajem 19. i početkom 20. stoljeća. Tada se s ciljem unaprjeđenja uzgoja uvode nerasti engleskih pasmina svinja kako bi se popravila proizvodna svojstva domaćih svinja. Tada se to odnosilo na populaciju domaće mangulice koja je nastanjivala šire područje uz rijeku Dravu sve do istočne Slavonije, kao i na turopoljsku svinju tada nastanjenu oko Zagreba i južno od Zagreba uz Savu (Turopolje). Istovremeno su se provodila i druga križanja. Jedno od takvih je 1860. godine radio vlastelin Karl Pfeiffer na svom vlastelinstvu nedaleko Osijeka u istočnoj Slavoniji. Križao je krmače lasaste mangulice sa nerastima pasmine berkšir, što se smatra počecima stvaranja naše najpoznatije autohtone pasmine svinja, crne slavonske svinje (Ilančić, 1964). Neka od tada provedenih križanja su bila manje uspješna, kao npr. križanje krmača turopoljske svinje s nerastima Suffolk pasmine koja su se provodila na imanju I. Biedermanna u Breznici, nedaleko od Zagreba.

Ključan trenutak za nastanak BŠ svinje dogodio se 1882. godine na vlastelinstvu Žabac (Šabac) u blizini Vrbovca gdje je vlastelin Eugen d'Halwin Marquis de Piennes započeo s križanjem krmača turopoljske svinje sa nerastima berkšir pasmine, što se smatra počecima stvaranja BŠ svinje. Osnivanje selekcijskog centra u Božjakovini krajem 19. stoljeća daje zamah uzgojno selekcijskom radu u svinjogojstvu, što je posebice izraženo u stvaranju BŠ svinje. Sustavni uzgoj ove pasmine koji je ima za cilj ustaljivanje njenih svojstava nastavlja se sve do sredine 60. godina prošlog stoljeća.

Prvi pisani zapis koji spominje svinje u tipu BŠ objavljen je u listu „Banovac“, dana 26. travnja 1890. godine pod naslovom „Riedka pasmina svinja“, aludirajući na novu pasminu gdje Nepoznati autor opisuje kako se u to vrijeme na Petrinjskom sajmištu prodaju svinje nastale križanjem s crnim berkšikom (slika 1). Nepoznati autor navodi da je „svinja osobito lijepa ustroja, čvrstih nogu, jaka četinja obrašćuje tijelo, odolijeva zimi i svakoj nepogodi, a lahko se izgaja i brzo utovi, zato je prikladna za pašu (slika 2). Dosta rano dozrieva, meso je od nje tečno, osobito butine (pršuti)“. Opisujući i naglašavajući svojstva od posebne važnosti toga vremena (kakvoća mesa, tovnost, dobro iskorištavanje pašne, otpornost na

hladnoću) dodatno ukazuje na činjenicu da su navedene svinje nastale križanjem tadašnjih svinja s crnim berkšiom. Pri tome ne navodi eksplicitno koje pasmine su križane s crnim berkšiom pa se može pretpostaviti da su osim turopoljskih svinja, u to vrijeme najzastupljenije pasmine svinja, vjerojatno sudjelovale i ostale domaće svinje rasprostranjene na tom području. S obzirom da se već tada upotrebljava pojam „pasma“ za navedene svinje, to ukazuje na činjenicu da su one rezultat sustavnog i organiziranog uzgoja te da prenose svoja poželjna svojstva na buduće generacije potomaka.

Drugo važno razdoblje u nastanku BŠ svinje je razdoblje za vrijeme i neposredno nakon II. svjetskog rata. U tom razdoblju na području tadašnje Nezavisne Države Hrvatske prisutan je planski postupak oplemenjivanja domaćih pasmina svinja s drugim plemenitim pasminama, posebice njemačkom oplemenjenom svinjom (Pavlinić, 1944). Posljedično tome je nastao veliki broj križanaca s domaćim pasminama svinja, od kojih treba istaknuti domaću bijelu svinju s klopavim uškama. Takav tip svinje je prema Šramu (1950) na području Banovine križan s nerastima berkšir pasmine. Isti autor navodi da je nositelj navedenih aktivnosti Republičko poljoprivredno dobro u Božjakovini kod Zagreba. Tamo su se provodili uobičajeni uzgojno selekcijski postupci radi ustaljivanja njenih svojstava. Pri tome Šram (1950) daje detaljan opis pasmine. Prema njemu BŠ svinje su „žutosive boje dlake s velikim nepravilnim crnim mrljama koje su nepravilno raspoređene po tijelu. Dlaka je oštra, glatka i sjajna te priljubljena uz tijelo. Glava je srednje velika s blago uleknutom nosnom linijom, uške su srednje velike do velike te klopave, a tijelo dugačko i duboko. Leđna linija je blago svedena (slika 3 i slika 4). Odrasla svinja doseže težinu 150 - 200 i više kg. Krmače imaju 6 – 7 pari sisa i prase između 8 i 14 prasadi“. Nadalje, isti autor navodi da ta pasmina spada u razmjerno ranozrele pasmine, krmače su spolno zrele s 8 – 10 mjeseci, a nerasti spremni za pripust s 10 – 12 mjeseci. Za ovu pasminu je karakteristična dobra plodnost naslijeđena od domaće bijele svinje. Uzgojno područje ove pasmine je područje Banovine, kotarevi Glina i Petrinja, dok se posebno ističu uzgoji na području sela Vlasnića, Maje i Banskog Drenovca. Nekoliko godina kasnije Ilančić (1958) navodi da je „šarena banijska svinja“ nastala križanjem crnog berkšira sa krmačama turopoljske svinje, posebno na Glinskom području. Isti autor navodi da križanci s jačim udjelom berkšira imaju veće površine crne dlake, a katkad i crvene dlake. Nešto kasnije Vukina (1961) također navodi da je „banijska svinja“ nastala križanjem krmača turopoljske svinje s nerastima berkšira. Isto navode Gugić i Posavi (2000) kao i to da je raširena na području Gornje i Srednje Posavine gdje je zbog boljih proizvodnih karakteristika istisnula turopoljsku svinju. Ozimec (2011) je svrstao BŠ svinju u skupinu izumrlih i nedovoljno poznatih pasmina. Pri tome navodi da se sredinom 20 stoljeća provodio sustavni uzgojno selekcijski rad ali i da pasmina nikada nije u potpunosti standardizirana. Isti autor također

navodi da su u nastanku BŠ svinje sudjelovale krmače turopoljske svinje i nerasti berkšir pasmine.

Projekt revitalizacije uzgoja ove pasmine započeo je 2015. godine (Salajpal i sur., 2017) koji je imao za cilj očuvanje preostalih grla te povećanje populacije uz stvaranje pretpostavki za njeno priznavanje kao pasmine. Status pasmine BŠ dobila je 2018. godine uvrštavanjem na popis izvornih i zaštićenih pasmina i sojeva domaćih životinja (Narodne novine, br. 101/2018) pod nazivom „banijska šara“.



Slika 1. Krmača u tipu banijske šare s prasadi na području Banskog Drenovca

Izvor: Pavlinić, 1944.



Slika 2. Svinjokolja u Glinskom Novom Selu (u pozadini krmača banijske šare).
Izvor: obiteljski album Stjepana i Nikole Horvatić, 1974.



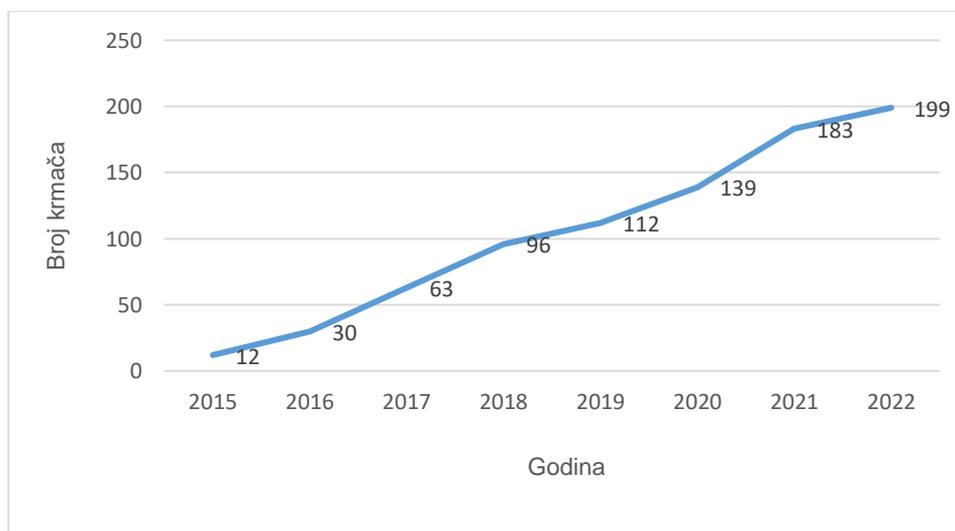
Slika 3. Nazimica banijske šare svinje



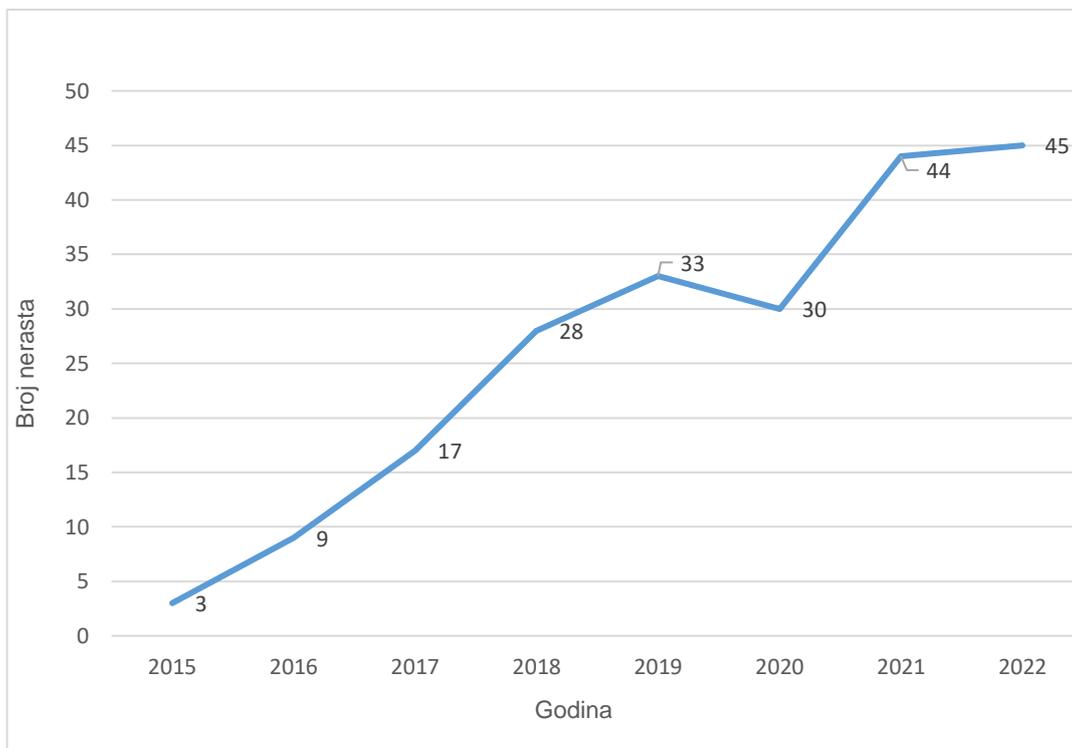
Slika 4. Krmača banijske šare

2.2. Stanje u populaciji banijske šare svinje

Matična evidencija za BŠ svinju uspostavljena s početkom procesa njene revitalizacije (Salajpal i sur., 2017). Prema podacima HAPIH za 2022. godinu (Godišnje izvješće, 2022) broj matičnih uzgojno valjanih krmača bio je 199, a broj evidentiranih uzgojno valjanih nerasta 45. Kretanje broja uzgojno valjanih grla BŠ svinje prikazan je u grafikonu 1. i 2.

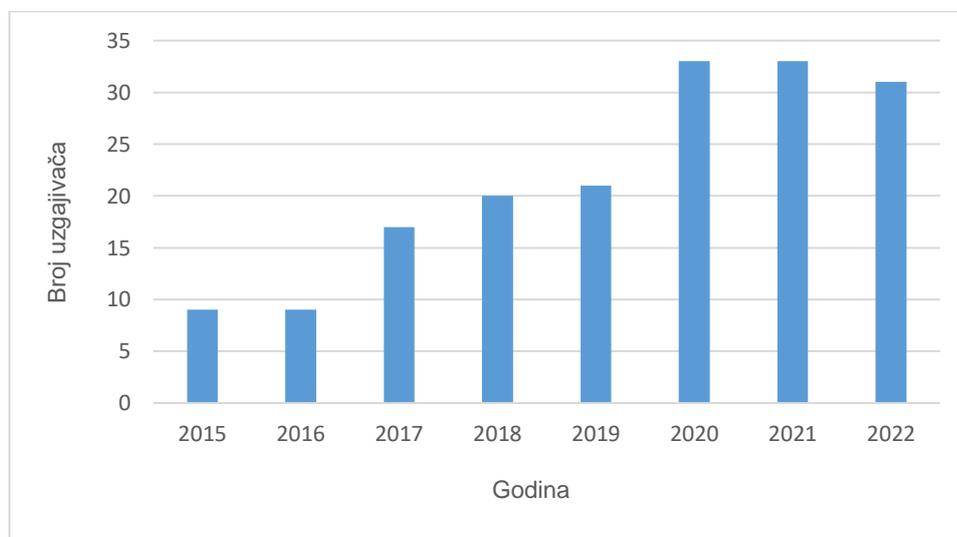


Grafikon1. Kretanje broja uzgojno valjanih krmača banijske šare svinje od 2015 do 2022 god. Izvor: HPA (2015–2017), Ministarstvo poljoprivrede (2018), HAPIH (2019–2022)



Grafikon 2. Kretanje broja uzgojno valjanih nerasta banijske šare svinje od 2015 do 2022 god. Izvor: HPA (2015–2017), Ministarstvo poljoprivrede (2018), HAPIH (2019–2022)

Broj registriranih uzgajivača ove autohtone pasmine svinja prema podacima HAPIH-a za 2022. godinu iznosi 31. Povećanje broja uzgajivača banijske šare svinje vidljiv je u grafičkom prikazu kroz godine, nakon postupka priznavanja pasmine i stavljanja na službeni popis pasmina u evidenciji Ministarstva poljoprivrede (MP).



Grafikon 3. Kretanje broja uzgajivača banijske šare od 2015 do 2022. god. Izvor: HPA (2015–2017), Ministarstvo poljoprivrede (2018), HAPIH (2019–2022)

2.3. Osobine plodnosti i utjecaj marker gena

Plodnost predstavlja jedno od najvažnijih ekonomskih svojstava jer izravno utječe na ekonomičnost same proizvodnje. Poznata je činjenica da autohtone pasmine imaju manju plodnost u odnosu na visokoproduktivne plemenite pasmine. Prema podacima HAPIH za 2022. godinu temeljem podataka dobivenih iz 205 legala od 154 krmače, prosječna plodnost po leglu za banijsku šaru svinju je iznosila 8,3 oprasene, odnosno 7,3 živooprasene i 6,5 odbijene prasadi po leglu.

Prema istom izvoru, druge dvije autohtone pasmine, crna slavonska i turopoljska svinja, imaju manju plodnost u odnosu na BŠ. Tako je prosječna veličina legla za turopoljsku svinju u 2022. iznosila 4,7 oprasene i 4,1 živoprasene te 3,1 odbite prasadi po leglu. Kod crne slavonske svinje u isto vrijeme utvrđeno je 7,6 oprasene i 7,0 živooprasene te 6,3 odbite prasadi po leglu.



Slika 5. Banijska šara u slobodnom načinu držanja

Čimbenike plodnosti BŠ analizirali su Škorput i sur. (2019) na 298 zapisa o prasenju prikupljenih od 136 krmača u razdoblju od 2014. do prve polovice 2019. godine. Analizom je utvrđen značajan utjecaj sezone prasenja, gospodarstva i rednog broja prasenja, dok utjecaj nerasta nije bio statistički značajan. Prema istim autorima, utvrđen je postupni rast broja živooprasene prasadi nakon svakog slijedećeg prasenja sve do petog prasenja. Također su utvrđene razlike u broju živooprasene prasadi između gospodarstva. One se kreću od 4 do 6 prasadi u leglu.

Pokazatelj veličine legla su određeni većim brojem gena (poligenija). Poligenija u značajnijoj mjeri otežava procjenu genetskog dijela u fenotipskoj manifestaciji pojedinih pokazatelja, s

ciljem da se u najvećoj mogućoj mjeri objasni genetski udio u fenotipu, isključujući okolišne čimbenike (Menčik, 2014). Među gene za koje je utvrđen utjecaj na veličinu legla ubrajaju se i gen za estrogene receptore (ESR) i gen za retinol vezajući protein 4 (RBP4).

Estrogen spada u skupinu steroidnih hormona nastalih iz kolesterola. Spada među prve istražene hormone s endokrinom signalizacijom, luči se u krv i prenosi do ciljnih stanica gdje se veže za unutar stanične receptore. Receptori steroidnih hormona u koje se ubrajaju i estrogene receptore (ESR) nadziru ekspresiju gena na razini transkripcije i translacije DNK (Cooper i Husman, 2009) Odsječak ESR gena jedan je od najistraživanijih kandidat gena za veličinu legla, naročito pasmina landras, veliki jorkšir, meišan i američki jorkšir i njihovih križanaca (Alfonso, 2005; Apericida Santana i sur., 2006). Smješten je prvom kromosomu svinje u regiji p2.5-p2.4.

Polimorfnost odsječka gena za ESR te njegova povezanost s pokazateljima veličine legla prvi su istraživali Rothschild i sur. (1991 i 1994) u kineskim pasmina svinja meišan, fengjing, minzhun te njihovih križanaca. Na temelju dobivenih rezultata zaključeno je da jedinke s prisutnim alelom B prase 1-1,5 prasadi više u leglu u odnosu na krmače s alelom A. Isti autori proveli su istraživanje na američkoj populaciji krmača PIC. Temeljem analize broja ukupno oprasene prasadi i živo oprasene prasadi u prvopraskinja utvrdili su značajnu razliku ($p > 0,05$) između geotipova BB i AA za predmetni kandidat gen. Prvopraskinje BB genotipa prasile su 12,4 ukupno oprasene prasadi i 11,4 živooprasene prasadi u odnosu na 10,1 ukupno oprasene i 9,1 živooprasene prasadi kod prvopraskinja AA genotipa. Chen i sur. (2000) promatrali su polimorfizam ESR gena u pet kineskih pasmina svinja. Pri tome je utvrđen značajan utjecaj genotipa na pokazatelje plodnosti unutra promatranih pasmina. Krmače genotipa BB oprasile su 1,4 – 3,37 ukupno oprasene, odnosno 0,63 – 3,58 živoprasene prasadi više u odnosu na homozigote AA genotipa.

Drogemuller i sur. (2001) su proveli istraživanje na populaciji krmača pasmine njemački landras, durok te njihovih križanaca (linija CC). Prosječne vrijednosti promatranog svojstva broja živoprasene prasadi kod pravopraskinja iznosile su 9,41 u pasmine njemački landras, 8,86 za durok te 9,80 živoprasene prasadi za liniju CC. Genotipizacijom nisu ustanovljene heterozigotne i BB homozigotne krmače kod čistih pasmina. Kod najvećeg broja krmača linije CC utvrđen je genotip AA s učestalošću 0,78.

Suwanasopee i Koonawootrittriron (2011) istraživali su utjecaj gena ESR u dvije tajlandske populacije pasmine landras i veliki jorkšir. Skupnom analizom dviju promatranih pasmina zabilježen je značajan utjecaj genotipa ($p < 0,05$) na broj ukupno oprasene prasadi, postotak uginuća do odbića te na razdoblje od odbića do koncepcije. Učestalost alela B u promatranoj populaciji bila je 0,16. U heterozigotnih jedinki AB utvrđen je značajno veći broj ukupno oprasene prasadi (10,22) u odnosu na homozigotne jedinke AA (9,61).

Preliminarno istraživanje u prvopraskinja visokoprodne linije Topigs 20 proveli su Menčík i sur. (2012). Temeljem provedene genotipizacije dobivene su slične učestalosti genotipa AA (0,4333) i AB (0,4667) dok je učestalost homozigota BB bila svega 0,1. Analizirajući dobivane rezultate, učestalost alela A (0,67) bila je dvostruko viša u odnosu na alel B (0,33). Rezultati analize prvog prasenja su pokazali da jedinke genotipa AA su imale veći broj živoprasene prasadi (12,76) u odnosu na heterozigotne jedinke (12,0).

Retinol vezajući protein (RBP) spada u skupinu retinoida odnosno derivate retinoične kiseline. Retinoična kiselina te njeni derivati sintetiziraju se iz vitamina A, a imaju važnu funkciju kod razmnožavanja jedinki, te razvitka i rasta zametaka. Prema Bazeru i Firstu (1983) i Eskild i Hanssonu (1994) RBP ima važnu ulogu u reprodukciji svinja.

Receptori vezajućih proteina poznati su i pod nazivom super porodica receptora koja je izravno uključena u nadzor ekspresije gena (Cooper i Hausman, 2009). Osim toga tijekom prenatalnog razdoblja povoljno utječu na morfološke promjene zametka, te smanjuju mogućnost pobačaja i sprječavaju prasenje avitalne i mrtve prasadi. Messer i sur. (1996) su proveli genotipizaciju za gen RBP4 kod francuske populacije svinja jorkšir. Pri tome su utvrdili povezanost broja ukupno oprasene prasadi sa polimorfizmom gena RBP4.

Rothschild i sur. (2000) proveli su istraživanje utjecaja polimorfnih varijanti gena RBP4 na pokazatelje veličine legla - broj ukupno oprasene i živooprasene prasadi. Istraživanje je provedeno na 1300 krmača visokoprodne linije PIC s ukupno 2755 legala. Analizom rezultata nije utvrđen utjecaj genotipa na broj ukupno oprasene i živooprasene prasadi. U analiziranoj populaciji svinja utvrđena je najveća učestalost heterozigota (0,441), zatim AA homozigota (0,421), dok je utvrđeno najmanje jedinki BB genotipa (0,136). U krmača AA genotipa utvrđen je najveći broj ukupno oprasene prasadi ($10,41 \pm 0,18$), dok su te vrijednosti u heterozigota ($10,27 \pm 0,17$) i BB homozigota bile niže ($9,91 \pm 0,24$). Genotipizacijom krmača PIC utvrđena je najveća učestalost heterozigota (0,495), zatim AA homozigota (0,345) te najmanje BB homozigota (0,16). Rezultatima je utvrđeno da su krmače AA genotipa prosječno prasile 0,5 ukupno oprasene prasadi više, odnosno 0,26 živooprasenih više u odnosu na krmače BB genotipa. Drogemuller i sur. (2001) su provodili eksperimente na krmačama linije CC nastale križanjem njemačkog landrasa i duroka. U toj populaciji učestalost alela A iznosila je 0,62 dok je učestalost alela B iznosila 0,38.

Osim navedenih izvora, polimorfnost odsječka gena RBP4 istraživali su Wang i sur. (2006) na dvije populacije krmača francuske pasmine veliki jorkšir i landras za svojstva ukupno oprasene i živoprasene prasadi. Temeljem analiza i dobivenih rezultata učestalost heterozigota bila je najveća u obje istraživane populacije, kod pasmine landras ona je iznosila 0,495, dok je kod velikog jorkšira iznosila 0,5391. U obje populacije utvrđena je najmanja učestalost BB genotipa te je iznosila kod landrasa 0,1869, a kod velikog jorkšira 0,1722. Isti autori navode da je skupnom analizom prasenja kod krmača pasmine landras

BB genotipa utvrđen najveći broj ukupno oprasene prasadi ($11,45 \pm 0,59$) dok je broj živooprasene prasadi bio najveći kod AA genotipa ($9,27 \pm 0,48$).

Skupnom analizom trećeg i više prasenja utvrđen je najveći broj ukupno oprasene prasadi ($11,96 \pm 0,29$) i živooprasene ($10,36 \pm 0,29$) kod krmača BB genotipa. Homozigotne krmače AA imale su niže vrijednosti ($11,78 \pm 0,37$) ukupno oprasene prasadi i ($10,31 \pm 0,29$) živooprasene prasadi, dok je najmanji broj ukupno oprasene ($11,55 \pm 0,38$) i živooprasene prasadi utvrđen kod heterozigota.

Lemus-Flores i sur. (2009). istraživali su učestalost A i B alela u dvije meksičke izvorne pasmine svinja pelon i cuino kao i pasmine veliki jorkšir. Rezultati genotipizacije RBP4 gena pokazali su da je učestalost alela i genotipova bila približno ista kod istraživanih populacija svinja. Kod populacija krmača pasmina pelon i veliki jorkšir učestalost alela A iznosila je 0,74 dok je kod pasmine cuino iznosila 0,75. Kod sve tri promatrane pasmine nisu ustanovljene jedinke genotipa BB, dok je udio heterozigota kod pasmina cuino i jorkšir iznosio 0,52, a kod pasmine pelon 0,5.

Terman i sur. (2011) radili su genotipizaciju 444 križanki poljskog landrasa i jorkšira. Pri tome je utvrđena najveća učestalost heterozigota AB (0,48), zatim po učestalosti su bili homozigoti AA genotipa (0,37) dok je homozigota BB bilo najmanje (0,18).

Kod prvopraskinja BB genotipa utvrđeno je više ukupno oprasene prasadi ($9,31 \pm 0,32$) i živoprasene prasadi ($9,18 \pm 0,31$) u odnosu na heterozigotne jedinke ($9,05 \pm 0,17$ ukupno oprasenih i $8,85 \pm 0,19$ živooprasene prasadi). Kod drugopraskinja utvrđen je značajno veći broj ukupnooprasene i živooprasene prasadi kod BB genotipa u odnosu na heterozigotne krmače kao i krmače AA genotipa.

2.4. Genetska struktura populacije i sličnost s ostalim pasminama

S obzirom na povijest nastanka kao i prostornu udaljenost pojedinih uzgoja, genetska raznolikost i struktura populacije svinja BŠ bila je predmetom ranijih istraživanja (Šalomon i sur., 2019; Margeta i sur., 2019). Pri tome je korištena metoda pomoću neutralnih mikrosatelitskih biljega odnosno varijacija ponavljajućih sekvenci DNA koje same po sebi ne kodiraju neko funkcionalno svojstvo ali omogućuju procjenu raznolikosti prisutne u nekoj populaciji, strukturu te srodstvene odnose s drugim životinjama ili populacijama (Bauming i sur., 2004; Drumrl i sur., 2012; Šalomon i sur., 2014). Uobičajeno se koriste biljezi iz seta preporučenih biljega za nepristrano određivanje genetske raznolikosti različitih populacija svinja od strane međunarodnog društva za animalnu genetiku (ISAG) i Organizacije za prehranu i poljoprivredu (FAO). Genetsku raznolikost najčešće se opisuje prosječnim brojem alela po lokusu genotipiziranih biljega (MNA), alelnim bogatstvom (Ar), brojem privatnih alela (PA), opaženom heterozigotnosti (Ho), te prosječnim koeficijentom inbridinga

populacije (F) dobivenim temeljem pojedinih koeficijenata uzgoja u srodstvu individualnih lokusa genotipiziranih biljega.

Osnovni pokazatelji genetske raznolikosti populacije u tipu banijske šare u usporedbi s ostalim istraživanim pasminama (crna slavonska, turopoljska, landras) pokazali su izuzetnu genetsku raznolikost, mjerenu pomoću pokazatelja opažene heterozigotnosti, prosječnog alelnog bogatstva te broja privatnih alela (Salajpal i sur., 2017). Opažena heterozigotnost proučavanih populacija kretala se u rasponu od 0,36 do 0,60 pri čemu je ona u tipu banijske šare svinje iznosila 0,58. Dodatno je utvrđeno prosječno alelno bogatstvo za promatrane populacije koje se kretalo od 2,9 do 5,2 s tim da je najveće opažene vrijednosti imala populacija svinja u tipu banijske šare. Nadalje, analiza genetske raznolikosti se zasniva i na informacijama o porijeklu životinja, koristeći se koeficijentima uzgoja u srodstvu između životinja unutar populacije (Caballero i Toro, 2000). Smanjenju genetske raznolikosti izložnije su male populacije autohtonih pasmina svinja (Fernades i sur., 2010), ali i populacije plemenitih pasmina pod visokim selekcijskim pritiskom (Welsh i sur., 2010; Melka i Schenkel, 2010). Takve populacije su podložne povećanom riziku genetskog otklona (eng. drift) i gubitka pojedinih alela iz populacije, a istovremeno se smanjuje mogućnost budućeg genetskog napretka.

Škorput i sur. (2018) analizirali su srodstvene odnose i strukturu populacije temeljem podataka o porijeklu životinja (pedigre). Pri tome je analizirano ukupno 721 zapisa o porijeklu BŠ za razdoblje 2010 - 2017. Po navedenim autorima prosječan maksimalni broj generacija iznosio je 2,47, prosječan broj punih generacija 1,50, a prosječan broj ekvivalentnih generacija je 2,00. Prosječna srodnost u populaciji je iznosila 9,32%, dok efektivna veličina populacije iznosila 28,81. Nadalje, prosječni koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio je 3,68% što se pripisuje nepotpunom pedigreu koji je karakterističan za novoformirane populacije. Navedenu tvrdnju svojim istraživanjem na krškopoljskoj svinji potkrepljuju Malovrh i sur. (2012) koji navode da ukoliko porijeklo nije cjelovito i koeficijent uzgoja u srodstvu može biti značajno podcijenjen.

