Genomska procjena inbridinga na temelju markera spolnih kromosoma

Šantek, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:231168

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Martina Šantek

GENOMSKA PROCJENA INBRIDINGA NA TEMELJU MARKERA SPOLNIH KROMOSOMA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Genetika i oplemenjivanje životinja

MARTINA ŠANTEK

GENOMSKA PROCJENA INBRIDINGA NA TEMELJU MARKERA SPOLNIH KROMOSOMA

DIPLOMSKI RAD

Mentor: Prof. dr. sc. Ino Čurik

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana _____

s ocjenom _____

pred Povjerenstvom u sastavu:

1. Prof. dr. sc. Ino Čurik _____
2. Prof. dr. sc. Miroslav Kapš _____
3. Doc. dr. sc. Vlatka Čubrić Čurik _____

Sažetak:

Inbriding, odnosno parenje jedinki u srodstvu se mjeri koeficijentom inbridinga, F. Do vrijednosti koeficijenta inbridinga se može doći na više načina, jedan od kojih je procjena inbridinga pomoću određivanja homozigotnih odsječaka (ROH). Genomski koeficijent inbridinga se obično odnosi na autosome, dok se inbriding na X kromosomu zanemaruje. U ovom radu su određeni ROH-ovi >4 Mb, >8 Mb i >16 Mb kod jedinki populacije Soay ovaca genotipiziranih Ovine 50K SNP čipom te su određene vrijednosti koeficijenata inbridinga za autosome i X kromosom. Za autosome su određene vrijednosti ukupno za sve kromosome te posebno za svaki kromosom. Inbriding na X kromosomu je ~4 do 15 puta veći nego na autosomima, a vrijednosti za autosomalni i X inbriding uvelike razlikuju kod pojedinih jedinki te je korelacija između vrijednosti niska. X inbriding može biti važan kod vrsta kojima veći dio genoma čini X kromosom te kod kojih su neka važna svojstva djelomično određena genima na X kromosomu te stoga ne smije biti zanemarivan.

Ključne riječi: inbriding, autosomalni inbriding, X inbriding, ROH

Abstract:

Inbreeding or mating of related individuals is measured by the coefficient of inbreeding, F. There are more ways to calculate the coefficient of inbreeding, one of which is estimating inbreeding with use of homozygous runs (ROHs). Genomic inbreeding coefficient is usually based on the autosomal chromosomes, while the inbreeding on the X chromosome is neglected. In this thesis, ROHs>4 Mb, >8 Mb and >16 Mb are detected in individuals from Soay sheep population genotyped with Ovine 50K SNP chip and coefficients of inbreeding are determined for autosomal chromosomes and X chromosome. In addition, coefficients of inbreeding are determined for every autosomal chromosome, separately. Detected inbreeding on X chromosome is ~4 to 15 times higher than on the autosomal chromosomes, and values for autosomal and X-chromosomal inbreeding differ a lot in individuals and the correlation between two values is low. X inbreeding can be important in species that have most of their genome located on the X chromosome and those who have some important traits partially determined by genes on X chromosome and therefore must not be neglected.

Keywords: inbreeding, autosomal inbreeding, X inbreeding, ROH

Sadržaj:

1. UVOD 1
1.1. Inbriding 1
1.1.1. Važnost i posljedice djelovanja inbridinga 1
1.1.2. Načini dobivanja vrijednosti koeficijenta inbridinga (F) 2
1.2. Spolno vezano nasljeđivanje u izračunima genetskih parametara 2
1.2.1. Vrijednost kromosoma X u genetici 2
1.2.2. Genetske procjene u odnosu na kromosom X 3
1.2.3. Mehanizmi i važnost djelovanja X-kromosomalnog inbridinga 4
1.3. Markeri visoke rezolucije i njihova upotreba u genetskim procjenama 5
2. CILJ RADA 7
3. MATERIJALI I METODE 8
3.1. Podaci o analiziranoj populaciji 8
3.2. Izračun koeficijenata inbridinga (F) prema pedigreu 8
3.3. Izračun X-kromosomalnog koeficijenta inbridinga prema pedigreu 11
3.4. ROH analiza i izračun FROH 13
3.5. Analiza i usporedba dobivenih koeficijenata inbridinga 14
4. REZULTATI 15
4.1. Koeficijenti inbridinga temeljeni na pedigreu 15
4.2. ROH-ovi identificirani na autosomalnim i X kromosomu 15
4.3. Koeficijenti inbridinga procjenjeni na temelju ROH-ova 16
4.4. Usporedba koeficijenata inbridinga procijenjenih prema pedigreu i prema ROH-ovima 16
5. RASPRAVA 24
6. ZAKLJUČAK 27
7. LITERATURA 28
8. PRILOZI 31
ŽIVOTOPIS AUTORA 34

1. UVOD

1.1. Inbriding

Inbriding je po definiciji parenje jedinki u srodstvu, odnosno sa zajedničkim podrijetlom (Falconer, 1989). Određuje se u odnosu na neku „baznu“ populaciju koju čine jedinke koje nisu u srodstvu (Ballou, 1990). Uglavnom se radi o jedinkama za koje nisu dostupne informacije o precima te se stoga pretpostavlja da nemaju zajedničke pretke.

Jedinke koje dijele zajedničkog pretka mogu nositi alele na nekom lokusu koje su kopija jednog te istog alela iz prethodnih generacija te su tada ti aleli identični po porijeklu („identical by descent“; IBD). Od alela identičnih po porijeklu razlikujemo alele identične po stanju („identical by state“; IBS) koji nisu potekli od zajedničkog pretka. Jedinke koje na nekom lokusu nose dva alela identična po porijeklu nazivamo autozigotima (Falconer, 1989).

Koeficijent inbridinga (F) mjeri upravo vjerojatnost da su dva alela prisutna na nekom lokusu identična po porijeklu (IBD), odnosno da su nastala replikacijom jednog alela zajedničkog pretka (Ballou, 1983).

Vrijednosti koeficijenta inbridinga se kreću od 0 (za jedinke koje nisu u inbridingu) do 1 (za u potpunosti autozigotne jedinke). Koeficijent inbridinga bazne populacije po definiciji je 0 (Ballou, 1983).

Ako pretpostavimo nasumično parenje u svim generacijama tada je F potomaka vjerojatnost da dvije nasumično odabrane gamete iz roditeljske generacije nose identičan alel na nekom lokusu. To je ujedno i prosječni koeficijent inbridinga svih potomaka koji se promatra kao mjera disperzivnog procesa.

Uz koeficijent inbridinga važan parametar koji služi kao podloga za planiranje budućih parenja i izračun koeficijenata inbridinga sljedeće generacije je „kinship“ koeficijent (f). Kinship koeficijent za dvije jedinke je jednak koeficijentu inbridinga njihovog potencijalnog potomka. Kao što se za jedinke u baznoj populaciji pretpostavlja da im je koeficijent inbridinga jednak nuli, jednako tako se pretpostavlja da je kinship koeficijent između svih jedinki u baznoj populaciji jednak nuli.

1.1.1. Važnost i posljedice djelovanja inbridinga

Koeficijent inbridinga (F) je važan parametar koji daje uvid u razinu inbridinga u nekoj populaciji i razumijevanju djelovanja istog.

Posljedica djelovanja inbridinga je povećanje homozigotnosti populacije to jest povećanje frekvencije homozigotnih genotipova i smanjenje frekvencije heterozigota.

Povećanje homozigotnosti populacije se može smatrati štetnim, no isto tako se često iskorištava u proizvodnji homozigotnih linija koje nose neko poželjno svojstvo te u proizvodnji linija za znanstvena istraživanja kod kojih je poželjno da su jedinke genetički istovjetne.

Negativni učinci inbridinga su smanjenje genetskih vrijednosti za svojstva fitnesa kao što su zdravlje, plodnost i životni vijek te pojava inbriding depresije. Inbriding depresija je redukcija prosječne fenotipske vrijednosti populacije prikazana pokazateljima povezanim sa reproduktivnim kapacitetom ili fiziološkom učinkovitošću, na primjer veličina legla i laktacija. Kako bi se izbjegla pojava inbriding depresije potrebna je točna i osjetljiva procjena inbridinga (Ferenčaković et al., 2013a).

Hibridni vigour ili heterozis je pozitivna pojava koja iskorištava djelovanje inbridinga na način da se parenjem jedinki koje su u potpunosti u inbridingu dobivaju potomci s većom genetskom vrijednosti.

1.1.2. Načini dobivanja vrijednosti koeficijenta inbridinga (F)

Koeficijent inbridinga se može izračunati samo preko pedigrea ili upotrebom molekularnih markera i pedigrea.

Do vrijednosti koeficijenta inbridinga preko pedigrea se najčešće dolazi na tri načina:

1. Analizom putanje („Path Analysis“)
2. Preko matrice aditivne srodnosti („Additive Matrix Relationship“)
3. „Gene dropping"

1.2. Spolno vezano nasljeđivanje u izračunima genetskih parametara

1.2.1. Vrijednost kromosoma X u genetici

Kromosom X predstavlja važan izvor informacija u studijama, posebice populacijske genetike. Kao genetski marker sadrži puno više genetskih informacija od kromosoma Y i mitohondrijske DNA, a lakše ga je i jeftinije analizirati od autosoma.

Karakteristike kromosoma X kao genetskog markera su veličina od 150Mb, stotine informativnih lokusa, niska stopa mutacije (0,015 mutacija po Mb u jednoj generaciji), stopa rekombinacije od 0,8cM/Mb, umjerena raznolikost (0,04%) i efektivna veličina populacije (Ne)

koja iznosi ¾ u odnosu na autosome. Pod utjecajem je umjerenog genetskog drifta te ima dostupne haplotipove koji se mogu analizirati (Schaffner, 2004).

Niska stopa mutacija i efektivna veličina populacije kromosoma X utječu na smanjenu razinu raznolikosti kromosoma X, a radi manje efektivne veličine populacije je djelovanje genetskog drifta brže na kromosomu X nego kod autosoma, što rezultira izraženijom strukturom populacije. Navedena stopa rekombinacije na kromosomu X je rezultat toga što rekombinira samo kod ženki, a iznosi skoro točno 2/3 genomskog prosjeka (Schaffner, 2004).

Kromosom X je vrlo interesantan marker u istraživanju evolucije i uloge selekcije. S obzirom da mužjaci nose samo jednu kopiju kromosoma X, X-vezani aleli su više izloženi prirodnoj selekciji (Schaffner, 2004., Vicoso and Charlesworth, 2006). Još jedan razlog bržeg djelovanja selekcije na kromosom X je viša razina LD-a („linkage disequilibrium“) radi čega selekcija utječe na veće regije nego što je to slučaj kod autosoma. Pretpostavka je da brža selekcija učinkovitije fiksira korisne recesivne i uklanja štetne recesivne mutacije. S obzirom na jači utjecaj selekcije ubrzana je i evolucija sekvenci proteina za X-vezane gene u odnosu na autosomalne (Vicoso and Charlesworth, 2006).

