

# Prostorno modeliranje pripadnosti populacijama istočnojadranskih pasmina ovaca

---

**Mustać, Lorena**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:936960>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-28**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
**AGRONOMSKI FAKULTET**

**PROSTORNO MODELIRANJE PRIPADNOSTI  
POPULACIJAMA ISTOČNOJADRANSKIH PASMINA  
OVACA**

DIPLOMSKI RAD

Lorena Mustać

Zagreb, srpanj, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Genetika i oplemenjivanje životinja

**PROSTORNO MODELIRANJE PRIPADNOSTI  
POPULACIJAMA ISTOČNOJADRANSKIH PASMINA  
OVACA**

DIPLOMSKI RAD

Lorena Mustać

Mentor: izv. prof. dr. sc. Dragica Šalamon

Zagreb, srpanj, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Lorena Mustać**, JMBAG 0269123543, rođena 16.02.1999. u Zadru, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

**PROSTORNO MODELIRANJE PRIPADNOSTI POPULACIJAMA ISTOČNOJADRANSKIH  
PASMINA OVACA**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana 22. srpnja 2022.

---

*Potpis studentice*

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Lorene Mustać**, JMBAG 0269123543, naslova

**PROSTORNO MODELIRANJE PRIPADNOSTI POPULACIJAMA ISTOČNOJADRANSKIH  
PASMINA OVACA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana 22. srpnja, 2022.

Povjerenstvo:

potpisi:

- |    |                                    |        |       |
|----|------------------------------------|--------|-------|
| 1. | izv. prof. dr. sc. Dragica Šalamon | mentor | _____ |
| 2. | prof. dr. sc. Alen Džidić          | član   | _____ |
| 3. | izv. prof. dr. sc. Jelena Ramljak  | član   | _____ |

## Zahvala

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Dragici Šalamon na savjetima, podršci i smjernicama koje su mi omogućile pisanje ovoga diplomskog rada. Hvala na ustupljenom vremenu, trudu i velikom znanju kojeg ste prenijeli.

Posebnu zahvalnost mojoj majci Marinki te bratu Šimi. Vi ste mi uvijek podržavali i upućivali na pravi put. Hvala ti mama što si mi bila podrška ne samo tijekom studija nego tijekom cijelog života, što si uvijek imala razumijevanja i vjeru u mene, što si mi pružila mogućnost bezbrižnog studiranja.

Veliko hvala i mojim prijateljima, bez Vas moje studiranje ne bi bilo isto.

I za kraj, Rok hvala ti.

# Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Cilj istraživanja.....	2
2. Istočnojadranske pasmine ovaca.....	3
2.1. Dubrovačka ruda .....	3
2.2. Creska ovca.....	4
2.3. Dalmatinska pramenka.....	4
2.4. Istarska ovca .....	4
2.5. Krčka ovca.....	5
2.6. Lička pramenka.....	5
2.7. Paška ovca .....	5
2.8. Rapska ovca .....	6
2.9. Kupreška pramenka.....	6
2.10. Vlašička pramenka.....	7
2.11. Stolačka pramenka .....	7
2.12. Privorska pramenka.....	7
2.13. Istarska pramenka .....	7
2.14. Belokranjska pramenka .....	8
3. Dosadašnja istraživanja istočnojadranskih pasmina ovaca .....	9
3.1. Povijest pasmina ovaca .....	9
3.2. Genetske i prostorne analize pasmina ovaca.....	10
3. Materijali i metode.....	14
3.1. Podaci .....	14
3.2. Modeliranje klastera .....	16
4. Rezultati i rasprava.....	19
4.1. Prva skupina analiza: 13 pasmina i 28 biljega .....	19
4.1.1. Neprostopni modeli .....	19
4.1.2. Prostorni model bez pretpostavke korelacije alelnih frekvencija.....	24
4.1.3. Prostorni model s pretpostavkom korelacije alelnih frekvencija .....	27
4.2. Druga skupina analiza: 14 pasmina i 7 biljega.....	30
4.2.1. Neprostopni modeli .....	30

4.2.2. Prostorni model bez pretpostavke korelacije alelnih frekvencija.....	33
4.2.3. Prostorni model s pretpostavkom korelacije alelnih frekvencija .....	36
4.3. Očuvanje farmskih životinjskih genetskih resursa .....	38
5. Zaključak .....	39
6. Popis literature.....	40



## Sažetak

Diplomskog rada studentice **Lorene Mustać**, naslova

### **PROSTORNO MODELIRANJE PRIPADNOSTI POPULACIJAMA ISTOČNOJADRANSKIH PASMINA OVACA**

Cilj ovog istraživanja je modelirati broj bioloških populacija istočnojadranskih pasmina ovaca i njihovih prostornih granica u svrhu očuvanja genetskih resursa. Geneland paketom u R programu, provedene su dvije skupine analiza, za 13 pasmina istočnojadranskih ovaca iz Hrvatske, Slovenije i Bosne i Hercegovine temeljem 28 mikrosatelitska biljega i za 14 pasmina temeljem 7 biljega. Obje skupine uključuju četiri modela, testiranih za 1 do 18 bioloških klastera, kroz 10 ponavljanja za svaki set iteracija. Prostorni model s pretpostavkom korelacije alelnih frekvencija temeljem 28 biljega najbolje objašnjava podatke. Belokranjska pramenka ima svoj genetski klaster, istarske ovce i istarske pramenke klasteriraju zajedno. Dalmatinska pramenka svrstava se u dva klastera. Eventualno ukidanje reproduktivne barijere istarskih ovaca i istarskih pramenki preporučljivo je tek nakon analize usklađenosti uzgojnih ciljeva i dodatnih genetskih analiza talijanskog dijela povijesne populacije.

**Ključne riječi:** autohtone pasmine ovaca, krajobrazna genetika, prostorno klasteriranje

## Summary

Of the master's thesis - student **Lorena Mustać**, entitled

### **SPATIAL MODELING OF POPULATION MEMBERSHIP IN INDIGENOUS EASTERN ADRIATIC SHEEP BREEDS**

The aim of this research is to model the biological population of Eastern Adriatic breeds of sheep and their spatial borders in order to preserve genetic resources. The geneland package in the R programme resulted in two groups of analyses: for 13 breeds of eastern Adriatic sheep from Croatia, Slovenia and Bosnia and Herzegovina based on 28 microsatellite markers and for 14 breeds based on 7 markers. Both groups include four models, tested for 1 to 18 biological clusters, through 10 repetitions. The spatial model with the assumption of correlation of allele frequencies based on 28 markers best explains the data. Belokranjska Pramenka has its genetic cluster, Istrian sheep and Istrian Pramenka cluster together. The Dalmatian Pramenka is divided into two clusters. Possible removal of the reproductive barrier of the Istrian types is recommended only after an analysis of the harmonization of breeding goals and additional genetic analyses of the Italian part of the historical population.

**Keywords:** indigenous sheep, landscape genetics, spatial clustering

# 1. Uvod

U ovome radu istraživane su pasmine ovaca, pretežno pramenki, mediteranskog dijela Hrvatske: istarska ovca, krčka ovca, creska ovca, rapska ovca, paška ovca, lička i dalmatinska pramenka te dubrovačka ruda. Četiri pasmine iz Bosne i Hercegovine: vlašićka pramenka, stolačka pramenka, kupreška i privorska pramenka, područjem uzgoja se nastavljaju na prethodne mediteranske prostore u krškim predjelima Dinarida Bosne i Hercegovine. Područje uzgoja istarske ovce u Sloveniji nastavlja se na ovaj geografski krški predio u najsjevernijem dijelu, a tu se nalazi i belokranjska pramenka, također na krškom predjelu u kojem rijeka Kupa razgraničuje naše dvije države.

Povijest autohtonih populacija ovaca na područjima Hrvatske, Bosne i Hercegovine i Slovenije uključuje promjene granica, selidbe stada radi ispaše (transhumno stočarstvo), te kontrolirano i nekontrolirano križanje (Böhm 2004.). Danas se poljoprivreda suočava sa sve većim stresom zbog selektivnog uzgoja i kontrolirane reprodukcije ograničenog broja visokoučinkovitih pasmina koji su postupno doveli do općeg gubitka genetske raznolikosti unutar pasmina, ali smanjivanja broja grla lokalnih pasmina. Time je u pitanje dovedena mogućnost opstanka udomaćenih vrsta životinja uslijed klimatskih promjena, novih patogena i promjena zahtjeva tržišta, kao i tehnoloških mogućnosti uzgoja. Organizacija Ujedinjenih naroda za hranu i poljoprivredu (FAO, 2007) pokrenula je 2007. globalnu strategiju za upravljanje genetskim resursima domaćih životinja (FAnGR, engl. Farm Animal Genetic Resources). Glavni ciljevi ovog plana su identificirati genetske resurse, karakterizirati ih i zaštititi kako bi se zaustavila daljnja genetska erozija i promicala genetska raznolikost u resursima domaćih životinja (FAO, 2011). Velik broj autohtonih pasmina ima mali broj živućih grla, neke su pasmine ugrožene, a neke već i nestale.

Za svrhu populacijskih analiza je važnom ocijenjena primjena multivarijatnih analiza koje uključuju i prostorne (GIS) podatke, jer se njima mogu integrirati multidisciplinarni podaci u svrhu praćenja životinjski genetskih resursa na različitim razinama (Duruz i sur. 2017.). Georeferenciranje, kao proces dodjele lokacija geografskim objektima unutar geografskog referentnog okvira (Yao Xiaobai 2020.) i geokodiranje, kao proces određivanja geografskih koordinata neke adrese ili opisa lokaliteta, temeljni su postupci koji omogućuju interdisciplinarno korištenje prostornih informacija u obliku podataka geografskog informacijskog sustava (GIS). Kao alat za upravljanje okolišnim i biološkim resursima GIS igra

važnu ulogu, osobito u trendu porasta skrbi za održivo korištenje resursa te očuvanje i praćenje biološke raznolikosti.

Prethodnim istraživanjima pasmina koje su obuhvaćene ovim istraživanjem utvrđeni su visoki stupanj genetske raznolikosti unutar većine pasmina i različite razine genetske diferencijacije među hrvatskim, bosanskohercegovačkim i slovenskim pasminama ovaca (Šalomon i sur. 2014., 2015.; Jevšinek Skok i sur. 2015.; Držaić 2022.).

