



Sveučilište u Zagrebu
AGRONOMSKI FAKULTET

Vesna Orehovački

GENOMSKA ANALIZA POPULACIJA HRVATSKE ŠARENE I ISTARSKE KOZE

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2025. godina



University in Zagreb
FACULTY OF AGRICULTURE

Vesna Orehovački

GENOMICS ANALYSIS OF CROATIAN SPOTTED GOAT AND ISTRIAN GOAT POPULATIONS

DOCTORAL DISSERTATION

Zagreb, 2025.



Sveučilište u Zagrebu
AGRONOMSKI FAKULTET

Vesna Orehovački

GENOMSKA ANALIZA POPULACIJA HRVATSKE ŠARENE I ISTARSKE KOZE

DOKTORSKI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Vlatka Čubrić Čurik

Zagreb, 2025.



University in Zagreb
FACULTY OF AGRICULTURE

Vesna Orehovački

GENOMICS ANALYSIS OF CROATIAN SPOTTED GOAT AND ISTRIAN GOAT POPULATIONS

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor: Prof. Vlatka Čubrić Čurik, PhD

Zagreb, 2025.

Bibliografski podaci:

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Poljoprivreda (Agronomija)

Znanstvena grana: Genetika i oplemenjivanje bilja, životinja i mikroorganizama

Institucija: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Odsjek za animalne znanosti, Zavod za opće stočarstvo

Voditelj doktorskog rada: prof. dr. sc. Vlatka Čubrić Čurik

Broj stranica: 136

Broj slika: 19

Broj tablica: 5

Broj priloga: 7

Broj literaturnih referenci: 378

Datum obrane doktorskog rada:

Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:

1. prof. dr. sc. dr. h. c. Ino Čurik

redoviti profesor u trajnom zvanju, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

2. doc. dr. sc. Vladimir Brajković

docent, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

3. prof. dr.sc. Luboš Vostrý

associate professor, Czech University of Life Sciences Prague

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 13. travnja 2021. godine, te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 8. lipnja 2021. godine.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, **Vesna Orehovački**, izjavljujem da sam samostalno izradila doktorski rad pod naslovom:

GENOMSKA ANALIZA POPULACIJA HRVATSKE ŠARENE I ISTARSKE KOZE

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovog doktorskog rada;
- da je doktorski rad izvorni rezultat mogega rada te da se u izradi nisam koristila drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

Zagreb, 25.kolovoza 2025. godine.



Vesna Orehovački

Ocjena doktorskog rada

Doktorski rad je ocijenilo povjerenstvo u sastavu:

1. prof. dr. sc. dr. h. c. Ino Čurik
redoviti profesor u trajnom zvanju, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
2. doc. dr. sc. Vladimir Brajković
docent, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
3. prof. dr. sc. Luboš Vostrý
associate professor, Czech University of Life Sciences Prague

Informacije o mentorici

prof. dr. sc. Vlatka Čubrić Čurik

Vlatka Čubrić Čurik rođena je 05. prosinca 1972. godine u Zagrebu. Diplomirala je 1998. godine na smjeru "Stočarstvo" na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija nagrađen je Rektorovom i Dekanovom nagradom. Magistrirala je 2005. godine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Doktorat znanosti stekla je 2009. godine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Kao mentor uspješno vodi tri doktorata. Od 2022. godine je redovni profesor na Agronomskom fakultetu gdje predaje (voditelj) "Animalnu genetiku", "Molekularnu genetiku", "Strukturu i analizu animalnog genoma i "Varijabilnost Y kromosoma i mtDNA". Autor ili koautor je u više od 60 znanstvenih radova (40 radova indeksirano je u WOS core collection) od kojih su mnogi objavljeni u prestižnim časopisima koji proučavanju nasljeđivanja (Nature, Nature Ecology and Evolution, Trends in Ecology and Evolution, PLoS One, Animal Genetics, Genetic Selection Evolution, Frontiers in Genetics, Journal of Dairy Research, itd.). Recezent je u mnogim znanstvenim časopisima. Od 2016. do 2019. voditelj je radnog paketa zavodskog projekta "Smart Integration of Genetics with Sciences of the Past in Croatia: Minding and Mending the Gap" ("MendTheGap") koji je u pozivu H2020-TWINN-2015 (Twinning: Spreading excellence and Widening Participation) bio najbolje rangirani projekt od ukupno 546 prihvaćenih projekata. Suradnik je u nekoliko EU projekata. Od 2018 – 2023 voditelj je HRZZ projekta ANAGRAMS (Primjena NGS metoda u procjeni genomske varijabilnosti preživača, IP-2018-01-8708) te od 2023. projekta GABridge (Premošćivanje disciplinarnog jaza: integracija animalne genetike i arheologije u Hrvatskoj, IP-2022-10-8926). Operativno je vodila izgradnju arheogenetičkog laboratorija Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu čija je izgradnja završila 30.04.2021 godine te je voditeljica Laboratorija za arheogenetiku Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvala

Želim izraziti najiskreniju zahvalnost svima koji su doprinijeli izradi ove disertacije.

Najprije zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Vlatki Čubrić Čurik, na strpljenju, podršci i neizmjernom znanju koje je dijelila sa mnom. Vaše smjernice i savjeti bili su neprocjenjivi tijekom cijelog istraživačkog procesa.

Posebnu zahvalu upućujem prof. dr. sc. dr. h. c. Ini Čuriku na iznimno korisnim predavanjima te iscrpnim i jednostavnim objašnjenjem svega kompliciranog. Vaša stručnost i posvećenost značajno su doprinijeli kvaliteti ovog rada.

Zahvaljujem i dr. sc. Ivani Držaić na beskrajnoj potpori i ohrabrenju, korisnim savjetima i neprocjenjivoj prijateljskoj pomoći.

Zahvaljujem Ministarstvu poljoprivrede, šumarstva i ribarstva te Banci gena domaćih životinja na ustupanju uzoraka.

Hvala i Slovak University Faculty of Agrobiology and Food Resources na ustupljenim uzorcima.

Posebno zahvaljujem dr. sc. Mariu Shihabiju na pomoći u izračunu ROH-ova.

Najveća hvala mojim kćerima Petri Pomper, mag. ing. oecoling., univ. spec. oec. i Heleni Orehovački, mag. pharm. što su me cijelo vrijeme podupirale u ostvarenju mojih ciljeva i što su shvatile da im mama nikad neće prestati učiti. Viktor će jednog dana razumjeti.

Hvala mom suprugu Petru što mi nije dozvolio da odustanem.

Posebno hvala Mariu Pomperu bacc. med. techn. i Armisu Ališiću bacc. ing. techn. inf. na potpori i podršci.

Zahvaljujem i kolegama iz Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i ribarstva Romanu Jelenu, mag. ing. agr., Tomislavu Anđeliću, dr. med. vet., Krunoslavu Kopriću, dr. med. vet., Mariu Tretinjaku, mag. ing. agr., Mateju Bolčiću, mag. ing. agr. i Mladenu Peku, mag. ing. agr. na razumijevanju i moralnoj podršci.

Hvala i svim mojim prijateljima na potpori za koju nisu ni bili svjesni da su mi je dali.

I hvala mojoj mami.

I na kraju, veliko hvala dr. sc. Mati Čačiću koji je uvijek vjerovao u mene, poticao me za korak unaprijed i beskrajno puta bio uz mene.

Hvala svima od srca.

Vesna Orehovački

Sažetak

Očuvanje biološke raznolikosti danas se prepoznaje kao jedan od ključnih izazova u poljoprivredi i zaštiti prirodnih resursa. Gubitak samo jedne pasmine predstavlja nenadoknadivu i neprocjenjivu štetu. Koze su zbog svoje prilagodljivosti, otpornosti i sposobnosti preživljavanja u nepovoljnim agroekološkim uvjetima, osobito važne za održivu poljoprivredu. Hrvatsko je kozarstvo kroz povijest bilo izloženo brojnim restrikcijama i zabranama, a njihove se posljedice osjećaju i danas. Ova doktorska disertacija temelji se na genomskoj analizi dviju izvornih pasmina koza u Republici Hrvatskoj – hrvatske šarene i istarske koze s ciljem cjelovitog uvida u njihov genetički sastav i konzervacijski potencijal. Pasmine su geografski odvojene, istarska obitava u Istri, dok se hrvatska šarena koza uzgaja na području Velebita, Dinare, Kamešnice i Biokova. Istraživanje se temelji na podacima dobivenima genotipizacijom 32 uzorka hrvatske šarene i 10 uzoraka istarske koze korištenjem SNP čipa (Goat_IGGC_65K), te njihovom usporedbom s dostupnim genotipskim podacima 55 europskih pasmina koza. Istraživanjem genetičke raznolikosti utvrđeno je da su dvije hrvatske pasmine genetički različite. Utvrđena je jasna diferencijacija između hrvatskih pasmina ($F_{ST}=0,045$). Istarska koza bila je genetički udaljenija od većine analiziranih pasmina u odnosu na hrvatsku šarenu. Najmanje F_{ST} vrijednosti hrvatska šarena koza pokazala je u odnosu na rumunjsku carpatian (0,011), a najveću s bezoarom (0,113). Kod istarske koze najveća genetička udaljenost također je zabilježena u odnosu na bezoar (0,144), a najmanja u odnosu na austrijsku styrian pied (0,043). Takve genetičke udaljenosti i grupiranje hrvatskih koza u različite klastere potvrdili u rezultati analize glavnih komponenti (PCA), Nei genetičkih udaljenosti (Neighbour-Net mreža), procjene genetičke strukture i razine miješanja (Admixture) kao i filogenetičkog stabla (SplitsTree). Rezultati analize unutar populacijskih odnosa pokazali su veću opaženu heterozigotnost u odnosu na očekivanu i negativne vrijednosti F_{IS} kod obje pasmine, što ukazuje na manju srodnost među jedinkama i višak heterozigota. Prosječne vrijednosti genetičkog inbridinga (F_{ROH}) iznose 0,054 za hrvatsku šarenu i 0,059 za istarsku kozu, dok je kod obje pasmine uočen najveći udio inbridinga u kategoriji > 16 Mb, a najmanji u kategoriji 2–4 Mb. Trenutna efektivna veličina populacije (N_e) procijenjena je na 477 za hrvatsku šarenu te 27 za istarsku kozu. Otkrivene su regije s jakim signalima selekcije (iHS) devet kod hrvatske šarene koze i pet kod istarske koze. Ove regije upućuju na lokalne prilagodbe i potencijalno korisne varijacije. Promatrajući u širem mediteranskom kontekstu, hrvatska šarena koza grupirala se s pasminama iz srednje i južne Italije, Rumunjske i Grčke, dok se hrvatska istarska koza pozicionirala bliže kozama sjevernog Mediterana.

Ključne riječi: hrvatske pasmine koza, genetička raznolikost, struktura populacije, konzervacijski status

Extended summary

The preservation of biological diversity is recognized as one of the key challenges in agriculture and natural resource management. The loss of even a single breed represents an irreplaceable and invaluable loss. Due to their adaptability, resilience, and ability to survive in harsh agroecological conditions, goats are particularly important for sustainable agriculture. In Croatia, goat farming has historically faced numerous restrictions and prohibitions, the consequences of which remain evident today. This doctoral dissertation is based on a genomic analysis of two indigenous Croatian goat breeds – the Croatian spotted and the Istrian goat – with the aim of providing insight into their genetic composition and conservation potential. The breeds are geographically separated: the Istrian is found in the Istrian peninsula, while the Croatian spotted is bred in the mountainous regions of Velebit, Dinara, Kamešnica and Biokovo. The study used genotyping data from 32 Croatian spotted and 10 Istrian goats (Goat_IGGC_65K SNP chip), compared with genotypes from 55 European breeds. Analysis confirmed that the two Croatian breeds are genetically distinct, with clear differentiation between them ($F_{ST} = 0.045$). The Istrian goat was genetically more distant from most analysed breeds. The lowest F_{ST} for the Croatian spotted was with Romanian carpatian (0.011), and the highest with bezoar (0.113). For the Istrian, the greatest distance was also with bezoar (0.144), and the smallest with Austrian styrian pied (0.043). These distances and breed clustering were confirmed by principal component analysis (PCA), Nei genetic distance (Neighbour-Net), population structure (Admixture), and phylogenetic tree (SplitsTree). Within-population results showed higher observed than expected heterozygosity and negative F_{IS} values, indicating low relatedness and heterozygote excess. Average genomic inbreeding (F_{ROH}) was 0.054 for Croatian spotted and 0.059 for Istrian goat, with most inbreeding in >16 Mb and least in 2–4 Mb ROH category. Effective population size (N_e) was estimated at 477 for Croatian spotted and 27 for Istrian goat. Genomic regions under strong selection signals (iHS) were detected – nine in Croatian spotted and five in Istrian goat – suggesting local adaptations and valuable variants. In the broader Mediterranean context, Croatian spotted clustered with breeds from central and southern Italy, Romania, and Greece, while Istrian grouped closer to northern Mediterranean breeds.

Keywords: Croatian goat breeds, genetic diversity, population structure, conservation status

„If I read the genome out to you at the rate of one word per second for eight hours a day, it would take me a century. If I wrote out the human genome, one letter per millimetre, my text would be as long as the River Danube. This is a gigantic document, an immense book, a recipe of extravagant length, and it all fits inside the microscopic nucleus of a tiny cell that fits easily upon the head of a pin“. (Matt Ridley, 2000).

„Ako vam pročitam genom brzinom od jedne riječi u sekundi tijekom osam sati dnevno, trebalo bi mi stoljeće. Kad bih ispisao ljudski genom, jedno slovo po milimetru, moj tekst bi bio dugačak kao rijeka Dunav. Ovo je gigantski dokument, ogromna knjiga, tekst neobične duljine, smješten u mikroskopsku jezgru malene stanice koja lako stane na vrh igle.“ (Matt Ridley, 2000).

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Hipoteze	3
1.2. Ciljevi.....	3
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	4
2.1. Sistematika i rasprostranjenost koza	5
2.2. Porijeklo i domestikacija koza	8
2.3. Migracija koza	10
2.4. Genetička karakterizacija	11
2.4.1. Genom koza	12
2.4.2. Genetički biljezi	13
2.4.3. Molekularni biljezi.....	14
2.4.3.1. Sekvence mitohondrijske DNA (mtDNA).....	15
2.4.3.2. Y kromosom	18
2.4.3.3. Autosomalni biljezi	20
2.4.4. Genetička raznolikost i molekularni alati	27
2.4.5. Seleksijski potpisi.....	34
2.5. Povijest uzgoja koza na području Republike Hrvatske.....	36
2.6. Izvorne pasmine koza u Republici Hrvatskoj	39
2.6.1. Hrvatska šarena koza	39
2.6.2. Istarska koza.....	40
3. MATERIJAL I METODE	42
3.1. Uzorkovanje i ekstrakcija DNA	42
3.2. Genotipizacija, kontrola kvalitete i odabir genotipova	44
3.3. Analiza genetičke strukture populacija koza	46
3.3.1. Srodnost između populacija	46
3.3.2. Protok gena	46
3.3.3. Struktura populacija	46
3.4. Procjena konzervacijskog statusa hrvatskih izvornih pasmina koza.....	48
3.4.1. Genetička raznolikost.....	48
3.4.2. Genomski inbriding	48
3.4.3. Efektivna veličina populacije	49
3.4.4. Identifikacija signala selekcije	49
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	51
4.1. Kvaliteta i čistoća DNA	51
4.2. Definiranje i grupiranje genotipova	51

4.3. Genetički odnosi i struktura populacija	52
4.3.1. Analiza glavnih komponenata (PCA)	52
4.3.2. Filogenetički odnosi i protok gena	55
4.3.3. Genetička struktura i razina miješanja populacija	60
4.4. Konzervacijski status hrvatske šarene koze i istarske koze	65
4.4.1. Genetička raznolikost	65
4.4.2. Genomski inbriding	65
4.4.3. Trenutna i povijesna efektivna veličina populacije	68
4.4.4. Identifikacija signala selekcije	69
5. RASPRAVA	72
5.1. Priprema uzoraka i genotipizacija	73
5.2. Analiza glavnih komponenti	74
5.3. Genetička udaljenost	75
5.4. Protok gena	76
5.5. Razina genetičke povezanosti	78
5.6. Genetička struktura populacija	79
5.7. Genetička raznolikost	80
5.8. Genomski inbriding	82
5.9. Efektivna veličina populacije	84
5.10. Signali selekcije	86
6. ZAKLJUČCI	89
7. POPIS LITERATURE	91
8. ŽIVOTOPIS	124
Popis objavljenih radova A1 razine:	125
Popis ostalih objavljenih radova:	125
9. PRILOZI	127

Popis kratica

A_{260} / A_{280}	omjer apsorbancije pri valnim duljinama 260 i 280 nm
AFLP	eng. amplified fragment length polymorphism – polimorfizam duljine amplificiranih fragmenata
AnGR	Animal Genetic Resource – životinjski genetički resursi
AP-PCR	eng. arbitrarily primed PCR – PCR s nasumičnim početnicama
ATP	eng. adenosine triphosphate – adenzin-trifosfat
BAG	Banka animalnih gena
bp	eng. base pair – par baza
cm	centimetri
CRP	Coordinated Research Project
CV	eng. cross-validation – unakrsna provjera
D-loop	eng. displacement loop – D-petlja
DNA	eng. deoxyribonucleic – deoksiribonukleinska kiselina
EHH	eng. extended haplotype homozygosity – proširena homozigotnost haplotipa
eROHi	eng. extreme runs of homozygosity islands – prošireni otoci homozigotnih regija
F	eng. inbreeding coefficient – koeficijent inbridinga
F_{IS}	inbriding koeficijent
F_{ROH}	eng. genomic inbreeding coefficient – genomski inbriding izračunat preko ROH
F_{ST}	eng. fixation indeks – fiksacijski indeks
FAO	Food and Agriculture Organization – Organizacija za hranu i poljoprivredu
H_o	eng. observed heterozygosity – opažena heterozigotnost
H_E	eng. expected heterozygosity – očekivana heterozigotnost
HWE	eng. Hardy-Weinberg equilibrium – Hardy-Weinbergova ravnoteža
IAEA	International Atomic Energy Agency – Međunarodna agencija za atomsku energiju
IBD	eng. identical by descent – jednaki po porijeklu
IGGC	International Goat Genome Consortium – Međunarodni konzorcij za genom koza
iHS	eng. integrated haplotype score – integrirani rezultat haplotipova
ISGC	International Sheep Genome Consortium – Međunarodni konzorcij za genom ovaca
IUCN	International Union for Conservation of Nature – Međunarodna unija za očuvanje prirode
K	broj pretpostavljenih populacija u analizi genetičke strukture
kb	kilobaza
kg	kilogram
LD	eng. linkage disequilibrium – neravnoteža vezanosti gena
log	logaritam
Mb	megabaza

mtDNA	eng. mitochondrial DNA – mitohondrijska DNA
n	eng. number - broj
NADH	eng. nicotinamide adenine dinucleotide – nikotinamid adenin dinukleotid
NCBI	National Center for Biotechnology Information – Nacionalni centar za biotehnoške informacije
N _e	eng. effective population size – efektivna veličina populacije
N _{eAV}	eng. additive genetic variance effective population size – efektivna veličina populacije temeljena na aditivnoj genetičkoj varijanci
N _{eCO}	eng. coalescence effective population size – efektivna veličina populacije određena prosječnim vremenom do zajedničkog pretka (koalescencijom)
N _{eGD}	eng. gene diversity effective population size – efektivna veličina populacije temeljena na genskoj raznolikosti
N _{eI}	eng. inbreeding effective population size – efektivna veličina populacije temeljena na inbridingu
N _{eLD}	eng. linkage disequilibrium effective population size – efektivna veličina populacije temeljena na neravnoteži vezanih gena
N _{eV}	eng. additive genetic variance effective population size – efektivna veličina populacije temeljena na aditivnoj genetičkoj varijanci
N _c	eng. total census sizes – ukupna brojnost populacije
ng	nanogram
ng/μl	nanograma po mikrolitru
nm	nanometar
pb	par baza
PCA	eng. principal component analysis – analiza glavnih komponenti
PCR	eng. polymerase chain reaction – lančana reakcija polimerazom
RAPD	eng. random amplification of polymorphic DNA – nasumično umnožena polimorfna DNA
RFLP	eng. restriction fragment length polymorphism – polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata
RNA	eng. ribonucleic acid – ribonukleinska kiselina
ROH	eng. runs of homozygosity – homozigotne regije
rRNA	eng. ribosomal ribonucleic acid – ribosomna RNA
SE	eng. standard error – standardna pogreška
SNP	eng. single nucleotide polymorphism – polimorfizam jednog nukleotida
SSR	eng. simple sequence repeats – jednostruki ponavljajući sekvencijski nizovi ili mikrosateliti
tRNA	eng. transfer ribonucleic acid – transportna RNA
UNEP	The United Nations Environment Programme
VNTR	eng. variable number of tandem repeat – varijabilni broj tandemskih ponavljanja
XP-EHH	eng. cross-population-extended haplotype homozygosity – proširena homozigotnost haplotipova na više populacija

Popis tablica

Tablica 1. Kategorije molekularnih biljega, njihov tip nasljeđivanja i upotreba	15
Tablica 2. Pregled razvoja SNP čipova za domaće životinje prema godini objave.....	24
Tablica 3. Genetičke udaljenosti odabranih pasmina koza (F_{ST}).....	61
Tablica 4. Genetička raznolikost hrvatske šarene koze i istarske koze.....	65
Tablica 5. Efektivna veličina populacije hrvatskih pasmina koza	68

Popis slika

Slika 1. Procijenjeni vremenski okvir domestikacije životinja; izvor: MacHugh i sur. (2017). (preuzeto s: https://www.sciencenews.org/article/dna-evidence-rewriting-domestication-origin-stories ; pristup i izmjena: 24.6.2022.).....	4
Slika 2. Geografska rasprostranjenost divljih koza; izvor: Shackleton (1997)	6
Slika 3. Glavni morfološki tipovi rogova divljih koza: a) ibex tip (<i>Capra ibex</i> , <i>Capra nubiana</i> , <i>Capra sibirica</i> i <i>Capra caucasica</i>); b) španjolska koza (<i>Capra pyrenaica</i>); c) istočni tur (<i>Capra cylindricornis</i>); d) markhor (<i>Capra falconeri</i>); e) bezoar tip (<i>Capra aegagrus</i>); izvor: Pidancier i sur. (2006)	7
Slika 4. Geografska rasprostranjenost domaćih koza; izvor: FAO (preuzeto s: https://www.fao.org/livestock-systems/global-distributions/goats/en/ ; pristup: 24.6.2022.)	8
Slika 5. Put širenja domesticiranih koza u Europu; izvor: Fernandez i sur. (2006), izmjena 1.7.2025.	10
Slika 6. Kariotip muške koze; izvor: Hansen (1973).....	13
Slika 7. Struktura mitohondrijske DNA; izvor: Nacionalni institut za istraživanje ljudskog genoma (preuzeto s: https://wou.edu/chemistry/courses/online-chemistry-textbooks/ch450-and-ch451-biochemistry-defining-life-at-the-molecular-level/chapter-4-dna-rna-and-the-molecular-level/chapter-4-dna-rna-and-the-human-genome/ ; pristup i izmjena: 24.6.2022.)	16
Slika 8. Struktura Y kromosoma, izvor: Genetic education (preuzeto s: https://geneticeducation.co.in/explaining-the-y-chromosome-definition-structure-and-function/ ; pristup i izmjena: 3.8.2022.).....	19
Slika 9. Razvoj genetike kroz povijest; izvor: Durmaz i sur., 2015 (preuzeto s: https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/461524/ ; pristup i izmjena: 24.6.2022)	28
Slika 10. Hrvatska šarena koza; izvor: Ministarstvo poljoprivrede (https://bag.mps.hr/hrvatske-izvorne-i-zasticene-pasmine/hrvatska-sarena-koza/ ; pristup: 24.6.2022.).....	40
Slika 11. Istarska koza; izvor: Hrvatski savez uzgajivača ovaca i koza (http://www.ovce-koze.hr/ovcarstvo-kozarstvo/ovcarstvo-i-kozarstvo-u-rh/kozarstvo-u-rh/pasmine-koza/istarska-koza/ ; pristup: 24.6.2022.).....	41
Slika 12. Geografske lokacije uzgoja uzorkovanih jedinki hrvatskih pasmina koza (istarska koza – plavo, hrvatska šarena koza – crveno)	42
Slika 13. Omnidoc gel documentacion system, Cleaver Scientific	43
Slika 14. Geografska karta lokacija koza korištenih za genomsku analizu	45

Slika 15. Nei distance prikazane Neighbour-Net mrežom korištenjem softvera SplitsTree	56
Slika 16. Stablo maksimalne vjerojatnosti.....	59
Slika 17. Grafički prikaz rezultata Admixture analiza za $K = 2$, $K = 3$, $K = 5$ i $K = 10$	64
Slika 18. Distribucija F_{ROH} genetskog koeficijenta za dvije hrvatske pasmine koza i jedanaest europskih pasmina. a) – Raspodjela vrijednosti F_{ROH} po jedinki (box plot) koji uključuje središnju vrijednost (medijan), interkvartilni raspon (između prvog i trećeg kvartila s 50 % podataka), donju i gornju granicu (raspon podataka koje nisu ekstremne vrijednosti) te outliere (vrijednosti koje odstupaju od ostatka) i b) – Srednje vrijednosti F_{ROH} po pasmini (stupčasti dijagram) koji prikazuje četiri kategorije: 2-4 Mb, 4-16 Mb, 8-16 Mb i > 16 Mb.....	66
Slika 19. Manhattan plot iHS i eROHi vrijednosti izračunatih za svaki SNP u populacijama hrvatske šarene koze (A) i istarske koze (B). Značajni SNP-ovi unutar identificiranih regija pod pozitivnom selekcijom (crvena boja), pojedinačni značajni SNP-ovi kod iHS metode (svijetloplava boja), razina značajnosti ($-\log_{10}(P) \geq 3$) (isprekidana linija ružičasta boja).	70

Popis grafova

Graf 1. Analiza glavnih komponenti (PCA) za cijeli set podataka; A hrvatska šarena koza i B istarska koza	53
Graf 2. Prikaz optimalnog broja migracija	57

1. UVOD

Suživot čovjeka i domaćih životinja započeo je s prvim procesima domestikacije i oblikovao je razvoj ljudskih zajednica. Iz početnih centara domestikacije, životinje su pratile ljude tijekom migracija, postupno se prilagođavajući uvjetima novih okoliša formirajući autohtone vrste i pasmine. Bile su vrlo otporne na bolesti i skromnih zahtjeva za hranidbom i njegom, a ljudi su njima upravljali na održiv način. Kao rezultat težnje za povećanjem proizvodnih sposobnosti, započinje se s prvim postupcima selekcije temeljenima na odabiru jedinki prema fenotipskim karakteristikama, a upravljanje je usmjereno na kontroliranje križanje i razmnožavanje. Postupci selekcije razvijali su se kroz godine što je, u novijoj povijesti, rezultiralo stvaranjem visokoproduktivnih i ekonomski isplativijih vrsta i pasmina domaćih životinja. Te su pasmine postupno potiskivale iz uzgoja tradicionalne autohtone, što je rezultiralo značajnim smanjenjem njihova broja, a u nekim slučajevima i potpunim nestankom.

Koze su bile među prvim domesticiranim životinjama, što je potvrđeno arheološkim nalazima s područja Bliskog istoka (Zeder i Hesse, 2000; Zeder, 2005; Daly i sur., 2021). Utvrđena su tri glavna migracijska puta iz područja domestikacije prema Aziji, Africi i Europi. U Europu su pristigle balkanskom i mediteranskom rutom (Fernandez i sur., 2006; Tresset i Vigne, 2011). U postneolitičkom razdoblju, Sredozemno more imalo je ključnu ulogu u trgovini kozama, što je dodatno oblikovalo genski fond europskih koza, uključujući i hrvatske autohtone pasmine. Bile su poželjni pratioci ljudi zbog male tjelesne mase i čest predmet trgovanja, te zahvaljujući izvanrednoj prilagodljivosti vrlo brzo su se proširile diljem svijeta, uključujući i područja nepogodna za uzgoj drugih domaćih životinja.

Genetičku raznolikost čine nasljedne varijacije unutar vrste, a u najvećoj mjeri određuju je različiti geni koji su odgovorni za biološke osobine, razlike i sličnosti među organizmima. Svaka populacija i svaka jedinka imaju svoj specifični genetički sastav formiran i adaptiran tijekom minulih vremena, a to se bogatstvo ogleda u postojanju brojnih pasmina. Narušavanje genetičke raznolikosti gubitkom samo jedne pasmine predstavlja neprocjenjivu i nenadoknadivu štetu.

Lokalno adaptirane pasmine nisu samo nosioci vrlo važnih gena, one su u tisućljetnom suživotu s čovjekom postale dijelom povijesti, tradicije i kulture. Povijest nastanka, domestikacija, zaštita i očuvanje, posebice autohtonih pasmina, već je niz godina tema znanstvenika diljem svijeta.

Stočarstvo je u prošlosti bilo ključan dio života u Republici Hrvatskoj, a uzgoj autohtonih vrsta domaćih životinja bio je usklađen s prirodnim ciklusima i resursima. Snažan

utjecaj globalnih trendova, poput urbanizacije, uvođenja mehanizacije i uzgoj visokoproduktivnih pasmina rezultirao je znatnim smanjenjem njihovog broja. Kozarstvo je dodatno bilo pogođeno nepovoljnim zakonskim odredbama tijekom 19. i 20. stoljeća, kojima se zabranjivao i ograničavao njihov uzgoj radi zaštite šuma i mladih nasada.

Krajem 20. stoljeća, s porastom svijesti o važnosti očuvanja biološke raznolikosti i kulturne baštine, intenzivirali su se naponi na očuvanju autohtonih pasmina u Republici Hrvatskoj. Usvojeni su zakoni koji reguliraju održivo upravljanje ovim vrijednim genetičkim resursima. Trenutno, Nacionalni program očuvanja izvornih i ugroženih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj 2021. – 2025. ima ključnu ulogu u očuvanju i održivoj uporabi ovih pasmina.

Općenito su koze u Europi najmanje proučavane u usporedbi s drugim domaćim životinjama, zbog male zastupljenosti u uzgoju. Dosadašnja istraživanja na populacijama hrvatske šarene i istarske koze nedostatna su i oskudna, a uz to nema podataka da su ove dvije populacije bile podvrgnute suvremenim metodama selekcije. Geografski su populacije odvojene, istarska se koza prvenstveno uzgaja na području Istre, dok je hrvatska šarena koza šire rasprostranjena na području južnog Velebita, Dinare, Kamešnice i Biokova.

Za sveobuhvatno razumijevanje evolucijskih procesa, genetičke raznolikosti, prilagodbenih osobina i selekcijskih pritisaka kod ovih dviju pasmina neophodna je analiza cijelog genoma pomoću SNP-ova. Takvi genetički podaci pružaju temelj za izradu smjernica za očuvanje, održivi uzgoj i potencijalnu revitalizaciju ugroženih populacija, čime se osigurava očuvanje njihove genetičke raznolikosti i kulturne vrijednosti.

Općenito, analize DNA u današnje vrijeme imaju veliku praktičnu primjenu. Analize mitohondrijske DNA vrlo su dobar genetički biljeg za proučavanje porijekla, mikrosateliti se mnogo koriste u selekciji, a analize cijelog genoma preko SNP-ova neophodne su za proučavanje procesa koji su se dogodili u prošlosti, procjenu genetičke raznolikosti, prilagodbe i različitih selekcijskih procesa.

Cilj ovog istraživanja je doprinijeti razumijevanju genetičke raznolikosti i evolucijskih procesa kod dviju autohtonih hrvatskih pasmina koza, hrvatske šarene i istarske koze, te pružiti znanstvene temelje za njihovo očuvanje i održiv uzgoj.

1.1. Hipoteze

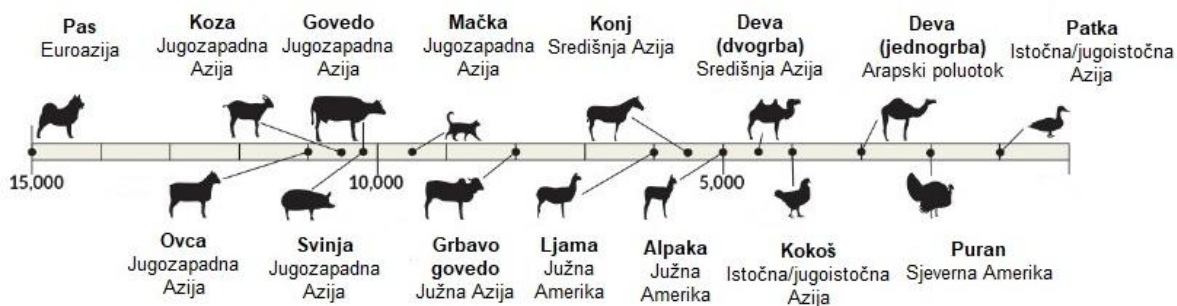
1. Hrvatska šarena koza i istarska koza su autohtone hrvatske pasmine koje se mogu identificirati s molekularnim biljezima,
2. Hrvatske autohtone pasmine koza najviše su srodne kozama s područja središnjeg Mediterana,
3. U genomu hrvatske šarene i istarske koze postoji varijabilnost koja pokazuje signale selekcije (adaptacije).

1.2. Ciljevi

1. Genotipizirati izvornu populaciju visoko rezolutnim SNP čipom,
2. Istražiti genetičku raznolikost i utvrditi pozicioniranje među svjetskim pasminama koza,
3. Procijeniti status konzervacije (inbriding i efektivnu veličinu populacije),
4. Procijeniti regije genoma koje su pod selekcijom,
5. Identificirati specifične regije genoma.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

U povijesti suvremenih ljudi, lov na divlje životinje i sakupljanje biljaka bile su glavne strategije opstanka. Prije otprilike 15.000 godina (slika 1) započela je domestikacija životinja i biljaka (MacHugh i sur., 2017), a ljudi su njima počeli aktivno upravljati. Kroz stoljeća, životinje su postale ključni nosioci važnih gena prilagođavajući se uvjetima uzgoja. Prije otprilike dvjesto godina uslijedilo je razdoblje selekcije s ciljem stvaranja novih, visokoproduktivnih pasmina, što je dovelo danas do potiskivanja lokalnih izvornih pasmina iz uzgoja. Ovakvi postupci značajno narušavaju genetičku raznolikost. Krajem prošlog stoljeća prepoznata je važnost očuvanja genetičke raznolikosti, te je postalo općeprihvaćeno da njezin gubitak predstavlja neprocjenjivu štetu kako na lokalnoj, tako i na globalnoj razini.

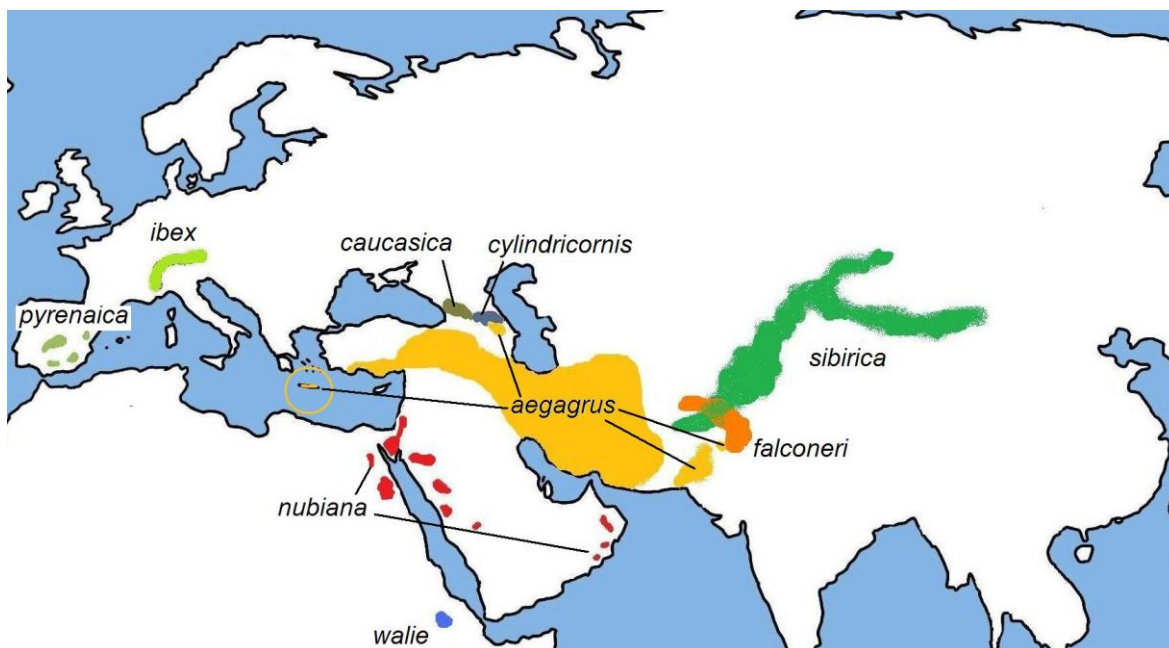


Slika 1. Procijenjeni vremenski okvir domestikacije životinja; izvor: MacHugh i sur. (2017). (preuzeto s: <https://www.sciencenews.org/article/dna-evidence-rewriting-domestication-origin-stories>; pristup i izmjena: 24.6.2022.)

2.1. Sistematika i rasprostranjenost koza

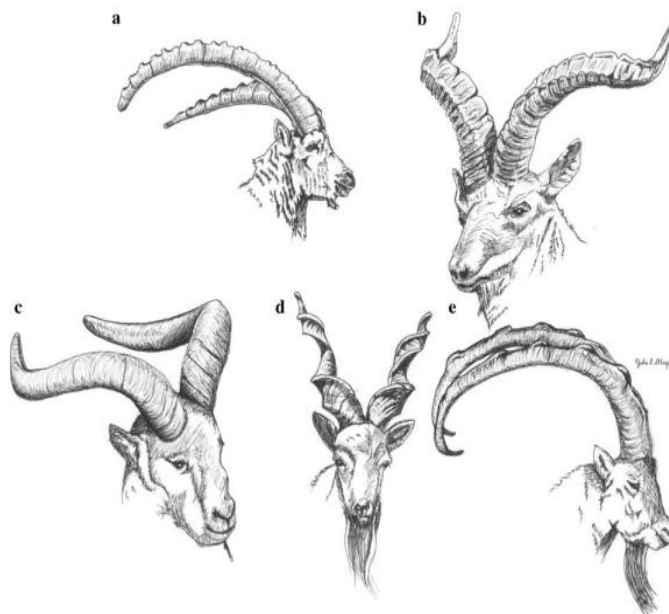
Koza pripada porodici šupljorožaca (*Bovidae*) i podporodici koza i ovaca (*Caprinae*). Prema Haltenorthu (1963), rod *Capra* bio je prvotno prepoznat samo s dvjema vrstama: *Capra ibex* i *Capra aegagrus*. Kasnije je Shackleton (1997) proširio ovu klasifikaciju uključujući domaće koze (*Capra hircus*) i devet divljih vrsta: *Capra pyrenaica*, *Capra ibex*, *Capra caucasica*, *Capra cylindricornis*, *Capra aegagrus*, *Capra sibirica*, *Capra falconeri*, *Capra nubiana* i *Capra walie*. Grubb (2005) potvrđuje većinu ovih vrsta, ali navodi da je *Capra cylindricornis* podvrsta *Capra caucasica*, a *Capra nubiana* podvrsta *Capra ibex*. Prema najnovijoj taksonomiji Nacionalnog centra za biotehnološke informacije (eng. The National Center for Biotechnology Information, NCBI) rod *Capra* uključuje sedam vrsta: *Capra hircus*, *Capra pyrenaica*, *Capra ibex*, *Capra caucasica*, *Capra aegagrus*, *Capra sibirica*, *Capra falconeri*, dok su *Capra cylindricornis* i *Capra nubiana* priznate kao podvrste. Međunarodna unija za očuvanje prirode (eng. International Union for Conservation of Nature, IUCN) priznaje taksonomiju od Shackletona iz 1997. godine, koja uključuje *Capra nubiana* kao posebnu vrstu.

Prema Shackletonu (1997), devet vrsta divljih koza obitava u ograničenim planinskim predjelima Europe, Afrike i Azije, a njihova geografska rasprostranjenost prikazana je na slici 2. Na Crvenom popisu ugroženih vrsta (IUCN Red List) nalazi se svih devet divljih koza s različitim stupnjevima ugroženosti. *Capra ibex* je jedina koja nije ugrožena, dok su *Capra pyrenaica*, *Capra falconeri*, *Capra nubiana*, *Capra aegagrus*, *Capra cylindricornis*, *Capra caucasica* i *Capra sibirica* klasificirane kao ranjive, a *Capra walie* je kritično ugrožena. Svaka od ovih vrsta suočava se s različitim stupnjevima rizika, zbog prijetnji kao što su gubitak staništa, lov i druge ljudske aktivnosti.



Slika 2. Geografska rasprostranjenost divljih koza; izvor: Shackleton (1997)

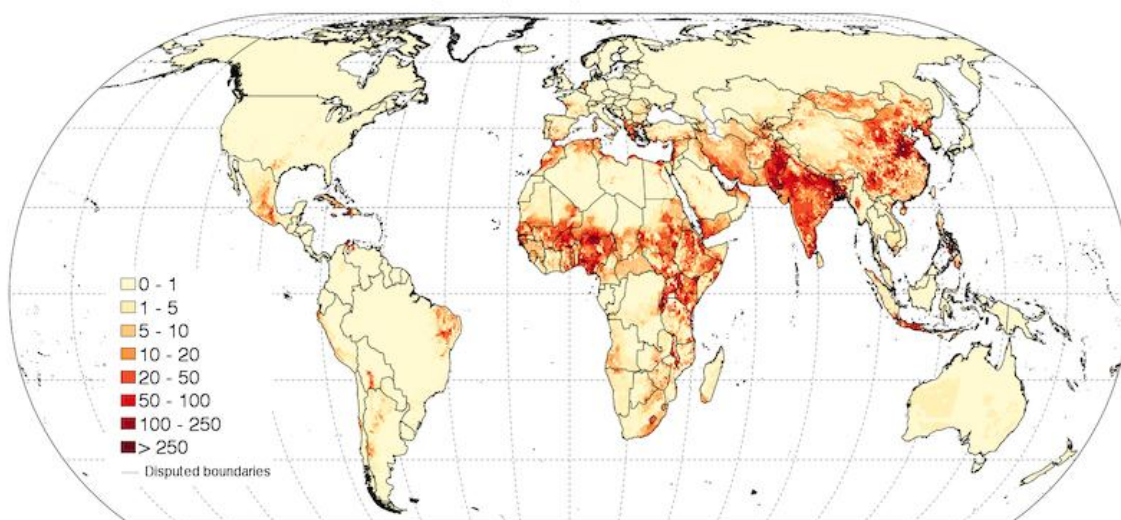
Divlje koze međusobno se značajno razlikuju, a Pidancier i sur. (2006) su se posebno osvrnuli na različite morfotipove rogova kod odraslih mužjaka (slika 3). Njihova istraživanja pokazuju da rogovi ovih životinja variraju ne samo zbog genetičkih čimbenika, već i zbog okolišnih uvjeta što ukazuje na složenost evolucijskih prilagodbi ovih vrsta. Također, divlje koze su izrazito spolno dimorfne, što znači da postoje jasne i uočljive razlike između mužjaka i ženki, ne samo u veličini i obliku rogova, već i u drugim fizičkim karakteristikama poput veličine tijela i robusnosti muskulature. Ove razlike, kao i različito ponašanje mužjaka i ženki, posebno u sezoni parenja, naglašavaju složenost njihove biološke prilagodbe i evolucijskog razvoja (Shackleton, 1997).



Slika 3. Glavni morfološki tipovi rogova divljih koza: a) ibex tip (*Capra ibex*, *Capra nubiana*, *Capra sibirica* i *Capra caucasica*); b) španjolska koza (*Capra pyrenaica*); c) istočni tur (*Capra cylindricornis*); d) markhor (*Capra falconeri*); e) bezoar tip (*Capra aegagrus*); izvor: Pidancier i sur. (2006)

U posljednjih dvadeset godina broj koza vrste *Capra hircus* značajno je varirao, odražavajući promjene u globalnoj populaciji i raznolikosti pasmina. Prema podacima iz 2007. godine, svjetska populacija koza brojala oko 851 milijun jedinki i 1.156 pasmina. Sedam godina kasnije, taj broj je porastao na jednu milijardu koza, obuhvaćajući 1.234 različite pasmine (Dowidar i sur., 2018). Prema izvješću FAO-a iz 2022. godine, 621 pasmina smatraju se autohtonim (lokalno prilagođenim), s različitim stupnjevima ugroženosti, dok je 18 pasmina izumrlo, od čega je 15 s područja Europe (Bertolini i sur., 2018).

Danas su koze rasprostranjene širom svijeta, od najudaljenijih otoka do svih kontinenata (Gilbert i sur., 2018; Nomura i sur., 2013). Nakon domestikacije, ove su životinje naselile područja u kojima se i danas uzgajaju (slika 4). Najveći broj koza nalazi se u Aziji, s 58,9 % svjetske populacije, dok ih je u Africi 34,1 %. U Europi, Americi i Oceaniji koze su manje zastupljene, s udjelima od 2,3, 4,4 i 0,4 % (Dowidar i sur., 2018). Deset zemalja s najvećom populacijom koza, koje čine 61,7 % svjetske populacije uključuju Indiju, Kinu, Nigeriju, Pakistan, Bangladeš, Čad, Keniju, Etiopiju, Sudan i Mongoliju (Popescu i sur., 2021). Prema podacima Eurostata iz 2021. godine, najviše koza u Europskoj uniji nalazi se u Grčkoj, Španjolskoj, Rumunjskoj, Francuskoj i Italiji.



Slika 4. Geografska rasprostranjenost domaćih koza; izvor FAO (preuzeto s: <https://www.fao.org/livestock-systems/global-distributions/goats/en/>; pristup: 24.6.2022.)

Capra aegagrus (bezoar) prepoznata je kao najznačajniji divlji predak domaćih koza (Manceau i sur., 1999; Monteiro i sur., 2018, Daly i sur., 2021). Tijekom godina domaće koze su evoluirale u odnosu na svoje divlje srodnike, što se očituje kroz razlike u fenotipskim karakteristikama, poput veličine tijela i rogova, boje kostrijeti, te u ponašanju, uključujući veću poslušnost i prilagodljivost različitim uvjetima (Zeder, 2006; Silanikove, 2000; Cieslak i sur., 2011; Bertolini i sur., 2018). Ove promjene, rezultat domestikacije, omogućile su kozama prilagodbu različitim klimatskim i ekološkim uvjetima širom svijeta.

U zemljama s nižim prihodima u Aziji, Africi i Latinskoj Americi, uzgajaju se lokalno prilagođene pasmine koza prvenstveno radi mlijeka i mesa. U sušnim regijama kozje mlijeko često predstavlja jedini izvor bjelancevina što dodatno naglašava važnost ovih životinja u prehrani i opstanku lokalnih zajednica (Miller i Lu, 2019).

Povezanost između evolucijskih promjena kod domaćih koza i globalne distribucije njihovih pasmina ističe važnost koza ne samo kao gospodarskog resursa, već i kao ključnih životinja u prilagodbi različitim ekološkim i klimatskim uvjetima širom svijeta.

2.2. Porijeklo i domestikacija koza

Papkari, zajedno s kopitarima i primatima, pojavili su se prije otprilike 55 do 55,5 milijuna godina, tijekom paleocensko-eocenskog toplotnog udara koji je doveo do značajnih evolucijskih promjena (Gingerich, 2006). Unatoč njihovoj dugoj evolucijskoj povijesti nedostatak paleontoloških podataka otežava precizno razumijevanje evolucijskog razvoja

roda *Capra*, a to je dijelom zbog nepovoljnih uvjeta za očuvanje fosila u planinskim područjima (Pidancier i sur., 2006).

Još je Darwin 1868. godine prepoznao da domaće životinje posjeduju slične morfološke osobine unatoč nedostatku bliskih evolucijskih veza s njihovim divljim srodnicima. Galton je 1907. godine sugerirao je da je domestikacija isključivo rezultat namjernog ljudskog djelovanja, te je naveo za primjer pretpostavku da su psi domesticirani nakon hvatanja i uzgoja štenaca vukova. Takav, jednostavan, tradicionalni model domestikacije temeljio se na pretpostavci da je proces započeo čovjek, što je uključivalo česta uska grla zbog odabira malog broja jedinki i reproduktivnu izolaciju između divljih i domesticiranih jedinki (Price, 2002; Driscoll i sur., 2009). Teorijski dobro definirani ključni događaji u ovakvom modelu, geografsko porijeklo i vremenski okvir, dugo je dominirao genetičkim istraživanjima (Frantz i sur., 2015). Pretpostavka reproduktivne izolacije olakšavala je genetičarima tumačenje podataka iz domesticiranih i divljih jedinki različitih vrsta početkom 20. stoljeća (Vilà i sur., 2001; Luikart i sur., 2001; Hanotte i sur., 2002; Larson i sur., 2005; Naderi i sur., 2008; Pedrosa i sur., 2005;).