1.2.2. Genetske procjene u odnosu na kromosom X

Genetske procjene se u većini slučajeva određuju s pretpostavkom autosomalnog nasljeđivanja, dok se procjene u odnosu na spolno vezano nasljeđivanje zanemaruju. Uglavnom je ta praksa dobra jer kod većine vrsta autosomalni kromosomi brojčano nadjačavaju spolne kromosome pa se tako i puno više gena koji određuju bitna svojstva nalazi na autosomima.

Međutim, prepoznata je važnost određivanja genetskih procjena u odnosu na X – vezano nasljeđivanje, posebice kod vrsta koje imaju manji broj kromosoma ili imaju više spolno vezanih gena, kao što su vinska mušica (Drosophila melanogaster) i pčela medarica. Smatra se da Y kromosom sadrži inertni lokus te ga se radi toga ignorira kod procjena genetskih parametara (Grossman, 1990).

Kod stoke broj autosomalnih kromosoma nadvladava broj spolnih kromosoma, no neka svojstva od ekonomske važnosti se nasljeđuju spolno vezano te je stoga važno uključivanje X-kromosomalnih aditivnih efekata u modele procjene genetske vrijednosti jedinke (Fernando and Grossman, 1990) unatoč tome što se pretpostavlja da X-kromosomalno nasljeđivanje nosi samo oko 5 do 10% ukupne genetske varijance kod domaćih životinja (Grossman and Eisen, 1989).

X-kromosomalno nasljeđivanje ima značajan utjecaj na mliječnost kod Holstein krava i tjelesnu masu kod peradi (Grossman, 1990).

Načini dobivanja različitih genetskih parametara se značajno razlikuju za X-vezano nasljeđivanje od onih za autosomalno nasljeđivanje. Kod formula u izračunima parametara u odnosu na autosomalne lokuse podrazumijeva se da je populacija u genotipskom ekvilibrijumu dok je kod X-kromosomalnog nasljeđivanja populacija uvijek u genotipskom disekvilibrijumu. U literaturi su prikazani razni načini izračuna kovarijanci između srodnika s pretpostavkom da je populacija u ekvilibrijumu i obrnuto (Grossman, 1990).

Kod izračuna koeficijenata inbridinga (F) i koeficijenta kinshipa (f) gledajući X-kromosomalno nasljeđivanje je važno znati kako su spolovi raspoređeni u pedigreu, s obzirom na to da ženke nose dva kromosoma X, a mužjaci samo jedan.

X-kromosomalni koeficijent inbridinga za muške jedinke je nedefiniran. Za ženske jedinke koeficijent inbridinga odgovara vjerojatnosti da su dva homologna alela naslijeđena od roditelja identična po porijeklu (IBD), što je jednako kao kod autosomalnog nasljeđivanja (Grossman, 1990). Vrijednosti X-kromosomalnog koeficijenta inbridinga za ženske jedinke se kreće od 0 do 1, ovisno o distribuciji spolova u pedigreu (Calderón et al., 2009).

Kod izračuna koeficijenta kinshipa s obzirom na X-kromosomalno nasljeđivanje činjenica da ženke posjeduju dva kromosoma X, a mužjaci samo jedan mijenja i vjerojatnost da su aleli koje posjeduju dvije jedinke IBD (Grossman, 1990).

1.2.3. Mehanizmi i važnost djelovanja X-kromosomalnog inbridinga

Inbriding na kromosomu X se dovodi u vezu sa povećanjem smrtnosti kod ženki, pomakom odnosa ženskog i muškog spola prema muškom (Robinson et al., 2014) te smanjenjem efektivne veličine populacije (Ne).

Do povećane smrtnosti homogametnog spola dolazi radi povećanja frekvencije letalnih, spolno ograničenih alela. Sa povećanjem X-kromosomalnog koeficijenta inbridinga dolazi do ispoljavanja tih alela što rezultira većom inbriding depresijom kod homogametnog spola (Robinson et al., 2014).

Inbriding remeti odnose spolova na način da povećava stopu smrtnosti homogametnog spola, što dovodi i do smanjenja efektivne veličine populacije (Ne). Kod placentalnih sisavaca i većine

kralježnjaka se pretpostavlja odnos spolova nagnut prema mužjacima što dovodi do povećanog rizika od izumiranja (Robinson et al., 2014).

1.3. Markeri visoke rezolucije i njihova upotreba u genetskim procjenama

SNP („Single Nucleotide Polymorphism“) je genetski molekularni marker koji je našao veliku upotrebu u znanstvenim istraživanjima na području genetike, ekologije, evolucije, genetske raznolikosti itd. Radi se, kao što im ime kaže, o polimorfizmima samo jednog nukleotida, a razlika između SNP-a i točkaste mutacije je ta da je frekvencija SNP-a u populaciji puno veća nego točkaste mutacije. Ako je frekvencija polimorfizma jednog nukleotida u populaciji manja od 1% radi se o točkastoj mutaciji, a ako je veća od 1% radi se o SNP-u.

SNP-ovi su vrlo učestali u genomu, primjerice, u ljudskom genomu je svaki 300-ti nukleotid SNP. Radi velike pokrivenosti genoma SNP-ovima se mogu dobiti veoma točne procjene genetskih parametara. Što je veća gustoća analiziranih SNP-ova govorimo o većoj rezoluciji informacija koje oni daju.

Preko SNP-ova moguće je odrediti homozigotne odsječke („Runs of Homozygosity“ ili ROH-ove) te na taj način napraviti procjenu autozigotnosti odnosno procjenu koliki dio genoma je identičan po porijeklu.

ROH-ovi su kontinuirani odsječci homozigotnih genotipova bez heterozigotnosti u diploidnom stanju. Smatra se da je glavni uzrok njihova nastajanja inbriding te su stoga dobar alat u procjeni razine inbridinga, posebice kad nije dostupan pedigre (Ferenčaković et al., 2013b). Po dužini homozigotnih odsječaka je moguće odrediti i kad se inbriding dogodio. Dugački homozigotni odsječci govore u prilog nedavnom inbridingu, dok kraći homozigotni odsječci upućuju na davni inbriding. Očekivana dužina ROH-ova prati eksponencijalnu distribuciju sa prosjekom od ½ g Morgana, gdje je g broj generacija od zajedničkog pretka (Ferenčaković et al., 2013a).

Vrijednosti koeficijenata inbridinga iz ROH-ova ovise i o samom načinu postavljenih parametara kod određivanja ROH-ova. Tako primjerice gustoća SNP čipova koji se koriste u određivanju ROH-ova te daljnje manipulacije sa SNP-ovima (čišćenje SNP-ova sa niskom frekvencijom rjeđih alela, onih koji odstupaju od Hardy-Weinbergove ravnoteže i onih koji pokazuju visoki LD („linkage disequilibrium“) mogu utjecati na rezultate. Također je važno uzeti u obzir i greške genotipizacije SNP-ova, bilo da su heterozigotni SNP-ovi pogrešno genotipizirani kao homozigotni, ili obrnuto (Ferenčaković et al., 2013b).

Prednosti određivanja inbridinga preko ROH-ova nasuprot određivanju iz pedigrea su te da inbriding određen iz ROH-ova uzima u obzir i inbriding bazne populacije za koju se inače smatra da nije u inbridingu, stohastičku prirodu rekombinacije i selekciju. Također se u određivanju inbridinga uz pomoć ROH-ova izbjegavaju česte pogreške koje se javljaju u pedigreima radi krive interpretacije, krive identifikacije i netočnih zapisa.

2. **CILJ RADA**

Cilj ovog rada je analizirati razlike u procijenjenim genomskim koeficijentima inbridinga kod ženskih jedinki koristeći informacije markera visoke rezolucije koji se nalaze na autosomima te X kromosomu.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Podaci o analiziranoj populaciji

U izračunima su korišteni podaci o populaciji Soay ovaca (Johnston et al., 2016).

U dostupnom pedigreu za analiziranu populaciju Soay ovaca nalazile su se 6752 jedinke, od toga 3527 ženki i 3225 mužjaka, sa poznatim spolovima i godinom rođenja za većinu jedinki u pedigreu.

Kod 5805 jedinki je genotipizirano 51 135 SNP-ova upotrebom Ovine SNP BeadChipom od Illumine (Ovine SNP50 BeadChip, Illumina, San Diego). Na podacima je provedena kontrola kvalitete, uklonjeni su SNP-ovi sa frekvencijom manje frekventnog alela („minor allele frequency“, MAF) manjom od 0,01, SNP-ovi koji se pojavljuju u manje od 90% jedinki te su uklonjene jedinke kojima 5% ili više SNP-ova nije uspješno genotipizirano i one kod kojih je više od 90% genotipova SNP-ova identično po stanju (IBS). Nakon provedene kontrole kvalitete za daljnju analizu su ostale 5662 jedinke i 39 103 SNP-ova.

3.2. Izračun koeficijenata inbridinga (F) prema pedigreu

Metoda izračuna koeficijenta inbridinga analizom putanje se temelji na praćenju putanja u pedigreu, od jedinke za koju računamo koeficijent inbridinga, unazad do zajedničkog pretka roditelja i izračunu vjerojatnosti da je jedinka naslijedila dva alela identična po porijeklu (IBD).

U izračunu se koristi slijedeća formula:

$$F_X = \sum^{j} \left(\frac{1}{2}\right)^{n} (1 + F_A)$$

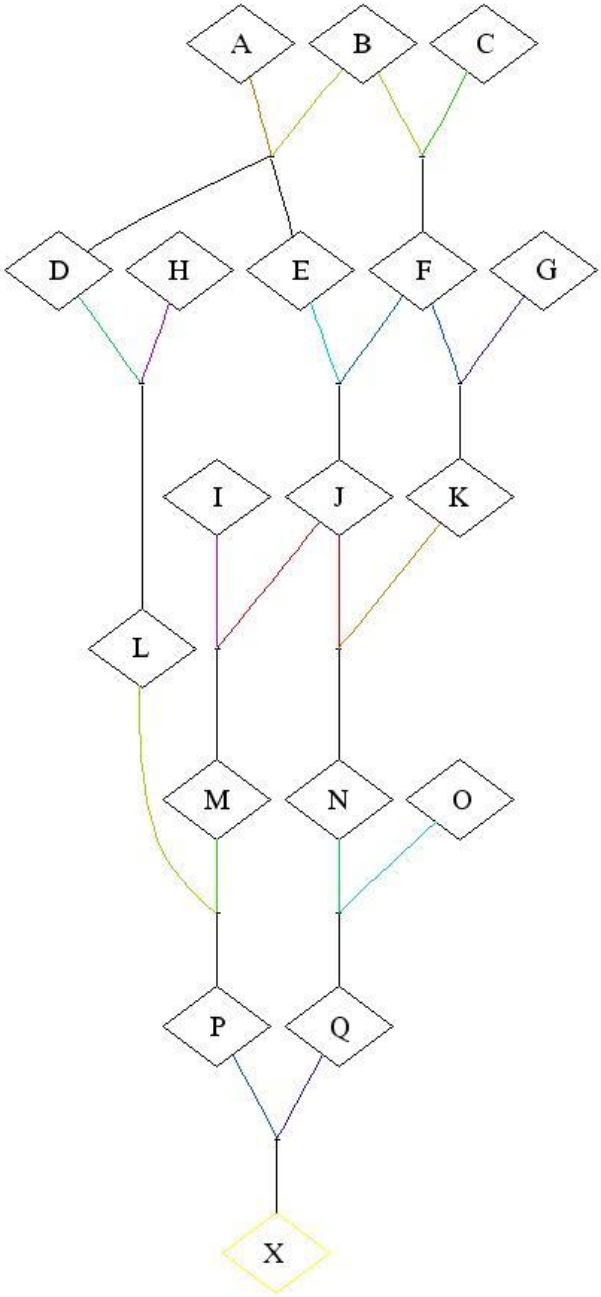
gdje je:

j = broj mogućih putanja kroz sve zajedničke pretke

n = broj jedinki u putanji

FA = koeficijent inbridinga zajedničkog pretka

Koeficijent inbridinga jedinke se dobiva na način da se izračuna doprinos svake putanje koeficijentu inbridinga, uključujući inbriding zajedničkog pretka ako je i on u inbridingu te se svi doprinosi zbroje, tvoreći tako koeficijent inbridinga te jedinke.