Geneland analizom (i računalnim programom) podataka populacijske genetike, temeljem individualnih multilokusnih genetskih podataka koji mogu biti i georeferencirani, ali i pridruženi fenotipskim izmjerama, možemo odrediti koliko se uzgojna područja pasmina poklapaju sa modelom rasprostranjenosti populacije (Guillot i sur. 2011.). Pri tome je važno imati na umu da je pasmina definirana kao specifična skupina stoke koja ima određena i prepoznatljiva vanjska obilježja koja omogućuju vizualno razlučivanje od drugih slično definiranih skupina unutar iste vrste ili kao skupina za koju je zemljopisno ili kulturološko odvajanje od fenotipski odvojenih skupina dovelo do prihvaćanja njezina zasebna identiteta (FAO 2000.; Oldenbroek i sur. 2007.), a biološka populacija je definirana drugačije. Većina teorija klasične populacijske genetike temelji se na idealiziranom modelu populacije u kojem se pretpostavlja da je populacija prostorno diskretno ograničena i panmiktička. Uvjeti idealnog modela populacije su narušeni kada nema slučajnog parenja, kada su prisutne mutacije, drift, protok gena i promjena frekvencija alela i genotipa, jer idealne populacije ostaju konstantne od generacije do generacije. Sve stvarne biološke imaju narušen jedan ili više od navedenih preduvjeta modela populacije. Metapopulacije su doslovno populacije populacija povezane disperzijskim procesima (Balkenhol i sur. 2015.).

## **1.1. Cilj istraživanja**

Cilj ovog rada je uporabom podataka o lokaciji uzorka, te genotipova mikrosatelitnih biljega geneland analizom klasteriranja modelirati broj bioloških populacija i njihovih prostornih granica te raspraviti potrebe i mogućnosti upravljanja istraživanim istočnojadranskim pasminama ovaca u svrhu očuvanja genetskih resursa.

## **2. Istočnojadranske pasmine ovaca**

Danas se u Republici Hrvatskoj uzgaja devet izvornih i ugroženih pasmina ovaca, od kojih se osam uzgaja u primorskom (Jadranskom) i gorskom (Dinarskom) prostoru, a to su creska ovca, dalmatinska pramenka, dubrovačka ruda, istarska ovca, krčka ovca, lička pramenka, paška ovca i rapska ovca (NN 115/18, 2021.). Poslije drugog svjetskog rata u tzv. procesu merinizacije u Hrvatsku je uvezen cijeli niz različitih pasmina ovaca u cilju oplemenjivanja autohtonih pasmina i povećanja proizvodnje i kakvoće mesa i vune (Garibović i sur. 2006.). Pramenke su nastale merinizacijom lokalnih pasmina i njihovo uzgojno područje pripada hrvatskom dijelu Dinarida, jadranskom priobalju, zaleđu i otocima.

Pasmine ovaca Bosne i Hercegovine obuhvaćene ovim istraživanjem su kupreška pramenka, vlašićka pramenka, stolačka i privorska pramenka. Prema Batiniću (2020.), vlašićka pramenka je imala veliki utjecaj na morfologiju i brojnost privorske pramenke, kao i kod kupreške pramenke. Ukupna populacija privorske pramenke nalazi se unutar 500 grla, njezino brojno stanje svedeno je na razinu izumiranja, a preostala populacija ovih ovaca isključivo se uzgaja za proizvodnju janječeg mesa. Brojnost kupreške pramenke znatno je smanjena i može se pronaći u nekoliko naselja općine Kupres i Tomislavgrad. Posljednjih godina zbog izostanka ljetne ispaše i pojave bolesti, smanjilo se brojno stanje stolačke pramenke do razine izumiranja (Batinić 2020.).

Slovenija ima četiri autohtone pasmine ovaca, a to su jezersko solčavska ovca i bovška ovca, te belokranjska pramenka i istarska ovca koje istražujemo u ovom radu. Obje se smatraju kritično ugroženima. Istarska pramenka jedna je od najmanjih populacija slovenskih autohtonih pasmina ovaca, razvila se na području Krasa i Istre, a za razlog ugroženosti navodi se mala geografska rasprostranjenost (Genska banka Slovenije, 2021.).

### **2.1. Dubrovačka ruda**

Dubrovačka ruda se prema podacima HAPIH (2021.) uzgaja sa 1285 grla u selekcijskom nadzoru (1027 ovce, 49 ovna i 209 šilježice). Uzgaja se na uskom pojasu jadranske obale od poluotoka Pelješca do granice s Crnom Gorom, dok se najviše ovaca ove pasmine trenutačno uzgaja na području Imotice i u Konavlima. Populacijski trend je pozitivan. Pasma je značajna zbog specifične genetske strukture (Držaić 2022.), zatim kao potencijalan izvor interesantnih gena za poboljšanje i održavanje poželjne otpornosti za neke bolesti i uvjete okoliša (Barać i sur. 2011.).

## **2.2. Creska ovca**

Creska ovca pripada skupini ovaca kombiniranih osobina, s tim da se važnost pojedinih proizvoda tijekom povijesti poprilično mijenjala, ponajviše ovisno o zahtjevima tržišta. Danas se creska ovca ponajviše uzgaja radi mesa. Na manjem broju obiteljskih gospodarstava ovce muzu i mlijeko prerađuju u tvrdi punomasni creski sir te u skutu (Mioč i sur. 2007.a). Veličina populacije creske ovce procjenjuje se na oko 15.000 grla, od toga je evidencijom uzgojno valjanih grla obuhvaćeno 979, od kojih 744 ovaca, 2 ovna i 233 šilježice (HAPIH, 2021). Populacijski trend tj. broj uzgojno valjanih grla creske ovce je u padu, odnosno negativan (HAPIH, 2021). Značaj creske ovce danas se ogleda kroz vrijednost i jedinstvenost genoma, zatim kao potencijalan izvor interesantnih gena za poboljšanje i održavanje poželjne otpornosti na neke bolesti i uvjete okoliša. Također, mlada creska janjetina koja se na tržište plasira u obliku cijelog trupa za pripremu na ražnju (Barać i sur. 2011.).

## **2.3. Dalmatinska pramenka**

Dalmatinska pramenka, najbrojnija je od devet hrvatskih izvornih pasmina, pripada skupini kombiniranih, kasnozrelih, dugorepih, tjelesno sitnijih pasmina ovaca. Uzgaja se na širem području Velebita, na području od Bukovice prema Kninu, u Nacionalnom parku Krka, na padinama Dinare, Svilaje, Kamešnice i Biokova te na nekim srednjodalmatinskim otocima (Brač, Hvar, Vis, Kornati) (Barać i sur. 2011.). Procijenjena veličina populacije ovaca dalmatinske pramenke je oko 280.000 grla, od toga je evidencijom uzgojno valjanih grla obuhvaćeno 11.734, od kojih 10.011 ovaca, 211 rasplodnih ovnova i 1511 šilježice (HAPIH, 2021), te je u porastu (HPA, 2014; Šalamon i sur. 2019.). Dalmatinska pramenka značajna je zbog jedinstvenosti i raznolikosti genoma (Držaić 2022.), izrazite konstitucijske otpornosti i dugovječnosti, mogućnosti proizvodnje premijskih proizvoda ekološkog predznaka ili zaštićene oznake kvalitete (janjetina, dalmatinska kaštradina, sir), očuvanja osebnosti lokalne kulturne i socijalne tradicije, ekonomičnog i održivog načina održavanja raznovrsnosti i raznolikosti staništa, osobito zaštićenih područja, kao i činjenica da razvoj ruralnog turizma, ali i blizina tržišta za proizvode (meso, mlijeko, sir) nudi značajne prihodovne mogućnosti ovčarima (Barać i sur. 2011.).

## **2.4. Istarska ovca**

Istarska ovca izvorno pripada skupini ovaca kombiniranih proizvodnih odlika (mlijeko-meso-vuna), po svrsi proizvodnje, uzgojnom cilju i proizvodnim odlikama, može ju se svrstati

u skupinu tipičnih mliječnih pasmina. To je najmlječnija hrvatska izvorna pasmina ovaca (Mioč i sur. 2007.a), jako dobrih muznih karakteristika (Šalamon i Džidić 2014.; Šalamon i sur. 2019.) koju se po učinkovitosti u proizvodnji mlijeka može uspoređivati i s najmlječnijim pasminama ovaca u svijetu. Istarska je ovca proizvodno vrlo učinkovita i gospodarski rentabilna, a njezine proizvodne odlike unaprjeđuju se sustavnim uzgojno- selekcijskim radom (Mioč i sur. 2012.), specifične je genetske strukture (Šalamon i sur. 2014.; Držaić 2022.). Procijenjena populacija istarskih ovaca u Hrvatskoj čini 2900, od kojih uzgojno valjanih grla 1302, 1087 uzgojno valjanih ovaca, 39 ovnova i 176 šilježice (HAPIH, 2021), te je broj uzgojno valjanih ovaca u padu i gotovo prepolovljen u posljednjih 15 godina (HPA, 2014).

## **2.5. Krčka ovca**

Krčka ovca je autohtona i tipična sredozemna pasmina nastala na otoku Krku. Točno vrijeme i način nastanka nisu poznati, ali se vjeruje da je pasmina nastala zbog povećane potražnje za vunom visoke kvalitete. U genotipu krčke ovce uočen je manji dio merino ovce. Pasma je značajna zbog jedinstvenosti genoma, izrazite konstitucijske otpornosti i dugovječnosti. Također, značaj pasmine ogleda se kroz mogućnost proizvodnje mesa, mlijeka i sira (Barać i sur. 2011.). Ukupna veličina populacije krčke ovce procjenjuje se na oko 18.000 grla, dok je pod obuhvatom matičnog registra pasmine svega 164 ovaca, 2 rasplodnih ovnova i 20 šilježica. Populacijski trend je negativan (HAPIH, 2021).