3. MATERIJAL I METODE RADA

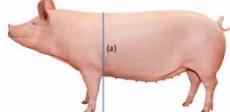
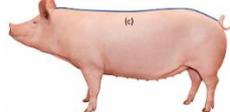
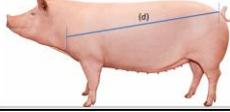
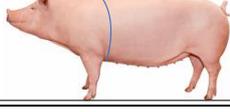
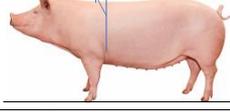
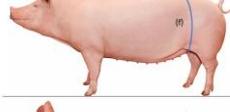
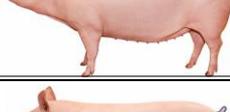
3.1. Analizirana populacija

Istraživanje je provedeno na populaciji svinja banijske šare upisanih u središnju bazu podataka (2015 – 2022) koja se vodi pri Hrvatskoj agenciji za poljoprivredu i hranu (u daljnjem tekstu HAPIH). Uzgojno područje na kojem je provedeno istraživanje obuhvaća Sisačko-moslavačku županiju i to šire područje grada Petrinje, općinu Dvor te grad Kutinu (naselje Banova Jaruga).

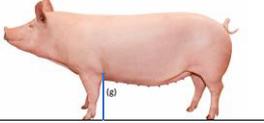
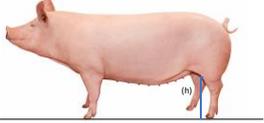
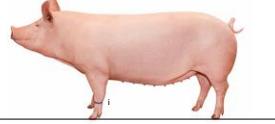
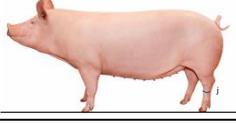
3.2. Morfometrijska svojstva

Na 50 odraslih, reproduktivno aktivnih jedinki (krmače i nerasti) utvrđene su tjelesna masa i morfometrijska svojstva trupa (tablica 1), glave i nogu (tablica 2).

Tablica 1. Promatrana morfometrijska svojstva trupa kod svinja banijske šare (cm)

Rb. (oznaka)	Svojstvo	Opis	Slikovni prikaz
1 (a)	Visina grebena	Udaljenost od podloge do najviše točke na grebenu (iza lakta) mjerene Lydtinovim štapom	
2 (b ₁)	Visina križa	Udaljenost od podloge do najviše točke na križima (ispred koljena) mjerene Lydtinovim štapom	
3 (b ₂)	Visina do korijena repa	Udaljenost od podloge do korijena repa mjereno Lydtinovim štapom	
4 (c)	Duljina tijela	Udaljenost od baze lubanje (atlanto-okcipitalnog zgloba) do korijena repa mjerena vrpcom	
5 (d)	Duljina trupa	Udaljenost od prednjeg ruba lopatično-ramenog zgloba do korijena repa mjerena Lydtinovim štapom	
6 (e ₁)	Opseg prsa	Mjereno vrpcom iza prednjih nogu	
7 (e ₂)	Širina prsa	Udaljenost između rubova prsnog koša mjereno iza lopatica Lydtinovim štapom	
8 (f)	Opseg abdomena	Mjereno vrpcom ispred bočnih kvrga i koljenog zgloba	
9 (g)	Duljina zdjelice	Udaljenost od bočne kvrga do sjedne kvrga mjereno šestilom	
10 (h ₁)	Širina zdjelice_G	Udaljenost između bočnih kvrga mjereno s šestilom	
11 (h ₂)	Širina zdjelice_S	Udaljenost između sjednih kvrga mjereno šestilom	
11 (i)	Duljina repa	Duljina ispruženog repa mjerena od baze do vrha repa pomoću mjerne vrpce	

Tablica 2. Promatrana morfometrijska svojstva glave i nogu kod svinja banijske šare

Rb. (oznaka)	Svojstvo	Opis	Slikovni prikaz
1 (a)	Duljina glave	Udaljenost od baze lubanje (atlantookcipitalni zglob) do vrha nosa mjereno vrpcom	
2 (b)	Širina glave	Udaljenost između vanjskih rubova očnih orbita mjereno šestilom	
3 (c)	Duljina uške	Udaljenost od baze do vrha uške mjereno vrpcom	
4 (d)	Širina uške	Udaljenost između rubova uške u njegovom najširem dijelu mjereno vrpcom	
5 (e)	Duljina nosa	Udaljenost od vrha nosa do zamišljene linije koja spaja unutarnje rubove očnih orbita mjereno vrpcom	
6 (f)	Širina nosa	Udaljenost između rubova nosa mjereno Lidtinovim štapićem na najužem dijelu	
7 (g)	Visina prednjih nogu	Udaljenost od podloge do lakatnog zgloba mjereno Lydtinovim štapićem	
8 (h)	Visina stražnjih nogu	Udaljenost od podloge do koljenog zgloba mjereno Lydtinovim štapićem	
9 (i)	Opseg prednje cjevanice	Opseg cjevanice mjereno vrpcom na najužem njenom dijelu	
10 (j)	Opseg stražnje cjevanice	Opseg cjevanice mjereno vrpcom na najužem njenom dijelu	

Za utvrđivanje tjelesne mase korištena je stočna vaga (TehnoNet) dok su morfometrijska mjerenja izvršena pomoću Lydtinovog štapa, mjerne vrpce i kutomjera (šestila; slika 6, slika 7 i slika 8).



Slika 6. Mjerni uređaji korišteni prilikom određivanja tjelesnih mjera



Slika 7. Krmača banijske šare u boksu pri uzimanju tjelesnih mjera Lydtinovim štapom



Slika 8. Nerastić banijske šare u boksu pri mjerenju dužine trupa mjernom vrpcom

3.3. Obilježja vanjštine

Na 50 odraslih reproduktivno aktivnih jedinki utvrđena su vanjska obilježja karakteristična za pasminu (tablica 3; slika 9). Veličina i raspored šara te udio crne boje u ukupnoj površini kao i na pojedinim dijelovima tijela utvrđen je obradom digitalne slike upotrebom Image tool® softvera. U tu svrhu svaka jedinka je slikana s lijeve strane i sa iste udaljenosti dok stoji na čvrstoj i ravnoj podlozi.



Slika 9. Krmača banijske šare pri ocjeni vanjštine

Tablica 3. Analizirana obilježja vanjštine kod svinja banijske šare

Obilježje vanjštine	
Položaj uški	Klopave Poluklopave Stršeće
Usmjerenje uški	Gore Naprijed
Leđna linija	Ravna Konveksna
Nosni profil	Ravan Uleknut
Duljina dlake	Kratka Duga
Pigmentiranost papaka	Da Ne
Pigmentiranost sluznica	Da Ne
Prisutnost lise na glavi	Da Ne
Boja svijetle dlake	Bijela Siva
Tip repa	Ravan Zavrnut
Udio pigmentiranosti lijeve i desne uške	1/3 2/3 3/3
Površina tijela prekrivena crnom dlakom	1-100%

3.4. Plodnost

S ciljem utvrđivanja reproduktivnih pokazatelja BŠ svinje te njihove usporedbe s druge dvije autohtone pasmine svinja u RH crna slavonska (CS) i turopoljska (TS) analizirana je veličina legla ukupan broj oprasene (UO), broj živooprasene (ŽO) i mrtvooprasene prasadi (MO) na ukupno 184 legala BŠ, 1174 legala TS i 18228 legala CS svinje. Podaci o broju UO, ŽO, i MO su preuzeti iz baze Svinjogojstvo koja se vodi koja se vodi pri Centru za stočarstvo Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (HAPIH).

3.5. Prikupljanje uzoraka krvi i tkiva

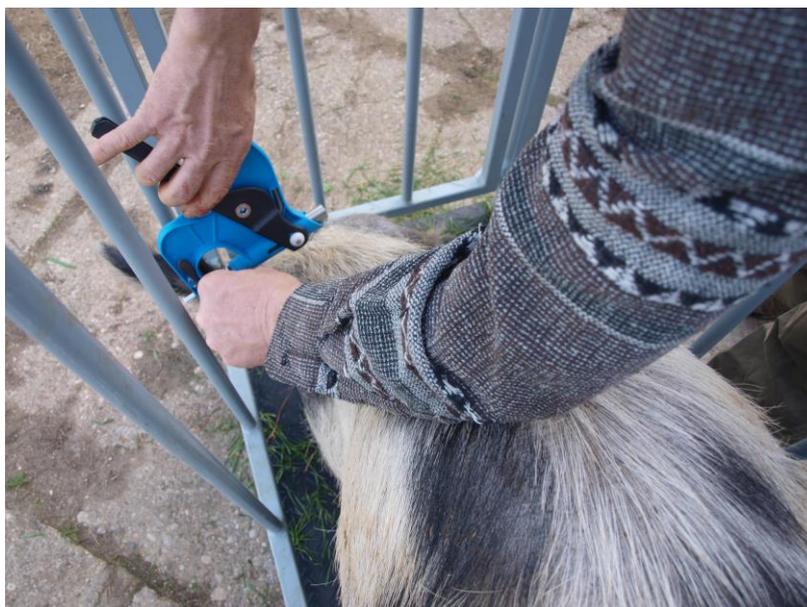
Uzorci biološkog materijala (krv, tkivo i dlaka) za izolaciju DNA prikupljena je od reproduktivno aktivnih nesrodnih jedinki BŠ svinje (krmače i nerasti) uključenih u istraživanje (N=30), te od po 20 jedinki TS, CS i plemenitih pasmina svinja pasmine landras, veliki jorkšir, durok i pietren. Uzorci krvi uzeti su punkcijom jugularne vene u epruvete volumena od 7 ml s EDTA kao antikoagulansom tijekom provođenja naređenih mjera od

strane ovlaštenog veterinara (slika 10) dok je za uzorkovanje tkiva uške korištena metoda biopsije pomoću uređaja za uzorkovanje tkiva (Allflex; slika 11). Uzorci krvi i tkiva čuvani su na -20°C do analize. Uzorci dlake uzeti su s zatiljnog područja te su bili pohranjeni u PVC vrećicama i do analize čuvani na +4°C.

Dodatno, za potrebe analize genetske varijabilnosti i usporedbe s drugim populacijama svinja korišteni su uzorci BŠ i plemenitih pasmina prikupljeni za potrebe potvrđivanja roditeljstva sukladno uzgojnom programu za banijsku šaru svinju.



Slika 10. Fiksacija odrasle jedinice BŠ pri sigurnoj manipulaciji i uzimanja uzoraka krvi za analizu



Slika 11. Uzorkovanje biološkog uzorka tkiva banijske šare svinje s uške pomoću kliješta za uzorkovanje tkiva

3.6. Izolacija genomske DNA

Dio DNA izoliran je pomoću DNeasy Blood & Tissue kit (*Qiagen GmbH, Njemačka*) na bazi silika kolona. Izolacija je provedena iz uzoraka krvi, tkiva i dlaka prema propisanom protokolu proizvođača. Ostatak DNA ekstrahiran je iz krvi ili tkiva klasičnom fenol-kloroform metodom (Maniatis i sur., 1982). Tkivo uške usitnjeno je pomoću skalpela i prebačeno u 1,5ml tubicu. 200 μ l krvi pomiješano je s 800 μ l TE pufera (1M Tris-HCl, pH 8,0, 0,5 M EDTA, pH 8,0) i centrifugirano 30 s na 12000 x g. Supernatant se odlije, a talog koji je sadržavao leukocite ispran je s TE puferom dodatna 3 - 4 puta. Pelet usitnjelog tkiva ili leukocita resuspendiran je u 200 μ l pufera za lizu (1 M Tris-HCl, pH 8,3, 2 M MgCl₂, 1 M KCl, 0,5% Tween) s 4 μ l proteinaze K (10 μ g/ μ l). Suspenzija je inkubirana 2 - 3 h na 56°C. Proteini su uklonjeni ekstrakcijom fenolom s PCI (fenol : kloroform : izoamil alkohol = 25 : 24 : 1). Nakon centrifugiranja 20 minuta na 17500 x g vodena faza prebačena je u drugu epruvetu i ekstrahirana jednakim volumenom CI (kloroform : izoamil alkohol = 24 : 1) i ponovo centrifugirana pod istim uvjetima. Vodena faza je prebačena u svježju epruvetu i DNA je precipitirana dodavanjem 2,5 x vol. 96% ledeno hladnog etanola. Precipitat je inkubiran 1 sat na -20°C, centrifugiran 10 minuta na 17000 x g, a pelet je ispran sa 70% etanolom. Pelet je sušen na zraku i otopljen u 50 μ l RNaze free vode. Koncentracija i čistoća otopljene DNA utvrđena je spektrofotometrično.

3.7. Genotipizacija polimorfnih mikrosatelitnih markera (MS)

3.7.1 Genotipizacija s 24 MS markera

Za genescan analizu odabrano je 27 MS markera sukladno ISAG-FAO preporuci (FAO, 2011). Podijeljeni su u tri multiplexa (plava, roza i zelena boja u tablici 4). Forward početnice označene su fluorescentnim bojama (FAM, HEX i Atto550) na način da su mikrosateliti koji se preklapaju po dužini, označeni različitim bojama. U svakom multiplexu su po tri MS markera označena istom bojom.

Nakon postupka optimizacije odabrana su 24 MS markera i grupirana u tri multipleksne reakcije. Prvi multipleks sadržavao je S0026, S0155, S0005, Sw2410, Sw830, S0355, Sw24, Sw632 i Swr1941, drugi multipleks sadržavao je Sw9366, S0218, S0228, Sw240, Sw2406, Sw122, Sw857 i S0097, a treći multipleks sadržavao je Sw72, S0226, SO090, Sw911, S0002, Sw1067 i S0101 MS markere.

Forward početnice označene su fluorescentnim bojama (FAM, HEX i Atto550) tako da su Za multipleks PCR reakcije korišten je 2x Type-it Microsatellite PCR Kit (*Qiagen GmbH, Njemačka*) prema uputama proizvođača. Protokol MS ciklusa PCR započeo je s početnim korakom aktivacije, denaturacijom 6 minuta na 95 °C, nakon čega je uslijedilo 35 ciklusa denaturacije (30 s na 95 °C), annealinga (90 s na 58, 59 i 59,5 °C) s različitim temperaturama za svaki multipleks i elongacije (60 s na 72 °C). Program ciklusa završio je završnom elongacijom 30 minuta na 60 °C (Margeta i sur., 2019). Mikrosateliti koji se preklapaju po dužini, označeni su različitim bojama. MS multiplex PCR produkti poslani su u Macrogen (Macrogen Inc., Nizozemska), gdje su analizirani u 3 odvojene genescan reakcije po uzorku koristeći GeneScan350 ROX interni standard veličine na ABI3730XL kapilarnom genskom analizatoru.

Tablica 4. Popis početnih 27 MS markera za genotipizaciju svinja

Br.	Ime markera	Kromosom	Sekvenca početnica (5' -> 3') D- početnica označena bojom	Temperatura zagrijavanja	Opseg alela
1.	S0026	16	<u>F</u> -AACCTTCCCTTCCCAATCAC CACAGACTGCTTTTTACTCC	55°C	87 - 105
2.	S0155	1	<u>F</u> -TGTTCTCTGTTTCTCCTCTGTTTG AAAGTGGAAAGAGTCAATGGCTAT	55°C	142 - 162
3.	S0005	5	<u>F</u> -TCCTTCCCTCCTGGTAACTA GCACTTCTGATTCTGGGTA	55°C	203 - 267
4.	Sw2410	8	<u>A</u> -ATTTGCCCCCAAGGTATTTTC CAGGGTGTGGAGGGTAGAAG	50°C	90 - 131
5.	Sw830	10	<u>A</u> -AAGTACCATGGAGAGGGAAATG ACATGGTTCCAAAGACCTGTG	50°C	168 - 203
6.	S0355	15	<u>A</u> - TCTGGCTCCTACACTCCTTCTTGATG TTGGGTGGGTGCTGAAAAATAGGA	50°C	244 - 271
7.	Sw24	17	<u>H</u> -CTTTGGGTGGAGTGTGTGC ATCCAAATGCTGCAAGCG	55°C	95 - 124
8.	Sw632	7	<u>H</u> -TGGGTTGAAAGATTTCCCAA GGAGTCAGTACTTTGGCTTGA	55°C	148 - 178
9.	Swr1941	13	<u>H</u> -AGAAAGCAATTTGATTTGCATAATC ACAAGGACCTACTGTATAGCACAGG	55°C	202 - 224
10.	Sw936	15	<u>F</u> -TCTGGAGCTAGCATAAGTGCC GTGCAAGTACACATGCAGGG	55°C	90 - 116
11.	S0218	X	<u>F</u> -GTGTAGGCTGGCGGTTGT CCCTGAAACCTAAAGCAAAG	55°C	158 - 205
12.	S0228	6	<u>F</u> -GGCATAGGCTGGCAGCAACA AGCCACCTCATCTTATCTACACT	55°C	220 - 246
13.	Sw122	6	<u>A</u> -CAAAAAGGCCAAAAGATTGACA TTGTCTTTTTATTTTGCTTTTGG	55°C	106 - 128
14.	Sw857	14	<u>A</u> -TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC GATCCTCCTCCAAATCCCAT	55°C	141 - 159
15.	S0097	4	<u>A</u> -GACCTATCTAATGTCATTATAGT TTCTCCTAGAGTTGACAACTT	55°C	209 - 250
16.	sw240	2	<u>H</u> -AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG AAACCATTAAGTCCCTAGCAA	55°C	92 - 124
17.	IGF1	5	<u>H</u> -GCTTGGATGGACCATGTTG CATATTTTTCTGCATAAATTGAACCT	55°C	193 - 209
18.	Sw2406	6	<u>H</u> -AATGTCACCTTAAAGACGTGGG AATGCCGAACTCCTGAATTAGC	55°C	222 - 262
19.	Sw72	3	<u>F</u> -ATCAGAACAGTGCGCCGT TTTGAAAATGGGGTGTITCC	55°C	97 - 114
20.	S0226	2	<u>F</u> -GCACTTTTAACTTTTATGATACTCC GGTTAACTTTTNCCTCAATACA	55°C	180 - 210
21.	S0090	12	<u>F</u> -CCAAGACTGCCTTGTAGGTGAATA GCTATCAAGTATTGTACCATTAGG	55°C	227 - 249
22.	Sw2008	11	<u>A</u> -CAGGCCAGAGTAGCGTGC CAGTCTCCCAAAAATAACATG	55°C	95 - 108
23.	Sw1067	6	<u>A</u> -TGCTGGCCAGTGACTCTG CCGGGGATTAAACAAAAG	55°C	136 - 176
24.	S0101	7	<u>A</u> -GAATGCAAAGATTTCAGTGTAGG GTCTCCCTCACACTTACCGCAG	58°C	197 - 221
25.	S0178	8	<u>H</u> -TAGCCTGGGAACCTCCACACGCTG GGCACCAGGAATCTGCAATCCAGT	60°C	101 - 128
26.	Sw911	9	<u>H</u> -CTCAGTTCTTTGGGACTGAACC CATCTGTGGAAAAAAAAGCC	60°C	149 - 173
27.	S0002	3	<u>H</u> -GAAGCCAAAGAGACAACCTGC GTTCTTTACCCACTGAGCCA	60°C	186 - 216

3.7.2. Genotipizacija sa 16 MS markera

Za potrebe potvrđivanja roditeljstva sukladno uzgojnom programu za BŠ svinju optimizirana je nova metoda genotipizacije sa 16 MS markera koji su odabrani zbog svoje visoke polimorfnosti u populaciji (visoka PIC vrijednost). Markeri se umnažaju u samo 2 multiplex PCR reakcije (tablica 5). Forward početnice označene su fluorescentnim bojama (FAM, HEX Atto 550 i Atto565) tako da su mikrosateliti koji se preklapaju po dužini, označeni različitim bojama. Odabir boja na fwd početnicama omogućuje da se prije analize na kapilarnom genskom analizatoru oba multiplexa spajaju u jednu genescan reakciju (Margeta, 2022), što u velikoj mjeri ubrzava i pojeftinjuje postupak analize. MS multiplex PCR produkti analizirani su koristeći GeneScan500 LIZ interni standard veličine na kapilarnom genskom analizatoru SeqStudio™ Genetic Analyzer System (Applied Biosystems). Za bolje definiranje BŠ kao zasebne genetske skupine i usporedbu s mangulicom (LM iz Srbije), moravkom (MO), mangulicom iz Mađarske (LMH), krškopoljskom svinjom (KP) i divljom svinjom korišteni su uzorci iz ranijih istraživanja (Zorc i sur., 2022).

Tablica 5. Popis optimiziranog seta 16 MS markera za genotipizaciju svinja

5'dye	marker	dužine alela	multiplex
fam	S0026	90-102	1
	S0155	146-162	1
	S0226	181-213	1
	S0228	220-230	2
hex	Sw240	92-114	2
	Sw911	153-183	2
	S0002	183-217	2
	Sw2406	222-258	2
atto550	Sw2008	95-111	1
	Sw122	112-128	2
	Sw857	144-162	2
	Sw632	174-190	1
	S0101	198-220	2
atto565	Sw24	99-115	1
	Sw1067	155-191	1
	S0097	210-250	1

3.8. Genotipizacija kandidat gena ESR1 i RBP4

Genotipizacija kandidat gena za veličinu legla (ESR1-*PvuII* i RBP4-*MspI*) provedena je na 25 jedinki BŠ svinje kod kojih je evidentirano i ocjenjeno najmanje jedno leglo koristeći PCR-RFLP metodu. Umnažanje odsječka veličine 120 parova baza (pb) ESR1 gena koji sadrži restrikcijsko mjesto za *PvuII* endonukleazu te 550 pb dugog odsječka RBP4 gena koji sadrži restrikcijsko mjesto za *MspI* endonukleazu provedeno je lančanom reakcijom polimeraze (PCR) prema uvjetima opisanim u Menčík (2014) koristeći specifične početnice opisane u radu Short i sur. (1997) za ESR1-*PvuII* i za RBP4-*MspI*. Cijepanje umnoženih odsječaka ESR1 i RBP4 gena pomoću endonukleaza provedeno je na 37°C u trajanju od 4h. Dobiveni fragmenti ESR1 gena (120 pb za A alel te 65 pb i 55 pb za B alel) odvojeni su gel elektroforezom na 3,25%-tnom agaroznom gelu. Za razdvajanje dobivenih fragmenata RBP4 gena (190 pb, 154 pb, 136 pb i 70 pb za alel A te 190 pb, 136 pb, 125 pb, 70 pb i 29 pb za alel B) korištena je također gel elektroforeza na 2,5%-tnom agaroznom gelu. Vizualizacija dobivenih odsječaka na agaroznom gelu provedena je sa etidij bromidom, a očitavanje izvršeno pod UV svjetlom.

3.9. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka izvršena je primjenom većeg broja procedura unutar softverskog paketa SAS/STAT® inačica 9.4 (2013). Osnovna analiza morfometrijskih svojstava BŠ svinje izvršena je pomoću opisne statistike (PROC UNIVARIATE, PROC MEANS). Testiranje razlika između pasmina (BŠ, T, CS) za pokazatelje veličine legla (broj UO, ŽO i MO) korištena je analiza varijance (PROC GLM). Za procjenu utjecaja pojedinih čimbenika te ESR1-*PvuII* i RBP4-*MspI* genotipova na svojstva plodnosti (UO, ŽO i MO) korištena je metoda najmanjih kvadrata primjenom GLM procedure (opći linearni model) temeljem slijedećeg statističkog modela:

$$Y_{ijklm} = \mu + R_j + G_k + e_{ijklm}$$

gdje je:

Y_{ijklm} – opažena vrijednost za promatrano svojstvo

μ - srednja vrijednost

R_j - utjecaj rednog broja praseња (j = 1, 2 i više)

G_k – utjecaj genotipova za ESR1-*PvuII* (k=AA, AB, BB) ili za RBP4-*MspI* (k=AA, AB, BB)

e_{ijklm} – slučajna greška (neprotumačeni dio)

Za ESR1 i RBP4 kandidatne gene izračunate su frekvencije alela i genotipova, te pomoću χ^2 -testa odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže.

Analiza rezultata MS markera - rezultati genescan analize kako ih formira genski analizator (.fsa datoteke) otvarani su u programu GeneMapper™ ver. 4 i 6 (Applied Biosystems). Analizirane vrijednosti mikrosatelita (u bp) unesene su u Excel tablicu u formatu kompatibilnom sa Structure programom. Za provjeru unesenih vrijednosti i pretvorbu u ostale formate korišteni su programi Excel Microsatellite Toolkit (Park, 2001) i PGDSpider version 2.1.1.5 (Lischer i Excoffier, 2012), Cervus 3.0.7. softver (Marshall i sur., 1998; Kalinowski i sur., 2007) korišten je za izračunavanje opažene (HO) i očekivane (HE) heterozigotnosti (Nei, 1978) na svakom lokusu i za izračunavanje sadržaja informacija o polimorfizmu (*polymorphic information content*; PIC). Vrijednosti koeficijenta inbreedinga (Fis) izračunate su u programu Genetix 4.05 (Belkhir i sur., 2004). Indeks fiksacije (Fst) između populacija izračunat je korištenjem GENEPOP verzije 4.2 (Raymond i Rousset, 1995). Svi mikrosatelitski lokusi testirani su na odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže (HWE) pomoću Markov Chain Monte Carlo simulacije s 10 000 iteracijskih koraka, praćenih sa 100 serija od 5 000 iteracija po seriji (Guo i sur., 1992) u GENEPOP verziji 4.2 (Raymond i Rousset, 1995). Program GENEPOP korišten je također za izračun osnovnih informacija kao što su ukupni broj alela po markeru, frekvencija alela, Fis.

Analiza strukture populacije i identifikacija pomiješanih (*admixed*) jedinki provedena je u programu Structure, verzija 2.3.4 (Pritchard i sur., 2000) primjenom *admixture* modela. K vrijednosti su testirane od 1 do 10 s 20 ponavljanja za svaku K-vrijednost, burn-in period 100000 iteracija i 1 000 000 iteracija za razdoblja prikupljanja podataka. Najvjerojatnija K-vrijednost identificirana je prema Evannu i sur. (2005). Vizualizacija rezultata analize strukture populacija provedena je u softveru CLUMPAK (Kopelman i sur., 2015). Kako bi se odredila količina genetske diferencijacije među populacijama, provedena je analiza glavnih komponenti (Principal Component Analysis; PCA) s paketom adegenet (Jombart i Ahmed, 2011) u R (R 3.4.0.; www.r-project.org) i faktorialna analiza komponenti (Factorial component analysis; FCA) u programu Genetix 4.05 (Belkhir i sur., 2004).

Analiza primarnih koordinata (*Principal Coordinates Analysis*; PCoA) na osnovu matrice genetskih udaljenosti napravljena je u Excel aplikaciji GenAlEx 6.5b3. Najprije se iz genotipova izradi matrica genetskih udaljenosti (*pairwise genetic distance matrix*) koja je prvi korak do brojnih analiza dostupnih u GenAlExu, među njima i PCoA. Koristile su se postavke pod opcijom za kodominantne markere (*Codom-Genotypic*) za izradu triangularne matrice genetskih udaljenosti. Analiza glavnih koordinata (PCoA) multivarijantna je tehnika koja omogućuje pronalaženje i iscrtavanje glavnih uzoraka unutar multivarijantnog skupa podataka, npr. genotipova sa više lokusa i više uzoraka. Opcija „Analysis“ u izborniku PCoA

pronalazi odnos između elemenata matrice genetskih udaljenosti na temelju njihove prve tri glavne koordinate. Dok opcije „Axes 1 vs 2, Axes 1 vs 3 i Axes 2 vs 3“ omogućuju iscrtavanje različitih kombinacija osi (Peakall i Smouse, 2012.). Neighbor-joining filogenetska stabla na temelju Neijeve DA genetske udaljenosti (Nei i sur., 1983; Takazeki i Nei, 1996) konstruirana su u programu Populations 1.2.31. population genetic software (Goldstein i sur., 1995) i uređena u programu FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. MORFOMETRIJSKA SVOJSTVA

Na 38 krmača i 12 nerasta BŠ svinje u dobi od 14 - 44 mjeseci, u različitim reproduktivnim fazama, izmjerena je tjelesna masa, visina jedinki u tri točke (greben, križa i korijen repa) te su uzete mjere trupa (7 mjera) i ekstremiteta (4 mjere). Vrijednosti pojedinih tjelesnih mjera su prikazane kao srednja vrijednost, minimalna i maksimalna izmjerena vrijednost te standardna devijacija i koeficijent varijacije. Rezultati dobivenih tjelesnih mjera trupa i ekstremiteta za krmače su prikazani u tablici 6, a za neraste u tablici 7.

Tablica 6. Tjelesna masa (kg) i morfometrijske osobine trupa i ekstremiteta krmača banijske šare (cm)

	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Koeficijent varijabilnosti
Tjelesna masa	162,6	45,8	73,0	282,0	28,2
Visina grebena	72,1	6,0	56,0	86,0	8,3
Visina križa	78,8	6,0	65,0	91,0	7,6
Visina korijena repa	65,3	6,0	53,0	77,0	9,2
Duljina trupa	116,3	12,3	92,0	134,0	10,6
Širina prsa	33,6	6,0	22,0	47,0	17,8
Opseg prsa	131,1	19,2	98,0	180,0	14,7
Opseg abdomena	132,6	17,7	98,0	172,0	13,3
Duljina zdjelice	35,2	4,3	28,0	49,0	12,3
Širina zdjelice	28,3	5,1	19,5	43,0	18,2
Širina sjednih kvrga	20,3	4,2	13,0	31,0	20,6
Visina prednjih nogu	37,0	4,9	31,0	58,0	13,3
Visina stražnjih nogu	40,9	4,0	33,0	49,0	9,8
Opseg prednje cjevanice	19,3	2,0	16,0	26,0	10,4
Opseg stražnje cjevanice	18,9	1,6	16,0	23,0	8,5

Tablica 7. Tjelesna masa (kg) i morfometrijske osobine trupa i ekstremiteta nerasta banijske šare (cm)

	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Koeficijent varijabilnosti
Tjelesna masa	162,2	44,7	99,0	254,0	27,6
Visina grebena	77,1	7,9	63,0	88,0	10,2
Visina križa	83,3	7,6	71,0	96,0	9,1
Visina korijena repa	71,9	7,6	60,0	83,0	10,6
Duljina trupa	118,5	13,9	99,0	145,0	11,8
Širina prsa	33,3	3,7	29,0	40,0	11,0
Opseg prsa	126,1	13,2	110,0	152,0	10,5
Opseg abdomena	125,2	13,4	104,0	147,0	10,7
Duljina zdjelice	36,2	4,9	28,0	44,0	13,6
Širina zdjelice	28,3	6,3	20,0	39,0	22,3
Širina sjednih kvrga	19,8	3,7	14,5	27,0	18,8
Visina prednjih nogu	39,8	4,8	30,0	48,0	12,0
Visina stražnjih nogu	45,2	5,1	36,0	52,0	11,3
Opseg prednje cjevanice	20,5	1,8	18,0	24,0	8,9
Opseg stražnje cjevanice	19,8	1,8	16,0	22,5	9,0

Izmjerena prosječna tjelesna masa krmača i nerasta bila je približno jednaka (162,6 kg prema 162,2 kg) uz nešto veće razlike između minimalnih i maksimalnih vrijednosti kod krmača (209 kg) u odnosu na neraste (155 kg). Prosječna visina do grebena kod krmača iznosila je 72,1 cm i bila je za 5 cm niža nego kod nerasta. Vrijednosti visine križa i visine do korijena repa bile su veće kod nerasta u odnosu na krmače za prosječno 5-7 cm. Prosječna duljina trupa kod krmača iznosila je 116,3 cm i bila je za oko 2 cm manja u odnosu na neraste. Također, kod nerasta su izmjerene nešto veće prosječne vrijednosti za duljinu zdjelice (36,2 cm ili +1 cm) dok se vrijednosti za širinu zdjelice nisu razlikovale između spolova (28,3 cm). Nasuprot tome kod krmača su izmjerene veće vrijednosti širine prsa (33,6 cm ili +0,3 cm), opsega prsa (131,1 cm ili +7 cm) i opsega abdomena (132,6 cm ili +7,4 cm) u odnosu na neraste. Izmjerene vrijednosti za svojstva visine nogu i opseg cjevanica bile su veće kod nerasta u odnosu na krmače.