Slika br. 1: Primjer pedigrea (Falconer, 1989)

Na primjeru pedigrea (Falconer, 1989) možemo vidjeti slijedeće putanje sa odgovarajućim doprinosima prikazanim u tablici 1.

Tablica 1. Izračun koeficijenta inbridinga metodom praćenja putanje na primjeru pedigrea (Falconer, 1989)

Putanja	n	F_A	Doprinos F_X
P L D <u>A</u> E J N Q	8	0	$\left(\frac{1}{2}\right)^8 = 0{,}0039$
P L D <u>B</u> E J N Q	8	0	$\left(\frac{1}{2}\right)^8 = 0{,}0039$
P L D <u>B</u> F J N Q	8	0	$\left(\frac{1}{2}\right)^8 = 0{,}0039$
P L D <u>B</u> F K N Q	8	0	$\left(\frac{1}{2}\right)^8 = 0{,}0039$
P M J E <u>B</u> F K N Q	9	0	$\left(\frac{1}{2}\right)^9 = 0{,}0020$
P M J <u>F</u> K N Q	7	0	$\left(\frac{1}{2}\right)^7 = 0{,}0078$
P M <u>J</u> N Q	5	$\frac{1}{8}$	$\left(\frac{1}{2}\right)^5 \times \frac{9}{8} = 0{,}0352$
		FX =	0,0606

Zajednički predak u svakoj putanji je podvučen. Kod praćenja putanje se zatvara krug na način da nema vraćanja na jedinke koje su već ubrojene u tu putanju.

U posljednje navedenoj putanji jedinka N je u inbridingu te se stoga u izračunu doprinosa te putanje pridodaje i koeficijent inbridinga jedinke N

FN= , a putanja je J E <u>B</u> F K.

Rezultat koeficijenta inbridinga za jedinku X u primjeru pedigrea provjeren je upotrebom programa VanRaden (Pedig software package, 2002).

Za pripremu Soay pedigrea za daljnju analizu je korišten program CFC (Release 1.0).

Koeficijenti inbridinga jedinki (F_{PED}) su izračunati za sve jedinke u dostupnom pedigreu Soay ovaca upotrebom programa Endog 4.8. Prosječni koeficijent inbridinga populacije je izračunat u programu SAS 9.3.

Kvalitete pedigrea je provjerena pomoću ekvivalenta kompletnih generacija („complete generation equivalent“, CGE). Ekvivalent kompletnih generacija se računa kao suma odnosa preko svih poznatih predaka koji se računaju kao suma $(1/2)^n$ gdje je n broj generacija koje odvajaju jedinku od svakog poznatog pretka (Maignel et al., 1996, Ferenčaković et al., 2013a). Prosječni koeficijent inbridinga Soay populacije sa uključenim jedinkama koje imaju CGE ≥ 5 (F_{PED5}) je izračunat pomoću programa SAS 9.3.

3.3. Izračun X-kromosomalnog koeficijenta inbridinga prema pedigreu

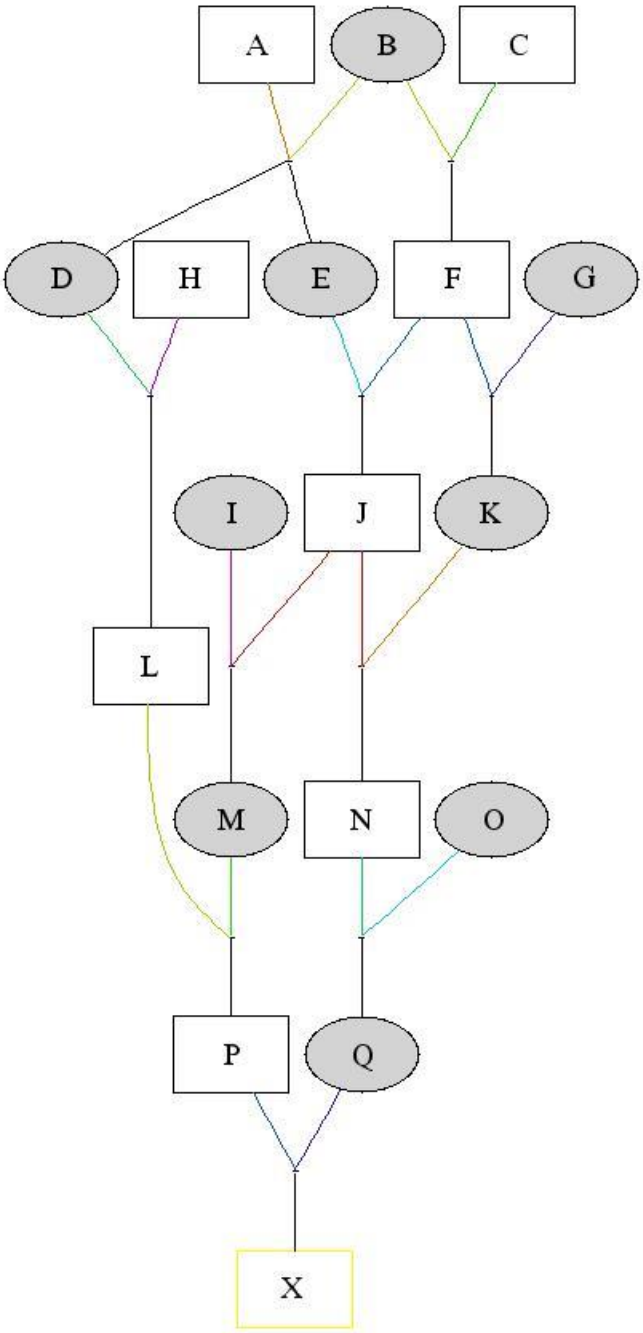
U izračunu X-kromosomalnog koeficijenta inbridinga se koristi jednaka formula uz nekoliko drugačijih pravila: u putanji se broje samo ženske jedinke, a svaka putanja u kojoj su uzastopno dvije ili više muške jedinke se prekida.

$$F_X = \sum^{k} \left(\frac{1}{2}\right)^{m} (1 + F_A)$$

k = broj mogućih putanja kroz sve zajedničke pretke, manje broj putanja sa dvije ili više uzastopnih muških jedinki

m = broj ženki u svakoj putanji

FA = koeficijent inbridinga zajedničkog pretka



Slika br.2: Primjer pedigrea sa poznatim spolovima jedinki

Na slici broj 2 je prikazan pedigre jednak onome na slici 1, sa različito označenim muškim i ženskim jedinkama. Muške jedinke su u bijelim kvadratima, a ženske jedinke u sivim krugovima.

Na primjeru prikazanog pedigrea, jedina putanja koja se ubraja u izračun X-kromosomalnog koeficijenta inbridinga za jedinku X je slijedeća:

M E B K Q, što dovodi do F_X od 0,03125.

Ova putanja odgovara putanji P M J E B F K N Q kod izračuna autosomalnog koeficijenta inbridinga, osim što se muške jedinke u ovom slučaju ne ubrajaju u putanju. Sve ostale putanje prikazane kod izračuna autosomalnog koeficijenta inbridinga su prekinute radi dvije ili više uzastopne muške jedinke u putanji.

Za izračun X-kromosomalnog koeficijenta inbridinga populacije Soay ovaca korišten je program KinInbCoefX v2.0. X-kromosomalni koeficijent inbridinga za mužjaka uvijek definira kao 1, dok ga za ženke definira kao X-kromosomalni koeficijent kinshipa između roditelja jedinke.

U izračunu prosječnog X-kromosomalnog koeficijenta inbridinga (F_{PEDX}) su izostavljene muške jedinke radi nepristranosti rezultata.

Za grafički prikaz primjera pedigrea korišten je program Pedigraph v2.4.

3.4. ROH analiza i izračun FROH

Minimalna dužina ROH-ova je postavljena na 4Mb kako bi se izbjegla pristranost rezultata radi genotipiziranja 50K SNP čipom.

ROH-ovi su detektirani programom TOH Clustering Suite v1.0. prateći slijedeće postavke: minimalne dužine potrebne za definiranje ROH-a više od 4 Mb, više od 8 Mb te više od 16 Mb, maksimalna praznina između uzastopnih homozigotnih SNP-ova 1 Mb, maksimalni broj nedostajućih genotipova za ROH>4 Mb postavljen na 1, za ROH>8 Mb na 2 te za ROH>16 Mb na 4, maksimalni broj heterozigotnih genotipova za ROH>4 Mb i ROH>8 Mb postavljen na 0 te za ROH>16 Mb na 1.

Dužine potrebne za definiranje ROH-a više od 4 Mb, više od 8 Mb i više od 16 Mb predstavljaju do oko 25, oko 6 te oko 3 generacije od zajedničkog pretka.

ROH-ovi su određeni za 5662 jedinke, za svaki autosomalni kromosom (26) i X kromosom posebno te za sve autosomalne kromosome zajedno.

Koeficijent inbridinga baziran na ROH-ovima (F_{ROH}) za pojedinačne autosome je definiran kao dužina svakog pojedinog kromosoma sadržanog u ROH-ovima, podijeljena sa ukupnom dužinom kromosoma za koji se određuju ROH-ovi pokrivenom SNP-ovima. Ukupni koeficijent inbridinga za autosome ($F_{ROH\ 1\text{-}26}$) je definiran kao dužina autosoma sadržanog u ROH-ovima, podijeljena sa ukupnom dužinom genoma (izuzev dužine X kromosoma) pokrivenom SNP-ovima.