U kasnijim istraživanjima, a na temelju zooarheoloških nalaza, dokazano je da su epizode domestikacije bile rijetke i da su se domesticirani oblici širili iz ograničenog broja regija (Larson i Fuller, 2014; Zeder, 2008) čime se počela osporavati jednostavnost tradicionalnog modela (Zeder, 2008; Zeder, 2012; Vigne, 2011). U složenijim modelima, prapovijesna domestikacija životinja uglavnom je bila nenamjerna, dok reproduktivna izolacija i selekcija nisu bile toliko bitne kako se ranije pretpostavljalo. Dobney i Larson (2006) zaključili su da se domestikacija mora promatrati kao dugotrajan i difuzni proces, koji uključuje protok gena (tijekom i nakon domestikacije) između divljih i domesticiranih populacija te specifičnim odnosima između ljudi i životinja. Domesticirane vrste rezultat su dugotrajnog i trajnog procesa koji dovodi do uspostavljanja novog fenotipa prilagođenom okolišu i ljudskim potrebama (Teletchea, 2019; Amills i sur., 2017). U tom kontekstu, domestikacija koza vjerojatno je slijedila „put plijena“, pri čemu su koze u početku lovljene, a kasnije je njihov uzgoj počeo biti kontroliran od strane ljudi (Zeder, 2012; Larson i Burger, 2013, Daly i sur., 2021).

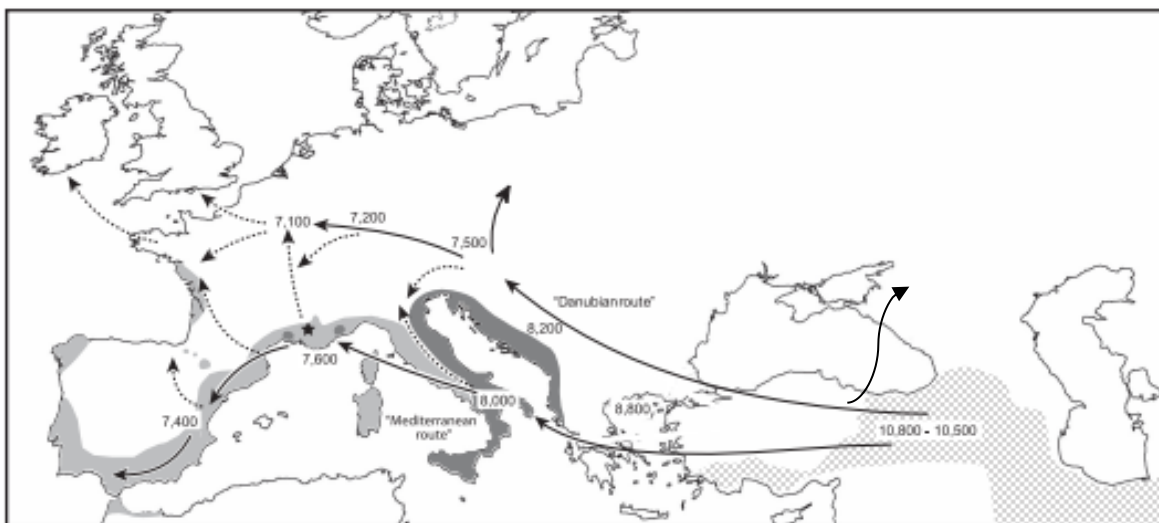
Domaća koza (*Capra hircus*) jedna je od prvih domesticiranih životinja. Iako porijeklo današnjih pasmina koza još uvijek nije potpuno razjašnjeno (Monteiro i sur., 2018), arheološki dokazi pokazuju da su bezoari (*Capra aegagrus*) najznačajniji divlji preci domaćih koza (Manceau i sur., 1999; Monteiro i sur., 2018), a da je njihova domestikacija započela na području Bliskog istoka (Zeder i Hesse, 2000; Naderi i sur., 2008, Daly i sur., 2021).

Identitet divljeg rodonačelnika većine domaćih životinja ostaje nejasan, jer su se mnoge divlje populacije križale s domesticiranim jedinkama, stvarajući plodno potomstvo. Stoga je intuitivna predodžba da svaka domaća životinja (kad se o njoj govori kao globalnoj populaciji) potječe samo od jedne divlje vrste gotovo sigurno netočna, a njezino genetičko porijeklo vrlo je složeno (Dobney i Larson, 2006; Groeneveld i sur., 2010).

Arheološki dokazi sugeriraju da je domestikacija koza započela u dvije neovisne regije, prije otprilike 10.500 godina prije sadašnjosti u dolinama Eufrata u jugoistočnoj Anatoliji (Helmer, 1992; Legge, 1996; Vigne i sur., 2005) i prije 9.900 do 9.500 godina u planinama Zagros (Zeder i Hesse, 2000; Peters i sur., 1999; Vigne i sur., 2005; Zeder, 2005; Daly i sur., 2021). Pretpostavke da je domestikacija koza bila na području južnog Levanta i Inda i Kine, ostaju nedokazane (Horwitz i sur., 1999; Amills i sur., 2017).

2.3. Migracija koza

Nakon domestikacije, koze su se brzo širile globalno, odigравši ključnu ulogu u neolitičkoj poljoprivrednoj revoluciji i napretku ljudske civilizacije. Njihova izvanredna prilagodljivost i sposobnost opstanka u područjima gdje druge vrste stoke ne bi mogle preživjeti, značajno su pridonijele brzom širenju koza širom Starog kontinenta (Amills i sur., 2017).



Slika 5. Put širenja domesticiranih koza u Europu; izvor: Fernandez i sur. (2006), izmjena 1.7.2025.

Arheološki dokazi pokazuju da su domesticirane koze prvi put migrirale na afrički kontinent iz jugozapadne Azije (Cooper, 1986), a paralelno su se širile i u Europu (slika 5). U Europi su se koze širile u dva glavna smjera balkanskom i mediteranskom rutom (Fernandez i sur., 2006; Tresset i Vigne, 2011), iako je potvrđena i treća ruta koja se odvaja

iz balkanske i nastavlja prema sjeveroistoku (Quiles, 2017). Najprije su se nastanile na Balkanu i u južnoj Italiji (Zilhão, 2001; Taberlet i sur., 2008).

Slični migracijski putevi postojali su i u Aziji, gdje su koze migrirale prema istoku, proširivši svoje prisustvo u jugoistočnu Aziju putem kopnenih i morskih putova (Nozawa, 1991; Porter i sur., 2016). Drugi važan put išao je preko euroazijskog stepskog pojasa, koji je povezao Bliski istok s Mongolijom i sjevernom Kinom (Nozawa, 1991; Pereira i Amorim, 2010; Porter i sur., 2016). U kasnijem razdoblju, između 15. i 18. stoljeća, koze su zajedno s europskim doseljenicima stigle na nova područja u Americi i Oceaniji (Amills i sur., 2017).

Sredozemno more imalo je ključnu ulogu i u postneolitičko doba kada se kozama aktivno trgovalo diljem mediteranskog bazena. Ta je trgovina olakšala protok gena i stvaranje novih pasmina pod utjecajem različitih čimbenika (Barker, 2001; Tresset i Vigne, 2011). Protok gena bio je posebno izražen među geografski bližim pasmina u jugoistočnoj Europi (Cañón i sur., 2006), dok je kod udaljenijih i izoliranijih pasmina bio ograničen (Pariset i sur., 2009).

U 19. i 20. stoljeću, došlo je do značajnog širenja visokoproduktivnih pasmina koza diljem svijeta, uglavnom europskog porijekla. Ovo razdoblje može se smatrati drugom fazom globalnog protoka gena (Lenstra, 2015), koje je oblikovalo suvremenu distribuciju i raznolikost pasmina koza.

2.4. Genetička karakterizacija

Poznavanje statusa bioraznolikosti ključno je za očuvanje i zaštitu domaćih životinja od izumiranja (Kawecka i sur., 2016). Jedna od metoda za procjenu bioraznolikosti je genetička varijacija u populaciji, pri čemu se koriste različiti molekularni biljezi. Najvažniji među njima su mikrosateliti, mitohondrijska DNA (eng. mitochondrial DNA, mtDNA) i polimorfizmi jednog nukleotida (eng. Single nucleotide polymorphism, SNP).

Od početka procesa domestikacije, razmjena i prijevoz domaćih životinja bili su usko povezani s migracijama ljudi i trgovinom, što je imalo značajan utjecaj na genetičke i demografske procese koji objašnjavaju svjetsku distribuciju različitih pasmina koza (Porter, 1996). Uzgoj koza temelji se na odabiru pasmina prema njihovoj specifičnoj namjeni, primjerice burska se uzgaja za meso, angorska i kašmirska za vlakna, dok se sanska, toggenburg, anglo-nubijan i alpska pasmina uzgajaju za mlijeko (Capote, 2016).

Današnja genetička raznolikost nosi molekularni potpis prošlih događaja uključujući brza demografska širenja, što pomaže u rekonstrukciji evolucijske povijesti koza i razumijevanju posljedica migracija (Bruford i sur., 2003; Naderi i sur., 2007). Međutim,

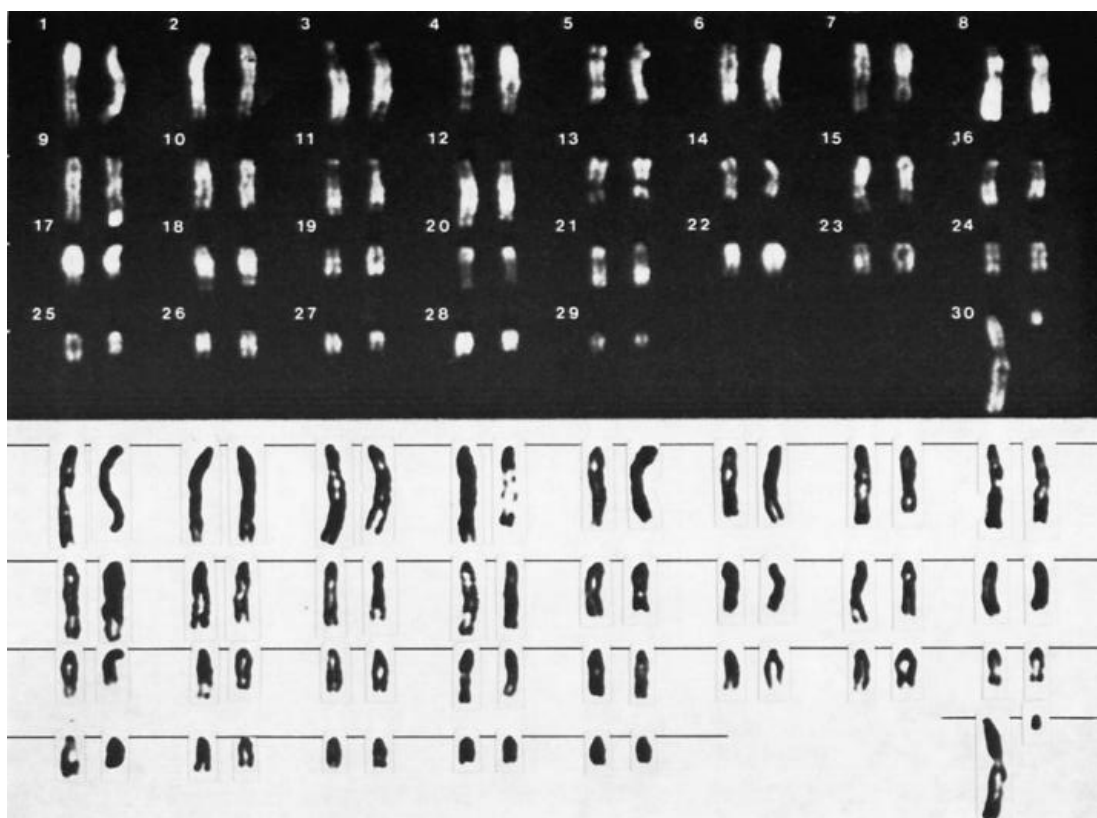
lokalne pasmine domaćih životinja suočene su s prijetnjama, ponajviše zbog neselektivnog križanja s komercijalnim pasminama i nekontroliranog miješanja populacija uslijed pritiska za povećanjem produktivnosti (Taberlet i sur., 2008; Hanotte i sur., 2010). Ajmone-Marsan i sur. (2014) ističu da je gubitak genetičke raznolikosti kod koza prvenstveno posljedica raseljavanja ljudi s rubnih ruralnih područja i prestanka uzgoja, a ne toliko križanja s drugim pasminama.

Biscarini i sur. (2015) dodatno naglašavaju da su populacije lokalnih pasmina često malobrojne iz različitih razloga: neke su oblikovne i prilagođene specifičnim regijama te ostale geografski izolirane, druge su zanemarene zbog nedostatka promocije i marketinga, dok su treće izgubile ekonomsku konkurentnost i time prestale biti zanimljive uzgajivačima.

Taberlet i sur. (2008) zaključuju da je stvarnu vrijednost biološke raznolikosti vrlo teško procijeniti. Također ističu da percepcija očuvanja genetičkih resursa domaćih životinja u javnosti nije jednaka kao, primjerice, percepcija očuvanje divovske pande ili kitova.

2.4.1. Genom koza

Broj kromosoma kod koza vrste *Capra hircus* iznosi 60 ($2n = 60$), a taj broj prvi je put utvrđen tijekom tridesetih godina prošlog stoljeća (Sokolov, 1930; Krallinger, 1931; Shiwago, 1931). U sklopu kariotipa, X kromosom je jedan od najvećih, dok je Y kromosom najmanji (slika 6) (Hansen, 1973).



Slika 6. Kariotip muške koze; izvor: Hansen (1973)

2.4.2. Genetički biljezi

Kroz povijest se iskazala se potreba za odabirom jedinki sa superiornim genetičkim potencijalom za slijedeće generacije što je dovelo do razvoja različitih biljega za olakšavanje selekcije i uzgoja.

Najčešće vrste biljega uključuju:

(1) morfološki biljezi – temelje se na fenotipskim karakteristikama životinja s ciljem identifikacije, klasifikacije i karakterizacije populacija i jedinki, a njihova pouzdanost i točnost su ograničeni jer se oslanjaju na subjektivne procjene i opise,

(2) citološki biljezi – temelje se na proučavanju broja kromosoma i njihove strukture, što omogućuje istraživanje genetičke raznolikosti usporedbom domaćih životinja i njihovih divljih predaka,

(3) biokemijski biljezi – uključuju alelne varijante enzima i koriste se za istraživanje genetičke varijacije unutar vrsta te za proučavanje filogenetičkih odnosa među vrstama,

(4) molekularni biljezi (DNA) – temelje se na mutacijama nukleotidnog slijeda na genomu, smatraju se najpouzdanijim biljezima zbog visoke preciznosti i sposobnosti da otkriju genetičke promjene na najsitnijoj razini.

Svaka vrsta biljega ima svoje specifične prednosti i ograničenja, a njihova kombinacija može pružiti sveobuhvatan uvid u genetičku raznolikost i evolucijsku povijest životinjskih populacija.

2.4.3. Molekularni biljezi

Molekularni biljezi su specifične DNA sekvence smještene na poznatim lokacijama na kromosomima, a mogu se pratiti kroz generacije, što omogućuje analizu genetičkih promjena i nasljednih karakteristika. Ovisno o tome podliježu li rekombinaciji tijekom mejoze, dijele se na nerekombinirajuće i rekombinirajuće biljege.

1. Nerekombinirajući molekularni biljezi

Ovi biljezi ne podliježu genetičkoj rekombinaciji, već se nasljeđuju kao cjelina s jednog roditelja. Zbog toga se koriste za praćenje jedne linije podrijetla (majčine ili očinske), a genetička varijabilnost u njima nastaje mutacijama, a ne rekombinacijom.

- Mitohondrijska DNA (mtDNA) – nasljeđuje se isključivo s majke na potomstvo, pokazuje visoku razinu varijabilnosti i koristi se za analizu majčinske linije i evolucijskih odnosa,

- Y-kromosomski haplotipovi – prenose se isključivo s oca na sina i služe za analizu očinske linije, filogenetičke studije i proučavanje populacijske strukture,

2. Rekombinirajući molekularni biljezi

Ovi biljezi podliježu rekombinaciji, procesu tijekom kojeg dolazi do izmjene genetičkog materijala između homolognih kromosoma u mejozi. Rekombinacija je važan izvor genetičke varijabilnosti, jer omogućuje nove kombinacije alela u potomstvu.

- Autosomalni biljezi – nalaze se na autosomima (nespolnim kromosomima), nasljeđuju se od oba roditelja i rekombiniraju se u svakoj generaciji. Koriste se za proučavanje fenotipskih osobina, genetičke raznolikosti i strukture populacije.

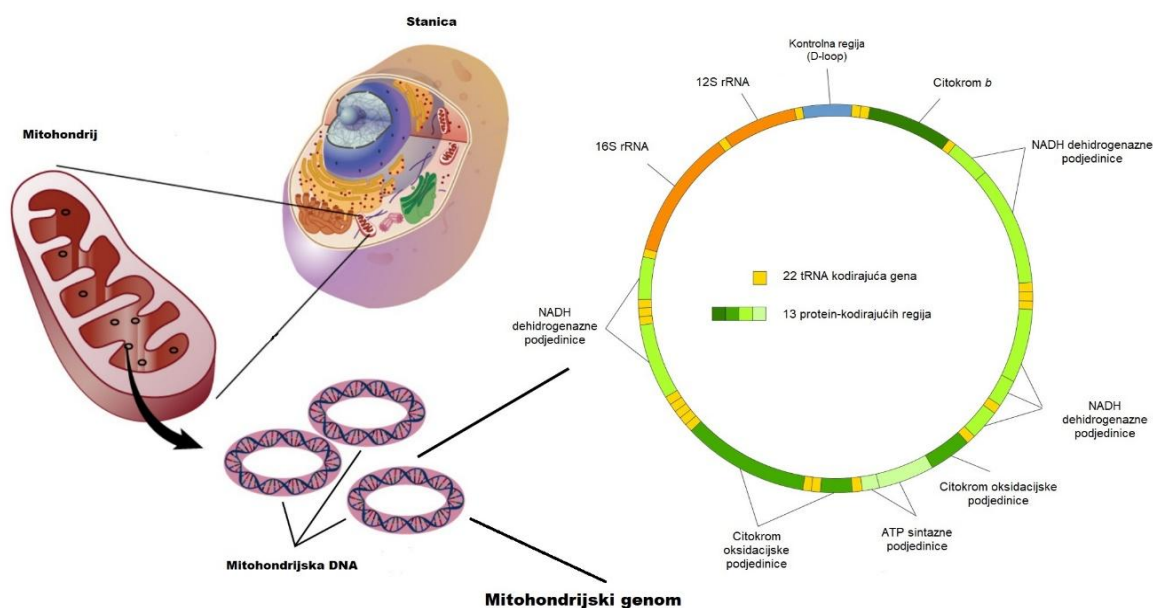
Tablica 1. Kategorije molekularnih biljega, njihov tip nasljeđivanja i upotreba

Biljeg	Tip nasljeđivanja	Upotreba
mtDNA	materalno	vrste predaka, mjesto domestikacije, majčinsko porijeklo, razlike unutar i između populacija, efektivna veličina populacija, ekspanzije, uska grla, varijacije među kontinentima
y kromosom	pateralno	vrste predaka, muška introgresija, porijeklo uzgojnih očeva
autosomalni	Mendelianov tip (biparantalno)	razlike unutar i između populacija, mjere raznolikosti, povijest pasmina, adaptivna varijacija, odnosi s populacijama

Izvor: Lenstra i sur. (2012)

2.4.3.1. Sekvence mitohondrijske DNA (mtDNA)

Mitohondrijska DNA je dvolančana, zatvorena kružna DNA molekula koja se sastoji od otprilike 16,5 kb što odgovara 15.000-20.000 parova baza (pb), ovisno o vrsti. MtDNA ne sadrži introne, haploidna je i nasljeđuje se isključivo od majke, a prisutna je u svim stanicama organizma (slika 7).



Slika 7. Struktura mitohondrijske DNA; izvor Nacionalni institut za istraživanje ljudskog genoma (preuzeto s: <https://wou.edu/chemistry/courses/online-chemistry-textbooks/ch450-and-ch451-biochemistry-defining-life-at-the-molecular-level/chapter-4-dna-rna-and-the-molecular-level/chapter-4-dna-rna-and-the-human-genome/>; pristup i izmjena: 24.6.2022.)

MtDNA se sastoji od 37 gena raspoređenih na dva lanca. Teški H-lanac (eng. Heavy chain) sadrži 28 gena i ima veći udjel guanina (G) i timina (T), dok lakši L-lanac (eng. Light chain) sadrži 9 gena. Osim toga, mtDNA uključuje nekodirajući dio poznat kao D-petlja (eng. displacement loop, D-loop), koja je važna za regulaciju replikacije i transkripcije mtDNA.

Struktura i genetička organizacija mtDNA vrlo su očuvane među sisavcima, a također su očuvane i u arheološkim ostacima poput kostiju i zubi, gdje je jezgrina DNA često degradirana.

Analiza mtDNA je najprikladnija metoda za istraživanje filogenetičke raznolikosti. Zbog svoje brze evolucije sekvence kontrolne regije izrazito su korisne za istraživanje genetičke raznolikosti i evolucijskih odnosa među vrstama (Wilson i sur., 1985). Iako su prve studije bile usredotočene na kontrolnu regiju, kasnija istraživanja pokazala su da cijela mtDNA pruža vrijedne informacije. Varijacije u mtDNA posebno su korisne za određivanje odnosa između domaćih vrsta i njihovih divljih srodnika (Bruford i sur., 2003), identifikaciju centara domestikacije (Naderi i sur., 2008) i praćenje majčinskog porijekla populacija (Larson i sur., 2007; Pellecchia i sur., 2007).

MtDNA se često koristi za proučavanje domesticiranih vrsta poput goveda (Ilie i sur., 2015; Budimir i sur. 2014; Curik-Cubric i sur., 2022; Brajkovic i sur., 2023), svinja (Li i sur.,

2014; Zorc i sur., 2022), ovaca (Agaviezor i sur., 2012; Ferencakovic i sur., 2013b), konja (Čačić i sur., 2011; Czerneková i sur., 2018) i koza (Hoda i sur., 2014; Pakpahan i sur., 2015; Çinar Kul i Ertugrul, 2011, Drzaic i sur., 2019), ali i za druge vrste kao što su šišmiši (Budinski, 2019), psi (Cho, 2005; Sindičić i sur., 2011; Janeš i sur., 2019) i dupini (Frere i sur., 2008).

Nukleotidne sekvence mtDNA kod koza uključuju gene za dvije rRNA (12S i 16S), 22 tRNA i 13 gena za kodiranje proteina (NADH 1, 2, 3, 4L, 4, 5 i 6; podjedinice cytochrome c I, II i III; podjedinice ATP-aze 6 i 8; citokrom b). Parma i sur. (2003) koristeći kloniranje i konvencionalne tehnike molekularne biologije, odredili su kompletan slijed nukleotida mitohondrijskog genoma sanske koze duljine 16,64 kb. Kompletan mtDNA objavljena je i za goveda (Anderson i sur., 1982), svinje (Lin i sur., 1999), ovce (Hiendleder i sur., 1998) i konje (Xu i Árnason, 1994).

Prve studije na mtDNA koza, istraživanje Luikart i sur. (2001) otkrilo je tri haplogrupe (A, B i C) među 88 pasmina iz Europe, te ukazalo na višestruko majčinsko porijeklo s mogućim središtem u Aziji. Opsežna studija Naderi i sur. (2008) identificirala je šest glavnih haplogrupa (A, B, C, D, F i G), pri čemu je haplogrupa A najzastupljenija (90 %) u Evropi i u Južnoj i Središnjoj Americi (Amills i sur., 2009). Ostale haplogrupe (B, C, D, F i G) imaju regionalne raspodjele s manjom zastupljenošću kod domaćih koza na ovom području (Naderi sur., 2008).

Haplogrupa A također je potvrđena u talijanskim (Doro i sur., 2014), albanskim (Hoda i sur., 2014) te islandskim pasminama (Baldursdóttir, 2010). Koze su u Francusku stigle mediteranskom rutom (Voruz, 1996; Zilhão, 2001; Guilaine, 2003). Analizom 24 drevna uzorka kostiju iz južne Francuske pronađenih na neolitičkom nalazištu Baume d'Oullen, Fernandez i sur. (2006) zaključili su da uzorci koza pripadaju haplogrupama A i C. Postojanje haplogrupe C, s vrlo malim udjelom (0,5 %), utvrdili su Luikart i sur. (2001) kod koza u Švicarskoj i Sloveniji. Hrvatska šarena koza pripada haplogrupi A (Drzaic i sur., 2019).

Nomura i sur. (2013) istraživanjem koza iz šest azijskih država, našli su različite udjele haplogrupa A, B, C i D, dok haplogrupe F i G nisu prisutne. Kod kineskih koza najveća zastupljenost je haplogrupe A, a u vrlo malim frekvencijama utvrđene su haplogrupe C i D (Chen i sur., 2005).

Analize mtDNA afričkih pasmina koza proveli su Terekegn i sur. (2018), koji su dokazali da je širenje koza u istočnu Afriku išlo preko Egipta i Arapskog poluotoka. Najveći

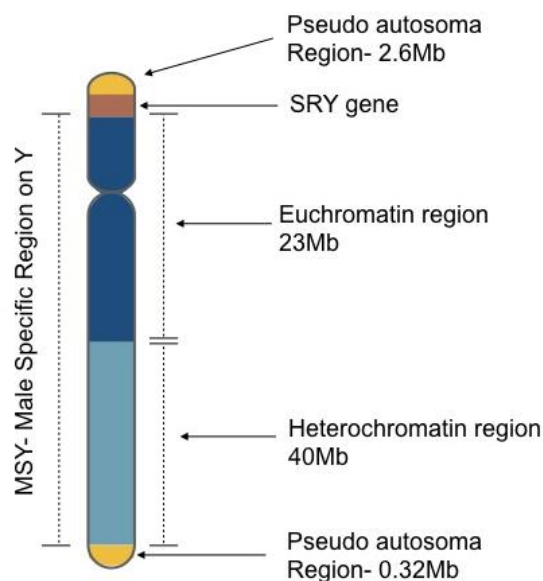
udio haplogrupe A među autohtonim afričkim pasminama utvrdili su Awotunde i sur. (2015) i Meutchieye i sur. (2015).

Amills i sur. (2009) zaključili su da sve koze iz Južne i Srednje Amerike pripadaju haplogrupi A, što potvrđuje da su koze u Ameriku dovele španjolske i portugalske kolonizacije u 15. stoljeću.

Luikart i sur. (2001) ukazali su na različite vremenske okvire širenja haplogrupa: haplogrupa A prije približno 10.000 godina; haplogrupe B prije približno 2.130 godina, dok je haplogrupa C proširena prije oko 6.110 godina. Različiti vremenski okviri širenja haplogrupa također mogu ukazivati na različite procese i događaje koji su utjecali na migraciju i selekciju koza tijekom povijesti. Međutim, Nomura i sur. (2013) utvrdili su da se širenje svih haplogrupa dogodilo prije početka domestikacije, između 32.300 i 90.950 godina prije sadašnjosti. Ovi nalazi se podudaraju s procjenama Fanga i Andersona (2006), koji su procijenili da je širenje svinja započelo prije gotovo 190.000 godina u Europi te 275.000 godina u Aziji. Nomura i sur. (2013) također sugeriraju da je populacija divljih koza prije otprilike 250.000 godina doživjela brzo širenje, nakon čega je brojnost populacije ostala relativno stabilna. U vrijeme domestikacije došlo je do smanjenja populacije, što se vjerojatno dogodilo kao posljedica ljudskog djelovanja (Zeder i Hesse, 2000; Nomura i sur., 2013).

2.4.3.2. Y kromosom

Varijacija Y kromosoma pruža jednostavan i visoko informativan zapis o povijesti domaćih vrsta putem očinske linije, koji se stabilno prenosi generacijama zbog nedostatka rekombinacije.



Slika 8. Struktura Y kromosoma, izvor: Genetic education (preuzeto s: <https://geneticeducation.co.in/explaining-the-y-chromosome-definition-structure-and-function/>; pristup i izmjena: 3.8.2022.)

Rezultati istraživanja Y kromosoma divljih i domaćih koza (Pidancier i sur., 2006) pokazali su podudarnost s rezultatima analiza mtDNA (Luikart i sur., 2001), koji zajedno upućuju na bezoara kao najvjerojatnijeg pretka domaćih koza. Unutar domaćih populacija koza definirana su dva česta haplotipa (C1 i C2) te jedan rjeđi (C3). Analiza Y kromosoma europskih i turskih koza definirala je tri haplotipa: Y1A, Y1B i Y2 (Lenstra i sur., 2005), a isti su potvrđeni kod portugalskih i sjevernoafričkih (Pereira i sur., 2008), turskih (Çinar Kul i sur., 2015), istočno- i južno azijskih (Waki i sur., 2015), te švicarskih i španjolskih koza (Vidal i sur., 2017).

VarGoats projekt (Denoyelle i sur., 2021), koji je obuhvatio istraživanje divljih i domaćih koza, pokazao je geografsku raspodjelu haplogrupa i jasnu podjelu između drevnih i modernih koza. Haplogrupa Y1B prevladava u srednjoj i sjevernoj Europi te se nalazi i u hrvatskim izvornim pasminama, uključujući hrvatsku šarenu kozu i istarsku kozu. Dominacija haplogrupe Y1B mogla bi ukazivati na uska grla u populacijama tijekom neolitskih migracija balkanskom rutom u Europu (Cymbron i sur., 2005; Tresset i Vigne, 2007; Rivollat i sur., 2015).

Y-kromosomski biljezi primijenjeni su i kod drugih domaćih životinja, poput goveda (Götherström i sur., 2005) ovaca (Meadows i sur., 2006) i konja (Wallner i sur., 2013). Istraživanja su otkrila očinske haplogrupe povezane s različitim centrima domestikacije,

uzgojnim praksama i migracijskim putevima. Ovi nalazi, zajedno s podacima za koze, potvrđuju važnost Y-kromosoma u rekonstrukciji očinskih linija i razumijevanju genetičke povijesti domaćih životinja.

2.4.3.3. Autosomalni biljezi

U autosomalne biljege jezgrine DNA ubrajaju se:

(1) polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata (RFLP) – metoda analizira varijacije u duljini DNA fragmenta dobivenih restrikcijsko enzimskom obradom, što omogućava identifikaciju varijacija između individua (Botstein i sur., 1980),

(2) nasumična amplifikacija polimorfne DNA (RAPD) – koristi nasumične početnice za amplifikaciju polimorfnih dijelova DNA, što omogućuje identifikaciju varijacija u genomu bez prethodnog znanja o sekvencama (Williams i sur., 1990),

(3) polimorfizam duljine amplificiranih fragmenata (AFLP) – metoda kombinira restrikcijsku enzimsku obradu s amplifikacijom specifičnih fragmenata DNA, omogućujući otkrivanje i analizu genetičkih varijacija (Zabeau i Vos, 1992),

(4) minisateliti (VNTR) – varijabilni broj tandemskih ponavljanja koristi se za genotipizaciju, pri čemu se analiziraju ponavljanja od 10-100 bp, koja su specifična za različite individue (Jeffreys i sur., 1985),

(5) mikrosateliti (SSRs) – biljezi analiziraju kraće sekvence ponavljajućih nukleotidnih nizova, obično od 1-6 pb i koriste se za praćenje genetičke varijabilnosti i populacijske strukture (Tautz, 1989),

(6) polimorfizam jednog nukleotida (SNPs) – SNP-ovi predstavljaju najjednostavniji oblik genetičke varijacije, gdje se analizira primjena u jednom nukleotidu u DNA sekvenci, što omogućava detaljno praćenje genetičkih varijacija i povezanosti s fenotipovima (Frazer i sur., 2007).

Polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata (RFLP). Restrikcijske endonukleaze koje su otkrili i izolirali Arber, Smith i Nathan šezdesetih godina prošlog stoljeća, postavile su temelje za uvođenje nove vrste genetičkih biljega. Ova metoda uključuje cijepanje DNA uzorka pomoću restrikcijskih enzima na fragmente različitih duljina koji se zatim odvajaju gel elektroforezom. RFLP je bio prvi sustav koji se koristio za DNA profile, mapiranje genoma, lociranje gena genetičkih poremećaja, procjenu rizika nasljednih bolesti te za testiranje roditeljstva (Kerem i sur., 1989). Međutim, zbog tehničkih ograničenja povezanih s postupcima hibridizacije i pojave novih metoda sekvenciranja DNA, RFLP biljezi nisu zadržali svoju široku primjenu.

Nasumična amplifikacija polimorfne DNA (RAPDs). Ova metoda, koju su razvili Williams i sur. (1990), gotovo istovremeno je otkrivena i od drugim nazivom, AP-PCR (eng.

Arbitrarily primed PCR), od strane Welsh i McClellanda. RAPD se temelji na tehnici lančane reakcije polimerazom (eng. Polymerase chain reaction, PCR) kojom se umnaža veliki broj kopija željenog odsječka DNA. Ovaj proces zahtjeva poznavanje točnog redoslijeda barem jednog nukleotida u uzorku DNA kako bi se omogućila uspješna amplifikacija.

Polimorfizam duljine amplificiranih fragmenata (AFLP). Metoda AFLP kombinira metodu RFLP s PCR amplifikacijom. Razvili su ju Vos i sur. 1995. godine kako bi omogućili preciznu procjenu genetičke raznolikosti. AFLP se najčešće koristi u biljnim i mikrobnim studijama, gdje je posebno korisna za analizu genetičke strukture populacija i identifikaciju genetičkih biljega.

Minisateliti. Minisateliti su regije genoma koje se sastoje od nekodirajućih, tandemski ponovljenih sekvenci duljine do oko 100 pb. Zbog izuzetno visokog polimorfizma, minisateliti su postali ključni alat za genetičku identifikaciju pojedinca, poznatu kao DNA fingerprinting (Gill i sur., 1985). Iako su minisateliti korisni u forenzičkim analizama, njihova upotreba u populacijskoj genetici nije bila široko rasprostranjena.

Mikrosateliti. Mikrosateliti su kratki nizovi nukleotida, obično 1 do 6 parova baza (pb), koji se tandemski ponavljaju do oko 100 puta na svakom lokusu. Glavne vrste mikrosatelita uključuju ponavljajuće sekvence mono-, di-, tri-, tetra-, penta- i heksanukleotida. Polimorfizam na mikrosatelitskim lokusima prvi su dokazali Tautz (1989) te Weber i May (1989). Mikrosateliti su vrlo polimorfni i informativni biljezi, stoga su naširoko korišteni u studijama za utvrđivanje bioraznolikosti.

Tijekom sredine prošlog stoljeća, uočen je negativan trend u populacijama domaćih životinja, ali zbog nedostatka podataka o pasminama i njihovom broju, bilo je gotovo nemoguće propisati smjernice za očuvanje i zaustavljanje takvog trenda. Organizacija za hranu i poljoprivredu (FAO) je 1990-tih godina počela pratiti brojno stanje domaćih životinja i dala je smjernice za korištenje jedinstvenih mikrosatelitskih biljega za svaku vrstu domaćih životinja kako bi se upotpunili popisi, podaci o karakterizaciji te pratili stupnjevi rizika. Međutim, mnogi istraživači nisu slijedili preporuke FAO-a i koristili su različite biljege što je rezultiralo neizravno usporedivim rezultatima.

FAO je 2007. godine prepoznao molekularnu karakterizaciju pasmina kao jedan od strateških prioriteta u izradi Nacionalnog plana za upravljanje životinjskim genetičkim resursima (eng. Animal Genetic Resources, AnGR) s ciljem razvoja, korištenja i očuvanja pasmina.

Najveći objavljeni skup podataka o kozama generirao je Econogene Consortium u okviru projekta financiranog od strane Europske komisije (2001.-2005.), koji je obuhvatio

1.426 koza iz 45 tradicionalnih i domaćih pasmina iz 15 zemalja Europe i jugozapadne Azije, genotipiziranih s 30 FAO mikrosatelitskih biljega. Rezultati su pokazali postojanje četiri skupine pasmina koza (istočni Mediteran-Bliski istok, središnji Mediteran, zapadni Mediteran i sjeverno-središnja Europa) pri čemu se genetička raznolikost smanjuje od jugoistoka do sjeverozapada, što je vjerojatno posljedica kolonizacije Europe nakon domestikacije (Cañón i sur., 2006).

Drugi veliki projekt FAO/IAEA CRP obuhvatio je genotipiziranje 1.629 uzoraka iz 43 lokalne populacije koza iz 8 azijskih zemalja koristeći 15 mikrosatelitskih biljega. Rezultati su pokazali različit broj alela u istraživanim pasminama i genetičku rasprostranjenost. Najveći broj alela zabilježen je kod domaćih koza iz Irana i Saudijske Arabije, a potom u Kini, Bangladešu, Pakistanu i Šri Lanki kod autohtonih pasmina koza.

Skupovi podataka oba projekta nisu bili izravno usporedivi, pa je oko 200 uzoraka iz projekta Ecogene ponovo genotipizirano i uz uporabu 11 zajedničkih biljega dokazana je jasna genetička podjela koza na velike geografske regije i kontinente što je sugeriralo na odvojene migracijske putove u Aziju i u Europu (Ajmone-Marsan i sur., 2014).

Mnogi su znanstvenici koristili različite mikrosatelite za proučavanje genetičke raznolikosti koza, pri čemu su najviše istraživanja provedena u azijskim, afričkim i američkim državama. Genetička raznolikost europskih pasmina koza također je proučavana pomoću mikrosatelita, a obuhvaćene su koze iz Švicarske (Saitbekova i sur., 1999; Glowatzki-Mullis i sur., 2008), Italije (Ajmone-Marsan i sur., 2001; Iamartino i sur., 2005; Sechi i sur., 2005; Agha i sur., 2008; Siwek i sur., 2011; Negrini i sur., 2012), Portugala (Bruno-de-Sousa i sur., 2011), Španjolske (Serrano i sur., 2009; Martínez i sur., 2012), Albanije (Hoda, 2011), Poljske (Sikora i sur., 2011), Nizozemske (Lenstra i sur., 2017), Češke (Jandurová i sur., 2004) i Islanda (Baldursdóttir i sur., 2012).

Ramljak i sur. (2011) koristili su mikrosatelitske biljege za analizu genetičke strukture hrvatske šarene koze, a istraživanje nije obuhvaćalo usporedbu s drugim pasminama.

Polimorfizam jednog nukleotida (SNP čipovi). Početkom 21. stoljeća ključni znanstveni izazovi bili su otkrivanje i analiza svih gena organizma koji djeluju kao kompleksan sustav, za što je bilo potrebno poznavanje cjelokupnog genoma proučavanog organizma. Grupa znanstvenika razvila je revolucionarnu ideju ujedinjenja tehnologije poluvodiča s naprednom tehnikom kombinatorijalne kemije u svrhu implementacije velike količine bioloških podataka na malu staklenu ili plastičnu površinu čipa, a sve s ciljem istraživanja strukture i funkcije gena. Prve studije cjelokupnog genoma bile su dugotrajne i skupe, prvo su bile provedene na mikroorganizmima, biljkama, insektima i glodavcima. S

razvojem računalnih programa i novih metoda sekvenciranja, takve su studije postale financijski pristupačnije i brže.

Potpuno sekvenciranje ljudskog genoma dovelo je do otkrića nekoliko milijuna SNP-ova koji se definiraju kao razlika u jednom nukleotidu DNA na određenom mjestu u genomu. Ključna istraživačka područja u proučavanju SNP-ova uključuju: otkrivanje SNP-ova na razini genoma, odabir odgovarajućih platformi za sekvenciranje, definiranje kriterija filtriranja podataka i njihova primjena u genetičkim analizama. Danas se zna točna pozicija na genomu mnogih SNP-ova kao i posljedice promjene nukleotidne baze na temelju koje se mogu odrediti genetičke povezanosti populacija.

Proučavanje SNP-ova pruža moćan alat za analizu genetičke raznolikosti, domestikacije, prilagodbe i selekcijskih procesa. SNP-ovi imaju prednosti u odnosu na najpolimorfnije mikrosatelite, uključujući nisku razinu pogreške i jednostavnu usporedivost rezultata različitih laboratorija, što se može koristiti za očuvanje i održivo korištenje autohtonih genetičkih resursa te za poboljšanje genetičkog napretka.

U skladu s time, u Republici Hrvatskoj SNP-ovi se primjenjuju u istraživanjima različitih vrsta životinja. Posebno vrijedan primjer je istraživački projekt GABridge koji se trenutno provodi na Zavodu za opće stočarstvo Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, koji povezuje animalnu genetiku i arheologiju s ciljem rekonstrukcije genetičke strukture izumrlih i postojećih populacija goveda. Time se potvrđuje aktivna uloga hrvatskih znanstvenika u suvremenim istraživanjima genetičke povijesti domaćih životinja.

Genomske analize SNP čipova provode se na gotovo svim vrstama životinja, a u Republici Hrvatskoj najviše na domaćim, na primjer kod goveda (Ferenčaković i sur., 2013; Curik i sur., 2014; Bradić, 2021; Brajković i sur. 2023; Mijadžiković, 2024), konja (Raguz i sur., 2023), ovaca (Držić i sur., 2022; Lukić i sur., 2023; Ramljak i sur., 2024), koza (Držić i sur., 2024), svinja (Zorc i sur., 2022; Lukić i sur., 2023) i pasa (Janeš i sur., 2021; Djurkin Kušec i sur. 2020; Shihabi i sur., 2022), a u svijetu i na medvjedima (Cronin i sur., 2014), mačkama i divljim mačkama (Nussberger i sur., 2013; Oliveira i sur., 2015; Mattucci i sur., 2019), pticama (Lim i Braun, 2016), vodozemcima (Rovelli i sur., 2019), ribama (Liu i sur., 2014; Mollah i sur., 2019) i gmazovima (Ullate-Agote i sur., 2014).

Prve genetičke studije na malim preživačima provedene su 2009. godine razvojem 50K ovčjeg SNP chip-a (Kijas i sur., 2009). Razvijen je OvineSNP50 BeadChip (Illumina Inc., San Diego) kao dio Međunarodnog konzorcija za genom ovaca (eng. International Sheep Genomics Consortium, ISGC). Kasnije, 2010. godine, osnovan je Međunarodni konzorcij za genom koza (eng. International Goat Genome Consortium, IGGC) s ciljem

razvoja 52K SNP čipa za koze (Tosser-Klopp i sur., 2014). Genomika koza razvijala se sporije u usporedbi s drugim vrstama domaćih životinja zbog manjka molekularnih alata i nedovoljnih ulaganja (tablica 2), prvenstveno zbog njihove niže ekonomske vrijednosti i relativno skromnog komercijalnog značaja za poljoprivrednu proizvodnju na području Europe i Sjeverne Amerike.

Tablica 2. Pregled razvoja SNP čipova za domaće životinje prema godini objave

Vrsta	Naziv čipa	Godina	Autor
ovce	OvineSNP50	2009.	Kijas i sur., 2009
goveda	BovineSNP50	2009.	Matukumalli i sur., 2009
svinje	PorcineSNP60	2009.	Ramos i sur., 2009
kokoši	ChickenSNP60	2011.	Groenen i sur., 2011
konji	EquineSNP50	2012.	McCue i sur., 2012
koze	GoatSNP50	2014.	Tosser-Klopp i sur., 2014
magarci	Donkey 40K Liquid	2023.	Liu i sur., 2023

U okviru Međunarodnog genetskog konzorcija za koze, tvrtka Illumina razvila je GoatSNP50 BeadChip, koji sadrži 53.347 SNP-ova (Tosser-Klopp i sur., 2014). Ovaj čip dizajniran je za proučavanje strukture populacija koza na globalnoj razini (Shoyombo i sur., 2018), omogućujući istraživačima detaljno ispitivanje genetičke raznolikosti i povezanosti među različitim populacijama širom svijeta. U 2021. godini Illumina je predstavila drugu verziju ovog čipa, koja uključuje 59.727 SNP-ova, pružajući još precizniji alat za genetičke analize.

Referentni genom Yunnan Black Goat, nazvan CHIR_1.0, prvi je put objavljen 2009. godine. Nakon toga, 2014. godine objavljena je poboljšana verzija CHIR_1.1, a 2015. godine verzija CHIR_2.0, koja je pružila veću pokrivenost genoma. Osim toga, 2017. godine objavljen je sklop ARS1, temeljen na sekvenciranju muške jedinke san clemente pasmine. Sekvenciranja su također provedena na genomu divlje koze (*Capra aegagrus*), s objavom verzija Caeg1 2014. godine i CapAeg_1.0 2015. godine. Ovi genomi su značajni resursi za identifikaciju alela predaka i razumijevanje procesa domestikacije koza (Amills i sur., 2017). Visokokvalitetni genomski sklop Saanen_v1 uključuje X i Y kromosome, razvijen je 2021. godine, a temelji se na sekvenciranju muške jedinke sanske pasmine. Ovaj napredak

omogućuje detaljnije razumijevanje genetičkih osobitosti i evolucijske povijesti koza, pružajući alat za daljnja istraživanja u oblasti genomike koza.

Razvoj novog SNP panela omogućilo je provođenje nekoliko velikih projekata usmjerenih na genotipiziranje populacija diljem svijeta. Projekt AdaptMap (Stella i sur., 2018) obuhvatio je analize genoma 4.653 životinja iz 148 populacija širom 35 država i pet kontinenata. Analize su otkrile tri glavne genske skupine koza: europsku, afričku i zapadnoazijsku, što se podudara rezultatima istraživanja kod goveda (McTavish i sur., 2013; Decker i sur., 2014) i ovaca (Kijas i sur., 2012) te su potvrđena tri glavna migracijska puta (u Aziju, Europu i Afriku) nakon domestikacije (Colli i sur., 2018; Stella i sur., 2018). Posebno su značajne pasmine koza iz Irana i Turske, koje pokazuju najveću genetičku raznolikost i najveću sličnost s divljim pretkom, što potvrđuje da su ova područja ključna za domestikaciju koza. Na području Europe koze su grupirane u nekoliko regija: istočni Mediteran, središnji Mediteran, istočne Alpe s kontinentalnom Francuskom, Irska i sjeverna Europa (Colli i sur., 2018; Stella i sur., 2018).

Projekt AdaptMap nije u potpunosti analizirao varijabilnost vrsta *Capra* diljem svijeta, jer u projekt nisu uključene divlje koze koje nisu bezoar (Denoyelle i sur., 2021). Trenutno aktualan i u fazi provedbe je međunarodni VarGoats projekt kojemu je glavni cilj predstaviti globalnu genetičku raznolikost domaćih koza na temelju različitih analiza SNP-ova (Denoyelle i sur., 2021).

Poznato je da su podaci dobiveni iz SNP čipova iskrivljeni pristranošću pri utvrđivanju (Albrechtsen i sur., 2010; Denoyelle i sur., 2021), ograničenjem koje se može prevladati pažljivim filtriranjem podataka o sekvenciranju cijelog genoma dovoljne dubine (Benjelloun i sur., 2019).

Ova pristranost, poznata kao ascertainment bias, proizlazi iz načina na koji su pojedini polimorfizmi izabrani prilikom razvoja SNP čipova. Većina SNP čipova konstruirana je na temelju ograničenog broja referentnih genoma, često iz komercijalnih pasmina ili genetički usko povezanih populacija. Zbog toga SNP-ovi uključeni u čip uglavnom predstavljaju česte i već poznate varijante unutar tih referentnih skupina, dok se rijetki aleli i varijante specifične za lokalne ili nerazvijene populacije nedovoljno zastupaju ili potpuno zanemaruju. Rezultat toga je sustavno podcjenjivanje genetičke raznolikosti, osobito u tradicionalnim i geografski izoliranim pasminama, te pogrešno procijenjene evolucijske relacije među populacijama. Ovakav bias može utjecati i na izračun strukture populacije, udaljenosti među njima, vrijednosti heterozigotnosti i demografske rekonstrukcije, jer čip favorizira varijante koje nisu nužno reprezentativne za sve analizirane jedinke.

Dodatno, zbog fokusa na već poznate varijante, SNP čipovi imaju ograničenu sposobnost otkrivanja novih mutacija, čime se smanjuje njihova vrijednost u analizama pozitivne selekcije, adaptivnih varijacija i analizi rijetkih genetičkih alela.

U različitim genomskim istraživanjima i analizama SNP-a, autori su došli do sličnih zaključaka, ističući razlike među vrstama (Kijas i sur., 2013; Nicoloso i sur., 2015), povijesne genetičke povezanosti (Kijas i sur., 2013, Guo i sur., 2020), geografsku podijeljenost (Pariset i sur., 2009, Nicoloso i sur., 2015, Colli i sur., 2018; Cortellari i sur., 2021), razlike u strukturi populacija (Lao i sur., 2006; Kijas i sur., 2012; Gurgul i sur., 2013; Grasso i sur., 2014) i razlike između populacija i jedinki (Paschou i sur., 2007; Yamaguchi-Kabata i sur., 2008; Gill, 2011; Burren i sur., 2016).