Nadalje, vrijednosti tjelesne mase i morfometrijskih osobina trupa te ekstremiteta dobivene mjerenjem nazimica (N=23) i nerastića (N=4) u dobi od 8-14 mjeseci prikazane su u tablicama 8 i 9.

Tablica 8. Tjelesna masa (kg) i morfometrijske osobine trupa i ekstremiteta nazimica banijske šare (cm)

	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Koeficijent varijabilnosti
Tjelesna masa	96,7	35,1	52,0	167,0	36,3
Visina grebena	62,5	8,1	50,0	77,0	13,0
Visina križa	71,0	8,2	60,0	92,0	11,6
Visina korijena repa	59,0	6,2	50,0	70,0	10,5
Duljina trupa	99,5	13,0	80,5	123,0	13,0
Širina prsa	28,6	3,3	22,0	34,0	11,6
Opseg prsa	105,2	18,9	58,0	134,0	18,0
Opseg abdomena	108,3	20,6	53,0	150,0	19,0
Duljina zdjelice	27,9	4,0	22,0	36,0	14,2
Širina zdjelice	21,6	4,4	14,0	34,0	20,4
Širina sjednih kvrga	19,9	21,7	10,0	113,0	108,9
Visina prednjih nogu	32,1	3,8	26,0	41,0	11,9
Visina stražnjih nogu	38,2	4,1	31,0	45,0	10,7
Opseg prednje cjevanice	17,6	1,8	15,0	21,0	10,1
Opseg stražnje cjevanice	17,3	1,6	15,0	21,0	9,5

Tablica 9. Tjelesna masa (kg) i morfometrijske osobine trupa i ekstremiteta nerastića banijske šare (cm)

	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Koeficijent varijabilnosti
Tjelesna masa	74,8	13,7	55,0	85,0	18,4
Visina grebena	61,0	2,9	58,0	64,0	4,8
Visina križa	68,0	0,0	68,0	68,0	0,0
Visina korijena repa	54,8	1,7	53,0	57,0	3,1
Duljina trupa	95,0	5,0	90,0	101,0	5,2
Širina prsa	25,3	0,6	25,0	26,0	2,3
Opseg prsa	99,1	7,6	88,0	105,0	7,7
Opseg abdomena	91,4	21,1	60,0	105,0	23,0
Duljina zdjelice	27,9	1,0	26,5	29,0	3,7
Širina zdjelice	19,8	2,1	17,0	22,0	10,4
Širina sjednih kvrga	14,5	1,3	13,0	15,5	9,1
Visina prednjih nogu	30,8	2,8	28,0	34,0	9,0
Visina stražnjih nogu	37,0	2,2	35,0	40,0	5,8
Opseg prednje cjevanice	16,8	0,5	16,0	17,0	3,0
Opseg stražnje cjevanice	16,4	1,0	15,0	17,5	6,3

Prosječna tjelesna masa nazimica iznosila je 96,7 kg s velikim odstupanjem najmanje i najveće izmjerene vrijednosti (115 kg). Kod nerastića je u isto vrijeme utvrđena prosječna tjelesna masa od 74,8 kg sa znatno manjim razlikama između najmanje i najveće izmjerene

vrijednosti (30 kg). Kod nazimica su utvrđene veće prosječne vrijednosti za svojstva visine grebena (62,5 cm ili +1,5 cm), visine križa (71 cm ili +3 cm), visine korijena repa (59 cm ili +4,2 cm) te duljine trupa (99,5 cm ili +4,5 cm) u odnosu na nerastiće. Nadalje, kod nazimica su utvrđene i veće prosječne vrijednosti tjelesnih mjera prsa, zdjelice i ekstremiteta u odnosu na nerastiće ali i uz veću varijabilnost istih. Rezultati morfometrijskih osobina na glavi (duljina i širina glave, duljina i širina nosa, te duljina i širina uški) kao i vrijednosti duljine repa kod različitih kategorija svinja BŠ prikazani su u tablicama od 10 do 13.

Tablica 10. Morfometrijske osobine (cm) glave i uški krmača banijske šare

	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Koeficijent varijabilnosti
Duljina glave	31,1	3,7	15,0	34,5	11,9
Širina glave	16,1	3,8	13,0	35,0	23,3
Širina nosa	7,3	0,6	6,0	8,0	8,0
Duljina nosa	17,1	2,9	13,0	29,0	17,2
Duljina uške	27,5	2,8	21,0	35,0	10,4
Širina uške	21,2	2,2	18,0	29,0	10,2
Duljina repa	31,8	7,3	15,0	50,0	23,0

Tablica 11. Morfometrijske osobine (cm) glave i uški nerasta banijske šare (cm)

	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Koeficijent varijabilnosti
Duljina glave	33,6	5,8	25,0	44,0	17,23
Širina glave	15,3	2,3	12,0	20,0	15,3
Širina nosa	7,0	1,4	6,0	8,0	20,2
Duljina nosa	17,8	3,7	11,5	23,0	21,0
Duljina uške	27,9	4,1	21,0	34,0	14,6
Širina uške	21,1	3,1	15,0	26,0	14,6
Duljina repa	36,5	7,7	27,0	53,0	21,0

Tablica 12. Morfometrijske osobine (cm) glave i uški nazimica banijske šare

	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Koeficijent varijabilnosti
Duljina glave	27,9	3,0	23,0	33,0	10,7
Širina glave	13,3	1,4	10,0	16,0	10,2
Širina nosa	6,1	1,1	4,5	8,0	18,7
Duljina nosa	14,7	1,8	11,5	18,0	12,5
Duljina uške	24,2	3,7	19,0	30,0	15,5
Širina uške	17,7	2,5	10,6	22,0	14,2
Duljina repa	26,3	6,0	14,0	38,0	22,8

Tablica 13. Morfometrijske osobine (cm) glave i uški nerastića banijske šare

	Prosječna vrijednost	Standardna devijacija	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	Koeficijent varijabilnosti
Duljina glave	27,8	1,0	27,0	29,0	3,5
Širina glave	21,0	9,9	14,0	28,0	47,1
Širina nosa	6,0	0,0	6,0	6,0	0,0
Duljina nosa	15,6	1,4	13,5	16,5	9,2
Duljina uške	22,8	2,9	19,0	26,0	12,6
Širina uške	19,1	1,3	18,0	21,0	6,9
Duljina repa	28,6	4,8	23,5	35,0	16,8

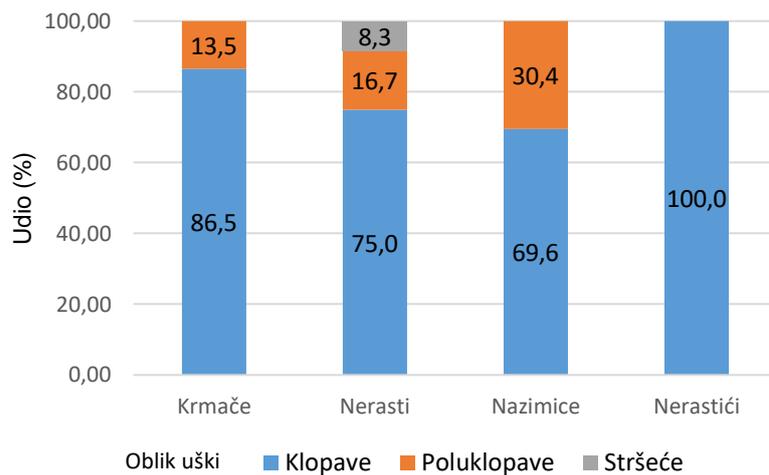
Prosječne vrijednosti duljine glave kod krmača iznosile su 31,1 cm dok je prosječna širina glave bila 16,1 cm. U isto vrijeme kod nerasta su izmjerene veće prosječne vrijednosti za navedena svojstva (33,6 cm za duljinu i 15,3 cm za širinu glave). Kod krmača je utvrđena nešto veća prosječna širina nosa (+0,3 cm) i manja duljina nosa u odnosu na neraste (-0,7 cm). Prosječne vrijednosti mjera na uškama (duljina i širina uške) su bile približno jednake kod krmača i nerasta uz tek neznatno veću vrijednost za duljinu uške kod nerasta (27,9 cm prema 27,5 cm).

Nadalje, rezultati morfometrijskih osobina glave kod nazimica i nerastića pokazuju približno iste vrijednosti za duljinu glave i širinu nosa, dok su kod nerastića utvrđene veće vrijednosti za svojstva širine glave (21 cm prema 13,3 cm), duljina nosa (15,6 cm prema 14,7 cm), duljina uške (24,2 cm prema 22,8 cm) i širine uške (19,1 cm prema 17,7 cm). Izmjerene vrijednosti duljine repa bile su veće kod muških kategorija (nerasti i nerastići) u odnosu na ženske kategorije (krmače i nazimice).

4.2. OBILJEŽJA VANJŠTINE

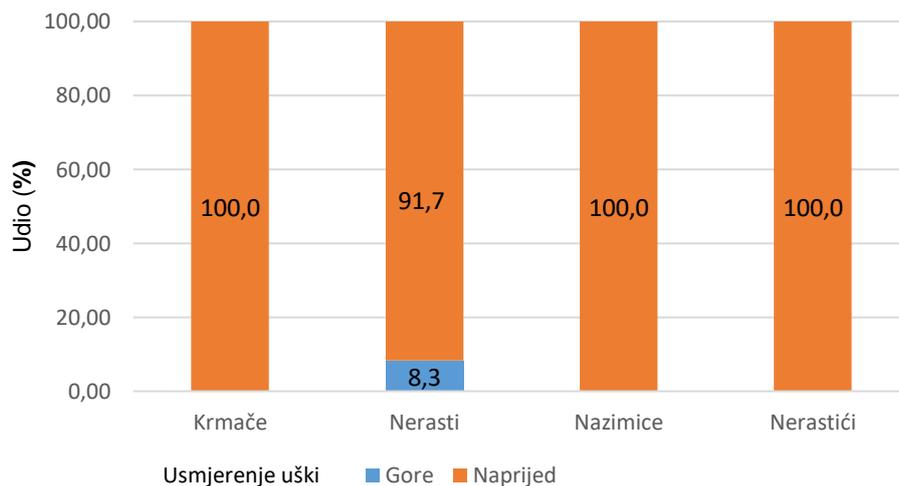
Na promatranj populaciji svih kategorija svinja BŠ (krmače, nerasti, nazimice i nerastići) analizirana su obilježja vanjštine (položaj uški, usmjerenje uški, izgled leđne linije, nosni profil, duljina dlake, pigmentiranost papaka i sluznice, prisutnost lise na glavi, boja svijetle dlake, tip repa i udio pigmentiranosti uški) karakteristična za ovu pasminu.

S obzirom na položaj uški, kod najvećeg broja analiziranih jedinki utvrđene su klopave uške, zatim po učestalosti slijede poluklopave uške dok su stršeće uške utvrđene samo kod jedne muške jedinke (nerast). Kod krmača udio jedinki s klopavim uškama iznosio je 86,49%, kod nerasta 75%, kod nazimica 69,57% dok su svi nerastići imali klopave uške (grafikon 4).



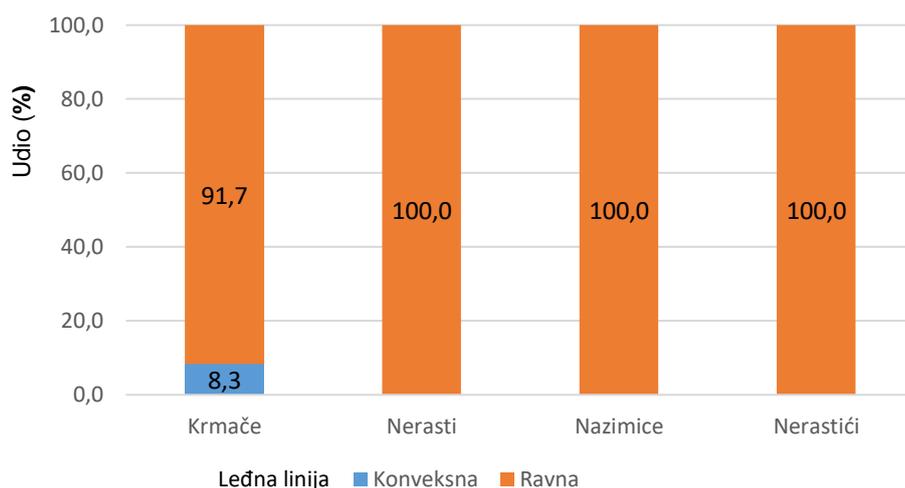
Grafikon 4. Zastupljenost pojedinih oblika položaja uški kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)

Sve analizirane jedinke BŠ imale su prema naprijed usmjerene uške osim jednog nerasta koji je imao gore usmjerene uške (grafikon 5).



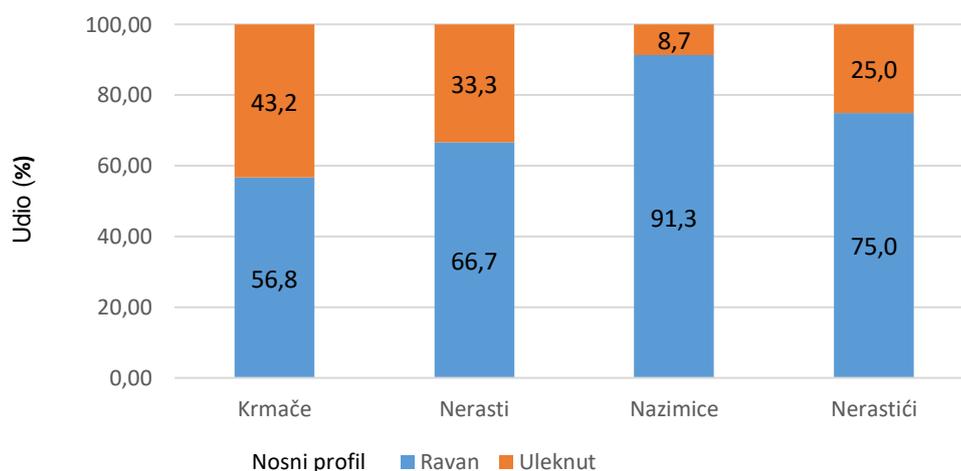
Grafikon 5. Zastupljenost pojedinih oblika usmjerenja uški kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)

S obzirom na izgled leđne linije kod 91,7% krmača i kod svih ostalih kategorija (nerasti, nazimice, nerastići) je utvrđena ravna leđna linija. Konveksna leđna linija utvrđena je samo kod 8,3% krmača (grafikon 6).



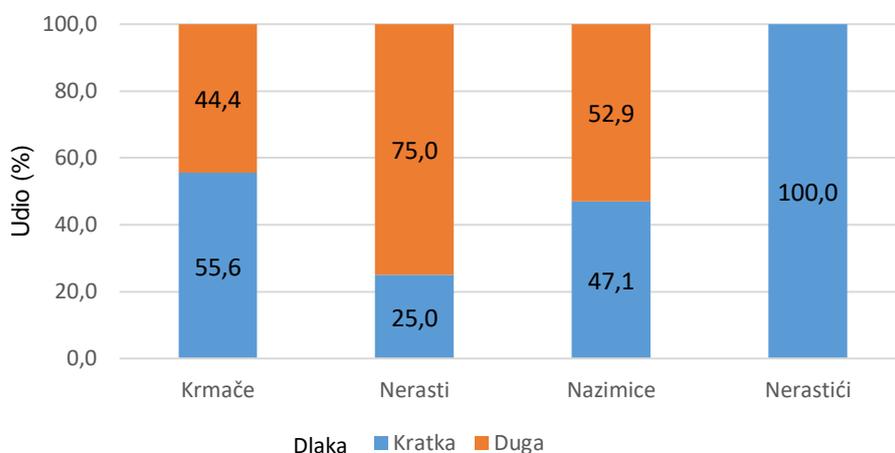
Grafikon 6. Zastupljenost pojedinih oblika leđne linije kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)

S obzirom na izgled nosnog profila kod svinja BŠ utvrđen je ravan nosni profil kod 56,8% krmača, 66,7% nerasta, 75% nerastića i čak 91,3% nazimica. S druge pak strane najveći broj jedinki s uleknutim nosnim profilom zabilježen je kod krmača 43,2%, zatim slijede nerasti 33,0% i nerastići 25,0% dok je svega 8,7% nazimica imalo uleknuti nosni profil (grafikon 7).



Grafikon 7. Zastupljenost pojedinih oblika nosnog profila kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)

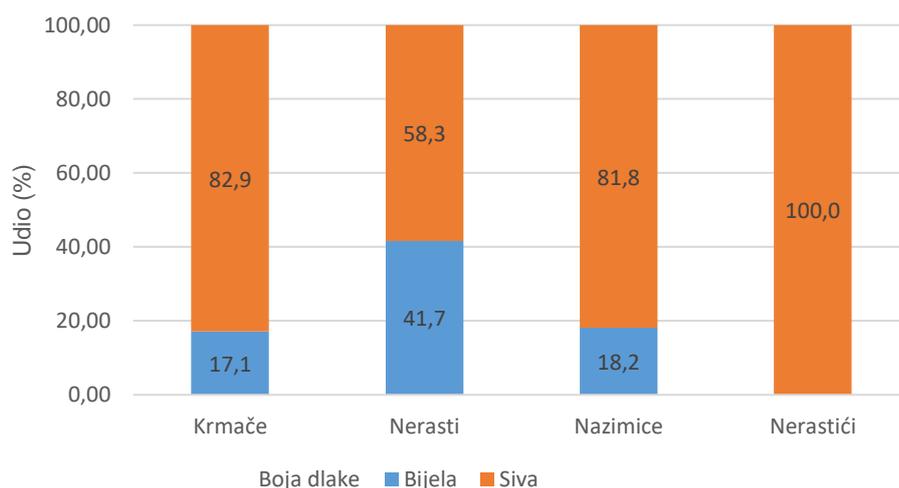
Kratka dlaka utvrđena je u 55,6% krmača, 25% nerasta, 47,1% nazimica te kod svih nerastića (grafikon 8). Nasuprot tome dugu dlaku je imalo 44,4% krmača, 75% nerasta, 52,9% nazimica i 44,4% krmača, dok kod nerastića nije zabilježena prisutnost duge dlake.



Grafikon 8. Zastupljenost kratke i duge dlake kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)

Prisutnost tamnog pigmenta na papcima utvrđena je kod 52,8% krmača, 8,3% nerasta, 26,1% nazimica i kod 75% nerastića. Nadalje, pigmentacija sluznica utvrđena je kod 52,8% krmača, 16,7% nerasta, 30,4% nazimica i 50% nerastića, a prisutnost lise (bijelo polje na čeonom i nosnom dijelu) na glavi utvrđena je kod samo kod 22,2% krmača, 8,3% nerasta i 9,1% nazimica.

Prisutnost sive nijanse na svijetlo obojanim dijelovima tijela utvrđena je kod 82,9% krmača, 58,3% nerasta, 81,8% nazimica i kod svih analiziranih nerastića (grafikon 9). S druge pak strane bijela nijansa svijetle boje dlake utvrđena je kod 41,7% nerasta 17,1% krmača i 18,2% nazimica.



Grafikon 9. Zastupljenost nijansi svijetle boje dlake kod različitih kategorija svinja banijske šare (%)

Analizirajući izgled repa kod različitih kategorija svinja BŠ utvrđeno je da ravan rep je prisutan kod 52,8% krmača, 58,3% nerasta i 36,4% nazimica (grafikon 9). Svi analizirani nerastići kao i 63,6% nazimica te 41,7% nerasta i 47,2% krmača imali su zavrnut rep.

Analizom digitalnih slika 25 odraslih jedinki BŠ svinje pomoću ImageJ softvera utvrđena je prosječna prekrivenost tijela šarama crne boje. Crne šare zauzimale su prosječno 51,9% površine tijela dok je 48,1% površine tijela bilo bijele boje. Kod 32% jedinki utvrđena je prisutnost crnih šara na manje od 1/3 površine tijela. Više od 1/3 i manje od 2/3 tijela prekrivenog crnim šarama utvrđeno je kod 36% jedinki, dok je njih 32% imalo crne šare na više od 2/3 površine tijela (tablica 14).

Tablica 14. Broj i udio (%) odraslih jedinki banijske šare svinje s obzirom na prisutnost crnih šara u ukupnoj površini tijela

Prisutnost šara na tijelu	broj jedinki	%
<1/3	8	32,0
od 1/3 do 2/3	9	36,0
> 2/3	8	32,0

Nadalje, odsutnost crnog pigmenta ili potpuno bijele uške utvrđene su samo na 11,7% analiziranih jedinki dok je kod njih 88,3% pigment bio prisutan na najmanje jednoj uški. S time da je kod svih nerastića i nazimica bila prisutna obojenost barem jedne uške. Kod 66,7% nerasta na lijevoj uški te kod 50% nerasta na desnoj uški nije utvrđena prisutnost pigmenta. Kod 21,6% krmača nije utvrđena prisutnost pigmenta bilo na lijevoj ili desnoj uški.

Rezultati obojenosti uški s obzirom na površinu uške koja je obuhvaćena pigmentacijom kod različitih kategorija svinja BŠ prikazani su u tablici 15.

Tablica 15. Prisutnost crnog pigmenta na lijevoj ili desnoj uški kod različitih kategorija svinja banijske šare

<i>Lijeva uška</i>	Nema pigmenta	Obojanost površine uške		
		1/3	2/3	3/3
Krmače	21,6	13,5	21,6	43,3
Nerasti	66,7	25,0	8,3	0,0
Nazimice	0,00	17,4	17,4	65,2
Nerastići	25,0	25,0	25,0	25,0
<i>Desna uška</i>	Nema pigmenta	1/3	2/3	3/3
Krmače	21,6	16,2	27,1	35,1
Nerasti	50,0	8,3	16,7	25,0
Nazimice	8,7	21,8	39,1	30,4
Nerastići	0,0	50,0	50,0	0,0

Više od 1/3 obojene uške utvrđeno je kod 64,9% krmača za lijevu odnosno 62,2% krmača za desnu ušku. Kod nazimica udio jedinki kod kojih je crnim pigmentom obuhvaćeno više od 1/3 lijeve uške iznosio 82,6%, a udio jedinki s više 1/3 pigmentirane desne uške iznosio 69,5%. Najmanja površina uške obuhvaćena crnim pigmentom uočena je kod nerastića bez obzira radi li se o lijevoj ili desnoj uški (50% nerastića nema pigmentirane uške ili je pigmentom obuhvaćena manje od 1/3 površine uške).

4.3. PLODNOST SVINJA BANIJSKE ŠARE

Analizom ukupno 184 legala BŠ svinje utvrđeno je prosječna veličina legla od 8,4 ukupnooprasene (UO) odnosno 7,5 živooprasene (ŽO) prasadi. Pri tome sva analizirana legla su bila od 1. do 4. legla. Analizirajući odnos spolova, utvrđen je nešto veći broj ŽO ženske prasadi (3,9) u odnosu na muške (3,6). U odnosu na BŠ kod ostale dvije izvorne pasmine svinja u RH, TS i CS utvrđene su statistički značajno manje vrijednosti svih promatranih pokazatelja plodnosti ($P < 0,05$). Tako je kod CS analizom ukupno 18228 legala utvrđeno prosječno 6,5 UO i 5,9 ŽO što je bilo značajno više ($P < 0,05$) u odnosu na 5,4 UO i 5,0 ŽO dobivenih analizom 1174 legala turopoljske svinje. Također i kod ove dvije izvorne pasmine svinje bilo je više ŽO ženskih u odnosu na ŽO muške.

Tablica 16. Pokazatelji plodnosti banijske šare u odnosu na turopoljsku i crnu slavonsku svinju

Pokazatelj*	BŠ	CS	TS
	LSM ± SE		
<i>Ukupno opraseno</i>	8,5±0,19	6,5±0,12	5,4±0,14
<i>Živo opraseno</i>	7,5±0,20	5,9±0,13	5,0±0,14
<i>Mrtvoopraseno</i>	1,0±0,13	0,6±0,08	0,4±0,09
<i>Živoopraseno muško</i>	3,6±0,14	2,9±0,08	2,4±0,09
<i>Živoopraseno žensko</i>	3,9±0,14	3,1±0,08	2,6±0,10

LSM±SE –srednja vrijednost procijenjena metodom najmanjih kvadrata ± standardna greška, BŠ - banijska šara, CS - crna slavonska, TS - turopoljska pasmina

* za sva promatrana svojstva utvrđena je statistički značajna razlika između pasmina kod $P < 0,05$.

4.4. POLIMORFIZAM ESR1 I RBP4 GENA TE NJIHOV UTJECAJ NA SVOJSTVA VELIČINE LEGLA

Na 25 krmača BŠ svinje provedena je genotipizacija ESR1 i RBP4 gena. Frekvencije pojedinih genotipova i alela za navedene marker gene prikazani su u tablici 17.

Tablica 17. Frekvencija genotipova i alela za ESR1 i RBP4 gen kod svinja banijske šare

Gen	n	Frekvencija genotipova			Frekvencija alela	
		AA	AB	BB	A	B
ESR1	25	0,60	0,36	0,04	0,78	0,22
RBP4	25	0,24	0,32	0,44	0,40	0,60

Frekvencija genotipova za oba istraživana marker gena ne pokazuje značajno odstupanje od Hardy-Weibergove ravnoteže ($P < 0,01$). Za ESR1 gen je karakterističan visoki udio alela A (0,78) odnosno visoki udio homozigotnih jedinki AA (0,60) i heterozigota AB (0,36) dok je samo kod jedne jedinke utvrđen genotip BB (0,04).

Analiza polimorfizma RBP4 gena pokazuje prevladavajuću prisutnost alela B (0,60) te najveći udio BB genotipova (0,44). Po učestalosti zatim slijede heterozigoti (0,32) dok je najmanje utvrđeno AA homozigotnih jedinki.

Utjecaj polimorfizma ESR1 gena na svojstva veličine legla prikazani su u tablici 18. Rezultati su prikazani samo za 1. leglo te za 2. i više leglo zasebno.

Tablica 18. Utjecaj ESR1 genotipa na svojstva veličine legla krmača banijske šare

<i>Red.br. legla</i>	<i>Genotip</i>	<i>Ukupno opraseno (UO) LSM ± SE</i>	<i>Živoopraseno (ŽO) LSM ± SE</i>
1. leglo	AA	7,15±0,65	6,45±0,84
	AB	6,24±0,68	5,84±0,89
	BB	7,66±1,88	7,53±2,44
2. leglo i više	AA	8,48±0,51	7,35±0,45
	AB	8,49±0,52	7,55±0,46
	BB	9,77±1,38	8,64±1,23

LSM±SE –srednja vrijednost procijenjena metodom najmanjih kvadrata ± standardna greška

Kao što je vidljivo iz tablice 18. krmače genotipa BB su u 1. leglu imale su prosječno najveći broj UO prasadi (7,66), zatim slijede krmače AA genotipa (7,15) dok su heterozigotne krmače AB imale najmanji broj UO (6,24) no navedene vrijednosti nisu bile statistički značajne ($P>0,05$). Sličan trend se opaža i kod 2. i viših legala kod kojih je vidljivo povećanje broja UO i ŽO kod sva tri promatrana genotipa ESR1 gena.

Utjecaj RBP4 genotipa na broj UO i ŽO u 1. leglu kao i skupno za 2. – 4. leglo prikazan je u tablici 19. Statistički značajan utjecaj ($P<0,05$) utvrđen je za broj UO prasadi u prvom leglu. Pri tome je najmanji broj prasadi utvrđen kod prvopraskinja AA genotipa (5,54), dok je značajno veći broj UO utvrđen kod heterozigotnih jedinki (7,68). Utjecaj RBP4 genotipa na broj UO kao i ŽO kod 2. i viših legala nije utvrđen.

Tablica 19. Utjecaj RBP4 genotipa na svojstva veličine legla

<i>Red.br. legla</i>	<i>Genotip *</i>	<i>Ukupno opraseno (UO) LSM ± SE</i>	<i>Živoopraseno LSM ± SE</i>
1. leglo	AA	5,54±0,71 a	5,62±1,03
	AB	7,68±0,69 b	6,79±1,00
	BB	7,26±0,65 a,b	5,29±0,94
2. legla i više	AA	8,61±0,85	7,15±0,75
	AB	8,51±0,73	7,23±0,64
	BB	8,62±0,49	7,74±0,43

LSM±SE –srednja vrijednost procijenjena metodom najmanjih kvadrata ± standardna greška,

* Vrijednosti označene različitim slovom predstavljaju značajne razlike između prosjeka grupa; $P<0,05$

4.5. GENETSKA RAZNOLIKOST I STRUKTURA POPULACIJE

4.5.1. Genotipizacija s 24 MS markera

Za potrebe definiranja genetske raznolikosti banijske šare svinje i njene diferencijacije u odnosu na ostale izvorne i plemenite pasmine svinja u Hrvatskoj napravljena je analiza genetske varijabilnosti i usporedbe s ostale dvije izvorne pasmina svinja, turopoljskom (T) i crnom slavonskom (CS) svinjom, te plemenitim pasminama svinja koje se uzgajaju u Republici Hrvatskoj, landrasom (L), velikim jorkširom (J), durokom (D) i pietrenom (P).