Koeficijent inbridinga baziran na ROH-ovima za X kromosom (F_{ROHX}) je definiran kako dužina X kromosoma sadržana u ROH-ovima, podijeljena sa ukupnom dužinom X kromosoma pokrivenom SNP-ovima.

Ukupna dužina genoma pokrivenog SNP-ovima za sve autosome je iznosila 2 438 893 625 pb, a uz dužinu X kromosoma ukupna dužina je iznosila 2 573 886 999 pb.

Koeficijenti inbridinga su određeni za svaku jedinku za svaki kromosom posebno te za sve autosome zajedno, i to prema ROH>4 Mb ($F_{ROH>4\ Mb}$), ROH>8 Mb ($F_{ROH>8\ Mb}$) te ROH>16 Mb ($F_{ROH>16\ Mb}$). Koeficijenti inbridinga su izračunati upotrebom SAS 9.3 software-a.

3.5. Analiza i usporedba dobivenih koeficijenata inbridinga

Prosječne vrijednosti i stanardne devijacije FROH su izračunate za sve kromosome zasebno i autosomalne kromosome zajedno.

Uspoređene su vrijednosti FROH po kromosomima te su analizirani odnosi izračunatih koeficijenata inbridinga, i to odnosi koeficijenata inbridinga izračunatih na temelju pedigrea (FPED i FPEDX) sa koeficijentima inbridinga izračunatih na temelju ROH-ova (FROH>4 Mb, FROH>8 Mb, FROH>16Mb i FROHX>4 Mb, FROHX>8 Mb, FROHX>16 Mb), odnos koeficijenata inbridinga izračunatih na temelju pedigrea (FPED i FPEX) te odnos koeficijenata inbridinga izračunatih prema ROH-ovima za autosomalne kromosome i X kromosom (FROH i FROHX). U analizi je naglasak stavljen na posljednje navedeni odnos (FROH i FROX). Koeficijenti inbridinga su uspoređeni pomoću SAS 9.3 software-a.

4. REZULTATI

4.1. Koeficijenti inbridinga temeljeni na pedigreu

Prosječni koeficijent inbridinga na temelju pedigrea (F_{PED}) je iznosio 0,0031 sa najvećom vrijednosti od 0,2631. Od 6752 jedinke u pedigreu njih 821 (12,16%) je imala kompletnost pedigrea do 5 ili više generacija unatrag sa prosječnim koeficijentom inbridinga (F_{PED5}) od 0,0029. Prosječna vrijednost ekvivalenta kompletnih generacija (CGE) je iznosila 2,8 generacija unatrag.

Prosječni X kromosomalni koeficijent inbridinga za ženske jedinke je iznosio 0,0039.

Tablica 2: Deskriptivna statistika vrijednosti koeficijenata inbridinga na temelju pedigrea

Koeficijent inbridinga	Prosjek	SD	Max
FPED	0,0031	0,0182	0,2631
FPED5	0,0029	0,0182	0,2578
FPEDX	0,0039	0,0327	0,5000

4.2. ROH-ovi identificirani na autosomalnim i X kromosomu

Kod 5662 jedinke na svim autosomalnim kromosomima je identificirano u prosjeku 41,44 homozigotnih segmenata većih od 4 Mb, 9,99 segmenata većih od 8 Mb te 1,63 segment veći od 16 Mb. Na X kromosomu je prosječno po jedinci identificirano 6,22 homozigotnih segmenata većih od 4 Mb, 3,17 većih od 8 Mb te 1,05 većih od 16 Mb.

Kad se gledaju odnosi broja identificiranih segmenata na pojedinačnim kromosomima, za X kromosom je broj identificiranih segmenata 3,9 puta veći za ROH>4 Mb, 8,2 puta veći za ROH>8 Mb i 16,8 puta veći za ROH>16 Mb.

Na autosomima su dužine homozigotnih segmenata u prosjeku iznosile 295,49 Mb, a najduži segment je iznosio 1186,50 Mb, dok je na X kromosomu prosječna dužina homozigotnih segmenata iznosila 69,02 Mb, a najduži segment je bio dužine 127,65 Mb. Deskriptivna

statistika za ROH>4 Mb, ROH>8 Mb i ROH>16 Mb po kromosomima je vidljiva u Prilogu broj 1.

4.3. Koeficijenti inbridinga procjenjeni na temelju ROH-ova

Za autosomalne kromosome najmanji $F_{ROH>4\ Mb}$ je identificiran na kromosomu 4, a najveći na kromosomu 26, najmanji $F_{ROH>8\ Mb}$ na kromosomu 11, a najveći na kromosomu 2 te najmanji $F_{ROH>16\ Mb}$ na kromosomu 21, a najveći na kromosomu 9. Koeficijenti inbridinga izračunati na temelju ROH-ova po kromosomima su iznosili za autosomalne kromosome zasebno za $F_{ROH>4\ Mb}$ od 0,122 do 0,19, za $F_{ROH>8\ Mb}$ od 0,037 do 0,091 te za $F_{ROH>16\ Mb}$ od 0,009 do 0,0196.

Koeficijent inbridinga za autosome je iznosio 0,121 za ROH>4 Mb, 0,052 za ROH>8 Mb i 0,015 za ROH>16 Mb.

Koeficijent inbridinga za X kromosom je iznosio 0,511 za ROH>4 Mb, 00,393 za ROH>8 Mb i 0,232 za ROH>16 Mb.

4.4. Usporedba koeficijenata inbridinga procijenjenih prema pedigreu i prema ROH-ovima

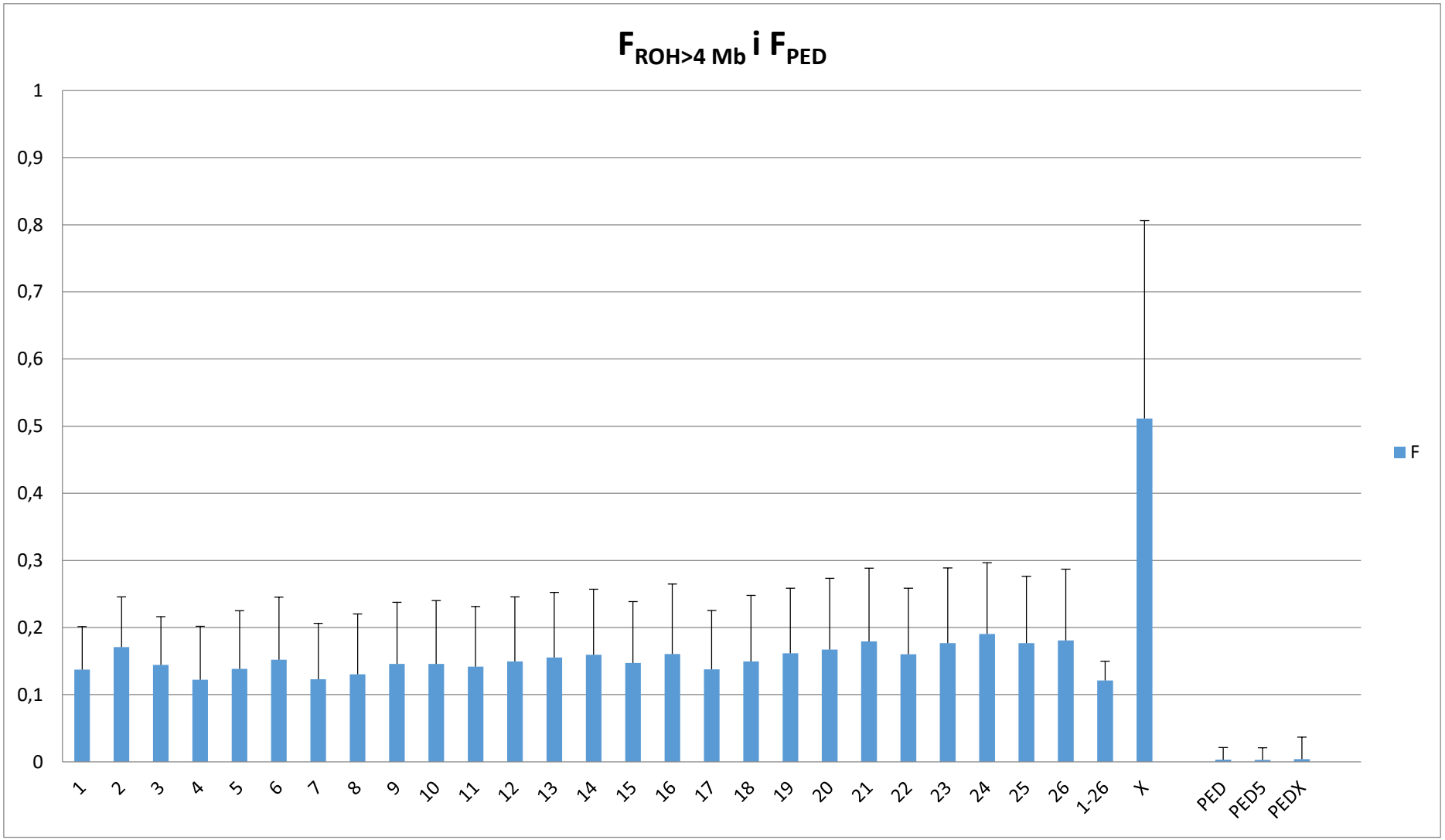
Koeficijent inbridinga temeljen na pedigreu je manji za 0,0002 ako se u izračunu uzmu u obzir samo 5 generacija unatrag, odnosno P_{FED} je 1,06 puta veći od F_{PED5}. Koeficijent inbridinga za X kromosom je nešto manji od koeficijenta za cijeli pedigre, odnos F_{PED} i F_{PEDX} je iznosio 1:1,26.

Uočena je velika razlika između vrijednosti koeficijenata inbridinga izračunatih na temelju pedigrea i onih izračunatih prema ROH-ovima. Vrijednost $F_{ROH>4\ Mb}$ je bila 39,08 puta veća, $F_{ROH>8\ Mb}$ 16,61 puta i $F_{ROH>16\ Mb}$ 4,91 puta veća od vrijednosti F_{PED}, dok su od vrijednosti F_{PED5} vrijednosti $F_{ROH\ >4\ Mb}$, >8 Mb i >16Mb bile 14,60, 6,20 i 1,83 puta veće.