## **2.6. Lička pramenka**

Lička ovca je autohtona pramenka koja je nastala u planinskom području Like i Gorskog Kotara (Mioč i sur. 1998.). Pasma je značajna zbog jedinstvenog genoma, adaptabilnosti i otpornosti, proizvodnje animalnih proizvoda (mesa, mlijeka) visoke kakvoće, kao i zbog naglašene potražnje za njezinim proizvodima (prvenstveno ličkom janjetinom). Pasminu se štiti svim zakonskim propisima, kao i novčanim poticajima (Barać i sur. 2011.). Procijenjena veličina populacije ličke pramenke je oko 30.000, dok je po obuhvatom matičnog registra pasmine 11.962 ovaca, 404 rasplodnih ovna i 2289 šilježica (HAPIH, 2021). Broj uzgojnih valjanih grla ličke pramenke je u porastu (HAPIH, 2021).

## **2.7. Paška ovca**

Paška ovca nastala je na području istoimenog otoka gdje se uglavnom i danas uzgaja. To je rastom malena ovca čvrste i zbijene tjelesne građe, dubokog i širokog trupa na jakim nogama (Pavlinić 1936.). Prvenstveno je namijenjena proizvodnji mlijeka koje se prerađuje u

glasoviti, punomasni, tvrdi ovčji sir. U usporedbi s istarskom ovcom daje mlijeko sličnog sastava, iako je manje mliječnosti od istarske ovce koja je stasom znatno veća pasmina. Pored mlijeka od paških ovaca dobiva se i janjad prepoznatljiva po maloj klaoničkoj masi, izvrsne je kakvoće i na našem tržištu vrlo tražena (Pavić i sur. 2005.). Pasma je značajna zbog vrijednosti i jedinstvenosti genoma, adaptabilnosti i otpornosti, iskorištavanja ekstenzivnih pašnjačkih površina otoka Paga čime se trajno pridonosi održavanju ekosustava, zbog proizvodnje namirnica visoke kakvoće. Pasminu se štiti svim zakonskim propisima (Barać i sur. 2011.). Procijenjena veličina populacija paških ovaca je oko 30.000, uzgojno valjanih grla je 4493, dok je pod obuhvatom matičnog registra pasmine 4178 ovaca, 80 rasplodnih ovnova i 235 šilježice (HAPIH, 2021). Broj uzgojno valjanih grla paške ovce je u padu (HAPIH, 2021).

## **2.8. Rapska ovca**

Rapska ovca je naša izvorna pasmina lokalne važnosti, poznata i po lokalnom nazivu škraparica (Barać i sur. 2006.). Nastala je na otoku Rabu oplemenjivanjem lokalne autohtone otočke ovce-pramenke s uvezenim merinom (Mioč i sur. 2007.a). Iako rapska ovca pripada skupini dugorepih ovaca kombiniranih proizvodnih odlika (Mioč i sur. 2006.), glavni ovčji proizvod na otoku Rabu je meso, odnosno mlada rapska janjetina (Mioč i sur. 2007.a). Procijenjena veličina populacije rapske ovce je 6500, uzgojno valjanih grla je 409, od kojih je pod obuhvatom matičnog registra pasmine 342 ovca, 4 rasplodnih ovna i 63 šilježice (HAPIH, 2021). Broj uzgojno valjanih grla rapske ovce je u velikom padu, odnosno negativan (HAPIH, 2021).

## **2.9. Kupreška pramenka**

Brojno stanje ovaca u Bosni i Hercegovini za 2020. godinu iznosi ukupno 508.291 ovaca (SG/LJ FBiH 2021).

Centar rasprostranjenosti kupreške pramenke su osim Kupreške visoravni, Duvanjsko, Livanjsko i Glamočko polje (Mitić 1984.). Kupreška pramenka nije eksterijerno i genetski određena pa je u tom pogledu heterogena pasmina (Šalamon i sur. 2014.; Batinić 2020.). Uzgoj ovaca na Kupreškoj visoravni pretežito je ekstenzivan s ciljem proizvodnje mlade janjetine koja je prije 1991. godine zbog prepoznatljive kakvoće uglavnom završila na dalmatinskom tržištu (Ivanković i sur. 2009.). Veliki utjecaj na morfologiju i brojnost kupreške pramenke imala je vlašićka pramenka. Brojnost kupreške pramenke znatno je smanjena i danas se može pronaći u nekoliko naselja općine Kupres (Goravci, Zvirnjača, Ravno Blagaj) i širem području općine Tomislavgrad (Šujica, Lipa i Raščani) (Batinić 2020.).



## **2.10. Vlašićka pramenka**

Travnička (vlašićka) pramenka je dobila ime po Travniku, gradu u Bosni i Hercegovini. A drugi naziv Vlašić dobila je po planini Vlašić koja se nalazi u blizini grada (Šmalcelj 1937.). To je kombinirana pasmina koja je dobra za proizvodnju mesa i mlijeka, a također moguće je dobiti i kvalitetnu vunu (Mioč i sur. 2011.b). Ranim devedesetima i sve većim ratnim sukobima u Bosni i Hercegovini, osobito na širem području srednje Bosne, mnogi ljudi bježe u Hrvatsku. Tako su stanovnici Travnika sa svojim ovcama morali napustiti svoje domove te su krenuli na već im poznate prostore Zapadne Slavonije te Like (Mioč i sur. 2007.b). Unutar granica Bosne i Hercegovine ova pasmina je najbrojnija (Batinić 2020.).

## **2.11. Stolačka pramenka**

Uzgaja se na području Hercegovine za koju je karakteristično izuzetno loša kvaliteta pašnjaka, zato je znatno sitnija od ostalih tipova (Batinić 2020.). To je kombinirana pasmina za proizvodnju mesa i mlijeka, također moguće je dobiti i kvalitetnu vunu (Šakić i sur. 2018.). Posljednjih godina zbog izostanka ljetne ispaše i pojave bolesti koje su poprimile okvire epidemije, smanjilo se brojno stanje ovaca do razine izumiranja (Batinić 2020.).

## **2.12. Privorska pramenka**

Uzgaja se uglavnom u planinskim područjima, posebno oko izvora rijeke Vrbas. Pramenka je kombiniran tip ovce i ima trostruku namjenu – mlijeko, vuna i meso. Korištena je za oplemenjivanje drugih tipova pramenke u Hrvatskoj (Šakić i sur. 2018.). Privorske pramenke znatno su veće zbog križanja s vlašićkom pramenkom koja je utjecala na brojnost. Nažalost danas u izvornom obliku ukupna populacija ove pasmine nalazi se u granicama od 500 grla (Batinić 2020.).

## **2.13. Istarska pramenka**

Istarska ovca (Istarska ovca, Istarska pramenka ili Istriana) autohtona je pasmina ovaca u Sloveniji podrijetlom s istarskog poluotoka i njegova zaleđa, nastala na području Krasa i Istre. Populacija istarskih ovaca bila je nakon drugog svjetskog rata podijeljena na jugoslavenska i talijanska stada. Podjelama pridonosi i epidemija bruceloze (Böhm 2004.). Početkom devedesetih godina jugoslavenska stada istarske pramenke podijeljena su između Hrvatske i Slovenije. Migracija životinja između dviju zemalja skoro je prekinuta (Kastelic i sur. 2013.). Ime je dobila po istarskom poluotoku i iznimno dugoj i gruboj vuni. Istarska pramenka uzgajana

je uglavnom zbog svojih izvanrednih svojstava, kao što su sposobnost hodanja i paše na stjenovitim područjima. U Sloveniji je danas populacija Istarske pramenke malobrojna i uzgaja se samo na malom broju gospodarstava na području Krasa i Istre (Bojkovski i sur. 2014.). U izvornom rodovniku upisano je 849 uzgojno valjanih grla, od kojih je 797 ovaca i 52 rasplodnih ovnova. Istarska pramenka jedna je od manjih populacija slovenskih autohtonih pasmina ovaca i kritično je ugrožena zbog svoje male geografske rasprostranjenosti (Genska banka Slovenije, 2021.).

#### **2.14. Belokranjska pramenka**

Belokranjska pramenka jedna je od četiri slovenske autohtone pasmine ovaca, osim jezersko-Solčavske, Bovške ovce i Istarske pramenke. Belokranjska pramenka široko je rasprostranjena u jugoistočnom dijelu Slovenije u blizini rijeke Kupe, važnog područja za proizvodnju janjetine (Jevšinek Skok i sur. 2015.). U izvornom rodovniku upisano je 1236 uzgojno valjanih grla, od kojih je 1173 ovaca i 63 rasplodnih ovnova. Pasma je kritično ugrožena na nacionalnoj razini (Genska banka Slovenije, 2021.). Najveći utjecaj na lokalni fenotip Belokranjske pramenke u Sloveniji mogla bi imati Lička pramenka iz susjedne Hrvatske kao i neke druge populacije pramenke iz Bosne i Hercegovine (Grabrijan 1997.).

### **3. Dosadašnja istraživanja istočnojadranskih pasmina ovaca**

#### **3.1. Povijest pasmina ovaca**

U Hrvatskoj ovce uzgajaju tisućljećima, a potvrda njihove nazočnosti na našim prostorima su ovčje kosti na otocima Hvaru i Svetom Andriji procijenjene starosti 7000 godina pr. Kr.. Prema prvoj sustavnoj procjeni stoke, u Dalmaciji je 1808. godine uzgajano 1,105.078 ovaca, što je tada, u odnosu na broj stanovnika, bilo najviše u Europi (Posavi i sur. 2002.). Tijekom 18. i 19. stoljeća, razvitkom tekstilne industrije, dolazi do veće potražnje za vunom što rezultira uvozom vunskih tipova ovaca, najčešće muških grla, ovnova u svrhe oplemenjivanja, iz različitih europskih zemalja. Na taj način formirane su pasmine autohtonih pramenki, uglavnom otočne i primorske pasmine ovaca: creska ovca, dubrovačka ovca – ruda, krčka ovca, paška ovca i rapska ovca.

Pasmina je definirana kao specifična skupina stoke koja ima određena i prepoznatljiva vanjska obilježja koja omogućuju vizualno razlikovanje od drugih slično definiranih skupina unutar iste vrste, odnosno kao skupina za koju je očito zemljopisno ili kulturološko odvajanje od fenotipski odvojenih skupina dovelo do prihvaćanja njezina zasebna identiteta (FAO 2000.; Oldenbroek K. 2007.).