Tablica 20. Statistički podaci za set 24 MS markera

	N	NA	Ho	He	Fis	PIC
BŠ	155	7,36	0,60248	0,64072	0,08691	0,60188
CS	84	7,04	0,66088	0,66988	0,07611	0,62092
T	20	2,92	0,342	0,37424	0,08830	0,32084
L	19	4,48	0,55728	0,59316	0,06196	0,53128
J	14	4,76	0,62572	0,63364	0,01180	0,56188
D	9	3,12	0,51788	0,51212	-0,01172	0,42464
P	14	4,48	0,50668	0,60208	0,16308	0,53556

Broj genotipiziranih uzoraka (N), broj alela po lokusu (NA), opažena (Ho) i očekivana (He) heterozigotnost, sadržaj polimorfnih informacija (PIC), Fis - Wrightov fiksacijski indeks (koeficijent inbridinga); (*Genetics 4.02*; *Cervus 3.0.7.*). Prikazane su prosječne vrijednosti za svih 16MS lokusa po svakoj pasmini. BŠ - banijska šara svinja, CS - crna slavonska svinja, T - turopoljska svinja, L - landras; J - veliki jorkšir; D - durok; P – pietren

Broj genotipiziranih uzoraka (N), prosječni broj alela po MS lokusu (NA), opažena (Ho) i očekivana (He) heterozigotnost, sadržaj polimorfnih informacija (PIC) i koeficijent inbreedinga Fis za sedam istraživanih populacija svinja prikazani su u tablici 20 (N=315). Prosječni broj alela po lokusu bio je najviši kod BŠ (7,36), a najniži kod T (2,92). Opažena (Ho) heterozigotnost kod BŠ bila je 0,60248, najniža kod T (0,342), a najviša kod J (0,7221). Slične vrijednosti su zabilježene za He, najniže opet kod T (0,37424), najviše kod J (0,7059), i 0,64072 kod BŠ. Koeficijent inbreedinga bio je najviši kod T (0,08830), neznatno niži kod BŠ (0,08691), a najniži kod D (-0,01172).

Tablica 21. prikazuje srednje vrijednosti Wrightovog indeksa fiksacije F_{st} između populacija, izračunate na temelju alelnih podataka MS lokusa. Najveća genetska diferencijacija utvrđena je za T svinju (0,2868 s BŠ do 0,4652 s D). Za BŠ najniža vrijednost F_{st}

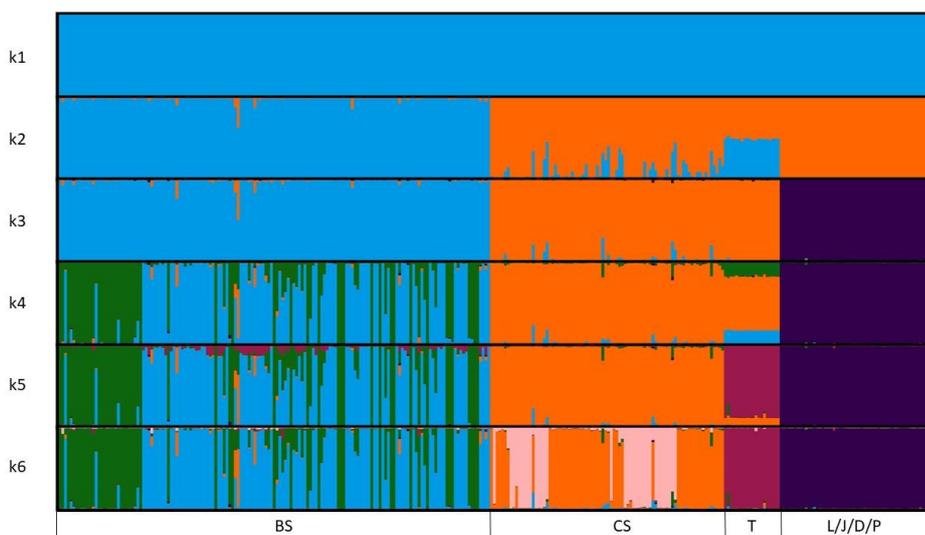
zabilježena je između BŠ i CS (0,1052) dok je najviša iznosila 0,2868 (između BŠ i T). Od plemenitih pasmina najbliže BŠ je landras (0,206), a najudaljeniji pietren (0,2492).

Tablica 21. Genetska diferencijacija populacija

	banijska šara	crna slavonska	turopoljska	landras	v. jorkšir	durok	pietren
banijska šara							
crna slavonska	0,1052						
turopoljska	0,2868	0,2887					
landras	0,206	0,2166	0,3946				
v. jorkšir	0,2001	0,2036	0,4008	0,1036			
durok	0,2337	0,2486	0,4652	0,1964	0,2036		
pietren	0,2492	0,2255	0,4073	0,1545	0,1583	0,2337	

Fst vrijednosti između populacija; *Genpop*.

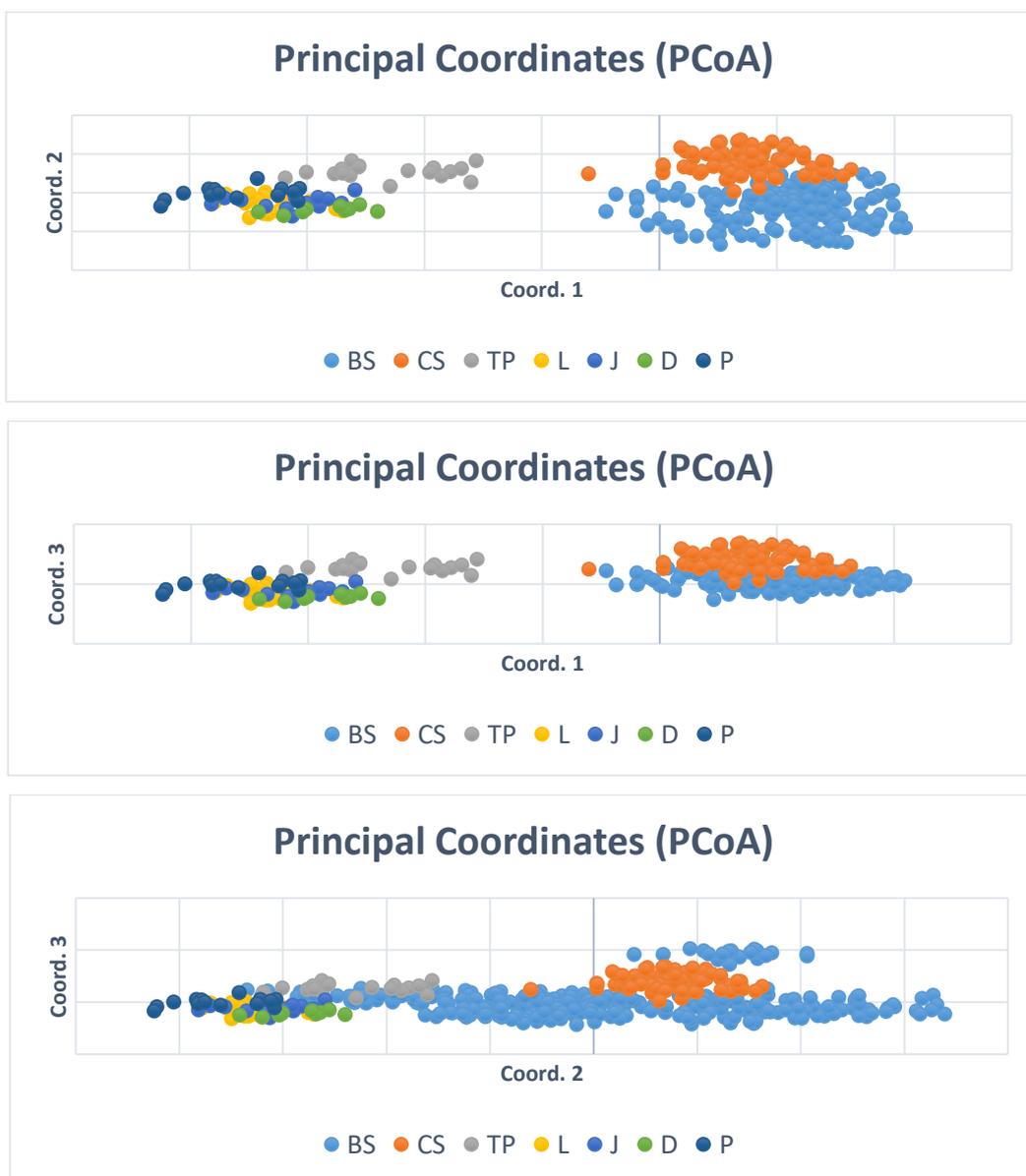
Za analizu strukture populacije i stupnja pomiješanosti ili križanja između pasmina (*en. degree of admixture*) primijenjen je Structure algoritam koji je rezultirao strukturiranjem uzoraka u genetske klastere koji jasno definiraju sve istraživane populacije. Najbolja K vrijednost prema Evannu bila je 3, a struktura populacija mogla se pratiti do vrijednosti K=6. Kod K=6 sve su populacije izvornih pasmina svinja bile jasno definirane. BŠ se razdvajala na dvije subpopulacije od vrijednosti K=4, a crna slavonska svinja se razdvojila u 2 subpopulacije kod vrijednosti K=6. Program kod vrijednosti K=6 ne razdvaja plemenite pasmine svinja (L, J, D i P) već ih spaja u zajednički genetski klaster (tamno ljubičasto, slika br. 12).



Slika 12. Populacijska struktura 7 analiziranih populacija svinja

T- turopoljska svinja; BŠ - banijska šara svinja; CS - crna slavonska svinja; L- landras; J -jorkšir; D - durok; P - pietren.

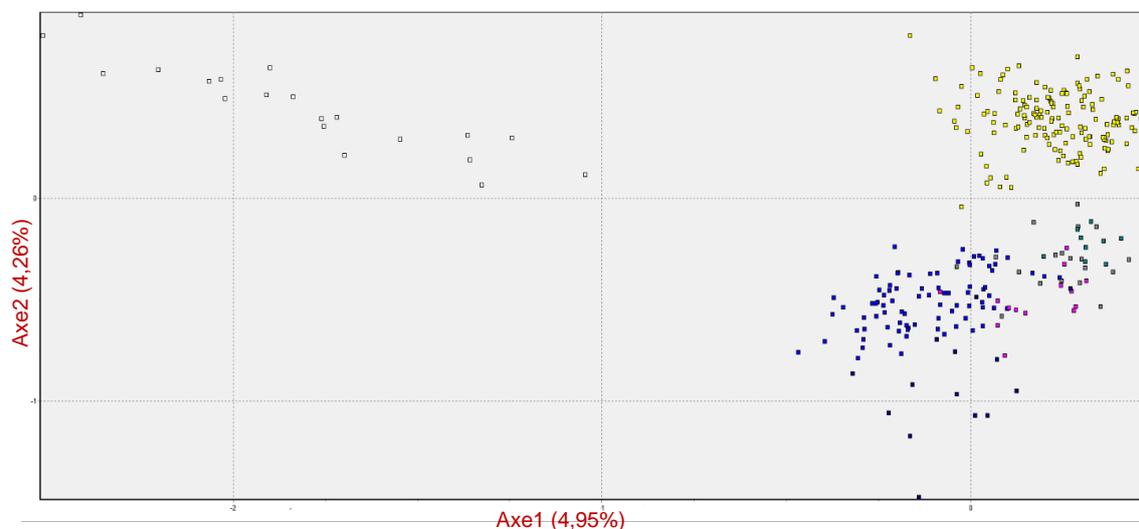
Za prikazivanje genetske udaljenosti između genotipova u koordinatnom prostoru korištena je metoda analize glavnih koordinata (*Principal Coordinates Analysis*; PCoA). Na slici 12. prikazano je PCoA mapiranje genetskih udaljenosti istraživanih uzoraka svinja iz svih 7 populacija, gdje je svaka označena svojom bojom. Prvi prikaz prikazuje udaljenosti uzoraka po koordinatnim osima 1 i 2 koje obuhvaćaju najveći dio genetske raznolikosti. Na drugom prikazu su udaljenosti po osima 1 i 3, a na trećem udaljenosti po osima 2 i 3. BŠ formira svoju odvojenu skupinu koja se najviše približi CS, dok je na trećem prikazu vidljivo da se jednim dijelom približi populacijama ostalih svinja (s jedne strane turopoljskoj svinji, a s druge plemenitim pasminama svinja).



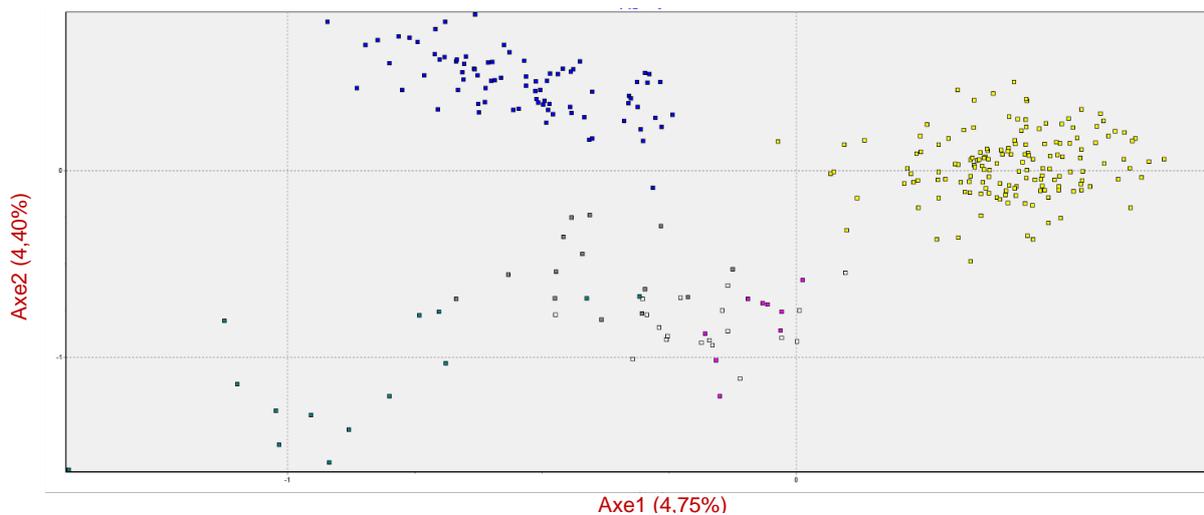
Slika 13. PCoA analiza istraživanih populacija svinja.

Predstavljena je raspodjela genotipova na 3 osi – prvi prikaz: os 1-2; drugi prikaz: os 1-3; treći prikaz: os 2-3.

Na slici 14. je prikazana populacijska struktura analiziranih pasmina svinja u prostoru, izračunata pomoću FCA (*factorial correspondence analysis*) u programu Genetix 4.05.2.



Slika 14. Populacijska struktura izvornih pasmina svinja – turopoljske, crne slavonske, banijske šare i plemenitih pasmina svinja. Populacijska struktura prikazana pomoću FCA (*factorial correspondence analysis*) u programu Genetix. 2D slika prikazuje jasno odvajanje pasmine banijska šara (žuta) od ostalih pasmina. Svaka pasmina svinja označena je svojom bojom kako slijedi: BŠ – žuta, CS – plava; T – bijela; L – siva; D – zelena; J – roza; P – crna.



Slika 15. Populacijska struktura izvornih pasmina svinja (banijske šare i crne slavonske svinje) i plemenitih pasmina svinja. Populacijska struktura prikazana pomoću FCA (*factorial correspondence analysis*) u programu Genetix. Turopoljska svinja je isključena iz analize zbog bolje rezolucije populacijskih odnosa između ostalih pasmina svinja. 2D slika prikazuje jasno odvajanje pasmine banijska šara (žuta) od ostalih pasmina. Svaka pasmina svinja označena je svojom bojom kako slijedi: BŠ – žuta, CS – plava; L – bijela; J – siva; P – zelena; D – roza.



Slika 16. Neighbor joining filogenetsko stablo pasmina svinja na osnovi genetske udaljenosti između pojedinih uzoraka (*Nei's D_A genetic distance*). Populacije su prikazane različitim bojama: landras - roza, veliki jorkšir – zelena, durok – smeđa, pietren – žuta, banijska šara svinja – svijetlo i tamno plava, turopoljska svinja - crna, crna slavonska svinja – tirkizno zelena.

2D slika prikazuje jasno odvajanje pasmine BŠ od ostalih pasmina. Kao i u programu Structure i u PCoA analizi, može se primijetiti da je jednim dijelom bliže CS svinji dok se jedan dio populacije BŠ svinje više približi komercijalnim pasminama (najviše landrasu i duroku). Za prikaz filogenetskih odnosa između analiziranih uzoraka svinja svih 7 istraživanih pasmina korišten je matiks genetskih udaljenosti po Nei-u (*Nei's DA genetic distance*) kao osnova za konstrukciju Neighbor joining filogenetskog stabla (slika 16.) u programu Populations 1.2.31. Svaka od izvornih pasmina svinja (T i CS) u dendrogramu je zastupljena sa svojim odvojenim klasterom, dok je populacija BŠ svinje podijeljena u dva klastera, na slici predstavljena svijetlo i tamno plavom bojom. Poseban klaster pripada plemenitim svinjama koje se unutar njega grupiraju u subklaster. Subklasteri odgovaraju pojedinim pasminama plemenitih svinja i na slici su označeni svaki svojom bojom.

4.5.2 Genotipizacija sa 16 MS markera

Broj genotipiziranih uzoraka po pasmini (N), prosječni broj alela po MS lokusima (NA), opažena (H_o) i očekivana (H_e) heterozigotnost, sadržaj polimorfnih informacija (PIC) i Fis

(inbreeding koeficijent) za sedam istraživanih populacija izvornih i komercijalnih svinja prikazani su u tablici 22.

Tablica 22. Statistički podaci za set 16 MS markera

	N	NA	Ho	He	Fis	PIC
BŠ	127	7,1875	0,6349	0,6566	0,03317	0,6123
CS	163	8,750	0,6429	0,7018	0,08417	0,6619
T	76	4,313	0,3690	0,3787	0,02598	0,3390
L	98	6,875	0,6274	0,6696	0,06334	0,6181
J	47	5,875	0,7221	0,7059	0,02316	0,7120
D	38	4,5	0,5708	0,5408	0,05606	0,4870
P	29	5,625	0,6149	0,6509	0,05630	0,6001

Broj genotipiziranih uzoraka (N), broj alela po lokusu (NA), opažena (Ho) i očekivana (He) heterozigotnost, sadržaj polimorfnih informacija (PIC), Fis - koeficijent inbridinga; (*Genetics* 4.02; *Cervus* 3.0.7.). Prikazane su prosječne vrijednosti za svih 16MS lokusa po svakoj pasmini. BŠ - banijska šara svinja, CS - crna slavonska svinja, T - turopoljska svinja, L -landras; J - veliki jorkšir; D - durok; P – pietren

Prosječni broj alela po lokusu kretao se od 4,313 (turopoljska svinja) do 8,75 (crna slavonska svinja). Kod BŠ svinje prosječni broj alela po MS lokusu bio je 7,18. Opažena (Ho) heterozigotnost kod BŠ bila je 0,6349, očekivana (He) heterozigotnost 0,6566, dok su najniže vrijednosti zabilježene kod turopoljske svinje (Ho 0,369; He 0,3787), a najviše kod velikog jorkšira (Ho 0,7221; He 0,7059). PIC vrijednost se kretala u rasponu od 0,339 kod T do 0,7120 kod velikog jorkšira. Najviša Fis vrijednost (koeficijent inbreedinga) iznosila je 0,08417 kod CS svinje, a najniža 0,02316 kod velikog jorkšira.

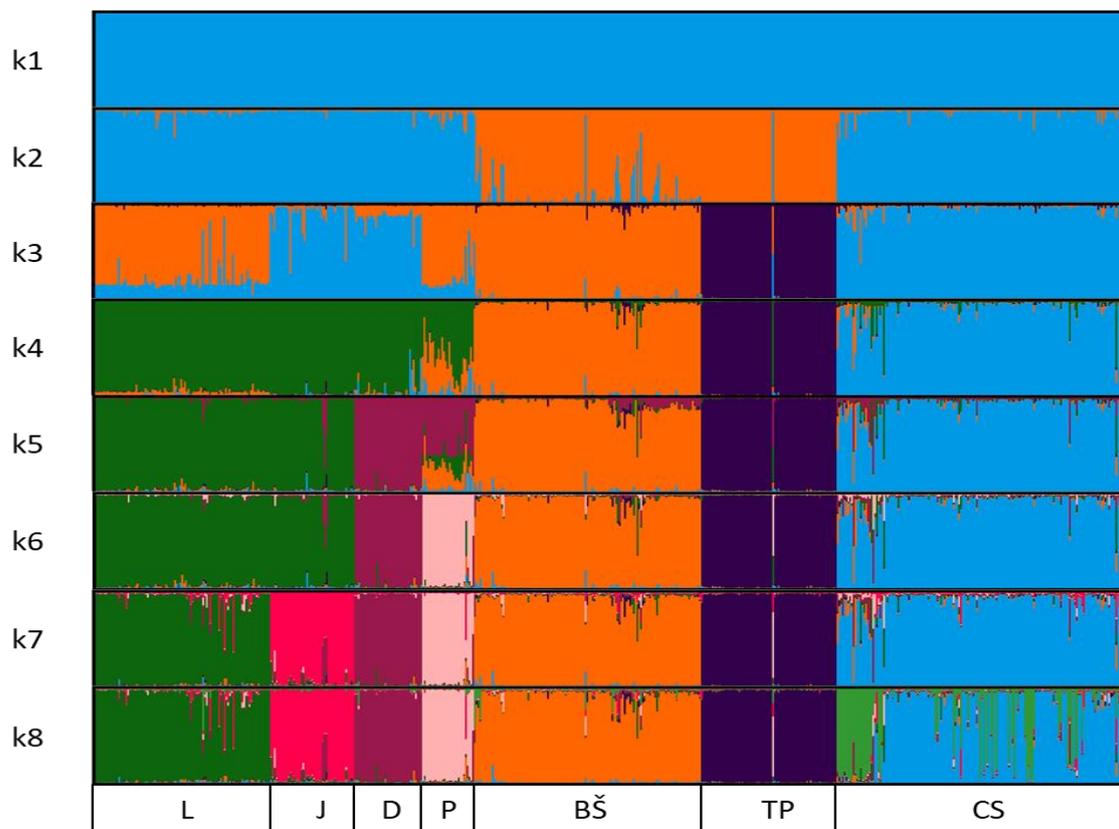
Tablica 23. prikazuje srednje vrijednosti Wrightovog indeksa fiksacije Fst između populacija, izračunane na temelju alelnih podataka istraživanih populacija svinja na 16 MS lokusa. Najveća genetska diferencijacija utvrđena je za T svinju (0,2722 sa CS do 0,423 s D). Za BŠ najniža vrijednost Fst zabilježena je između BŠ i L (0,0878) dok je najviša iznosila 0,3112 (između BŠ i T). Od plemenitih pasmina najbliže joj je landras (0,0878), a najudaljeniji durok (0,1531). Vrijednost indeksa fiksacije između BŠ i CS kao najbliže od izvornih pasmina svinja iznosila je 0,1079.

Tablica 23. Genetska diferencijacija populacija

	landras	v. jorkšir	durok	pietren	banijska šara	turopoljska	crna slavonska
landras	0						
v. jorkšir	0,0951	0					
durok	0,1734	0,1627	0				
pietren	0,1222	0,1428	0,2156	0			
banijska šara	0,0878	0,1452	0,1531	0,1278	0		
turopoljska	0,3213	0,3515	0,423	0,3593	0,3112	0	
crna slavonska	0,09759	0,1096	0,1392	0,1114	0,1079	0,2722	0

Fst vrijednosti između populacija; *Genpop*.

Analiza genetske strukturiranosti populacija koristila je Structure algoritam koji je rezultirao strukturiranjem uzoraka u genetske klastere (slika 17). Kod vrijednosti $k=8$ jasno definiraju svih sedam istraživanih populacija. Uzorci su uključivali hrvatske izvorne pasmine svinja (TP - turopoljska svinja; BŠ - banijska šara svinja; CS - crna slavonska svinja) i plemenite pasmine svinja u Hrvatskoj (L-landras; J - veliki jorkšir; D - durok; P - pietren). Najbolja K vrijednost prema Evannu bila je 8. Kod $K=8$ sve su populacije bile jasno definirane.

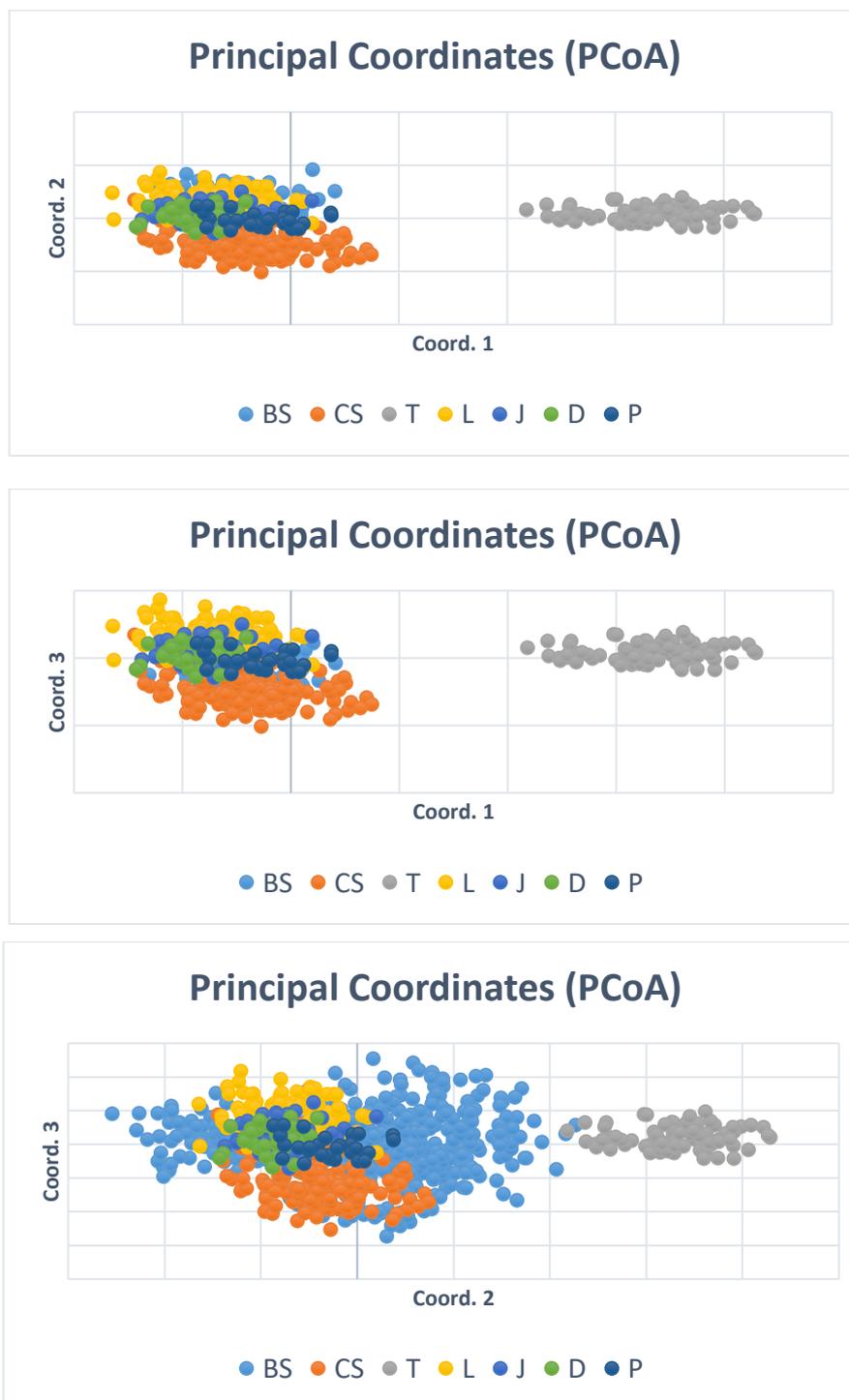


Slika 17. Populacijska struktura 7 analiziranih populacija svinja. TP - turopoljska svinja; BŠ - banijska šara svinja; CS - crna slavonska svinja; L - landras; VJ – veliki jorkšir; DU - durok; P - pietren

BŠ svinja se od ostalih pasmina svinja počinje odvajati kod vrijednosti $K=4$, odmah iza T svinje. Kod visokih K - vrijednosti više se ne primjećuje razdvajanje populacije na 2 subpopulacije.