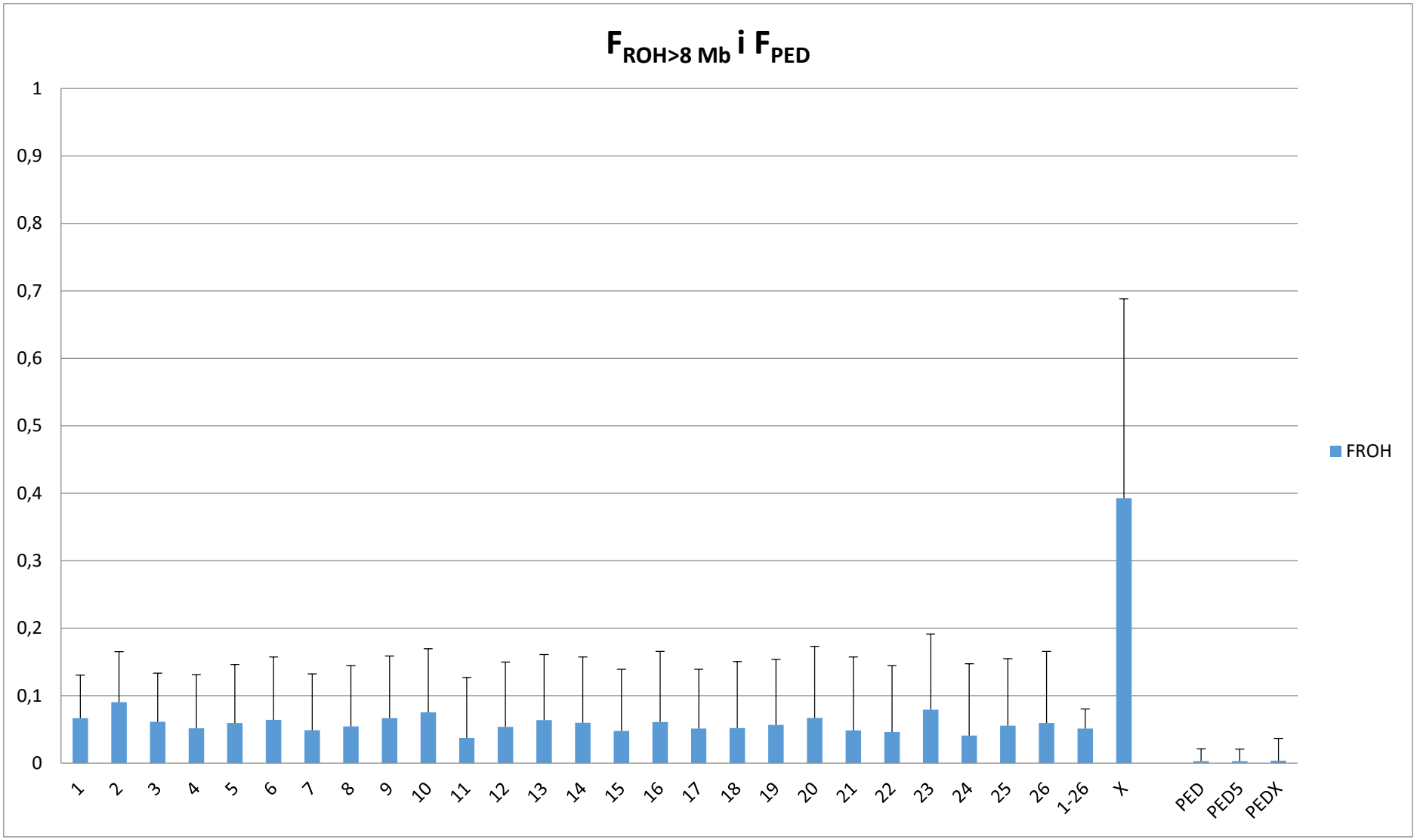
Standardne devijacije koeficijenata inbridinga za autosome su bile 1,2 do 1,6 puta veće od onih dobivenih za pedigree. Za X kromosom su bile upola manje nego za F_{PEDX}.

Vrijednosti koeficijenata inbridinga za X kromosom su bili puno veće od vrijednosti koeficijenata inbridinga za autosome, točnije 4,22 puta, 7,6 puta i 15,47 puta veći, ovisno da li se radilo o $F_{ROH>4\ Mb}$, $F_{ROH>8\ Mb}$ ili $F_{ROH>16\ Mb}$.

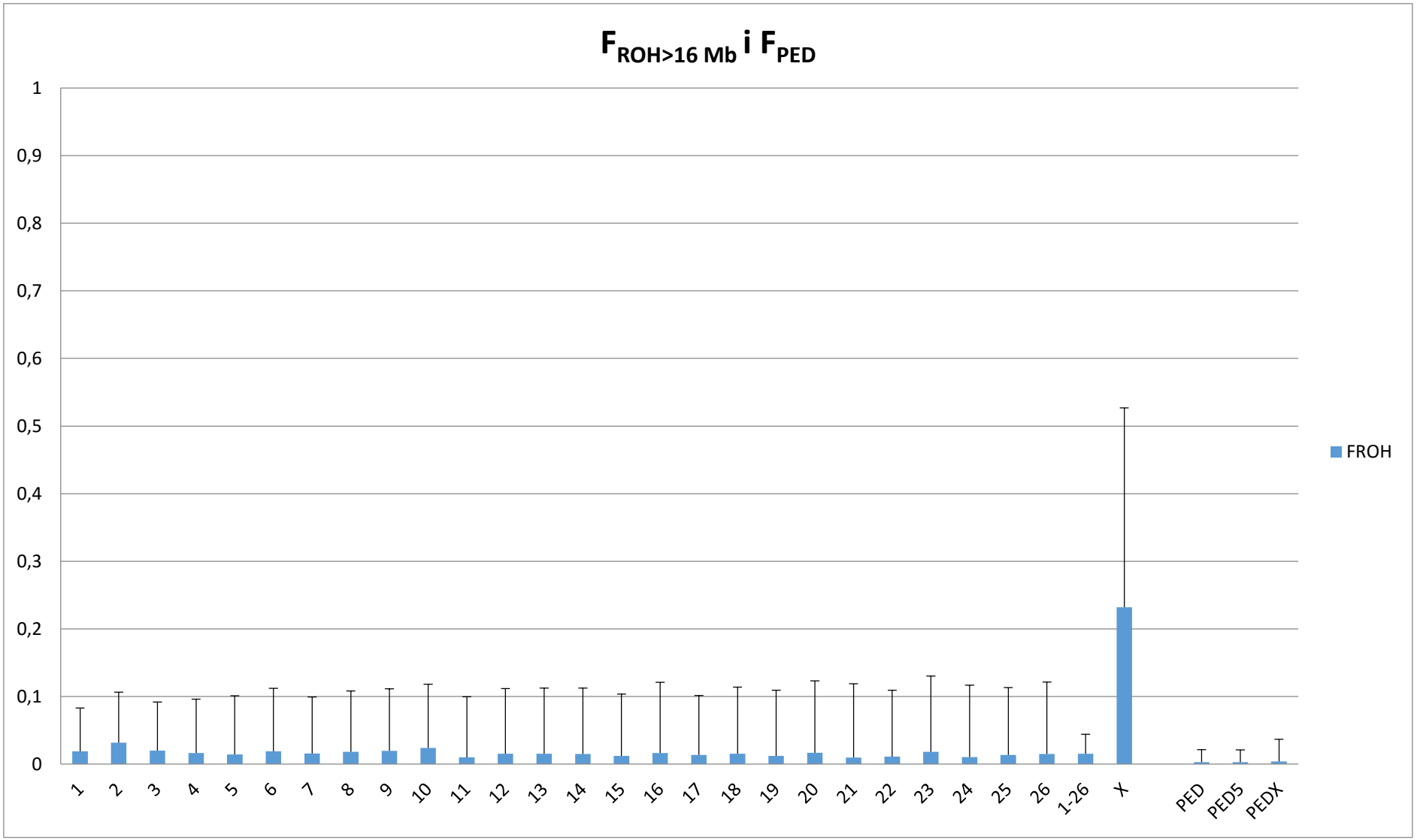
Grafikon 1. Prosječni koeficijenti inbridinga temeljeni na pedigreu i FROH>4 Mb



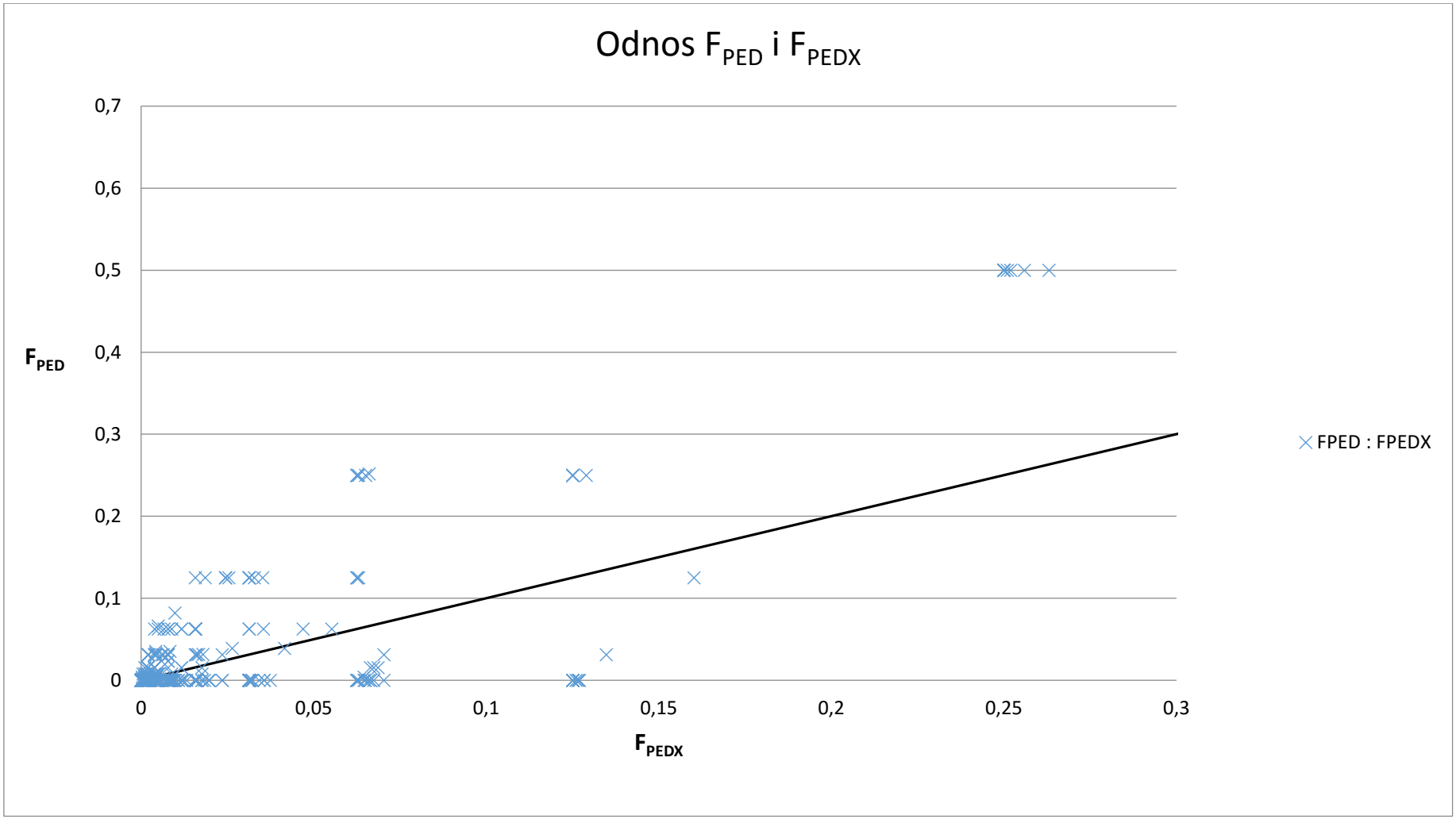
Grafikon 2. Prosječni koeficijenti inbridinga temeljeni na pedigreu i FROH>8 Mb