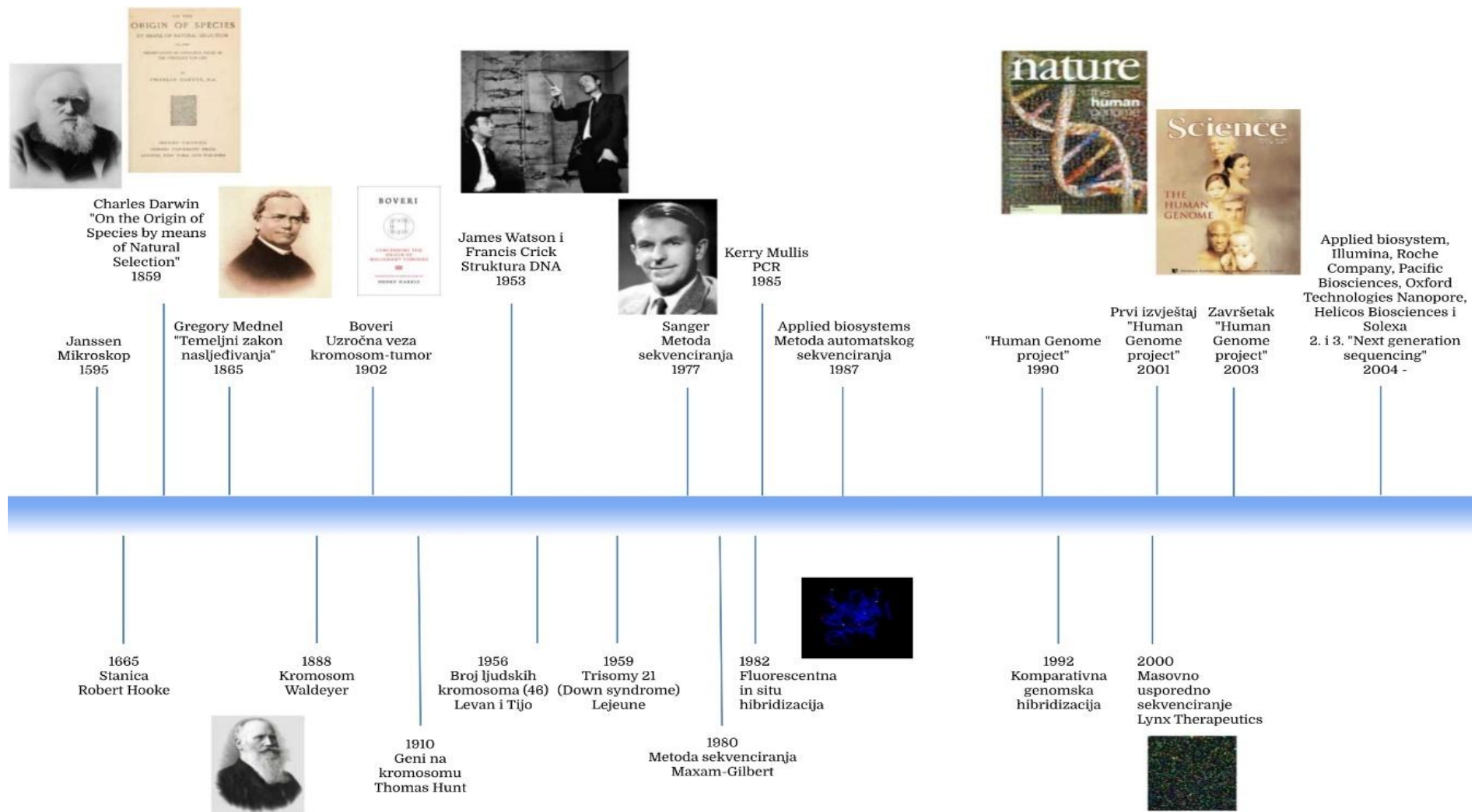
Razvoj tehnologije sekvenciranja i učinkovitih programa (Gutiérrez i sur., 2003) značajno je unaprijedio razumijevanje genetičkih osnova prilagodbe i prirodne selekcije u populacijama koza (Carillier i sur., 2013; Benjelloun i sur., 2015). Ovo je omogućilo ne samo detaljnije proučavanje adaptivnih osobina, već i identifikaciju specifičnih regija pod selekcijom, što je ključno za razumijevanje evolucijskih procesa (Brito i sur., 2017; Siddiki i sur., 2020). Kroz sekvenciranje genoma znanstvenici su mogli lokalizirati gene na kromosomima koji kontroliraju različite osobine, a populacijska genetika omogućila je identifikaciju genetičkih regija pod selekcijom, usmjeravajući istraživanja na otkrivanje gena s adaptivnom vrijednošću u autohtonim populacijama (Kim i sur., 2016; Michailidou i sur., 2019; Passamonti i sur., 2021; Serrano i sur., 2021; Pogorevc i sur., 2021).

Umjetna selekcija jedna je od glavnih sila koja mijenja genetički sastav populacije. Identificiranje gena pod selekcijom moglo bi biti korisno za objašnjavanje njihovog utjecaja na fenotipske varijacije. Primjerice, genomske regije koje su bile ciljane selekcijom proučavali su Guan i sur. (2021) na španjolskoj kozi murciano-granadina koja je izvanredno prilagođena oštrim klimatskim uvjetima i suši u područjima s oskudnim resursima hrane. Uočenu visoku genetičku varijabilnost kod koza kao posljedicu utjecaja genetičke i geografske izolacije uočili su Visser i sur. (2016), a rezultati se podudaraju s istraživanjima na govedima (Makina i sur., 2014) i konjima (Petersen i sur., 2013).

Predviđanja budućih genotipskih frekvencija najrelevantnijih SNP-ova i njihov učinak na genetičku strukturu s obzirom na klimatske promjene na kozama su proveli Cortellari i sur. (2021).

2.4.4. Genetička raznolikost i molekularni alati

S ciljem rekonstrukcije evolucijskih, ekoloških, povijesnih i demografskih procesa poput divergencije, ekspanzije, uskih grla, genetičke izolacije, introgresije, prilagodbe i selekcije analiziraju se mutacije DNA, rekombinacije te slučajne i usmjerene promjene u frekvencijama alela. Rastuća količina genomskih podataka dovela je do razvoja raznih bioinformatičkih i analitičkih alata čime su genomske analize postale ključne u znanstvenim istraživanjima. One se kontinuirano usavršavaju i primjenjuju u genotipskoj procjeni uzgojnih životinja (Kolosov i sur., 2013; Gorlov i sur., 2016), pri čemu se sve više prepoznaje potencijal izvornih pasmina kao genetičkog resursa za budućnost (Tolone i sur., 2022).



Slika 9. Razvoj genetike kroz povijest; izvor: Durmaz i sur., 2015 (preuzeto s: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/461524/>; pristup i izmjena: 24.6.2022)

Povijesna otkrića predstavljala su ključne prekretnice u razvoju proučavanja genoma. Prva istraživanja unutar staničnih struktura započela su otkrićem optičkog mikroskopa 1595. godine. Robert Hooke je 1665. godine dao prvi opis stanice. Švicarski botaničar Carl Nageli opisao je 1840-tih strukture nalik nitima unutar jezgara biljnih stanica, nazvavši ih „prolaznim citoblastima“, koje je kasnije, 1888. godine, Waldeyer definirao kao kromosome. Godine 1859., Charles Darwin je objavio djelo „O porijeklu vrsta“, u kojem je predstavio teoriju prirodne selekcije, dok je Gregor Mendel 1865. godine uveo temeljne zakone nasljeđivanja, pokazujući da se određene osobine prenose genima. Mendelova pravila kasnije su poboljšana rezultatima Thomasa Hunta Morgana 1910. godine, koji je otkrio da su geni na kromosomima odgovorni za pojavu specifičnih fenotipova. Prva genetička karta izrađena je 1911. godine mapiranjem gena voćne mušice. Godine 1953., Watson i Crick su opisali dvolančani, spiralni, komplementarni i antiparalelni model DNA. Otkrićem DNA i kromosoma razvijene su mnoge metode i tehnologije za njihovo proučavanje.

Raznolikost obuhvaća otpornost, snagu, stabilnost i život unutar sustava, dok biološka raznolikost obuhvaća sveukupnost vrsta, gena i ekosustava u određenoj regiji (Fadhil i sur., 2018). Podjelu biološke raznolikosti objavio je UNEP u Prvom globalnom izvješću o procjeni biološke raznolikosti 1995. godine, definirajući tri razine biološke raznolikosti: (1) raznolikost ekosustava; (2) raznolikost vrsta i (3) genetičku raznolikost.

Genetička raznolikost temeljna je komponenta biološke raznolikosti i obuhvaća varijabilnost alela i genotipova unutar i između populacija (Radha i sur., 2021). Ključna je za očuvanje evolucijskog potencijala jer omogućuje populacijama prilagodbu na promjenjive okolišne uvjete, otpornost na bolesti i dugoročnu održivost (Frankham i sur., 2002; Lenstra i sur., 2012). Nasuprot tome, smanjena genetička raznolikost povezana je s povećanim rizikom od inbridinga, smanjene plodnosti i čak izumiranja.

U kontekstu domaćih životinja, genetička raznolikost obuhvaća razlike kako unutar pasmina, tako i između njih. Ova raznolikost rezultat je dugotrajne interakcije između prirodne selekcije, lokalnih okolišnih uvjeta i selekcijskih pritisaka (Fadhil i sur., 2018). Očuvanje genetičke raznolikosti važno je ne samo zbog znanstvenog razumijevanja fenotipskih karakteristika i povijesti populacija (Ajmone-Marsan i sur., 2010; Groeneveld i sur., 2010), već i zbog stabilnosti i otpornosti poljoprivredne proizvodnje u budućnosti (FAO, 2007).

Upravljanje životinjskim genetičkim resursima zahtijeva dobro poznavanje veličine i strukture populacije, njezine geografske distribucije, uzgojnih sustava i razine genetičke varijabilnosti. Danas se u te svrhe najčešće koriste molekularne metode, osobito SNP čipovi

visoke gustoće, koji omogućuju detaljnu i preciznu procjenu genetičke raznolikosti, znatno nadmašujući podatke iz pedigreea (Manichaikul i sur., 2010; Gorbach i sur., 2010).

Procjena genetičke raznolikosti unutar populacija temelji se na nekoliko ključnih pokazatelja koji kvantificiraju razinu varijabilnosti i evolucijski potencijal:

(a) Nukleotidna raznolikost izražava prosječan broj razlika u nukleotidima između dviju DNA sekvenci u populaciji. Visoke vrijednosti ukazuju na genetički bogate i stabilne populacije, dok niske sugeriraju uska genetička grla ili smanjeni protok gena (Wang i sur., 2009),

(b) Haplotipska raznolikost mjeri brojnost i učestalost različitih haplotipova, tj. kombinacija alela naslijeđenih zajedno. Visoke vrijednosti ukazuju na postojanje više evolucijskih linija unutar populacije, posebno u genetički neovisnim regijama poput mitohondrijske DNA,

(c) Očekivana heterozigotnost označava vjerojatnost da će nasumično odabrana jedinka biti heterozigotna na nekom lokusu. Visoke vrijednosti odražavaju veliku alelnu raznolikost i ukazuju na dobru genetičku strukturu populacije, dok niske vrijednosti mogu upućivati na izolaciju, genetički otklon (eng. genetic drift) ili inbriding (Eding i Bennewitz, 2007; Toro i sur., 2009; Tapio i sur., 2010).

Genomski inbriding. Inbriding predstavlja parenje između jedinki koje su međusobno srodnije od prosječnog srodstva u populaciji, što rezultira povećanjem homozigotnosti genoma (Curik i sur., 2014a). Povećana učestalost inbridinga može imati negativne posljedice uključujući smanjenu plodnost, nižu stopu preživljavanja te smanjenu dugoročnu održivost populacije (Keller i sur., 2011; Charlesworth i Willis, 2009).

Inbriding se općenito izražava koeficijentom inbridinga (F) koji predstavlja vjerojatnost da su dva alela na istom lokusu identična po porijeklu (eng. Identical by descent, IBD), pri čemu se vrijednosti kreću od 0 (bez inbridinga) do 1 (potpuna autozigotnost) (Ballou, 1983). Klasični pristup temeljen na podacima iz pedigreea, razvijen od strane Wrighta (1922), može biti ograničen jer se oslanja na nepotpune informacije i često obuhvaća samo nekoliko generacija (Howrigan i sur., 2011).

Suvremene molekularne metode omogućuju pouzdaniju procjenu inbridinga korištenjem podataka dobivenih SNP čipovima. Među njima, analiza homozigotnih regija (eng. Runs of homozygosity, ROH) pokazala se kao izuzetno korisna jer omogućuje procjenu stupnja autozigotnosti u genomu.

ROH regije predstavljaju kontinuirane segmente genoma u kojima su svi lokusi homozigotni, što ukazuje na nasljeđivanje istih kromosomskih fragmenata od zajedničkih predaka (Broman i Weber, 1999; Curik i sur., 2014a). Pojava dugih ROH regija povezuje se s nedavnim inbridingom, dok kraće ROH regije ukazuju na drevnije srodstvo u populaciji (Kirin i sur., 2010). Prisutnost ROH-a može biti posljedica uskih grla, genetičkog otklona, selekcije ili malih efektivnih veličina populacije (Peripolli i sur., 2017).

Uz inbriding, značajnu ulogu u strukturi genoma ima i neravnoteža vezanih gena (eng. Linkage Disequilibrium, LD) koja označava nejednaku učestalost kombinacija alela u haplotipovima u odnosu na očekivane pod pretpostavkom nasumičnog udruživanja alela (tj. bez povezanosti između lokusa). Inbriding povećava razinu LD jer potomci zajedničkih predaka nasljeđuju duge segmente identične DNA, čime se smanjuje mogućnost rekombinacija u populaciji (Curik i sur., 2014a; Howard i sur., 2017). Povećani LD, osobito u kombinaciji s malom veličinom populacije, uskim grlima i jakim selekcijskim pritiskom, dodatno pogoduje formiranju ROH regija i smanjenju genetičke raznolikosti (Howard i sur., 2017).

Koeficijent inbridinga temeljen na ROH regijama (FROH) definira se kao udio ukupne duljine ROH regija u odnosu na duljinu analiziranog autosomnog genoma (McQuillan i sur., 2008). Ova mjera ima jasnu biološku interpretaciju, a uz to omogućuje razdvajanje ROH-ova po duljini, čime se može procijeniti koliko je inbriding recentan (Curik i sur., 2014a). Na primjer, ROH duljine >16 Mb obično potječu od zajedničkog pretka unutar posljednje 3 generacije, dok ROH od 4–8 Mb ukazuju na srodstvo udaljeno 6–12 generacija (Kirin i sur., 2010; Curik i sur., 2014a).

Ipak, identifikacija ROH-a može biti podložna pristranostima koje proizlaze iz postavljenih parametara, gustoće SNP čipa i pogrešaka u genotipizaciji (Howrigan i sur., 2011; Ferenčaković i sur., 2013b). Stoga je važno standardizirati pristupe u identifikaciji ROH-a kako bi rezultati bili usporedivi između studija.

ROH analiza našla je primjenu u istraživanju inbridinga kod brojnih vrsta, uključujući ljude (McQuillan i sur., 2008; Kirin i sur., 2010), goveda (Purfield i sur., 2012; Ferenčaković i sur., 2013a; Mastrangelo i sur., 2016; Shihabi, 2024), svinja (Bosse i sur., 2012; Saura i sur., 2015; Lukić i sur., 2020), koza (Islam i sur., 2019; Drzaic i sur., 2022; Pegolo i sur., 2025), pasa (Sams i Boyko 2019; Janeš, 2020; Shihabi, 2024) i ovaca (Djokic i sur., 2023; Lukic i sur., 2023; Drzaic i sur., 2024; Shihabi, 2024).

Efektivna veličina populacije. Efektivna veličina populacije (N_e) jedan je od temeljnih koncepata u populacijskoj genetici, koji je uveo Wright (1931), a daljnji teorijski napredak u definiranju i razumijevanju ovog pojma donio je Crow (1954) navodeći više načina njezina definiranja. N_e se smatra jednim od najvažnijih parametara u genetici očuvanja zbog svoje povezanosti s inbridingom, selekcijom, migracijama i mutacijama kao i za procjenu genetičke raznolikosti. Definira se kao veličina hipotetske populacije (idealne Wright-Fisher-ove populacije) koja će rezultirati istom količinom genetičkog otklona kao u aktualnoj (stvarnoj) promatranoj populaciji (Wright, 1931; Wang i sur., 2016). U beskonačno velikoj populaciji, koja bi bila u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži, frekvencije alela i genotipova ostaju nepromijenjene tijekom vremena, no u stvarnim populacijama navedene frekvencije nikada nisu konstantne (Wang 2016).

Većina populacija nije idealna, a niže vrijednosti N_e ukazuju na veću vjerojatnost inbridinga, genetičkog otklona, smanjenje genetičke raznolikosti i održivosti (Husemann i sur., 2016; Peripolli i sur., 2017). Njezina je svrha prikazati evolucijske promjene nasumičnim uzorkovanjem frekvencije alela u ograničenoj populaciji (Charlesworth, 2009a), a može objasniti kako su populacije nastale (Falconer i Mackay, 1996) i koristiti za poboljšanje genetičke strukture na kojoj se temelje složene osobine (Hayes i sur., 2003).

(a) Tipovi efektivne veličine populacije

Efektivna veličina populacije nije jednoznačan parametar, već se može definirati na različite načine, ovisno o genetičkom mehanizmu koji se kvantificira (Wang i sur., 2016; Ryman i sur., 2019).

- N_{eI} se temelji na inbridingu – kvantificira stopu porasta homozigotnosti zbog parenja u srodstvu, odnosno stopu kojom se povećava vjerojatnost da su dvije alelne kopije identične po podrijetlu. Ova je definicija izvorna Wrightova i ključna za kratkoročno genetičko očuvanje (Ryman i sur., 2019).

- N_{eV} se temelji na genetičkoj varijanci – odnosi se na brzinu promjene alelnih frekvencija kroz generacije uslijed genetičkog otklona i najčešće se koristi u metodama koje se temelje na vremenskim razlikama u uzorkovanju (Wang i sur., 2016).

- N_{eLD} se temelji na neravnoteži nevezanih gena – mjeri neravnotežu među lokusima i koristi se u jednokratnim uzorcima. Postala je široko primjenjiva u molekularnoj ekologiji jer se temelji na SNP podacima i dostupna je kroz softverske alate poput LDNe (Waples i Do, 2010).

- N_{eAV} se temelji na aditivnoj genetičkoj varijanci – kvantificira gubitak aditivne genetičke varijacije, što je ključno za dugoročni adaptacijski potencijal populacije. Smatra se glavnim pokazateljem genetičke sposobnosti za odgovor na selekcijske pritiske (Ryman i sur., 2019).

- N_{eCo} se temelji na koalescenciji – definira se kao prosječno vrijeme do zajedničkog pretka dviju alelnih kopija i koristi se u filogenetičkim i evolucijskim analizama temeljenim na teoriji koalescencije (Wakeley i Sargsyan, 2009; Wang i sur., 2016).

- N_{eGD} se temelji na genskoj raznolikosti - odražava stopu smanjenja očekivane heterozigotnosti (gene diversity) kroz generacije. Ova mjera kvantificira gubitak ukupne genetičke raznolikosti u populaciji, a koristi se za procjenu dugoročnog potencijala očuvanja genetičke varijabilnosti. U ranijim radovima označavala se i kao „haploidna inbridna efektivna veličina“, ali je u ovom kontekstu terminološki prilagođena radi jasnijeg razlikovanja od N_{el} (Ryman i sur., 2019).

(b) Metode procjene efektivne veličine populacije

Za većinu prirodnih populacija N_e se ne može izravno mjeriti pa se procjenjuje na temelju demografskih ili molekularno genetičkih podataka.

Demografske metode procjenjuju N_e kao matematičku funkciju demografskih parametara: varijanca u reproduktivnom uspjehu, omjer spolova i fluktuacija veličine populacije (Caballero, 1994). One mogu otkriti ključne demografske procese i pomoći u upravljanju populacijom (Nunney i Elam, 1994; Ruzzante i sur., 2016). Međutim, zbog zahtjevnosti podataka i kompleksnosti modela, rijetko su korištene, a rezultati često nisu usporedivi (Hall, 2016; Trask i sur., 2017).

Jedna od najčešće korištenih demografskih formula, koju je predložio Falconer (1996), procjenjuje efektivnu veličinu populacije na temelju broja mužjaka (N_m) i ženki (N_f) koji sudjeluju u razmnožavanju prema izrazu:

$$N_e = \frac{4N_mN_f}{N_m + N_f}$$

Molekularno-genetičke metode bilježe znatan porast zahvaljujući napretku u genotipizaciji, sekvenciranju i obradi podataka (Luikart i sur., 2010; Wang i sur., 2016; Gilbert i Whitlock, 2015; Marandel i sur., 2020).

Prema Lenstra i sur. (2012), moderne procjene temelje se na tri faktora:

- stopa povećanja inbridinga - obrnuto proporcionalna N_e ,

- vjerojatnost spajanja linija u jednoj generaciji (coalescence),
- stupanj neravnoteže vezanih gena (LD), koji raste kako se N_e smanjuje.

Metode temeljene na LD prepoznate su kao pouzdane i robusne (Waples i Do, 2010; Waples i England, 2011), a s pojavom sekvenciranja cijelog genoma omogućene su i retrospektivne procjene promjena N_e u nedavnoj prošlosti – osobito korisne u kontekstu očuvanja ugroženih vrsta (Santiago i sur., 2020).

2.4.5. Seleksijski potpisi

Seleksijski potpisi označavaju regije genoma koji nose funkcionalno važne varijante, neovisno o tome jesu li bile rezultat prirodne selekcije ili uzgojno-seleksijskog rada (Qanbari i Simianer, 2014). U takvim regijama često se nalaze aleli čija je učestalost porasla zbog njihove uloge u preživljavanju, reprodukciji ili uzgojno važnih osobina.

Pozitivna selekcija odnosi se na proces kojim nova mutacija ili prethodno rijedak alel povećava učestalost u populaciji jer poboljšava prilagodbu organizma na okolišne ili uzgojne uvjete (Nielsen i sur., 2007; Vitti i sur., 2013; Lopez i sur., 2015). Ovakav seleksijski pritisak ostavlja specifičan genomski trag koji se može detektirati različitim metodama, osobito analizom strukture haplotipova.

Najčešće korištene metode uključuju:

- proširenu homozigotnost haplotipa (eng. Extended Haplotype Homozygosity, EHH) – mjeri vjerojatnost da su dva haplotipa identična u regiji udaljenoj od ciljnog SNP-a. Visoka EHH vrijednost upućuje na nedavni seleksijski događaj jer nije bio dovoljno vremena za rekombinaciju (Sabeti i sur., 2002; Qanbari i sur., 2011),
- integrirani rezultat haplotipova (eng. Integrated Haplotype Score, iHS) – proširenje EHH metode, koje kvantificira razliku u duljini haplotipova između alela predaka (ancestralnog) i novonastalog (deriviranog) alela (Voight i sur., 2006). Visoka apsolutna vrijednost iHS-a ukazuje na selekciju, dok su vrijednosti blizu nule pokazatelj neutralnosti. Formula za nestandardizirani iHS:

$$iHS = \ln \left(\frac{iHH_A}{iHH_D} \right)$$

gdje su iHH_A i iHH_D integrirane EHH vrijednosti za alel predaka i derivirani alel. Ako je omjer blizu 1, seleksijskog signala nema, visoko negativne ili pozitivne vrijednosti ukazuju na selekciju za derivirani odnosno ancestralni alel.

Standardizacija iHS-a omogućuje usporedbu rezultata kroz cijeli genom:

$$standardizirani\ iHS = \frac{\ln\left(\frac{iHH_A}{iHH_D}\right) - E_p\left[\ln\left(\frac{iHH_A}{iHH_D}\right)\right]}{SD_p\left[\ln\left(\frac{iHH_A}{iHH_D}\right)\right]}$$

gdje E_p i SD_p označavaju očekivanu vrijednost i standardnu devijaciju unutar frekvencijskog bin-a (Voight i sur., 2006; Gautier i Vitalis, 2012).

- proširenu homozigotnost haplotipova (eng. Cross-Population-Extended Haplotype Homozygosity, XP-EHH) - uspoređuje EHH između dviju populacija i identificira regije gdje je selekcija dovela do fiksacije u jednoj, ali ne i u drugoj populaciji (Sabeti i sur., 2007).

2.5. Povijest uzgoja koza na području Republike Hrvatske

Povijest uzgoja koza na području Republike Hrvatske seže stoljećima unatrag, pri čemu su koze igrale ključnu ulogu u ruralnom gospodarstvu. Njihova važnost očitovala se u ekonomskom, socijalnom i zdravstvenom smislu. Ekonomski, koze su bile cijenjene zbog proizvodnje mlijeka, mesa, kože i vlakana. Socijalno, služile su kao izvor prihoda i hrane, dok su ekološki doprinosile održivoj poljoprivredi i kontroli vegetacije. Njihovo mlijeko i meso imalo je nutritivnu vrijednost, što je važan zdravstveni aspekt.

Uzgoj koza bio je prilagođen lokalnim okolišnim uvjetima, a osobito se razvio na krškim područjima Dalmacije, gdje su zajednice još u ranom neolitiku usvojile stočarstvo kao temeljnu gospodarsku djelatnost. Arheološki nalazi ukazuju na to da je uzgoj koza činio važan dio svakodnevnog života tih ranih zemljoradničkih zajednica (McClure i sur., 2014). Zooarheološki nalazi s lokaliteta Crno Vriilo, Pokrovnik, Tinj–Podlivade i Danilo Bitinj, otkrivaju da su koze i ovce brojčano nadmašivale goveda i svinje, a analize zubnih ostataka, izotopa i mortalitetnih krivulja potvrđuju strategiju mužnje (Miracle i Forenbaher, 2005; Zavodny i sur., 2015). Također je potvrđeno postojanje mobilnog uzgoja (transhumance), karakterističnog za ove predjele, što dodatno upućuje na prilagodbu uzgoja specifičnim ekološkim uvjetima (Zavodny i sur., 2015; McClure i sur., 2022; Sierra i sur., 2023).

Na temelju arheoloških nalaza s šireg područja Mediterana rekonstruirani su i smjerovi migracija neolitičkih stočarskih zajednica s Apeninskog poluotoka prema istočnoj obali Jadrana, čime se potvrđuje teorija o dolasku prvih domaćih životinja, među kojima su bile i koze, kao dijela „neolitičkog paketa“ (Forenbaher i Miracle, 2006).

Iako još nije dokazano da su na nalazištima pronađene koze izravni preci današnje hrvatske šarene koze, na temelju njezinih sadašnjih karakteristika i prostorne raspodjele neolitičkih nalazišta može se pretpostaviti da ova pasmina potječe iz dugotrajnog uzgojnog kontinuiteta u surovim krškim uvjetima Dalmacije.

U Istri je dugo vremena bilo poznato samo jedno nalazište, otkriveno početkom 19. stoljeća u mjestu Vizače kod Valture (Pula), gdje su pronađeni arheološki ostaci životinjskih kostiju, uglavnom jedne vrste koza. Na temelju tog nalaza ne može se pouzdano zaključiti u kojoj je mjeri kozarstvo bio zastupljeno u Istri (Vondraček-Mesar, 1999). Tek kasniji nalazi, poput onih iz Pupićine pećine, potvrđuju uzgoj koza i ovaca tijekom srednjeg i kasnog neolitika (Miracle i Pugsley, 2006), dok pisani i pouzdaniji podaci ukazuju na to da je kozarstvo bilo jače zastupljeno u srednjem vijeku (12. do 17. stoljeća), kao posljedica ratnih zbivanja i potiskivanja ratarstva.

Iako je uzgoj koza bio široko rasprostranjen, koze su u prošlosti bile povezivane s bijedom i siromaštvom, a narod ih je često nazivao „sirotinjskim kravama“ (Katalinić i sur., 1994) ili „majkama sirotinje“ (Beltram i Klanjšček, 1947). Zbog slobodnog napasivanja i brsta, često su uništavale šumsku vegetaciju, pa su zbog toga, u nekoliko navrata u povijesti, doneseni zakoni kojima se zbog značajno smanjio broj radi zaštite šuma i mladih nasada. Beltram i Klanjšček (1947) opisuju kozu kao „dobrotvora“ nakon kojeg ostaje „*sivina kamenite pustoši*“.

Prve zapisane mjere protiv držanja koza datiraju od 13. srpnja 1844. godine, kada je autokratska austrijska oblast izdala Goričku načelnu zabranu držanja koza. Držanje koza bilo je dopušteno samo uz posebnu dozvolu vlasti i liječničku svjedodžbu vlasnika o potrebi korištenja kozjeg mlijeka, dok je bilo zabranjeno tjerati koze javnim putovima.

Austrijska je vlast donijela dekret o držanju koza za područje Dalmacije, 19. veljače 1873. godine, a za Istru 14. rujna 1883., gdje je uz zabranu bila predviđena i zapljena koza i novčana kazna (Beltram i Klanjšček, 1947).

Zakonom iz 1888. godine donesena je prva „*Naredba kr. zemaljske vlade, Odjela za unutarnje poslove kr. županijske oblasti u Gospiću i Ogulinu o zaštiti šumogojstva, a napose glede uživanja paše na općinskim pašnjacih*“, koja je zabranjivala držanje koza: „*Držanje koza zabranjuje se koli svakom zemljoposjedniku, toli onim osobama, koje ne posjeduju vlastita zemljišta.....*“ (Katalinić i sur., 1994).

Godine 1907. Zemaljska vlada Kraljevine Hrvatske, Slavonije i Dalmacije donijela je naredbu kojom se koze smiju držati samo za vlastite potrebe, dok se za takav uzgoj, u staji ili na vlastitom zemljištu, nije trebala ishoditi posebna dozvola. Ti su zakoni vrijedili i u vrijeme bivše Jugoslavije sve do 1954., kada je donesen najstroži zakon i koji je gotovo uništio kozarstvo. Neposredno prije donošenja tog zakona, radile su se procjene broja koza po domaćinstvu pa Beltram i Klanjšček (1947) zagovaraju tezu da se svaki posjednik koza koji drži više od 4 koze bavi „špekulacijom“ i da dvije trećine od ukupnog broja koza treba „likvidirati“, jer „*iskorišćuju narodnu imovinu na račun zajednice*“. U Šumarskom listu iz 1947. godine izašli su rezultati te „pozitivne propagande“ u kojem se navodi: „*Kotar Split: 33 sela (Kaštela) odlučila su dozvoliti držanje jedne do dvije koze po obitelji. 10 sela odlučilo je potpunu likvidaciju koza. Kotar Zadar: sva su se sela izjasnila za uništenje koza. Kotar Drniš: od 50 sela u 12 izvršena je potpuna likvidacija koza. Ostalo je još 3.000 komada koza. Kotar Šibenik: neka su sela uništila koze, a neka još drže veliki broj. Kotar Knin: dok je prije rata bilo 10.000 komada koza, propagandom je uspjelo sniziti broj koza na 2.000 komada*“.

Ovakve zakonske odluke negativno su se odrazile na broj koza, posebice na, tada dominantne, autohtone pasmine. Ožanić (1955) navodi da je 1857. godine samo na području Dalmacije bilo 424.057 koza.

Povijest Istre obilježena je čestim zabranama uzgoja koza, još od vremena mletačke, a kasnije i francuske vlasti. Ogoļjelost nekih dijelova Istre i jadranskih otoka pripisuje se iskorištavanju i sječi šuma pod vlašću Mletačke Republike, što je bio jedan od razloga zabrane držanja koza, koje su brstile i šume i mlade nasade. Iako su zabrane postojale, koze su se i dalje uzgajale, varirajući u broju jedinki. Ćići, stanovnici Ćićarije, imali su najveći broj grla, a 1750. godine učinjena im je iznimka te im je dozvoljeno držanje koza, jer su svoje koze vodili na visoke planine, gdje nisu činile štetu šumama (Novak, 1970). Jedinu statistički podaci o broju koza u Istri potječu iz 1920. godine, objavljeni u Zemljopisno-statističkom atlasu C. Battistija, gdje se navodi da je broj koza bilo 2.551, s gustoćom od 0,5 grla/km².

Važnost koza u istarskoj povijesti, kulturi, umjetnosti, religiji i gospodarstvu ogleda se i u tome što je koza dio današnjeg grba Republike Hrvatske.

Tek osamdesetih godina 20. stoljeća dolazi do inicijativa za obnovu kozarstva, a 1996. godine donesen je „Program gojidbenog stvaranja koza u Republici Hrvatskoj“, 2012. godine i Program uzgoja koza u Republici Hrvatskoj uz provođenje pod okriljem Hrvatskog saveza uzgajivača ovaca i koza.

Postupak revitalizacije istarske koze u Republici Hrvatskoj pokrenut je 2010. godine uz podršku Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i ribarstva.

Prema podacima Državnog zavoda za statistiku, na dan 1. studenog 2023. godine u Republici Hrvatskoj ukupno se uzgaja 73.000 koza, što je za 11 % manje u usporedbi s 2022. godinom. U Jedinstvenom registru ovaca i koza kojeg vodi Uprava za stočarstvo i kvalitetu hrane u Ministarstvu poljoprivrede, šumarstva i ribarstva na dan 31. prosinca 2024. godine evidentirano je 69.123 uzgojno valjanih grla koza.

2.6. Izvorne pasmine koza u Republici Hrvatskoj

Tri su priznate izvorne pasmine u Republici Hrvatskoj („Narodne novine“, br. 43/21, 38/23, 111/23) hrvatska bijela koza, hrvatska šarena koza i istarska koza. Prema podacima Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i ribarstva za 2024. godinu, u evidenciji se nalazi ukupno 2.144 uzgojno valjanih jedinki hrvatske šarene koze (2.075 koze i 69 jarca) kod 23 uzgajivača, pri čemu je najveći broj njih na području Zadarske županije. Također, evidentirano je 173 uzgojno valjanih jedinki istarske koze (158 koza i 15 jarca) kod 8 uzgajivača na području Istarske županije. Prema FAO smjernicama iz 2013. godine, hrvatska šarena koza svrstana je u kategoriju ugroženih pasmina, a istarska koza u kategoriju kritičnih.

2.6.1. Hrvatska šarena koza

Hrvatska šarena koza najbrojnija je izvorna pasmina, a u prošlosti je bila poznata i pod nazivima balkanska, dinarska, bukovica, šara, šarena, domaća i slično.

Skladne je građe, čvrstog tjelesnog okvira i dužeg trupa. Stražnji dio tijela razvijeniji je od prednjeg. Glava je srednje duga, s rogovima ili bez njih. Kod jaraca su oni češći, tamni, grubi i dvobridni, bez sjaja i rastu unazad poput sablji, a uz njih se često javlja i duža i bujnija brada. Na dugom, plosnatom i umjereno mišićavom vratu neke jedinke imaju resice. Noge su duge i čvrste, s tvrdim papcima koji omogućuju kretanje kamenitim i krškim terenima. Tijelo je prekriveno dugom, gustom i sjajnom kostrijeti raznih boja, pa se među jedinkama mogu naći potpuno bijele, crno-smeđe, crvenkaste, crno-bijele, crno-šarene, sive i šarene varijante.

Njezina skromnost u hranidbi, prilagodljivost, otpornost, dobra snalažljivost, spretnost na strmim, krševitim predjelima bila je pogodna za stoljetni ekstenzivni uzgoj na nepristupačnim terenima južnog Velebita, Dinare, Kamešnice i Biokova gdje se i danas, na takav tradicionalan način, uzgaja.

U dostupnoj literaturi nema podataka o znatnijem i planskom oplemenjivanju ove pasmine. Ima kombinirane proizvodne odlike, ali se najčešće uzgaja radi proizvodnje mesa. Proizvodna svojstva ove pasmine skromnija su u usporedbi s pasminama visokog genetičkog potencijala. Unatoč tome, njezina povijesna, tradicijska i ekološka važnost u ruralnim područjima nadilazi ekonomsku vrijednost.



Slika 10. Hrvatska šarena koza; izvor Ministarstvo poljoprivrede (<https://bag.mps.hr/hrvatske-izvorne-i-zasticene-pasmine/hrvatska-sarena-koza/>; pristup: 24.6.2022.)

Zahvaljujući svojoj sposobnosti preživljavanja u teškim uvjetima, postala je nezamjenjiva u očuvanju ekološke ravnoteže na područjima gdje druge domaće životinje ne mogu opstati, čime značajno doprinosi očuvanju biološke raznolikosti.

Hrvatska šarena koza danas se smatra vrijednim genetičkim resursom. Tu vrijednost prepoznala je i Republika Hrvatska, naglašavajući važnost njezine zaštite, ne samo radi očuvanja tradicije, povijesne i kulturne baštine već i zbog njezina potencijala u održivoj poljoprivredi.

2.6.2. Istarska koza

Istarska koza nastala je na području Istre. Velikog je tjelesnog okvira i izrazito snažne konstitucije, bijele boje s mogućim smeđim i sivim nijansama. Siva pigmentacija najčešće se nalazi na vrhu njuške, unutrašnjoj strani ušiju, iznad papaka i na vimenu. Rogovi, resice i brada pojavljuju se kod oba spola, dok je brada kod jaraca izrazito duga i gusta te može dosezati duljinu do 30 cm. U muških jedinki izraženi su grubi, teški, dugi i hrapavi (naborani) rogovi usmjereni postrano, prema natrag, s mogućom udaljenošću vrhova i do metra.

Jarčevi su razvijeniji i veće tjelesne mase (70 do 120 kg) od koza (55 do 80 kg). Prednji dio trupa skromnije je razvijen u odnosu na stražnji, s vidno izraženim grebenom, dok su noge čvrste i tanke s pravilno razvijenim papcima. Glavna odlika istarske koze je otpornost, prilagodljivost te skromnost u zahtjevima hranidbe i smještaja. Istarska koza je najrobusnija hrvatska izvorna pasmina, a najčešće se uzgaja za meso i mlijeko. Ekološki značaj istarske koze također je neupitan. Njezina prirodna sklonost brstenju sprječava

širenje nepoželjne vegetacije, što pomaže očuvanju otvorenih prostora i smanjuje rizik od šumskih požara. U tom kontekstu, one su prilagođene okolišu i aktivno doprinose njegovom očuvanju.

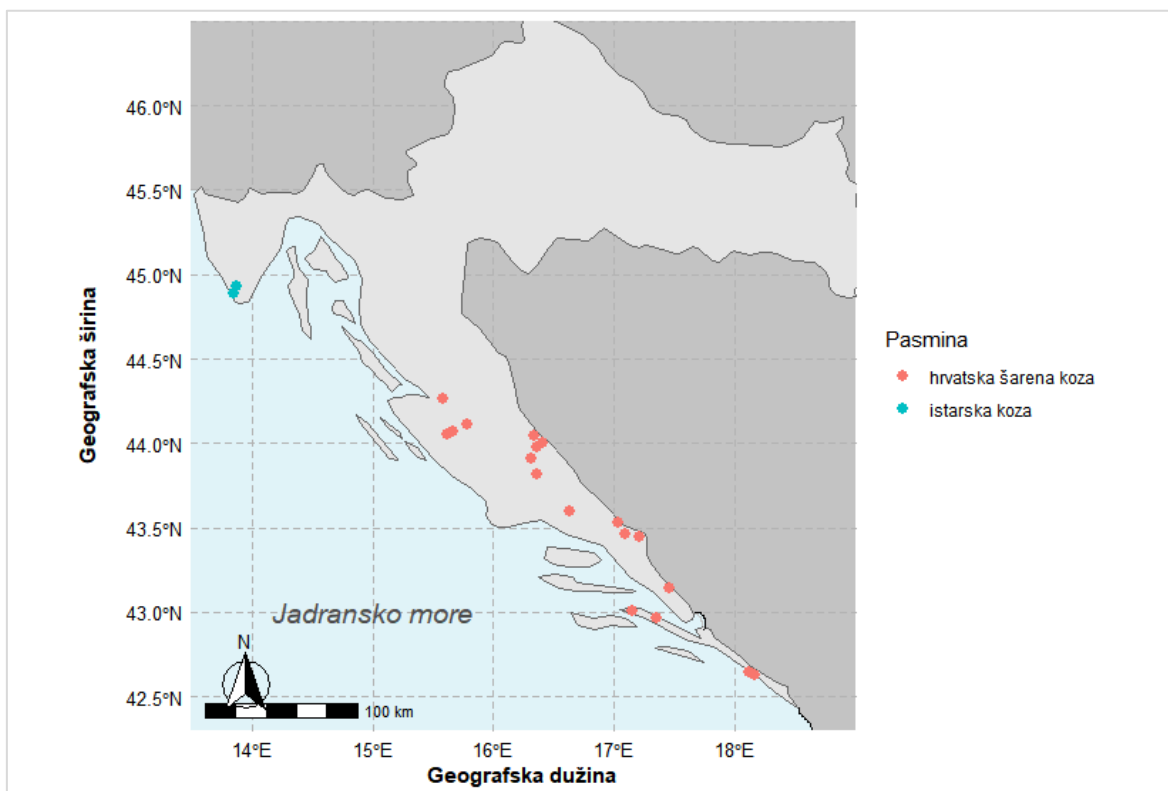


Slika 11. Istarska koza; izvor: Hrvatski savez uzgajivača ovaca i koza (<http://www.ovce-koze.hr/ovcarstvo-kozarstvo/ovcarstvo-i-kozarstvo-u-rh/kozarstvo-u-rh/pasmine-koza/istarska-koza/>; pristup: 24.6.2022.)

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Uzorkovanje i ekstrakcija DNA

Istraživanje je provedeno na dvije hrvatske izvorne i autohtone populacije koza: istarskoj kozi (n = 11) i hrvatskoj šarenoj kozi (n = 37). Uzorke DNA ustupila je Banka gena domaćih životinja Republike Hrvatske. Za hrvatsku šarenu kozu, uzorci su odabrani prema dostupnim informacijama o porijeklu i području uzgoja. Kriterij za odabir uključivali su nesrodstvo, različito geografsko porijeklo i uzgoj kod različitih posjednika kako bi se osigurala genetička raznolikost. Nasuprot tome, uzorci istarske koze uzimani su nasumično zbog izrazito male populacije, pri čemu su jedinke, prema podacima iz pedigrea, bile nesrodne. Osnovni podaci o uzorcima i jedinkama prikazani su u prilogu 1, dok su geografske lokacije jedinki na slici 12.



Slika 12. Geografske lokacije uzgoja uzorkovanih jedinki hrvatskih pasmina koza (istarska koza – plavo, hrvatska šarena koza – crveno)

Deoksiribonukleinska kiselina (DNA) ekstrahirana je iz kostrijeti, krvi i tkiva u Banci gena domaćih životinja Republike Hrvatske korištenjem DNesay Blood & Tissue Kit u skladu s protokolima proizvođača (www.qiagen.com). Uspješnost ekstrakcije genomske DNA kontrolirana je gel elektroforezom na 1 %-tnom agaroznom gelu. Elektroforeza je

provedena na 130 V kroz 40 minuta na uređaju za elektroforezu (Bio Rad). Vizualizacija rezultata izvršena je na UV transiluminatoru (Cole palmer, Tip 97500) i uređaju za snimanje gela (Omnidoc gel dokumentacion system 181204010, Cleaver Scientific) koji je prikazan na slici 13.



Slika 13. Omnidoc gel dokumentacion system, Cleaver Scientific

Molekularna građa nukleinskih kiselina utječe na njihovu sposobnost apsorpcije svjetlosti određene valne duljine. Kvantiteta i čistoća ekstrahirane DNA temelje se na apsorpciji svjetlosti pri valnim duljinama od 230 i 260 nm, te njihovim omjerima. Procjena čistoće provedena je na uređaju NanoPhotometer P330 Spektrofotometer (IMPLEN, Njemačka) na volumenu od 1 µl ekstrahirane DNA.

Preporuke proizvođača kemikalija za ekstrakciju DNA (Qiagen) navode da optimalni omjer apsorbancije A_{260}/A_{280} , koji pokazuje primarni stupanj čistoće, treba biti u rasponu od 1,7 do 1,9 kako bi se smatralo da je DNA čista. Niži omjer apsorbancije može ukazivati na prisutnost bjelančevina, fenola ili drugih kontaminanata koji imaju apsorbanciju blizu 280 nm. Omjer apsorbancije A_{260}/A_{230} koji služi kao sekundarna mjera čistoće DNA, trebao bi biti u rasponu od 2,0 do 2,2. Ako je ovaj omjer niži, to može ukazivati na prisustvo kontaminanata koji apsorbiraju svjetlost na 230 nm.

3.2. Genotipizacija, kontrola kvalitete i odabir genotipova

Ukupno je genotipizirano 48 uzoraka hrvatskih pasmina koza korištenjem platforme Goat_IGGC_65K_v2 (Illumina, San Diego, CA, USA) u laboratoriju Labogena, Francuska. Nakon genotipiziranja, rezultati su dokumentirani u završnom izvješću (Caprin_60K_V2_FinalReport).

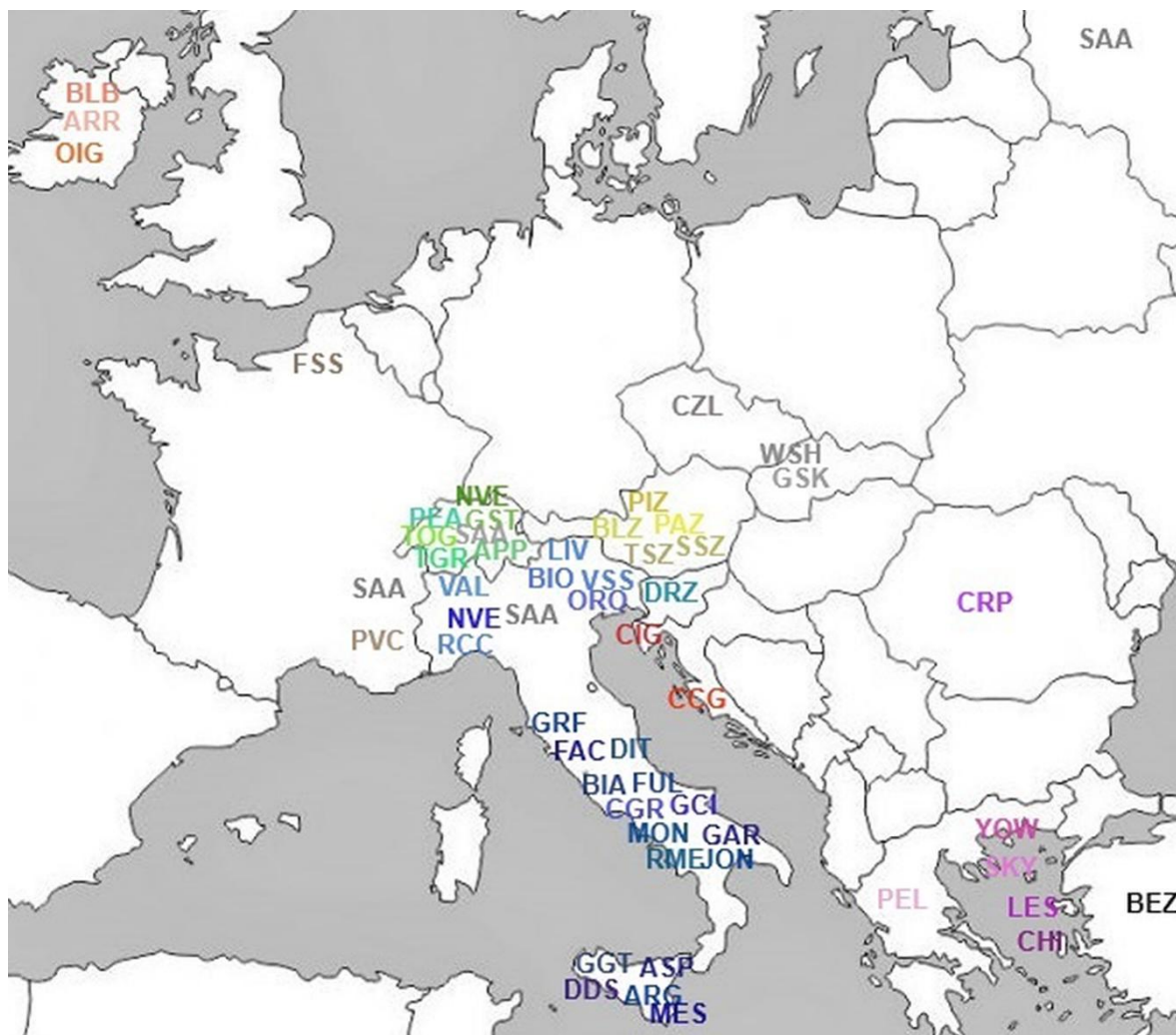
Za precizno usklađivanje s genotipovima drugih pasmina, korišteno je „TOP“ čitanje, a kontrola kvalitete provedena je pomoću SVS softvera (eng. SNP & Variation Suite v8.7.0) (www.goldenhelix.com).