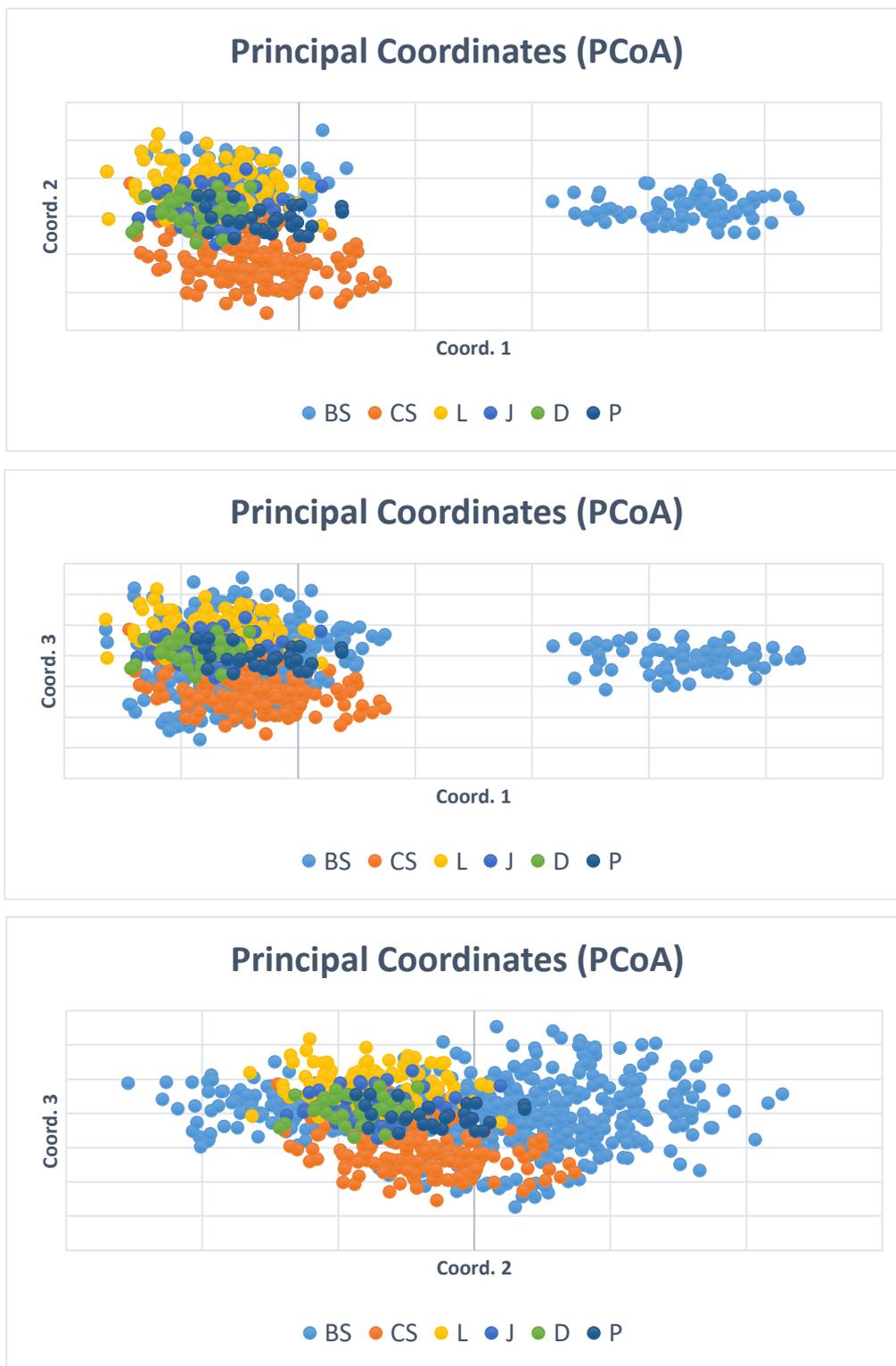
Slika 18. prikazuje PCoA mapiranja genetskih udaljenosti istraživanih uzoraka svinja iz svih 7 populacija, koja je svaka označena svojom bojom (program GenAlEx 6.5b3). Prvi prikaz prikazuje udaljenosti uzoraka po koordinatnim osima 1 i 2 koje obuhvaćaju najveći dio genetske raznolikosti. Na drugom prikazu su udaljenosti po osima 1 i 3, a na trećem udaljenosti po osima 2 i 3. BŠ se nalazi u skupini sa CS svinjom i plemenitim pasminama svinja. Ipak, odvajanje od tih populacija može se primijetiti u trećem prikazu genetskih udaljenosti po osima 2 i 3 gdje je veći dio populacije odvojen od CS svinje i od plemenitih pasmina, a jednim dijelom se približi populaciji T svinje (Slika 18). Zbog velikog genskog pomaka (*genetic drift*) turopoljske svinje od ostalih istraživanih pasmina svinja međusobni odnosi tih populacija slabije se razlučuju, pa je analiza ponovljena, ali bez T svinje (slika 19). Vidimo da se populacija BŠ svinje dijeli na 2 skupine. Dio populacije BŠ formira svoju odvojenu genetsku skupinu, a dio populacije se u slici 19., prvi prikaz prikazuje udaljenosti uzoraka po koordinatnim osima 1 i 2 koje obuhvaćaju najveći dio genetske raznolikosti. Na drugom prikazu su udaljenosti po osima 1 i 3, a na trećem udaljenosti po osima 2 i 3. prva

dva prikaza prekriva s plemenitim pasminama svinja i CS svinjom. U trećem prikazu po osima 2 i 3 populacija BŠ pokriva šire područje po osi 2. Veći dio populacije je odvojen od ostalih pasmina svinja, dok se manji preklapa s plemenitim pasminama svinja i CS svinjom.



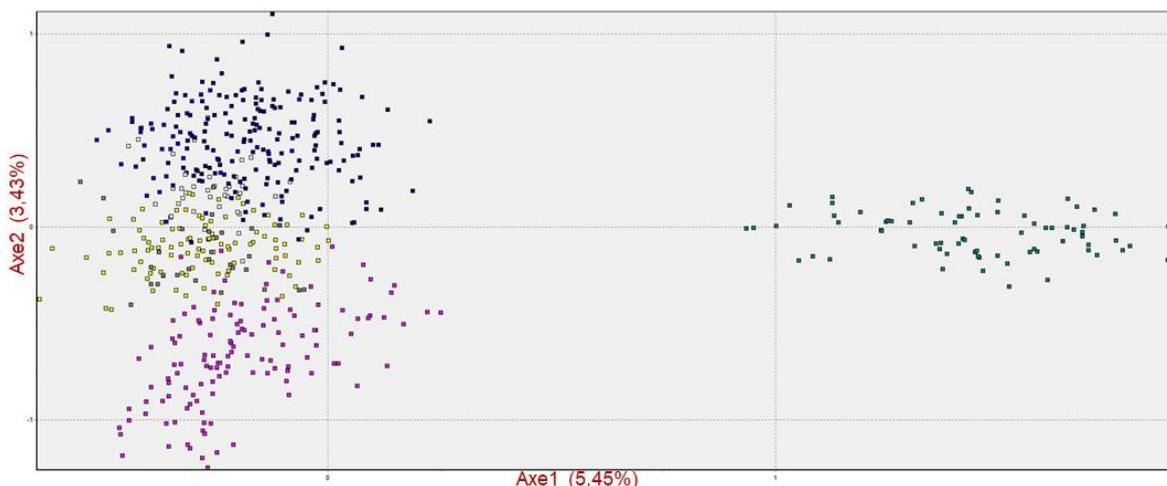
Slika 18. PCoA analiza istraživanih populacija svinja.

Predstavljena je raspodjela genotipova na 3 osi – prvi prikaz: os 1-2; drugi prikaz: os 1-3; treći prikaz: os 2-3.

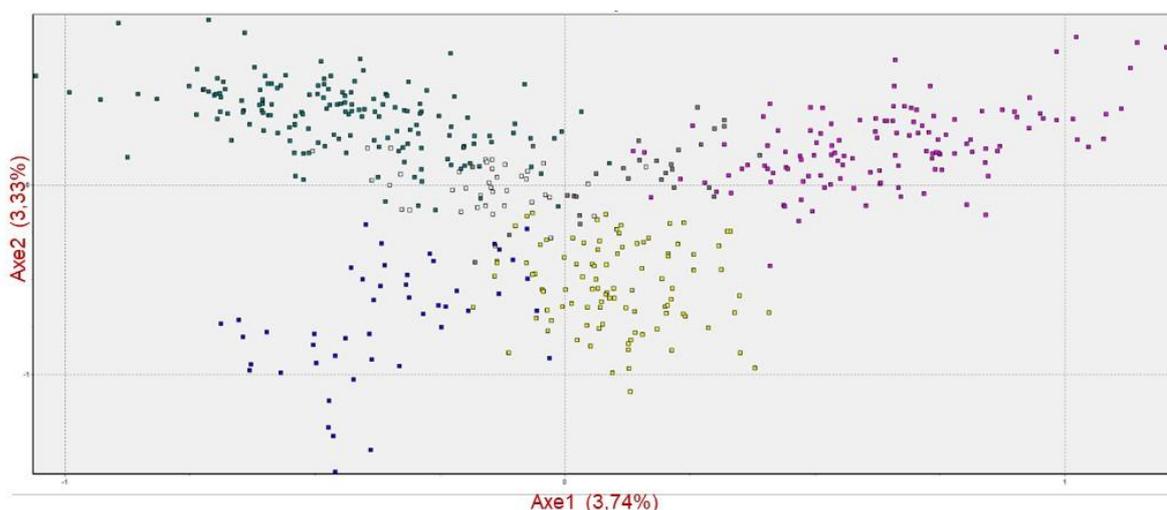


Slika 19. PCoA analiza istraživanih populacija svinja bez turopoljske svinje. Na slici je predstavljena raspodjela genotipova na 3 osi – prvi prikaz: os 1-2; drugi prikaz: os 1-3; treći prikaz: os 2-3.

FCA (*factorial correspondence analysis*) u programu Genetix 4.05.2. u 2D prostoru prikazuje međusobne odnose istraživanih populacija svinja (Slika 20 i 21).



Slika 20. 2D prikaz FCA (*factorial correspondence analysis*) hrvatskih izvornih pasmina svinja. Banijska šara svinja – roza; crna slavonska svinja – crna; turopoljska svinja – zelena) i 4 plemenite pasmine svinja (landras – žuta; pietren – siva; veliki jorkšir – plava; durok – bijela).



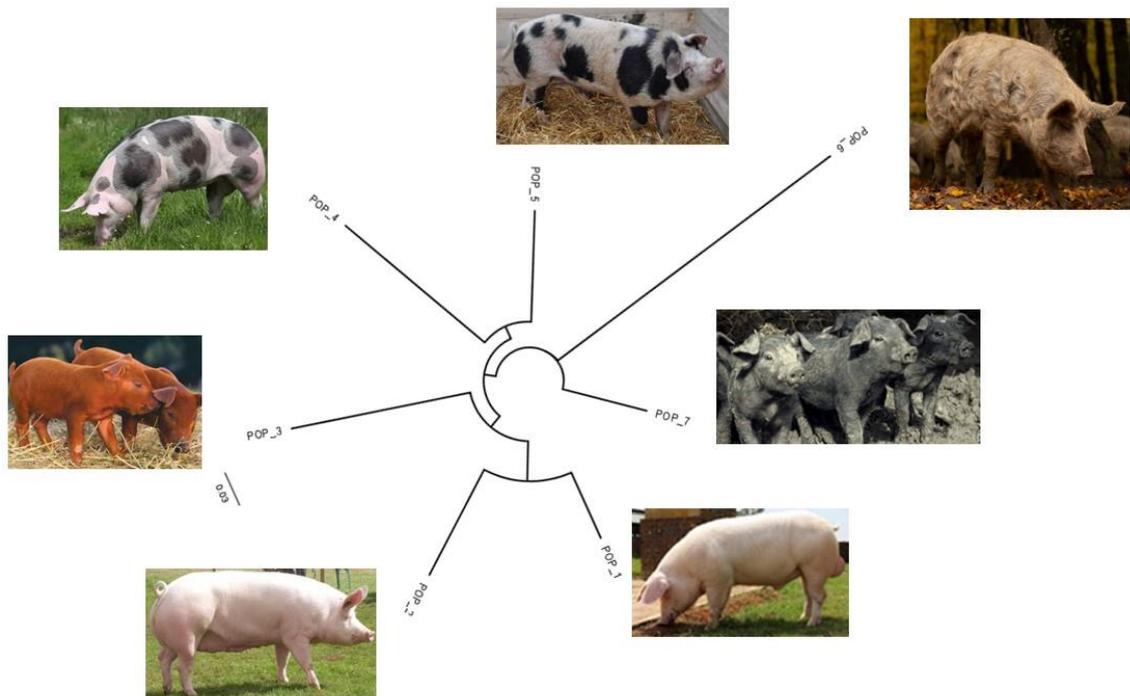
Slika 21. 2D prikaz FCA (*factorial correspondence analysis*) 2 hrvatske izvorne pasmine svinja. Banijska šara svinja – roza; crna slavonska svinja – zelena) i 4 plemenite pasmine svinja (landras – žuta; pietren – siva; veliki jorkšir – plava; durok – bijela)

U prvu analizu (slika 20) bile su uključene sve tri hrvatske izvorne pasmine svinja (banijska šara svinja – roza; crna slavonska svinja – crna; turopoljska svinja – zelena) i 4 plemenite pasmine svinja (landras – žuta; pietren – siva; veliki jorkšir – plava; durok – bijela). Banijska šara svinja se odvaja od ostalih izvornih pasmina svinja, a manjim dijelom se preklapa s

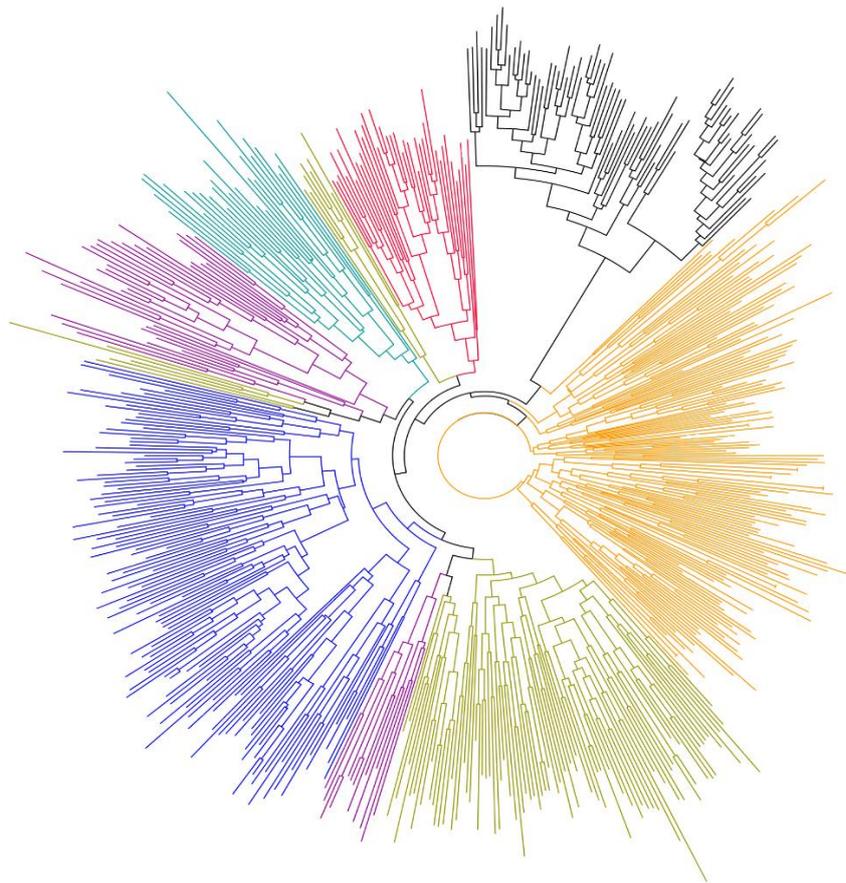
plemenitim pasminama svinja, landrasom i pietrenom. Zbog velikog genskog pomaka (*genetic drift*) turopoljske svinje od ostalih istraživanih pasmina svinja međusobni odnosi tih populacija slabije se razlučuju.

Analiza je ponovljena bez turopoljske svinje, a rezultati su prikazani na slici 21. banijska šara svinja tvori svoju skupinu (roza boja na slici) koja se jednim manjim dijelom preklapa s populacijama plemenitih pasmina svinja, landrasom i pietrenom.

Za prikaz filogenetskih odnosa između analiziranih uzoraka svinja svih 7 istraživanih pasmina korišten je matiks genetskih udaljenosti po Nei-u (*Nei's DA genetic distance*) kao osnova za konstrukciju Neighbor joining filogenetskog stabla populacija (slika 22) i filogenetskog stabla pojedinih uzoraka svinja (slika 23) u programu Populations 1.2.31. Oba stabla jasno odvajaju BŠ od ostalih izvornih i komercijalnih pasmina svinja u Hrvatskoj.

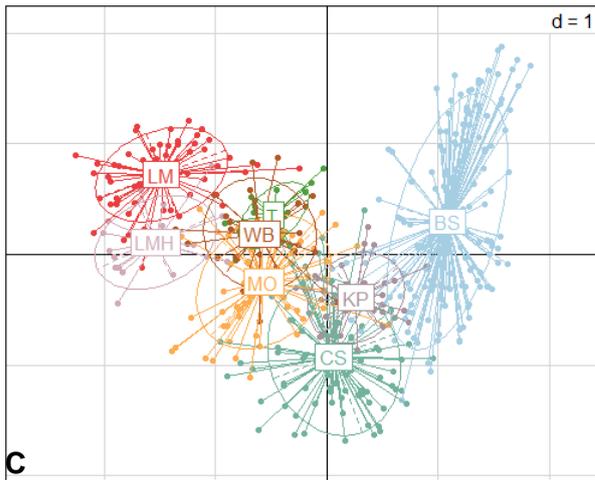
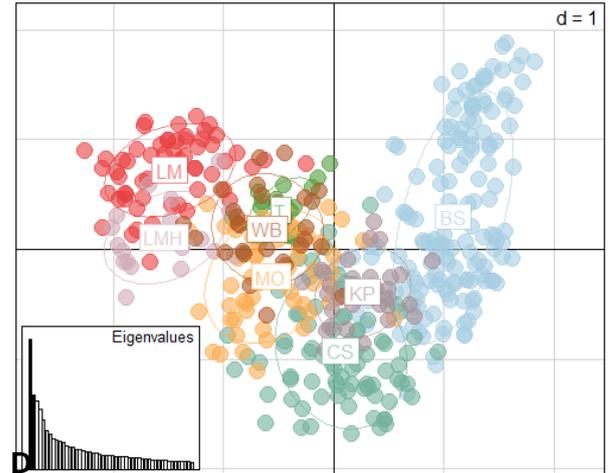
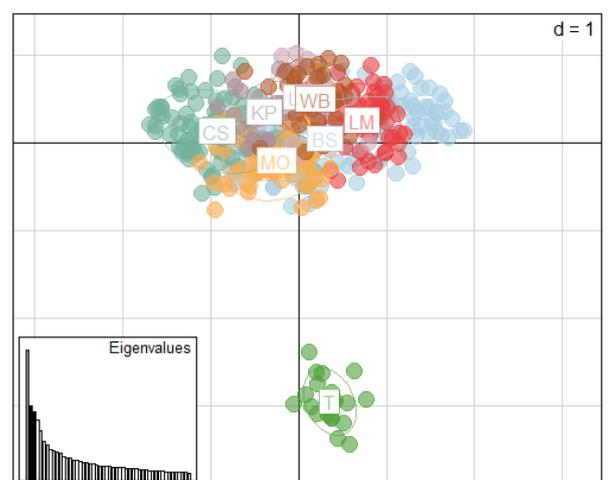
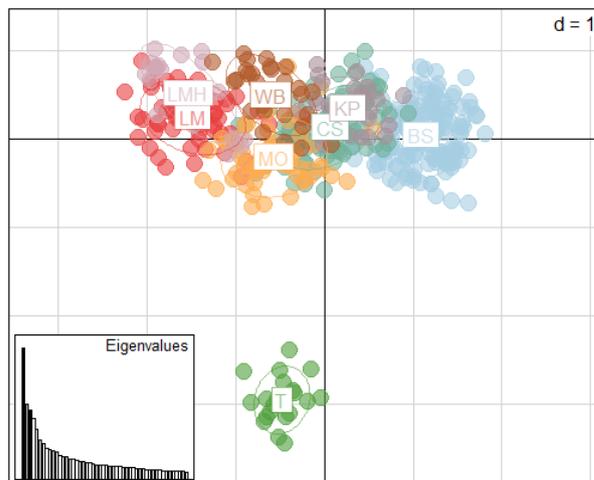


Slika 22. Neighbor joining filogenetsko stablo pasmina svinja na osnovi genetske udaljenosti između populacija. POP_1 landras, POP_2 veliki jorkšir, POP_3 durok, POP_4 pietren, POP_5 banijska šara svinja, POP_6 turopoljska svinja, POP_7 crna slavonska svinja



Slika 23. Neighbor joining filogenetsko stablo pasmina svinja na osnovi genetske udaljenosti između pojedinih uzoraka svinja (*Nei's D_A genetic distance*). Populacije su prikazane različitim bojama: landras - ljubičasta, veliki jorkšir – žuto - zelena, durok – crvena, pietren – tirkizno-zelena, banijska šara svinja - plava, turopoljska svinja - crna, crna slavonska svinja – narančasta.

Karakterizacija i varijabilnost populacije dodatno je procijenjena analizom primarnih komponenti (PCA) na temelju 24 genotipizirana MS lokusa i 459 genotipiziranih uzoraka izvornih pasmina svinja i divlje svinje (slika 24). PCA razdvaja izvorne pasmine svinja međusobno i od populacije divljih svinja. Banijska šara formira svoju skupinu koja se jasno odvaja od ostalih populacija svinja (izvornih i divlje).

A**B****C**

Slika 24. Analiza glavnih komponenti (PCA) izvornih pasmina svinja i divljih svinja. (A) PCA na temelju 24 genotipizirana MS lokusa – BŠ (banijska šara svinja), CS (crna slavenska svinja), T (turopoljska svinja), LM (mangulica iz Srbije), MO (moravka), LMH (mangulica iz Mađarske), KP (krškopoljska svinja), WB (divlja svinja); (B) PCA, os 1-2; (C) PCA, os 1-3; (D) PCA, os 2-3.

5. RASPRAVA

5.1. Morfometrijska svojstva i obilježja vanjštine

Banijska šara (BŠ) je izvorna pasmina svinja uvrštena na *Popis pasmina, sojeva i hibrida domaćih životinja* 2018. godine (Narodne novine br. 101/2018). Unatoč ranijim zapisima o njenom postojanju i pokušajima standardizacije (Šram, 1950; Ozimec, 2011) tek novijim istraživanjima nastoje se definirati svojstva karakteristična za ovu pasminu (Salajpal i sur., 2017). Kao i kod drugih izvornih pasmina većina svojstava određena je uzgojnim ciljevima u vrijeme njena nastanka, prilagodbom okolišnim uvjetima te tehnologiji držanja i hranidbe na uzgojnom području. Prostorna izoliranost, adaptacija na uvjete sredine, djelomična selekcija, pojava mutacija i genetsko skretanje čimbenici su u nastanku velikog broja lokalnih populacija različitih proizvodnih i genetskih osobina (Larson i sur., 2010; Groeneveld i sur., 2010). Svojstva od interesa u doba početka stvaranja BŠ su bila adaptabilnost, ponašanje, kakvoća trupa (zamašćenost), otpornost na bolesti, plodnost i boja životinja.

Prema Šramu (1950) svinje BŠ karakterizira žutosiva boja dlake s velikim nepravilnim crnim mrljama koje su nepravilno raspoređene po tijelu. Rezultatima ovog rada je utvrđeno da crne šare zauzimaju 51,9% površine tijela te da je kod čak 32% jedinki udio šara zauzimao više od 67% površine tijela. Pri tome nepravilne šare se pojavljuju i na uškama kod 88,3% jedinki, a pigmentiranost zahvaća i papke (39,5% jedinki) te sluznice (40,8% jedinki). Prisutnost crnih šara pripisuje se utjecaju berkšira kao pasmine koja je sudjelovala u nastanku BŠ (Ilančić, 1956; Vukina, 1961). Nerasti pasmine berkšir često su se koristili za oplemenjivanje domaćih svinja, a bili su poželjni zbog svoje crne boje dlake te dobrih proizvodnih osobina (crna slavonska - Margeta i sur., 2013; moravka - Petrović i sur., 2007). Veliki broj pasmina svinja nastao krajem 19 i u prvoj polovici 20 stoljeća je crne boje dlake (crna slavonska, Nero Siciliano, Mora Romagnola, Apulo-Calabrese, Alentejano, Negre Mallorqui, Nero Casertano) ili pretežno crne s manjim dijelovima prekrivenih bijelom ili sivom dlakom (Krškopoljska, Lietuvos Vietine, Schwabisch – Hallisches). U današnjoj populaciji BŠ u 80% jedinki prisutna je siva nijansa svijetle boje dlake što je u skladu s navodima Šram (1950), dok Ilančić (1958) spominje pojavu i crvene boje dlake kao posljedicu "cijepanja berkšira". Kod određenog broja analiziranih jedinki dominiraju crna dlaka na glavi i pri tome u njih oko 15% je utvrđena prisutnost bijelog polja na čeonom i nosnom dijelu glave (lisa).

Nadalje, pretežno duga dlaka koja je utvrđena kod 51% analiziranih odraslih jedinki, oštrog izgleda i sjajna te priljubljena uz tijelo (Šram, 1950) i gusto prekriva tijelo (Nepoznati autor,

1890). Navedeno svojstvo karakteristično je za veliki broj lokalnih pasmina u kontinentalnom klimatskom području što im osigurava prilagodbu na hladnoću i nepovoljne klimatske uvjete (Mangulica, Apulo-Calabrese, Nero Casertano, Sarda, Krškopoljska, Moravka).

Kao važno obilježje vanjštine ove pasmine navodi se izgled glave koja je prema Šramu (1950) srednje velika s blago uleknutom nosnom linijom dok su uške srednje velike do velike te klopave. Navedeno dijelom potkrepljuju rezultati ovog istraživanja u kojem su klopave uške utvrđene kod 86,5% krmača te 75% nerasta te su pri tome bile usmjerene prema naprijed u >90% analiziranih jedinki. Nasuprot tome, uleknuti nosni profil utvrđen je kod 43,2% krmača i 33% nerasta dok je taj udio kod mlađih kategorija (nerastići i nazimice) bio još i manji (<25%). Navedena svojstva kod BŠ rezultat su utjecaja pasmina koje su sudjelovale u njenom nastanku, domaće bijele svinje s klopavim uškama i berkšir pasmine (Nepoznati autor, 1890; Šram, 1950; Ilančić, 1964) za koju je karakterističan uleknuti nosni profil i stršeće uške prema naprijed. Pretežito ravni nosni profil u analiziranoj populaciji BŠ može se ipak pripisati pretežitom utjecaju bijelih pasmina svinja (svinje u tipu landrasa) na njeno stvaranje u drugoj polovici 20 stoljeća. Navedenom utjecaju se može i pripisati činjenica da je kod većine analiziranih jedinki BŠ u ovom istraživanju utvrđena pretežito ravna leđna linija (>90% jedinki) dok se u povijesnim zapisima spominje blago svedena leđna linija kao pasminsko svojstvo (Šram, 1950). Isti izvori navode da BŠ svinje karakterizira dugačko i duboko tijelo te da odrasle jedinke dosežu masu 150 - 200 i više kg. U skladu s time su i rezultati ovog istraživanja u kojem je utvrđena prosječna tjelesna masa odraslih reproduktivno aktivnih jedinki (krmače i nerasti) nešto više od 160 kg. Pri tome je bilo jedinki i s više od 250 kg. Velika varijabilnost u tjelesnoj masi analiziranih jedinki u velikoj mjeri je uvjetovana i reproduktivnom fazom, dobi ali i uvjetima držanja i hranidbe (utjecaj farme). U odnosu na druge izvorne pasmine svinja BŠ možemo smatrati srednje velikom pasminom. S prosječnom visinom do grebena 72 cm kod ženskih i 77 cm kod muških odraslih grla slična je nekim mediteranskim pasminama svinja kao što su Basque (Mercat i sur., 2019), Apulo Calabrese (Bozzi i sur., 2019) i Gascon (Mercat i sur., 2019) pasmina svinja ali i značajno niža od Bisaro (Santos Silva i sur., 2019), Krškopoljske (Batorek i sur., 2019), Cinta Senese (Pugliese i sur., 2019), Mora Romagnola i Nero Casertano (Bozzi i sur., 2019) pasmine svinja. Navedene pasmine su ujedno i pasmine koje imaju značajno veću tjelesnu masu ali i druge mjere koje definiraju tjelesni okvir (visina križa, dužina trupa, obujam prsa). Uspoređujući pak BŠ s turopoljskom (Karolyi i sur., 2018; Karolyi i sur., 2019) i crnom slavonskom (Margeta i sur., 2019) kao izvornim pasminama svinja u RH, vidljivo je da turopoljska svinja ima najmanji tjelesni okvir (visina grebena, duljina trupa, opseg prsa), dok je kod CS zabilježena manja visina grebena (70-75 cm) i opseg prsa (100-110 cm), ali i veća duljina trupa (120-130 cm) u odnosu na BŠ. Isti autori

navode da crna slavonska svinja ima relativno kratke noge dok su one kod turopoljske svinje visoke s čvrstim zglobovima. Prvi opis svinja u tipu banijske šare (Nepoznati autor, 1890) upravo spominje njene čvrste noge kao jedno od važnijih svojstva kojem se u to vrijeme pridavala velika pozornost, a koje BŠ s obzirom na njeno porijeklo (Ilančić, 1958; Vukina, 1961; Ozimec, 2011) povezuje s turopoljskom svinjom. Prema rezultatima ovog istraživanja visina prednjih nogu iznosila je prosječno 37 cm kod krmača i 39,8 cm kod nerasta te visina stražnjih nogu 40,9 cm kod krmača i 45,2 cm kod nerasta. Pri tome je utvrđen opseg cjevanica u rasponu od 16-26 cm na prednjim nogama te 16-23 cm na stražnjim nogama u oba spola, što potvrđuje već spomenute navode da svinje BŠ karakteriziraju visoke i čvrste noge. S obzirom na morfometrijske karakteristike kao i obilježja vanjštine BŠ svinja se jasno razlikuje od ostalih izvornih ali i plemenitih pasmina svinja.

5.2. Plodnost svinja BŠ i polimorfizam ESR i RBP4 gena

Plodnost je jedno od svojstava kojem se pridavala posebna pozornost u počecima stvaranja BŠ svinje. S ciljem poboljšanja reproduktivnih karakteristika lokalnih populacija svinja provodi se introgresija genetski superiornih pasmina za navedena svojstva (Bonneau i Lebre, 2010) što se u slučaju BŠ mogu smatrati pasmine Berkšir te bijele pasmine svinja u tipu landrasa. Tako Šram (1950) navodi da je za ovu pasminu karakteristična dobra plodnost naslijeđena od domaće bijele svinje.