Uslijed različitih čimbenika, prije svega zbog izraženog iseljavanja stanovništva, dolazi do drastičnog smanjenja broja ovaca u obalnom zaleđu i na otocima. Poslije Drugog svjetskog rata, u tzv. procesu merinizacije, u Hrvatsku su uvezene brojne različite pasmine ovaca radi oplemenjivanja autohtonih pasmina i sojeva, kao i povećanja prinosa i kvalitete mesa i vune. Glede genetičkog progressa, taj proces nije ostavio dublji trag u našem ovčarstvu (Ciani i sur. 2020).

Domovinski rat se, također, negativno odrazio na veličinu ukupne populacije ovaca u Hrvatskoj koju je, prema statističkim podacima neposredno prije početka rata (1991.) činilo oko 750.000 grla. U ratu je, nažalost, gotovo prepolovljena ionako nevelika ukupna populacija ovaca. Po završetku rata u Hrvatskoj se uzgajalo svega 452.130 ovaca (Barać i sur. 2011.). Ovčarstvo u Hrvatskoj, kao jedna od najstarijih djelatnosti, na nekim područjima i najvažnija, ima ne samo gospodarsku važnost, nego i duboke demografske, sociološke, kulturološke, etnološke i tradicijske korijene. Broj ovaca i njihova gospodarska važnost, podložni utjecaju različitih čimbenika, tijekom povijesti su bili vrlo promjenjivi i izrazito varijabilni (Mioč i sur. 2011.a). Danas se u Hrvatskoj ukupno uzgaja oko 612.806 ovaca (HAPIH, 2021).

### 3.2. Genetske i prostorne analize pasmina ovaca

Iako se varijabilnost unutar i između pasmina može uočiti na fenotipskoj razini, analiza fenotipa ne daje nužno iste rezultate kao molekularni podaci (Casellas i sur. 2004.). Tradicionalno molekularno-genetsko istraživanje pasmina prikladno je kad su granice pasmine neosporne. U tom slučaju, neutralni genetski biljezi mogu pomoći da se razjasni jesu li fenotipski slične pasmine također i genetski slične (Tapio i sur. 2005.). Uključivanje prostorne komponente u analize omogućuje dodatnu moć razlučivanja kod kompleksne povijesti pasmina (Laloë i sur. 2010.).

Multivarijatne metode analiza (MVA) omogućavaju proučavanje relacija, upotrebljivosti, značajnosti brojnih – međusobno jače ili slabije, ali u pravilu kompleksno vezanih – zavisnih ili nezavisnih, mjernih ili kategorijskih varijabli (Pecina 2006.). Metoda glavnih komponenti (PCA, engl. Principle component analysis) bila je među prvim analizama korištenim za izvlačenje zaključaka iz informacija rastućeg broja genetičkih biljega raspoloživih za različite vrste živih organizama. Multivarijatna analiza podataka definira se kao skup statističko-matematičkih postupaka pogodnih za analizu podataka promatranjem više varijabli pri čemu je svaka na svoj način važna, te su zbog tog ti podaci shvaćeni kao multivarijatni ili multidimenzionalni analitički postupci. Primjenjuje se u svim situacijama gdje se u istraživanjima mjeri veliki broj varijabli koje su u međusobnim odnosima, te gdje se zahtijeva utvrđivanje osnovnih odnosa među varijablama (Pecina 2006.). Genotip svakog pojedinog lokusa može se smatrati jednom varijablom, kao i geografska dužina i širina i nadmorska visina na kojoj je genotip uzorkovan.

Osim PCA i sličnih multivarijatnih analiza kojima je cilj dati zaključak o tome kako su pojedine pasmine ili populacije razgraničene, u populacijskim genetičkim istraživanjima često se koriste i analiza molekularne varijance (AMOVA), te tehnike s Bayesovim algoritmom klasteriranja kao što su Structure analiza i BAPS kojima je cilj zaključiti o tome koji uzorci se mogu grupirati u zajedničke skupine, te otkriti kakva je umiješanost između tih skupina.

Tako je Jevšinek Skok sa suradnicima (2015.) proučavala genetsku raznolikost unutar slovenske belokranjske pramenke u usporedbi s tri hrvatske pasmine, creskom ovcom, ličkom pramenkom i istarskom pramenkom. Belokranjska pramenka je utvrđena kao zaseban genetski klaster temeljem deset mikrosatelitnih markera i u usporedbi s tri zemljopisne najbliže pasmine ovaca. Uočena je i manja primjesa (eng. admixture) među pasminama obuhvaćenim tim istraživanjem (Jevšinek Skok i sur. 2015.). Šalamon i sur. (2014.) su utvrdili umjerenu genetsku diferencijaciju između populacija ovaca iz Hrvatske i Bosne i Hercegovine te su creska, lička i

istarska bile najdistinktivnije pasmine. Identificirano je da su lička pramenka i rapska ovca s najnižom raznolikošću, a najveću raznolikost imale su istarska ovca i paška ovca.

No, iako su genetska istraživanja pasmina često zasnovana na uzorkovanju pasmina, pasmina često nije istoznačna sa genetski definiranom populacijom. Tapio i sur. (2005.) su na primjeru baltičkih pasmina definirali tri razloga takvog nepodudaranja: nedostatak diferencijacije među pasminama; prisutnost jedinki s precima stranog podrijetla; i pripisivanje različitih genetskih skupina jednoj pasmini. Temeljem tih su zaključaka preporučili upravljanje pasminama informirano genotipskim, kao i informacijama o podrijetlu pasmina.

Kao pomoć pri upravljanju pasminama i definiranju bioloških pasmina danas je razvijen i velik broj prostornih analiza kojima se dopunjuju zaključci u istraživanju populacijske genetike (Laloë i sur. 2010 ; Safner i sur. 2011.). Naime, prvi Toblerov zakon kaže da su bliži objekti u prostoru povezaniji od udaljenijih odnosno imaju sličnija obilježja od udaljenijih (Toksić 2015.). Prvi Toblerov zakon geografije je formaliziran kroz koncept prostorne korelacije, uzorkovanju prostornih objekata i pojava, problemu promjene pojave s udaljenošću i dr. problemi koji su utemeljeni na istraživačkoj potrebi da se stvarni svijet uopći, generalizira te da se apstrahiraju najbitniji elementi prostora u sklopu predmetnog geografskog istraživanja (Toksić 2015.). Ako su doista bliži objekti u prostoru sličniji, kažemo da su oni međusobno prostorno autokorelirani. Analize prostorne autokorelacije mogu odrediti jesu li prostorno bliže jedinke ili populacije više ili manje slične nego bi bilo očekivano slučajnim prostornim rasporedom (Banadinović 2017.). Ako je najnaglašenija genetska diferencijacija u vezi sa prostornim strukturiranjem, lako se otkriva pomoću multivarijatnih tehnika, ukoliko to nije slučaj, potrebne su analize u kojima je prostorna informacija komponenta optimiziranog kriterija (Laloë i sur. 2010).

Za istraživanje prostornih uzoraka, statistička metoda treba biti prostorno eksplicitna, odnosno, treba izravno uzimati prostornu informaciju u obzir kao sastavni dio modela ili kao optimalni kriterij, fokusirajući se na dio varijabilnosti koji je prostorno strukturiran. Takva prostorno eksplicitna multivarijatna metoda je npr. prostorna analiza glavnih komponenti (sPCA) (Jombart i sur. 2008.) ili prostorno multidimenzionalno skaliranje sMDS kojima je pokazano prostorno strukturiranje genotipova brojnih pasmina goveda, koza i ovaca Euroazijskog kontinenta sa općenitom klinom (gradijentom) u smjeru jugoistok-sjeverozapad za ovce, koze i krave (Laloë i sur. 2010.). Uz diskriminantnu analizu glavnih komponenti (DAPC), sPCA korištena je za istraživanje prostornih obrazaca genetske varijabilnosti jadranskih pasmina koristeći prostorne podatke i podatke alelnih frekvencija za jedinke i za populacije (Banadinović 2017.). Tim analizama su razlučene sjeverna i južna skupina

populacija i definiran je gradijent genetske varijabilnosti s jugoistoka prema sjeverozapadu u dvije komponente, koje su razlučile i genetske specifičnosti populacija ličke pramenke, creske ovce i dubrovačke rude. Dalmatinska pramenka pokazala je intermedijarni genetski položaj sukladan njevoj geografskoj lokaciji, rasprostranjenosti i veličini populacije (Banadinović 2017.), dok je lička pramenka od ostalih analiziranih populacija bila jasno razlučena (Banadinović i sur. 2017.).

Prema Radović (2015.) prostorni podaci su svi podaci koji su izravno ili neizravno povezani s određenim položajem u prostoru ili geografskim područjem. Prostorni objekt predstavlja apstraktan prikaz pojave iz stvarnog okruženja povezan s nekim položajem ili geografskim područjem. Geografska informacija sadrži podatak o geografskim objektima, njihovom obliku, lokaciji te međusobnim odnosima (topologiji). Najopćenitije iskazano, prostorni podaci su podaci s koordinatama, ali i podaci kojima se opisuje samo relativan međusobni položaj (Radović 2015.). Analiza prostornih podataka uključuje bilo koju formalnu tehniku koja proučava objekte analizirajući njihova topološka, geometrijska ili geografska obilježja. Općenito ime za grupu znanstvenih disciplina koja se bave pronalaženjem rješenja za analizu prostorno (i vremenski) referenciranih mjerenja nazivamo prostorno-vremenska analiza podataka (Radović 2015.).

Unatoč slabijem strukturiranju u populaciji ovaca u usporedbi s drugim domaćim životinjama, prostorni aspekt i dalje pokazuje vrijednost u multivarijatnim istraživanjima istražujući cjelokupnu raznolikost podataka (Laloš i sur. 2010.). Iako su metode klasteriranja bez prostorne komponente korisne za objašnjenje raznolikosti kod pasmina kao jedinicama kojima se upravlja (FAO, 2011), nisu pouzdane strategije kad je u pitanju genetski gradijent u prostoru (eng. „cline“), prostorna struktura u prikazu genetske varijabilnosti (Jombart i sur. 2008.). Stoga ti autori tvrde da se prostorne multivarijatne metode trebaju se koristiti za razumijevanje varijabilnosti, posebno ako pasmina ne pripada distinktnoj genetskoj populaciji kao u istočno jadranskim ili baltičkim pasminama ovaca (Tapio i sur. 2005.; Banadinović 2017.).