Kako bi se osigurala analiza samo autosomnih SNP-ova, isključeni su SNP-ovi locirani na spolnim kromosomima (X i Y kromosomima), mitohondrijskoj DNA i dislocirani SNP-ovi. U skladu s Illumina parametrima kontrole kvalitete (Illumina GenCall score $\leq 0,8$ i GenTrain score $\leq 0,4$), svi SNP-ovi upitne kvalitete isključeni su iz daljnje analize. Kontrola kvalitete provedena je korištenjem softvera PLINK 1.9 (Purcell i sur., 2007), pri čemu su isključeni svi SNP-ovi s više od 10 % nedostajućih genotipova (*--geno*) te jedinke s 5 ili više % genotipova (*--mind*). Zbog loše genotipizacije, iz analize je isključeno pet jedinki hrvatske šarene koze i jedna jedinka istarske koze, ostavljajući 10 jedinki istarske koze i 32 jedinke hrvatske šarene koze za daljnju analizu. Stvorene su .ped i .map datoteke za slijedeće analize.

Genotipovi hrvatskih pasmina koza spojeni su s genotipovima pasmina koje obitavaju u geografskom području blizu Republike Hrvatske i imaju slične fenotipske karakteristike. Većina genotipova preuzeta je iz javno dostupnih repozitorija, dok je dio ustupljen od Slovak University Faculty of Agribiology and Food Resources (prilog 2). Iako je odabir pasmina bio usmjeren na one iz susjednih zemalja, trenutna nedostupnost genotipova iz tih zemalja ograničava mogućnost izravne usporedbe.

Uz dvije hrvatske pasmine (hrvatska šarena koza i istarska koza) u setu podataka (slika 14) su genotipovi: 24 talijanske (argentata, aspromontana, bianca monticellana, bionda dell' adamello, ciociara grigia, derivata di siria, capra di teramo, facciuta della valnerina, fulva del lazio, garganica, grigia ciociara, girgentana, garfagnina, jonica, capra di livio, messinese, capra di montefalcone, nera di verzasca, orobica, roccaverano, rossa mediterranea, saanen, valdostana, valpassiria), sedam švicarskih (appenzell goat, grisons striped goat, nera di verzasca, peacock goat, tessin grey goat, toggenburg, saanen), pet austrijskih (blobe ziege, passeirer ziege, pinzgauer ziege, styrian pied, tauren pied), pet grčkih pasmina (chios, lesbos, peloponnese, skyros, youra wild goat), tri francuske (fosses, provencale, saanen), tri irske (traditional arran, old irish goat, bilberry), dvije češke (landrace

goat, white shorthair goat), jedna slovačka (brown shorthair goat), jedna slovenska (drežnica goat), jedna ruska (saanen), jedna rumunjska (carpatian goat) i jedna iranska (bezoar) te pasmina white shorthair goat, prekogranična pasmina prisutna u Češkoj i Slovačkoj.



Slika 14. Geografska karta lokacija koza korištenih za genomsku analizu

Hrvatska (CIG, CCG), Austrija (BLZ, PAZ, PIZ, SSZ, TSZ), Francuska (FSS, PVC, SAA), Grčka (CHI, LES, PEL, SKY, YOW), Irska (ARR, BLB, OIG), Italija (ARG, ASP, BIA, BIO, CGR, DDS, DIT, FAC, FUL, GAR, GCI, GGT, GRF, JON, LIV, MES, MON, NVE, ORO, RCC, RME, VAL, VSS, SAA), Rumunjska (CRP), Rusija (SAA), Slovenija (DRZ), Slovačka (GSK), Češka (WSH, CZL), Švicarska (APP, GST, NVE, PEA, TGR, TOG, SAA), Iran (BEZ) i WHS. Popis, oznake i porijeklo pasmina prikazan je u prilogu 2.

3.3. Analiza genetičke strukture populacija koza

3.3.1. Srodnost između populacija

Za procjenu srodstva između hrvatskih izvornih i drugih odabranih pasmina koza provedena je analiza glavnih komponenti (eng. Principal Component Analysis, PCA). Ova analiza obuhvatila je cijeli set podataka i provedena je u R paketu SNPRelate (Zheng i sur., 2012). Rezultati su vizualizirani pomoću paketa ggplot, što omogućuje detaljan pregled i interpretaciju genetičkih odnosa između pasmina. Oznake pasmina uključuju i kod države u kojoj se uzgajaju, pružajući dodatni kontekst za analizu geografske distribucije genetičkih varijacija.

3.3.2. Protok gena

Filogenetički odnosi među pasminama vizualizirani su konstrukcijom Neighbour-Net mreže, temeljene na Nei genetičkim udaljenostima (Nei, 1978). Analiza je provedena pomoću softvera SplitsTree4 (Huson i Bryant, 2006), dok su Nei genetičke udaljenosti izračunate su u R paketu stAMPP (Pembleton i sur., 2013).

Za detaljno određivanje odnosa između promatranih pasmina koza korišten je softver TreeMix v1.13 (Pickrell i Pritchard, 2012). Treemix analizira frekvencije alela kako bi izgradio filogenetičko stablo koje vizualizira genetičke udaljenosti među pasminama i pokazuje povijesni protok gena. Početno je konstruirano stablo najveće vjerojatnosti populacija bez migracija (m_0), nakon čega su ispitani modeli s do deset migracijskih događaja (m_{10}). Kako bi se povećala pouzdanost analize, provedeno je deset ponovljenih određivanja za svaki migracijski događaj. Postotak udjela varijance određen je za svaki model migracija, a najvjerojatnije stablo (najbolji m) konstruirano je pomoću programskog paketa OptM (Fitak, 2021).

3.3.3. Struktura populacija

Procjena genetičke strukture i razina miješanja populacija provedena je na setu podataka pomoću softvera Admixture 1.3.0 (Alexander i sur., 2009) nakon LD prorjeđivanja provedenog u softveru PLINK 1.9 (Purcell i sur., 2007), uz veličinu prozora od 50 SNP-ova, veličine koraka od 5 SNP-ova i prag r^2 većim od 0,05 za uklanjanje visoko povezanih parova. Broj genetičkih klastera (K) testiran je za vrijednosti u rasponu od 1 do 60, uz deset replikacija za svaku testiranu K vrijednost. Za procjenu optimalnog broja klastera korištena je metoda peterostruke unakrsne provjere (eng. cross-validation, CV) za svaki K , a vizualizacija rezultata provedena je pomoću softvera Structure Selector (Li i Liu, 2018).

Za određivanje stupnja genetičke raznolikosti analiziranih populacija koza korišten je Wrightov fiksacijski indeks (F_{ST}). Ovaj indeks izračunat je u SVS softveru v8.7.0 (www.goldenhelix.com). Srednja vrijednost F_{ST} korištena je za kvantifikaciju genetičke varijacije među populacijama, pružajući uvid u razlike u genetičkoj strukturi između njih.

3.4. Procjena konzervacijskog statusa hrvatskih izvornih pasmina koza

3.4.1. Genetička raznolikost

Za procjenu genetičke raznolikosti unutar hrvatskih izvornih pasmina koza, nakon provedene kontrole kvalitete, izračunati su opažena heterozigotnost (H_o), očekivana heterozigotnost (H_e) i koeficijent inbridinga (F_{IS}). Ovi parametri su analizirani pomoću PLINK v1.9 softvera (Purcell i sur., 2007) za svaku pasminu posebno. Opažena heterozigotnost (H_o) odražava stvarnu genetičku varijabilnost unutar populacije, dok očekivana (H_e) pruža procjenu genetičke raznolikosti temeljenoj na Hardy-Weinberg ravnoteži. Koeficijent inbridinga (F_{IS}) izračunat je kao razlika između opaženog i očekivanog broja homozigotnih genotipova, što omogućuje procjenu razine inbridinga unutar svake pasmine. Pojedinačne F_{IS} vrijednosti izračunate su i zbrojene za svaku pasminu, čime se dobila zbirna procjena inbridinga unutar svake populacije.

3.4.2. Genomski inbriding

Inbriding je određen preko koeficijenta inbridinga temeljenog na duljinama homozigotnih regija genoma (ROH) (McQuillan i sur., 2008; Curik i sur., 2014a). ROH-ovi su identificirani zasebno za svaku jedinku koristeći SVS softver (www.goldenhelix.com).

Za identifikaciju ROH-ova postavljeni su slijedeći kriteriji: minimalna duljina regije koja čini ROH iznosila je 2Mb, minimalna SNP gustoća unutar ROH-a bila je jedan SNP na svakih 1.000 kb, minimalni broj SNP-ova u ROH-u bio je 15, a maksimalan razmak između susjednih SNP-ova 1.000 kb. Definirano je pet kategorija prema duljini homozigotnih regija (> 2 Mb, 2-4 Mb, 4-8 Mb, 8-16 Mb i > 16 Mb). Maksimalan dopušten broj heterozigotnih genotipova određen je prema Ferencaković i sur. (2013) i razlikuje se za svaku kategoriju ROH-a: jedan heterozigotni genotip za kategoriju > 2 Mb, dva za kategoriju 2-4 Mb, četiri za kategoriju 4-8 Mb, osam za kategoriju 8-16 Mb, te 16 za kategoriju > 16 Mb.

Na isti način definiran je i najveći dopušten broj nedostajućih genotipova u svakoj kategoriji duljine ROH-a (Mb): za kategoriju > 2 Mb od 0 do 4 nedostajuća genotipa, za kategoriju 2-4 Mb od 0 do 8, za kategoriju od 4-8 Mb od 1 do 16, za kategoriju 8-16 Mb od 2 do 32, te za kategoriju > 16 Mb od 4 do 64 nedostajućih genotipova.

Genomski koeficijent inbridinga (F_{ROH}) temeljen na duljinama homozigotnih regija genoma (ROH) izračunat je prema McQuillan i sur. (2008). Duljina svih ROH-ova po jedinki zbrojena je i podijeljena s ukupnom duljinom autosomalnog genoma obuhvaćenog SNP-

ovima. F_{ROH} je izračunat za različite minimalne duljine ROH-a, budući da kratki segmenti potječu od dalekog zajedničkog pretka, dok dugi segmenti odražavaju nedavni inbriding (Ferenčaković i sur., 2013). Za svaku jedinku izračunati su F_{ROH} 2-4 Mb, F_{ROH} 4-8 Mb, F_{ROH} 8-16 Mb i $F_{ROH} > 16$ Mb.

Ukupni $F_{ROH} > 2$ Mb procijenjen je za dvije hrvatske izvorne pasmine koza, kao i za odabrane europske pasmine (četiri talijanske, četiri austrijske, jedna slovenska, jedna rumunjska i jedna slovačka). F_{ROH} po pasmini izračunat je kao prosjek pojedinačnih $F_{ROH} > 2$ Mb.

3.4.3. Efektivna veličina populacije

Efektivna veličina populacije (N_e) može se procijeniti za različita vremenska razdoblja od drevnih do sadašnjih. Za genetiku očuvanja najrelevantniji su vremenski okviri koji obuhvaćaju trenutnu generaciju ili samo nekoliko generacija u prošlost (Luikart i sur., 2010). Procjena efektivne veličine populacije provedena je korištenjem programa GONE (Santiago i sur., 2020). Ovaj softver koristi optimizacijske metode temeljene na genetičkim algoritmima (Mitchell, 1998) kako bi se procijenila nedavna demografska povijest populacije na osnovi genomskih podataka živućih jedinki. Metoda koja se koristi u GONE softveru pokazuje se kao točnija i pouzdanija u usporedbi s drugim metodama za izračun N_e za relativno nedavna vremenska razdoblja, koja sežu do otprilike 200 generacija (Novo i sur., 2022).

3.4.4. Identifikacija signala selekcije

Za identifikaciju selekcijskih potpisa koji odražavaju prirodnu ili umjetnu selekciju korištene su metode iHS (Voight i sur., 2006) i eROHi (eng. extreme runs of homozygosity islands, eROHi) (Curik i sur., 2014; Mészáros i sur., 2015), koje su među najčešće korištenim metodama u analizi populacija (Lukic i sur., 2023; Shihabi, 2024).

Procjena regija pod pozitivnom selekcijom provedena je pomoću iHS metode, koja se temelji na proširenoj homozigotnosti haplotipa (EHH).

Faziranje haplotipova iz SNP podataka za hrvatsku šarenu kozu i istarsku kozu provedeno je pomoću SHAPEIT2 softvera (Delaneau i sur., 2014), uz korištenje 400 stanja uvjetovanja i veličinu prozora od 1Mb. Vrijednosti iHH_A i iHH_D , kao i konačne iHS vrijednosti, izračunate su u programskom jeziku R, koristeći paket rehh (Gautier i Vitalis, 2012). Sve iHS vrijednosti normalizirane su unutar frekvencijskih binova veličine 0,025, a $-\log_{10}(P)$ vrijednosti izračunate su pod pretpostavkom dvosmjernih testova, budući da su ekstremne (pozitivne i negativne) iHS vrijednosti informativne za detekciju selekcije. Identifikacija

prozora uzastopnih SNP-ova s brojnim ekstremnim vrijednostima (jer selekcija obično stvara klastere ekstremnih vrijednosti, dok neutralni model pokazuje njihovu ravnomjerniju raspodjelu) provedena je prema Voight i sur. (2006), koristeći pristup kliznog prozora veličine 1 Mb s pomakom od 0,25 Mb. SNP-ovi s $-\log_{10}(P) \geq 3$ smatrani su značajnima, a prozori koji su sadržavali tri ili više značajnih SNP-ova identificirani su kao potencijalne regije koje ukazuju na pozitivnu selekciju. Grafički prikaz (Manhattan plot) korišten je za vizualizaciju raspodjele regija pod pozitivnom selekcijom za svaki kromosom u obje hrvatske populacije.

Na temelju identificiranih ROH-ova za procjenu inbridinga u populacijama hrvatske šarene koze i istarske koze, izračunata je učestalost ROH-a i normalizirana za svaki SNP. Normalizirane vrijednosti potom su transformirane u $-\log_{10}(P)$ vrijednosti. SNP-ovi s $-\log_{10}(P) \geq 3$ smatrani su ekstremima, a regije s najmanje tri uzastopne ekstremne vrijednosti smatrane su regijama pod pozitivnom selekcijom. Vizualizacija eROHi vrijednosti prikazana je pomoću Manhattan plot grafičkog prikaza.

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. Kvaliteta i čistoća DNA

Kontrola uspješnosti ekstrakcije genomske DNA provedena je koristeći gel elektroforezu s izravnom vizualizacijom DNA pod UV svjetlom. Svi uzorci dali su zadovoljavajuće svjetlosne signale, što ukazuje na uspješnu ekstrakciju i dobru kvalitetu DNA.

Procjena čistoće DNA izvršena je omjerom očitavanja A_{260}/A_{280} , gdje je prosječna vrijednost iznosila 1.866, s najnižom vrijednošću od 1,433 i najvišom od 2,148, što ukazuje na idealnu čistoću uzorka. Koncentracija DNA u uzorcima kretala se u rasponu od 12,5 do 199,00 ng/ μ l, dok je prosječna koncentracija iznosila 43,49 ng/ μ l. Detalji o parametrima čistoće i koncentraciji DNA nalaze se u prilogu 3.

4.2. Definiranje i grupiranje genotipova

Nakon provedene genotipizacije na 48 uzoraka (prilog 1) ukupno je identificirano 59.727 SNP-ova. Nakon što su provedeni procesi pročišćavanja i isključenja genotipova koji nisu zadovoljili postavljene kriterije, za daljnju analizu preostalo je 42 genotipa hrvatskih pasmina koza (od kojih je 32 pripadalo hrvatskoj šarenoj i 10 istarskoj kozi) te 1.421 genotip ostalih pasmina. U daljnje analize uključeno je ukupno 27.411 SNP-a.

4.3. Genetički odnosi i struktura populacija

4.3.1. Analiza glavnih komponenata (PCA)

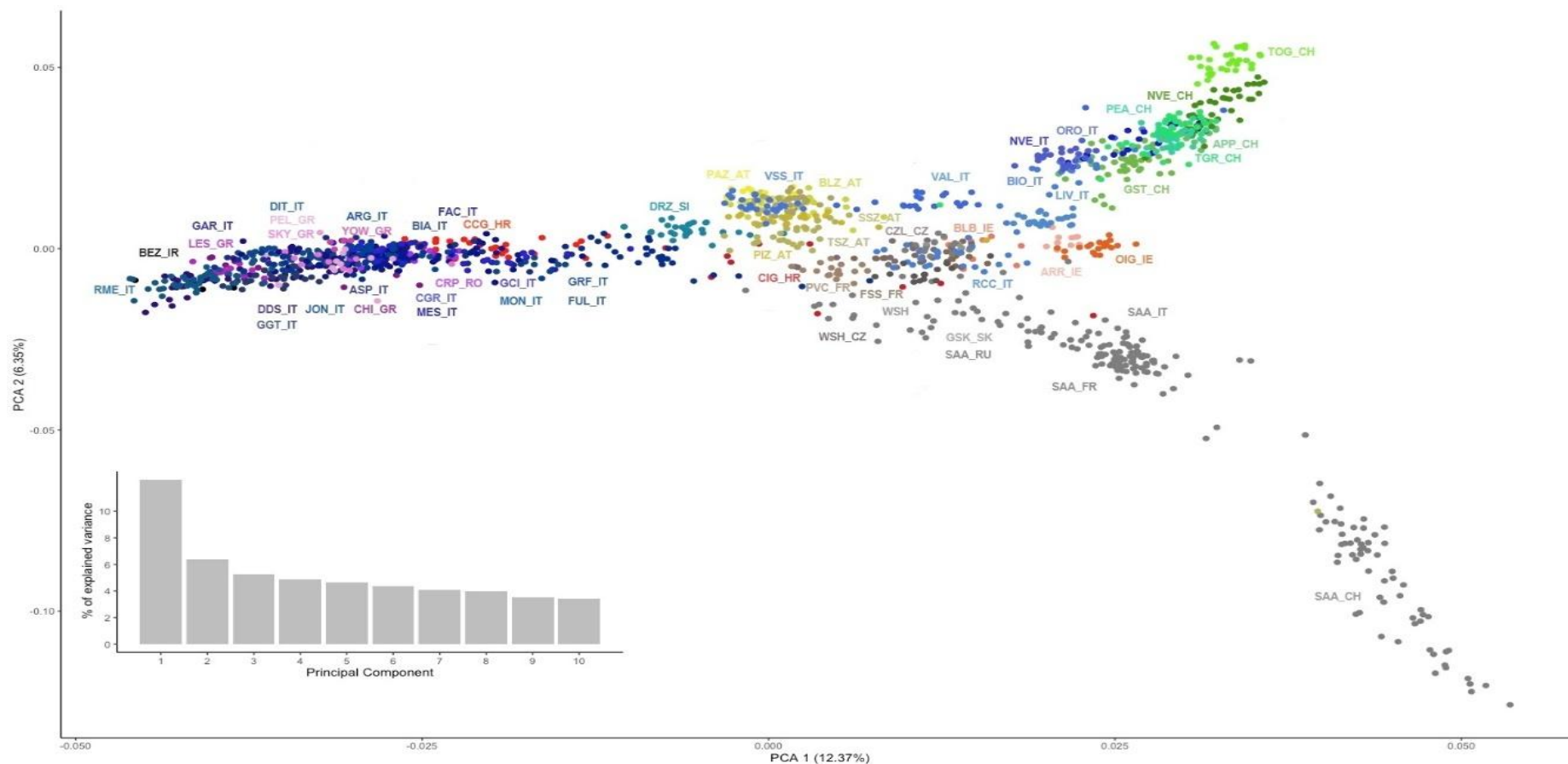
Analiza glavnih komponenti (PCA) provedena je na genotipovima 42 uzorka hrvatskih pasmina koza (32 hrvatske šarene i 10 istarskih) i 1.421 uzoraka drugih pasmina, s ukupno 27.411 SNP-ova. Ova analiza imala je cilj pozicioniranje hrvatskih pasmina u okviru šire genetičke varijacije (graf 1).

Prva glavna komponenta (PC1) obuhvatila je 12 % varijabilnosti u skupu podataka i omogućila identifikaciju tri glavna klastera. Prvi klaster obuhvaća pasmine iz središnje i južne Italije, grčke pasmine, rumunjsku carpatian i bezoar. Ovaj klaster ukazuje na genetičku povezanost između pasmina s tih područja, s naglaskom na bliske odnose među njima. Drugi klaster uključuje pasmine iz Austrije, Slovenije, Češke, Slovačke, Francuske, Irske i iz sjeverne Italije. Ovaj klaster pokazuje zajedničke genetičke karakteristike među pasminama koje potječu iz različitih europskih zemalja, ali su povezane zajedničkim genetičkim korijenima. Posebno su se odvojile pasmine iz Švicarske (alpske) i sanske koze.

Općenito, pasmine iz iste države ili regije imaju tendenciju da se grupiraju zajedno, s izuzetkom talijanskih koza koje su pokazale veću disperziju unutar klastera. Talijanske pasmine rasporedile su se u različite klastere ovisno o geografskoj pripadnosti (sjeverna, središnja ili južna Italija).

Hrvatska šarena koza (CCG) formirala je jasan klaster čime pokazuje homozigotnost pasmine. Ova pasmina je genetički najbliža kozama iz središnje Italije, poput facciata della valnerina, grigia ciociara, bianca monticellana i garfagnina, te rumunjskoj carpatian kozi i grčkim pasminama.

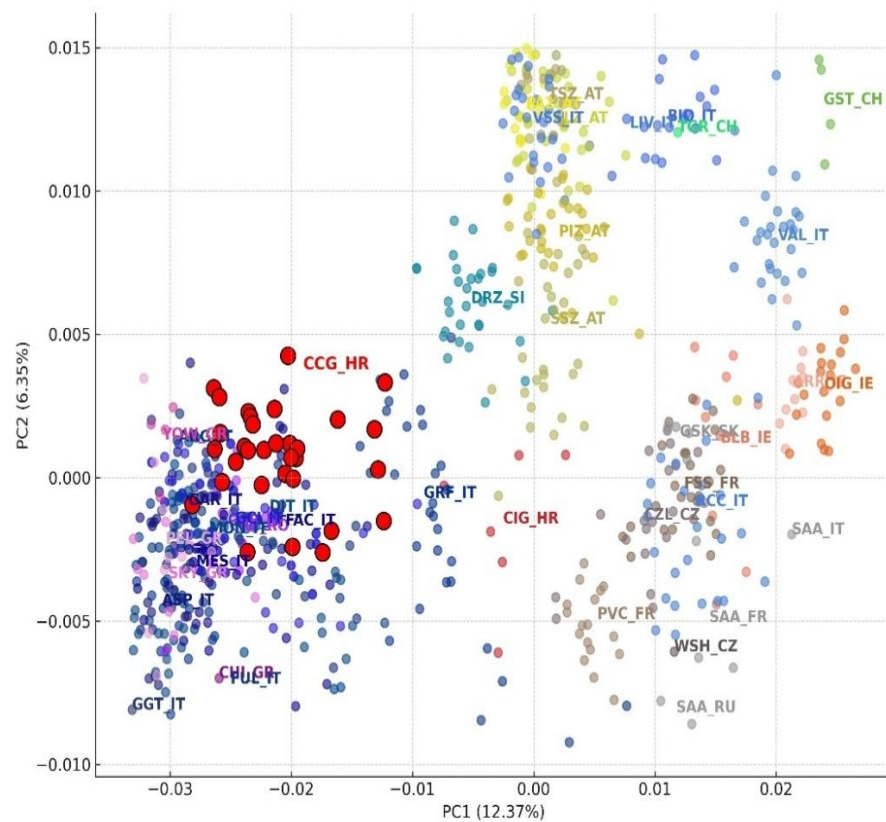
Nasuprot tome, jedinke istarske koze (CIG) raspršile su se unutar drugog klastera pokazujući značajnu genetičku heterozigotnost. Ove jedinke su se našle u blizini slovenske drežničke koze, austrijskih pinzgauer ziega i tauern pied, češke white shorthair goat, slovačke brown shorthair goat, francuske fosses, kao i sjevernotalijanskih pasmina roccaverano i valpassiria te skupine sanskih koza.



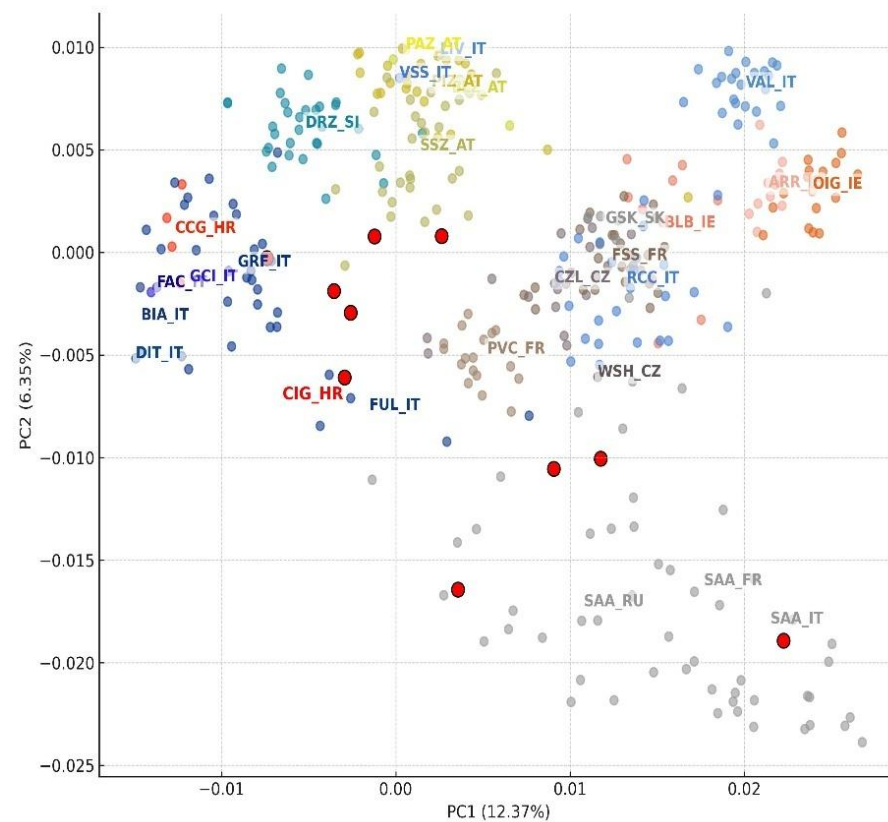
Graf 1. Analiza glavnih komponenti (PCA) za cijeli set podataka; **A** hrvatska šarena koza i **B** istarska koza

Hrvatska (**CIG_HR**, **CCG_HR**), Austrija (**BLZ_AT**, **PAZ_AT**, **PIZ_AT**, **SSZ_AT**, **TSZ_AT**), Francuska (**FSS_FR**, **PVC_FR**, **SAA_FR**), Grčka (**CHI_GR**, **LES_GR**, **SKY_GR**, **YOW_GR**, **PEL_GR**), Irska (**BLB_IE**, **ARR_IE**, **OIG_IE**), Italija (**ARG_IT**, **ASP_IT**, **BIA_IT**, **BIO_IT**, **CGR_IT**, **DDS_IT**, **DIT_IT**, **FAC_IT**, **FUL_IT**, **GAR_IT**, **GCI_IT**, **GGT_IT**, **GRF_IT**, **JON_IT**, **LIV_IT**, **MES_IT**, **MON_IT**, **NVE_IT**, **ORO_IT**, **RCC_IT**, **RME_IT**, **VAL_IT**, **VSS_IT**, **SAAN_IT**), Rumunjska (**CRP_RO**), Rusija (**SAAN_RU**), Slovenija (**DRZ_SI**), Slovačka (**GSK_SK**), Češka (**WSH_CZ**, **CZL_CZ**), Švicarska (**APP_CH**, **GST_CH**, **PEA_CH**, **TGR_CH**, **TOG_CH**, **NVE_CH**, **SAAN_CH**), Iran (**BEZ_IR**) i **WHS**. Podaci o pasminama i genotipovima prikazani su u prilogu 2.

A



B



4.3.2. Filogenetički odnosi i protok gena

Na temelju Nei genetičkih udaljenosti između promatranih pasmina koza, izgrađena je Neighbour-Net mreža koje spaja susjede i povezuje pasmine prema njihovoj genetičkoj sličnosti (slika 15). Ova mreža ilustrira kako se aleli dijele među pasminama na razini genoma, pri čemu duže grane upućuju na veću divergenciju među pasminama. Pasmine iz iste države označene su istom bojom, osim sanskih koza koje su prikazane zajedničkom (sivom) bojom.

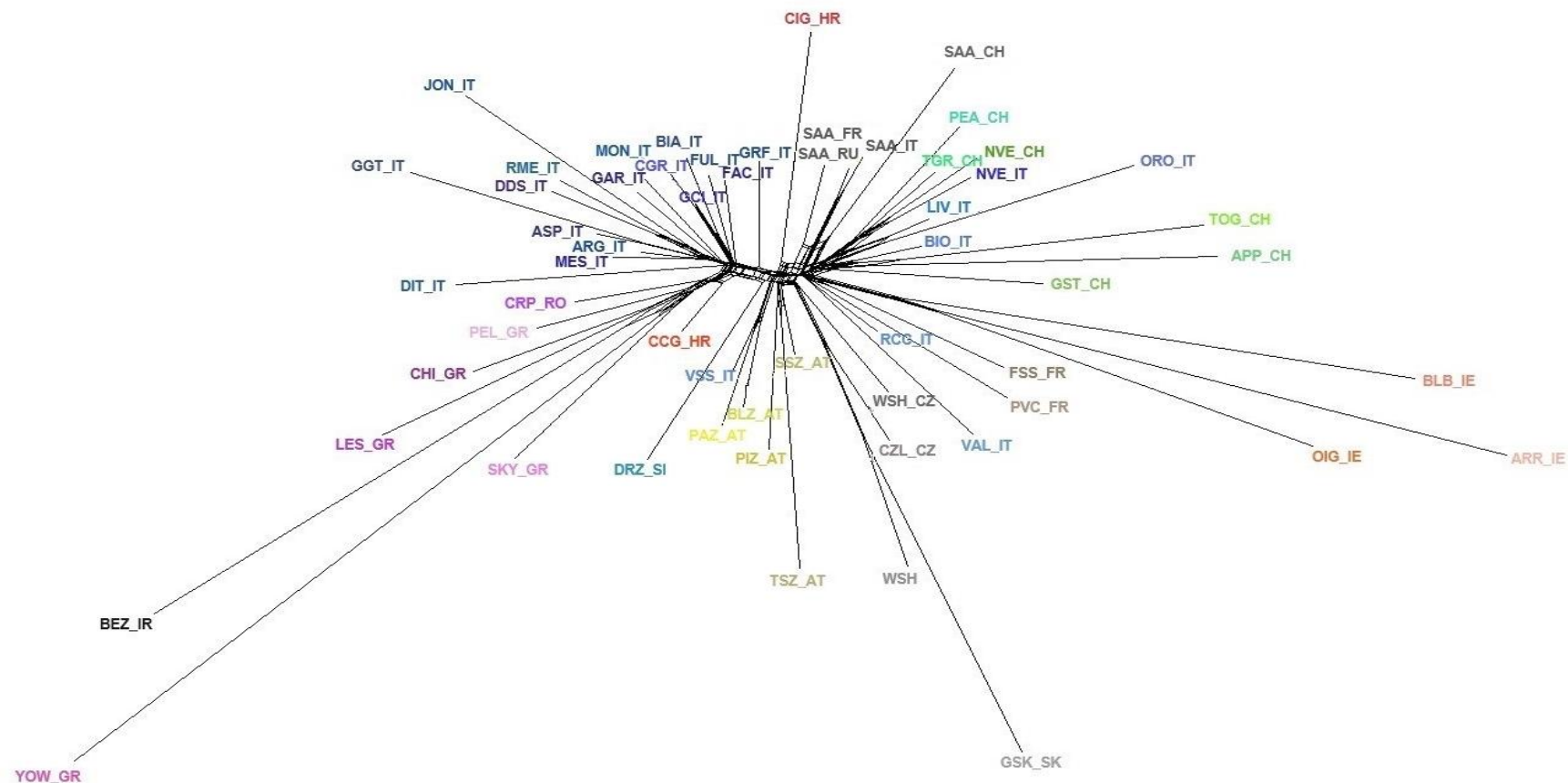
Analiza genetičke udaljenosti pokazuje jasno odvajanje hrvatske šarene i istarske koze. Hrvatska šarena koza nalazi se na kratkoj grani unutar klastera koji uključuje grčke pasmine youra wild goat, skyros, peloponnese i lesbos, rumunjsku carpatian kozu i bezoar. S druge strane, istarska koza formira dugu granu koja je pokazatelj njezine odvojenosti od drugih pasmina. Smještena je između sanskih koza i talijanske girgentane.

Pasmine koje su se pozicionirale između dviju hrvatskih pasmina su talijanska garfagnina, slovenska drežnička, sve austrijske pasmine i talijanska valpassiria, koja je smještena na istoj grani s austrijskim blobe ziega i passier ziega.

Centralnu poziciju u mreži zauzimaju talijanske pasmine girgentana i valpassiria, hrvatska istarska koza, slovenska drežnička, te austrijske pasmine blobe ziega, passier ziega, pinzgauer ziega, stytian pied i tauerin pied. Ove pasmine su genetički povezane i nalaze se u blizini jedna druge.

Ostale pasmine grupirale su se na suprotnim stranama mreže: na jednoj strani nalaze se pasmine iz središnje i južne Italije, Grčke, Rumunjske i bezoar (jugoistok Europe), dok se na drugoj strani nalaze pasmine sa sjevera Italije, Francuske, Švicarske, Češke, Slovačke, Irske te sanske (zapadna i srednja Europa).

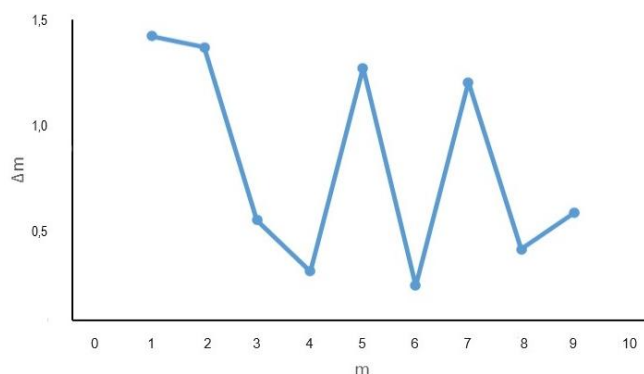
Najdalje pozicionirane su irske pasmine (traditional arran, bilberry i old irish goat), bezoar, grčka youra wild goat i slovačka brown shorthair goat koje su smještene na krajnjim dijelovima mreže, pokazujući jasnu genetičku distancu od ostalih pasmina.



Slika 15. Nei distance prikazane Neighbour-Net mrežom korištenjem softvera SplitsTree

Hrvatska (**CIG_HR**, **CCG_HR**), Austrija (**BLZ_AT**, **PAZ_AT**, **PIZ_AT**, **SSZ_AT**, **TSZ_AT**), Francuska (**FSS_FR**, **PVC_FR**, **SAA_FR**), Grčka (**CHI_GR**, **LES_GR**, **SKY_GR**, **YOW_GR**, **PEL_GR**), Irska (**BLB_IE**, **ARR_IE**, **OIG_IE**), Italija (**ARG_IT**, **ASP_IT**, **BIA_IT**, **BIO_IT**, **CGR_IT**, **DDS_IT**, **DIT_IT**, **FAC_IT**, **FUL_IT**, **GAR_IT**, **GCI_IT**, **GGT_IT**, **GRF_IT**, **JON_IT**, **LIV_IT**, **MES_IT**, **MON_IT**, **NVE_IT**, **ORO_IT**, **RCC_IT**, **RME_IT**, **VAL_IT**, **VSS_IT**, **SAAN_IT**), Rumunjska (**CRP_RO**), Rusija (**SAAN_RU**), Slovenija (**DRZ_SI**), Slovačka (**GSK_SK**), Češka (**WSH_CZ**, **CZL_CZ**), Švicarska (**APP_CH**, **GST_CH**, **PEA_CH**, **TGR_CH**, **TOG_CH**, **NVE_CH**, **SAAN_CH**), Iran (**BEZ_IR**) i **WHS**. Popis, oznake i porijeklo pasmina prikazan je u prilogu 2.

Filogenetičko stablo izgrađeno pomoću softvera TreeMix pruža uvid u genetičke udaljenosti među promatranim pasminama koza te otkriva tokove gena u prošlosti i evolucijske odnose (slika 16). Temeljem procijenjene vrijednosti pokazalo se da jedan migracijski događaj najbolje odgovara modelu (graf 4), što je potvrđeno Evanno i linearnim metodama. Srednji udio varijacije kretao se od 95,77 % (m0) do 97,21 % (m10).



Graf 2. Prikaz optimalnog broja migracija

Na stablu maksimalne vjerojatnosti, hrvatska šarena koza i istarska koza jasno su grupirane među europskim pasminama koza, ali su smještene na odvojenim granama što je u skladu s rezultatima Neighbour-Net analize. Pasmine su se jasno razdvojile u dvije glavne grupe, pri čemu se hrvatska istarska koza pozicionirala u sredini.

U prvoj grupi nalaze se austrijske, grčke, slovenska drežnička koza, rumunjska carpatian, hrvatska šarena i talijanske iz središnje i južne Italije uključujući bezoar. Unutar ove grupe, hrvatska šarena koza čini most između rumunjske carpatian koze, grčkih (skyros, youra wild goat, peloponnese, chios, lesbos) i bezoara s jedne strane, te talijanskih pasmina iz središnje i južne Italije (bianca monticellana, ciociara grigia, chios, fulva del lazio, capra di montefalcone, garganica, aspromontana, girgentana, messinese, argentata, jonica, derivata di siria, rossa mediterranea i di teramo) s druge strane.

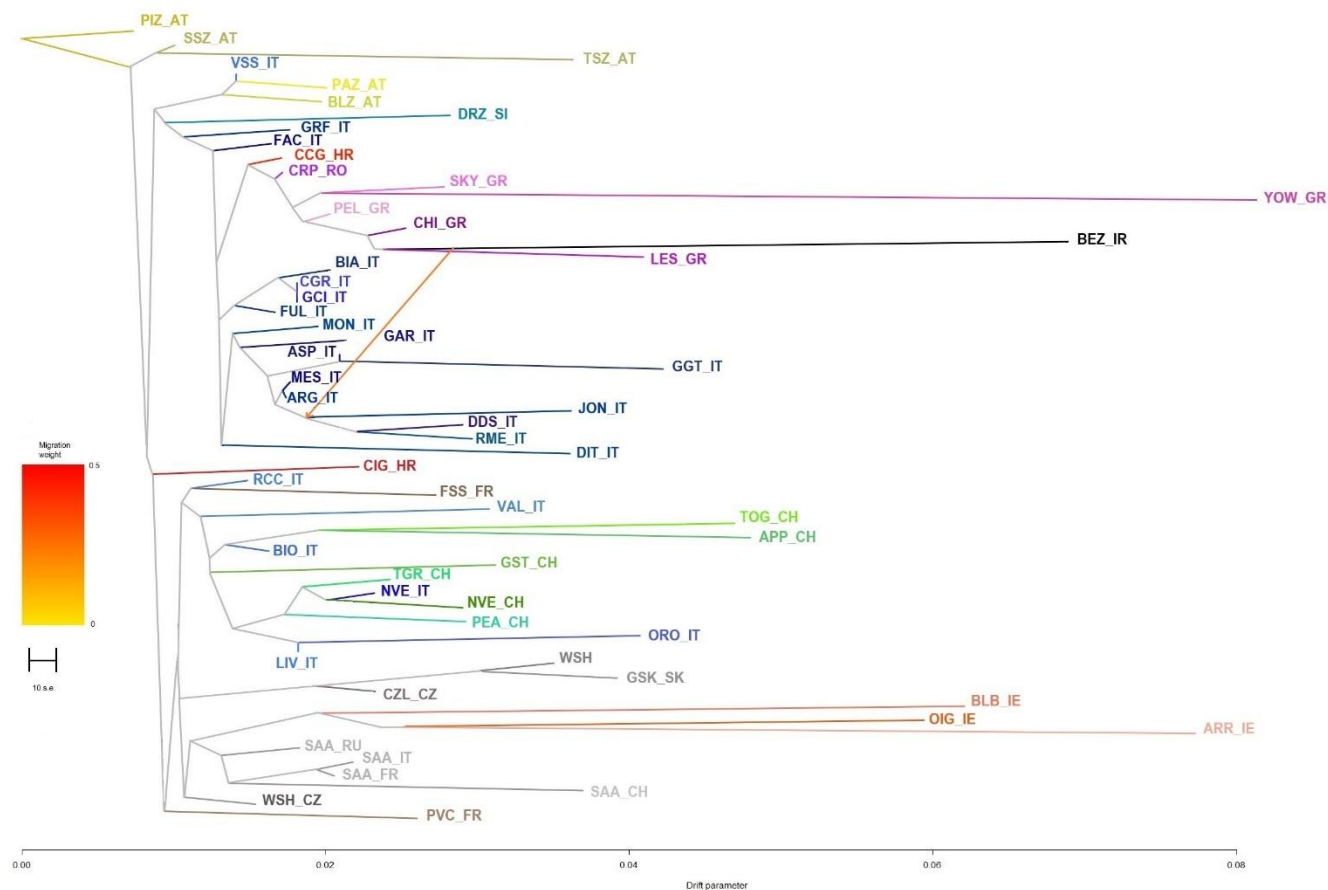
U drugoj grupi nalaze se pasmine iz Francuske, Češke, Slovačke Švicarske, Irske i sjeverne Italije i sanske koze.

Hrvatska istarska koza pozicionirala na središnjem mjestu između ovih dviju grupa, što ukazuje na njenu povezanost s obje skupine.

Hrvatska šarena i istarska koza stoga predstavljaju ključne točke u filogenetičkoj mreži, s hrvatskom šarenom kozom kao središnjim mostom između istoka i zapada Europe, dok je hrvatska istarska koza smještena između dvije glavne grupe, što reflektira njezinu evolucijsku povezanost s različitim regijama.

Najveća migracijska težina uočena je između bezoara i čvora koji povezuje talijanske pasmine jonica, derivata di siria i rossa mediterranea. Ovaj migracijski događaj prisutan je u svih deset replika analize.

S druge strane, protok gena s niskom migracijskom težinom zabilježen je između hrvatske istarske koze i bezoara u trećem migracijskom događaju (prilog 4). Također, niska migracijska težina primijećena je između hrvatske šarene koze i sanske talijanske pasmine u osmom događaju.



Slika 16. Stablo maksimalne vjerojatnosti

Hrvatska (CIG_HR, CCG_HR), Austrija (BLZ_AT, PAZ_AT, PIZ_AT, SSZ_AT, TSZ_AT), Francuska (FSS_FR, PVC_FR, SAA_FR), Grčka (CHI_GR, LES_GR, SKY_GR, YOW_GR, PEL_GR), Irska (BLB_IE, ARR_IE, OIG_IE), Italija (ARG_IT, ASP_IT, BIA_IT, BIO_IT, CGR_IT, DDS_IT, DIT_IT, FAC_IT, FUL_IT, GAR_IT, GCI_IT, GGT_IT, JON_IT, LIV_IT, MES_IT, MON_IT, NVE_IT, ORO_IT, RCC_IT, RME_IT, VAL_IT, VSS_IT, SAA_IT), Rumunjska (CRP_RO), Rusija (SAA_RU), Slovenija (DRZ_SI), Slovačka (GSK_SK), Češka (WSH_CZ, CZL_CZ), Švicarska (APP_CH, GST_CH, PEA_CH, TGR_CH, TOG_CH, NVE_CH, SAA_CH), Iran (BEZ_IR) i WHS. Popis, oznake i porijeklo pasmina prikazan je u prilogu 2

4.3.3. Genetička struktura i razina miješanja populacija

Fiksacijski indeks (F_{ST}) predstavlja mjeru genetičke raznolikosti među populacijama. Za analizu je odabrano 25 pasmina. Vrijednost F_{ST} teoretski se može kretati od 0 (bez razlike) do 1 (potpuno različite). Genetička diferencijacija između 25 pasmina, izražena putem F_{ST} vrijednosti i prosječnim udaljenostima svake pasmine u odnosu na ostale, prikazana je u tablici 2.

Genetička raznolikost između dviju hrvatskih populacija koza iznosi 0,045. Razina genetičke povezanosti među promatranim pasmina pokazuje da su neudaljenije od hrvatske šarene koze grčka youra wild goat, bezoar i austrijska tauern paid, a od istarske koze grčke youra wild goat i lesbos, bezoar te austrijska tauern paid.

Pasmine koje pokazuju najmanju genetičku udaljenost od hrvatske šarene koze su rumunjska carpatian ($F_{ST} = 0,011$), grčka peloponnese ($F_{ST} = 0,016$), talijanske facciata della valnerina i ciociara grigia s F_{ST} vrijednošću od 0,022, dok su istarskoj kozi najbliže austrijska styrian pied ($F_{ST} = 0,043$) i talijanska roccaverano ($F_{ST} = 0,044$).

Tablica 3. Genetičke udaljenosti odabranih pasmina koza (F_{ST})

	BLZ_ AT	CCG_ HR	CGR_ IT	CIG_ HR	CRP_ RO	CZL_ CZ	CHI_ GR	FAC_ IT	GCI_ IT	GSK_ SK	GST_ CH	LES_ GR	PAZ_ AT	PIZ_ AT	PEL_ GR	RCC_ IT	SAA_ IT	SAA_ FR	DRZ_ SI	SSZ_ AT	SKY_ GR	TSZ_ AT	WSH_ CZ	BEZ_ IR	MFST
BLZ_AT																									0,060
CCG_HR	0,041																								0,043
CGR_IT	0,046	0,022																							0,047
CIG_HR	0,065	0,045	0,053																						0,066
CRP_RO	0,044	0,011	0,022	0,045																					0,042
CZL_CZ	0,062	0,049	0,055	0,064	0,048																				0,064
CHI_GR	0,063	0,027	0,039	0,063	0,019	0,067																			0,058
FAC_IT	0,044	0,022	0,019	0,050	0,022	0,053	0,037																		0,047
GCI_IT	0,046	0,023	0,013	0,053	0,023	0,054	0,040	0,020																	0,047
GSK_SK	0,092	0,075	0,083	0,097	0,077	0,054	0,098	0,078	0,081																0,092
GST_CH	0,078	0,073	0,075	0,086	0,075	0,083	0,094	0,072	0,074	0,113															0,085
LES_GR	0,095	0,060	0,072	0,099	0,054	0,100	0,051	0,071	0,071	0,136	0,125														0,089
PAZ_AT	0,030	0,040	0,046	0,065	0,043	0,064	0,062	0,044	0,046	0,095	0,080	0,096													0,061
PIZ_AT	0,063	0,052	0,058	0,071	0,053	0,068	0,072	0,056	0,057	0,096	0,089	0,105	0,064												0,069
PEL_GR	0,051	0,016	0,026	0,055	0,013	0,058	0,022	0,026	0,027	0,088	0,083	0,055	0,051	0,062											0,049
RCC_IT	0,043	0,035	0,034	0,044	0,035	0,044	0,054	0,032	0,035	0,068	0,060	0,087	0,045	0,053	0,042										0,049
SAA_IT	0,057	0,050	0,052	0,053	0,051	0,055	0,070	0,049	0,051	0,084	0,071	0,101	0,060	0,067	0,060	0,034									0,059
SAA_FR	0,055	0,047	0,049	0,049	0,047	0,053	0,065	0,046	0,049	0,080	0,068	0,097	0,057	0,064	0,055	0,031	0,026								0,059
DRZ_SI	0,072	0,057	0,064	0,080	0,059	0,079	0,078	0,062	0,063	0,112	0,100	0,110	0,073	0,081	0,067	0,062	0,069	0,073							0,078
SSZ_AT	0,039	0,026	0,031	0,043	0,026	0,040	0,044	0,030	0,032	0,067	0,063	0,077	0,039	0,044	0,034	0,027	0,031	0,037	0,056						0,045
SKY_GR	0,067	0,033	0,042	0,071	0,030	0,074	0,038	0,042	0,043	0,108	0,099	0,073	0,067	0,077	0,030	0,058	0,061	0,070	0,083	0,050					0,064
TSZ_AT	0,096	0,085	0,092	0,110	0,089	0,104	0,108	0,090	0,090	0,140	0,122	0,141	0,098	0,096	0,099	0,087	0,092	0,096	0,114	0,066	0,114				0,101
WSH_CZ	0,044	0,031	0,037	0,045	0,032	0,038	0,052	0,034	0,037	0,069	0,064	0,087	0,046	0,053	0,041	0,025	0,027	0,032	0,064	0,024	0,059	0,092			0,045
YOW_GR	0,162	0,127	0,141	0,175	0,103	0,173	0,145	0,137	0,138	0,234	0,193	0,183	0,164	0,174	0,134	0,151	0,156	0,160	0,183	0,143	0,147	0,191	0,053		0,148
BEZ_IR	0,148	0,113	0,127	0,144	0,100	0,148	0,101	0,124	0,127	0,185	0,174	0,138	0,147	0,153	0,109	0,136	0,129	0,145	0,160	0,124	0,128	0,192	0,135	0,236	0,174

Pasmine koza: Hrvatska (CCG_HR, CIG_HR); Austrija (BLZ_AT, PAZ_AT, PIZ_AT, SSZ_AT, TSZ_AT); Italija (CGR_IT, FAC_IT, GCI_IT, RCC_IT, SAA_IT), Rumunjska (CRP_RO), Češka (CZL_CZ, WSH_CZ), Grčka (CHI_GR, LES_GR, PEL_GR, SKY_GR, YOW_GR), Slovenija (DRZ_SI), Francuska (SAA_FR), Švicarska (GST_CH), Slovačka (GSK_SK), Iran (BEZ_IR)

Procjena genetičke strukture hrvatskih i europskih pasmina koza provedena je na kako bi se utvrdio genetički doprinos predaka genomu hrvatskih koza. U grafičkom prikazu (slika 17) svaki stupac predstavlja jednu jedinku, pri čemu duljine segmenata različitih boja unutar stupca označavaju udio predaka u genomu te jedinke. Broj pretpostavljenih populacija predaka (K) testiran je u rasponu od $K = 1$ do $K = 60$, a optimalan broj klastera odredio analizom unakrsne validacije (CV error). Najniža pogreška unakrsne validacije zabilježena je na $K = 52$ (prilog 6), čime je postignut model koji najbolje objašnjava genetičku strukturu analiziranih populacija zahvaljujući stabilizaciji CV error-a.