Kao pokazatelj plodnosti kod svinja često se koristi veličina legla kao čimbenika o kojem ovisi reproduktivna efikasnost krmača (Vicencio i sur., 2017) i ekonomska uspješnost svinjogojske proizvodnje (Chen i sur., 2000). Pri tome se veličina legla opisuje brojem UO, ŽO te MO prasadi po leglu. U ovom istraživanju analizom ukupno 184 legala BŠ utvrđeno je prosječno 8,5 ukupno oprasene prasadi (UO) što je gotovo 2,0 UO prasadi više u odnosu na crnu slavonsku svinju (prosjeak analiziranih 18228 legala) ili 3,1 UO prasadi više u odnosu na turopoljsku svinju (prosjeak analiziranih 1174 legala). Navedeno je u skladu s rezultatima drugih autora koji navode da je broj UO prasadi kod crne slavonske svinje 5,0-7,4 po leglu (Margeta i sur., 2019) i kod turopoljske svinje 4,2-6,3 UO po leglu (Karolyi i sur., 2018; Karolyi i sur., 2019) što je značajno manje u odnosu na broj UO prasadi kod BŠ. Pojedinačno najveći zabilježen broj UO prasadi u nekom leglu bio je 13 što je u skladu s ranijim navodima (Šram, 1950) koji govore da krmače BŠ prase između 8 i 14 prasadi po leglu. (Menčik i sur., 2019) analizirali su legla od 69 krmača BŠ i prema rednom broju prasenja (1-5) te su pri tome utvrdili prosječno 8,26 UO prasadi po leglu. Najmanji prosječni broj UO utvrđen kod prvopraskinja (7,35) dok je najveći prosječni broj UO bio kod trećepraskinja (8,79). Isti autori navode da je dob kod prvog prasenja iznosila 460 dana te da velika varijabilnost dobi pri prašenju može biti posljedica neujednačenih uvjeta držanja,

mali broj rasplodnih krmača te neujednačenih uvjeta upravljanja reprodukcijom u stadu. U skladu s tim te ranijim navodima (Šram, 1950) BŠ se može smatrati razmjerno ranozrelom pasminom pri čemu krmače postižu spolnu zrelost s 8-12 mjeseci.

Veći broj UO prasadi po leglu u odnosu na BŠ utvrđen je kod nekih sjeverno-europskih lokalnih pasmina (Schwabisch – Hallisches, Petig i sur., 2019; Lietuvos Baltosios Senojo Tipa, Razmaite i sur., 2019), što BŠ svrstava u pasminu umjerene plodnosti (Menčík i sur., 2019) karakterističnu za neke lokalne pasmine mediteranskog područja kao što su pasmine Gascon (Mercat i sur., 2019), Alentejano (Charneca i sur., 2019), Bisaro (Santos Silva i sur., 2019) i Krškopoljski prašič (Batorek Lukač i sur., 2019). U odnosu pak na geografski udaljenije pasmine svinja kao što su lokalne pasmine s područja Filipina (Tabon i sur., 2022) i Tibeta (FAO, 2009), BŠ pokazuju veći broj UO prasadi po leglu. S druge pak strane s prosječno 8,5 UO prasadi po leglu BŠ značajno zaostaju za plemenitim pasminama svinja kao što su veliki jorkšir (12), landras (11), hempšir (9), durok (9) i Meishan (14-17; FAO, 2009). Analiza broja mrtvooprasene (MO) prasadi u leglu pokazuje značajno veće vrijednosti kod BŠ (1,0) u odnosu na crnu slavonsku (0,6) i turopoljsku svinju (0,4). Broj UO i MO kao i broj odbijene prasadi po leglu ovisi o ne genetskim čimbenicima kao što su stres prije i tijekom prasenja, deficitarna ishrana krmača, mala porodna težina, neprikladna njega prasadi u vrijeme dojenja i odbića, mliječnost krmača i higijena držanja (Calderon Diaz i sur., 2017) ili pak nedovoljno razvijen majčinski instinkt kod prvopraskinja (Gäde i sur., 2008.). Navedeno dijelom i objašnjava veliku varijabilnost u rezultatima broja UO i MO prasadi u analiziranoj populaciji BŠ svinje. Nadalje, Biermann i sur. (2014) navode da inbreeding unutar malih populacija doprinosi smanjenju genetske raznolikosti i budućeg izražavanja genetskog potencijala za reproduktivna svojstva kod svinja. S obzirom da BŠ spada u male populacije nameće se potreba analize navedenog utjecaja na svojstva plodnosti. S obzirom na gore navedeno s prosječno 8,5 ukupno oprasene prasadi po leglu današnja populacija BŠ spada u pasmine umjerene plodnosti. U odnosu na druge dvije izvorne pasmine svinja u RH, crnu slavonsku i turopoljsku svinju ima značajno veću plodnost.

5.3. Polimorfizam ESR1 i RBP4 gena

Veličina legla je kvantitativno svojstvo značajne složenosti (Lukač i sur., 2014.) na čije izražavanje značajan utjecaj imaju okolišni čimbenici (Luković i Škorput, 2015; Wahner i Brussow, 2009). Genetsko porijeklo pri tome igra važnu ulogu na ispoljavanje ovog svojstva (Omelka i sur., 2005). Stoga, identifikacija marker gena povezanih sa svojstvima veličine legla kod svinja može imati veliki utjecaj na uspješnost selekcije i posljedično poboljšanje reproduktivnih pokazatelja (Rotschild i sur., 1996).

U ovom istraživanju analiziran je utjecaj polimorfizama dvaju marker gena za koje je ranije utvrđena povezanost sa svojstvom veličine legla i to ESR1-PvuII (Rotschild i sur., 1991; Linville i sur., 2001; Matoušek, 2003; Santana i sur., 2006) i RBP4-MspI gena (Olivier i sur., 1997; Rotschild i sur., 2000) kod čistih pasmina ili njihovih križanaca i hibrida.

Gen za estrogenski receptor (ESR1) koji se nalazi na kromosomu 1 kod svinja jedan je od najviše istraživanih kandidata gena za svojstva veličine legla kod svinja, Navedeno proizlazi prvenstveno iz njegove uloge u rastu i sazrijevanju folikula na janjima kao i na preimplantacijski razvoj embrija (Kowalski i sur., 2002).

U ovom istraživanju utvrđen je polimorfizam ESR1 gena i prisutnost sva tri genotipa (AA, AB i BB). Pri tome je BB genotip bio prisutan u samo jedne analizirane jedinke odnosno udio jedinki BB genotipa u analiziranom uzorku iznosio je svega 0,04. Nasuprot tome udio homozigotnih jedinki AA genotipa iznosio je 0,60 dok je udio heterozigota iznosio 0,36. Sukladno navedenim rezultatima u populaciji BŠ dominira alel A (0,78) u odnosu na alel B (0,22). Slične rezultate utvrdili su (Ekert Kabalin i sur., 2013) u populaciji crne slavonske svinje pri čemu je bilo najviše homozigotnih jedinki AA genotipa (0,54), zatim heterozigota AB genotipa (0,38) i jedna homozigotna jedinka BB genotipa (0,08) odnosno udio alela A u populaciji crne slavonske svinje iznosio je 0,73, a udio alela B 0,23. Navedeno sugerira vrlo nisku zastupljenost alela B povezanog sa većim brojem prasadi u leglu u populacijama hrvatskih izvornih pasmina svinja CS i BŠ. Potpuna odsutnost BB genotipa utvrđena je pak kod plemenitih pasmina svinja poljskog landrasa (Kmiec i sur., 2002), mađarske velike bijele svinje, duroka i pietrena (Bagi i sur., 2016) ali i nekih primitivnih pasmina svinja kao što su Doom svinje (Rahman i sur., 2021). Prisutnost sva tri genotipa ESR gena (AA, AB i BB) utvrđena je kod komercijalnih linija svinja (Short i sur., 1997), Češke velike bijele svinje (Goliášová i Dvorak, 2005), križanaca velike bijele i landras pasmine svinja u zapadnoj grčkoj (Lalotić i sur., 2015), te visokoplodnih krmača križanki landrasa i velike bijele svinje (Menčik i sur., 2019).

U analiziranoj populaciji utvrđena frekvencija genotipova za ESR1 gen ne pokazuje značajno odstupanje od Hardy-Weibergove ravnoteže što je u skladu s rezultatima koje su kod crne slavonske svinje utvrdili (Ekert Kabalin i sur., 2013). Nasuprot tome odstupanje od Hardy-Weibergove ravnoteže utvrđeno je kod velike bijele i velike crne svinje (Balatsky i sur., 2012; Lalotić i sur., 2015) te Doom pasmine svinja (Rahmani i sur., 2021), što se kod ove posljednje objašnjava činjenicom da se radi o maloj populaciji svinja u tek početnoj fazi selekcije.

Analiza utjecaja ESR1 genotipa (AA, AB i BB) na svojstva veličine legla u ovom istraživanju nije pokazala statistički značajan utjecaj ($P > 0,05$). U skladu s rezultatima ovog istraživanja nije utvrđen utjecaj ESR1 genotipa na veličinu legla kod krmača velike bijele svinje u Italiji

(Dall'Olio i sur., 2011), kao i primitivnih pasmina svinja pasmina Doom (Rahmani i sur., 2021) te crne slavonske svinje (Ekert Kabalin i sur., 2013).

Nasuprot tome u većem broju istraživanja utvrđena je povezanost genotipa ESR1 s veličinom legla pri rođenju (Short i sur., 1997; Rothschild i sur., 1996) i odbiću (Lalotiotis i sur., 2015). Prevladavajući učinak alela B na plodnost utvrđena je kod PIC hibridnih svinja (Short i sur., 1997; Menčík i sur., 2019) kao i u različitim populacijama velike bijele svinje (Horogh i sur., 2005; Wang i sur., 2006). Tako su kod homozigotnih krmača BB genotipa utvrđene veće vrijednosti UO i ŽO u odnosu na krmače AA i AB genotipa. Nasuprot tome, (Apreciada Santana i sur., 2006) analizirajući učinak *PvuII* polimorfizma ESR1 gena na svojstva plodnosti u Brazilskih svinja utvrdili pozitivan učinak alela A pri čemu su krmače s prisutnošću navedenog alela pokazale bolje rezultate plodnosti u usporedbi s BB homozigotnim jedinkama.

Analizom polimorfizma *MspI* na RBP4 genu kod krmača BŠ uključenih u ovo istraživanje utvrđena je prisutnost sva tri genotipa (AA, AB i BB). Pri tome je utvrđena najveća učestalost genotipa BB (0,44) dok je udio heterozigota AB bio 0,32, a udio homozigotnih jedinki AA iznosio je 0,24. Sukladno navedenim rezultatima u analiziranoj populaciji BŠ dominira alel B (0,60) u odnosu na alel A (0,40). Slične rezultate utvrdili su (Kapelanski i sur., 2013) u populacijama Poljske velike bijele svinje i kod poljskog landrasa. Nasuprot tome, preliminarnim istraživanjem polimorfizma RBP4 gena kod crne slavonske svinje, (Ekert Kabalin i sur., 2013) su utvrdili najveću učestalost AA genotipa (0,54) odnosno veću prisutnost alela A u populaciji (0,655) u odnosu na alel B (0,345). Slično njihovim rezultatima, veća učestalost alela A utvrđena je i u populacijama velike bijele svinje i kod križanaca landrasa i velike bijele svinje (Rothschild i sur., 2000; Wang i sur., 2006; Dall'Olio i sur., 2010). Nadalje, Drogmuller i sur. (2001) su kod različitih komercijalnih pasmina i sintetičkih linija svinja utvrdili učestalost alela A od 0,62 do 0,85. Utvrđena frekvencija genotipova za RBP4 gen u analiziranoj populaciji ne pokazuje značajno odstupanje od Hardy-Weibergove ravnoteže što je u skladu s ranijim nalazom kod crne slavonske svinje (Ekert Kabalin i sur., 2013).

Zbog uloge RBP4 u fiziologiji reprodukcije, a posebice njegove važnosti tijekom kritične faze produljenja blastociste (Olivier i sur., 1997), te transporta vitamina A u rastući embrio (Harney i sur., 1993), smatra se snažnim kandidat genom za veličinu legla kod svinja (Rothschild i sur., 2000). Analiza utjecaja polimorfizma RBP4 gena na svojstva veličine legla u istraživanoj populaciji pokazuje značajan utjecaj na broj UO u prvom leglu dok taj utjecaj u 2. i višem leglu nije bio statistički opravdan. Pri tome je najveći broj UO utvrđen kod heterozigotnih krmača AB genotipa (7,68) dok su značajno niže vrijednosti utvrđene kod AA homozigotnih krmača (5,54: $P < 0,05$). U drugom i višem leglu nije utvrđena značajna razlika između RBP4 genotipova u broju UO, kao niti u broju ŽO ($P > 0,05$). Analizirajući

utjecaj polimorfizma navedenog marker gena na pokazatelje veličine legla kod crne slavonske svinje (Ekert Kabalin i sur., 2013) također su utvrdili najveći broj UO i ŽO kod heterozigotnih krmača AB genotipa, dok je najmanji broj UO i ŽO utvrđen kod AA homozigota, kao i u ovom istraživanju. (Marantidis i sur., 2016) analizirajući učinak genotipa RBP4 na glavna reproduktivna svojstva populacije krmača križanki velike bijele i landras pasmine svinja utvrdili su da genotipovi AA i AB imali statistički značajno više vrijednosti broja UO i ŽO po leglu opisujući alel A kao alel s aditivnim učinkom. Slične rezultate koji povezuju alel A s većim brojem UO i ŽO utvrdili su (Menčik i sur., 2019) kod visokoplodnih krmača križanki landrasa i velike bijele svinje, te (Spotter i sur., 2009) kod dvije njemačke linije svinja. Nadalje, (Rothschild i sur., 2000) utvrdili su aditivni učinak alela A za svojstva UO i ŽO u nekih komercijalnih linija, ali bez statistički značajnog učinka bilo kojeg alela na veličinu legla u hibridnoj liniji. Nekolicina autora (Rothschild i sur., 2000; Terman i sur., 2009) smatra da prisutnost alela B ima negativni učinak na pokazatelje plodnosti. U skladu s tim (Sun i sur., 2009) utvrdili su da krmače genotipa AA daju 0,72 UO i 0,64 ŽO prasadi više od krmača s genotipom BB. Slične rezultate navedenom su utvrdili i (Niu i sur., 2008) kod lokalne pasmine svinja s Tibeta. Analizirajući utjecaj polimorfizma RBP4 gena na broj MO prasadi, (Marantidis i sur., 2016) su utvrdili pozitivan učinak AA genotipa za navedeno svojstvo, a time neizravno i na veličinu legla s obzirom na broj ŽO. U ovom istraživanju polimorfizmi oba analizirana gena nisu imala značajnog utjecaja na broj MO odnosno ŽO prasadi u leglu kako u 1. tako niti u 2. i višem leglu.

Unatoč odsutnosti utjecaja istraživanih gena (ESR1) ili njihova djelomičnog utjecaja (RBP4) na svojstva veličine legla u predmetnom istraživanju, rezultati drugih istraživanja provedenih na različitim populacijama sugeriraju da se navedeni geni mogu smatrati potencijalnim kandidat genima za veličinu legla kod svinja pri čemu važnu ulogu ima veličina uzorka ali i genetsko porijeklo istraživane populacije. S tim u vezi nameće se potreba daljnjeg istraživanja na BŠ svinji ali na većem broju jedinki kao i uključivanju drugih kandidat gena za svojstvo veličine legla.

5.4. Genetska raznolikost i struktura populacije

5.4.1 Genetska raznolikost unutar pasmina

Za potrebe definiranja genetske raznolikosti banijske šare svinje i njene diferencijacije u odnosu na ostale izvorne i plemenite pasmine svinja u Hrvatskoj napravljena je analiza osnovnih genetskih parametara na sedam istraživanih populacija svinja u samom početku praćenja populacije banijske šare svinje, te je ponovljena nakon nekoliko godina kontroliranog uzgoja. Kako se navodi u (FAO, 2013), male populacije su posebno osjetljive

na loše ili pogrešne postupke u uzgoju, što može rezultirati u povišenom inbridingu i gubitku alela zbog genetskog pomaka (engl. genetic drift), što za posljedicu ima stvaranje genetskih uskih grla (engl. genetic bottleneck) i visoko srodstvo među životinjama u populaciji. Zbog navedenog, genetsko praćenje populacije banijske šare svinje s obaveznom potvrdom roditeljstva s MS markerima za sva uzgojno valjana grla dio je uzgojnog programa praktički od samih početaka kontroliranog uzgoja pasmine.

U prvu i drugu analizu uz banijsku šaru svinju (BŠ) uključene su ostale dvije hrvatske izvorne pasmine svinja, crna slavonska (CS) i turopoljska svinja (T), te četiri plemenite pasmine svinja, landras (L), veliki jorkšir (J), durok (D) i pietren (P), a parametri koje smo pratili uključivali su broj genotipiziranih uzoraka (N), prosječni broj alela po MS lokusu (NA), opažena (H_o) i očekivana (H_e) heterozigotnost, sadržaj polimorfnih informacija (PIC) i koeficijent inbreedinga F_{is} . Unatoč tomu da je za prvu analizu korišten set 24 MS markera, a za drugu optimizirani set 16 MS markera, rezultati su međusobno usporedivi.

Od 155 analiziranih uzoraka BŠ u prvoj analizi prosječni broj alela po lokusu bio je 7,36, a u drugoj sa 127 analiziranih uzoraka bio je 7,19. Najniže vrijednosti u obje analize primijećene su kod turopoljske svinje (2,92 i 4,313), a za plemenite pasmine kod duroka (3,12 i 4,50). Prosječan broj alela po lokusu u pozitivnoj je korelaciji s brojem uzorkovanih životinja, što je sukladno istraživanjima na europskim populacijama svinja (Ollivier, 2009). Prosječan broj alela po lokusu kod iberijskih svinja (Martinez i sur.; 2000) sa 7 do 41 uzorkovanih životinja po populaciji kretao se između 3,44 i 5,84, a za 20 uzorkovanih duroka iznosio je 5,0. NA u Alentejano i Bisaro populacijama iberijske svinje u Portugalu prema istraživanju (Vicente i sur., 2008) iznosio je 5,59 i 6,27. U analizi različitih populacija grčke crne svinje (ukupno 88 uzoraka) NA se kretao između 2,091 i 5,83 dok broj uzoraka po populaciji nije naveden (Michailidou i sur., 2014). U komparativnoj analizi izvornih pasmina svinja iz Austrije, Hrvatske, Bosne i Hercegovine i Srbije (Druml i sur., 2012) NA zabilježen je u rasponu od 3,29 (turopoljske svinje iz Turopoljskog luga; 37 genotipiziranih životinja) do 5,37 (crna slavonska svinja; 40 genotipiziranih životinja). Usporedbom s ostalim europskim (Ollivier, 2009; Boitard i sur., 2010) i azijskim (Thuy i sur., 2006; Touma i sur., 2020; Wang i sur., 2004; Fang i sur., 2009) izvornim pasminama možemo zaključiti da je NA kod banijske šare svinje iznad prosjeka ostalih europskih i većine azijskih izvornih pasmina svinja, dok je turopoljska svinja među onima s najnižim NA, usporedive s Meishan pasminom svinja. Usporedive ili nešto niže vrijednosti su zabilježene u proteklim istraživanjima na hrvatskim izvornim pasminama (Gvozdanović i sur., 2018; Margeta i sur. 2019; Šalamon i sur., 2019) pri čemu treba uzeti u obzir da su navedena istraživanja uključivala dosta manji broj genotipiziranih životinja po pasmini.

Vrijednosti H_o i H_e su usporedive između prve i druge analize, dok su vrijednosti PIC nešto više u ponovljenoj analizi. To se može pojasniti odabirom najinformativnijih markera iz prvog

seta 24 MS markera koji se koriste u 16 MS setu u drugoj analizi (Margeta, 2021), kao i većem broju uzorkovanih životinja po pasmini u drugoj analizi. Ho i He kod banijske šare svinje kreće se u rasponu od 0,60248 do 0,6566 i usporedive su s onima kod CS (0,6429 do 0,7018) od izvornih pasmina i malo su iznad ili usporedive s vrijednostima kod plemenitih pasmina svinja (0,50668 do 0,7221). Najniže vrijednosti bilježimo kod turopoljske svinje (0,342 do 0,3787) i posljedica su uzgoja u srodstvu u dužem vremenskom razdoblju, što su pokazala prethodna istraživanja (Druml i sur., 2012; Gvozdanić i sur., 2018; Margeta i sur., 2019; Šalamon i sur., 2019; Muñoz i sur., 2019). PIC je zapravo odraz NA i vrijednosti heterozigotnosti, stoga slijedi trend tih vrijednosti i najviši je kod CS i BŠ od izvornih te J, L i P od plemenitih pasmina svinja. Heterozigotnost BŠ je malo iznad prosječne heterozigotnosti iberijskih svinja u Španjolskoj (0,4634 do 0,5841) i u Portugalu (0,468 do 0,670) (Martinez i sur.; 2000; Fabuel i sur., 2004; Vicente i sur., 2008), izvornih pasmina svinja u Poljskoj (0,5) (Radko i sur., 2023), usporediva ili nešto niža od prosječne heterozigotnosti izvorne crne svinje u Grčkoj (Michailidou i sur., 2014), i nešto viša ili usporediva s Ruskim izvornim pasminama svinja (Kharzinova i Zinovieva, 2020). Velike razlike postoje također kod azijskih pasmina svinja, gdje su kineske pasmine u rasponu od 0,4 do 0,79 (Fang i sur., 2005), japanska pasmina Agu 0,423 (Touma i sur., 2020), a vietnamske 0,79 (Thuy i sur., 2006). Heterozigotnost BŠ je prema našim istraživanjima i navodima iz literature usporediva ili viša od heterozigotnosti plemenitih pasmina svinja (Boitard i sur., 2010; Laval i sur., 2000; SanCristobal i sur., 2006). BŠ možemo ubrajati u pasmine s visokom varijabilnošću kod kojih je po navodima iz literature heterozigotnost veća od 0,5 (Takezaki i Nei, 1996).

Kako vrijednosti PIC slijede one NA i heterozigotnosti, usporedivost sa spomenutim istraživanjima iz literature je slična kao za te dvije vrijednosti. Banijska šara svinja je iznad prosjeka ili usporediva s većinom izvornih pasmina svinja, a također je prema našem istraživanju i istraživanjima ostalih autora iznad prosjeka plemenitih pasmina svinja.

Pozitivne vrijednosti koeficijenta inbridinga Fis odražavaju manjak heterozigotnosti u populaciji, dok su negativne posljedice veće opažene heterozigotnosti od one očekivane. Što se vrijednosti više približe nuli, to je populacija više u ravnoteži (Wright, 1951; Nei, 1977). Jedinu negativnu Fis vrijednost dobili smo u prvoj analizi kod D gdje je Ho bila viša od He. Razlog je vjerojatno u malom broju genotipiziranih uzoraka (9). Najviši Fis bio je kod P u prvoj analizi (0,16308). Od izvornih pasmina, najviši Fis je zabilježen kod T i BŠ u prvoj analizi (0,08830 i 0,08691), a u drugoj analizi kod CS (0,08417). Niži Fis kod T u drugoj analizi je posljedica većeg broja uzoraka. U prvoj analizi analizirano je samo 20 uzoraka T iz Turopoljskog Luga, dok su u drugoj analizi uzorci prikupljeni sa šireg područja (Turopoljski Lug, park prirode Lonjsko polje, privatni uzgajivači u Sisačko-moslavačkoj županiji). Niži Fis kod BŠ najvjerojatnije je posljedica planskog uzgoja gdje je na osnovu uzgojnog programa

spriječen uzgoj u visokom srodstvu, a uzgajivače se poticalo na križanje genetski udaljenih svinja. Kako Fis zavisi od dosta faktora, od broja prikupljenih uzoraka do samog načina uzorkovanja (npr. gleda li se da se prikupljaju uzorci nesrodnih životinja), te od načina uzgoja (planski kontrolirani uzgoj sa nekontroliranim uzgojem s visokom i nekontroliranom stopom parenja u srodstvu), podatci u literaturi se kroz razna istraživanja razlikuju čak kod istih pasmina. Dobar primjer je T gdje je zabilježen Fis u vrijednostima -0,11 (Druml i sur., 2012), 0,105 (Gvozdanović i sur., 2018), 0,074 (Šalamon i sur., 2019), 0,08830 u našem prvom i 0,02598 u našem drugom istraživanju.

Koncept alelnog bogatstva odnosi se na postojanje alela specifičnih za neke pasmine, budući da veliki broj različitih alela u pasmini ne jamči automatski njihovu izvornost. Aleli prisutni u jednoj pasmini, a odsutni u svim ostalim nazivaju se „privatni“ aleli. Ekvivalentno definiciji doprinosa pasmine genetskoj raznolikosti, broj privatnih alela u pasmini mjera je njezina doprinosa alelnoj raznolikosti. Ovaj se broj također mora korigirati za veličinu uzorka, a jedan od načina je rarefakcija (Ollivier, 2009).

Prosječno bogatstvo alela po lokusima (engl. allelic richness ili Ar) po metodi rarefakcije u prvoj analizi s 24 MS markera iznosilo je od 3,12 kod T i 3,60 kod D do 4,84 kod CS i 4,80 kod BŠ. Pri tome je bogatstvo privatnih alela po lokusima iznosilo 0,72 kod BŠ, 0,77 kod CS, 0,36 i 0,40 kod P i D, 0,34 kod T i 0,33 kod L i J. Prosječno bogatstvo alela po lokusima u drugoj analizi sa 16 MS markera iznosilo je od 2,95 kod T i 4,6 kod D do 5,33 kod CS i 4,81 kod BŠ. Pri tome je bogatstvo privatnih alela po lokusima iznosilo 0,56 kod BŠ, 0,61 kod CS, 0,40 i 0,50 kod J i P, 0,24 kod T, te 0,29 i 0,14 kod L i D. Postotak privatnih alela kod BŠ je tako između 12 i 15% što ide u prilog visokoj genetskoj raznolikosti te pasmine svinja. Ar kod BŠ je usporediv ili viši od Ar vrijednosti ostalih europskih izvornih i plemenitih pasmina u literaturi (Druml i sur., 2012; Kharzinova i Zinovieva, 2020; Boitard i sur., 2010). Parametri korišteni za prikaz genetske varijabilnosti unutar populacija pokazuju da populacija BŠ ima visoku genetsku varijabilnost.

5.4.2. Genetska udaljenost između pasmina

Metode koje se u većini analiza koriste za utvrđivanje genetske diferencijacije pasmine u odnosu na ostale uključuju Nei-jevu standardnu genetsku udaljenost (Nei, 1972), Reynoldsovu genetsku udaljenost (Reynolds i Cockerham, 1983) i indeks fiksacije (Fst) (Weir i Cockerham, 1984). Fst je mjera diferencijacije populacije zbog genetske strukture. Često se procjenjuje iz podataka o genetskom polimorfizmu, kao što su polimorfizmi jednog nukleotida (SNP) ili mikrosateliti. Razvijena kao poseban dio Wrightove F-statistike, i jedna je od najčešće korištenih statistika u populacijskoj genetici. Wrightova definicija pokazuje da Fst mjeri količinu genetske varijance koja se može objasniti populacijskom strukturom.

Što bliže je F_{st} vrijednosti 1, to je veća razlika među populacijama, i one ne dijele nikakvu genetsku raznolikost.

Od ispitivanih populacija najveću stopu genetske diferencijacije po Wrightovom F_{st} u obje analize pokazuje T – vrijednosti 0,2868 (s BŠ) do 0,4652 (s D) u prvoj, i vrijednosti 0,2722 (s CS) do 0,423 (s D) u drugoj analizi. Visoka stopa diferencijacije te pasmine sukladna je rezultatima prethodnih istraživanja (Druml i sur., 2012; Margeta i sur., 2018; Šalamon i sur., 2019). BŠ u prvoj i drugoj analizi najveću stopu diferencijacije pokazuje s T (0,2868; 0,3112) kod izvornih i D (0,2337; 0,1531) kod plemenitih pasmina svinja. U prvoj analizi stopa diferencijacije je najniža sa CS (0,1052), dok je u drugoj analizi najniža s L (0,0878), a sa CS iznosi 0,1079. F_{st} između plemenitih pasmina svinja su niži i kreću se od 0,0951 (J i L) do 0,233 (D i P). Slične vrijednosti navedene su u literaturi za europske pasmine (Radko i sur., 2023; Laval i sur., 2000; Martinez i sur., 2000; SanCristobal i sur., 2006) i za azijske pasmine svinja (Fan i sur., 2002; Li i sur., 2004; Kim i sur., 2005; Touma i sur., 2020).

Filogenetsko Neighbor joining stablo na populacijskoj razini na temelju Nei-jeve DA genetske udaljenosti potvrđuje podatak o najvećoj udaljenosti T od ostalih pasmina. Najbliže T nalazi se CS dok je BŠ smještena kraj P na svojoj odvojenoj grani. Rezultat je usporediv s istraživanjem Druml i sur. (2012), pogotovo kada se uzme u obzir fenotipski izgled populacije tzv. Austrijske turopoljke koja je fenotipski najbliže BŠ, a u dendrogramu se slično kao u našem istraživanju BŠ nalazi između izvornih pasmina CS i T iz Hrvatske i P.

Filogenetska Neighbor joining stabla na populacijskoj razini na temelju Nei-jeve DA genetske udaljenosti u obje analize odvajaju predstavnike populacije BŠ od predstavnika ostalih populacija. U prvoj analizi populacija BŠ se dijeli na dvije subpopulacije odmah od početka, dok je razdvajanje u drugoj analizi puno manje izraženo i odmaknuto od ishodišta stabla. Kao što su pokazali rezultati ostalih metoda istraživanja i u filogenetskim stablima najviše se od ostalih populacija odmiče T, što je sukladno rezultatu Druml i sur. (2012).