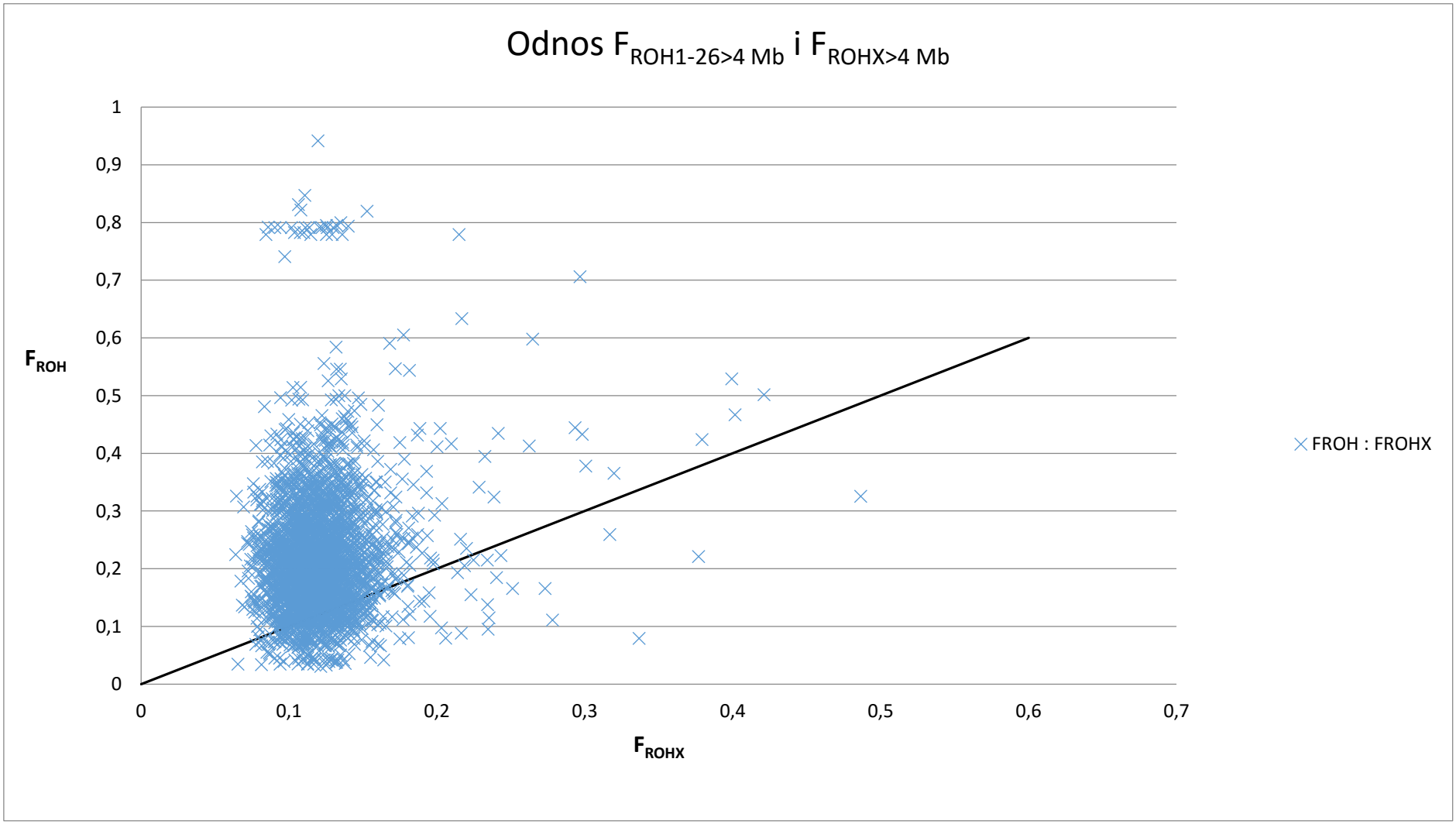
Grafikon 3. Prosječni koeficijenti inbridinga temeljeni na pedigreu i FROH>16 Mb



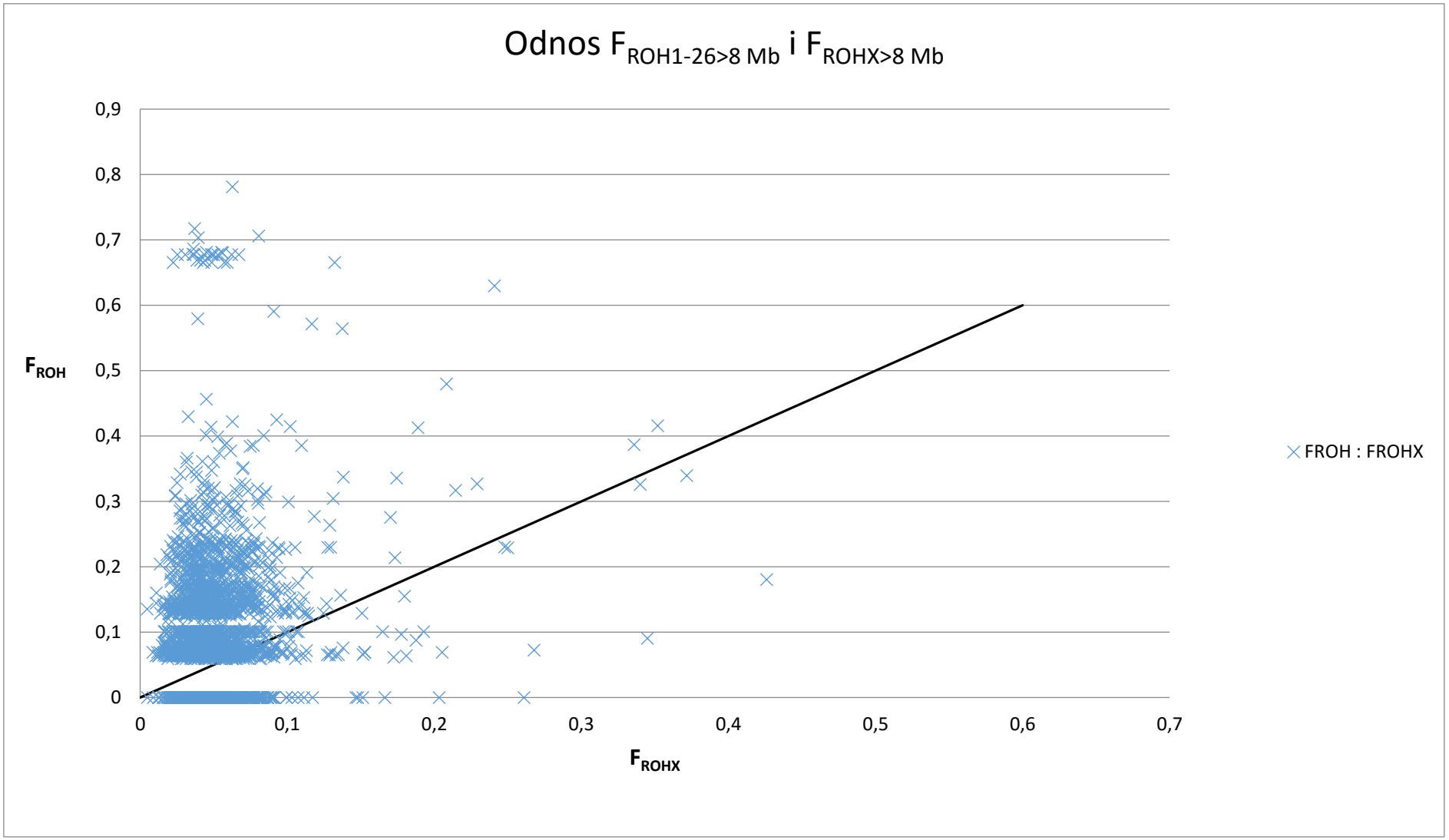
Grafikon 4. Scatter plot odnosa koeficijenta inbridinga i koeficijenta inbridinga X kromosoma izračunatih na temelju pedigrea (r=0,82)



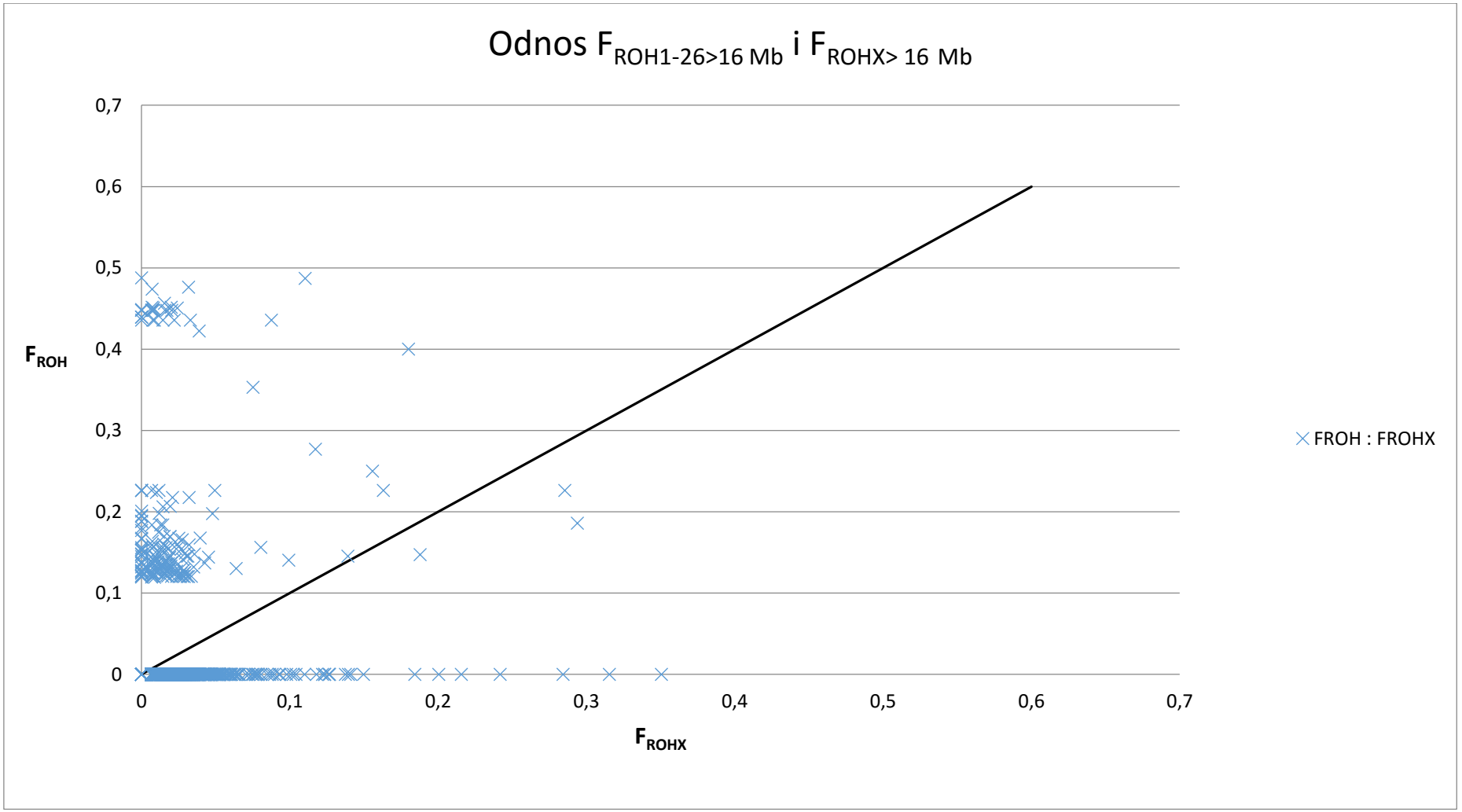
Grafikon 5. Scatter plot odnosa koeficijenta inbridinga i koeficijenta inbridinga X kromosoma izračunatih na temelju ROH>4 Mb (r=0,12)