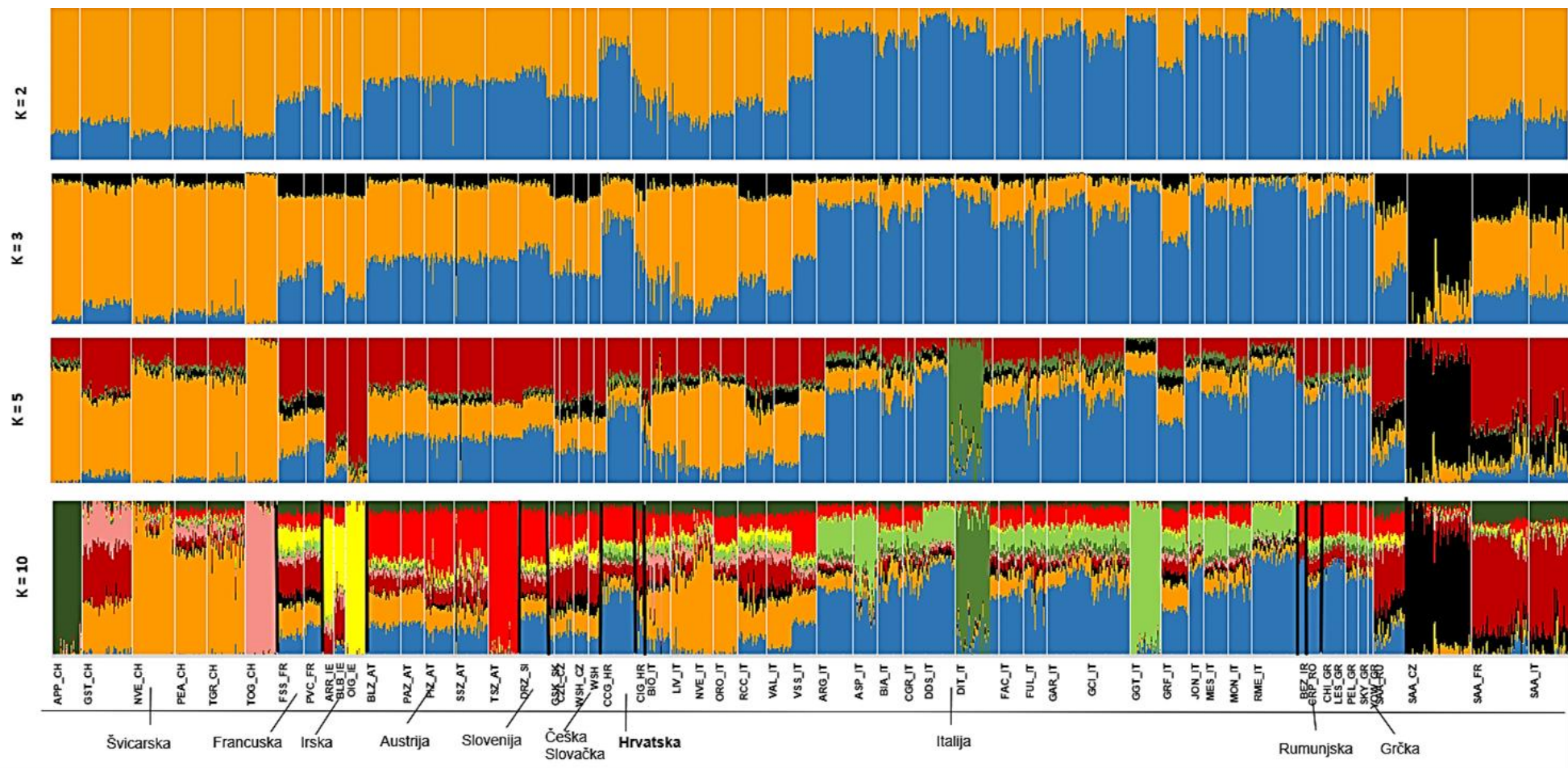
Za osnovni pregled populacije kroz različite K vrijednosti odabran je set $K = 2, 3, 5$ i 10 , koji je prikazan na slici 17. Na najnižoj razini, pri $K = 2$, primjetna je podjela hrvatske šarene koze i istarske koze u zasebne klastere. Hrvatska šarena koza grupirana je s pasminama iz središnje i južne Italije, Rumunjske i Grčke, dok se istarska koza povezuje s populacijama iz zapadne Europe, uključujući pasmine iz sjeverne Italije, Austrije i Švicarske, kao i posebnom skupinom sanskih koza. Ova osnovna razina klasteriranja već pokazuje da su dvije hrvatske pasmine jasno razdvojene.

Kako se K vrijednost povećava, struktura populacija postaje složenija. Na $K = 3$ dolazi do odvajanja sanskih koza, dok se na $K = 5$ odvajaju irske i talijanska pasmina capra di teramo. Kod vrijednosti $K = 6$ do $K = 10$, švicarske alpske pasmine appenzell goat i toggenburg i austrijska taurn pied formiraju vlastite klastere, dok se sanske koze dijele na dvije grupe, u jednoj su sanske iz Rusije i Švicarske, a u drugoj iz Francuske i Italije. U isto vrijeme, grčke pasmine pokazuju sličnosti u genetičkom sastavu s rumunjskom carpatian kozom, što dodatno naglašava kompleksnost odnosa između ovih pasmina.

Na razini $K = 10$ hrvatska šarena koza pokazuje najveći udio genetičke komponente prisutne kod austrijske tauren pied, dok je kod istarske koze prisutan veći udio genetičkih komponenti karakterističnih za sanske koze.

Između $K = 11$ i $K = 20$, u strukturi hrvatske šarene koze pojavljuju se dodatni genetički doprinosi iz rumunjskih, grčkih i talijanskih pasmina, dok se kod istarske koze ističu doprinosi različitih grčkih, talijanskih i drugih europskih pasmina. Kako vrijednost K raste između $K = 20$ i $K = 40$, genetičke podjele među hrvatskim pasminama postaju jasnije. Hrvatska šarena koza pokazuje diferencijaciju od grčkih i talijanskih populacija, dok istarska koza formira složeniji klaster s populacijama iz sjeverne Italije i Švicarske. Ovaj obrazac može ukazivati na povijesnu genetičku razmjenu unutar ovih regija, uz istovremeno očuvanje jedinstvenih genetičkih karakteristika specifičnih za hrvatske populacije.

Kod viših K vrijednosti iznad $K = 30$, genetička struktura hrvatske šarene koze postaje sve složenija, s dodatnim doprinosima iz rumunjskih i talijanskih pasmina, ali ona i dalje zadržava svoju relativnu homogenost. Istarska koza, s druge strane, ostaje genetički konzistentnija, zadržavajući najveći udio genetičkih doprinosa iz švicarskih i austrijskih pasmina. Iako se pri višim K vrijednostima primjećuje manji doprinos iz talijanskih pasmina, istarska koza ostaje pretežno unutar svog europskog klastera. Unatoč manjem broju jedinki u uzorku, istarska koza pokazuje značajnu genetičku heterogenost, što može upućivati na raznolikost u genetičkom naslijeđu i različite povijesne utjecaje koji su oblikovali ovu pasminu. S druge strane, hrvatska šarena koza pokazuje homogeniji genetički sastav među ispitivanim jedinkama, što može sugerirati manju razinu miješanja ili stabilnije genetičke veze unutar pasmine tijekom vremena.



Slika 17. Grafični prikaz rezultata Admixture analiza za K = 2, K = 3, K = 5 i K = 10.

4.4. Konzervacijski status hrvatske šarene koze i istarske koze

4.4.1. Genetička raznolikost

Parametri genetičke raznolikosti hrvatske šarene koze i istarske koze prikazani su u tablici 3. Obje pasmine pokazuju veću prosječnu vrijednost opažene heterozigotnosti u odnosu na očekivanu heterozigotnost, koja je jednaka za obje pasmine. Osim toga, vrijednosti koeficijenta inbridinga (F_{IS}) su negativne kod obje pasmine.

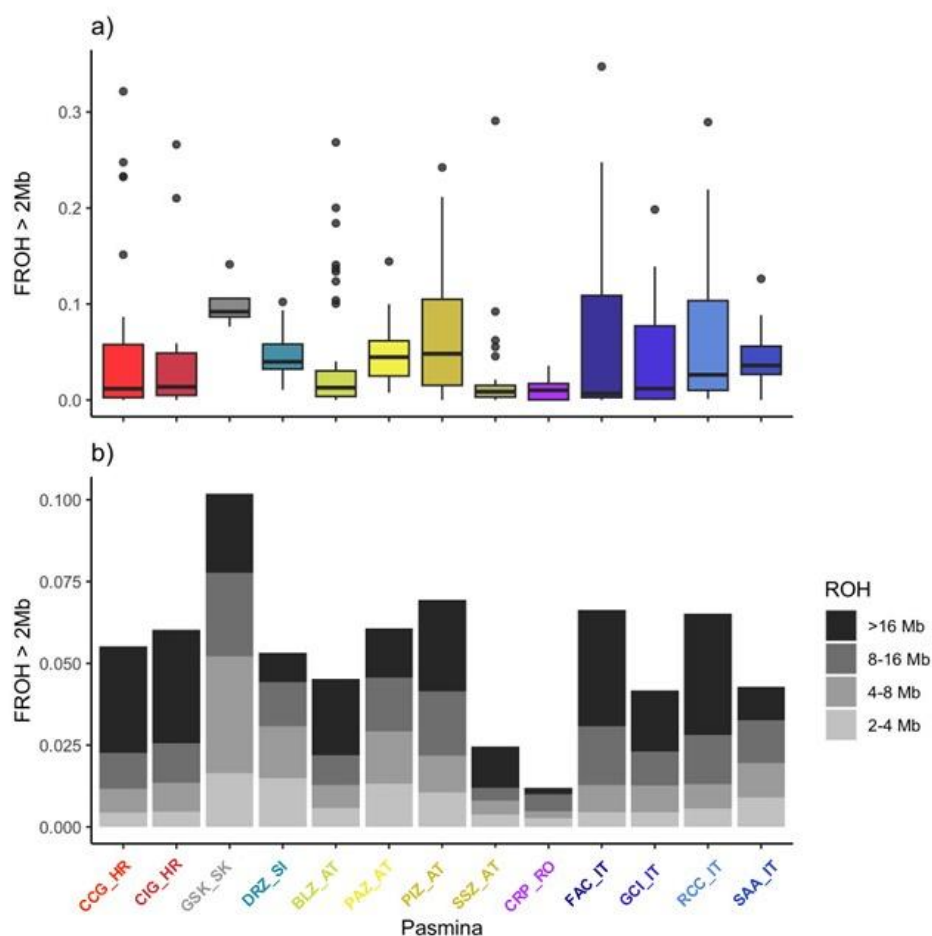
Tablica 4. Genetička raznolikost hrvatske šarene koze i istarske koze

Pasmina	$H_O \pm SE$	$H_E \pm SE$	$F_{IS} \pm SE$
hrvatska šarena koza	$0,417 \pm 0,014$	$0,396 \pm 0,001$	$-0,053 \pm 0,005$
istarska koza	$0,412 \pm 0,006$	$0,396 \pm 0,001$	$-0,040 \pm 0,002$

H_O – opažena heterozigotnost; H_E – očekivana heterozigotnost; F_{IS} – koeficijent inbridinga, SE – standardna pogreška

4.4.2. Genomski inbriding

Identifikacija ROH-ova provedena je za svaku jedinku sukladno zadanim kriterijima kod 13 odabranih pasmina (dvije hrvatske i 11 europskih pasmina). Izračunat je F_{ROH} , a ukupni genomski inbriding za ROH > 2 Mb razvrstan je u četiri kategorije prema duljini segmenta (F_{ROH} 2-4 Mb, F_{ROH} 4-8 Mb, F_{ROH} 8-16 Mb i F_{ROH} > 16 Mb) (slika 18).



Slika 18. Distribucija ROH genomskeg koeficijenta za dvije hrvatske pasmine koza i jedanaest europskih pasmina. a) – Raspodjela vrijednosti F_{ROH} po jedinki (box plot) koji uključuje središnju vrijednost (medijan), interkvartilni raspon (između prvog i trećeg kvartila s 50 % podataka), donju i gornju granicu (raspon podataka koje nisu ekstremne vrijednosti) te outliere (vrijednosti koje odstupaju od ostatka) i b) – Srednje vrijednosti F_{ROH} po pasmini (stupčasti dijagram) koji prikazuje četiri kategorije: 2-4 Mb, 4-16 Mb, 8-16 Mb i > 16 Mb.

Hrvatska (CCG_HR, CIG_HR), Slovačka (GSK_SK), Slovenija (DRZ_SI), Austrija (BLZ_AT, PAZ_AT, PIZ_AT, SSZ_AT), Rumunjska (CRP_RO), Italija (FAC_IT, GCL_IT, RCC_IT, SAA_IT)

Na temelju broja ROH-ova po jedinki unutar svake populacije, izračunat je prosječan broj ROH-ova, što omogućava usporedbu između populacija. Prosječan broj ROH-ova za svaku jedinku unutar istraživanih pasmina kretao se od $8,00 \pm 2,93$ (carpatian goat) do $72,25 \pm 14,37$ (bown shorthai goat) s maksimalno 82 ROH-a u jedinki facciuta della valnerina. Prosječan broj ROH-ova iznosio je $27,22 \pm 11,78$ za hrvatsku šarenu kozu i $31,30 \pm 12,72$ za istarsku kozu.

U analizi ROH-ova promatrane su pojedinačne jedinice koza, nakon čega su se prosječne vrijednosti ROH-a procjenjivale po pasminama. Značajne razlike u vrijednostima F_{ROH} -ova utvrđene su između jedinki i među promatranim pasminama.

Raspodjela pojedinačnog F_{ROH} -a varirala je među pasminama. Najveća disperzija pojedinačnih vrijednosti inbridinga uočena je kod talijanske facciata della valnerina, a potom kod austrijske pinzgauer ziece i talijanske roccaverano pasmine. Sve pasmine, osim rumunjske carpatian, imaju jedinice s višim pojedinačnim inbridingom u odnosu na ostale jedinice u populaciji.

Prilikom procjene razina genomskog inbridinga ($ROH > 2Mb$) među 13 promatranih pasmina koza, uočene su velike razlike u prosječnim vrijednostima. Te su se vrijednosti kretale u rasponu od 0 (kod većine pasmina osim slovačke brown shorthair goat, austrijske passeirer ziece, talijanske roccaverano i slovenske drežničke) do 0,141 (kod slovačke brown shorthair goat). Općenito, najniže vrijednosti F_{ROH} -a zabilježene su kod carpatian koze.

Najviša vrijednost inbridinga temeljena na ROH segmentima (F_{ROH}) uočena je kod slovačke pasmine brown shorthair goat (0,076 do 0,141; prosjek 0,1), dok je najniža zabilježena kod rumunjske carpatian koze (0 do 0,036, prosjek 0,011).

Kod hrvatske šarene koze, vrijednost F_{ROH} kreće se od 0 do 0,322 s prosjekom od 0,054, a kod istarske od 0 do 0,266 s prosjekom od 0,059.

Najveći $F_{ROH>2Mb}$ u promatranim populacijama uočen je kod koze talijanske pasmine facciata della valnerina (jedinica FAC344) i iznosi 0,3474. Kod hrvatske šarene koze najveći F_{ROH} zabilježen je kod jedinice GCH_117 s vrijednošću 0,3215, dok je kod istarske koze najveći F_{ROH} zabilježen kod jedinice GCI_3 s vrijednošću 0,2661.

Udio inbridinga po kategorijama duljine ROH-a i pasminama pokazuje nejednaku raspodjelu. Kod hrvatske šarene koze i istarske koze uočen je najveći udio inbridinga kod kategorije $> 16 Mb$, a najmanji u kategoriji 2-4 Mb.

Najveći udio inbridinga u kategoriji 2-4 Mb imala je slovačka brown shorthair goat, dok je najmanji udio zabilježen kod rumunjske carpatian koze. U kategoriji 4-8 Mb, brown shorthair goat također pokazuje najveći udio, dok carpatian koza ponovo ima najmanji. Brown shorthair goat ima najviše ROH-ova u kategoriji 8-16 Mb, dok je najmanji udio u ovoj kategoriji zabilježen kod austrijske styrian pied. U kategoriji ROH-a duljine $> 16 Mb$, najveću F_{ROH} vrijednost ima talijanska roccaverano, slijede je hrvatska istarska i talijanska facciata della valneria, dok je najmanji udio zabilježen kod carpatian koze.

Dvije hrvatske pasmine imaju vrlo slične vrijednosti F_{ROH-a} u svim kategorijama temeljenim na duljinama homozigotnih regija, s nešto većim udjelom kod istarske koze u svim kategorijama osim 2-4 Mb.

4.4.3. Trenutna i povijesna efektivna veličina populacije

Efektivna veličina populacije prikazana je kao trenutna i povijesna, za dvadesetu i dvjestotu generaciju, procijenjena pomoću GONE softvera (tablica 5). Trenutna efektivna veličina populacije hrvatske šarene koze znatno je veća od one kod istarske koze.

Tablica 5. Efektivna veličina populacije hrvatskih pasmina koza

Pasmina	N_e	N_{e20}	N_{e200}
Hrvatska šarena koza	477	47.000	60.000
Istarska koza	27	1.400.000	335.000

Efektivna veličina populacije hrvatske istarske koze značajno se mijenjala kroz povijest. Od prije dvjesto generacija zabilježen je stalan porast, s malim varijacijama u broju jedinki, sve do 16. generacije kada je postignut maksimum. Nakon toga slijedi silazna putanja, koja dostiže najnižu točku u 5. generaciji. Procijenjene vrijednosti efektivne veličine populacije, osobito u ranijim generacijama, odražavaju signal genetičke raznolikosti u uzorku te ne predstavljaju stvaran broj jedinki u populaciji. S druge strane, hrvatska šarena koza kroz povijest pokazuje stabilniji trend efektivne veličine populacije.

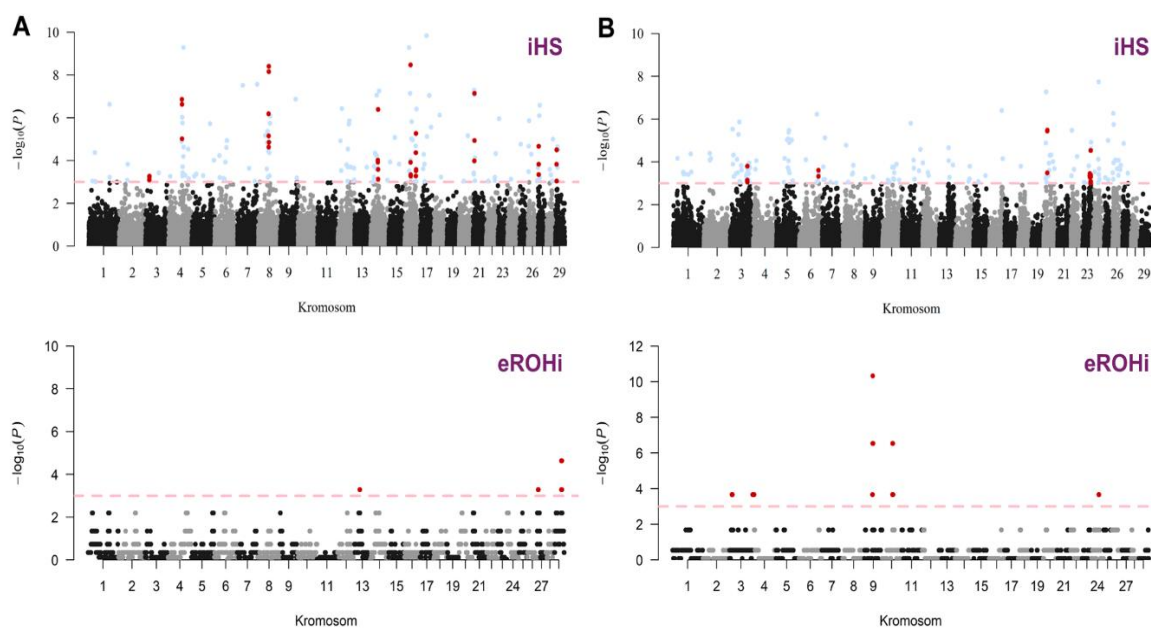
4.4.4. Identifikacija signala selekcije

Na slici 19. prikazana je raspodjela iHS i eROHi vrijednosti na razini genoma posebno za hrvatsku šarenu kozu (A) i istarsku kozu (B). Na temelju zadane razine značajnosti identificirano je devet potencijalnih regija pod pozitivnom selekcijom kod hrvatske šarene koze i pet kod istarske koze. Uočeno je da te regije nisu ravnomjerno raspoređene po genomu u obje pasmine.

Vrijednost $-\log_{10}(P)$ koristi se kao statistički pokazatelj za mjerenje značajnosti povezanosti između SNP-a i određenih genetičkih faktora. Veći $-\log_{10}(P)$ označava višu razinu značajnosti. Ukoliko je zadan $-\log_{10}(P) \pm 3.0$, to znači da SNP varijante koje premašuju ovaj prag pokazuju statistički značajnu povezanost s fenotipom ili osobinom koja se proučava. Pozitivna selekcija odnosi se na proces u kojem su određene genetičke varijacije (npr. SNP-ovi) favorizirane zbog korisnih učinaka na preživljavanje ili reproduktivni uspjeh. Regije koje sadrže najmanje tri uzastopne ekstremne SNP-ove smatraju se regijama pod pozitivnom selekcijom, što sugerira da su ove regije pod selekcijskim pritiskom koji povećava njihovu učestalost u populaciji.

Kod hrvatske šarene koze identificirane su regije pod selekcijom na slijedećim kromosomima: na kromosomu 16 su pronađene dvije značajne regije (30,25–31,25 Mb s $-\log_{10}(P) = 8,5$ i 57,50–59,25 Mb s $-\log_{10}(P) = 5,3$). Najjači selektivni zamah prema iHS metodi zabilježen je na kromosomima 8 (53,25–55,25 Mb, $-\log_{10}(P) = 12,7$), 14 (38,00–39,75 Mb, $-\log_{10}(P) = 11,3$) i 16.

Kod istarske koze, značajne regije pronađene su na kromosomu 23 s regijama na pozicijama 37,25–38,25 Mb ($-\log_{10}(P) = 3,5$) i 42,25–43,25 Mb s $-\log_{10}(P) = 4,5$. Najjači selektivni zamah prema iHS metodi zabilježen je na kromosomu 20 (19,00–20,00 Mb, $-\log_{10}(P) = 5,5$).



Slika 19. Manhattan plot iHS i eROHi vrijednosti izračunatih za svaki SNP u populacijama hrvatske šarene kože (A) i istarske kože (B). Značajni SNP-ovi unutar identificiranih regija pod pozitivnom selekcijom (crvena boja), pojedinačni značajni SNP-ovi kod iHS metode (svijetloplava boja), razina značajnosti ($-\log_{10}(P) \geq 3$) (isprekidana linija ružičasta boja).

Što se tiče eROHi metode, kod hrvatske šarene kože identificirane su tri regije s najjačim signalom selekcije, dok je kod istarske kože otkriveno pet takvih regija (prilog 5). Najjači signal selekcije kod hrvatske šarene kože zabilježen je za 27 SNP-ova na 29. kromosomu u regiji između 35,73 i 39,54 Mb, s $-\log_{10}(P)$ vrijednošću od 4,63. Dodatne regije uključuju kromosome 13 (27,99–29,42 Mb, $-\log_{10}(P) = 3,28$) i 27 (0,52–7,05 Mb, $-\log_{10}(P) = 3,28$).

Kod istarske kože najveći signal selekcije prema eROHi metodi detektiran je na 9. kromosomu u regiji između 41,34 i 44,90 Mb za 70 SNP-ova s $-\log_{10}(P)$ vrijednošću od 10,32 što predstavlja najjači signal selekcije u obje pasmine. Ostale značajne regije uključuju kromosom 10 (52,92–56,95 Mb, $-\log_{10}(P) = 6,53$) i 4 (0,06–8,13 Mb, $-\log_{10}(P) = 3,66$).

Usporedbom rezultata dobivenih metodama eROHi i iHS, kod hrvatske šarene kože uočena je jedna preklapajuća regija na 27. kromosomu na poziciji 3,75 do 4,75 Mb, dok kod istarske kože nije pronađena nijedna preklapajuća regija.

Metoda eROH omogućuje bolje razumijevanje distribucije ROH segmenata i njihovog utjecaja na ukupni stupanj inbridinga. Grafički prikazi pomažu u vizualizaciji

raspodjele inbridinga unutar genoma, čime se omogućuje dublje razumijevanje genetičke strukture populacije.

5. RASPRAVA

Kroz stoljeća, koze su razvile izvanrednu sposobnost prilagodbe različitim okolišnim uvjetima, što ih danas čini jednom od najotpornijih i najsvestranijih domaćih životinja. Ova adaptivnost omogućila je razvoj raznih pasmina, od kojih svaka može preživjeti u specifičnim klimatskim i geografskim područjima. Koze su poznate po učinkovitom korištenju resursa, uključujući vodu, te po sposobnosti regulacije tjelesne temperature, što im omogućuje preživljavanje u ekstremnim uvjetima, poput sušnih i pustinskih područja. Njihova fizička građa, uključujući snažne noge i papke prilagođene planinskim terenima, te manja tjelesna veličina koja omogućuje okretnost i smanjuje energetske potrebe, dodatno doprinosi njihovoj sposobnosti preživljavanja. Prilagodba gustoće dlake u skladu s klimatskim uvjetima, kao i otpornost na bolesti i parazite, čine ih posebno otpornima u nepovoljnim uvjetima. Ova adaptivna svojstva zadržana su u izvornim pasminama, čineći ih neprocjenjivo vrijednima za budućnost, zbog čega je njihovu genetičku raznolikost potrebno zaštititi.

Danas, izvorne pasmine koza često nastanjuju područja u kojima su evoluirale, obitavajući u manjim stadima. Njihov uzgoj sve više potiskuju komercijalne pasmine, što mnoge izvorne pasmine dovodi do ruba izumiranja. Ekstenzivni uzgoj otežava kontrolu nad križanjem unutar stada ili s drugim pasminama, što može ugroziti genetičku raznolikost tih populacija. Procjena međusobnih odnosa među jedinkama i točno određivanje roditeljstva također su izazovni zadaci koji usporavaju genetički napredak (Talenti i sur., 2016). Genomske analize predstavljaju ključni alat za učinkovito upravljanje uzgojnim programima, osobito u kontekstu malih i ugroženih populacija (Mastrangelo i sur., 2017).

U ovom doktorskom radu, prvi put je provedena detaljna procjena genetičke raznolikosti i populacijske strukture dviju hrvatskih izvornih pasmina koza na razini genoma: hrvatske šarene koze i istarske koze. Rezultati ovog istraživanja pružaju važne uvide koji će doprinijeti očuvanju i održivom uzgoju ovih pasmina u budućnosti.

5.1. Priprema uzoraka i genotipizacija

Za što točniju procjenu genetičke strukture, ključan je pažljiv odabir jedinki iz promatrane populacije. Prema Hale i sur. (2012), analiza frekvencija mikrosatelitskih alela pokazuje da je za preciznu procjenu dovoljno 25 do 30 jedinki po populaciji. S druge strane, analize SNP-ova mogu pružiti precizne informacije o strukturi populacije i pri manjem broju uzoraka (Jeffries i sur., 2016).

Odabir jedinki za istraživanje hrvatske šarene koze temeljen je na širokoj geografskoj rasprostranjenosti i kriteriju da jedinke, prema dostupnim podacima, nemaju zajedničkog pretka barem do druge generacije. Broj jedinki istarske koze bio je ograničen zbog vrlo male populacije, a probiranje je provedeno eliminacijom blisko povezanih jedinki. Analize SNP-ova na manjem broju jedinki provedene su i u drugim istraživanjima, osobito na lokalnim populacijama koza, kao što su radovi Manunza i sur. (2016), Oget i sur. (2018) te Paim i sur. (2019). Napredak u genomskim istraživanjima koza u Europi manji je u usporedbi s drugim domaćim životinjama, što djelomično može biti posljedica činjenice da u Europi obitava manje od 2 % svjetske populacije koza.

Dosadašnja istraživanja, koje su uključivala analize mtDNA, Y kromosoma i mikrosatelita otkrila su značajnu geografski uvjetovanu diferencijaciju koza. Novi molekularno-genetički pristupi omogućuju dublje istraživanje raznolikosti koza na razini genoma, nudeći nove uvide u evolucijsku povijest ove vrste (Amills i sur., 2017). Ove metode pružaju značajnu količinu informacija koje omogućuju preciznije procjene o porijeklu, razvoju, mehanizmima prilagodbe i varijabilnosti domaćih životinja (Wang i sur., 2019).

Genotipizacija dviju hrvatskih izvornih pasmina koza provedena je pomoću Goat_IGGC_65K čipa, koji predstavlja noviju i napredniju metodu u odnosu na prethodne platforme poput GoatSNP50 BeadChip-a, s ciljem utvrđivanja njihove međusobne genetičke raznolikosti i povezanosti s pasminama iz okolnih područja. Ova novija platforma omogućuje detaljniju i precizniju analizu zahvaljujući većem broju SNP-ova koji pokrivaju veći dio genoma. Genetičkih istraživanja autohtonih pasmina koza u regijama koja graniče s Republikom Hrvatskom nema, a upravo usporedba s njima mogla bi pružiti detaljnije informacije o protoku gena i genetičkoj pasmina s ovog područja. Hrvatska šarena koza uzgajana je na području bivše Jugoslavije (danas Bosna i Hercegovina, Crna Gora, Sjeverna Makedonija, Slovenija i Srbija) pod različitim imenima (npr. balkanska koza). Nakon osamostaljenja Republike Hrvatske, pasmina je službeno nazvana "hrvatska šarena koza" i priznata kao izvorna pasmina 2006. godine. Istarska koza, koja ima uže geografsko

područje uzgoja, trenutno je uključena u program revitalizacije zbog izrazito male populacije, a službeno je priznata kao izvorna zaštićena pasmina u Republici Hrvatskoj 2013. godine.

Za usporedbu rezultata ovog istraživanja odabrane su pasmine iz Slovenije, Austrije, Italije, Švicarske, Rumunjske, Grčke, Slovačke, Češke, kao i iz udaljenijih područja poput Francuske, Irske, Rusije, te bezoara, koji služi kao vanjska grupa. Ovaj divlji predak domaćih koza često se koristi u filogenetičkim analizama za precizno utvrđivanje genetičkih odnosa među populacijama i interpretaciju evolucijske povijesti (Zheng i sur., 2020; Daly i sur., 2021). Odabir pasmina temeljen je i na morfološkim i fenotipskim karakteristikama.

5.2. Analiza glavnih komponenti

Analiza glavnih komponenti (PCA) pruža uvid u genetičke odnose između promatranih hrvatskih izvornih pasmina koza i pasmina iz okolnih europskih zemalja.

Glavni razlozi grupiranja pasmina u klastere uključuju: malu geografsku udaljenost uzgoja, što povećava vjerojatnost izmjene genetičkog materijala (Nicoloso i sur., 2015), diobu zajedničkog porijekla (Paim i sur., 2019; Manunza i sur., 2023) te namjerno oplemenjivanje pasmina i ciljano križanje.

Rezultati PCA analize pokazuju da hrvatske pasmine pripadaju različitim klasterima i da se grupiraju s različitim pasminama što se potkrepljuje činjenicama da obitavaju na geografski odvojenim područjima i različitih su fenotipskih karakteristika.

Klaster u kojem se nalazi hrvatska šarena koza homogen je i formiran od pasmina južne i središnje Italije, grčkih, rumunjske carpatian i bezoara. Ova homogenost u klasteru može sugerirati da su ove pasmine dijelile zajedničke genetičke resurse ili su bile podložne sličnim selekcijskim pritiscima. Povezanost može biti i posljedica geografske blizine i povijesnih interakcija, što se također može odraziti i u fenotipskim značajkama (Nicoloso i sur., 2015; Paim i sur., 2019; Manunza i sur., 2023). Slične povezanosti i grupiranja prikazuje i PCA dijagram mtDNA (Drzaic i sur., 2019).

Drugi klaster, daleko raspršeniji i nehomogeniji prikazuje zasebno grupiranje slovenske drežničke koze, austrijskih, švicarskih, irskih i sjevernotalijanskih pasmina te jasno odvajanje od alpskih (sanskih) pasmina što je u skladu s rezultatima Pogorevc i sur. (2021). Ova heterogenost može biti rezultat nesustavnog križanja i različitih uzgojnih praksi.

PCA analiza pokazuje da su obje hrvatske pasmine dio europskog genskog fonda i sličnog grupiranja kakvo su dobili Michailidou i sur. (2019). Ovi rezultati potvrđuju da su u

formiranju trenutnog europskog genskog fonda utjecaj imala oba migracijska puta i da je „sredozemni bazen“ bio raskrižje postdomestikacije (Manunza i sur., 2016; Colli i sur., 2018).

Poznavanje genetičke pozicije hrvatskih pasmina u globalnom kontekstu ima važno značenje za očuvanje i upravljanje genetičkim resursima. Povezanost s određenim klasterima može pomoći u razumijevanju potencijalnih prijetnji za genetičku raznolikost i u razvoju strategija za očuvanje. Također, ova analiza može pomoći u prepoznavanju mogućnosti za poboljšanje genetičke osnove putem ciljanog križanja s drugim pasminama.

5.3. Genetička udaljenost

Genetička udaljenost, temeljena na genetičkoj divergenciji, kvantificira genetičke razlike između vrsta ili pasmina, koje mogu biti uzrokovane mutacijom ili genetičkim otklonom (Nei, 1972). Ove udaljenosti jasno su vidljive u Neighbour-Net grafu, koji omogućuje vizualizaciju genetičkih odnosa među pasminama. U grafu, populacije koje dijele mnogo zajedničkih alela pokazuju male genetičke udaljenosti, dok veće udaljenosti ukazuju na dugotrajnije odvojene populacije.

Neighbour-Net graf pokazuje da se grupiranje pasmina u velikoj mjeri temelji na njihovoj geografskoj rasprostranjenosti. Jasno su se odvojile pasmine s područja jugoistočne Europe od pasmina s područja zapadne i srednje Europe. Ova geografska grupiranja su u skladu s istraživanjima Colli i sur. (2018), a grupiranje grčkih pasmina koza s pasminama središnje i južne Italije i rumunjskom kozom slično je rezultatima Michailidou i sur. (2019). Pozicioniranje slovenske drežničke koze blizu austrijskih i jedne talijanske (Valpassiria) potvrđuju Pogorevc i sur. (2021), dok se pozicioniranje čeških i slovačkih pasmina blizu austrijskih podudara s rezultatima Vostry i sur. (2022).

Zanimljivo je primijetiti da su talijanske koze, iako raspršene po svim stranama Neighbour-Net mreže, ipak grupirane prema geografskoj regiji. Koze iz srednje i južne Italije čine jednu zasebnu grupu, dok su koze sa sjevera Italije, bliže švicarskim kozama, smještene na suprotnoj strani grafa. Ovo jasno ukazuje na značajne genetičke razlike unutar talijanskih koza, što može biti posljedica različitih uzgojnih i selekcijskih praksi u različitim dijelovima Italije (Pogorevc i sur., 2021).

Jasne genetičke razlike između hrvatske šarene koze i istarske koze potvrđuje njihov smještaj na suprotnim stranama grafa. Hrvatska šarena koza smještena je u klasteru s grčkim kozama i carpatian kozom, što je u skladu s PCA rezultatima ovog istraživanja.

Ova povezanost s pasminama iz južnog dijela Europe može ukazivati na povijesnu razmjenu genetičkog materijala.

S druge strane, istarska koza pozicionira se u klaster bliže sanskim kozama, a izdvojena dugačka grana ukazuje na njenu genetičku različitost od ostalih promatranih populacija. Ova genetička izoliranost na razini udaljenosti ne implicira nužno uzroke poput uskog grla ili inbridinga, koji se analiziraju drugim metodama. Međutim, rezultati ROH i FROH analiza u ovom istraživanju podržavaju hipotezu o nedavnom inbridingu i ograničenoj varijabilnosti istarske koze.

Filogenetičke analize pružaju važne uvide u genetičke odnose i divergenciju među pasminama koza, pružajući važne podatke za očuvanje genetičke raznolikosti.

5.4. Protok gena

Treemix analiza stabla maksimalne vjerojatnosti, zasnovana na frekvenciji alela, otkriva tokove gena među promatranim pasminama koza. Iako protok gena između populacija može imati maladaptivne posljedice, kao što je smanjenje prilagodljivosti zbog introgresije (Arnold i Kunte, 2017), istraživanja su pokazala da genska razmjena može povećati kondiciju i širenje adaptivnih alela. Heterogenost u porijeklu i introgresiji može pružiti važne uvide u evolucijske procese (Kingston i sur., 2016) i ključna je za razumijevanje adaptivnih promjena tijekom domestikacije (Chen i sur., 2018).

Studija koja je provedena na tri različite skupine neolitskih koza s područja plodnog polumjeseca pokazala je da je svaka skupina dala različit doprinos u današnjim populacijama koza Europe, Azije i Afrike (Daly i sur., 2018). Također je dokazano da jedna od skupina ima snažan genetički afinitet prema bezoaru, što sugerira stalan protok gena između divljih i domaćih koza u različitim geografskim regijama (Daly i sur., 2021). Protok gena u obrnutoj je korelaciji s genetičkim udaljenostima i geografskom izolacijom (Colli i sur., 2018).

Rezultati filogenetičkog stabla ukazuju, kako je uočeno i u PCA analizi i Neighbour net mreži, na međusobno jasno odvajanje dviju hrvatskih populacija koza. Hrvatska šarena koza grupirala se s carpatian kozom, kozama iz južne Italije, grčkim pasminama i bezoarom, dok je istarska koza pozicionirana između dvije glavne grupe, reflektirajući svoju povezanost s obje skupine. Najveća genetička udaljenost uočena je između divlje koze iz Grčke (youra wild goat) i bezoara, što je u potvrđeno u radu Pogorevc i sur. (2023). Pasmine iz Francuske, Češke, Slovačke, Švicarske, Irske i sjeverne Italije, uključujući sanske koze, čine drugu grupu.

Najveća migracijska težina uočena je između bezoara i čvora koji povezuje talijanske pasmine jonica, derivata di siria i rossa mediterranea (koze iz središnje i južne Italije). Ovaj migracijski događaj prisutan je u svih deset replika analize, što sugerira značajnu genetičku povezanost i tok gena između ovih pasmina. S druge strane, protok gena s niskom migracijskom težinom zabilježen je između istarske koze i bezoara u trećem migracijskom događaju, a slična situacija primijećena je između hrvatske šarene koze i sanske talijanske pasmine u osmom događaju. Ovi rezultati upućuju na specifične obrasce genskog protoka i divergencije među analiziranim pasminama. Kako bi se dodatno pojačalo razumijevanje evolucijskih procesa, posebno je važno istaknuti da različiti migracijski putovi i povijesne migracije mogu značajno utjecati na današnju genetičku strukturu populacija. Ovi procesi mogu uključivati neprepoznate događaje genske razmjene ili introgresije koji su se odvijali u prošlosti, ali ostavljaju genetičke tragove vidljive u današnjim populacijama (Colli i sur., 2018). Stoga je nužno uzeti u obzir evolucijsku dinamiku ne samo na regionalnoj već i na transregionalnoj razini, čime se bolje može razumjeti distribucija alela kroz povijest i utjecaj selekcije na trenutnu genetičku raznolikost.

Slični obrasci migracije i protoka gena zabilježeni su u ranijim istraživanjima, koja pokazuju jak protok gena između grčkih i južno talijanskih pasmina te carpatian koze (Michailidou i sur., 2019). Također, introgresija afričkih gena, preko Francuske, Španjolske i sjeverne Italije u Irsku dokumentirana je u istraživanju Colli i sur. (2018). Zajedničko grupiranje švicarskih pasmina s francuskim i španjolskim također su primijetili Pogorevc i sur. (2021), a istaknuli su i blizinu slovenske drežničke koze, nekih austrijskih i talijanskih pasmina s turskim pasminama što može biti rezultat povijesnih migracija tijekom vladavine Otomanskog carstva na Balkanu i protoka gena balkanskom rutom, a isto tako može biti posljedica povijesnih trgovinskih razmjena (Pariset i sur., 2009).

Na formiranje sadašnjeg europskog genskog fonda, a posebno sredozemnog bazena, istodobno su utjecala oba migracijska puta (Colli i sur., 2018). Nedostatna su genetička istraživanja populacija koza s područja Balkana koja bi dala detaljniji uvid u migracijske putove i protok gena.

Stablo s četiri migracije (prilog 4) pokazuje protok gena i bezoara u hrvatsku istarsku kozu i iz austrijske styrian pied pasmine u hrvatsku šarenu kozu s vrlo niskom težinom migracije, što sugerira da svaka potencijalna izmjena gena može biti rezultat povijesnih i neprepoznatih procesa. Protok gena između hrvatske šarene koze i istarske koze nije zabilježen i može se pretpostaviti da nisu zajedničkog porijekla i da su na formiranje pasmina utjecaj imale različite populacije koza.

5.5. Razina genetičke povezanosti

Razina povezanosti između dviju hrvatskih pasmina koza, procijenjena preko fiksacijskog indeksa, ukazuje na značajnu diferencijaciju ($F_{ST} = 0,045$) između hrvatske šarene koze i istarske koze. Ova vrijednost sugerira umjerenu razinu genetičke raznolikosti između ovih dviju populacija, što je vjerojatno posljedica geografske razdvojenosti i različitih selekcijskih pritisaka tijekom vremena. Geografska izolacija često rezultira ograničenom genskom razmjenom, što može dovesti do diverzifikacije, odnosno do tog da se populacije postepeno sve više razlikuju jedna od druge, kao što je slučaj između ove dvije pasmine.

U današnje vrijeme, F_{ST} se najčešće koristi kao prvi alat za dobivanje uvida u stupanj genetičke diferencijaciju između populacija. Premda se smatra korisnim za orijentacijske pokazatelje genetičke strukture, F_{ST} se sve više nadopunjuje ili zamjenjuje naprednim tehnikama (Hall, 2022). Iako je F_{ST} vrijedna informacija, njegova upotreba često je ograničena u kontekstu modernih genetičkih istraživanja koja se oslanjaju na naprednije metode, uključujući analize cijelog genoma i one temeljene na SNP-ovima, koje pružaju detaljniji uvid u genetičku strukturu populacija (Stronen i sur., 2019).

Metode temeljene na SNP-ovima omogućuju detaljniju i precizniju procjenu genetičke raznolikosti i diferencijacije u usporedbi s tradicionalnim biljezima kao što su mikrosateliti. Dok su srednje vrijednosti F_{ST} -a dobivene analizom mikrosatelita često niže, SNP-ovi omogućuju otkrivanje suptilnijih razlika između populacija, čineći ih preferiranim izborom za mnoge moderne genetičke studije (Hall, 2022). Ova razlika u preciznosti između mikrosatelita i SNP-ova ističe važnost korištenja suvremenih tehnika u istraživanju genetičke strukture i upravljanju populacijama u svrhu očuvanja.

Do sada nisu provedene studije koje bi koristile mikrosatelite za procjenu genetičke diferencijacije između hrvatskih populacija koza. Takva istraživanja mogla bi pružiti korisne usporedbe s rezultatima dobivenim iz SNP-ova i pomoći u razumijevanju dinamike genetičke raznolikosti i diverzifikacije unutar ovih populacija. Kombinacija različitih genetičkih biljega može unaprijediti strategije očuvanja i upravljanja genetičkim resursima, posebno u kontekstu malih i izoliranih populacija kao što su hrvatske pasmine koza.

Razina povezanosti između dviju hrvatskih pasmina koza ukazuje na značajnu genetičku diferencijaciju, što je u skladu s njihovom geografskom izolacijom. Sličnosti između hrvatske šarene koze i pasmina iz Grčke i Italije, kao i povezanosti istarske s austrijskim i sanskim pasminama, potvrđuju ranije opisane filogenetičke odnose i PCA analizu.

Rezultati cijelog istraživnog seta podataka pokazuju da su genetički najpovezanije talijanske pasmine što je u skladu s rezultatima drugih autora (Cortellari i sur., 2021; Tolone i sur., 2022). S druge strane, irska pasmina (traditional arran) pokazala je najmanju povezanost s promatranim populacijama, što je u skladu s geografskom udaljenošću i rezultira smanjenom genskom razmjenom, što su također zabilježili Colli i sur. (2018).

5.6. Genetička struktura populacija

Admixture analiza, koja procjenjuje udio predaka u genomu, nadopunjuje analizu glavnih komponenti (PCA) i analizu stabla maksimalne vjerojatnosti (Treemix) za otkrivanje genetičke diferencijacije i strukture među proučavanim populacijama. Već pri $K = 2$ dolazi do jasnog razdvajanja proučavanih koza u dva različita klastera, što je u skladu s rezultatima PCA i Treemix analiza. Kako se K povećavao, postajalo je sve jasnije odvajanje pasmina koje su zbog geografskih barijera imale ograničene migracije i protoke gena, što je uvelike utjecalo na njihovu gensku varijabilnost (Colli i sur., 2018; Stella i sur., 2018; Cortellari i sur., 2021).

Hrvatska šarena koza i istarska koza pokazuju odvojenu genetičku pozadinu, što dodatno potvrđuje njihovu genetičku različitost. Pri $K = 20$, uočava se visoka unutargupna homogenost kod bezoara što je također primijećeno u radu Pogorevc i sur. (2023). Dodatno, grčke i rumunjska pasmina zadržale su genske varijacije predaka naslijeđenih od bezoara. Taj visok udio gena karakterističnih za bezoara prisutan je i u hrvatskoj šarenoj kozi koja se uzgajala na širem području Balkanskog poluotoka. Ovaj udio genoma može se pripisati utjecaju grčkih pasmina u formiranju hrvatske šarene koze, uzimajući u obzir migracijske putove i protok gena mediteranskom rutom (Cañón i sur., 2006; Lenstra i sur., 2017).

Kod istarske koze primijećena je značajna heterogenost u genomu s prevladavanjem udjela sanskih, grčkih i sjevernotalijanskih pasmina. Iako se očekivalo da će veći udio genoma u istarskoj kozi biti od slovenskih i austrijskih pasmina, s obzirom na geografsku blizinu, rezultati su pokazali da su veći udio austrijske pasmine passeirer ziege u genomu hrvatske šarene koze nego u istarskoj kozi. S druge strane, istarska koza genomski je najbližija sanskoj pasmini, pri čemu je najveći udio zastupljen iz francuske i talijanske sanske koze.

$K=52$, u genomu hrvatske šarene koze zabilježen je tek manji udio sjevernotalijanskih pasmina, uključujući valdostanu, orobicu, nera di verzascu, slovensku drežničku kozu, kao i nekoliko drugih austrijskih pasmina. Ova prisutnost može biti posljedica namjernog križanja radi poboljšanja određenih svojstava.