5.4.3. Strukturiranost populacije BŠ

Program Structure je softverski paket koji koristi podatke o genotipovima s više lokusa za istraživanje strukture populacija. Njegove upotrebe uključuju definiranje prisutnosti različitih populacija, dodjeljivanje jedinki populacijama, proučavanje hibridnih zona i identificiranje miješanih (križanih) jedinki. U prvoj analizi koja je uključivala ukupno 315 uzoraka, od toga 155 BŠ, populacija BŠ se od ostalih odvaja već kod k_2 , dok se u koraku k_4 dijeli na 2 subpopulacije, što je prije odvajanja T od CS kod vrijednosti k_5 . Plemenite pasmine sve do vrijednosti k_6 ostaju u istom klasteru i ne razdvajaju se. U drugoj analizi provedenoj nakon 3 godine na ukupno 578 uzoraka, od toga 127 BŠ, pasmina se od ostalih počinje odvajati

kod k3, a potpuno je odvojena kod k4, što je usporedivo s odvajanjem CS u istoj analizi. Populacija sve do k8 ostaje uniformna i više se ne dijeli na dvije subpopulacije, ali su u manjoj mjeri detektirani križanci (pojedinci s umiješanim klasterima) s plemenitim pasminama i CS. Plemenite pasmine su u ovoj analizi zastupane s većim brojem uzoraka, te se kroz k vrijednosti može pratiti njihovo postupno strukturiranje. Najprije se počinju odvajati D i P (k5 i k6), te u sljedećem koraku još L i J (k7). Jedina pasmina koja se dijeli na subpopulacije je CS (k8). Dijeljenje CS na subpopulacije primijećeno je u proteklim istraživanjima (Druml i sur., 2012; Margeta i sur., 2018; Margeta i sur., 2018 (2); Gvozdanović i sur., 2018), kao i dijeljenje BŠ u počecima praćenja te populacije (Šalomon i sur., 2019)

GenAlEx je korišten za konstruiranje genetske matrice genetske udaljenosti po Nei-u, iz koje je provedena analiza primarnih koordinata (PCA) za identifikaciju populacijskih klastera. PCA je korisna metoda za vizualizaciju genetskih udaljenosti, ali ne i za daljnju analizu genetskih odnosa jer ne daje indikaciju genetske udaljenosti ili značaj odnosa izvedenih iz analize. Ova metoda koordinira populacije u prostoru i briše mjere genetske udaljenosti, smanjujući učinak visoke genetske varijabilnosti među populacijama zbog prilagođenih filogenetskih rezultata (Bryja i sur., 2010; Chakraborty, 2010).

GENETIX v. 4.05 (Belkhir i sur., 2004.) korišten je za dvodimenzionalnu faktorsku korespondentnu analizu (FCA) koja nastoji identificirati podudarnost između vrijednosti u vrstama i kolonama (pojedinih uzorcima i alelnim vrijednostima po MS lokusima). Omogućuje vizualizaciju populacija, pri čemu je svaki pojedini uzorak predstavljen kao točka, i svaka populacija u svojoj boji tako da se može detektirati preklapanje blisko povezanih populacija.

PCA analiza potvrđuje odvajanje populacije BŠ od ostalih pasmina svinja. U prvom provedenom istraživanju s 24 MS markera u prikazu osi 1-2 i 1-3 nalazi se do CS, dok se u prikazu osi 2-3 jedan dio približi s jedne strane T, s druge plemenitim pasminama svinja, a drugi dio populacije se djelomično preklapa sa CS. Sličan je rezultat FCA analize, gdje je odvajanje BŠ od ostalih populacija još izraženije.

PCA analiza u drugom provedenom istraživanju zbog genetskog pomaka T sve ostale populacije grupira u manjem prostoru gdje se preklapaju jedna s drugom. Sličan rezultat izraženog genetskog pomaka T zabilježen je u PCA i FCA analizama u literaturi (Gvozdanović i sur., 2018; Šalomon i sur. 2019; Zorc i sur., 2022). Zbog bolje preglednosti međusobnih odnosa BŠ, CS i plemenitih pasmina u sljedećem koraku je iz analize izlučena T. PCA u prikazu osi 1-2 i 1-3 dijeli BŠ u 2 subpopulacije, što se u FCA analizi i analizi strukturiranosti populacije više ne primjećuje. Kako PCA analiza bazira samo na genetski udaljenostima koje su prilagođene filogenetskim rezultatima, ipak relevantnijima smatramo rezultate analize strukturiranosti populacije i FCA analize. FCA analiza prikazuje BŠ kao

odvojenu populaciju, čiji se manji dio približi plemenitim pasminama, L i P, što je sukladno rezultatima Structure analize koja u jednom manjem djelu detektira prisutnost uzoraka BŠ s umiješanim klasterima plemenitih pasmina.

6. ZAKLJUČCI

Banijska šara je pasmina svinja srednje velikog tjelesnog okvira s visinom do grebena 72,1 kod krmača i 77,1 cm kod nerasta. Prosječna tjelesna masa za krmače iznosi 162,6 i za neraste 162,2 kg. Tijelo im je obraslo sivo bijelom bojom dlake i prekriveno nepravilnim crnih šarama koje zauzimaju više od 50% površine tijela, a pigmentiranost sluznica i papaka je djelomična. Glava je kratka, nosna linija je ravna do uleknuta, a uške pretežito klopave i usmjerene prema naprijed. S obzirom na morfometrijske karakteristike kao i obilježja vanjštine razlikuju se od ostalih izvornih ali i plemenitih pasmina svinja.

S prosječno 8,5 ukupno oprasene prasadi po leglu današnja populacija BŠ spada u pasmine umjerene plodnosti. U odnosu na druge dvije izvorne pasmine svinja u RH ima značajno veću plodnost i to za 3,1 prasadi po leglu više u odnosu na turopoljsku svinju i 2,0 prasadi po leglu više u odnosu na crnu slavonsku svinju.

U populaciji BŠ prisutan je polimorfizam ESR1-*PvuII* i RBP4-*MspI* gena. Frekvencije genotipova za oba istraživana marker gena ne pokazuju značajno odstupanje od Hardy-Weibergove ravnoteže. Za ESR1 gen je karakterističan visoki udio alela A (0,78) odnosno visoki udio homozigotnih jedinki AA genotipa (0,60). Kod RBP4 gena prevladava prisutnost alela B (0,60) te jedinke BB genotipa (0,44). Polimorfizam ESR1 gena nema značajan utjecaj na pokazatelje plodnosti kod BŠ dok je taj utjecaj prisutan kod prvopraskinja u odnosu na RBP4 gen. Pri tome je najmanji broj ukupno oprasene prasadi može se očekivati kod jedinki AA genotipa.

Svinje BŠ pokazuju veliku genetsku raznolikost unutar populacije i genetski se razlikuju od sličnih i geografski bliskih populacija svinja uključujući i one s kojima dijele zajedničke pretke (crna slavonska svinja) ili koje su imale utjecaja na njeno stvaranje (turopoljska svinja). Uzgojne mjere poduzete s ciljem uniformiranja početne populacije nisu naštetile genetskoj raznolikosti, čak štoviše, plansko sparivanje genetski udaljenih jedinki rezultiralo je snižavanju pokazatelja uzgoja u srodstvu u populaciji. Iz statističkih pokazatelja unutarpopulacijske genetske varijabilnosti možemo zaključiti da je ista na dovoljno visokoj razini te uz kontinuirani kontrolirani uzgoj svinja BŠ predstavlja stabilni temelj za očuvanje i korištenje pasmine u budućnosti.

7. POPIS LITERATURE:

1. Alfonso L. (2005). Use of meta-analysis to combine candidate gene association studies: application to study the relationship between the ESR Pvull polymorphism and sow litter size. *Genet. Sel. Evol.* 37, 417-435.
2. Aparecida Santana BAA., Biase FH., Antunes RC., Borges M., Franco MM., Goulart LR. (2006). Association of the estrogen receptor gene Pvull restriction polymorphism with expected progeny differences for reproductive and performance traits in swine herds in Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 29, 273–277.
3. Bagi A. H., Balogh P., Nagy K., Kusza S. (2016). Association and polymorphism study of seven candidate genes with reproductive traits in three pig breeds in Hungary. *Acta Biochimica Polonica*, 63 (2), 359-364.
4. Balatsky V. N., Saenko A. M., Grishina L. P. (2012). Polymorphism of the estrogen receptor 1 locus in populations of pigs of different genotypes and its association with reproductive traits of large white sows. *Cytology and Genetics*, 46(4), 233-237.
5. Bazer F. W., First N. L. (1983). Pregnancy and parturition. *J. Anim. Sci.* 57, 425-460.
6. Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N., Bonhomme, F. (1996-2004). Genetix 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, (France).
7. Belkhir K., Borsa P., Chiki L., Bonhomme N.R. (2004). Genetix 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. CNRS UMR 5000. Université de Montpellier II, Montpellier (France): Laboratoire Génome, Populations, Interactions.
8. Biermann A. D. M., Pimental E. C. G., Tietze M., Pinent T., König S. (2014). Implementation of genetic evaluation and mating designs for the endangered local pig breed 'Bunte Bentheimer'. *J. Anim. Breed. Genet.* 131, 36-45.
9. Boitard S., Chevalet C., Mercat MJ., Meriaux JC., Sanchez A., Tibau J., Sancristobal M. (2010). Genetic variability, structure and assignment of Spanish and French pig populations based on a large sampling. *Anim Genet.* Dec;41(6):608-18. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02061.x. PMID: 20477801.
10. Bonneau M., Lebret B. (2010). Production systems and influence on eating quality of pork. *Meat Sci.* 84, 293-300.

11. Bryja J., Republic C., Andrews S. (2010). Range-wide population genetic structure of the European bitterling (*Rhodeus amarus*) based on microsatellite and mitochondrial DNA 73 analysis. *Molecular Ecology*, 19, 4708–4722.
12. Calderon Diaz J. A., Diana A., Boyle L. A., Leonard F. C., McElroy M., McGettrick S., Moriarty J., Manzanilla E. G. (2017). Delaying pigs from the normal production flow is associated with health problems and poorer performance. *Porcine Health Manag.* 3, 1-6.
13. Chakraborty S. (2010). Comparative study of various genetic distance measures between populations for the ABO gene. *Notulae Scientia Biologicae*, 2(4), 12–17.
14. Chen K. F., Huang L. S., Q. Zhang N. LI., Luo M., Wu C. X. (2000). The genetic effect of estrogen receptor (ESR) on litter size traits in pig. *Acta Genet. Sin.* 27, 853-857.
15. Cooper G. M., Hausman R. E. (2009). *The Cell: a molecular approach*. 5th ed., Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
16. Dall'Olio S., Fontanesi L., Tognazzi L., Russo V. (2010). Genetic structure of candidate genes for litter size in Italian Large White pigs. *Veterinary Research Communications*. 2010;34(supplement 1):203–206. doi: 10.1007/s11259-010-9380-7.
17. Drogemuller C., Hamann H., Distl O. (2001). Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J. Anim. Sci.* 79, 2565-2570.
18. Druml T., Salajpal K., Đikić M., Urošević M., Grilz-Seger G., Baumung R. (2012). Genetic diversity, population structure and subdivision of local Balkan pig breeds in Austria, Croatia, Serbia and Bosnia-Herzegovina and its practical value in conservation programs. *Genet Sel Evol.* 2012 Mar 1;44(1):5. doi: 10.1186/1297-9686-44-5. PMID: 22376364; PMCID: PMC3311151.
19. Eskild W., Hansson V. (1994). Vitamin A functions in the reproductive organs. In: *Vitamin A in health and disease*. (Blomhoff, R., Ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 531-560.
20. Evanno G.S., Regnaut P., Gould J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611-2620. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553>.
21. Excoffier L., Lischer H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5. A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. (10) 564-567.

22. Fabuel E., Barragan C., Silio L., Rodriguez MC., Toro MA. (2004). Analysis of genetic diversity and conservation priorities in Iberian pigs based on microsatellite markers. *Heredity* 93:104-113.
23. Fan B., Wang Z. G., Li Y. J., Zhao X. L., Liu B., Zhao S. H., Yu M., Li M., Xiong T., and Li K. (2002). Genetic variation analysis within and among Chinese indigenous swine populations using microsatellite markers. *Anim. Genet.* 33:422–427.
24. Fang M., Hu X., Jin W., Li N., Wu C. (2009). Genetic uniqueness of Chinese village pig populations inferred from microsatellite markers. *J Anim Sci.* Nov;87(11):3445-50. doi: 10.2527/jas.2008-1632. Epub 2009 Jul 31. PMID: 19648495.
25. FAO (2009). Farmer's Handbook on Pig Production (For the small holders at village level). Food and Agriculture Organization, Rome, Available from http://www.fao.org/ag/againfo/themes/documents/pigs/handbook%20on%20pig%20production_english%20la-yout-vietnam-draft.pdf. Access on 30 November 2019.
26. Frantz A.C., Massei G., Burke T. (2012). Genetic evidence for past hybridisation between domestic pigs and English wild boars. Springer Science+Business Media B.V.
27. Gäde S., Bennewitz J., Kirchner K., Looft H., Knap P. W., Thaller G., Kalm E. (2008). Genetic parameters for maternal behaviour traits in sows. *Livest. Sci.* 114, 31-41.
28. Goldstein DB., Ruiz Linares A., Cavalli-Sforza LL., Feldman MW. (1995). An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics.* Jan;139(1):463-71. PMID: 7705647; PMCID: PMC1206344.
29. Goliassova E., Dvorak J. (2005). The oestrogen receptor gene (ESR) Pvu II polymorphism genotype and allele frequencies in Czech Large White and Landrace. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, III (2), 33-38.
30. Groeneveld L.F., Lenstra J.A., Eding H., Toro M.A., Scherf B., Pilling D., Negrini R., Finlay E.K., Jianlin H., Groeneveld E. Genetic diversity in farm animals—A review. *Anim. Genetics* (2010). 41, 6–31.
31. Gugić G., Posavi M. (2000). Program razvitka stočarstva - Model korištenja pašnjaka u Parku prirode Lonjsko Polje. Agroekološka studija i programa razvitka poljoprivrede na području Sisačko - moslavačke županije.
32. Guo S.W., Thompson E. A. (1992). Performing the exact test of Hardy–Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 1992. 48: 361–372.

33. HAPIH (2019). Godišnje izvješće - Svinjogojstvo 2019. Izdavač: Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu. Osijek.
34. HAPIH (2020). Godišnje izvješće - Svinjogojstvo 2020. Izdavač: Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu. Osijek.
35. HAPIH (2021). Godišnje izvješće - Svinjogojstvo 2021. Izdavač: Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu. Osijek.
36. HAPIH (2022). Godišnje izvješće - Svinjogojstvo 2022. Izdavač: Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu. Osijek.
37. Harney J. P., Ott T. L., Geisert R. D., Bazer F. W. (1993). Retinol-binding protein gene expression in cyclic and pregnant endometrium of pigs, sheep, and cattle. *Biology of Reproduction*. 1993;49(5):1066–1073.
38. Horogh G., Zsolnai A., Komiosi I., Nyiri A., Anton I., Fesus L. (2005). Oestrogen receptor genotypes and litter size in Hungarian Large White pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 122, 56–61.
39. HPA (2015). Godišnje izvješće - Svinjogojstvo 2015. Izdavač: Hrvatska poljoprivredna agencija. Križevci.
40. HPA (2016). Godišnje izvješće - Svinjogojstvo 2016. Izdavač: Hrvatska poljoprivredna agencija. Križevci.
41. HPA (2017). Godišnje izvješće - Svinjogojstvo 2017. Izdavač: Hrvatska poljoprivredna agencija. Križevci.
42. Huson H.D., Bryant D. (2006). Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies. *Split Tree 4. Mol. Biol. Evol.* 23(2):254–267.
43. Ilačić D. (1958). Svinjarstvo. u Specijalno stočarstvo (Hrasnica F., Pavlović S., Rako A., Šmalcelj, I.), stranice od 293. - 411.
44. Ilačić D. (1964.). Svinjarstvo, u: Specijalno stočarstvo. Zavod za izdavanje udžbenika Socijalističke Republike Srbije. Beograd. Str. 229-339.
45. ISAG/FAO (2011). Draft guidelines on molecular genetic characterization of animal genetic resources - pig.

46. Isler B.J., Invin K.M., Neal S.M., Moeller S.J., Davis M.E. (2002). Examination of the relationship between the estrogen receptor gene and reproductive traits in swine. *Journal of animal science* 80: 2334-2339.
47. Johnson R. K., Nielsen M. K., and Casey D. S. (1999). Responses in ovulation rate, embryonal survival, and litter traits in swine to 14 generations of selection to increase litter size. *J. Anim.Sci.* 77:541–557.
48. Jombart T., Ahmed I. (2011). adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*. Nov 1;27(21):3070-1. doi: 10.1093/bioinformatics/btr521. Epub 2011 Sep 16. PMID: 21926124; PMCID: PMC3198581.
49. Kalinowski S.T., Taper M.L., Marshall T.C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16, 1099-1106. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03089.x>
50. Kapelański W., Jankowiak H., Bocian M., Grajewska S., Dybała J., Cebulska A. (2013). The effect of the growth rate and meatiness of young gilts during rearing on the growth and development of the reproductive system. *Acta Vet Brno* 82: 19-24.
51. Karolyi D., Luković Z., Škorput D., Mahnet Ž., Klišanić V., Vnučec I., Salajpal K., Bošnjak A. (2018). Morphological and reproductive traits of Turopolje breeding sows: a preliminary evaluation. *Archivos de Zootecnia*, 68: (Suplement 1) 57-59.
52. Karolyi D., Luković Z., Salajpal K., Škorput D., Vnučec I., Mahnet Ž., Klišanić V., Batorek-Lukač N. (2019). Turopolje Pig (turopoljska svinja). U: *European Local Pig Breeds - Diversity and Performance. A study of project TREASURE*, (ur.) Čandek-Potokar, Marjeta ; Nieto Linan, Rosa M. IntechOpen, London, str. 267-277.
53. Kharzinova VR., Zinovieva NA. (2020). The pattern of genetic diversity of different breeds of pigs based on microsatellite analysis. *Vavilovskii Zhurnal Genet Selektcii*. Nov; 24(7):747-754. doi: 10.18699/VJ20.669. PMID: 33738391; PMCID: PMC7960447.
54. Kim T. H., Kim K., Choi B. H., Yoon D. H., Jang G. W., Lee K. T., Chung H. Y., Lee H. Y., Park H. S., and Lee J. W. (2005). Genetic structure of pig breeds from Korea and China using microsatellite loci analysis. *J. Anim. Sci.* 83:2255–2263.
55. Klišanić V., Mahnet Ž., Šunjić R., Vukobratović M., Salajpal K. (2016). Zbornik predavanja. XII Savjetovanje uzgajivača svinja u Republici Hrvatskoj. Revitalizacija uzgoja

Banijske šare svinje. Nakladnik Hrvatska poljoprivredna agencija. Križevci. ISSN 1847-2346.

56. Kmiec M., Drovak J., Vrtkova I. (2002). Study on a relation between estrogen receptor (ESR) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed. *Czech Journal of Animal Science*, 47(5), 1212-1819.

57. Kopelman N., Mayzel J., Jakobson M.N., Rosenberg M., Mayrose I. (2015). CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15 (5), 1179-1191. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/1755-0998.12387>.

58. Laliotis G. P., Marantidis A., Avdi M. (2015). Relation between ESR 2 genotypes and reproductive performance of a Large White x Landrace sow population. *International Journal of Biological Sciences and Applications*, 2(6), 67-70.

59. Larson G., Liu R., Zhao X., Yuan J., Fuller D., Barton L., Dobney K., Fan Q., Gu Z., Liu X.H. (2010). Patterns of East Asian pig domestication, migration, and turnover revealed by modern and ancient DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 7686–7691.

60. Laval G., Iannuccelli N., Legault C., Milan D., Groenen MAM., Giuffra E., Andersson L., Nissen PH., Jorgensen CB., Beeckmann P., Geldermann H., Foulley JL., Chevalet C., Ollivier L. (2000). Genetic diversity of eleven pig breeds. *Genet Sel Evol* 32:187-203.

61. Lemus-Flores C., Mejia-Martinez K., Rodriguez-Carpena J. G., Barreras-Serrano A., Herrera-Haro J. G., Alonso-Morales R. (2009). Genetic diversity and variations of ESR, RBP4 and FUT1 genes in Mexican Creole and Yorkshire pig populations. *J. Biol. Sci.* 9, 878-883.

62. Li S. J., Yang S. H., Zhao S. H., Fan B., Yu M., Wang H. S., Li M. H., Liu B., Xiong T. A., and K. Li. (2004). Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites. *J. Anim. Sci.* 82:368–374.

63. Linville RC., Pomp D., Johnson RK., Rothschild MF. (2001). Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *J Anim Sci* 79: 60–67.

64. Lischer HEL., and Excoffier L. (2012). PGDSpider: An automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs. *Bioinformatics* 28: 298-299.

65. Lukac D., Vidovic V., Visnjic V., Krnjaić J., Šević R. (2014). The effect of parental genotype and parity number on pigs litter size. *Biotechnol. Anim. Husb.*, 30(3): 415-422. <https://doi.org/10.2298/BAH1403415L>.
66. Luković Z.; Škorput D. (2015). Factors influencing litter size in pigs // *Perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources*, 10 (2015), 6; 1-9.
67. Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. (1982). *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, The First edition. ISBN 13: 9780879691363.
68. Marantidis A., Laliotis G.P., Avdi M. (2016). Association of RBP4 genotype with phenotypic reproductive traits of sows. *Genetics Research International*. Article ID 4940532.
69. Margeta P., Margeta V., Budimir K. (2013). Koliko je crna slavonska svinja? *ACTA Agric Slov.* 4:25 – 8.
70. Margeta P., Gvozdanović K., Salajpal K., i Kušec G. (2018). Towards the identity of different Crna slavonska pig breed gene pools. *Journal of Central European Agriculture*, 19 (4), 865-870. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/19.4.2331>.
71. Margeta P., Gvozdanović K., Djurkin Kušec I., Radišić Ž., Kušec G. and Margeta V. (2018). Genetic analysis of Croatian autochthonous pig breeds based on microsatellite markers. *Arch Zootec* 67:13-16.
72. Margeta P., Gvozdanović K., Salajpal K., i Kušec G. (2018). Towards the identity of different Crna slavonska pig breed gene pools. *Journal of Central European Agriculture*, 19 (4), 865-870. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/19.4.2331>.
73. Margeta P. (2022). A new microsatellite marker set for parentage testing and population analyses optimized for Croatian pig breeds; *Book of aBŠtract; 57th Croatian and 17th international symposium on agriculture*, June 19 – 24, 2022, Vodice, Croatia.
74. Marshall T.C., Slate J., Kruuk L.E.B., Pemberton J.M. (1998). Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*, 7, 639-655.
75. Martínez AM., Delgado JV., Rodero A., Vega-Pla JL. (2000). Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Anim Genet.* Oct;31(5):295-301. doi: 10.1046/j.1365-2052.2000.00645.x. PMID: 11105208.
76. Martínez A.M., Acosta J., Vega-Pla J.L., Delgado J.V. (2006). Analysis of the genetic structure of the canary goat populations using microsatellites. *Livest. Sci.* 102, 140–145.

77. Matoušek V., Kernerová N., Kolaříková O., Křížová H., Urban T., Vrtková I. (2003). Effect of RYR1 and ESR genotypes on the fertility of sows of Large White breed in elite herds. *Czech J Anim Sci*.
78. Menčík S., Balenovic T., Lulic S., Modric M., Ostovic M., Susic V., Stokovic I., Ekert Kabalin A. (2012). Analysis of estrogen receptor polymorphism and litter size traits in primiparous sows: preliminary results. *Krmiva* 54, 75-80.
79. Menčík S. (2014). Polimorfizam gena u visokoplodnih krmača. Disertacija, Veterinarski fakultet, Zagreb.
80. Menčík S., Sabbioni A., Ostović M., Mahnet Ž., Beretti V., Superchi P., Sušić V., Ekert Kabalin A. (2015a). Effect of seasonality on litter size traits in Black Slavonian and 'Nero di Parma' pigs. *Stočarstvo*. 69, 3-10.
81. Menčík S., Sabbioni A., Špehar M., Mahnet Ž., Smetko A., Ostović M., Beretti V., Superchi P., Ekert Kabalin A. (2015b). Seasonal influence on litter size traits in two local pig breeds: Black Slavonian and Nero di Parma. *Proceedings of the 6th International Congress Veterinary Science and Profession, 1st to 2nd October, Zagreb, Croatia*, pp. 79-80.
82. Menčík S., Špehar M., Ekert Kabalin A., Mahnet Ž., Beretti V., Superchi P., Sabbioni A. (2015c). Estimates of litter size traits in two local pig populations in the Mediterranean region. *Ital. J. Anim. Sci. Proceedings of the 21st ASPA Congress, 9th to 12th June, Milano, Italy*, pp. 117-117.
83. Menčík S., Špehar M., Mahnet Ž., Knežević D., Ostović M., Beretti V., Superchi P., Sabbioni A. (2017). Litter size traits in Black Slavonian and Nero di Parma pig breeds: effects of farrowing management and sow number per herd. *Ital. J. Anim. Sci. Proceedings of the ASPA 22nd Congress, 13th to 16th June, Perugia, Italy*, pp. 145-146.
84. Menčík S., Klišanić V., Špehar M., Mahnet Ž., Škorput D., Luković Z., Karolyi D., Ekert Kabalin A., Salajpal K. (2019). Reproductive parameters in a Banija Spotted pig breed population during breed revitalization. *Vet. arhiv*. 89, pp. 183- 189.
85. Mencik S., Vukovic V., Spehar M., Modric M., Ostovic M., Ekert K. A. (2019). Association between ESR1 and RBP4 genes and litter size traits in a hyperprolific line of Landrace x Large White cross sows. *Veterinarni Medicina*, 64, 109–117.

86. Messer L.A., Wang L., Yelich J., Pomp D., Geisert R. D., Rothschild M. F. (1996). Linkage mapping of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene to porcine chromosome 14. *Mamm. Genome* 7, 396.
87. Michailidou S., Kalivas A., Ganopoulos I., Stea E., Michailidis G., Tsiftaris A., Argiriou A. (2014). A multi-farm assessment of Greek black pig genetic diversity using microsatellite molecular markers. *Genet Mol Res.* 2014. Apr 14;13(2):2752-65. doi: 10.4238/2014.April.14.4. PMID: 24782089.
88. Ministarstvo poljoprivrede (2018). Godišnje izvješće - Svinjogojstvo 2018. Izdavač: Ministarstvo poljoprivrede. Zagreb.
89. 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., 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: 13546, 14.
90. Narodne novine br. 127/98. Popis izvornih i zaštićenih pasmina i sojeva domaćih životinja te njihov potrebit broj.
91. Narodne novine br. 164/2004. Pravilnik o postupku priznavanja novih pasmina, sojeva i hibrida.
92. Narodne novine br. 18/2011., 119/2015., i 101/2018. Popis pasmina, sojeva i hibrida domaćih životinja.
93. Nei M. (1972). Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106 (949): 283–292. doi:10.1086/282771. S2CID 55212907.
94. Nei M. (1977). F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann Hum Genet.* 41:225–233.
95. Nei M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583–590.

<https://doi.org/10.1093/genetics/89.3.583>

96. Nei M., Tajima F., Tateno Y. (1983). Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *J Mol Evol.* 1983;19(2):153-70. doi: 10.1007/BF02300753. PMID: 6571220.
97. Niu SY., Wang XP., Hao FG., Zhao RX. (2008). Effect of the polymorphism of RBP4 and OPN genes on litter size in Tibet pigs. *Acta Agriculturae Scand Section A* 58:10–13.
98. Ollivier L., Messer L. A., Rothschild M. F., Legault C. (1997). The use of selection experiments for detecting quantitative trait loci with an application to the INRA hyperprolific pig. *Genetical Research.* 1997;69(3):227–232.
99. Ollivier L., Toro M.A. (2008). In defense of genetic distances/Genetic distances: a useful tool to be applied with caution. *J. Anim.Breed. Genet.* 125, 3-4.
100. Ollivier L. (2009). European pig genetic diversity: a minireview. *Animal.* 2009. Jul;3(7):915-24. doi: 10.1017/S1751731109004297. PMID: 22444811.
101. Omelka R., Bauerová M., Bulla J. (2001). Genetic markers for reproductive traits in pigs. *Agriculture*, 10: 731-740.
102. Omelka R., Bauerová M., Mlynek J., Buchová B., Peškovičová D., Bulla J. (2005). Effect of the estrogen receptor (ESR) gene on reproductive traits of Large White, White Meaty, and Landrace pigs. *Czech J. Anim. Sci.*, 50(6): 249–253.
103. Park S. D. E. (2001). The Excel Microsatellite Toolkit: Excel Tools for Diploid or Haploid Microsatellite Data. Available at [http:// animalgenomics.ucd.ie](http://animalgenomics.ucd.ie).
104. Pavlinić P. (1944). *Gospodarski savjetnik, Stočarstvo nezavisne države Hrvatske u slici.* Zagreb.
105. Peakall R., and Smouse P.E. (2012). GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.
106. Peter C., Burford M., Perez T., Dalamitra, S., Erhardt G. (2007). Genetic diversity and subdivision of 57 European and MiddleEastern sheep breeds. *J. Anim. Genet.* 38, 37.
107. Petrović M., Mijatović M., Radojković D., Radović Č., Marinkov G., Stojanović L. (2007). Genetski resursi u uzgoju svinja – Moravka. *Biotechnol Anim Husb.* 2007. 23:1 – 11.