Osim multivarijatnih prostornih metoda, koriste se prostorne metode s Bayesovim algoritmom za klasteriranje, kao što su geneland analiza i analiza raspoloživa programom tess, koje uspješno mogu odrediti prostorne granice bioloških populacija i koje su korisne za određivanje povijesnih podloga genetskog strukturiranja i postojećih prostornih ograničenja za izmjenu genetskog materijala (Safner i sur. 2011.). Navedeni autori zaključuju da su te metode uspješnije od tehnika određivanja rubova (engl. *edge detection*) koje izravno identificiraju područja u kojem dolazi do promjene frekvencije alela, kao što su Monmonierov algoritam i

wombling (Safner i sur. 2011.). Banadinović (2017.) je u svom diplomskom radu koristeći Monmonirov algoritam prostorno uspjela razgraničiti od ostalih istraživanih pasmina jedino ličku pramenku koja je bila genetski najdistinktivnija u genetskom gradijentu pasmina koji je utvrdila. Efikasne konzervacijske strategije i upravljanje genetskim resursima ovise o našoj mogućnosti da preciznije odredimo prostorne granice u genetskim podacima (Safner i sur. 2011.).

### 3. Materijali i metode

U svrhu ispitivanja bioloških izvornih populacija današnjih pasmina istočnojadranskog područja i njihovih granica u prostoru, te preciziranja znanja za efikasne konzervacijske strategije očuvanja lokalnih farmskih genetskih resursa, provedene su dvije skupine analiza klasteriranja Bayesovim algoritmom u paketu Geneland 4.0.8 (Guillot i sur. 2012.) za R softver 4.2.0 (R Core Team 2021), prema dostupnosti genotipova: prva sa većim brojem molekularnih biljega, a druga sa većim brojem pasmina.

Prva skupina analiza su istražena četiri modela klasteriranja na podacima 28 mikrosatelitskih biljega na 317 uzoraka životinja iz 13 pasmina: istarska ovca u Hrvatskoj, istarska pramenka u Sloveniji, creska ovca, dubrovačka ruda, lička i dalmatinska pramenka, krčka ovca, paška ovca, rapska ovca, te vlašićka, stolačka, kupreška i privorska pramenka.

Druga skupina analiza obuhvaća četiri modela klasteriranja kojauz 13 navedenih pasmina uključuju još jednu pasminu iz Slovenije, belokranjsku pramenku. Zasebni skup analiza proveden je sa ovom pasminom s obzirom na to da je za nju bio raspoloživ manji broj genotipiziranih biljega zajedničkih sa ostatkom uzorka, njih 7 na 31 uzoraka životinja, te je ukupni set sveden na taj manji broj, kao presjek dva skupa podataka, a ukupan broj životinja je 348.

#### 3.1. Podaci

U analizama su korišteni genotipovi uzoraka ovca prikupljeni za populacijska istraživanja kako je opisano u Šalamon i sur. (2014.), Jevšinek Skok i sur. (2015.) i Šalamon i sur. (2015.). Popis pasmina s brojem uzorkovanih jedinki i korištenih 28 biljega za pojedine analize iz skupine preporučenih biljega za analizu genetske raznolikosti ovaca (FAO, 2011) i 10 s dobrim mogućnostima umnožavanja u multipleksu prikazan je u Tablici 3.1.1.

Tablica 3.1.1. Popis pasmina s brojem uzorkovanih jedinki i biljega

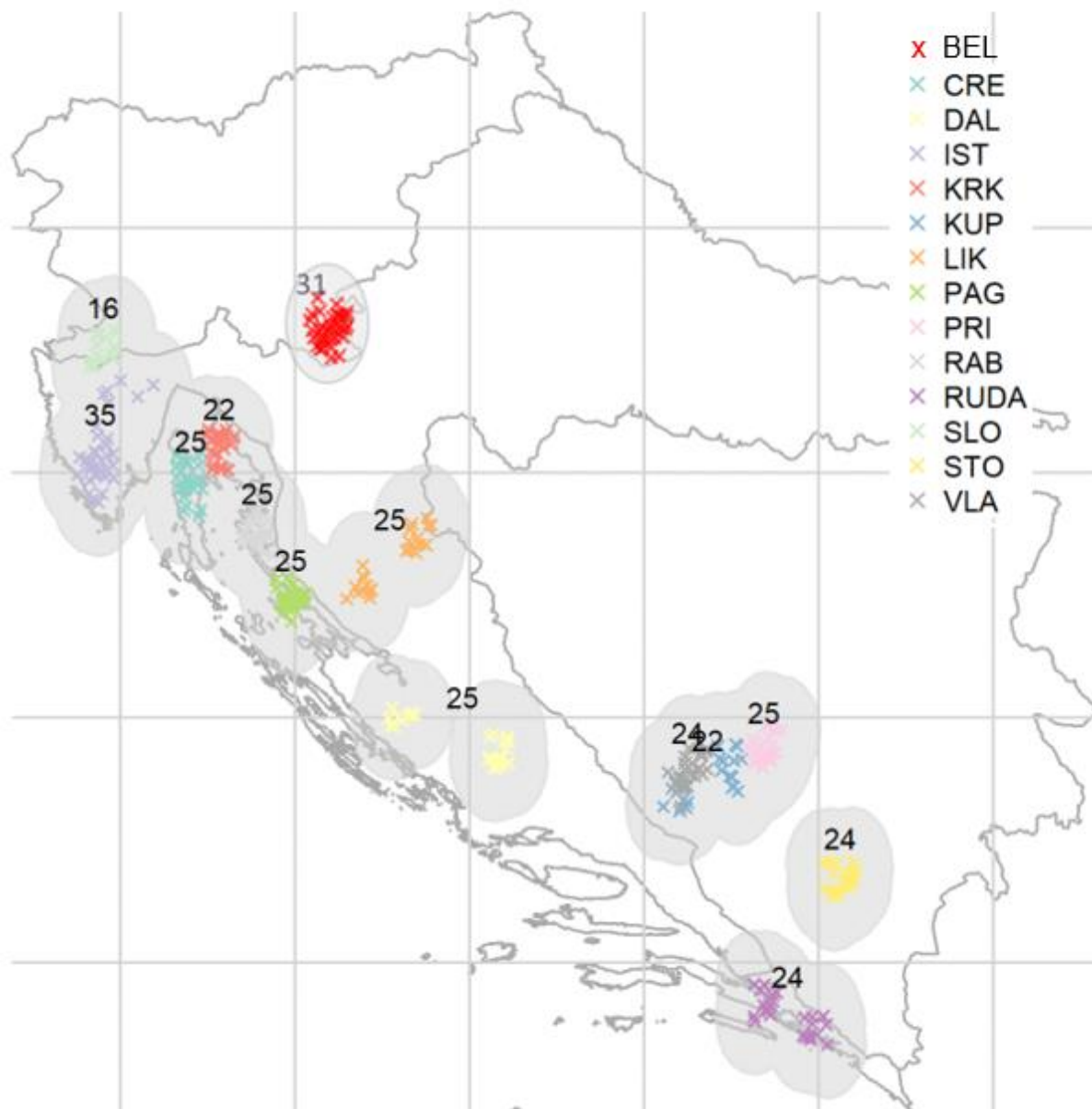
Pasmina	Država	Broj uzoraka	Biljezi korišteni u analizi
Belokranjska pramenka	Slovenija	31	OarVH72 <sup>1,2</sup> , OarJMP58 <sup>1,2</sup> , OarCP34 <sup>1,2</sup> , JMP29 <sup>1,2</sup> , DYMS1 <sup>1,2</sup> , BM8125 <sup>1,2</sup> , OarHH47 <sup>1,2</sup>
Istarska pramenka		16	OarVH72 <sup>1,2</sup> , OarJMP58 <sup>1,2</sup> , OarCP34 <sup>1,2</sup> , JMP29 <sup>1,2</sup> , DYMS1 <sup>1,2</sup> , BM8125 <sup>1,2</sup> ,
Kupreška pramenka	Bosna i Hercegovina	22	BM1824 <sup>2</sup> , ILSTS005 <sup>2</sup> , ILSTS011 <sup>2</sup> ,
Privorska pramenka		25	



Stolačka pramenka	Hrvatska	24	INRA063 <sup>2</sup> , MAF209 <sup>2</sup> , MAF65 <sup>2</sup> , McM527, OarFCB128 <sup>2</sup> , FCB304 <sup>2</sup> , OarHH47 <sup>2</sup> , MCM140 <sup>2</sup> , MAF214 <sup>2</sup> , HUI616 <sup>2</sup> , CSRD247, ETH10, HSC, INRA132, OarCP49, SPS113, SPS115, TCRGC4B, TCRVB6
Vlašićka pramenka		24	
Creska ovca		25	
Dalmatinska pramenka		25	
Dubrovačka ruda		24	
Istarska ovca		35	
Krčka ovca		22	
Lička pramenka		25	
Paška ovca		25	
Rapska ovca		25	

<sup>1</sup> biljezi korišteni u skupini modela koji uključuju i belokranjsku pramenku, <sup>2</sup> FAO preporučeni biljezi (FAO 2011)

Prostorni podatci za svaki prikupljeni uzorak dobiveni su geokodiranjem adresa uzgajivača, te uključivanjem nesigurnosti projiciranih koordinata od 25 km kako bi se uzeo u obzir prostor uzgoja pasmine (razmjene genetskog materijala) i ispaše stada. Sferične koordinate u sustavu WGS84 su dobivene geokodiranjem koristeći R paketom tidygeocoder 1.0.5. (Cambon i sur. 2021.) u kojem je korišten javni/otvoreni geolokacijski servis Open street maps (<https://www.openstreetmaps.org>). Za potrebe geneland analize dobiveni set koordinata projiciran prostornim paketima R sustava u planarne koordinate projekcije ETRS89-extended (<https://epsg.io/3035>) koja je namijenjena za područje država EU, a prostor uporabe projekcije uključuje i Bosnu i Hercegovinu. Ista je projekcija korištena i za grafičke prikaze.