Unatoč složenijoj strukturi pri višim vrijednostima K , hrvatska šarena koza i istarska koza ostaju jasno odvojene, što ukazuje na različitu povijest miješanja predaka kod ovih dviju pasmina. Hrvatska šarena koza pokazuje značajniju povezanost s pasminama iz središnje i južne Italije, dok je istarska koza više povezana s pasminama zapadne Europe. Ova odvojenost potvrđuje stabilnost genetičke strukture dviju pasmina, čak i pri višim vrijednostima K , što upućuje na njihovu jedinstvenu genetičku povijest i utjecaj migracijskih i geografskih barijera.

Rezultati međupopulacijskih odnosa, genetičke udaljenosti i protoka gena jasno pozicioniraju i povezuju hrvatsku šarenu kozu s talijanskim pasminama (središnja i južna Italija), rumunjskom carpatian kozom i grčkim pasminama koza, što ukazuje na gensku sličnost i moguće zajedničko porijeklo, vjerojatno povezano s mediteranskom rutom. Ova povezanost dodatno je podržana nalazima Nicoloso i sur. (2015), Manunza i sur. (2016), Bertolini i sur. (2018) i Michailidou i sur. (2019).

Istarska koza već pri prvim rezultatima pokazuje jasno distanciranje od hrvatske šarene koze pozicionirajući se u grupu sa slovenskom, austrijskim, češkim, slovačkim, francuskim i sjeverno-talijanskim kozama te sanskim kozama za koje se pretpostavlja da su pristigle balkanskom rutom (Amills i sur., 2017). Pogorevc i sur. (2023) navode i određeni udio introgresije gena turskih pasmina u austrijske, sjeverno-talijanske i slovensku pasminu, a istarska koza ima udjele upravo ovih pasmina.

Analiza miješanja populacija pokazuje najveću povezanost istarske koze sa sanskim kozama. Obzirom da nema podataka o sustavnom križanju, moguće je da je križanje provedeno u novijoj povijesti radi poboljšanja svojstava.

Rezultati ovih analiza impliciraju na složenost i kompleksnu povijest migracija i genske izmjene za obje hrvatske pasmine.

5.7. Genetička raznolikost

U analizi genetičke strukture pasmine, važno je razmotriti opaženu (H_O) i očekivanu heterozigotnost (H_E). Očekivana heterozigotnost prikazuje predviđenu razinu genetičke raznolikosti u populaciji prema teoretskim modelima, dok opažena heterozigotnost mjeri stvarnu genetičku raznolikost unutar populacije. Usporedba ovih vrijednosti omogućava procjenu razine inbridinga, ukupne genetičke raznolikosti i potencijalnih evolucijskih procesa unutar pasmine, što je presudno za razumijevanje i očuvanje njezine genetičke stabilnosti.

Rezultati istraživanja pokazuju da obje pasmine, hrvatska šarena koza i istarska koza, imaju visoku razinu genetičke raznolikosti, s prosječnom opaženom heterozigotnošću (H_o) od 41,5 % i očekivanom heterozigotnošću (H_E) od 39,6 %. Zapaženo je da je opažena heterozigotnost veća od očekivane, što ukazuje na višak heterozigota unutar populacija u odnosu na stanje u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži. Ova situacija može biti posljedica nedavnih genetičkih događaja kao što su migracije ili uvođenje novih alela. Takav porast heterozigotnosti može sugerirati moguće križanje između bliskih pasmina, što može povećati razinu heterozigotnosti, ali i potencijalno utjecati na stabilnost genskih karakteristika. Međutim, specifični podaci o povijesti križanja nisu dostupni ni za jednu od ovih dviju pasmina, što ograničava mogućnost detaljnijeg razumijevanja povijesti križanja i njezinog utjecaja na genetičku strukturu.

Rezultati sugeriraju da su populacije genetički različite, što je pozitivan pokazatelj u kontekstu očuvanja pasmina.

Slični nalazi o visokoj heterozigotnosti zabilježeni su u studijama na drugim populacijama koza (Manunza i sur., 2016; Colli i sur., 2018; Michailidou i sur., 2019; Deniskova i sur., 2021; Cortellari i sur., 2021). Veća genetička raznolikost može se pripisati činjenici da koze nisu podvrgnute intenzivnoj selekciji kao druge domaće životinje, poput goveda, kao i genetičkoj raznolikosti njihovih predaka (Brito i sur., 2017). Veće razlike između opažene i očekivane heterozigotnosti mogu biti posljedica inbridinga koji se dogodio u prošlosti tijekom razvoja pasmine (Mukhina i sur., 2022).

Za održavanje heterozigotnosti, potrebno je pažljivo razmatrati strategiju križanja. U pojedinim slučajevima, križanje s pasminama koje su već djelomično zastupljene u genomima ovih koza može pomoći u očuvanju lokalno prilagođenih osobina, no takav pristup treba primjenjivati iznimno oprezno. S druge strane, križanje s potpuno različitim pasminama može dodatno povećati genetičku raznolikost i smanjiti rizik od inbridinga, uvođenjem novih alela u populaciju. Ova strategija mora biti pažljivo balansirana kako bi se izbjeglo smanjenje dugoročne varijabilnosti (Brito i sur., 2017; Mukhina i sur., 2022).

Genetička heterozigotnost može biti ozbiljno narušena zbog uskog genskog fonda, nepravilnih uzgojnih strategija i promjena u okolišu. Promjene u okolišu, kao što su klimatske promjene, mogu uvesti nove selekcijske pritiske koji dodatno smanjuju genetičku raznolikost (Frankham i sur., 2010; Mace i Purvis, 2008).

Više vrijednosti heterozigotnosti dobivene na temelju mikrosatelitskih biljega pokazali su rezultati prijašnjih istraživanja na hrvatskoj šarenoj kozi (Ramljak i sur., 2011). Također, u drugim studijama na različitim vrstama, pa tako i kozama potvrđene su više

vrijednosti heterozigotnosti dobivene preko mikrosatelita (Manunza i sur., 2016; Zhong i sur., 2023). Međutim, veće vrijednosti dobivene preko mikrosatelita mogu biti posljedica pristranosti u odabiru biljega (Haas i Payseur, 2011; Queirós i sur., 2015), a Fischer i sur. (2017) ne dovode u pitanje korisnost mikrosatelita, već ukazuju na točnije procjene raznolikosti na razini genoma već i na nekoliko tisuća SNP-a.

Negativne vrijednosti koeficijenta inbridinga (F_{IS}) zabilježene su u obje populacije koza: hrvatskoj šarenoj ($F_{IS} = -0,053 \pm 0,005$) i istarskoj ($F_{IS} = -0,040 \pm 0,002$). F_{IS} mjeri razliku između opažene i očekivane heterozigotnosti u populaciji, a negativne vrijednosti ukazuju na višak heterozigota u odnosu na očekivano stanje. To sugerira da unutar populacija nema izraženog inbridinga, već je prisutan višak heterozigota. Ovakvi rezultati mogu ukazivati na to da se unutar populacija odvija relativno slobodna genska razmjena, što održava visoku razinu genetičke raznolikosti. Slični rezultati uočeni su i u drugim istraživanjima na talijanskim kozama koje su također pokazale negativne vrijednosti F_{IS} -a (Colli i sur., 2018).

Međutim, interpretacija ovih rezultata zahtjeva oprez, posebno kod istarske koze zbog malog uzorka. Brito i sur. (2017) ističu potrebu za pažljivim tumačenjem rezultata u kontekstu malih uzoraka, jer manji uzorci mogu dovesti do netočnih procjena.

Pozitivne vrijednosti F_{IS} -a ukazuju na prisutnost određenog stupnja smanjenja heterozigotnosti, što može, ali i ne mora biti rezultat inbridinga. Ramljak i sur. (2011) dobili su nešto višu vrijednost koeficijenta inbridinga ($F_{IS} = 0,019$) na mikrosatelitima kod hrvatske šarene koze u usporedbi s rezultatima u ovom istraživanju. Iako ova vrijednost sugerira nisku stopu smanjenja heterozigotnosti, pozitivan F_{IS} može ukazivati na djelomično izbjegavanje parenja s bliskim srodnicima ili posljedicu slučajnog parenja u ograničenoj populaciji.

Negativne F_{IS} vrijednosti uočene su i kod talijanskih pasmina (Colli i sur., 2018), autohtonih čeških, slovačkih, austrijskih i švicarskih (Vostry i sur., 2024).

5.8. Genomski inbriding

ROH segmenti nastaju nasljeđivanjem identičnih haplotipova kao posljedica inbridinga (Ceballos i sur., 2018) te su koristan pokazatelj razine genomskog inbridinga, osobito kada nedostaju podaci o pedigreu (Ferenčaković i sur., 2013). Korištenjem visokorezolutnih SNP panela moguće je precizno detektirati kratke ROH-ove, no gustoća biljega poput SNP₅₀ također osigurava pouzdane procjene (Purfield i sur., 2012).

ROH-ovi se razlikuju po duljini i mogu biti neujednačeno raspoređeni po genomu (Purfield i sur., 2012; Howard i sur., 2015), a veći udio genoma prekriven ROH-ovima često se nalazi u manjim populacijama (Bertolini i sur., 2018a).

Pojava ROH otoka ili žarišta u određenim regijama genoma korisna je za proučavanje evolucije populacija (Nothnagel i sur., 2010; Pemberton i sur., 2012) te za procjenu vremenskog intervala nastanka inbridinga (Ferenčaković i sur., 2013; Tolone i sur., 2022; Signer-Hasler i sur., 2022). Dulji ROH-ovi upućuju na noviji inbriding, dugotrajnu selekciju ili malu efektivnu veličinu populacije (Kim i sur., 2013; Brito i sur., 2017; Cortellari i sur., 2021).

Kod hrvatskih pasmina koza prevladali su ROH-ovi dulji od 16 Mb, što je pokazatelj nedavnog inbridinga. Međutim, to bi također mogao biti odraz uzorkovanja, posebno kod male populacije istarske koze, u kojoj bi jedinke mogle biti slučajno više srodne od prosjeka za populaciju. Najmanji prosječan broj ROH-ova zabilježen je kod rumunjske carpatian koze što može upućivati na to da je ta pasmina pod malim selekcijskim pritiskom (Brito i sur., 2017).

Općenito, inbriding nastaje kada su partneri bliskije povezani nego što bi se očekivalo nasumičnim parenjem unutar populacije (Keller i sur., 2011). ROH-ovi se koriste kao indikator razine inbridinga, a izračun koeficijenta inbridinga (F_{ROH}) pruža uvid u vremenski okvir događaja inbridinga, bilo da je drevni ili nedavni (Curik i sur., 2014; Ferenčaković i sur., 2013a).

Bertolini i sur. (2018a) naveli su da oko 60 % pasmina svjetskih pasmina koza pokazuje niski inbriding (F_{ROH} koeficijent $< 0,10$), oko 30 % umjereni (0,1 do 0,2), dok je visok inbriding uočen kod 10 % pasmina ($> 0,2$).

Prosječni F_{ROH} koeficijenti za obje hrvatske pasmine ukazuju na niski do umjereni inbriding. Od istraživanih populacija, slovačka brown shorthair goat pokazala je najviše vrijednosti inbridinga, dok je rumunjska carpatian koza pokazala najniže vrijednosti, što je u skladu s rezultatima dobivenim u radu Vostry i sur. (2024) za slovačku pasminu i Vlaic i sur. (2024) za rumunjsku kozu. Ova dosljednost među različitim studijama i metodologijama jača vjerodostojnost rezultata o inbridingu.

Rezultati također pokazuju izraženu varijabilnost razina inbridinga među jedinkama unutar svake pasmine. Dok su neke jedinke potpuno bez ROH-ova, druge pokazuju izrazito visoke vrijednosti ukupne duljine ROH-ova, osobito u kategoriji duljih od 16 Mb. Ova neujednačena struktura inbridinga dodatno potvrđuje zaključke o nedavnoj pojavi inbridinga

i ukazuje na potencijalne probleme poput ograničenog broja rasplodnih jedinki ili slučajnog parenja među srođnicima u malim populacijama.

Slične vrijednosti inbridinga zabilježene su kod nekih talijanskih pasmina (Dadousis i sur., 2021; Cortellari i sur., 2021a), španjolskih (Luigi-Siera i sur., 2022), sanskih (Brito i sur., 2017). Znatno veći inbriding uočen je kod geografski izoliranih populacija iz Irske i Madagaskara (Cardoso i sur., 2018; Li i sur., 2022), švicarskih pasmina (Signer-Hasler i sur., 2022; Vostroy i sur., 2024), te pakistanskih koza (Bertolini i sur., 2018a).

F_{ROH} također ukazuje na nedavni inbriding kod obje hrvatske pasmine. Prema procjeni Ferenčaković i sur. (2013a), ovaj događaj inbridinga mogao se dogoditi otprilike prije tri generacije, najvjerojatnije zbog genskog uskog grla ili nasumičnog parenja s jednim dominantnim mužjakom.

5.9. Efektivna veličina populacije

Procjena efektivne veličine (N_e) populacije ključna je za razumijevanje genetičke dinamike populacija, jer utječe na razinu genetičke raznolikosti i rizik od njenog smanjenja. Trenutna efektivna veličina odnosi se na broj jedinki koje trenutno doprinose genetičkoj strukturi populacije, dok povijesna veličina populacije odražava promjene kroz vrijeme.

Iako se podaci iz pedigreea još uvijek koriste za procjenu ugroženosti (Leroy i sur., 2017), moderni genomske pristupi nude preciznije informacije. Genomske metode omogućuju detaljnu analizu IBD-a i genetičkog pomaka, što je korisno za dugoročnu evaluaciju populacija (Hoffman i sur., 2014).

Iako postoje različite metode za procjenu efektivne veličine populacije, poput SNeP softver (Barbato i sur., 2015), GONE softver je korišten u ovom istraživanju zbog svoje sposobnosti preciznijeg modeliranja složenih demografskih putanja, uključujući promjene veličine populacije i uska grla (Santiago i sur., 2020).

Na temelju efektivne veličine populacije može se predvidjeti kako će genetički otklon ili inbriding utjecati na populaciju i njenu dugoročnu održivost (Islam i sur., 2020). Veliki problem malih populacija je povećana vjerojatnost parenja među bliskim rođacima što može rezultirati smanjenjem adaptivnog potencijala i akumulacijom štetnih alela.

Trenutna efektivna veličina populacije hrvatske šarene koze iznosi 477, što ukazuje na stabilnu populaciju i genetičku održivu populaciju, slično kao što navode i Manunza i sur. (2025) za druge europske pasmine koza. Ne kod istarske koze iznosi svega 27, što sugerira znatno veći rizik od gubitka genetičke varijabilnosti i mogućih posljedica uzrokovanih

inbridingom. Ipak, s obzirom na to da je ova procjena dobivena na temelju ograničenog broja analiziranih jedinki ($n = 10$), i uz činjenicu da GONE ne pruža intervale pouzdanosti, ovu vrijednost treba tumačiti s oprezom. Dodatne analize s većim brojem jedinki bile bi potrebne za robusniju procjenu.

Usporedba demografski i genomski procijenjene efektivne veličine populacije pokazuje određena odstupanja. Na temelju stvarnog broja uzgojno valjanih mužjaka i ženki za 2024. godinu, demografski izračunana efektivna veličina populacije iznosi 267 za hrvatsku šarenu kozu, odnosno 55 za istarsku kozu. Omjer N_e/N_c (gdje je N_e efektivna veličina populacije, a N_c trenutni broj uzgojno valjanih grla) prema tim vrijednostima iznosi 0,12 za hrvatsku šarenu kozu i 0,32 za istarsku kozu.

S druge strane, korištenjem GONE softvera, koji temelji procjenu na genomskoj strukturi i povijesnim demografskim obrascima, procijenjene vrijednosti efektivne veličine populacije iznose 477 za hrvatsku šarenu kozu i 27 za istarsku kozu, što odgovara omjerima N_e/N_c od 0,22 za hrvatsku šarenu i 0,16 za istarsku kozu.

Razlika između demografski i genomski procijenjenih vrijednosti ukazuje na različitu prirodu tih pristupa. Demografska procjena temelji se na trenutnom broju uzgojno aktivnih jedinki i pretpostavlja ravnomjeran doprinos genetičkom fondu, dok genomski pristup uzima u obzir stvarnu distribuciju alela kroz generacije i može otkriti uska grla, povijesne fluktuacije i neravnomjeran reproduktivni uspjeh.

Hall i sur. (2016) naglašavaju da je omjer N_e/N_c kod domaćih životinja često vrlo nizak – u njihovom istraživanju medijan iznosio je svega 0,03, te da razlike između demografskog i stvarnog genetičkog doprinosa populaciji nisu neuobičajene. Ove razlike dodatno potvrđuju važnost korištenja obje metode za potpuniju procjenu genetičke održivosti, osobito kod pasmina s malom brojnošću. Također ističu da su omjeri N_e/N_c veći od 0,2 rijetkost kod populacija domaćih životinja, što vrijednost od 0,22 za hrvatsku šarenu kozu može ukazivati na relativno povoljan reproduktivan balans, dok vrijednost od 0,16 za istarsku kozu upućuje na veći rizik neravnomjernog genetičkog doprinosa.

Rezultati istraživanja koji se odnose na povijesnu efektivnu veličinu populacije pokazuju izražene razlike između hrvatske šarene koze i istarske koze. Kod istarske koze zabilježen je stabilan početni period, nakon čega počinje postupan i dugotrajan pad efektivne veličine populacije, koji počinje od 16. generacije unatrag te se nastavlja do 200. generacije. Nasuprot tome, hrvatska šarena koza pokazuje kontinuirani rast efektivne veličine populacije koji započinje oko 11. generacije unatrag i nastavlja se sve do najranijih analiziranih generacija. Takav uzlazni trend hrvatske šarene koze podudara se s obrascima

zabilježenima kod dugih europskih i zapadnoeuropskih pasmina koza (Colli i sur., 2018), kao i kod nekih drugih domaćih životinja, poput goveda i ovaca (Rahimadar i sur., 2021; Barbato i sur., 2015).

Hrvatska šarena koza pokazuje stabilniji genetički profil uz postepeno smanjenje N_e što sugerira manje drastične promjene u njezinoj povijesti uzgoja. Povijesni podaci, uključujući drastično smanjenje veličine populacije i povećanje dugih ROH-ova, ukazuju da je populacija istarske koze već prošla kroz faze ozbiljne genske erozije.

Smanjenje veličine populacije predaka uočeno je kod većine lokalnih svjetskih pasmina koza (Colli i sur., 2018), što se pripisuje uskim grlima povezanih s domestikacijom, selekcijom i formiranjem pasmina (Islam i sur., 2019). Prema FAO-u, minimalna efektivna veličina populacije trebala bi biti između 50 i 100 kako bi se očuvala genetička raznolikost i izbjegle štetne posljedice inbridinga (Meuwissen, 2009; Brito i sur., 2015; Colli i sur., 2018). Trenutna efektivna veličina populacije hrvatske šarene koze nadmašuje ovaj prag, dok je za istarsku kozu znatno niža.

Iako procjena N_e ne omogućuje preciznu projekciju smanjenja genetičke raznolikosti kroz buduće generacije, poznat je općeniti trend. Na primjer, ako je N_e 25, 50, 125, 250 i 500 smanjenje genetičke raznolikosti bi bilo 18 %, 10 %, 4 %, 1,6 % i 0,8 % (Rahimadar i sur., 2021).

5.10. Signali selekcije

Selektivni pritisci ostavljaju različite potpise u genomu. iHS metoda identificira proširene haplotipove unutar populacije, dok eROHi metoda procjenjuje učinke homozigotnih regija, koje ukazuju na inbriding i pozitivnu selekciju. Kriterij postavljen na tri ili više uzastopnih SNP-ova s ekstremnim $-\log(P)$ vrijednostima ukazuje na regije pod selekcijskim pritiskom. Otkrivanje pozitivne selekcije u genomu doprinosi razumijevanju korisnih fenotipskih varijacija važnih za genetičke bolesti, prilagodbu okolišu i druge biološke karakteristike.

U usporedbi dviju pasmina, važno je obratiti pozornost na preklapanje regija pod selekcijskim pritiskom. U ovom istraživanju, iHS metodom identificirane su regije s najjačim selektivnim zamahom kod hrvatske šarene koze (kromosomi 8, 14 i 16) i kod istarske koze (kromosomi 3 i 5). Iako ove regije nisu detaljno istražene u drugim radovima, rezultati ovog istraživanja ukazuju na njihov potencijalni značaj.

Metoda eROHi identificirala je šire homozigotne regije kod istarske koze, što može ukazivati na veći stupanj genetičke homogenosti, vjerojatno zbog genskih uskih grla i inbridinga. S druge strane, kod hrvatske šarene koze regije selekcije bile su uže, što je pokazatelj lokaliziranih selekcijskih pritisaka. Snažan signal selekcije detektiran je na 29. kromosomu hrvatske šarene koze ($-\log_{10}(P) = 4,63$ za 27 SNP-ova) i na 9. kromosomu istarske koze ($-\log_{10}(P) = 10,32$). Visoke eROHi vrijednosti kod hrvatske šarene koze na kromosomima 13, 27 i 29 ($-\log(P)$ od 3,28 do 4,63) te kod istarske koze na kromosomima 9 i 10 ($-\log(P)$ od 10,32 i 6,53) pokazuju na značajnu statističku povezanost i jači selekcijski pritisak.

Na temelju ovih rezultata može se zaključiti da su identificirane regije vjerojatno povezane s osobinama specifičnim za svaku pasminu. Budući da obje pasmine obitavaju u geografski odvojenim područjima, ali u sličnoj mediteranskoj klimi, ovo istraživanje potvrđuje da su zadržale svoje posebnosti i genetičke specifičnosti. Nepostojanje preklapanja u selekcijskim regijama, unatoč sličnom okolišu, ukazuje na različite selekcijske pritiske koji su oblikovali specifične fenotipske prilagodbe kod svake pasmine. Visoki udjeli ROH-ova duljih od 16 Mb dodatno potvrđuju da su obje pasmine bile podložne intenzivnim selekcijskim pritiscima i nedavnom inbridingu. Sličan zaključak su uočili Kim i sur. (2016), koji su analizirali selekcijske potpise kod koza i ovaca koje su dijelile isto okolišno okruženje. U genomu koza su prethodno mapirane različite regije povezane s fenotipskim i proizvodnim karakteristikama, poput gena za kazein na šestom kromosomu (važnog za proizvodnju sira) i gena za mišićnu masu na trećem kromosomu (Bertolini i sur., 2018). Međutim, identificirane regije u ovom istraživanju nisu se preklapile s prethodno otkrivenim regijama, što dodatno naglašava posebnost dviju hrvatskih pasmina.

Buduća istraživanja usmjerena na funkcionalnu analizu ovih regija mogla bi razjasniti koje fenotipske osobine kontroliraju identificirane genomske regije. Ovo bi omogućilo preciznije povezivanje selekcijskih pritisaka s fenotipskim varijacijama važnim za prilagodbu i selekciju unutar ovih populacija.

Ovo istraživanje pruža prvi sveobuhvatni pregled genetičke raznolikosti i populacijske strukture dviju hrvatskih izvornih pasmina koza, hrvatske šarene i istarske koze. Dobiveni rezultati pokazuju značajne razlike među pasminama u svim provedenim analizama, što upućuje na različite evolucijske procese koji su ih oblikovali. Ti procesi očituju se kroz različite obrasce inbridinga, genskih uskih grla i selekcijskih pritisaka.

Istarska koza je općenito prošla ozbiljne faze genetičke erozije. Proces revitalizacije ove pasmine započeo je 2010. godine, kada je identificirano oko 40 jedinki raspršenih po

cijeloj Istri, koje su uzgajane bez sustavne uzgojne strategije. Nema detaljnih podataka o pasminama s kojima su se jedinke istarske koze križale, rezultati ovog istraživanja mogli bi pomoći o daljnjim koracima u očuvanju pasmine.

Hrvatska šarena koza pokazala je stabilniji genetički profil s umjerenim inbridingom. Nije poznato kolika je njezina povezanost s pasminama koje obitavaju na širem području Balkana.

Rezultati ovog istraživanja prvi su koji pružaju uvid u genetičku strukturu hrvatske šarene i istarske koze te mogu poslužiti kao čvrst temelj za razvoj strategija očuvanja koji će omogućiti dugoročnu održivost i genetičku stabilnost ovih vrijednih pasmina.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata genomske analize, korištenjem najnovijih molekularno-genetičkih metoda, za populacije hrvatske šarene koze i istarske koze može se zaključiti sljedeće:

1. Hrvatska šarena koza i istarska koza uspješno su genotipizirane pomoću visoko rezolutnog SNP čipa Goat_IGGC_65K platforme, omogućujući preciznu analizu njihove genetičke strukture.
2. Obje hrvatske pasmine pokazuju visoku genetičku raznolikost unutar populacija, što se očituje visokom razinom heterogenosti, čak i kod istarske koze unatoč malom broju jedinki.
3. Hrvatske pasmine koza dio su europskog genskog fonda, s najvećom povezanošću s mediteranskim pasminama. Njihova genetička struktura pokazuje jasne razlike.
4. Hrvatska šarena koza genetički je najviše povezana s kozama koje su pristigle u Europu mediteranskom rutom (grčke, rumunjske i talijanske – središnja i južna), iako postoje genetičke poveznice s kozama koje su pristigle balkanskom rutom što upućuje na njenu složeniju povijest nastanka.
5. Istarska koza pokazuje genetičku bliskost s pasminama koje se nalaze u bližim geografskim područjima, a na koje je značajan utjecaj imala balkanska ruta.
6. Obje hrvatske populacije koza pokazuju niski do umjereni inbriding, no izražena varijabilnost među jedinkama te prisutnost dugačkih ROH-ova upućuju na nedavni inbriding.
7. Obje pasmine prošle su značajna smanjenja efektivne veličine kroz povijest, no unatoč tomu populacija hrvatske šarene koze je genetički stabilna, dok se kod istarske koze, zbog male veličine populacije, uočava potreba za pažljivim uzgojno-seleksijskim radom kako bi se očuvala postojeća genetička raznolikost.
8. Identificirane su regije genoma pod pozitivnom selekcijom, koje upućuju na adaptivne procese specifične za svaku pasminu, no daljnja funkcionalna analiza gena u tim regijama je potrebna za dublje razumijevanje fenotipskih karakteristika povezanih s prilagodbom.
9. Očuvanje obje pasmine potrebno je osigurati kroz strateške uzgojne programe.

Očuvanje genetičke raznolikosti važno je ne samo za opstanak izvornih pasmina, već i za dugoročnu održivost poljoprivrede te sigurnost opskrbe hrane u budućnosti.

Istraživanje ovog doktorskog rada financirano je od strane HRZZ projekta IP-2018-01-8708, „Primjena NGS metoda u procjeni genomske varijabilnosti preživača – ANAGRAMS“.

7. POPIS LITERATURE

- Agaviezor B.O., Adefenwa M.A., Peters S.O., Yakubu A., Adebambo O.A., Ozoje M.O., Ikeobi C.O.N., Ilori B.M., Wheto M., Ajayi O.O., Amusan S.A., Okpeku M., De Donato M., Imumorin I.G. (2012). Genetic diversity analysis of the mitochondrial D - loop of Nigerian indigenous sheep. *Animal Genetics* 50: 13-20.
- Agha S.H., Pilla F., Galal S., Shaat I., D'Andrea M., Reale S., Abdelsalam A.Z., Li M.H. (2008). Genetic diversity in Egyptian and Italian goat breeds measured with microsatellite polymorphism. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 125 (3): 194-200.
- Ajmone-Marsan P., Negrini R., Crepaldi P., Milanese E., Gorni C., Valentini A., Cicogna M. (2001). Assessing genetic diversity in Italian goat populations using AFLP markers. *Animal Genetics* 32 (5): 281-288.
- Ajmone-Marsan P., Garcia J.F., Lenstra J.A. (2010). On the origin of cattle: How aurochs became cattle and colonized the world. *Evolutionary Anthropology* 19 (4): 148-157.
- Ajmone-Marsan P., Colli L., Han J.L., Acilli A., Lancioni H., Joost S., Crepaldi P., Pilla F., Stella A., Taberlet P., Boettcher P., Negrini R., Lenstra J.A. (2014). The characterization of goat genetic diversity: Towards a genomic approach. *Small Ruminant Research* 121 (1): 58-72.
- Albrechtsen A., Nielsen F.C., Nielsen R. (2010). Ascertainment biases in SNP chips affect measures of population divergence. *Molecular Biology and Evolution* 27 (11): 2534-2547.
- Alexander D.H., Novembre J., Lange K. (2009). Fast model – based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome research* 19 (9): 1655-1664.
- Amills, M., Ramírez O., Tomàs A., Badaoui B., Marmi J., Acosta J., Sánchez A., Capote J. (2009). Mitochondrial DNA diversity and origins of South and Central American goats. *Animal Genetics* 40 (3): 315-322.
- Amills M., Capote, J., Tosser-Klopp G. (2017). Goat domestication and breeding: a jigsaw of historical, biological and molecular data with missing pieces. *Animal Genetics* 48 (6): 631-644.
- Anderson S., de Burijn M.H., Coulson A.R., Eperon I.C., Sanger F., Young I.G. (1982). Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *Journal of Molecular Biology* 156 (4): 683-717.
- Arnold M.L., Kunte K. (2017). Adaptive Genetic Exchange: A Tangled History of Admixture and Evolutionary Innovation. *Trends in Ecology and Evolution* 32 (8): 601-611.
- Awotunde E.O., Bemji M.N., Olowofeso O., James I.J., Ajayi O.O., Adebambo A.O. (2015). Mitochondrial DNA sequence analyses and phylogenetic relationships among two

- Nigerian goat breeds and the South African Kalahari Red. *Animal Biotechnology* 26 (3): 180-187.
- Aziz M.A. (2010). Present status of the world goat populations and their productivity. *Lohmann Information* 45 (2): 42-52.
- Baldursdóttir B.K. (2010). Genetic variation within the Icelandic goat breed: assessment using population data and DNA analysis. Agricultural University of Iceland Faculty of land and Animal Resources. Iceland.
- Baldursdóttir B.K., Kristjansson T., Hallsson J.H. (2012). Diversity of the Icelandic goat breed assessed using population data. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science* 62 (2): 53-65.
- Ballou J. (1983). Calculating inbreeding coefficients from pedigrees. U: *Genetics and conservation: a reference for managing wild animal and plant populations* (ur. Schonewald-Cox C. M., Chambers S. M., MacBryde B., Thomas L.). Benjamin / Cummings Publishing Company. Menlo Park, California, USA, str. 509-520.
- Barbato M., Orozco-terWengel P., Tapio M., Bruford M.W. (2015). SNeP: a tool to estimate trends in recent effective population size trajectories using genome – wide SNP data. *Frontiers in Genetics* 6: 109.
- Barker J.S. (2001). Conservation and Management of Genetic Diversity: A Domestic Animal Perspective. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 588-595.
- Battisti C. (1920). *La Venezia Giulia: cenni geografico-statistici*. Istituto Geografico De Agostini. Novara.
- Benjelloun B., Alberto F.J., Streeter I., Boyer F., Coissac E., Stucki S., BenBati M., Ibnelbachyr M., Chentouf M., Bechchari A., Leempoel K., Alberti A., Engelen S., Chikhi A., Clarke L., Flicek P., Joost S., Taberlet P., Pompanon F., NextGen Consortium. (2015). Characterizing neutral genomic diversity and selection signatures in indigenous populations of Moroccan goats (*Capra hircus*) using WGS data. *Frontiers in Genetics* 6: 107.
- Benjelloun B., Boyer F., Streeter I., Zamani W., Engelen S., Alberti A., Alberto F.J., BenBati M., Ibnelbachyr M., Chentouf M., Bechchari A., Rezaei H.R., Naderi S., Stella A., Chikhi A., Clarke L., Kijas J., Flicek P., Taberlet P., Pompanon F. (2019). An evaluation of sequencing coverage and genotyping strategies to assess neutral and adaptive diversity. *Molecular Ecology Resources* 19 (6): 1497-1515.
- Beltram V., Klanjček, V. (1947). Prevelik broj koza – velike štete u šumarstvu. *Šumarski list* 1-2: 33-36.
- Bertolini F., Servin B., Talenti A., Rochat E., Kim E.S., Oget C., Palhière I., Crisà A., Catillo G., Steri R., Amills M., Colli L., Marras G., Milanesi M., Nicolazzi E., Rosen B.D., van Tassell C.P., Guldbrandtsen B., Sonstegard T.S., Tosser-Klopp G., Stella A.,

- Rothschild M.F., Joost S., Crepaldi P., The AdaptMap consortium. (2018). Signatures of selection and environmental adaptation across the goat genome post-domestication. *Genetic Selection Evolution* 50 (1): 57.
- Bertolini F., Cardoso T.F., Marras G., Nicolazzi E.L., Rothschild M.F., Amills M., The AdaptMap consortium. (2018a). Genome – wide patterns of homozygosity provide clues about the population history and adaptation of goats. *Genetic Selection Evolution* 50 (1): 59.
- Biscarini F., Nicolazzi E.L., Stella A., Boettcher P.J., Gandini G. (2015). Challenges and opportunities in genetic improvement of local livestock breeds. *Frontiers in Genetics* 6: 1-7.
- Bosse M., Megens H-J., Madsen O., Paudel Y., Frantz L.A.F., Schook L.B., Crooijmans R.P.M.A., Groenen M.A.M. (2012). Regions of Homozygosity in the Porcine Genome: Consequence of Demography and the Recombination Landscape. *PLoS Genetics* 8 (11): e1003100.
- Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32 (3): 314-331.
- Bradić L. (2021). Validacija i filogenetska klasifikacija mitogenoma goveda iz komercijalnog SNP čipa. Diplomski rad. Agronomski fakultet Sveučilište u Zagrebu.
- Brajkovic V., Hršak D., Bradić L., Turkalj K., Novosel D., Ristov S., Ajmone-Marsan P., Colli L., Cubric-Curik V., Sölkner J., Curik I. (2023). Mitogenome information in cattle breeding and conservation genetics: Developments and possibilities of the SNP chip. *Livestock Science* 275: 105299.
- Brito L.F., Jafarikia M., Grossi D.A., Kijas J.W., Porto-Neto L.R., Ventura R.V., Salgorzaei M., Schenkel F.S. (2015). Characterization of linkage disequilibrium, consistency of gametic phase and admixture in Australian and Canadian goats. *BioMed Central Genetics* 16: 67.
- Brito L.F., Kijas J.W., Ventura R.V., Sargolzaei M., Porto-Neto L.R., Cánovas A., Feng Z., Jafarikia M., Schenkel F.S. (2017). Genetic diversity and signatures of selection in various goat breeds revealed by genome – wide SNP markers. *BioMed Central Genomics* 18: e229.
- Broman K.W., Weber J.L. (1999). Long Homozygous Chromosomal Segment sin Reference Families from the Centre d'Étude du Polymorphisme Humain, *American Journal of Human Genetics* 66 (1): 346.
- Bruno-de-Sousa C., Martinez A.M., Ginja C., Santos-Silva F., Carolino M.I., Delgado J.V., Gama L.T. (2011). Genetic diversity and population structure in Portuguese goat breeds. *Livestock Science* 135 (2): 131-139.

- Bruford M.W., Bradley D.G., Luikart G. (2003). DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Genetics* 4 (11): 900-910.
- Budimir K., Jovanovac S., Mijić P, Margeta V. (2014). Mitochondrial DNA as a tool for identification of genetic diversity among domestic animals. *Acta Agraria Kaposváriensis* 18 (1): 152-158.
- Budinski V.I. (2019). Genetička struktura populacija sredozemnog potkovičara *Rhinolophus euryale* Blasius, 1853 u Srbiji i filogeografija ove vrste na Balkanskom poluostrvu. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Biološki fakultet. Srbija.
- Burren A., Neuditschko M., Singer-Hasler H., Frischknecht M., Reber I., Menzi F., Drögemüller C., Flury C. (2016). Genetic diversity analyses reveal first insights into breed – specific selection signatures within Swiss goat breeds. *Animal Genetics* 47 (6): 727-739.
- Caballero A. (1994). Developments in the prediction of effective population size. *Heredity* 73 (6): 657-679.
- Cañón J., García D., García-Atance M.A., Obexer-Ruff G., Lenstra J.A., Ajmone-Marsan P., Dunner S., Econogene Consortium. (2006). Geographical partitioning of goat diversity in Europe and the Middle East. *Animal Genetics* 37 (4): 327-334.
- Capote J. (2016). Environments and goats around the world: Importance of genetic and management factors. U: Sustainable Goat Breeding and Goat Farming in the Central and Eastern, European Countries European Regional Conference on Goats (ur. Kukovics S.), FAO, Rome, str. 1-6.
- Cardoso T.F., Amills M., Bertolini F., Rothschild M., Marras G., Boink G., Jordana J., Capote J., Carolan S., Hallsson J.H., Kantanen J., Pons A., Lenstra J.A., The AdaptMap Consortium. (2018). Patterns of homozygosity in insular and continental goat breeds. *Genetic Selection Evolution* 50 (1): 56.
- Carillier C., Larroque H., Palhière I., Clément V., Rupp R., Robert-Granié C. (2013). A first step toward genomic selection in the multi-breed French dairy goat population. *Journal of Dairy Science* 96 (11): 7294-7305.
- Ceballos F.C., Joshi P.K., Clark D.W., Ramsay M, Wilson J.F. (2018). Runs of homozygosity: windows into population history and trait architecture. *Nature Reviews Genetics* 19 (4): 220-234.
- Cieslak M., Reissmann M., Hofreiter M., Ludwig A. (2011). Colours of domestication. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 86 (4): 885-899.
- Çinar Kul B., Ertugrul O. (2011). mtDNA diversity and phylogeography of some Turkish native goat breeds. *Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 58: 129-134.

- Çinar Kul B., Bilgen N., Lenstra J.A., Korkmaz Agaoglu O., Akyuz B., Ertugrul O. (2015). Y-chromosomal variation of local goat breeds of Turkey close to the domestication centre. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 132 (6): 449-453.
- Charlesworth D., Willis J. (2009). The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics* 10 (11): 783-796.
- Charlesworth B. (2009a). Effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nature Reviews Genetics* 10 (3): 195-205.
- Chen S.Y., Su Y.H., Wu S.F., Sha T., Zhang Y.P. (2005). Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of Chinese domestic goats. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37 (3): 804-814.
- Chen N.B., Cai Y.D., Chen Q.M., Li R., Wang K., Huang Y., Hu S., Huang S., Zhang H., Zheng Z., Song W., Ma Z., Ma Y., Dang R., Zhang Z., Xu L., Jia Y., Liu S., Yue X., Deng W., Zhang X., Sun Z., Lan X., Han J., Chen H., Bradley D.G., Jiang Y., Lei C. (2018). Whole-genome resequencing reveals world-wide ancestry and adaptive introgression events of domesticated cattle in East Asia. *Nature Communications* 9 (1): 2337.
- Cho G.J. (2005). Microsatellite polymorphism and genetic relationship in dog breeds in Korea. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18 (8): 1071-1074.
- Colli L., Milanesi M., Talenti A., Bertolini F., Chen M., Crisà A., Daly K.G., Del Corvo M., Guldbbrandtsen B., Lenstra J.A., Rosen B.D., Vajana E., Catillo G., Joost S., Nicolazzi E.L., Rochat E., Rothschild M.F., Servin B., Sonstegard T.S., Steri R., van Tassell C.P., Ajmone-Marsan P., Crepaldi P., Stella A., The AdaptMap Consortium (2018). Genome - wide SNP profiling of worldwide goat populations reveals strong partitioning of diversity and highlights post-domestication migration routes. *Genetic Selection Evolution* 50 (1): 58.
- Cooper J.E. (1986). Evolution of Domesticated Animals. *British Veterinary Journal* 142: 199-200.
- Cortellari M., Barbato M., Talenti A., Bionda A., Carta A., Ciampolini R., Ciani E., Crisà A., Frattini S., Lasagna E., Marletta D., Mastrangelo S., Negro A., Randi E., Sarti F.M., Sartore S., Soglia D., Liotta L., Stella A., Ajmone-Marsan P., Pilla F., Colli L., Crepaldi P. (2021). The climatic and genetic heritage of Italian goat breeds with genomic SNP data. *Scientific Reports* 11 (1): e10986.
- Cortellari M., Bionda A., Negro A., Frattini S., Mastrangelo S., Somenzi E., Lasagna E., Sarti F.M., Ciani E., Ciampolini R., Marletta D., Liotta L., Ajmone-Marsan P., Pilla F., Colli L., Talenti A., Crepaldi P. (2021a). Runs of homozygosity in the Italian goat breeds: impact of management practices in low-input systems. *Genetic Selection Evolution* 53 (1): 92.

- Crawford N.G. (2010). Smogd: Software for the measurement of genetic diversity. *Molecular Ecology Resources* 10 (3): 556-557.
- Cronin M.A., Rincon G., Meredith R.W., MacNeil M., Islas-Trejo A., Cánovas A., Medrano J.F. (2014). Molecular Phylogeny and SNP Variation of Polar Bears (*Ursus maritimus*), Brown Bears (*U. arctos*), and Black Bears (*U. americanus*) Derived from Genome Sequences. *Journal of Heredity* 105 (3): 312-323.
- Crow, J. F. (1954). Breeding structure of populations. Effective population number. U: *Statistics and Mathematics in Biology* (ur. Kempthorne O., Bancroft T.A., Gowen J.W., Lush J.L.), Iowa State College Press, Ames, Iowa, str. 543-556.
- Curik I., Ferenčaković M., Karapandza N., Curik-Cubric V., Sölkner J. (2014). Estimation of inbreeding and effective population size in Istrian cattle using molecular information. *Acta Agraria Kaposváriensis*, 18 (1): 30-34.
- Curik I., Ferenčaković M., Sölkner J. (2014a). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock Science* 166: 26-34.
- Curik-Cubric V., Novosel D., Brajkovic V., Rota Stabelli O., Krebs S., Sölkner J., Šalamon D., Ristov S., Berger B., Trivizaki S., Bizelis I., Ferenčaković M., Rothammer S., Kunz E., Simčić M., Dovč P., Bunevski G., Bytyqi H., Marković B., Brka M., Kume K., Stojanović S., Nikolov V., Zinovieva N., Schönherz A.A., Guldbbrandtsen B., Čačić M., Radović S., Miracle P., Vernesi C., Curik I., Medugorac I. (2022). Large-scale mitogenome sequencing reveals consecutive expansions of domestic taurine cattle and supports sporadic aurochs introgression. *Evolutionary Applications* 15 (4): 663-678.
- Cymbron T., Freeman A.R., Malheiro M.I., Vigne J.D., Bradley D.G. (2005). Microsatellite diversity suggest different histories for Mediterranean and North European cattle populations. *Proceedings Biological sciences* 272 (1574): 1837-1843.
- Czerneková C., Kott T., Majzlik I. (2018). Mitochondrial D-loop sequence variation among Hucul horse. *Czech Journal of Animal Science* 58 (10): 437-442.
- Čačić M., Cubric-Curik V., Baban M., Barać Z., Curik I. (2011). Use of Mitochondrial DNA analyses in Verification of the Lipizzan Horse Pedigree. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 76 (4): 365-368.
- Dadousis C., Cecchi F., Ablondi M., Fabbi M.C., Stella A., Bozzi R. (2021). Keep Garfagnina alive. An integrated study on patterns of homozygosity, genomic inbreeding, admixture and breed traceability of the Italian Garfagnina goat breed. *PLoS ONE* 16 (1): e0232436.
- Daly K.G., Maisano Delser P., Mullin V.E., Scheu A., Mattiangeli V., Teasdale M.D., Hare A.J., Burger J., Verdugo M.P., Collins M.J., Kehati R., Erek C.M., Bar-Oz G., Pompanon F., Cumer T., Çakırlar C., Mohaseb A.F., Decruyenaere D., Davoudi H.,

- Çevik Ö., Rollefson G., Vigne J.D., Khazaeli R., Fathi H., Doost S.B., Rahimi Sorkhani R., Vahdati A.A., Sauer E.W., Azizi Kharanaghi H., Maziar S., Gasparian B., Pinhasi R., Martin L., Orton D., Arbuckle B.S., Benecke N., Manica A., Horwitz L.K., Mashkour M., Bradley D.G. (2018). Ancient goat genomes reveal mosaic domestication in the Fertile Crescent. *Science* 361 (6397): 85-88.
- Daly K.G., Mattiangeli V., Hare A.J., Davoudi H., Fathi H., Doost S.B., Amiri S., Khazaeli R., Decruyenaere D., Nokandeh J., Richter T., Darabi H., Mortensen P., Pantos A., Yeomans L., Bangsgaard P., Mashkour M., Zeder M.A., Bradley D.G. (2021). Herded and hunted goat genomes from the dawn of domestication in the Zagros Mountains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118 (25): e2100901118.
- Darwin C. (1868). *The Variation of Animals and Plants Under Domestication*. John Murray, London.
- Decker J.E., McKay S.D., Rolf M.M., Kim J., Molina Alcalá A., Sonstegard T.S., Hanotte O., Götherström A., Seabury C.M., Prahani L., Babar M.E., de Almeida Regitano L.C., Yidiz M.A., Heaton M.P., Liu W.S., Lei C.Z., Reecy J.M., Saif-Ur-Rehman M., Schnabel R.D., Taylor J.F. (2014). Worldwide patterns of ancestry, divergence, and admixture in domesticated cattle. *PLoS Genetics* 10 (3): e1004254.
- Delaneau O., Marchini J., The 1000 Genomes Project Consortium. (2014). Integrating sequence and array data to create an improved 1000 Genomes Project haplotype reference panel. *Nature Communications* 5 (1): 3934.
- Deniskova T.E., Dotsev A.V., Selionova M.I., Reyer H., Sölkner J., Fornara M.S., Ali-Magomed M.A., Wimmers K., Brem G., Zinovieva N.A. (2021). SNP – Based Genotyping Provides Insight Into the West Asian Origin of Russian Local Goats. *Frontiers in Genetics* 12: 708740.
- Denoyelle L., Talouarn E., Bardou P., Colli L., Alberti A., Danchin C., Del Corvo M., Engelen S., Orvain C., Palhière I., Rupp R., Sarry J., Salavati M., Amills M., Clark E., Crepaldi P., Faraut T., Masiga C.W., Pompanon F., Rosen B.D., Stella A., van Tassell C.P., Tosser-Klopp G., The VarGoats Consortium. (2021). VarGoats project: a dataset of 1159 whole – genome sequences to dissect *Capra hircus* global diversity. *Genetic Selection Evolution* 53 (1): 86.
- Djokic M., Drzaic I., Shihabi M., Markovic B., Cubric-Curik V. (2023). Genomic Diversity Analyses of Some Indigenous Montenegrin Sheep Populations. *Diversity* 15: 640.
- Djurkin Kušec I., Bošković I., Zorc M., Gvozdanović K., Škorput D., Dovč P., Kušec G. (2020). Genomic Characterization of the Istrian Shorthaired Hound. *Animals (Basel)* 10 (11): 2013.

- Dobney K., Larson G. (2006): Genetics and animal domestication: New windows on an elusive process. *Journal of Zoology* 269 (2): 261-271.
- Doro M.G., Piras D., Leoni G.G., Casu G., Vaccargiu S., Parracciani D., Naitana S., Pirastu M., Novelletto A. (2014). Phylogeny and Patterns of Diversity of Goat mtDNA Haplogroup A Revealed by Resequencing Complete Mitogenomes. *PLoS ONE* 9 (4): e95969.
- Dowidar Y.A., El-Sayed M.A., Elrefy A.M., Shoura H.E. (2018). Detection of myostatin gene MSTN in some goat breeds (*Capra hircus*). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 16 (2): 507-512.
- Driscoll C.A., Macdonald D.W., O'Brien S.J. (2009). From wild animals to domestic pets, an evolutionary view of domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (1): 9971-9978.
- Drzaic I., Curik I., Novosel D., Cubric-Curik V. (2019). Maternal variability of Croatian Spotted goat (*Capra hirus*). *Czech Journal of Animal Science* 64 (6): 248-254.
- Drzaic I., Curik I., Lukic B., Shihabi M., Li M.H., Kantanen J., Mastrangelo S., Ciani E., Lenstra J.A., Cubric-Curik V. (2022). High-Density Genomic Characterization of Native Croatian Sheep Breeds. *Frontiers in Genetic* 13:940736.
- Drzaic I., Orehovački V., Moravčikova N., Shihabi M., Curik I., Vostrý L., Kasarda R., Sölkner J., Cubric-Curik V. (2024). Genomic characterization and diversity of indigenous goat breeds from Croatia. *Livestock Science* 279: 105388.
- Državni zavod za statistiku. (<https://podaci.dzs.hr/2022/hr/29390>; pristup: 15.4.2024.)
- Dubeuf J.P., Morand-Fehr P., Rubino R. (2004). Situation, changes and future of goat industry around the world. *Small Ruminant Research* 51 (2): 165-173.
- Durmaz A.A., Karaca E., Demkow U., Toruner G., Schoumans J., Cogulu O. (2015). Evolution of Genetic Techniques: Past, Present, and Beyond. *BioMed Research International* 2015: 461524.
- Eding H., Bennewitz J. (2007). Measuring genetic diversity in farm animals. U: *Utilisation and Conservation of Farm Animal Genetic Resources* (ur. Oldenbroek K.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands, str. 103-130.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study. *Molecular Ecology* 14 (8): 2611-2620.
- Excoffier L., Heckel G. (2006). Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. *Nature Reviews Genetics* 7 (10): 745-758.
- Fadhil M., Zülkadir U., Aytakin I. (2018). Genetic diversity in farm animals. *Elixir International Journal* 117: 50032-50037.