108. Piry S., Alapetite A., Cornuet J.- M., Paetkau D., Baudouin L., Estoup A. (2004). GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *J Hered* 95 (6): 536-539.
109. Poljak F. (2011). Izvorne pasmine Republike Hrvatske – turopoljska svinja i crna slavonska svinja. u: Zelena knjiga izvornih pasmina Hrvatske (Barać Z., Bedrica L.J., Ivanković A., Janječić Z., Jeremić J., Kezić N., Marković D., Mioč B., Ozimec R., Petanjek D., Poljak F., Prpić Z., Sindičić M.), Ministarstvo zaštite i okoliša, Državni zavod za zaštitu prirode, Hrvatska poljoprivredna agencija, Nacionalni park Krka, Republika Hrvatska. Zagreb.
110. Pritchard J. K., Stephens M., & Donnelly P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>.
111. Radko A., Koseniuk A., Smolucha G. (2023.) Genetic Diversity and Population Structure of the Native Pulawska and Three Commercial Pig Breeds Based on Microsatellite Markers. *Genes (Basel)*. 2023. Jan 20;14(2):276. doi: 10.3390/genes14020276. PMID: 36833204; PMCID: PMC9956297.
112. Raymond M., Rousset F. (1995). Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Genepop* (version 1.2). *Journal of Heredity* 86 (3): 248-249.
113. Raymond M., Rousset F. (2003). A population genetic software for exact test and ecumenicist. *Genepop* version 3.4. *Heredity* 68, 248-249.
114. Reynolds J., Weir BŠ., Cockerham CC. (1983). Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics*. 1983. Nov;105(3):767-79. doi: 10.1093/genetics/105.3.767. PMID: 17246175; PMCID: PMC1202185.
115. Rosenberg N.A. (2004). Distruct: A program for the graphical display of population structure. *Mol. Ecol. Notes* 4, 137-138.
116. Rothschild MF., Larson RG., Jacobson C., Pearson P. (1991). PvuII polymorphisms at the porcine estrogen-receptor locus (ESR). *Anim Genet* 22: 448–448.
117. Rothschild M. F., Jacobson C., Vaske D. A., Tuggle C. K., Short T. H., Sasaki S., Eckardt G. R., McLaren D. G. (1994). A major gene for litter size in pigs. *Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 7-12 August, Guelph, Ontario, Canada, pp. 225-228.

118. Rothschild M., Jacobson C., Vaske D., Tuggle C., Wang L., Short T., Eckardt G., Sasaki S., Vincent A., McLaren D., Southwood O., van der Steen H., Mileham A., Plastow G. (1996). The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93(1): 201-205.
119. Rothschild M. F., Messer L. A., Day A., Wahs R., Short T., Southwood O., and Plastow G. (2000). Investigation of the retinol binding protein (RBP4) gene as a candidate gene for litter size in the pig. *Mamm. Genome* 11:75-77.
120. Rothschild M. F., Messer L., Day A., i sur. (2000). Investigation of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs. *Mammalian Genome*. 2000;11(1):75–77.
121. Salajpal K., Menčik S., Šalamon D., Karolyi D., Klišanić V., Mahnet Ž., Škorput D., Luković Z. (2017). Revitalizacija uzgoja banijske šare svinje: Monografija, Agronomski fakultet, Zagreb.
122. SanCristobal M., Chevalet C., Haley CS., Joosten R., Rattink AP., Harlizius B., Groenen MAM., Amigues Y., Boscher MY., Russell G., Law A., Davoli R., Russo V., Désautés C., Alderson L., Fimland E., Bagga M., Delgado JV., Vega-Pla JL., Martinez AM., Ramos M., Glodek P., Meyer NJ., Gandini GC., Matassino D., Plastow GS., Siggens KW., Laval G., Archibald AL., Milan D., Hammond K., Cardellino R. (2006). Genetic diversity within and between European pig breeds using microsatellite markers. *Anim Genet* 2006. 37:189-198.
123. Santana B.A.A., Fernando H. B., Robson C. A., Mauricio B., Mauricio M. F., Luiz R. G. (2006). Association of the estrogen receptor gene Pvu II restriction polymorphism with expected progeny differences for reproductive and performance traits in swine herds in Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 29 (2), 273-277.
124. SAS (2013). Statistical analysis systems user's guide. Version 9.4. SAS Institute. Inc., North Carolina.
125. Short T.H., Rothschild M.F., Southwood O.I., McLaren D.G., De Vries A., van der Steen H., Eckardt G. R., Tugge C.K., Helm J., Vaske D.A., Mileham A.J., Plastow G.S. (1997). Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *Journal of Animal Science*, 75, 12: 3138-3142.
126. Spotter A., Muller S., Hamman H., Distl O. (2009). Effect of polymorphisms in the genes for LIF and RBP4 on litter size in two German pig lines. *Reproduction in Domestic Animals* 44, 100–105.

127. Sun Y.-X., Zeng Y.-Q., Tang H., i sur. (2009). Relationship of genetic polymorphism of PRLR and RBP4 genes with litter size traits in pig. *Zhongguo yi Chuan Xue Hui Bian Ji.* 2009;31(1):63–68.
128. Suwanasopee T., Koonawootrittriron S. (2011). Genetic markers on reproductive traits in pigs. *Thai J. Vet. Med.* 41, 73-76.
129. Šalamon D., Margeta P., Klišanić V., Menčik S., Karolyi D., Mehnet Ž., Škorput D., Salajpal K. (2018). Preliminarno istraživanje genetske raznolikosti banijske šare svinje mikrosatelitskim bilježima. Zbornik radova - 53. hrvatski i 13. međunarodni simpozij agronoma, 18.-23. veljače, Osijek, Hrvatska, pp. 223-224.
130. Šalamon D., Margeta P., Klišanić V., Menčik S., Karolyi D., Mahnet Ž., Škorput D., Luković Z., Salajpal K. (2019). Genetic diversity of the Banija spotted pig breed using microsatellite markers. *J. Cent. Eur. Agric.* 20 (1), 36-42.
131. Škorput D., Gvozdanović K., Klišanić V., Menčik S., Karolyi D., Margeta P., Kušec G., Djurkin Kušec I., Luković Z., Salajpal K. (2018a). Genetic diversity in Banija spotted pig: pedigree and microsatellite analyses. *J. Cent. Eur. Agric.* 19 (4), 871-876.
132. Škorput D., Klišanić V., Menčik S., Mahnet Ž., Karolyi D., Luković Z., Salajpal K. (2018b). Analiza porijekla banijske šare svinje. *Stočarstvo: časopis za unapređenje stočarstva.* 78 (1-2), 12-17.
133. Šram F. (1950). Glasilo Malostočarskog društva i Malostočarske zadruge s.o.j. u Zagrebu, u sklopu rada "Domaće pasmine svinja u Narodnoj Republici Hrvatskoj" (God. III, Broj 7., str. 389-397).
134. Tabon GR., Medina NP., Uy-De Guia MRD., Mingala CN. (2022). ESR1 Candidate Marker Gene Associated with Litter Size in the Philippine Native Pigs (*Sus philippensis*). *Adv. Anim. Vet. Sci.* 10(8):1747-1751.
135. Takezaki N, Nei M. (1996.). Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics.* 1996 Sep;144(1):389-99. PMID: 8878702; PMCID: PMC1207511.
136. Terman A., Kmiec M., Polasik D., Rybarczyk A. (2011). Association between RBP4 gene polymorphism and reproductive traits in Polish sows. *J. Anim. Vet. Adv.* 10, 2639-2641.

137. Thuy NT., Melchinger-Wild E., Kuss AW., Cuong NV., Bartenschlager H., Geldermann H. (2006). Comparison of Vietnamese and European pig breeds using microsatellites. *J Anim Sci.* 2006. Oct;84(10):2601-8. doi: 10.2527/jas.2005-641. PMID: 16971559.
138. Touma S., Arakawa A., Oikawa T. (2020). Evaluation of the genetic structure of indigenous Okinawa Agu pigs using microsatellite markers. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2020. Feb 1;33(2):212-218. doi: 10.5713/ajas.19.0034. Epub 2019 May 28. PMID: 31208176; PMCID: PMC6946958.
139. Uremović M., Uremović Z. (1997). *Svinjogojstvo*, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
140. Vicencio NG., Viernes VD., Ocampo LC., Ocampo MB. (2017). Gross anatomy of the female reproductive organs of PNP (*Sus scrofa* L.). *Int. J. Agric. Technol.*, 13(7.2): 1627-1638.
141. Vicente AA., Carolino MI., Sousa MC., Ginja C., Silva FS., Martinez AM., Vega-Pla JL., Carolino N., Gama LT. (2008). Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal assessed by microsatellites. *J Anim Sci.* 2008. Oct;86(10):2496-507. doi: 10.2527/jas.2007-0691. Epub 2008 Jun 20. PMID: 18567729.
142. Vukina R. (1961). *Praktično svinjogojstvo*. Izdavačko knjižarsko poduzeće "Znanje" Zagreb.
143. Zorc M., Škorput D., Gvozdanović K., Margeta P., Karolyi D., Luković Z., Salajpal K., Savić R., Muñoz M., Bovo S., Djurkin Kušec I., Radović Č., Kušec G., Čandek Potokar M., Dovč P. (2022). Genetic diversity and population structure of six autochthonous pig breeds from Croatia, Serbia, and Slovenia. *Genet Sel Evol.* 2022. Apr 28;54(1):30. doi: 10.1186/s12711-022-00718-6. PMID: 35484510; PMCID: PMC9052598.
144. Wahner M., Brussow PK. (2009). Biological potential of fecundity of sows. *Biotechnol. Anim. Husb.*, 25(5-6): 523-533. <https://doi.org/10.2298/BAH0906523W>.
145. Wang X., Cao H., Geng S., Li H. (2004). Genetic Diversity of 10 Indigenous Pig Breeds in China by Using Microsatellite Markers. *Anim Biosci* 2004. 17(9):1219-1222. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2004.1219>.
146. Wang X., Wang A., Fu J., Lin H. (2006). Effects of ESRI, FSHB and RBP4 genes on litter size in a Large White and a Landrace Herd. *Arch. Tierz. Dumm.* 49, 64-70.

147. Weir BS., Cockerham CC. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 1984 Nov;38(6):1358-1370. doi: 10.1111/j.1558-5646.1984.tb05657.x. PMID: 28563791.

8. ŽIVOTOPIS AUTORA

Vedran Klišanić rođen je 21. srpnja 1976. u Novoj Gradišci. U Okučanima završava Osnovnu školu Nada Dragosavljević 1991. godine, kada u ratnim okolnostima upisuje Srednju veterinarsku (poljoprivrednu) školu Matije Antuna Reljkovića u Slavonskom Brodu koju završava 1995. godine. Godine 1996. upisuje diplomski studij iz područja stočarstva na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, koji završava 2003. godine s temom iz područja travnjaštva, naziva „Produktivnost, kvaliteta i prezimljenje introduciranih sorata trava“, s praktičnim pokusima u pokušalištu Centra za travnjaštvo Agronomskog fakulteta na Sljemenu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Josipa Lete.

Zapošljava se 2003. godine u Hrvatskom stočarskom centru na poslovima uzgoja i selekcije goveda i svinja na poslovima vezanim za intenzivne i izvorne pasmine svinja. Osnivanjem prvih uzgojnih udruženja izvornih pasmina svinja, turopoljske svinje, crne slavonske svinje i naposljetku banijske šare, gdje se uz plemenite pasmine svinja bavio uzgojnim programima za sve tri autohtone hrvatske pasmine. Od 2016. godine doktorand je doktorskog studija Poljoprivredne znanosti Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta. Odukom Fakultetskog vijeća (06. lipnja 2017.) i Senata Sveučilišta u Zagrebu (13. studenog 2017.) prihvaćena mu je tema doktorskog rada pod nazivom „Fenotipske i genetske odlike vanjštine i plodnosti banijske šare svinje“.

Tijekom znanstvenog istraživanja sudjeluje na znanstvenim i stručnim skupovima iz područja svinjogojstva.

Nakon ukidanja Hrvatske poljoprivredne agencije (01. siječnja 2019. godine) prelazi u Ministarstvo poljoprivrede gdje radi na poslovima i mjerama iz područja svinjogojstva, sve do 2020. godine kada prelazi u Ministarstvo regionalnoga razvoja i fondova Europske unije u kojem i danas radi kao voditelj službe za podršku regionalnoj i lokalnoj razini u Upravi za otoke. Aktivno se služi engleskim jezikom i pismom.

9. POPIS RADOVA

Autorske knjige:

1. Salajpal, Krešimir; Menčik, Sven; Šalamon, Dragica; Karolyi, Danijel; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Škorput, Dubravko; Luković, Zoran
Revitalizacija uzgoja banijske šare svinje. Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2017 (monografija).
2. Čačić, Mato; Zirdum, Nenad; Mahnet, Željko; Orehovački, Vesna; Šurina, Jadranka; Svetić, Katarina; **Klišanić**, Vedran; Lubina Malus, Nađa; Prpić, Vladimir; Uzelac, Milomir; Bošnjak, Ana
Desetljeće praćenja maligne hipertermije u hrvatskom svinjogojstvu. Zagreb: Hrvatska poljoprivredna agencija, 2015 (ostalo).

Poglavlja u knjigama:

3. Karolyi, Danijel; Luković, Zoran; Salajpal, Krešimir; Škorput, Dubravko; Vnučec, Ivan; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Batorek-Lukač, Nina
Turopolje Pig (turopoljska svinja). // European Local Pig Breeds - Diversity and Performance. A study of project TREASURE / Čandek-Potokar, Marjeta; Nieto Linan, Rosa M. (ur.). London : Delhi: IntechOpen, 2019. str. 267-277 doi:10.5772/intechopen.83782

Znanstveni i pregledni radovi:

4. Latin, Katarina; Petrić, Tajana; Raguž, Nikola; Karolyi, Danijel; **Klišanić**, Vedran; Menčik, Sven; Mahnet, Željko; Lukić, Boris
Tjelesne mjere crne slavonske svinje. // Stočarstvo : časopis za unapređenje stočarstva, 75 (2021), 1; 3-12 doi:10.33128/s.75.1-2.1 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)
5. Šalamon, Dragica; Margeta, Polona; **Klišanić**, Vedran; Menčik, Sven; Karolyi, Danijel; Mahnet, Željko; Škorput, Dubravko; Luković, Zoran; Salajpal, Krešimir
Genetic diversity of the Banija spotted pig breed using microsatellite markers. // Journal of central European agriculture, 20 (2019), 1; 36-42 doi:10.5513/JCEA01/20.1.2467

Međunarodna recenzija, kratko priopćenje, znanstveni:

6. Menčik, Sven; **Klišanić**, Vedran; Špehar, Marija; Mahnet, Željko; Škorput, Dubravko; Luković, Zoran; Karolyi, Danijel; Ekert Kabalin, Anamaria; Salajpal, Krešimir
Reproductive parameters in a Banija Spotted pig breed population during breed revitalization. // Veterinarski arhiv, 89 (2019), 2; 183-199 doi:10.24009/vet.arhiv.0428 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

7. Škorput, Dubravko; Gvozdanović, Kristina; **Klišanić**, Vedran; Menčik, Sven; Karolyi Danijel; Margeta, Polona; Kušec, Goran; Djurkin Kušec, Ivona; Luković, Zoran; Salajpal, Krešimir;
Genetic diversity in Banija spotted pig: pedigree and microsatellite analyses. // Journal of central European agriculture, 19 (2018), 4; 871-876 doi:10.5513/JCEA01/19.4.2335 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)
8. Karolyi, Danijel; Luković, Zoran; Škorput, Dubravko; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Vnućec, Ivan; Salajpal, Krešimir; Bošnjak, Ana
Morphological and reproductive traits of Turopolje breeding sows: a preliminary evaluation. // Archivos de Zootecnia, 68 (2018), Suplement 1; 57-59 doi:10.21071/az.v67iSupplement.3207 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)
9. Škorput, Dubravko; **Klišanić**, Vedran; Menčik, Sven; Mahnet, Željko; Karolyi, Danijel; Luković, Zoran; Salajpal, Krešimir
Analiza porijekla banijske šare svinje. // Stočarstvo : časopis za unapređenje stočarstva, 72 (2018), 1-2; 12-17. (<https://www.bib.irb.hr:8443/1007003>) (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)
10. Škorput, Dubravko; Vertuš, Andrea; **Klišanić**, Vedran; Karolyi, Danijel; Luković, Zoran
Utjecaj pasmine i spola na dnevni prirast u testu svinja u proizvodnim uvjetima. // Stočarstvo : časopis za unapređenje stočarstva, 71 (2017), 1; 39-43 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)
11. Salajpal, Krešimir; Karolyi, Danijel; Beck, Relja; Šaran, Tanja; Luković, Zoran; Škorput, Dubravko; Vnućec, Ivan; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran
Occurrence of gastrointestinal parasites after exposure to natural infection in outdoor reared Turopolje pigs. // Agriculturae Conspectus Scientificus, 87 (2017), 3; 231-234 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)
12. Lukić, Boris; Smetko, Anamarija; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Špehar, Marija; Raguž, Nikola; Kušec, Goran
Population genetic structure of autochthonous Black Slavonian Pig. // Poljoprivreda (Osijek), 21 (2015), 1; 28-32 doi:10.18047/poljo.21.1.sup.5 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)
13. Smetko, Anamarija; Škorput, Dubravko; Luković, Zoran; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Špehar, Marija
Estimation of genetic parameters for production traits in pig breeds in Croatia. // Poljoprivreda (Osijek), 21 (2015), S1; 146-149 doi:10.18047/poljo.21.1.sup.34 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)
14. Simić, Igor; **Klišanić**, Vedran; Đikić, Marija; Luković, Zoran; Škorput, Dubravko

Utjecaj genotipa na debljinu slanine u testu u proizvodnim uvjetima u svinja. // Stočarstvo : časopis za unapređenje stočarstva, 68 (2015), 3; 71-74 (podatak o recenziji nije dostupan, članak, znanstveni)

15. Leto, Josip; Knežević, Mladen; Bošnjak, Krešimir; Vranić, Marina; Perčulija, Goran; Kutnjak, Hrvoje; **Klišanić**, Vedran

Produktivnost, kemijski sastav i održivost introduciranih kultivara trava u planinskom području. // Mljekarstvo, 56 (2006), 2; 139-156 (podatak o recenziji nije dostupan, članak, znanstveni)

16. Luković, Zoran; Uremović, Marija; Uremović, Zvonimir; Konjačić, Miljenko; **Klišanić**, Vedran

Duljina laktacije i veličina legla u svinja. // Stočarstvo, 60 (2006), 2; 115-119. (<https://www.bib.irb.hr:8443/249642>) (podatak o recenziji nije dostupan, članak, znanstveni)

Znanstveni radovi u zbornicima skupova:

17. Škorput, Dubravko; Torček, Ivan; Menčik, Sven; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Karolyi, Danijel; Luković, Zoran; Salajpal, Krešimir

Čimbenici plodnosti krmača banijske šare svinje. // Zbornik radova 55. hrvatskog i 15. međunarodnog simpozija agronoma / Mioč Boro ; Širić, Ivan (ur.). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, 2020. str. 389-392 (poster, međunarodna recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni)

18. Škorput, Dubravko; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Špehar, Marija; Luković, Zoran

Analiza podrijetla majčinskih i terminalnih pasmina svinja u Hrvatskoj. // 54. hrvatski i 14. međunarodni simpozij agronoma / Mio, Boro ; Širić, Ivan (ur.). Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2019. str. 506-509. (<https://www.bib.irb.hr:8443/988862>) (predavanje, međunarodna recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni)

19. Škorput, Dubravko; Smetko Anamarija; **Klišanić**, Vedran; Špehar, Marija; Mahnet, Željko; Luković Zoran

Mogućnosti selekcije na veličinu legla u crne slavonske svinje. // Zbornik radova: 51 hrvatski i 11. međunarodni simpozij agronoma / Pospišil, Milan ; Vnućec, Ivan (ur.). Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2016. str. 368-370. (<https://www.bib.irb.hr:8443/801623>) (predavanje, međunarodna recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni)

20. Škorput, Dubravko; Smetko, Anamarija; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Špehar, Marija; Luković, Zoran

Genetski parametri za veličinu legla u svinja na obiteljskim gospodarstvima u Hrvatskoj. // Zbornik radova 49. hrvatskog i 9. međunarodnog simpozija agronoma / Marić, Sonja ; Lončarić, Zdenko (ur.). Osijek: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera

u Osijeku, 2014. str. 620-623. (<https://www.bib.irb.hr:8443/688807>) (predavanje, međunarodna recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni)

21. Luković, Zoran; Karolyi, Danijel; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Gantner, Vesna; Škorput, Dubravko

Genetic parameters and trends for litter size in Black Slavonian pigs. // Options Mediterraneennes Series A: Mediterranean Seminars 2012 - Number 101 / De Pedro E.J. and Cabezas A.B. (ur.). Zaragoza: International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies (CIHEAM), 2012. str. 71-74. (<https://www.bib.irb.hr:8443/603096>) (poster, međunarodna recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni)

22. Luković, Zoran; Uremović, Marija; Uremović, Zvonimir; Konjačić, Miljenko; **Klišanić**, Vedran

Duljina laktacije i veličina legla u svinja. // Proceedings of the 41st Croatian & 1st International Symposium on Agriculture / Jovanovac, Sonja ; Kovačević, Vlado (ur.).

Osijek: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera, 2006. str. 615-616. (<https://www.bib.irb.hr:8443/240266>) (predavanje, međunarodna recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni).

23. Vincek, Dragutin; **Klišanić**, Vedran; Janeš, Marijan; Poljak, Franjo

Analiza uzroka izlučenja na velikim svinjogojkim farmama. // XL. znanstveni skup hrvatskih agronoma s međunarodnim sudjelovanjem : zbornik radova = XLth Croatian Symposium on Agriculture with International Participation : proceedings / Kovačević, Vlado ; Jovanovac, Sonja (ur.). Osijek, 2005. (predavanje, domaća recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni)

Stručni radovi u zbornicima skupova:

24. Karolyi, Danijel; Luković, Zoran; Škorput, Dubravko; Salajpal, Krešimir; Vnučec, Ivan; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko

Tovna i klaonička svojstva turopoljskih svinja iz otvorenog uzgoja. // XIV. Savjetovanje uzgajivača svinja u Republici Hrvatskoj - Zbornik predavanja / Mahnet, Željko (ur.).

Zagreb: Hrvatska poljoprivredna agencija, 2018. str. 76-81 (pozvano predavanje, cjeloviti rad (in extenso), stručni)

25. Luković, Zoran; Škorput, Dubravko; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko

Procjena uzgojnih vrijednosti i postupci pri odabiru nazimica i nerasta. // Zbornik radova Šesto savjetovanje uzgajivača svinja u Republici Hrvatskoj / Mahnet, Željko (ur.).

Zagreb: Hrvatska poljoprivredna agencija, 2010. str. 23-25. (<https://www.bib.irb.hr:8443/467171>) (predavanje, cjeloviti rad (in extenso), stručni)

26. Uremović, Marija; Luković, Zoran; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Škorput, Dubravko

Vlastitom selekcijom moguće je ostvariti zadovoljavajuća proizvodna svojstva svinja.. // Zbornik radova IV savjetovanje uzgajivača svinja u Republici Hrvatskoj / Željko Mahnet, dipl. ing. (ur.). Zagreb: Hlad, Pluska, 2008. str. 16-20. (<https://www.bib.irb.hr:8443/333395>) (predavanje, cjeloviti rad (in extenso), stručni)

27. Poljak, Franjo; Janeš, Marijan; Vincek, Dragutin; **Klišanić**, Vedran; Henc, Zdravko Utjecaj starosti kod prvog prasenja na proizvodnju u prvih pet legala. // XL. znanstveni skup hrvatskih agronoma s međunarodnim sudjelovanjem : zbornik radova = XLth Croatian Symposium on Agriculture with International Participation : proceedings / Kovačević, Vlado ; Jovanovac, Sonja (ur.). Zagreb, 2005. (predavanje, domaća recenzija, cjeloviti rad (in extenso), stručni)

Drugi radovi u zbornicima skupova:

28. Smetko, Anamarija; Špehar, Marija; Mahnet Željko; **Klišanić**, Vedran; Škorput, Dubravko; Luković, Zoran
Hrvatski uzgojni program: 10-ta godina primjene genetskog vrednovanja "animal modelom". // X. Savjetovanje uzgajivača svinja u Republici Hrvatskoj, Zbornik predavanja / Željko Mahnet, dipl.ing. (ur.).Đurđevac: Hrvatska poljoprivredna agencija, 2014. str. 19-23 (predavanje, cjeloviti rad (in extenso), ostalo)

Sažeci u zbornicima, časopisima i sa skupova:

29. Škorput, Dubravko; Gvozdanović, Kristina; Špehar, Marija; **Klišanić**, Vedran; Margeta, Polona; Margeta, Vladimir; Kušec Djurkin, Ivona; Kušec, Goran; Luković, Zoran
Implementation of optimum contribution selection in the BlackSlavonian pig population. // Zbornik sažetaka 5g. hrvatskog i 16. međunarodnog Simpozija agronoma Vodice, Hrvatska, 2021. str. 265-265 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

30. Karolyi, Danijel; Luković, Zoran; Salajpal, Krešimir; Škorput, Dubravko; Vnučec, Ivan; Pećina, Mateja; Kljak, Kristina; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Čandek-Potokar; Marjeta
Sastav masnih kiselina i oksidativna stabilnost mišićnog i masnog tkiva turopoljskih svinja iz uzgoja na otvorenom. // Zbornik sažetaka 54. hrvatskog i 14. međunarodnog simpozija agronoma / Mioč, Boro ; Širić, Ivan (ur.). Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2019. str. 202-203 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

31. Karapandža, Nina; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Barać, Zdravko; Špehar, Marija
Selection of genetically diverse animals from pedigree in Croatian autochthonous pig breeds. // Book of ABŠtracts of the 70th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2019. str. 125-125 doi:10.3920/978-90-8686-890-2 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

32. Škorput, Dubravko; Karolyi, Danijel; Salajpal, Krešimir; Menčik, Sven; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Luković, Zoran
Production traits of Banija spotted pig. // X. International Symposium of Mediterranean pig: Book of aBŠtracts / Bozzi, Ricardo (ur.). Firenza : München, 2019. str. 81-81 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
33. Škorput, Dubravko; Zorc, Minja; Gvozdanović, Kristina; Margeta, Polonca; Luković, Zoran; Karolyi, Danijel; **Klišanić**, Vedran; Menčik, Sven; Dovč, Peter; Salajpal, Krešimir
Optimal contribution selection: a tool for sustainable management of Banija spotted pig. // X International Symposium of Mediterranean pig: Book of aBŠtracts / Bozzi, Ricardo (ur.). Firenza : München, 2019. str. 89-89 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
34. Karolyi, Danijel; Luković, Zoran; Salajpal, Krešimir; Škorput, Dubravko; Vnučec, Ivan; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Kaić, Ana; Menčik, Sven
Kakvoća trupova i mesa turopoljskih svinja iz uzgoja na otvorenom. // Zbornik radova 53. hrvatskog i 13. međunarodnog simpozija agronoma / Rozman, Vlatka ; Antunović, Zvonko (ur.). Osijek: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2018. str. 207-208 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
35. Šalamon, Dragica; Margeta, Polona; **Klišanić**, Vedran; Menčik, Sven; Karolyi, Danijel; Mahnet, Željko; Škorput, Dubravko; Salajpal, Krešimir
Preliminarno istraživanje genetske raznolikosti populacije banijske šare svinje mikrosatelitskim biljezima. // Zbornik 53. hrvatskog i 13. međunarodnog simpozija agronoma / Rozman, Vlatka ; Antunović, Zvonko (ur.). Osijek: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2018. str. 223-224. (<https://www.bib.irb.hr:8443/927236>) (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
36. Karolyi, Danijel; Luković, Zoran; Škorput, Dubravko; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Vnučec, Ivan; Salajpal, Krešimir; Bošnjak, Ana
Morphological and reproductive traits of Turopolje pig breeding sows. // Book of ABŠtracts of the 9th International Symposium on Mediterranean Pig / Charneca, Rui ; Triapicos Nunes, José ; Loures, Luís ; Rato Nunes, José (ur.). Evora: Instituto Politécnico de Portalegre, 2016. str. 47-47 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
37. Škorput, Dubravko; Smetko, Anamarija; Špehar, Marija; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Luković, Zoran
Genetska povezanost unutar populacije Crne slavonske svinje. // Zbornik sažetaka 50. hrvatskog i 10. međunarodnog simpozija agronoma / Pospišil, Milan (ur.). Zagreb: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2015. str. 217-218. (<https://www.bib.irb.hr:8443/752273>) (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, ostalo)

38. Smetko, Anamarija; Lukić, Boris; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Špehar, Marija; Barać, Zdravko

Preliminarni rezultati analize genetske strukture autohtone crne slavonske pasmine svinja. // 49th Croatian & 9th International Symposium on Agriculture, Book of ABSTRACTS / Marić, Sonja ; Lončarić, Zdenko (ur.). Osijek, 2014. str. 181-182 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, ostalo)

39. Škorput, Dubravko; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Luković, Zoran

Utjecaj genetskih grupa na procjenu uzgojnih vrijednosti u populaciji svinja u Hrvatskoj. // Zbornik sažetaka / Sonja Marić, Zdenko Lončarić (ur.). Dubrovnik, Hrvatska: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2013. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

40. Škorput, Dubravko; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Luković, Zoran

Genetski parametri za debljinu slanine i trajanje testa svinja skupine landras u Hrvatskoj. // 47. hrvatski i 7. međunarodni simpozij agronoma, Zbornik sažetaka / Milan Pospišil (ur.). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, 2012.. (<https://www.bib.irb.hr:8443/571279>) (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

41. Luković, Zoran; Karolyi, Danijel; Gantner, Vesna; Mahnet, Željko; **Klišanić**, Vedran; Škorput, Dubravko

Genetski parametri za veličinu legla u svinja crne slavonske pasmine. // Zbornik sažetaka - 2. Konferencija o izvornim pasminama i sortama kao dijelu prirodne i kulturne baštine s međunarodnim sudjelovanjem / Davorin Marković, Jasna Jeremić (ur.). Zagreb: Državni zavod za zaštitu prirode, 2010. str. 64-64 (poster, sažetak, znanstveni)

42. Škorput, Dubravko; **Klišanić**, Vedran; Mahnet, Željko; Luković, Zoran

Veličina legla u svinja na obiteljskim gospodarstvima u Hrvatskoj od 1997. do 2007.. // Proceedings 44th Croatian and 4th International Symposium on Agriculture / Marić, Sonja ; Lončarić, Zdenko (ur.). Osijek: Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 2009. str. 236-237 (predavanje, sažetak, znanstveni)

Diplomski radovi (ocjenski radovi):

43. **Klišanić**, Vedran

Produktivnost, kvaliteta i prezimljenje introduciranih sorata trava., 2003., diplomski rad, Agronomski Fakultet, Zagreb