Slika 3.1.1. Karta lokaliteta 348 (broj uzoraka) genotipiziranih uzoraka s osjenčanim područjem nesigurnosti koordinata koje se koristilo u analiziranim modelima (BEL – belokranjska pramenka, CRE – creska ovca, DAL- dalmatinska pramenka, IST - istarska ovca, KRK- krčka ovca, KUP - kupreška pramenka, LIK – lička, PAG – paška ovca, PRI - privorska pramenka, RAB - rapska ovca, RUDA - dubrovačka ruda, SLO - istarska pramenka, STO - stolačka pramenka i VLA - vlašićka pramenka)

### 3.2. Modeliranje klastera

Geneland analize dostupne su putem računalnog program sa sučeljem (GUI) i u obliku paketa za R. Cilj geneland analize je otkriti strukturu populacije u obliku sustavnih varijacija alelnih frekvencija, koje detektira temeljem odstupanja od Hardy-Weinbergovog modela i

neravnoteže vezanosti gena (eng. *linkage disequilibrium*). Implementira nekoliko modela koji mogu koristiti geografske i genetske informacije za procjenu broja populacija u skupu podataka i razgraničavanje njihove prostorne organizacije. Važna područja primjene ove analize uključuju krajobraznu genetiku, konzervacijsku genetiku, ljudsku genetiku, antropologiju i epidemiologiju. Analiza radi na svim uobičajenim tipovima ko-dominantnih ili dominantnih biljega (mikrosateliti, SNP, AFLP, podaci o sekvenci), a moguće je uključivanje i fenotipskih varijabli (Guillot i sur. 2012.).

Obje skupine genotipova analizirane su kroz četiri modela: (i) prostorni model sa koreliranim genotipovima; (ii) prostorni model sa nekoreliranim genotipovima; (iii) neprostorni model sa koreliranim genotipovima, te (iv) neprostorni model sa nekoreliranim genotipovima. Svaki model testiran je za 1 do 18 bioloških klastera, kroz 10 ponavljanja za svaki set iteracija Markovljevog lanca Monte-Carlo (MCMC). Duljina MCMC lanaca je  $10^6$  iteracija uz 200 burn-in krugova (engl. runs).

Prostorni model pretpostavlja da se svako područje genetskog populacijskog klastera u geografskoj domeni može aproksimirati udruživanjem nekoliko prostornih poligona koji postoje oko područja pojedinog uzorka prema Poissonovoj distribuciji. Maksimalan broj jezgri u neprostornim modelima određen je na broj uzoraka (317 za prvu skupinu modela, odnosno 348 za drugu), a tri puta više je pretpostavljeno u prostornim modelima.

U geneland modelima korištena je takozvana „nesigurnost koordinata“ (eng. *Coordinates uncertainty*), jer su analizirane jedinke našeg uzorka pokretne (npr. za razliku od biljnih vrsta) i imaju uobičajeni prostor koji koriste, te prostor uzgoja na kojem ih rasprostranjuju ljudi, a čija dimenzija nije zanemariva u usporedbi s veličinom ukupnog prostornog obuhvata istraživanja. Ne postoje „prave koordinate“ pojedinog uzorka, tj. ne postoji posebna lokacija na kojoj bi se moglo smatrati da svaka jedinka sa sigurnošću živi, kao što je to u sesilnih organizama. Uporaba koordinata farmi kao isključivih lokacija na kojima jedinke žive netočna je i može dovesti do pogrešnih zaključaka, te se preporuča zabilježene koordinate tretirati parametrom nesigurnosti, koji je u analizama odabran na takav način da pokriva područje uzgoja pasmine, odnosno, objašnjava prostor razmjene reproduktivnog materijala, u ovom slučaju ovnova i šilježica s obzirom na to da se u uzgoju navedenih pasmina koristi samo prirodni pripust. Parametar delta.coord u analizi unosi planirani šum oko zadane lokacije, te je u ovim analizama postavljen na 25 km.

Ako prostorne koordinate nisu dostupne ili se smatra da su irelevantne za vrstu na razmatranoj prostornoj skali, tada se može koristiti neprostorni model. Neprostorni model ne nameće nikakvu prostornu strukturu i odgovara modelu implementiranom u većini programa

za neprostorne klasterne, uključujući programe genetskog klasteriranja BAPS i STRUCTURE (Guillot i sur. 2012.). Prema preporukama autora, ukoliko očekujemo diferencijaciju populacija uvjetovanu nekom prostornom komponentom, logično je odlučiti se za prostorni model.

Model koji pretpostavlja nekorelirane alelne frekvencije uzorkovanih pasmina logičan je ukoliko su istraživane pasmine dobro diferencirane, te vjerojatan ukoliko su pasmine dugi vremenski period reproduktivno izolirane. Ukoliko je diferencijacija koju očekujemo u uzorku niska zbog nedavnih ekoloških procesa, logičan je korelirani model (Guillot i sur. 2008.).

Ukoliko su u genotipu oba alela nekog biljega nedostajuća, to se smatra pravim nedostajućim podatkom i ta se nedostajuća informacija u diploidnim genotipovima ne uračunava u procjenu učestalosti nul-alela. U modelima je uključena i procjena mogućih nul-alela, jer njihova pojava povećava broj homozigotnih genotipova u odnosu na očekivani postotak prema Hardy Weinbergovoj ravnoteži i ravnoteži vezanih gena, a definicija klastera u modelu podrazumijeva da su preduvjeti tih ravnoteža u klasterima zadovoljeni.

Najbolji model za pojedinu skupinu analiza odabran je *a posteriori* temeljem konvergencije. Nedostatak konvergencije MCMC lanaca u rezultatima modela smatrani su oni koji nisu pokazivali miješanje, oni koji su finalno davali različiti broj pretpostavljenih populacija ili su pokazivali jasan trend pada ili porasta (Guillot i sur. 2008.). Konačni odabir modela analize izvršen je *post hoc*, nakon preporučene usporedbe rezultata svih modela (Guillot i sur. 2012.). Modeli s lancima koji ukazuju na nedostatak konvergencije odbačeni su ukoliko je dodatno temeljem literature procijenjeno da je rezultat loše umiješanosti lanaca neodgovaranje modela podacima.

Unutar modela koji je prihvaćen određen je preporučeni broj pretpostavljenih populacija temeljem ishoda iteracija Markovljevih lanaca nakon burn-in iteracija (Guillot i sur. 2012.). Unutar 10 ponavljanja, odabrano je ono sa najvećom prosječnom posteriornom vjerojatnošću. Za prihvaćeni model, procijenjeni broj klastera i run sa najvećom posteriornom vjerojatnošću provjerene su karte klastera nastale spajanjem poligona oko točaka uzoraka, te uz pretpostavku umiješanosti populacija. Nakon izbacivanja karata bez uzoraka, ako su se takvi javili (engl. ghost cluster), izrađena je karta s granicama bioloških populacija.

## 4. Rezultati i rasprava

### 4.1. Prva skupina analiza: 13 pasmina i 28 biljega

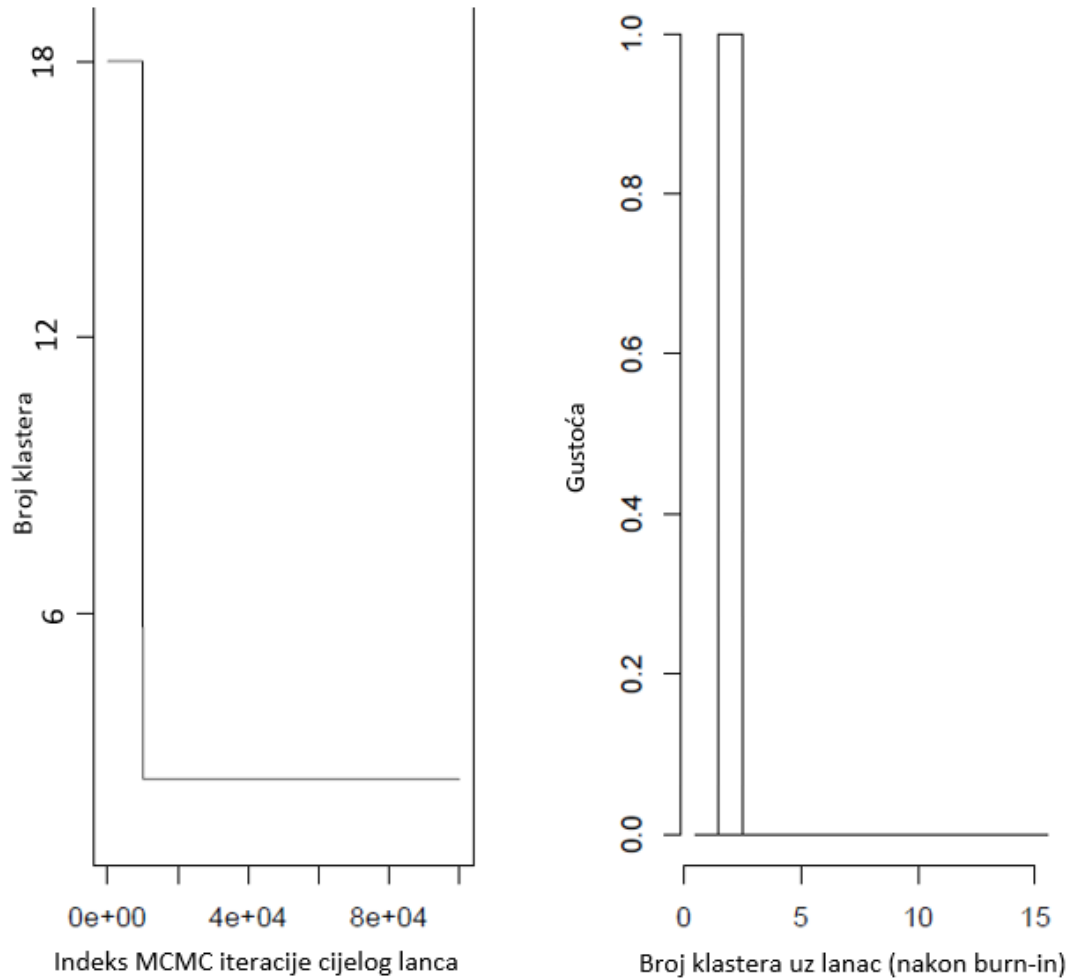
Dobiveni rezultati prve skupine analiza za neprostorne modele prikazuju slabo miješanje lanaca. Prostorni modeli pokazuju bolje miješanje lanaca. Modeli bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija razlučuju manji broj klastera, pri čemu i prostorni i neprostorni model prepoznaju uzorke ličke pramenke kao zaseban genetski klaster. Uz to prostorni model tog tipa prepoznaje i uzorke creske ovce kao zaseban genetski klaster, od ukupno tri koja je prepoznao.