- Falconer D.S., Mackay T.F.C. (1996). Introduction to Quantitative Genetics, 4th Edition. Longmans Green, Harlow.
- Fang M., Andersson L. (2006). Mitochondrial diversity in European and Chinese pigs is consistent with population expansions that occurred prior to domestication. *Proceedings Biological Sciences* 273 (1595): 1803-1810.
- FAO (2007). The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. Commission on genetic resources for food and agriculture food and agriculture organization of the United Nations, Rome, Italy, str. 1-524.
- FAO (2013). In vivo conservation of animal genetic resources. In *FAO Animal Production and Health Guidelines N 14*. Rome, Italy.
- FAO (2022). Risk status of Local Breed by Region. (preuzeto s: <https://www.fao.org/dad-is/risk-status-of-animal-genetic-resources/en/>; 3.8.2022).
- Ferenčaković M., Sölkner J., Curik I. (2013). Estimating autozygosity from high – throughput information: effects of SNP density and genotyping errors. *Genetics Selection Evolution* 45 (1): 42.
- Ferenčaković M., Hamzić E., Gredler B., Solberg T.R., Klemetsdal G., Curik I., Sölkner J. (2013a). Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity: empirical evidence from selected cattle populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 130 (4): 286-293.
- Ferencakovic M., Curik I., Pérez-Pardal L., Royo L.J., Cubric-Curik V., Fernández I., Alvarez I., Kostelic A., Sprem N., Krapinec K., Goyache F. (2013b). Mitochondrial DNA and Y-chromosome diversity in East Adriatic sheep. *Animal genetic* 44 (2), 184-192.
- Fernandez H., Hughes S., Vigne J.D., Helmer D., Hodgins G., Miquel C., Hänni C., Luikart G., Taberlet P. (2006). Divergent mtDNA lineages of goats in an Early Neolithic site, far from the initial domestication areas. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (42): 15375-15379.
- Fischer M.C., Rellstab C., Leuzinger M., Roumet M., Gugerli F., Shimizu K.K., Holderegger R., Widmer A. (2017). Estimating genomic diversity and population differentiation – an empirical comparison of microsatellite and SNP variation in *Arabidopsis halleri*. *BioMed Central Genomics* 18 (1): 69.
- Fitak R.R. (2021). OptM: Estimating the optimal number of migration edges on population trees using Treemix. *Biology Methods and Protocols* 6 (1): bpab017.
- Forenbaher S., Miracle P.T. (2006). The spread of farming in the Eastern Adriatic. *Documenta Praehistorica*, 33: 89-100.
- Frankham R., Briscoe D.A., Ballau J.D. (2002). Introduction to Conservation Genetics. Cambridge: Cambridge University Press: Cambridge, UK:

- Frankham R., Ballou J.D., Briscoe D.A. (2010). Introduction to Conservation Genetics (2nd ed.). Cambridge: Cambridge University Press: Cambridge, UK:
- Frantz L.A.F., Schraiber J.G., Madsen O., Megens H.J.W.C., Cagan A., Bosse M., Paudel Y., Crooijmans R.P.M.A., Larson G., Groenen M.A.M. (2015). Evidence of long – term gene flow and selection during domestication from analyses of Eurasian wild and domestic pig genomes. *Nature Genetics* 47 (10): 1141-1148.
- Frazer K.A., Ballinger D.G., Cox D.R., Hinds D.A., Stuve L.L., Gibbs R.A., International HapMap Consortium. (2007). A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 449 (7164): 851-861.
- Frere C.H., Hale P.T., Porter L., Cockcroft V.G., Dalebout M.L. (2008). Phylogenetic analysis of mtDNA sequences suggests revision of humpback dolphin (*Sousa* spp.) taxonomy is needed. *Marine and Freshwater Research* 59 (3): 259-268.
- GABridge – Istraživački projekt: Premošćivanje disciplinarnog jaza: integracija animalne genetike i arheologije u Hrvatskoj. Kod projekta: IP-2022-10-8926. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
(preuzeto s: <https://angen.agr.hr/hr/group/110/O+projektu>; 30.3.2025.).
- Galton F. (1907). *Inquiries into Human Faculty and its development*. Dent & Dutton. London.
- Gautier M., Vitalis R. (2012). rehh: an R package to detect footprints of selection in genome – wide SNP data from haplotype structure. *Bioinformatics* 28 (8): 1176-1177.
- Gilbert K.J., Whitlock M.C. (2015). Evaluating methods for estimating local effective population size with and without migration. *Evolution* 69 (8): 2154-2166.
- Gilbert M., Nicolas G., Cinardi G., Van Boeckel T.P., Vanwambeke S.O., Wint W.G.R., Robinson T.P. (2018). Global distribution data for cattle, buffaloes, horses, sheep, goats, pigs, chickens and ducks in 2010. *Scientific data* 5: 180227.
- Gill P., Jeffreys A.J., Werrett D.J. (1985). Forensic application of DNA ‘fingerprints’. *Nature* 318 (6046): 577-579.
- Gill P. (2011). An assessment of the utility of single nucleotide polymorphisms (SNPs) for forensic purposes. *International Journal of Legal Medicine* 114 (4-5): 204-210.
- Gingerich P.D. (2006). Environment and evolution through the Paleocene-Eocene thermal maximum. *Trends in Ecology and Evolution* 21 (5): 246-243.
- Glowatzki-Mullis M.L., Muntwyler J., Bäumle E., Gaillard C. (2008). Genetic diversity measures of Swiss goat breeds as decision – making support for conservation policy. *Small Ruminant Research* 74 (1-3): 202-211.
- Gorbach D.M., Makgahlela M.L., Reecy J.M., Kemp S.J., Baltenweck I., Ouma R., Mwai O., Marshall K., Murdoch B., Moore S., Rothchild M.F. (2010). Use of SNP genotyping to determine pedigree and breed composition of dairy cattle in Kenya. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 127 (5): 348-351.

- Gorlov I.F., Shirokova N.V., Randelin A.V., Voronkova V.N., Mosolova N.I., Zlobina E.Y., Kolosov Y.A., Bakoev N. F., Leonova M.A., Bakoev S.Y., Kolosov A.Y., Getmantseva L.V. (2016). CAST / MspI gene polymorphism and its impact on growth traits of Soviet Merino and Salsk sheep breeds in the South European part of Russia. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 40 (4): 399-405.
- Götherström A., Anderung C., Hellborg L., Elburg R., Smith C., Bradley D.G., Ellegren H. (2005). Cattle domestication in the Near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. *Proceedings of the Royal Society* 272: 2345-2350.
- Grasso A.N., Goldberg V., Navajas E.A., Iriarte W., Gimeno D., Aguilar I., Medrano J. F., Rincón G., Ciappesoni G. (2014). Genomic variation and population structure detected by single nucleotide polymorphism arrays in Corriedale, Merino and Creole sheep. *Genetics and Molecular Biology* 37 (2): 389-395.
- Groenen M.A., Megens H.J., Zare Y., Warren W.C., Hillier L.W., Crooijmans R.P.M.A., Vereijken A., Okimoto R., Muir W.M., Cheng H.H. (2011). The development and characterization of a 60K SNP chip for chicken. *BioMed Central Genomics* 12: 274.
- Groeneveld L.F., Lenstra J.A., Eding H., Toro M.A., Scherf B., Pilling D., Negrini R., Finlay E.K., Jianlin H., Groeneveld E., Weigend S., Globaldiv Consortium. (2010). Genetic diversity in farm animals - review. *Animal Genetics* 41 (1): 6-31.
- Grubb P. (2005). Order Perissodactyla. U: *Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference* (ur. Wilson D.E. i Reeder D.M.). Johns Hopkins University Press, Baltimore, United State of America, str. 637-722.
- Guan D., Martínez A., Luigi-Sierra M.G., Delgado J.V., Landi V., Castelló A., Fernández Álvarez J., Such X., Jordana J., Amills M. (2021). Detecting the footprint of selection on the genomes of Murciano-Granadina goats. *Animal Genetic* 52 (5): 683-693.
- Guilaine J. (2003). De la vague à la tombe. La conquête néolithique de la Méditerranée (8000 – 2000 avant J.C.). *Bulletin de la Société préhistorique française* 100 (4): 818-822.
- Guo J., Zhong J., Liu G.E., Yang L., Li L., Chen G., Song T., Zhang H. (2020). Identification and population genetic analyses of copy number variations in six domestic breeds and Bezoar ibexes using next - generation sequencing. *BioMed Central Genomics* 21 (1): e840.
- Gurgul A., Rubis D., Zabek T., Zukowski K., Pawlina K., Semik E., Bugno-Poniewierska M. (2013). The evaluation of the usefulness of pedigree verification - dedicated SNPs for breed assignment in three Polish cattle populations. *Molecular Biology Reports* 40 (12): 6803-6809.

- Gutiérrez J.P., Altarriba J., Diaz C., Quaintanilla R., Canón J., Piedrafita J. (2003). Pedigree analysis of eight Spanish beef cattle breeds. *Genetic Selection Evolution* 35 (1): 43-63.
- Haas R.J., Payseur B.A. (2011). Multi-locus inference of population structure: a comparison between single nucleotide polymorphisms and microsatellites. *Heredity* 106 (1): 158-171.
- Hale M.L., Burg T.M., Steeves T.E. (2012). Sampling for Microsatellite – Based Population Genetic Studies: 25 to 30 Individuals per Population Is Enough to Accurately Estimate Allele Frequencies. *PLoS ONE* 7 (9): e45170.
- Hall J.G.S. (2016). Effective population sizes in cattle, sheep, horses, pigs and goats estimated from census and herdbook data. *Animal* 10 (11): 1778-1785.
- Hall J.G.S. (2022). Genetic Differentiation among Livestock Breeds-Values for F_{st} . *Animals (Basel)* 12 (9):1115.
- Holden T. (1963). Die Klassifikation der Säugetiere: Artiodactyla. *Handbuch der Zoologie. Eine Naturgeschichte der Stämme des Tierreiches*. G. Fischer Verlag, Berlin.
- Hanotte O., Bradley D.G., Ochieng J.W., Verjee Y., Hill E.W., Rege J.E.O. (2002). African Pastoralism: Genetic Imprints of Origins And Migrations. *Science* 296 (5566): 336-339.
- Hanotte O., Dessie T., Kemp S. (2010). Time to Tap Africa's Livestock Genomes. *Science* 328 (5986): 1640-1641.
- Hansen K.M. (1973). Q-band karyotype of the goat (*Capra hircus*) and the relation between goat and bovine Q-bands. *Hereditas* 75 (1): 119-130.
- Hey J., Machado C.A. (2003). The study of structured populations – new hope for a difficult and divided science. *Nature Reviews. Genetics* 4 (7): 535-543.
- Hayes B.J., Visscher P.M., McPartlan H.C., Goddard M.E. (2003). Novel multilocus measure of linkage disequilibrium to estimate past effective population size. *Genome Research* 13 (4): 635-643.
- Helmer D. (1992): La domestication des animaux par l'homme pré-historique. Masson, Paris.
- Hiendler S., Lewalski H., Wassmuth R., Janke A. (1998). The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype. *Journal of Molecular Evolution* 47 (4): 441-448.
- Hoda A. (2011). Genetic diversity of the Capore goat in Albania based on 30 microsatellite markers. *Macedonian Journal of Animal Science* 1 (1): 53-56.
- Hoda A., Bicoku Y., Dobi P. (2014). Genetic diversity of Albanian goat breeds revealed by mtDNA sequence variation. *Biotechnology, Biotechnological Equipment* 28 (1): 77-81.

- Hoffman J.I., Simpson F., David P., Rijks J.M., Kuiken T., Thorne M.A.S., Lacy R.C., Dasmahapatra K.K. (2014). High-throughput sequencing reveals inbreeding depression in a natural population. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 111 (10): 3775-3780.
- Horwitz L.K., Tchernov E., Ducos P., Becker C., Von den Driesch A., Martin L., Garrard A. (1999): Animal Domestication in the southern Levant. *Paléorient* 25 (2): 63-80.
- Howard J.T., Maltecca C., Haile-Mariam M., Hayes B.J., Pryce J.E. (2015). Characterizing homozygosity across United States, New Zealand and Australian Jersey cow and bull populations. *BioMed Central Genomics* 16 (1): 187.
- Howrigan D.P., Simonson M.A., Keller M.C. (2011). Detecting autozygosity through runs of homozygosity: A comparison of three autozygosity detection algorithms. *BioMed Central Genomics* 12 (1): 460.
- Hughes J.F., Skaletsky H., Koutseva N., Pyntikova T., Page D.C. (2015). Sex chromosome-to-autosome transposition events counter Y-chromosome gene loss in mammals. *Genome biology* 16 (1): 104.
- Husemann M., Zachos F.E., Paxton R.J., Habel J.C. (2016). Effective population size in ecology and evolution. *Heredity* 117 (4): 191-192.
- Huson D. H., Bryant D. (2006). Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* 23 (2): 254-267.
- Iamartino D., Bruzzone A., Lanza A., Blasi M., Pilla F. (2005). Genetic diversity of Southern Italian goat populations assessed by microsatellite markers. *Small Ruminant Research* 57 (2-3): 249-255.
- Ilie D.E., Cean A., Csiszter L.T., Gavojdian D., Ivan A., Kusza S. (2015). Microsatellite and Mitochondrial DNA Study of Native Eastern European Cattle Populations: The Case of the Romanian Grey. *PLoS ONE* 10 (9): e0138736.
- Illumina Inc. (2005). Illumina GenCall Data Analysis Software. GenCall software algorithms for clustering, calling, and scoring genotypes. Illumina Inc., San Diego, CA, USA.
- Islam R., Li Y., Liu X., Berihulay H., Abied A., Gebreselassie G., Ma Q., Ma Y. (2019). Genome – Wide Runs of Homozygosity, Effective Population Size, and Detection of Positive Selection Signatures in Six Chinese Goat Breeds. *Genes* 10 (11): 938.
- Islam R., Liu Z., Li Y., Jiang L., Ma Y. (2020). Conservation Assessment of the state Goat Farms by Using SNP Genotyping Data. *Genes* 11 (6): 652.
- Jandurová O.M., Kott T., Kottová B., Czerneková V. (2004). Seven microsatellite markers useful for determining genetic variability in White and Brown Short-Haired goat breeds. *Small Ruminant Research* 52 (3): 271-274.

- Janeš M., Brajkovic V., Drzaic I., Zoc M., Dovč P., Cubric-Curik V. (2019). Mitochondrial variability of Small Međimurje dog. *Agriculture Conspectus Scientificus* 81 (2): 203-209.
- Janeš M. (2020). Genetska varijabilnost kraškog ovčara, tornjaka, šarplaninca i tibetskog terijera. Doktorska disertacija. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- Janeš M., Zorc M., Ferencaković M., Curik I., Dovč P., Cubric-Curik V. (2021). Genomic Characterization of the Tree Balkan Livestock Guardian Dogs. *Sustainability* 13 (4): 2289.
- Jeffreys A.J., Wilson V., Thein S.L. (1985). Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. *Nature* 314 (6006): 67-73.
- Jeffries D.L., Copp G.H., Lawson Handley L., Olsén K.H., Sayer C.D., Hänfling B. (2016). Comparing RADseq and microsatellites to infer complex phylogeographic patterns, an empirical perspective in the Crucian carp, *Carassius carassius*, L. *Molecular Ecology* 25 (13): 2997-3018.
- Katalinić I., Dominiković Z., Dragojlov D., Jovanović-Bunta V., Ljubić Ž. (1994). Kozarska proizvodnja pod uzgojno-seleksijskom kontrolom na obiteljskim farmama u Hrvatskoj. *Mljekarstvo* 44 (1): 59-68.
- Kawecka A., Gurgul A., Miksza-Cybulska A. (2016). The Use of SNP Microarrays for Biodiversity Studies of Sheep - A Review. *Annals of Animal Science* 16 (4): 975-987.
- Keller M.C., Visscher P.M., Goddard M.E. (2011). Quantification of Inbreeding Due to Distant Ancestors and Its Detection Using Dense Single Nucleotide Polymorphism Data. *Genetics* 189 (1): 237-249.
- Kerem B.S., Rommens J.M., Buchanan J.A., Markiewicz D., Cox T.K., Chakravarti A., Buchwald M., Tsui L.C. (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 245 (4922): 1073-1080.
- Kijas J.W., Townley D., Dalrymple B.P., Heaton M.P., Maddox J.F., McGrath A., Wilson P., Ingersoll R.G., McCulloch R., McWilliam S., Tang D., McEwan J., Cockett N., Oddy V.H., Nicholas F.W., Raadsma H., International Sheep Genomics Consortium. (2009). A Genome Wide Survey of SNP Variation Reveals the Genetic Structure Of Sheep Breeds. *PloS ONE* 4 (3): e4668.
- Kijas J.W., Lenstra J.A., Hayes B., Boitard S., Porto Neto L.R., San Cristobal M., Servin B., McCulloch R., Whan V., Gietzen K., Paiva S., Barendse W., Ciani E., Raadsma H., McEwan J., Dalrymple B., International Sheep Genomics Consortium Members. (2012). Genome - wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biology* 10 (2): e1001258.

- Kijas J.W., Ortiz J.S., McCulloch R., James A., Brice B., Swain B., Tosser-Klopp G. (2013). Genetic diversity and investigation of polledness in divergent goat populations using 52 088 SNPs. *Animal Genetics* 44 (3): 325-335.
- Kim E.-S., Cole J.B., Huson H., Wiggans G. R., van Tassell C.P., Crooker B.A., Liu G., Da Y., Sonstegard T.S. (2013). Effect of artificial selection on runs of homozygosity in U.S. Holstein cattle. *PLoS ONE* 8 (11): e80813.
- Kim E.S., Elbeltagy A.R., Aboul - Naga A.M., Rischkowsky B., Sayre B., Mwacharo J.M., Rothschild M.F. (2016). Multiple genomic signatures of selection in goats and sheep indigenous to a hot arid environment. *Heredity* 116 (3): 255-264.
- Kingston S.E., Parchman T.L., Gompert Z., Buerkle C.A., Braun M.J. (2016). Heterogeneity and concordance in locus – specific differentiation and introgression between species of towhees. *Journal of Evolutionary Biology* 30 (3): 474-485.
- Kirin M., McQuillan R., Franklin C.S., Campbell H., McKeigue P.M., Wilson J.F. (2010). Genomic runs of homozygosity record population history and consanguinity. *PLoS ONE* 5 (11): e13996.
- Kolosov Y., Getmantseva L., Shirockova N. (2013). Sheep Breeding Resources in Rostov Region, Russia. *World Applied Science Journal* 23 (10): 1322-1324.
- Krallinger H.F. (1931). Cytologische studien an einigen haussäugetieren. *Archiv Tierernährung und Tierzucht* 5: 127-187.
- Labate J.A. (2000). Software for Population Genetic Analyses of Molecular Marker Data. *Crop Science* 40 (6): 1521-1528.
- Lao O., van Duijn K., Kersbergen P., de Knijff P., Kayser M. (2006). Proportioning Whole - Genome Single-Nucleotide-Polymorphism Diversity for the Identification of Geographic Population Structure and Genetic Ancestry. *The American Journal of Human Genetics* 78 (4): 680-690.
- Larson G., Dobney K., Albarella U., Fang M., Matisoo-Smith E., Robins J., Lowden S., Finlayson H., Brand T., Willerslev E., Rowley-Conwy P., Andersson L., Cooper A. (2005). Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication. *Science* 307 (5715): 1618-1621.
- Larson G., Albarella U., Dobney K., Rowley-Conwy P., Schibler J., Tresset A., Vigne J. D., Edwards C.J., Schlumbaum A., Dinu A., Balaşescu A., Dolman G., Tagliacozzo A., Manaseryan N., Miracle P., van Wijngaarden-Bakker L., Masseti M., Bradley D.G., Cooper, A. (2007). Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (39): 15276-15281.
- Larson G., Burger J. (2013). A population genetics view of animal domestication. *Trends in Genetics* 29 (4): 197-205.

- Larson G., Fuller D.Q. (2014): The evolution of animal domestication. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 66 (1): 115-136.
- Legge A.J. (1996). The beginning of caprine domestication in Southwest Asia. U: *The Origins and Spread of Agriculture and Pastoralism in Eurasia* (ur. Harris D.R.), University College London Press, London, United Kingdom, str. 238-262.
- Lenstra J.A., Econogene Consortium. (2005). Evolutionary and demographic history of sheep and goats suggested by nuclear, mtDNA and Y-chromosome markers. *Proceedings of the International Workshop: The role of biotechnology for the characterization of crop, forestry, animal and fishery genetic resources*. Turin, Italy, 5. - 7. 3. 2005.
- Lenstra J.A., Groeneveld L.F., Eding H., Kantanen J., Williams J.L., Taberlet P., Nicolazzi E.L., Sölkner J., Simianer H., Ciani E., Garcia J.F., Bruford M.W., Ajmone-Marsan P., Weigend S. (2012). Molecular tools and analytical approaches for the characterization of farm animal genetic diversity. *Animal Genetics* 43 (5): 483-502.
- Lenstra J. (2015). Origin and history of livestock diversity. U: *Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture* (ur. Scherf B.D., Pilling D.). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, str. 5-16.
- Lenstra J.A., Tigchelaar J., Biebach I., Econogene Consortium, Hallsson J.H., Kantanen J., Nielsen V.H., Pompanon F., Naderi S., Rezaei H.R., Saeher N., Ertugrul O., Grossen C., Camenisch G., Vos-Loohuis M., van Straten M., de Poel E.A., Windig J., Oldenbroek K. (2017). Microsatellite diversity of the Nordic type of goats in relation to breed conservation: How relevant is pure ancestry? *Journal of Animal Breeding and Genetics* 134 (1): 78-84.
- Leroy G., Carroll E.L., Bruford M.W., DeWoody A., Strand A., Waits L., Wang J. (2017). Next - generation metrics for monitoring genetic erosion within populations of conservation concern. *Evolutionary Applications* 11 (7): 1066-1083.
- Li G., Tang J., Huang J., Jiang Y., Fan Y., Wang X., Ren J. (2022). Genome – Wide Estimates of Runs of Homozygosity, Heterozygosity, and Genetic Load in Two Chinese Indigenous Goat Breeds. *Frontiers in Genetics* 13: 774196.
- Li K.Y., Li K.T., Cheng C.C., Chen C.H., Hung C.Y., Ju Y.T. (2014). A genetic analysis of Taoyuan pig and its phylogenetic relationship to Eurasian pig breeds. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 28 (4): 457-466.
- Li Y.L., Liu J.X. (2018). StructureSelector: A web – based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources* 18 (1): 176-177.

- Lim H.C., Braun M.J. (2016). High-throughput SNP genotyping of historical and modern samples of five bird species via sequence capture of ultraconserved elements. *Molecular Ecology Resources* 16 (5): 1204-1223.
- Lin C.S., Sun Y.L., Liu C.Y., Yang P.C., Chang L.C., Cheng I.C., Mao S.J.T., Huang M.C. (1999). Complete nucleotide sequence of pig (*Sus scrofa*) mitochondrial genome and dating evolutionary divergence within Artiodactyla. *Gene* 236 (1): 107-114.
- Liu S., Sun L., Li Y., Sun F., Jiang Y., Zhang Y., Zhang J., Kaltenboeck L., Kucuktas H., Liu Z. (2014). Development of the catfish 250K SNP array for genome – wide association studies. *BioMed Research Notes* 7: 135.
- Liu S., Su J., Yang Q., Sun M., Wang Z., Yu J., Jafari H., Lei C., Sun Y., Dang R. (2024). Genome-wide analyses based on a novel donkey 40K liquid chip reveal the gene responsible for coat color diversity in Chinese Dezhou donkey. *Animal genetics* 55 (1): 140-146.
- Lopez M.E., Neira R., Yáñez J.M. (2015). Applications in the search for genomic selection signatures in fish. *Frontiers in Genetics* 5: 458.
- Luigi-Sierra M.G., Fernández A., Martínez A., Guan D., Delgado J.V., Álvarez J.F., Landi V., Such F.X., Jordana J., Saura M., Amills M. (2022). Genomic patterns of homozygosity and inbreeding depression in Murciano-Granadina goats. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 13 (1): 35.
- Luikart G., Gielly L., Excoffier L., Vigne J.D., Bouvet J., Taberlet P. (2001). Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (10): 5927-5932.
- Luikart G., Ryman N., Tallmon D.A., Schwartz M.K., Allendorf F.W. (2010). Estimation of census and effective population sizes: The increasing usefulness of DNA – based approaches. *Conservation Genetics* 11 (2): 355-373.
- Lukić B., Ferenčaković M., Šalamon D., Čačić M., Orehovački V., Iacolina L., Curik I., Cubric-Curik V. (2020). Conservation Genomic Analysis of the Croatian Indigenous Black Slavonian and Turopolje Pig Breeds. *Frontiers in Genetics* 11: 261.
- Lukic B., Curik I., Drzaic I., Galić V., Shihabi M., Vostry L, Cubric-Curik V. (2023). Genomic signatures of selection, local adaptation and production type characterisation of East Adriatic sheep breeds. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 14 (1): 142.
- Mace G.M., Purvis A. (2008). Evolutionary biology and practical conservation: bridging a widening gap. *Molecular Ecology* 17 (1): 9-19.
- MacHugh D.E., Larson G., Orlando L. (2017). Taming the Past: Ancient DNA and the Study of Animal Domestication. *Annual Review of Animal Biosciences* 5 (1): 329-351.

- Makina S.O., Muchadeyi F.C., van Marle-Köster E, MacNeil M.D., Maiwashe A. (2014). Genetic diversity and population structure among six cattle breeds in South Africa using a whole genome SNP panel. *Frontiers in Genetics* 5: 333.
- Manceau V., Despres L., Bouvet J., Taberlet P. (1999). Systematics of the genus *Capra* inferred from mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13 (3): 504-510.
- Manichaikul A., Mychaleckyj J.C., Rich S.S., Daly K., Sale M., Chen W.M. (2010). Robust relationship inference in genome – wide association studies. *Bioinformatics* 26 (22): 2867-2873.
- Manunza A., Noce A., Serradilla J.M., Goyache F., Martínez A., Capote J., Delgado J.V., Jordana J., Muñoz E., Molina A., Landi V., Pons A., Balteanu V., Traoré A., Vidilla M., Sánchez-Rodríguez M., Sánchez A., Cardoso T.F., Amills M. (2016). A genome – wide perspective about the diversity and demographic history of seven Spanish goat breeds. *Genetics Selection Evolution* 48 (1): 52.
- Manunza A., Ramirez Diaz J., Sayre B.L., Cozzi P., Bobbo T., Deniskova T., Dotsev A., Zinovieva N., Stella A. (2023). Discovering novel clues of natural selection on four worldwide goat breeds. *Scientific Reports* 13 (1): 2110.
- Manunza A., Cozzi P., Boettcher P., Curik I., Looft C., Colli L., Sölkne J., Mészáros G., Stella A. Estimating the optimal number of samples to determine the effective population size in livestock. *Frontiers in Genetics* 16: 1588986.
- Marandel F., Charrier G., Lamy J.B., Le Cam S., Lorange P., Trenkel V.M. (2020). Estimating effective population size using RADseq: Effects of SNP selection and sample size. *Ecology and Evolution* 10 (4): 1929-1937.
- Martínez A., Ferrando A., Manunza A., Gómez M., Landi V., Jordana J., Capote J., Badaoui B., Vidal O., Delgado J.V., Amills, M. (2012). Inferring the demographic history of a highly endangered goat breed through the analysis of nuclear and mitochondrial genetic signatures. *Small Ruminant Research* 104 (1-3): 78-84.
- Mastrangelo S., Tolone M., Di Gerlando R., Fontanesi L., Sardina M.T., Portolano B. (2016). Genomic inbreeding estimation in small populations: evaluation of runs of homozygosity in three local dairy cattle breeds. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience* 10 (5): 746-754.
- Mastrangelo S., Portolano B., Di Gerlando R., Ciampolini R., Tolone M., Sardina M.T., The International Sheep Genomics Consortium. (2017). Genome – wide analysis in endangered populations: A case study in Barbaresca sheep. *Animals* 11 (7): 1107-1116.

- Mattucci F., Galaverni M., Lyons L.A., Alves P.C., Randi E., Velli E., Pagani L., Caniglia R. (2019). Genomic approaches to identify hybrids and estimate admixture times in European wildcat populations. *Scientific Reports* 9 (1): 11612.
- Matukumalli L.K., Lawley C.T., Schnabel R.D., Taylor J.F., Mark F. Allan M.F., Heaton M.P., O'Connell J., Moore S.S., Smith T.P.L., Sonstegard T.S., Van Tassell C.P. (2009). Development and Characterization of a High Density SNP Genotyping Assay for Cattle. *PLoS ONE* 4 (4): e5350.
- McCue M.E., Bannasch D.L., Petersen J.L., Gurr J., Bailey E., Binns M.M., Distl O., Guérin G., Hasegawa T., Hill E. W., Leeb T., Lindgren G., Penedo M.C.T., Røed K.H., Ryder O.A., Swiburne J.E., Tozaki T., Valberg J., Vaudin M., Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mickelson J.R. (2012). A High Density SNP Array for the Domestic Horse and Extant Perissodactyla: Utility for Association Mapping, Genetic Diversity, and Phylogeny Studies. *PLoS Genet* 8(1): e1002451.
- McClure S.B., Podrug E., Moore A.M.T., Culleton B.J., Kennett D.J. (2014). AMS ¹⁴C Chronology and ceramic sequences of early farmers in the eastern Adriatic. *Radiocarbon* 56 (3): 1019-1038.
- McClure S.B., Podrug E., Jović J., Monroe S., Radde H.D., Triozzi N., Welker M.H., Zavodny E. (2022). The Zooarchaeology of Neolithic farmers: Herding and hunting on the Dalmatian coast of Croatia. *Quaternary International* 634: 27-37.
- McTavish E.J., Decker J.E., Schnabel R.D., Taylor J.F., Hillis D.M. (2013). New World cattle show ancestry from multiple independent domestication events. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (15): 1398-1406.
- McQuillan R., Leutenegger A.L., Abdel - Rahman R., Franklin C.S., Pericic M., Barac-Lauc L., Smolej-Narancic N., Janicijevic B., Polasek O., Tenesa A., MacLeod A.K., Farrington S.M., Rudan P., Hayward C., Vitart V., Rudan I., Wild S.H., Dunlop M.G., Wright A.F., Campbell H., Wilson J.F. (2008). Runs of Homozygosity in European Populations. *American Journal of Human Genetics* 83 (3): 359-372.
- Meadows J.R.S., Hanotte O., Drögemüller C., Calvo J., Godfrey R., Coltman D., Maddox J.F., Marzanov N., Kantanen J., Kijas J.W. (2006). Globally dispersed Y chromosomal haplotypes in wild and domestic sheep. *Animal Genetics*, 37 (5): 444-453.
- Mészáros G., Boison S.A., Pérez O'Brien A.M., Ferenčaković M., Curik I., Da Silva M.V., Utsunomiya Y.T., Garcia J.F., Sölkner J. (2015). Genomic Analysis for Managing Small and Endangered Populations: a Case Study in Tyrol Grey Cattle. *Frontiers in Genetics* 6: 173.
- Meutchieye, F., Ema-Ngono P., Djikeng A., Omeih S., Manjeli Y. (2015). Cameroon native goat populations' genetic diversity and maternal origin assessed by D-loop mtDNA polymorphisms. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa* 63 (4): 255-260.

- Meuwissen T.H., Goddard M.E. (2007). Multipoint identity-by-descent prediction using dense markers to map quantitative trait loci and estimate effective population size. *Genetics* 176 (4): 2551-2560.
- Meuwissen T. (2009). Genetic management of small populations: A review. *Acta Agriculturae Scandinavica* 59 (2): 71-79.
- Michailidou S., Tsangaris G.T., Tzora A., Skoufos I., Banos G., Argiriou A., Arsenos G. (2019). Analysis of genome – wide DNA arrays reveals the genomic population structure and diversity in autochthonous Greek goat breeds. *PLoS ONE* 14 (12): e0226179.
- Mijadžiković Z. (2024). Genomska introgresija u hrvatskim pasminama goveda. Diplomski rad. Agronomski fakultet Sveučilište u Zagrebu.
- Ministarstvo poljoprivrede. (2023). Odluka o popisu izvornih i ugroženih pasmina domaćih životinja. Republika Hrvatska. (preuzeto s: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2023_09_111_1589.html; 24.11.2023.)
- Miller B.A., Lu C.D. (2019). Current status of global dairy goat production: an overview. *Asian-Australas Journal of Animal Science* 32 (8): 1219-1232.
- Miracle P.T., Forenbaher S. (2005). Neolithic and Bronze-Age Herders of Pupčina Cave, Croatia. *Journal of Field Archaeology* 30 (3): 255-281.
- Miracle, P., Pugsley, L. (2006). Vertebrate faunal remains from Pupčina Cave U: Prehistoric herders of northern Istria: the archaeology of Pupčina Cave (ur. Miracle, P., Forenbaher, S.), *Arheološki Muzej Istre, Pula*, str. 259–400.
- Mitchell M. (1998). An introduction to genetic algorithms. MIT Press., London.
- Monteiro A., Costa J.M., Lima M.J. (2018). Goat system Productions: Advantages and Disadvantages to the Animal, Environment and Farmer. U: *Goat Science* (ur. Kukovics S.). IntechOpen, London, United Kingdom, str. 351-366.
- Mollah M.B.R., Khan M.G.Q., Islam M.S., Alam M.S. (2019). First draft genome assembly and identification of SNPs from hilsa shad (*Tenualosa ilisha*) of the Bay of Bengal. *F1000 Research* 8: 320.
- Mukhina V., Svishcheva G., Voronkova V., Stopovsky Y., Piskunov A. (2022). Genetic Diversity, Population Structure and Phylogeny of Indigenous Goats of Mongolia Revealed by SNP Genotyping. *Aminals* 12 (3): 221.
- Naderi S., Rezaei H.R., Taberlet P., Zundel S., Rafat S.A., Naghash H.R., el-Barody M.A.A., Ertugrul O., Pompanon F., Econogene Consortium. (2007). Large – Scale Mitochondrial DNA Analysis of the Domestic Goat Reveals Six Haplogroups with High Diversity. *PloS ONE* 2 (10): e1012.
- Naderi S., Rezaei H.R., Pompanon F., Blum M.G., Negrini R., Naghash H.R., Balkiz O., Mashkour M., Gaggiotti O.E., Ajmone-Marsan P., Kence A., Vigne J.D., Taberlet P.

- (2008). The goat domestication process inferred from large – Scale mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (46): 17659-17664.
- Negrini R., D'Andrea M., Crepaldi P., Colli L., Nicoloso L., Guastella A.M., Sechi T., Bordonaro S., Ajmone-Marsan P., Pilla F., Econogene Consortium. (2012). Effect of microsatellite outliers on the genetic structure of eight Italian goat breeds. *Small Ruminant Research* 103 (2-3): 99-107.
- Nei M. (1972). Genetic Distance between populations. *American Naturalist* 106 (949): 283-292.
- Nei M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals. *Genetics* 89 (3): 583-590.
- Nicoloso L., Bomba L., Colli L., Negrini R., Milanese M., Mazza R., Sechi T., Frattini S., Talenti A., Coizet B., Chessa S., Marletta D., D'Andrea M., Bordonaro S., Ptak G., Carta A., Pagnacco G., Valentini A., Pilla F., Ajmone-Marsan P., Crepaldi P., Italian Goat Consortium (2015). Genetic diversity of Italian goat breeds assessed with a medium-density SNP chip. *Genetics Selection Evolution* 47 (1): 62.
- Nielsen R., Hellmann I., Hubisz M., Bustamante C., Clark A.G. (2007). Recent and ongoing selection in the human genome. *Nature Reviews Genetics* 8 (11): 857-868.
- Nomura K., Yonezawa T., Mano S., Kawakami S., Shedlock A.M., Hasegawa M., Amano T. (2013). Domestication process of the Goat Revealed by an Analysis of the Nearly Complete Mitochondrial Protein – Encoding Genes. *PloS ONE* 8 (8): e6775.
- Nothnagel M., Lu T.T., Kayser M., Krawczak M. (2010). Genomic and geographic distribution of SNP – defined runs of homozygosity in Europeans. *Human molecular genetics* 19 (15): 2927-2935.
- Novak V. (1970): Živinoreja. U: *Gospodarska in družbena zgodovina Slovencev* (ur. Blaznik P., Grafenauer B., Vilfran S.), Zgodovina agrarnih panog, Ljubljana, Slovenia, str. 343-394.
- Novo I., Santiago E., Caballero A. (2022). The estimates of effective population size based on linkage disequilibrium are virtually unaffected by natural selection. *PLoS Genetics* 18 (1): e1009764.
- Nozawa K. (1991). Domestication and history of goats. U: *Genetic Resources of Pig, Sheep and Goat* (ur. Majjala K.), Elsevier, Amsterdam, Netherlands, str. 391-403.
- Nunney L., Elam D.R. (1994). Estimating the effective population size of conserved populations. *Conservation biology* 8 (1): 175-184.
- Nussberger B., Greminger M.P., Grossen C., Keller L. F., Wandeler P. (2013). Development of SNP markers identifying European wildcats, domestic cats, and their admixed progeny. *Molecular Ecology Resources* 13 (3): 447-460.

- Oget C., Servin B., Palhière (2018). Genetic diversity analysis of French goat populations reveals selective sweeps involved in their differentiation. *Animal Genetics* 50 (1): 54-63.
- Oliveira R., Randi E., Mattucci F., Kurushima J.D., Lyons L.A., Alves P.C. (2015). Toward a genome – wide approach for detecting hybrids: informative SNPs to detect introgression between domestic cats and European wildcats (*Felis silvestris*). *Heredity* 115: 195-205.
- Ožanić S. (1955). Poljoprivreda Dalmacije u prošlosti: prilozi za povijest poljoprivrede Dalmacije. Društvo agronoma NRH, Split.
- Paim T.d.P., Faria D.A., Hay E.H., McManus C., Lanari M.R., Chaverri Esquivel L., Cascante M.I., Alfaro E.J., Mendez A., Faco O., de Morales Silva K., Mezzadra C.A., Mariante A., Rezende Paiva S., Blackburn H.D. (2019). New world goat populations are a genetically diverse reservoir for future use. *Scientific Reports* 9 (1): e1476.
- Pakpahan S., Tunas Artama W., Widayanti R., Suparta I.G. (2015). Genetic Variations and the Origin of Native Indonesian Goat Breeds based on mtDNA D-loop Sequences. *Asian Journal of Animal Sciences* 9 (6): 341-350.
- Pariset L., Cuteri A., Ligda C., Ajmone-Marsan P., Valentini A., Econogene Consortium. (2009). Geographical patterning of sixteen goat breeds from Italy, Albania and Greece assessed by Single Nucleotide Polymorphisms. *BioMed Central Ecology* 9 (1): 20.
- Parma P., Feligini M., Greppi G.F., Enne G. (2003). The complete nucleotide sequence of goat (*Capra hircus*) mitochondrial genome. *Goat mitochondrial Genome. DNA sequence: the Journal of DNA Sequencing and Mapping* 14 (3): 199-203.
- Paschou P., Ziv E., Burchard E.G., Choudhry S., Rodriguez-Cintron W., Mahoney M.W., Drineas P. (2007). PCA – Correlated SNPs for Structure Identification in Worldwide Human Populations. *PLoS Genetics* 3 (9): 1672-1686.
- Passamonti M.M., Somenzi E., Barbato M., Chillemi G., Colli L., Joost S., Milanesi M., Negrini R., Santini M., Vajana E., Williams J.L., Ajmone-Marsan P. (2021). The Quest for Genes Involved in Adaptation to Climate Change in Ruminant Livestock. *Animals (Basel)* 11 (10): 2833.
- Pedrosa S., Uzun M., Arranz J.J., Gutiérrez-Gil B., San Primitivo F., Bayón Y. (2005). Evidence of three maternal lineages in Near Eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proceedings. Biological Sciences* 272 (1557): 2211-2217.
- Pegolo S., Bisutti V., Mota L.F.M., Cecchinato A., Amalfitano N., Dettori M.L., Pazzola M., Vacca G.M., Bittante G. (2025). Genome-wide landscape of genetic diversity, runs of homozygosity, and runs of heterozygosity in five Alpine and Mediterranean goat breeds. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 16 (1): 33.

- Pellecchia M., Negrini R., Colli L., Patrini M., Milanese E., Achilli A., Bertorelle G., Cavalli-Sforza L.L., Piazza A., Torroni A., Ajmone-Marsan P. (2007). The mystery of Etruscan origins: novel clues from *Bos taurus* mitochondrial DNA. *Proceedings. Biological Sciences* 274 (1614): 1175-1179.
- Pemberton T.J., Absher D., Feldman M.W., Myers R.M., Rosenberg N.A., Li J.Z. (2012). Genomic Patterns of Homozygosity in Worldwide Human Populations. *The American Journal of Human Genetics* 91 (2): 275-292.
- Pembleton L., Cogan N., Forster J. (2013). StAMPP: an R package for calculation of genetic differentiation and structure of mixed-ploidy level populations. *Molecular Ecology Resources* 13 (5): 946-952.
- Pereira F., Carneiro J., Soares P., Maciel S., Nejmeddine F., Lenstra J.A., Gusmão L., Amorim A. (2008). A multiplex primer extension assay for the rapid identification of paternal lineages in domestic goat (*Capra hircus*): Laying the foundations for a detailed caprine Y chromosome phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49 (2): 663-668.
- Pereira F., Amorim A. (2010). Origin and spread of goat pastoralism. U: *Encyclopaedia of Life Sciences*. John Wiley and sons. Chichester, United Kingdom.
- Peripolli E., Munari D.P., Silva M., Lima A., Irgang R., Baldi F. (2017). Runs of homozygosity: current knowledge and applications in livestock. *Animal Genetics* 48 (3): 255–271.
- Peters J., von den Driesch A., Helmer D., Sana-Segui M. (1999). Early Animal Husbandry in The Northern Levant. *Paléorient* 25 (2): 27-48.
- Petersen J.L., Mickelson J.R., Cothran E.G., Andersson L.S., Axelsson J., Bailey E., Bannasch D., Binns M.M., Borges A.S., Brama P., da Câmara Machado A., Distl O., Felicetti M., Fox-Clipsham L., Graves K.T., Guérin G., Haase B., Hasegawa T., Hemmann K., Hill E.W., Leeb T., Lindgren G., Lohi H., Lopes M.S., McGivney B.A., Mikko S., Orr N., Penedo M.C., Piercy R.J., Raekallio M., Rieder S., Røed K.H., Silvestrelli M., Swinburne J., Tozaki T., Vaudin M., Wade C.M., McCue M.E. (2013). Genetic diversity in the modern horse illustrated from genome – wide SNP data. *PloS ONE* 8 (1): e54997.
- Pickrell J.K., Pritchard J.K. (2012). Inference of Population Splits and Mixtures from Genome – Wide Allele Frequency Data. *PLoS Genetics* 8 (11): e1002967.
- Pidancier N., Jordan S., Luikart G., Taberlet P. (2006). Evolutionary history of the genus *Capra* (Mammalia, Artiodactyla): Discordance between mitochondrial DNA and Y-chromosome phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40 (3): 739-749.
- Pogorevc N., Simčić M., Khayatzaadeh N., Sölkner J., Berger B., Bojkovski D., Zorc M., Dovč P., Madugorac I., Horvat S. (2021). Post-genotyping optimization of dataset formation

could affect genetic diversity parameters: an example of analyses with alpine goat breeds. *BioMed Central Genomics* 22 (1): 543.

- Pogorevc N., Dotsev A., Upadhyay M., Sandoval-Castellanos E., Hannemann E., Simčič M., Antoniou A., Papachristou D., Koutdouli P., Rahmatalla S., Brockmann G., Sölkner J., Burger P., Lymberakis P., Poulakakis N., Bizelis I., Zinovieva N., Horvat S., Medugorac I. (2023). Whole-genome SNP genotyping unveils ancestral and recent introgression in wild and domestic goats. *Molecular Ecology*. Advance online publication: 1-15.
- Popescu A., Marcuta A., Marcuta L., Tindeche C. (2021). Trends in goats' livestock and goat milk, meat and cheese production in the world in the period 1990 – 2019 – a statistical approach. *Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development* 21 (1): 647-654.
- Porter V. (1996). *Goats of the world*. Diamont Farm Book Pubns, United Kingdom.
- Porter V., Alderson L., Hall S.J.G., Sponenberg D.P. (2016). *Goats*. U: *Mason's World Encyclopedia of Livestock Breeds and Breeding*, CABI, United Kingdom.
- Price E.O. (2002): *Animal Domestication and Behavior*. CABI, United Kingdom.
- Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A.R., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I.W., Daly M.J., Sham P.C. (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population – based linkage analysis. *American Journal of Human Genetics* 81 (3): 559-575.
- Purfield D.C., Berry D.P, McParland S., Bradley D.G. (2012). Runs of homozygosity and population history in cattle. *BioMed Central Genomics* 13 (1):70.
- Qanbari S., Gianola D., Hayes B., Schenkel F., Miller S., Moore S., Thaller G., Simianer H. (2011). Application of site and haplotype-frequency based approaches for detecting selection signatures in cattle. *BioMed Central Genomics* 12: 318.
- Qanbari S., Simianer H. (2014). Mapping signatures of positive selection in the genome of livestock. *Livestock Science* 166: 133-143.
- Queirós J., Godinho R., Lopes S., Gortazar C., de la Fuente J., Alves P.C. (2015). Effect of microsatellite selection on individual and population genetic inferences: an empirical study using cross-specific and species-specific amplifications. *Molecular Ecology Resource* 15 (4): 747-760.
- Quiles C. Indo-European demic diffusion model (3rd). Badajoz, Spain.
- Radhika G., Aravindakshan T.V., Thomas S. (2021). Estimation of genetic diversity in domestic animals using microsatellites. *The Pharma Innovation Journal* 10 (5): 677-683.