Grafikon 6. Scatter plot odnosa koeficijenta inbridinga i koeficijenta inbridinga X kromosoma izračunatih na temelju ROH>8 Mb (r=0,13)



Grafikon 7. Scatter plot odnosa koeficijenta inbridinga i koeficijenta inbridinga X kromosoma izračunatih na temelju ROH>16 mB (r=0,1)



5. RASPRAVA

Skupovi podataka o populacijama Soay ovaca čine jedne od najopsežnijih skupova podataka o divljim populacijama što se tiče genomskih informacija i gustoće uzorkovanja.

Kod analizirane populacije Soay ovaca na temelju pedigrea je procijenjen prosječni koeficijent inbridinga 0,0031, odnosno 0,0029 ako se u izračunu gleda samo 5 generacija unatrag. Koeficijenti inbridinga pojedinih jedinki prelaze vrijednost od 0,25 što je uobičajena pojava i u drugim istraživanim divljim populacijama ovaca kao što je Bighorn ovca te kod drugih divljih životinja (Keller and Waller, 2002). Kod populacija domaćih ovaca prosječni koeficijenti inbridinga dobiveni na temelju pedigrea su viši (Drobik and Martyniuk, 2016, Gowane et al., 2016), kao što je slučaj i kod drugih domaćih životinja (Danchin-Burge et al., 2012, Thompson et al., 2000, VanRaden et al., 2011).

Prosječni koeficijent inbridinga za X kromosom izračunat na temelju pedigrea je bio samo 1,26 puta veći , no ta procjena je pristrana s obzirom na nisku kompletnost pedigrea.

ROH analizom je u prosjeku identificirano više homozigotnih odsječaka na X kromosomu nego na autosomalnim kromosomima. Odnos broja identificiranih homozigotnih odsječaka se povećava u prilog X kromosoma sa povećanjem dužine ROH-a, što govori u prilog nedavnom inbridingu na X kromosomu. Dužine ROH-ova identificirane kod analizirane populacije Soay ovaca su slične onima u literaturi kojoj je su tema istraživanja bile populacije ovaca (Manunza et al., 2016), no u ovom slučaju se radi o puno većem uzorku.

U usporedbi koeficijenata inbridinga dobivenih na temelju pedigrea i ROH analizom može se vidjeti da su vrijednosti inbridinga prema ROH-ovima veće nego za vrijednosti inbridinga prema pedigreu, i to puno veće kad se uspoređuju F_{ROH} i F_{PED} nego kad se uspoređuju F_{ROH} i F_{PED5} što je uobičajena pojava kod nedovoljno kompletnih pedigrea. Također, odnos u vrijednostima se jako razlikuje ovisno o tome da li je minimalna dužina ROH-a postavljena na 4 Mb, 8 Mb ili 16 Mb. Najmanja razlika je u odnosu F_{PED} i $F_{ROH>16\ Mb}$, gdje je vrijednost $F_{ROH>16\ Mb}$ 5,25 puta veća od F_{PED}. Broj ROH segmenata od 1-4 Mb se precjenjuje kod upotrebe 50k SNP čipa (Ferenčaković et al., 2013b) te je moguće da je i u ovom slučaju detektiran nešto veći broj segmenata većih od 4 Mb. Viši koeficijenti inbridinga za $F_{ROH>\ 4\ Mb}$ su mogući radi precjenjivanja broja segmenata ROH>4 Mb, no vjerojatnije je da je sa $F_{ROH>4\ Mb}$ detektiran inbriding više generacija unatrag koji nije mogao biti detektiran preko pedigrea radi nekompletnosti istog.

$F_{ROH>8\ Mb}$ predstavlja inbriding do oko 6 generacija unatrag (Ferenčaković et al., 2013a) te je taj inbriding bolje detektiran i na temelju pedigrea. Što se tiče vrlo dugih ROH segmenata većih od 16 Mb, oni predstavljaju nedavni inbriding do oko 3 generacije (Ferenčaković et al., 2013a) unatrag te je stoga i inbriding na temelju pedigrea sličan vrijednosti $F_{ROH>16\ Mb}$.

Ove razlike u F_{ROH} i F_{PED} su prisutne radi toga što F_{PED} odražava samo nedavni inbriding dok ROH segmenti različitih veličina mogu detektirati inbriding koji nije moguće identificirati na temelju pedigrea ako je kompletnost pedigrea loša. Ono što je vrlo bitno za i detekciju inbridinga na X kromosomu je to da F_{ROH} uzima u obzir rekombinaciju te to što se ROH-ovi više pojavljuju u regijama sa višim LD („linkage disequilibrium“) i nižom stopom rekombinacije (Ferenčaković et al., 2013a) što su poznata obilježja X kromosoma (Vicoso and Charlesworth, 2006).

Koeficijenti inbridinga temeljeni na ROH-ovima su bili nekoliko puta veći za X kromosom nego za autosome. Ti odnosi su bili ~4 puta veći za ROH segmente >4 Mb, ~8 puta veći za ROH segmente >8 Mb i ~15 puta veći za ROH segmente>16 Mb. Ove vrijednosti ukazuju da se na X kromosomu događalo više inbridinga nego na autosomima, i to najviše oko 25 generacija unatrag. Korelacije između vrijednosti $F_{ROH1-26}$ i F_{ROHX} su niske te se vrijednosti autosomalnog i X inbridinga veoma razlikuju kod pojedinih jedinki. Također kod nekih jedinki autosomalni inbriding nije detektiran kad se gledaju dužine ROH segmenata veće od 8 Mb i 16 Mb, a niski X inbriding je detektiran.

Nakupljanje inbridinga na X kromosomu može biti opasno radi nakupljanja letalnih alela kod homozigotnih ženki i većeg utjecaja inbriding depresije (Robinson et al., 2014). Osim činjenice da je X kromosom bio zanemarivan u procjenama inbridinga, jedan od čimbenika zašto je inbriding na X kromosomu od onog na autosomima je i taj da je efektivna veličina populacije X kromosoma iznosi ¾ one autosoma (Schaffner, 2004), uz već ranije spomenute niske stope rekombinacije i visokog LD-a.

Po veličini X kromosom zauzima u prosjeku oko 5% genoma kod sisavaca (Schaffner, 2004). Kod ovaca je X kromosom četvrti po redu najveći kromosom, dok je primjerice kod goveda drugi po redu najveći kromosom (NCBI). Iako je kod najvećih kromosoma detektiran najviši inbriding od autosoma, bez obzira na to je na X kromosomu inbriding bio do nekoliko puta veći od inbridinga na bilo kojem autosomu.

Iako je inbriding na X kromosomu od najveće važnosti kod vrsta sa većom proporcijom genoma na X kromosomu, također je važan i kod domaćih životinja za koje su neka od važnih svojstava pod značajnim utjecajem X kromosoma. Stoga se na inbriding X kromosoma treba gledati kao na važan čimbenik u uzgoju uz inbriding detektiran na autosomima.

6. ZAKLJUČAK

Do nekoliko puta viši koeficijenti inbridinga procijenjeni iz genomskih informacija za X kromosom u odnosu na one za autosome ukazuju na važnost uključivanja X kromosoma u procjene inbridinga, posebice kod vrsta kod kojih X kromosom značajno utječe na neko bitno svojstvo i onih kojima X kromosom zauzima veći dio genoma. Ova saznanja su primjenjiva i za Z kromosom kod vrsta kojima su mužjaci homogametni spol.

Premda se smatra da će u istraživanjima populacijske genetike X kromosom ubrzo biti zamijenjen autosomima, ne može se zanemariti njegova važnost u procjenama inbridinga.

7. LITERATURA

Ballou, J. (1983). Calculating Inbreeding Coefficients from Pedigrees. http://nature.berkeley.edu/classes/espm-103/Ballou-Inbreeding%20Coefficients.pdf

Boichard, D. (2002). Pedig: a fortran package for pedigree analysis suited for large populations.. Presented at 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, INC (2002). http://prodinra.inra.fr/record/7255

Bos taurus (cattle) genome. NCBI. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?term=bos%20taurus

Calderón, R., Aresti, U., Ambrosio, B., and González-Martín, A. (2009). Inbreeding Coefficients for X-linked and Autosomal Genes in Consanguineous Marriages in Spanish Populations: The Case of Guipúzcoa (Basque Country). Annals of Human Genetics 73, 184–195.

Danchin-Burge, C., Allain, D., Clément, V., Piacère, A., Martin, P., and Palhière, I. (2012). Genetic variability and French breeding programs of three goat breeds under selection. Small Ruminant Research 108, 36–44.

Drobik, W., and Martyniuk, E. (2016). Inbreeding and its impact on the prolific Polish Olkuska sheep population. Small Ruminant Research 137, 28–33.

Falconer, D.S. (1989). Introduction to quantitative genetics (Burnt Mill, Harlow, Essex, England; New York: Longman, Scientific & Technical ; Wiley).

Ferenčaković, M., Hamzić, E., Gredler, B., Solberg, T. r., Klemetsdal, G., Curik, I., and Sölkner, J. (2013a). Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity: empirical evidence from selected cattle populations. J. Anim. Breed. Genet. 130, 286–293.