Prostorni model s pretpostavkom koreliranih alelnih frekvencija imao je umjereno miješanje i bio je najuspješniji u razlučivanju uzoraka trinaest pasmina u trinaest zasebnih genetskih klastera. Prepoznao je osamnaest klastera od kojih je pet klastera bilo bez uzoraka, te su tzv. “ghost clusters”.

Rezultati klasteriranja su se razlikovali u različitim modelima. Pri takvoj situaciji preporučljivo je usporediti rezultate različitih modela na taj način da se prvo provjeri konvergencije modela, a onda se a priori ili a posteriori provjeri temeljem znanja o rasprostranjenosti i barijerama protoka gena koja karta populacija najbolje odgovara onome što nam je poznato o objektu našeg istraživanja (Guillot 2012.). Različite modele ne uspoređujemo temeljem prosječne posteriorne vjerojatnosti, već njome određujemo najbolju analizu (engl. run) unutar deset ponavljanja Markovljevih lanaca istog modela. U tom smislu a posteriori je kao najvjerodostojniji odabran rezultat prostornog modela uz pretpostavku korelacije alelnih frekvencija.

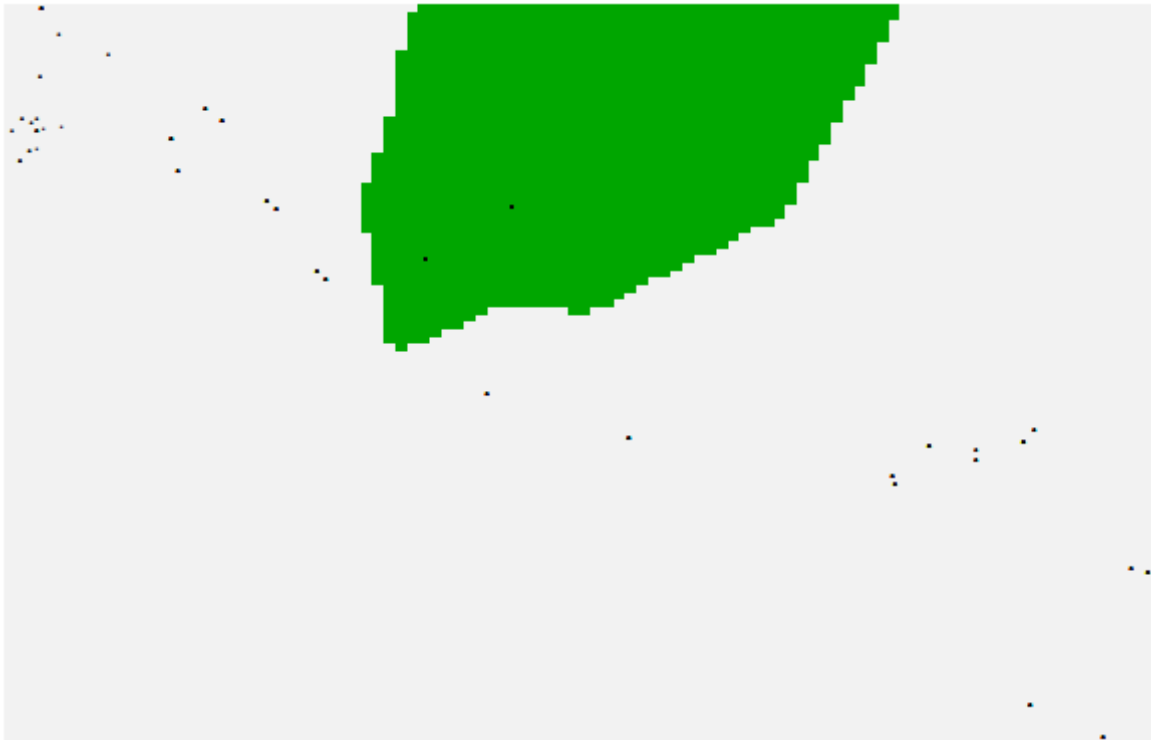
#### 4.1.1. Neprostorni modeli

Neprostorni model bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija u prvoj skupini analiza pokazao je uz slabo miješanje lanaca 2 klastera, odnosno  $k=2$  je maksimalna *a posteriori* procjena  $k$  (Slika 4.1.1.1).



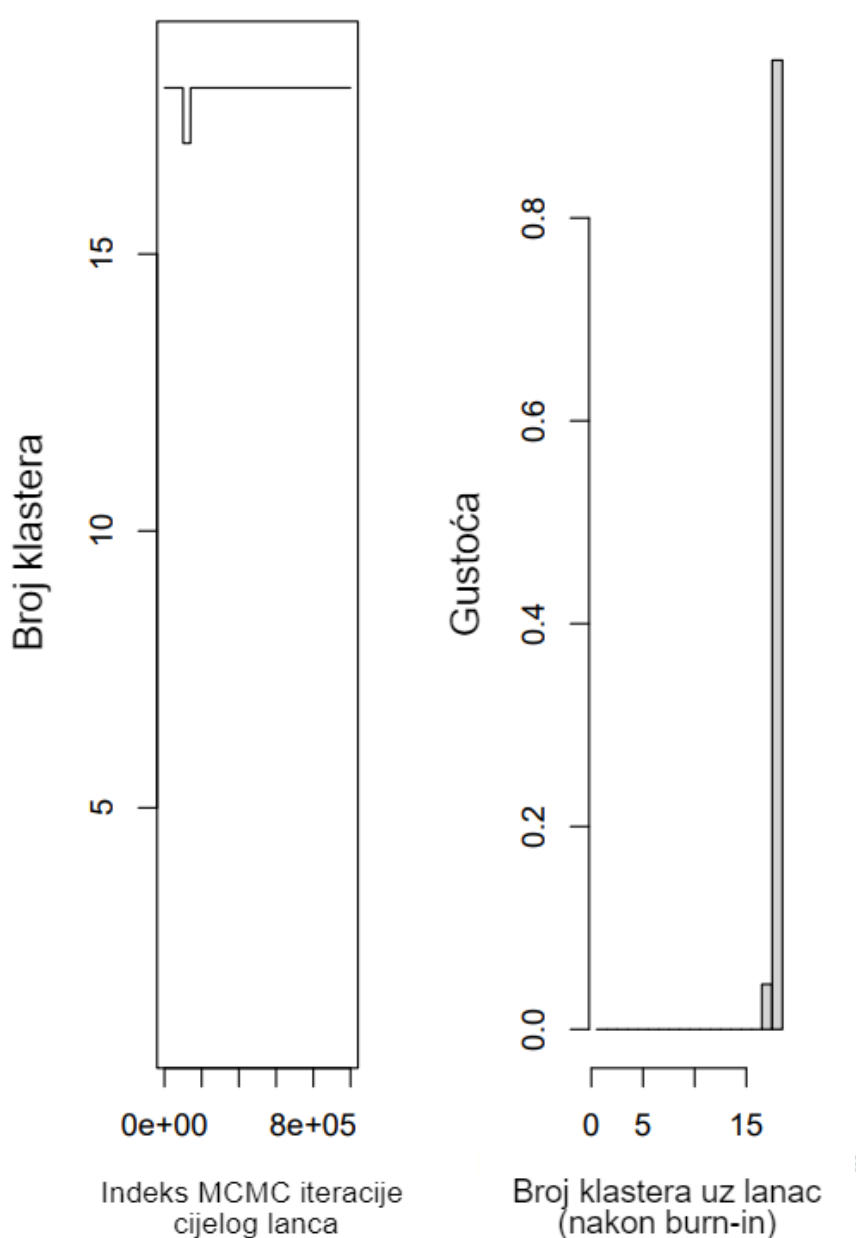
**Slika 4.1.1.1.** Indeks iteracije cijelog Markovljevog lanca Monte Carlo (lijevo) sa maksimalnom, *a posteriori* procjenom broja klastera  $k$  nakon burn-in iteracija (desno) neprostornog modela uz pretpostavku nekoreliranih alelnih frekvencija analize 13 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 28 biljega

Dvije populacije simulirane iz posteriorne distribucije odnose se na ličku pramenku u jednom klasteru i sve ostale uzorke u drugom klasteru kao što je vidljivo na karti posteriorne vjerojatnosti pripadnosti simuliranim populacijama (Slika 4.1.1.2).



**Slika 4.1.1.2.** Karta dva klastera neprostornog modela bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija u analizi 13 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljema 28 biljega. Zeleno područje obuhvaća uzorke ličke pramenke, a bijelo područje sve ostale uzorke.

Neprostorni model uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija u prvoj skupini analiza je konzistentno u 10 ponavljanja iteracije lanaca pokazao uz slabo miješanje lanaca 18 klastera, odnosno  $k=18$  je maksimalna *a posteriori* procjena  $k$  (Slika 4.1.1.3).