- Rahimmadar S., Ghaffari M., Mokhber M., Williams J.L. (2021). Linkage Disequilibrium and Effective Population Size of Buffalo Populations of Iran, Turkey, Pakistan, and Egypt Using a Medium Density SNP Array. *Frontiers in Genetics* 12: 608186.
- Ramljak J., Mioč B., Ćurković M., Pavić V., Ivanković A., Međugorac I. (2011). Genetic diversity measures of the Croatian spotted goat. *Acta Veterinaria* 61 (4): 373-382.
- Ramljak J., Špehar M., Ceranac D., Držaić V., Pocrnić I., Barać D., Mioč B., Širić I., Barać Z., Ivanković A., Kasap A. (2024). Genomic Characterization of Local Croatian Sheep Breeds-Effective Population Size, Inbreeding and Signatures of Selection. *Animals (Basel)* 14(13): 1928.
- Ramos A.M., Crooijmans R.P.M.A., Affara N.A., Amaral A.J., Archibald A.L., Beever J.E., Bendixen C., Churcher C., Clark R., Dehais P., Hansen M.S., Hedegaard J., Hu Z.-L., Kerstens H.H., Law A.S., Megens H.-J., Milan D., Nonneman D.J., Rohrer G.A., Rothschild M.F., Smith T.P.L., Schnabel R.D., Van Tassell C.P., Taylor J.F., Wiedmann R.T., Schook L.B., Groenen M.A.M. (2009). Design of a High Density SNP Genotyping Assay in the Pig Using SNPs Identified and characterized by Next Generation Sequencing Technology. *PLoS ONE* 4 (8): e6524.
- Raguz N., Korabi N., Lukić B., Držaić I., Vostry L., Moravcikova N., Curik I., Kasarda R., Cubric-Curik V. (2023). Genomic characterization and population structure of Croatian Arabian horse. *Livstock Science* 277: 105343.
- Ridley M. (2000). *Genome: The autobiography of a species in 23 chapters*. Perennial, New York.
- Ryman N., Laikre L., Hössjer O. (2019). Do estimates of contemporary effective population size tell us what want to know? *Molecular Ecology* 28: 1904-1918.
- Rivollat M., Mendisco F., Pemonge M. H., Safi A., Saint-Marc D., Brémond A., Couture-Veschambre C., Rottier S., Deguilloux M.F. (2015). When the waves of European neolithization met: First paleogenetic evidence from early farmers in the Southern Paris Basin. *PLoS ONE* 10 (4): 1-16.
- Rovelli V., Ruiz-González A., Vignoli L., Macale D., Buono V., Davoli F., Vieites D.R., Pezaro N., Randi E. (2019). Genotyping-by-Sequencing (GBS) of large amphibian genomes: a comparative study of two non-model species endemic to Italy. *Animal Biology* 69 (3): 307-326.
- Ruzzante D.E., McCracken G.R., Parmelee S., Hill K., Corrigan A., MacMillan J., Walde S.J. (2016). Effective number of breeders, effective population size and their relationship with census size in an iteroparous species, *Salvelinus fontinalis*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 283 (1823): 20152601.
- Sabeti P.C., Reich D.E., Higgins J.M., Levine H.Z., Richter D.J., Schaffner S.F., Gabriel S.B., Platko J.V., Patterson N.J., McDonald G.J., Ackerman H.C., Campbell S.J.,

- Altshuler D., Cooper R., Kwiatkowski D., Ward R., Lander E.S. (2002). Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature* 419 (6909): 832-837.
- Sabeti P.C., Varilly P., Fry B., Lohmueller J., Hostetter E., Cotsapas C., Xie X., Byrne E.H., McCarroll S.A., Gaudet R., Schnaffer S.F., Lander E.S., The International HapMap Consortium. (2007). Genome – wide detection and characterization of positive selection in human populations. *Nature* 449 (7164): 913-918.
- Saitbekova N., Gaillard C., Obexer-Ruff G., Dolf G. (1999). Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Animal Genetics* 30 (1): 36-41.
- Sams A.J., Boyko A.R. (2019). Fine-Scale Resolution of Runs of Homozygosity Reveal Patterns of Inbreeding and Substantial Overlap with Recessive Disease Genotypes in Domestic Dogs. *G3 (Bethesda)* 9 (1): 117-123.
- Santiago E., Novo I., Pardiñas A.F., Saura M., Wang J., Caballero A. (2020). Recent demographic history inferred by high-resolution analysis of linkage disequilibrium. *Molecular Biology and Evolution* 37 (12): 3642-3653.
- Saura M., Fernández A., Varona L., Fernández A.I., de Cara M.Á.R., Barragán C., Villanueva B. (2015). Detecting inbreeding depression for reproductive traits in Iberian pigs using genome – wide data. *Genetics Selection Evolution* 47 (1): 1.
- Sechi T., Usai M.G., Casu S., Carta A. (2005). Genetic diversity of Sardinian goat population based on microsatellites. *Italian Journal of Animal Science* 4 (2): 58-60.
- Serranito B., Cavalazzi M., Vidal P., Taurisson-Mouret D., Ciani E., Bal M., Rouvellac E., Servin B., Moreno - Romieux C., Tosser-Klopp G., Hall S.J.G., Lenstra J.A., Pompanon F., Benjelloun B., De Silva A. (2021). Local adaptations of Mediterranean sheep and goats through an integrative approach. *Scientific Reports* 11 (1): 21363.
- Serrano M., Calvo J.H., Martínez M., Marcos-Carcavilla A., Cuevas J., González C., Jurado J.J., de Tejada P.D. (2009). Microsatellite based genetic diversity and population structure of the endangered Spanish Guadarrama goat breed. *BioMed Central Genetics* 10: 61.
- Shackleton D. M. (1997). *Wild Sheep and Goats and their Relatives: Status, Survey and Conservation Action Plan for Caprinae*. IUCN, Cambridge, United Kingdom.
- Shihabi M., Glavaš V., Cubric-Curik V., Zorc M., Dovč P., Curik I. (2022). Genome-wide signals of positive selection identified in Livestock Guardian Dogs. *Proceedings of 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP)*. Wageningen Academic, Wageningen, The Netherlands, str. 3101-3105.
- Shihabi M. (2024). Inbreeding and Selection on the X chromosome in domestic animal populations. *Doktorska disertacija*. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

- Shiwago P.I. (1931). Karyotypische Studien an Ungalaten. I. Über die Chromosomenkomplexe der Schafe und Ziegen. Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 13: 511-522.
- Shoyombo A.J., Van Huong D., Taylor-Robinson A.W. (2018). Caprine Genome Analysis Reveals Valuable Insights into Selection of Enhanced Phenotypic Traits to Enable Improved Goat Breeding Programs. Journal of Animal Husbandry and Dairy Science 2 (3): 15-22.
- Sierra A., Balasse M., Radović S., Orton D., Fiorillo D., Presslee S. (2023). Early Dalmatian farmers specialized in sheep husbandry. Scientific reports 13: 10355.
- Siddiki A.M.A.M.Z., Miah G., Islam M.S., Kumkum M., Rumi M.H., Baten A., Hossain M.A. (2020). Goat Genomic Resources: The Search for Genes Associated with Its Economic Traits. International Journal of Genomics 2020: 594205.
- Signer-Hasler H., Henkel J., Bangerter E., Bulut Z., The VarGoats Consortium, Drögemüller C., Leeb T., Flury C. (2022). Runs of homozygosity in Swiss goats reveal genetic changes associated with domestication and modern selection. Genetic Selection Evolution 54 (1): 6.
- Sikora J., Kawecka A., Walinowicz K. (2011). Characteristic of genetic structure of goats in Poland. Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego 7 (1): 19-25.
- Silanikove N. (2000). The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. Small Ruminant Research 35 (3): 181-193.
- Sindičić M., Gomerčić T., Galov A., Arbanasić H., Kusak J., Slavica A., Huber Đ. (2011). Mitochondrial DNA control region as a tool for species identification and distinction between wolves and dogs from Croatia. Veterinarski arhiv 81 (2): 249-258.
- Siwek M., Finocchiaro R., Curik I., Portolano B. (2011). Hierarchical structure of the Sicilian goats revealed by Bayesian analyses of microsatellite information. Animal Genetics 42 (1): 93-95.
- Sokolov I. (1930). The chromosomes in spermatogenesis of goat (*Capra hircus*). Bull. Bureau Genetics 8: 63-76.
- Stella A., Nicolazzi E.L., van Tassell P., Rothschild M.F., Colli L., Rosen B.D., Sonstegard T.S., Crepaldi P., Tosser-Klopp G., Joost S., AdaptMap consortium. (2018). AdaptMap: Exploring goat diversity and adaptation. Genetic Selection Evolution 50 (1): 61.
- Stronen A.V., Pertoldi C., Iacolina L., Kadarmideen H.N., Kristensen T.N. (2019). Genomic analyses suggest adaptive differentiation of northern European native cattle breed. Evolutionary Applications 12 (6): 1096-1113.

- Taberlet P., Valentini A., Rezaei H.R., Naderi S., Pompanon F., Negrini R., Ajmone-Marsan P. (2008). Are cattle, sheep, and goats endangered species? *Molecular Ecology* 17 (1): 275-284.
- Talenti A., Nicolazzi E.L., Chessa S., Frattini S., Moretti R., Coizet B., Nicoloso L., L. Colli L., Pagnacco G., Stella A., Ajmone-Marsan P., Ptak G., Crepaldi P. (2016). A method for single nucleotide polymorphism selection for parentage assessment in goats. *Journal of Dairy Science* 99 (5): 3646-3653.
- Tarekegn G.M., Tesfaye K., Mwai O.A., Djikeng A., Dessie T., Birungi J., Osama S., Zergaw N., Alemu A., Achieng G., Tutah J., Mutai C., Njuguna J., Mwacharo J.M. (2018). Mitochondrial DNA variation reveals maternal origins and demographic dynamics of Ethiopian indigenous goats. *Ecology and Evolution* 8 (3): 1543-1553.
- Tapio I., Tapio M., Li M.H., Popov R., Ivanova Z., Kantanen J. (2010). Estimation of relatedness among non-pedigreed Yakutian cryo-bank bulls using molecular data: implications for conservation and breed management. *Genetics Selection Evolution* 42 (1): 28.
- Tautz D. (1989). Hypervariability of sample sequences as a general source of polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Research* 17 (16): 6463-6471.
- Teletchea F. (2019). *Animal Domestication: A Brief Overview*. U: Animal domestication (ur. Teletchea, F.), IntechOpen, Nancy, France, str. 1-19.
- Tolone M., Sardina M.T., Senczuk G., Chessari G., Criscione A., Moscarelli A., Riggio S., Rizzuto I., Di Gerlando R., Portolano B., Mastrangelo S. (2022). Genomic Tools for the Characterization of Local Animal Genetic Resources: Application in Mascaruna Goat. *Animals* 12 (20): 2840.
- Toro M.A., Fernández J., Caballero A. (2009). Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livestock Science* 120 (3): 174-195.
- Tosser-Klopp G., Bardou P., Bouchez O., Cabau C., Crooijmans R., Dong Y., Donnadieu-Tonon C., Eggen A., Heuven C.M.H., Jamli S., Johari Jiken A., Klopp C., Lawley C.T., McEwan J., Martin P., Moreno C.R., Mulsant P., Nabihoudine I., Pailhoux E., Palhière I., Rupp R., Sarry J., Sayre B.L., Tircazes A., Wang J., Wang W., Zhang W., International Goat Genome Consortium. (2014). Design and Characterization of a 50K SNP Chip for Goats. *PLoS ONE* 9 (1): e86227.
- Trask A.E., Bignal E.M., McCracken D.I., Pierniey S.B., Reid J.M. (2017). Estimating demographic contributions to effective population size in an age-structured wild population experiencing environmental and demographic stochasticity. *Journal of Animal Ecology* 86 (5): 1082-1093.
- Tresset A., Vigne J.D. (2007). Substitution of species, techniques and symbols at the Mesolithic-Neolithic transition in Western Europe. U: *Going over: The Mesolithic-*

- Neolithic transition in North-West Europe (ur. Ehittle A., Cummings V.), online edn., British Academy.
- Tresset A., Vigne J.D. (2011). Last hunter – gatherers and first farmers of Europe. *Comptes Rendus Biologies* 334 (3): 182-189.
- Ullate-Agote A., Milinkovitch M.C., Tzika A.C. (2014). The genome sequence of the corn snake (*Pantherophis guttatus*), a valuable resource for EvoDevo studies in squamates. *The International Journal of Developmental Biology* 58 (10-12): 881-888.
- UNEP (1995). First global biodiversity assessment report. (preuzeto s: <https://press.un.org/en/1995/19951114.he916.html>; 24.05.2022.)
- VarGoats Consortium, Nijman I.J., Rosen B.D., Bardou B.D., Faraut T., Cumer T., Daly K.G., Zheng Z., Cai Y., Asadollahpour H., Kul B.Ç., Zhang W.-Y., Guangxin E., Ayin A., Baird H., Bakhtin M., Bâlleanu V.A., Berfield D., Berger B., Blichfeldt T., Boink G., Bugiwati S.R.A., Cai Z., Carolan S., Clark E., Cubric-Curik V., Dagong M.I.A., Dorji T., Drew L., Guo J., Hallson J., Horvat S., Kantanen J., Kawaguchi F., Kazymbet P., Khayatadeh N., Kim N., Shah M.K., Liao Y., Martínez A., Masangkay J.S., Masaoka M., Mazza R., McEvan J., Milanese M., Omar F.M., Nomura Y., Ouchene-Khelifi N. - A., Pereira F., Sahana G., Salavati M., Sasazaki S., Da Silva A., Simčič M., Sölkner J., Sutherland A., Tigchelaar J., Zhang H., Econogene Consortium, Ajmone-Marsan P., Bradley D.G., Colli L., Drögemüller C., Jiang Y., Lei C., Mannen H., Pompanon F., Tosser-Klopp G., Lenstra J.A. (2022). Geographical contrasts of Y-chromosomal haplogroups from wild and domestic goats reveal ancient migrations and recent introgressions. *Molecular Ecology* 31: 4364-4380.
- Vidal O., Drögemüller C., Obexer-Ruff G., Reber I., Jordana J., Martínez A., Bâlleanu V.A., Delgado J.V., Eghbalsaid S., Landi V., Goyache F., Traoré A., Pazzola M., Vacca G.M., Badaoui B., Pilla F., D'Andrea M., Álvarez I., Capote J., Sharaf A., Pons Á., Amills M. (2017). Differential distribution of Y-chromosome haplotypes in Swiss and Southern European goat breeds. *Scientific Reports* 7 (1): 16161.
- Vigne J., Peters J., Helmer D. (2005): *The First Steps of Animal Domestication*. New Archaeological Approaches. Oxbow Books Limited.
- Vigne, J.D. (2011). The origins of animal domestication and husbandry: A major change in the history of humanity and the biosphere. *Comptes Rendus Biologies* 334 (3): 171-181.
- Vilà C., Leonard J.A., Götherstrom, Marklund S., Sandberg K., Lidén K., Wayne R.K., Ellegren H. (2001): Widespread Origins of Domestic Horse Lineages. *Science* 291 (5503): 474-477.

- Visser C., Lashmar S.F., van Marle-Köster E., Poli M.A., Allain D. (2016). Genetic Diversity and Population Structure in South African, French and Argentinian Angora Goats from Genome – Wide SNP Data. *PloS ONE* 11 (5): e0154353.
- Vitti J.J., Grossman S.R., Sabeti P.C. (2013). Detecting natural selection in genomic data. *Annual Review of Genetics* 47 (1): 97-120.
- Vlaic B.A., Vlaic A., Ruso I.R., Colli L., Bruford MW., Odagiu A., Orozco-terWengel P, CLIMGEN Consortitium. (2024). Analysis of Genetic Diversity in Romanian Carpatina Goats Using SNP Genotyping Data. *Animals* 14 (4): 560.
- Voight B.F., Kudaravalli S., Wen X., Pritchard J.K. (2006). A map of recent positive selection in the human genome. *PLoS Biology* 4 (3): e72.
- Vondraček-Mesar J. (1999). Koza u grbu Istre. Prilog poznavanju povijesne pozadine grba i istarskog kozarstva. *Studia ethnologica Croatica* 10/11 (1): 7-28.
- Voruz J.L. (1996). Chronologies Néolithiques de 6000 à 2000 avant Nôtre Ere dans le Bassin Rhodanien. *Bulletin de la Société préhistorique française* 93: 138-139.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleid Acid Research* 23 (21): 4407-4414.
- Vostry L., Vostra-Vydrova H., Rycharova J., Hofmanova B., Moravickova N., Kasarda R., Margetin M., Drzaic I., Cubric-Curik V., Sölkner J., Curik I. (2022). Genomic diversity of Czech and Slovak native goat breeds. *Proceedings of 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP), 3.-8.7.2022., Rotterdam, The Netherlands, str. 894-897.*
- Vostry L., Vostra-Vydrova H., Morachichova N., Kasarda R., Margetin M., Rychtarova J., Drzaic I., Shihabi M., Cubric-Curik V., Sölkner J., Curik I. (2024). Genomic analysis of conservation status, population structure and admixture in local Czech and Slovak dairy goat breeds. *Journal of Dairy Science* 107 (10): 8205-8222.
- Waki A., Sasazaki S., Kobayashi, E., Mannen H. (2015). Paternal phylogeography and genetic diversity of East Asian goats. *Animal Genetics* 46 (3): 337-339.
- Wakeley J. i Sargsyan O. (2009). Extensions of the coalescent effective population size. *Genetics*, 181: 341-345.
- Wall J.D., Pritchard J.K. (2003). Haplotype blocks and linkage disequilibrium in the human genome. *Nature Reviews. Genetics* 4 (8): 587-597.
- Wallner B., Vogl C., Shukla P., Burgstaller J.P., Druml T., Brem G. (2013). Identification of genetic variation on the horse y chromosome and the tracing of male founder lineages in modern breeds. *PLoS ONE* 8 (4): e60015.
- Wang M.L., Barkley N.A., Jenkins T.M. (2009). Microsatellite markers in plants and insects. Part I: Applications of biotechnology. *Genes, Genomes and Genomic* 3 (1): 54-67.

- Wang J., Santiago E., Caballero A. (2016). Prediction and estimation of effective population size. *Heredity* 117 (4): 193-206.
- Wang B.; Chen L.; Wang W. (2019). Genomic Insights into Ruminant Evolution: From Past to Future Prospects. *Zoological Research* 40 (6): 476-487.
- Waples R.S., Do C. (2010). Linkage disequilibrium estimates of contemporary Ne using highly variable genetic markers: A largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evolutionary Applications* 3 (3): 244-262.
- Waples R.S., England P.R. (2011). Estimating contemporary effective population size on the basis of linkage disequilibrium in the face of migration. *Genetics* 189 (2): 633-644.
- Watson J.D., Crick F.H. (1953). The structure of DNA. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 18: 123-131.
- Weber J.L., May P.E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics* 44 (3): 388-396.
- Welsh J., McClelland M. (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18 (24): 7213-7218.
- Williams J.G., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18 (22): 6531-6535.
- Wilson A.C., Cann R.L., Carr S.M., George M., Gyllensten U.B., Helm-Bychowski K.M., Higuchi R.G., Palumbi S.R., Prager E.M., Sage R.D., Stoneking M. (1985). Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society* 26 (4): 375-400.
- Wright S. (1922). Coefficients of inbreeding and relationships. *American Nature* 56 (645): 330-339.
- Wright S. (1931). Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16 (2): 97-159.
- Xu X., Árnason Ú. (1994). The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of the control region. *Gene* 148 (2): 357-362.
- Yamaguchi-Kabata Y., Nakozano K., Takahashi A., Saito S., Hosono N., Kubo M., Nakumura Y., Kamatani N. (2008). Japanese population structure, based on SNP genotypes from 7003 individuals compared to other ethnic groups: Effects on population – based association studies. *American Journal of Human Genetics* 83 (4): 445-456.
- Zabeau M., Vos P (1992). Selective Restriction Fragment Amplification: A general Method for DNA Fingerprinting. Publication of Application without search report - European Patent Office. Application: EP19990115309. Patent: EP0969102.

- Zavodny E., McClure S., Culleton B.J., Podrug E., Kennet D.J. (2015). Identifying Neolithic animal management practices in the Adriatic using stable isotopes. *Documenta Praehistorica* 42:261.
- Zeder M., Hesse B. (2000). The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros Mountains 10,000 years ago. *Science* 287 (5461): 2254-2257.
- Zeder M.A. (2005): A View from the Zagros: new perspectives on livestock domestication in the Fertile Crescent. U: *The First Steps of Animal Domestication. New Archaeological Approaches* (ur. Vigne J.D., Peters J., Helmer D.), Oxbow Books, Oxford, United Kingdom, str. 125-146.
- Zeder M.A. (2006). A Critical Assessment of Markers of Initial Domestication in Goats (*Capra hircus*). U: *Documenting domestication: New genetic and archaeological paradigms* (ur. Zeder M., Bradley D., Emshwiller, Smith B.), University of California Press, str. 181-208.
- Zeder M.A. (2008). Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (33): 11597-11604.
- Zeder M.A. (2012). Pathways to Animal Domestication. U: *Biodiversity in Agriculture: Domestication, Evolution and Sustainability* (ur. Gepts P., Famula T.R., Bettinger R.L., Brush S.B., Damania A.B., McGuire P.E., Qualset C.O.), Cambridge University Press, United Kingdom, str. 227-259.
- Zheng X., Levine D., Shen J., Gogarten S., Laurie C., Weir B. (2012). A High – performance Computing Toolset for Relatedness and Principal Component Analysis of SNP Data. *Bioinformatics* 28 (24): 3326-3328.
- Zheng Z., Wang X., Li M., Li Y., Yang, Z., Wang X., Pan X., Gong M., Zhang Y., Guo Y., Wang Y., Liu J., Cai Y., Chen Q., Okpeku M., Colli L., Cai D., Wang K., Huang S., Sonstegard T.S., Esmailzadeh A., Zhang W., Zhang T., Xu Y., Xu N., Yang Y., Han J., Chen L., Lesur J., Daly K.G., Bradley D.G., Heller R., Zhang G., Wang W., Chen Y., Jiang Y. (2020). The origin of domestication genes in goats. *Science Advances* 6 (21): eaaz5216.
- Zhong T., Wang X., Huang C., Yang L., Zhao Q., Chen X., Freitas-de-Melo A., Zhan S., Wang L., Dai D., Cao J., Guo J., Li L., Zhang H., Niu L. (2023). A genome-wide perspective on the diversity and selection signatures in indigenous goats using 53 K single nucleotide polymorphism array. *Animal* 17 (3): 100706.
- Zilhão J. (2001). Radiocarbon evidence for maritime pioneer colonization at the origins of farming in west Mediterranean Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (24): 14180-14185.

Zorc M., Škorput D., Gvozdanović K., Margeta P., Karoly D., Luković Z., Salajpal K., Savić R., Muñoz, 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. *Genetic Selection Evolution* 54: 30.

8. ŽIVOTOPIS

Vesna Orehovački rođena je 4. rujna 1971. godine u Zagrebu. Osnovnu školu završila je u Svetom Ivanu Zelini, a Srednju medicinsku školu u Zagrebu gdje stječe zvanje medicinske sestre. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, smjer biokemijsko inženjerstvo, upisuje 1992. godine, a završava 1998. godine i stječe zvanje inženjerke prehrambene tehnologije. Razlikovni studij na Visokom gospodarskom učilištu upisuje 2006. godine i završava 2007. godine. Specijalistički diplomski studij na istom učilištu upisuje 2008. godine, završava 2011. godine i stječe titulu stručne specijalistice inženjerke poljoprivrede. Godine 2016. upisuje Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, koji završava 2017. godine s titulom magistre inženjerke agronomije. Svoj radni vijek započinje u Dječjem vrtiću Križevcima, a 1998. do 2002. godine radi kao stručna suradnica u nastavi u Srednjoj gospodarskoj školi u Križevcima. Godine 2002. zapošljava se u Hrvatskom stočarsko selekcijskom centru, najprije na radnom mjestu laborantice-analitičarke u Središnjem laboratoriju za kontrolu mlijeka, a potom kao referentica općih poslova. Od uspostave Laboratorija za kontrolu stočne hrane 2007. godine u sklopu Hrvatske poljoprivredne agencije, radi kao suradnica u Odsjeku, kasnije kao voditeljica Odsjeka i koordinadora u Odjelu za kontrolu stočne hrane. Od 2013. godine, nakon osnivanja Banke gena, zaposlena je kao koordinadora u Odjelu, a od 2019. kao Voditeljica Odjela za Banku gena koji ustrojstveno pripada Ministarstvu poljoprivrede, šumarstva i ribarstva. Autorica je ili koautorica ukupno 15 znanstvenih radova, od kojih su tri objavljena u A1 časopisima (WoS/Scopus, Q1/Q2), a ostali u A2 i A3 kategoriji, uključujući recenzirane zbornike međunarodnih znanstvenih skupova i domaće časopise. Sudjelovala je na brojnim znanstvenim i stručnim skupovima te objavljivala radove u relevantnim publikacijama iz područja agronomije, genetike i zaštite izvornih pasmina.

Bila je uključena u organizaciju raznih radionica i edukacija, mentorirala učenike i studente tijekom stručne prakse te sudjelovala u projektima koje su provodile znanstvene institucije.

Popis objavljenih radova A1 razine:

1. Špoljar A., Kvaternjak I., Kisić I., Marenčić D., Orehovački V. (2009). Influence of tillage on soil properties, yields and protein content in grain of maize and soyabean. *Journal of Environmental Protection and Ecology* 10 (4): 1013-1031.
2. Lukić B., Ferenčaković M., Šalamon D., Čačić M., Orehovački V., Iacolina L., Curik I., Cubric-Curik V. (2020). Conservation Genomic Analysis of the Croatian Indigenous Black Slavonian and Turopolje Pig Breeds. *Frontiers in Genetics* 11: 261.
3. Drzaic I., Orehovački V., Moravčikova N., Shihabi M., Curik I., Vostry L., Kasarda R., Soelkner J., Curik-Cubric V. (2024). Genomic characterization and diversity of indigenous goat breeds from Croatia. *Livestock Science* 279: 105388.

Popis ostalih objavljenih radova:

1. Špoljar A., Kvaternjak I., Kisić I., Marenčić D., Orehovački V. (2010). Utjecaj obrade na tlo, prinose, sadržaj ukupnih masti bjelančevina u zrnu kukuruza. *Agronomski glasnik* 72 (2-3): 91-110.
2. Špoljar A., Kisić I., Kvaternjak I., Kamenjak D., Orehovački V. (2011): Utjecaj obrade na konzervaciju vlage u tlu te prinose ukupnih masti i bjelančevina u zrnu soje. *Agronomski glasnik* 73 (1-2): 93-105.
3. Orehovački V., Andreato-Koren M., Sikora S., Kvaternjak I., Pintiće-Pukec N., Blažinkov M. (2012). Utjecaj bakterizacije sjemena i kultivara na kemijski sastav lucerne (*Medicago sativa* L.). Zbornik radova 47. hrvatskog i 7. međunarodnog simpozija agronoma, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, 13.-17.2.2012., Opatija, Hrvatska, str. 106-110.
4. Kvaternjak I., Špoljar A., Kisić I., Birkas M., Orehovački V. (2013). Influence tillage methods on some agricultural properties of maize (*Zea Mays* L.) and soybean (*Glicine max.* L.) crops. 2 nd International Scientific Conference - Soil and Crop Management and Mitigation of Climate Change. CROSTRO - Croatian Soil Tillage Organization, 26-28.9.2013., Osijek, Hrvatska, str. 195-200.
5. Orehovački V., Barać Z., Kvaternjak I., Stručić D., Poljak F. (2013). Utjecaj klimatskih uvjeta na kvalitetu kukuruzne silaže u kontinentalnom dijelu Republike Hrvatske. Zbornik radova 48. hrvatskog i 8. međunarodnog simpozij agronoma, Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, 17.-22.2.2013., Dubrovnik, Hrvatska, str. 780-784.
6. Čačić M., Orehovački V., Vukobratović M., Dražić M., Smetko A., Pavlešić T., Čubrić Čurik V., Čurik I. (2015). Uloga banke gena u očuvanju izvornih pasmina domaćih životinja. Zbornik radova 50. hrvatskog i 10. međunarodnog simpozija agronoma,

- Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, 15.-20.2.2015., Opatija, Hrvatska, str. 424-428.
7. Čačić M., Orehovački V., Vukobratović M., Dražić M., Smetko A., Pavlešić T., Čubrić Čurik V., Čurik I. (2015). Uloga banke gena u očuvanju izvornih pasmina domaćih životinja. *Stočarstvo* 69 (3-4): 85-92.
 8. Čačić M., Orehovački V., Zirdum N., Svetić K., Mahnet Ž., Klišanić V. (2015). Results of malignant hyperthermia status monitoring in Croatian pig breeding. *Stočarstvo* 69 (3-4): 55-64.
 9. Čačić M., Orehovački V., Zirdum N., Svetić K. (2016). Breeding systematization of indigenous breed Medjimurje horse. *Zbornik radova 51. hrvatskog i 11. međunarodnog simpozija agronoma, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, 15.-18.2.2016., Opatija, Hrvatska, str. 320-323.*
 10. Čačić M., Orehovački V., Špehar M., Dadić M., Čubrić Čurik V., Čurik I. (2017). Prepreke očuvanju izvornih pasmina i razvoju banke gena. *Zbornik radova 52. hrvatskog i 12. međunarodnog simpozija agronoma, Poljoprivredni fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, 12.-17.2.2017., Dubrovnik, Hrvatska, str. 479-483.*
 11. Čačić M., Konjević D., Reindl B., Orehovački V. (2017). Značaj banke gena u uzgoju divljači. *Zbornik radova 52. hrvatskog i 12. međunarodnog simpozija agronoma, poljoprivredni fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, 12.-17.2.2017., Dubrovnik, Hrvatska, str. 402-405.*
 12. Čačić M., Orehovački V., Mahnet Ž., Klišanić V., Tretinjak M., Lubina Malus N. (2017). Revitalizacija hrvatskog uzgoja mangulice. *Stočarstvo* 71 (1-2): 44-55.
 13. Čačić M., Orehovački V., Ećimović M., Jankovich Bésán E., Moler L., Držaić I., Čubric-Curik V., Curik I. (2018). Finding 'the long-lost' Croatian Lipizzan mare families. *Acta fytotechnica et zootechnica* 21 (4): 169-172.
 14. Čačić M., Zirdum N., Orehovački V., Svetić K. (2018). Sistematizacija uzgoja izvorne pasmine međimurski konj (Breeding systematization of indigenous breed Medjimurje horse). *Stočarstvo* 72 (1-2): 23-28.
 15. Držaić I., Orehovački V., Vostry L., Čurik I., Mikulec N., Čubric-Curik V. (2022). Genomic diversity of two indigenous Croatian goat breeds *Proceedings of 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP). Zadar, Hrvatska, str. 984-987.*

9. PRILOZI

Prilog 1. Osnovni podaci o uzorcima hrvatskih izvornih pasmina koza, lokacijama uzorkovanja i geografskim koordinatama farmi

Oznaka uzorka	Naziv pasmine	Spol	Lokacija uzorkovanja	Geografska širina	Geografska dužina
GCH 101	hrvatska šarena koza	F	Pelješac	42.964263	17.356597
GCH 102	hrvatska šarena koza	F	Dubrovnik	43.146048	17.455287
GCH 103	hrvatska šarena koza	M	Pelješac	43.010767	17.152063
GCH 104	hrvatska šarena koza	F	Dubrovnik	42.630902	18.169856
GCH 105	hrvatska šarena koza	M	Dubrovnik	42.646414	18.123386
GCH 106	hrvatska šarena koza	M	Šibenik	44.043032	16.336136
GCH 107	hrvatska šarena koza	F	Šibenik	44.043032	16.336136
GCH 108	hrvatska šarena koza	F	Šibenik	44.043032	16.336136
GCH 109	hrvatska šarena koza	M	Šibenik	43.815295	16.361652
GCH 110	hrvatska šarena koza	M	Šibenik	43.815295	16.361652
GCH 111	hrvatska šarena koza	F	Zadar	44.111681	15.788451
GCH 112	hrvatska šarena koza	F	Zadar	44.074278	15.664583
GCH 113	hrvatska šarena koza	M	Zadar	44.053724	15.618267
GCH 114	hrvatska šarena koza	M	Zadar	44.265269	15.587857
GCH 115	hrvatska šarena koza	M	Zadar	44.265269	15.587857
GCH 116	hrvatska šarena koza	F	Zadar	44.265269	15.587857
GCH 117	hrvatska šarena koza	F	Split	43.534199	17.029352
GCH 118	hrvatska šarena koza	M	Split	44.043032	16.336136
GCH 119	hrvatska šarena koza	F	Split	43.462866	17.089398
GCH 120	hrvatska šarena koza	M	Split	43.462866	17.089398
GSK 1	hrvatska šarena koza	F	Split	44.043032	16.336136
GSK 2	hrvatska šarena koza	F	Split	43.534199	17.029352
GSK 3	hrvatska šarena koza	F	Split	43.594559	16.635120
GSK 5	hrvatska šarena koza	F	Split	43.594559	16.635120
(GCH) 27	hrvatska šarena koza	F	Šibenik	43.980102	16.361062
(GCH) 30	hrvatska šarena koza	M	Šibenik	43.980102	16.361062
(GCH) 33	hrvatska šarena koza	F	Šibenik	44.003890	16.406670
(GCH) 38	hrvatska šarena koza	F	Šibenik	44.003890	16.406670
(GCH) 47	hrvatska šarena koza	F	Šibenik	43.913971	16.320276
(GCH) 50	hrvatska šarena koza	F	Šibenik	43.913971	16.320276
(GCH) 61	hrvatska šarena koza	M	Šibenik	43.913971	16.320276

Oznaka uzorka	Naziv pasmine	Spol	Lokacija uzorkovanja	Geografska širina	Geografska dužina
(GCH) 9 I	hrvatska šarena koza	F	Split	43.594559	16.635120
(GCH) 13 I	hrvatska šarena koza	F	Split	43.594559	16.635120
(GCH) 15 I	hrvatska šarena koza	M	Split	43.594559	16.635120
(GCH) 27 I	hrvatska šarena koza	F	Split	43.444832	17.211573
(GCH) 28 I	hrvatska šarena koza	F	Split	43.444832	17.211573
(GCH) 30 I	hrvatska šarena koza	M	Split	43.444832	17.211573
GCI 1	istarska koza	F	Istra	44.890804	13.846372
GCI 2	istarska koza	F	Istra	44.890804	13.846372
GCI 3	istarska koza	F	Istra	44.890804	13.846372
GCI 4	istarska koza	M	Istra	44.890804	13.846372
GCI 5	istarska koza	F	Istra	44.890804	13.846372
GCI 6	istarska koza	F	Istra	44.890804	13.846372
GCI 7	istarska koza	F	Istra	44.934148	13.868700
GCI 8	istarska koza	F	Istra	44.890804	13.846372
GCI 9	istarska koza	F	Istra	44.934148	13.868700
GCI 10	istarska koza	F	Istra	44.934148	13.868700
GCI 11	istarska koza	F	Istra	44.934148	13.868700

Prilog 2. Podaci o pasminama, broju uzoraka i izvori genotipova drugih pasmina korištenih u ovom doktorskom radu

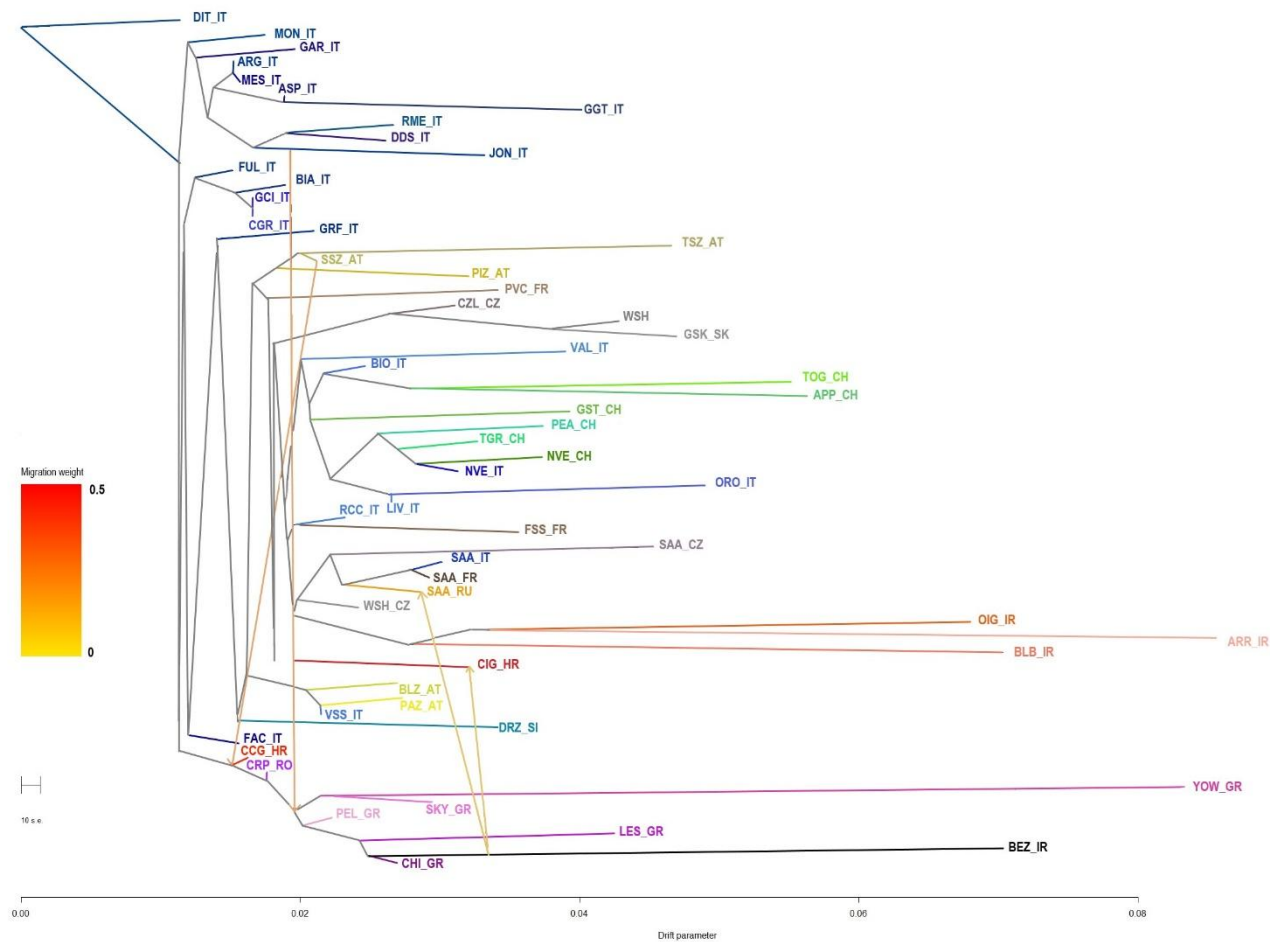
Oznaka pasmine	Naziv pasmine	Država	Broj uzoraka	Izvor podataka
APP_CH	Appenzell Goat	Švicarska	29	Burren i sur. (2016)
ARG_IT	Argentata	Italija	35	Cortellari i sur. (2021)
ARR_IE	Traditional Arran	Irska	10	Colli i sur. (2018)
ASP_IT	Aspromontana	Italija	24	Colli i sur. (2018)
BEZ_IR	Bezoar	Iran	7	Colli i sur. (2018)
BIA_IT	Bianca Monticellana	Italija	24	Cortellari i sur. (2021)
BIO_IT	Bionda dell'Adamello	Italija	24	Colli i sur. (2018)
BLB_IE	Bilberry	Irska	10	Colli i sur. (2018)
BLZ_AT	Blobe Ziege	Austrija	35	Pogorevc i sur. (2021)
CGR_IT	Ciociara Grigia	Italija	19	Colli i sur. (2018)
CHI_GR	Chios	Grčka	10	Pogorevc i sur. (2023)
CRP_RO	Carpatian Goat	Rumunjska	14	Colli i sur. (2018)
CZL_CZ	Landrace Goat	Češka	18	Slovak University of Agriculture
DDS_IT	Derivata di Siria	Italija	31	Cortellari i sur. (2021)
DIT_IT	Capra Di Teramo	Italija	43	Cortellari i sur. (2021)
DRZ_SI	Drežnica Goat	Slovenija	30	Pogorevc i sur. (2021)
FAC_IT	Facciuta della Valnerina	Italija	24	Cortellari i sur. (2021)
FSS_FR	Fosses	Francuska	26	Colli i sur. (2018)
FUL_IT	Fulva del Lazio	Italija	22	Cortellari i sur. (2021)
GAR_IT	Garganica	Italija	38	Cortellari i sur. (2021)
GCI_IT	Grigia Ciociara	Italija	43	Cortellari i sur. (2021)
GGT_IT	Girgentana	Italija	30	Colli i sur. (2018)
GRF_IT	Garfagnina	Italija	27	Cortellari i sur. (2021)
GSK_SK	Brown Shorthair Goat	Slovačka	4	Slovak University of Agriculture
GST_CH	Grisons Striped Goat	Švicarska	49	Burren i sur. (2016)
JON_IT	Jonica	Italija	14	Colli i sur. (2018)
LES_GR	Lesbos	Grčka	12	Pogorevc i sur. (2023)
LIV_IT	Capra di Livo	Italija	22	Cortellari i sur. (2021)
MES_IT	Messinese	Italija	23	Cortellari i sur. (2021)
MON_IT	Capra di Montefalcone	Italija	23	Cortellari i sur. (2021)

Oznaka pasmine	Naziv pasmine	Država	Broj uzoraka	Izvor podataka
NVE_IT	Nera di Verzasca	Italija	19	Cortellari i sur. (2021)
NVE_CH	Nera di Verzasca	Švicarska	42	Burren i sur. (2016)
OIG_IE	Old Irish Goat	Irska	19	Colli i sur. (2018)
ORO_IT	Orobica	Italija	23	Colli i sur. (2018)
PAZ_AT	Passeirer Ziege	Austrija	22	Pogorevc i sur. (2021)
PEA_CH	Peacock Goat	Švicarska	31	Burren i sur. (2016)
PEL_GR	Peloponnese	Grčka	12	Pogorevc i sur. (2023)
PIZ_AT	Pinzgauer Ziege	Austrija	29	Pogorevc i sur. (2021)
PVC_FR	Provencale	Francuska	18	Colli i sur. (2018)
RCC_IT	Roccaverano	Italija	28	Cortellari i sur. (2021)
RME_IT	Rossa Mediterranea	Italija	45	Colli i sur. (2018)
SAA_RU	Saanen	Rusija	32	Deniskova i sur. (2021)
SAA_CH	Saanen	Švicarska	64	Burren i sur. (2016)
SAA_FR	Saanen	Francuska	56	Colli i sur. (2018)
SAA_IT	Saanen	Italija	44	Cortellari i sur. (2021)
SKY_GR	Skyros	Grčka	9	Pogorevc i sur. (2023)
SSZ_AT	Stytian Pied	Austrija	33	Pogorevc i sur. (2021)
TGR_CH	Tessin Grey Goat	Švicarska	37	Burren i sur. (2016)
TOG_CH	Toggenburg	Švicarska	31	Burren i sur. (2016)
TSZ_AT	Tauern Pied	Austrija	29	Pogorevc i sur. (2021)
VAL_IT	Valdostana	Italija	24	Colli i sur. (2018)
VSS_IT	Valpassiria	Italija	24	Colli i sur. (2018)
YOW_GR	Youra Wild Goat	Grčka	4	Pogorevc i sur. (2023)
WSH	White Shorthair Goat		12	Slovak University of Agriculture
WSH_CZ	White Shorthair Goat	Češka	14	Slovak University of Agriculture

Prilog 3. Parametri čistoće i koncentracije DNA

Pasmina	Oznaka uzorka	A₂₆₀/A₂₈₀	A₂₆₀/A₂₃₀	Koncentracija (ng/μl)
hrvatska šarena koza	GCH 101	1,900	1,056	28,5
hrvatska šarena koza	GCH 102	1,853	1,370	31,5
hrvatska šarena koza	GCH 103	1,875	1,500	45
hrvatska šarena koza	GCH 104	1,944	1,458	35
hrvatska šarena koza	GCH 105	1,933	1,582	43,5
hrvatska šarena koza	GCH 106	1,902	1,219	39
hrvatska šarena koza	GCH 107	1,867	1,714	42
hrvatska šarena koza	GCH 108	1,878	1,426	38,5
hrvatska šarena koza	GCH 109	1,897	1,574	37
hrvatska šarena koza	GCH 110	1,867	1,204	56
hrvatska šarena koza	GCH 111	1,853	1,658	31,5
hrvatska šarena koza	GCH 112	1,450	0,967	29
hrvatska šarena koza	GCH 113	1,872	1,521	36,5
hrvatska šarena koza	GCH 114	1,941	1,737	33
hrvatska šarena koza	GCH 115	1,879	1,476	31
hrvatska šarena koza	GCH 116	1,870	1,483	43
hrvatska šarena koza	GCH 117	1,875	1,389	37,5
hrvatska šarena koza	GCH 118	1,923	1,961	50
hrvatska šarena koza	GCH 119	1,918	1,709	47
hrvatska šarena koza	GCH 120	1,962	1,821	25,5
hrvatska šarena koza	GSK 1	1,692	0,379	22
hrvatska šarena koza	GSK 2	2,083	0,305	12,5
hrvatska šarena koza	GSK 3	1,867	0,700	28
hrvatska šarena koza	GSK 5	1,483	0,406	21,5
hrvatska šarena koza	(GCH) 27	1,862	1,301	55,0
hrvatska šarena koza	(GCH) 30	1,711	0,823	38,0
hrvatska šarena koza	(GCH) 33	1,867	1,292	44,0
hrvatska šarena koza	(GCH) 38	1,519	0,898	36,5
hrvatska šarena koza	(GCH) 47	1,433	0,614	31,0
hrvatska šarena koza	(GCH) 50	1,643	0,622	35,0
hrvatska šarena koza	(GCH) 61	1,500	0,833	52,5
hrvatska šarena koza	(GCH) 9 I	1,863	1,234	47,5
hrvatska šarena koza	(GCH) 13 I	1,844	0,933	41,5
hrvatska šarena koza	(GCH) 15 I	1,667	0,833	35
hrvatska šarena koza	(GCH) 27 I	1,857	1,287	65
hrvatska šarena koza	(GCH) 28 I	1,840	0,8	46
hrvatska šarena koza	(GCH) 30 I	1,509	0,628	43
istarska koza	GCI 1	2,000	1,238	26
istarska koza	GCI 2	2,113	1,867	56
istarska koza	GCI 3	2,063	1,65	16,5
istarska koza	GCI 4	2,111	2,021	47,5
istarska koza	GCI 5	2,049	1,867	42
istarska koza	GCI 6	2,071	1,208	14,5
istarska koza	GCI 7	2,080	1,677	26
istarska koza	GCI 8	2,127	1,911	75,5
istarska koza	GCI 9	1,988	1,575	83,5
istarska koza	GCI 10	2,101	2,089	199
istarska koza	GCI 11	2,148	2,047	87

Prilog 4. Stablo maksimalne vjerojatnosti s četiri migracijska događaja u koje su uključene hrvatske pasmine koza



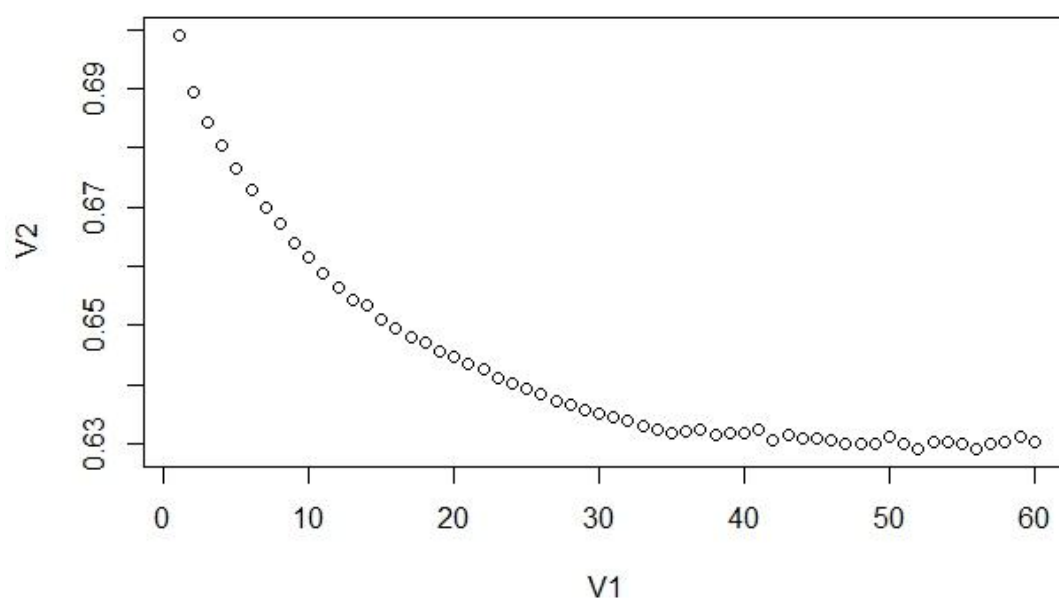
Prilog 5. iHS i eROHi regije pod pozitivnom selekcijom identificirane u populacijama hrvatske šarene koze i istarske koze

Populacija	Regija	Kromosom	Pozicija (Mb)	SNP-ovi*	$-\log(P)^{\#}$
hrvatska šarena koza	iHS_1	3	20,00 – 21,00	3/13	3,3
	iHS_2	4	69,00 – 70,00	3/17	6,9
	iHS_3	8	53,25 – 55,25	4/18	12,7
	iHS_4	14	38,00 – 39,75	3/14	11,3
	iHS_5	16	30,25 – 31,25	4/15	8,5
	iHS_6	16	57,50 – 59,25	4/16	5,3
	iHS_7	21	8,25 – 9,25	3/16	7,1
	iHS_8	27	3,75 – 4,75	3/12	4,7
	iHS_9	29	7,00 – 8,00	3/14	4,5
	eROHi_1	13	27,99 – 29,42	32/32	3,28
	eROHi_2	27	0,52 – 7,05	39/39	3,28
	eROHi_3	29	35,73 – 39,54	27/27	4,63
istarska koza	iHS_1	3	89,75 – 90,75	3/15	3,8
	iHS_2	6	99,50 – 100,50	3/13	3,6
	iHS_3	20	19,00 – 20,00	3/15	5,5
	iHS_4	23	37,25 – 38,25	3/14	3,5
	iHS_5	23	42,25 – 43,25	5/14	4,5
	eROHi_1	3	12,34 – 15,56	61/61	3,66
	eROHi_2	4	0,06 – 8,13	103/103	3,66
	eROHi_3	9	41,34 – 44,90	70/70	10,32
	eROHi_4	10	52,92 – 56,95	82/82	6,53
	eROHi_5	24	37,08 – 39,42	49/49	3,66

*broj značajnih SNP-ova ($-\log_{10}(P) \geq 3$) / ukupni broj SNP-ova unutar regije

$\#$ najveća $-\log_{10}(P)$ vrijednost pojedinačnog SNP-a unutar regije

Prilog 6. Prikaz unakrsne validacije (CV error) za različite vrijednosti K u analizi genetičke strukture populacija koza



Prilog 7. Grafički prikaz rezultata Admixture analize za K= 15, 20, 25, 30, 52 za cijeli set podataka