Ferenčaković, M., Sölkner, J., and Curik, I. (2013b). Estimating autozygosity from high-throughput information: effects of SNP density and genotyping errors. Genet Sel Evol 45, 42.

Fernando, R.L., and Grossman, M. (1990). Genetic evaluation with autosomal and X-chromosomal inheritance. Theoret. Appl. Genetics 80, 75–80.

Garbe, J. R. and Y. Da. (2008) Pedigraph: A Software Tool for the Graphing and Analysis of Large Complex Pedigree. User manual Version 2.4. Department of Animal Science, University of Minnesota.

Gowane, G.R., Prince, L.L.L., Prakash, V., Sharma, R.C., and Kumar, A. (2016). Decline in Additive Genetic Variance for Live Weight and Greasy Fleece Weight in Bharat Merino Sheep. Agric Res 5, 316–323.

Grossman, M. (1990). Quantitative Genetics with X-Chromosomal Loci. http://www.poultryscience.org/docs/pba/1952-2003/1990/1990%20Grossman.pdf

Grossman, M., and Eisen, E.J. (1989). Inbreeding, Coancestry, and Covariance between Relatives for X-Chromosomal Loci. J Hered 80, 137–142.

Gutiérrez, J. P. (2010). ENDOG v4.8. A Computer Program for Monitoring Genetic Variability of Populations Using Pedigree Information

Johnston, S.E., Bérénos, C., Slate, J., and Pemberton, J.M. (2016). Conserved Genetic Architecture Underlying Individual Recombination Rate Variation in a Wild Population of Soay Sheep (Ovis aries). Genetics 203, 583–598.

Keller, L.F., and Waller, D.M. (2002). Inbreeding effects in wild populations. Trends in Ecology & Evolution 17, 230–241.

Maignel, L., Boichard, D., and Verrier, E. (1996). Genetic variability of French dairy breeds estimated from pedigree information. Interbull Bulletin 0, 49.

Mank, J.E., Vicoso, B., Berlin, S., and Charlesworth, B. (2010). EFFECTIVE POPULATION SIZE AND THE FASTER-X EFFECT: EMPIRICAL RESULTS AND THEIR INTERPRETATION. Evolution 64, 663–674.

Manunza, A., Noce, A., Serradilla, J.M., Goyache, F., Martínez, A., Capote, J., Delgado, J.V., Jordana, J., Muñoz, E., Molina, A., et al. (2016). A genome-wide perspective about the diversity and demographic history of seven Spanish goat breeds. Genetics Selection Evolution 48, 52.

Ovis aries (sheep) genome. NCBI. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?term=ovis%20aries

Robinson, S.P., Simmons, L.W., and Kennington, W.J. (2014). Sex-biased mortality associated with inbreeding in Drosophila melanogaster. BMC Evolutionary Biology 14, 51.

Sargolzaei, M., Iwaisaki, H., Colleau, J.J. (2006). CFC (Contribution, Inbreeding (F), Coancestry). A software package for pedigree analysis and monitoring genetic diversity

SAS 9.3 Software. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Schaffner, S.F. (2004). The X chromosome in population genetics. Nat Rev Genet 5, 43–51.

SUPPLEMENT TO GENETIC AND QUANTITATIVE ASPECTS OF GENEALOGY: CALCULATION OF THE COEFFICIENT OF INBREEDING (F) FOR SEX-LINKED GENES. http://www.genetic-genealogy.co.uk/supp/calc_inbreed.html

Thompson, J.R., Everett, R.W., and Wolfe, C.W. (2000). Effects of Inbreeding on Production and Survival in Jerseys1. Journal of Dairy Science 83, 2131–2138.

VanRaden, P.M., Olson, K.M., Wiggans, G.R., Cole, J.B., and Tooker, M.E. (2011). Genomic inbreeding and relationships among Holsteins, Jerseys, and Brown Swiss. Journal of Dairy Science 94, 5673–5682.

Vicoso, B., and Charlesworth, B. (2006). Evolution on the X chromosome: unusual patterns and processes. Nat Rev Genet 7, 645–653.

Wang, J. (1996). Heredity - Abstract of article: Inbreeding coefficient and effective size for an X-linked locus in nonrandom mating populations. Heredity 76, 569–577.

Zhang, L., Orloff, M.S., Reber, S., Li, S., Zhao, Y., and Eng, C. (2013). cgaTOH: extended approach for identifying tracts of homozygosity. PLoS ONE 8, e57772.

Zhang, Q., Bourgain, C., and McPeek, M. S. (2009). KinInbcoefX: Calculation of the X-Chromosome Kinship Coefficients Based on Pedigree and Sex Information. Version 2.0.

8. PRILOZI

Prilog broj 1. Deskriptivna statistika u Mb za ROH>4 Mb, ROH>8 Mb i ROH>16 Mb po kromosomima

Kromosom	Dužina ROH-a	Prosjek	SD	Min	Max
1	>4 Mb	37,87	17,57	4,06	224,15
	>8 Mb	18,44	16,34	0	207,97
	>16 Mb	5,27	12,58	0	196,39
2	>4 Mb	42,47	18,59	4,03	222,61
	>8 Mb	22,49	17,44	0	222,61
	>16 Mb	7,89	14,81	0	222,61
3	>4 Mb	32,31	16,1	4,01	161,35
	>8 Mb	13,78	14,95	0	155,02
	>16 Mb	4,46	11,5	0	142,91
4	>4 Mb	14,54	9,48	4	106,62
	>8 Mb	6,15	9,48	0	106,62
	>16 Mb	1,95	7,28	0	106,62
5	>4 Mb	14,8	9,24	4	97,97
	>8 Mb	6,37	9,05	0	92,34
	>16 Mb	1,55	6,42	0	82,4
6	>4 Mb	17,72	10,84	4	113,84
	>8 Mb	7,49	10,49	0	113,84
	>16 Mb	2,22	7,87	0	113,84
7	>4 Mb	12,21	8,3	4,01	81,89
	>8 Mb	4,85	8,55	0	76,55
	>16 Mb	1,56	6,57	0	76,55
8	>4 Mb	11,82	8,13	4	76,78
	>8 Mb	4,96	8,54	0	71,99
	>16 Mb	1,66	6,76	0	71,99
9	>4 Mb	13,73	8,66	4	75,98
	>8 Mb	6,3	9,06	0	75,98
	>16 Mb	1,85	6,74	0	75,98
10	>4 Mb	12,36	8	4,01	77,56
	>8 Mb	6,38	8,73	0	77,56
	>16 Mb	2,02	6,56	0	60,75

Kromosom	Dužina ROH-a	Prosjek	SD	Min	Max
11	>4 Mb	8,7	5,5	4	61,36
	>8 Mb	2,3	5,67	0	61,36
	>16 Mb	0,61	3,87	0	61,36
12	>4 Mb	11,76	7,59	4	69,69
	>8 Mb	4,23	7,8	0	65,3
	>16 Mb	1,22	5,65	0	65,3
13	>4 Mb	12,87	8,06	4	68,58
	>8 Mb	5,31	8,23	0	68,58
	>16 Mb	1,28	5,59	0	68,58
14	>4 Mb	9,95	6,09	4	52,87
	>8 Mb	3,74	6,71	0	50,55
	>16 Mb	0,93	4,58	0	50,55
15	>4 Mb	11,78	7,31	4	71,13
	>8 Mb	3,83	7,18	0	65,25
	>16 Mb	0,97	5,12	0	64,14
16	>4 Mb	11,45	7,47	4	83,6
	>8 Mb	4,36	7,75	0	76,37
	>16 Mb	1,18	5,58	0	67,68
17	>4 Mb	9,92	6,34	4	53,84
	>8 Mb	3,7	6,78	0	53,84
	>16 Mb	0,98	4,83	0	53,84
18	>4 Mb	10,06	6,63	4	64,35
	>8 Mb	3,52	6,97	0	59,25
	>16 Mb	1,04	5,2	0	59,25
19	>4 Mb	9,7	5,84	4	59,04
	>8 Mb	3,4	6,36	0	59,04
	>16 Mb	0,73	4,27	0	59,04
20	>4 Mb	8,49	5,38	4	50,73
	>8 Mb	3,41	6,39	0	50,73
	>16 Mb	0,86	4,36	0	50,73
21	>4 Mb	8,93	5,44	4	47,27
	>8 Mb	2,42	5,54	0	47,27
	>16 Mb	0,48	3,26	0	38,93
22	>4 Mb	8,08	4,95	4	43,51
	>8 Mb	2,34	5,4	0	38,85
	>16 Mb	0,56	3,5	0	36,37

Kromosom	Dužina ROH-a	Prosjek	SD	Min	Max
23	>4 Mb	10,88	6,91	4	67,14
	>8 Mb	4,89	7,64	0	62,84
	>16 Mb	1,12	5,11	0	59,3
24	>4 Mb	7,98	4,46	4	41,93
	>8 Mb	1,72	4,7	0	41,93
	>16 Mb	0,43	3,11	0	41,93
25	>4 Mb	8	4,49	4	41,91
	>8 Mb	2,51	5,51	0	41,91
	>16 Mb	0,62	3,76	0	41,91
26	>4 Mb	7,92	4,66	4	43,84
	>8 Mb	2,61	5,63	0	43,84
	>16 Mb	0,66	3,9	0	43,84
1-26	>4 Mb	295,49	70,27	132,48	1186,5
	>8 Mb	125,59	68,16	11,22	1038,64
	>16 Mb	37,16	55,08	0	854,73
X	>4 Mb	69,02	39,82	4,15	127,65
	>8 Mb	53,06	39,77	0	108,19
	>16 Mb	31,3	29,5	0	65,85

ŽIVOTOPIS AUTORA

Martina Šantek je rođena 12.10.1990. u Zagrebu. Pohađala je Zdravstveno učilište u Zagrebu, smjer zdravstveno-laboratorijski tehničar te je nakon završetka srednjoškolskog školovanja upisala stručni preddiplomski studij medicinsko-laboratorijske dijagnostike na Zdravstvenom veleučilištu u Zagrebu 2009. godine. Preddiplomski studij završava u jesen 2012. godine te studij nastavlja na diplomskom studiju genetike i oplemenjivanja životinja na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Za vrijeme diplomskog studija sluša dodatne kolegije na Agronomskom fakultetu i Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, sudjeluje u ljetnoj školi pod nazivom „European Farm Animal Diversity“ u Nitri, Slovačkoj te dobiva priznanje fakulteta za prosjek ocjena. Na zadnjoj godini studija i tijekom apsolventure radi u privatnom laboratoriju na genetskim testovima na nasljedne bolesti i svojstva kod čistokrvnih pasa i mačaka te tu usvaja mnoga znanja i vještine u metodama molekularne genetike. Tijekom svojeg školovanja aktivno uči engleski jezik te dostiže B2 razinu engleskog jezika.