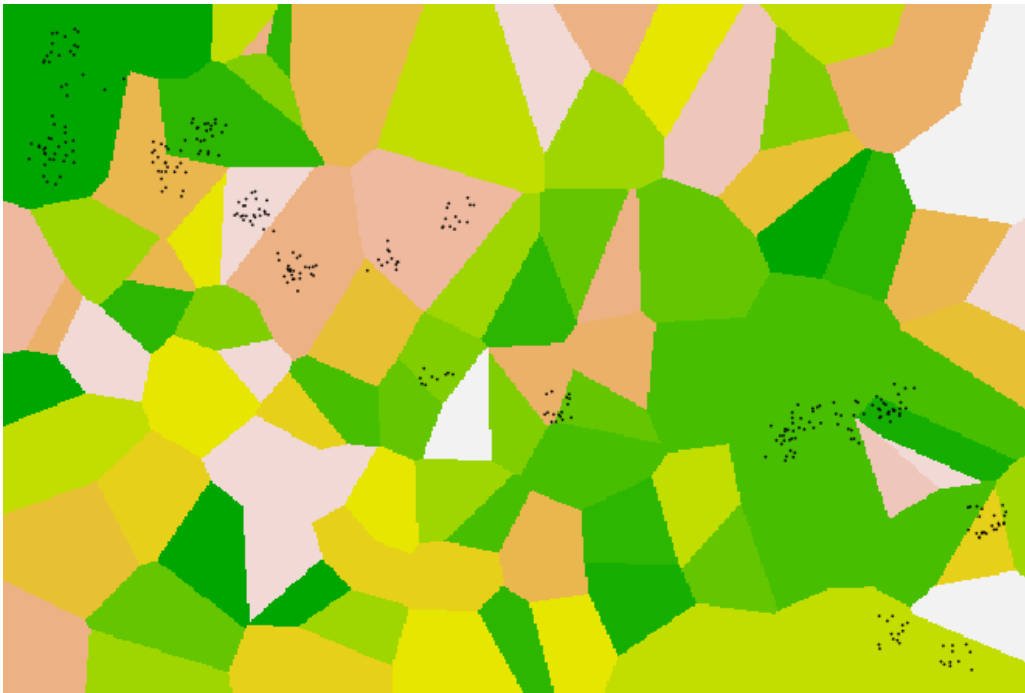


**Slika 4.1.1.3.** Indeks iteracije cijelog Markovljevog lanca Monte Carlo (lijevo) sa maksimalnom, a posteriori procjenom broja klastera  $k$  nakon burn-in iteracija (desno) neprostornog modela uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija analize 13 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 28 biljega

Populacije simulirane ovim modelom iz posteriorne distribucije odnose se na osamnaest populacija za 13 pasmina u kojima uzorci istarske ovce i istarske pramenke iz Slovenije pripadaju istom klasteru. Lička pramenka, dubrovačka ruda, rapska ovca, krčka ovca, paška ovca i creska ovca imaju zasebne klasterne. Dalmatinska pramenka i bosanskohercegovačke pasmine imaju uzorke koji su svrstani u dva ili više klastera, te se uzorci pojedinih pasmina



nalaze u klasterima sa uzorcima drugih pasmina kao što je vidljivo na karti posteriorne vjerojatnosti pripadnosti simuliranim populacijama (Slika 4.1.1.4).



**Slika 4.1.1.4.** Karta osamnaest klastera neprostornog modela uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija u analizi 13 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 28 biljega. Svaka od 18 boja obuhvaća zasebni klaster, a točke označavaju uzorke genotipova.

Konvergencija Markovljevih lanaca znači da je nakon dovoljnog broja iteracija simulirani vektor uzorkovan iz ciljane distribucije. Ona je obično višedimenzionalna, pa provjeriti konvergenciju često nije lako ili je nemoguće, te se najčešće provjerava ima li znakova koji upućuju na nedostatak konvergencije (Guillot 2012.). Jedan od takvih pokazatelja je jednoličan pad lanca (engl. transient behaviour), kakav uočavamo na slici 4.1.1.1, a drugi je zaglavljenost lanca na jednoj od vrijednosti, kao što je  $k=18$  na slici 4.1.1.3. Problemi koji utječu na miješanje lanaca, odnosno pojavu konvergencije, su velik broj uzoraka ( $> 1000$ ), velik broj lokusa ( $>100$ ) ili odstupanja uzoraka od pretpostavki modela (Guillot 2012.).

Kako su Laloë i sur. (2010) utvrdili prostorni gradijent u genetskom uzorku ovaca, a isti smjer je potvrđen i u sPCA analizi istočnojadranskih pramenki (Banadinović i sur. 2017.), možemo zaključiti da je uključivanje prostorne komponente u model važno. Također, Šalamon i sur. (2014., 2015.) i Držaić (2022) utvrdili su umiješanost genotipova pojedinih pasmina koja je u skladu sa poviješću pasmina. Osim toga, Guillot (2012) navodi da su često alelne frekvencije slične u različitim populacijama, a Toblerov zakon dovodi tu činjenicu u vezu i s prostornom distribucijom uzoraka. Sličnost alelnih frekvencija populacija u uzorku se

sagledava kroz korelaciju alelnih frekvencija koja nam daje nedavnu (mikro-) evolucijsku povijest populacija (Guillot 2008.).

Veći broj pretpostavljenih klastera kao rezultat neprostornog modela s pretpostavkom korelacije alelnih frekvencija je očekivan, jer su se modeli s pretpostavkom koreliranih alelnih frekvencija pokazali osjetljivijima u razlučivanju manje izraženih razlika (Guillot 2012.). No, isto tako, osjetljiviji su i na odstupanje od pretpostavki modela kao što je izolacija udaljenošću (IBD, eng. isolation by distance), pa se preporučuje sagledati prvo rezultate modela bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija Guillot (2012.). Banadinović i sur. (2017.) nisu u istraživanom uzorku hrvatskih pramenki pronašli prostorni potpis izolacije s udaljenosti, već gradijent (cline) u pružanju jugoistok-sjeverozapad.

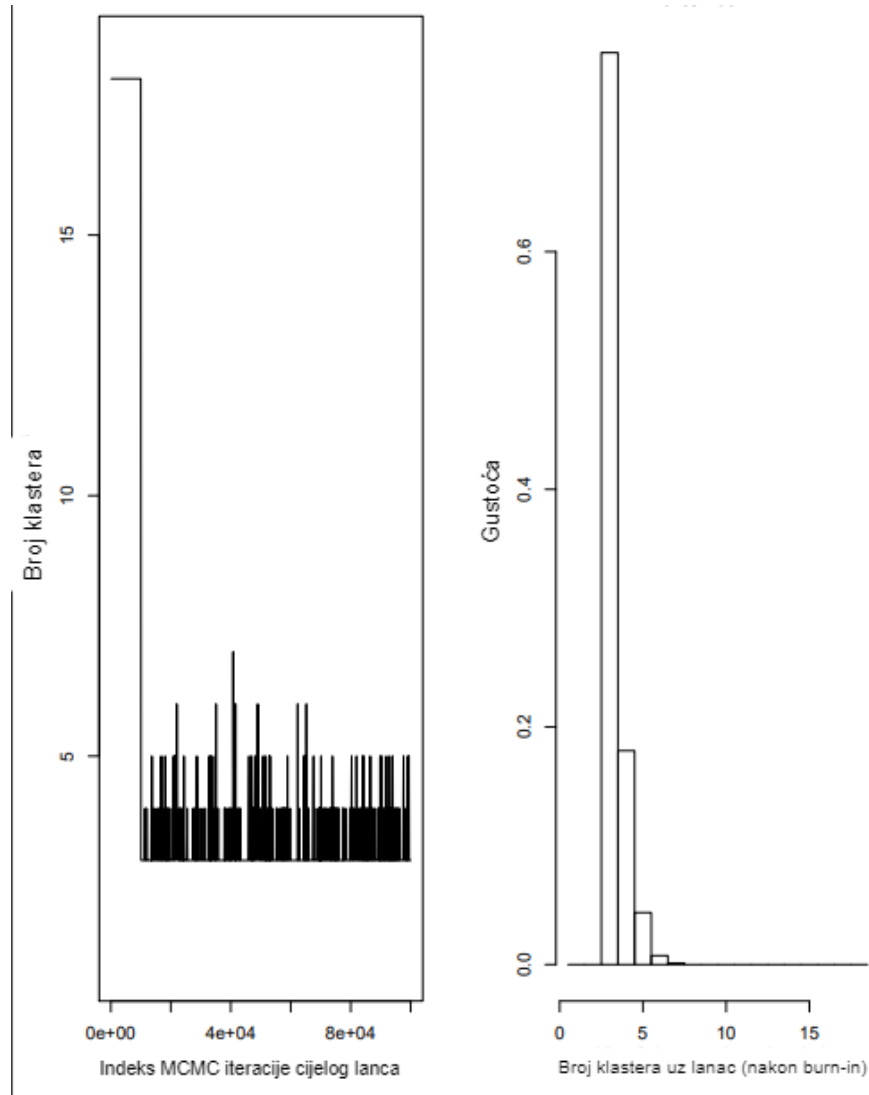
Iako je moguć nedostatak konvergencije u oba modela, jasno razlučivanje ličke pramenke u neprostornom modelu bez korelacija je očekivano. Uz pomoć monmonierovog algoritma Banadinović (2017) je utvrdila ličku pramenku kao genetski jasno razgraničenu u populaciju prostoru, a i u ostalim analizama (sPCA – prostorna analiza glavnih komponenti i DAPC- diskriminantna analiza glavnih komponenti) ona se pokazala najdistinktnijom.

S druge strane, velik broj klastera u neprostornoj analizi uz pretpostavku koreliranosti alelnih frekvencija nije rezultat koji je u skladu s prethodnim istraživanjima, te rezultat ovog modela ukazuje na veliku osjetljivost za manje razlike u genotipovima. Iako zaglavljenost MCMC iteracija na jednom k može ukazivati na stvarno stanje, ali i na problem s konvergencijom, osim usporedbe s drugim modelima da bi se utvrdila vjerodostojnost klastera koji su rezultat ovog modela Guillot i sur. (2008) preporučuju i ex-post provjeru odstupanja pretpostavljenih klastera od Hardy-Weinbergove ravnoteže, te također ex-post provjeru značajnosti diferencijacije klastera. Teže razlučivanje bosanskohercegovačkih pasmina očekivano je zbog velike umiješanosti njihovih genoma (Šalamon i sur. 2014.), a dva klastera dalmatinske pramenke ukazuju na razlike između sjevernih i južnih uzoraka ove mnogobrojne pasmine sa širokom geografskom rasprostranjenosti (HAPIH 2021).

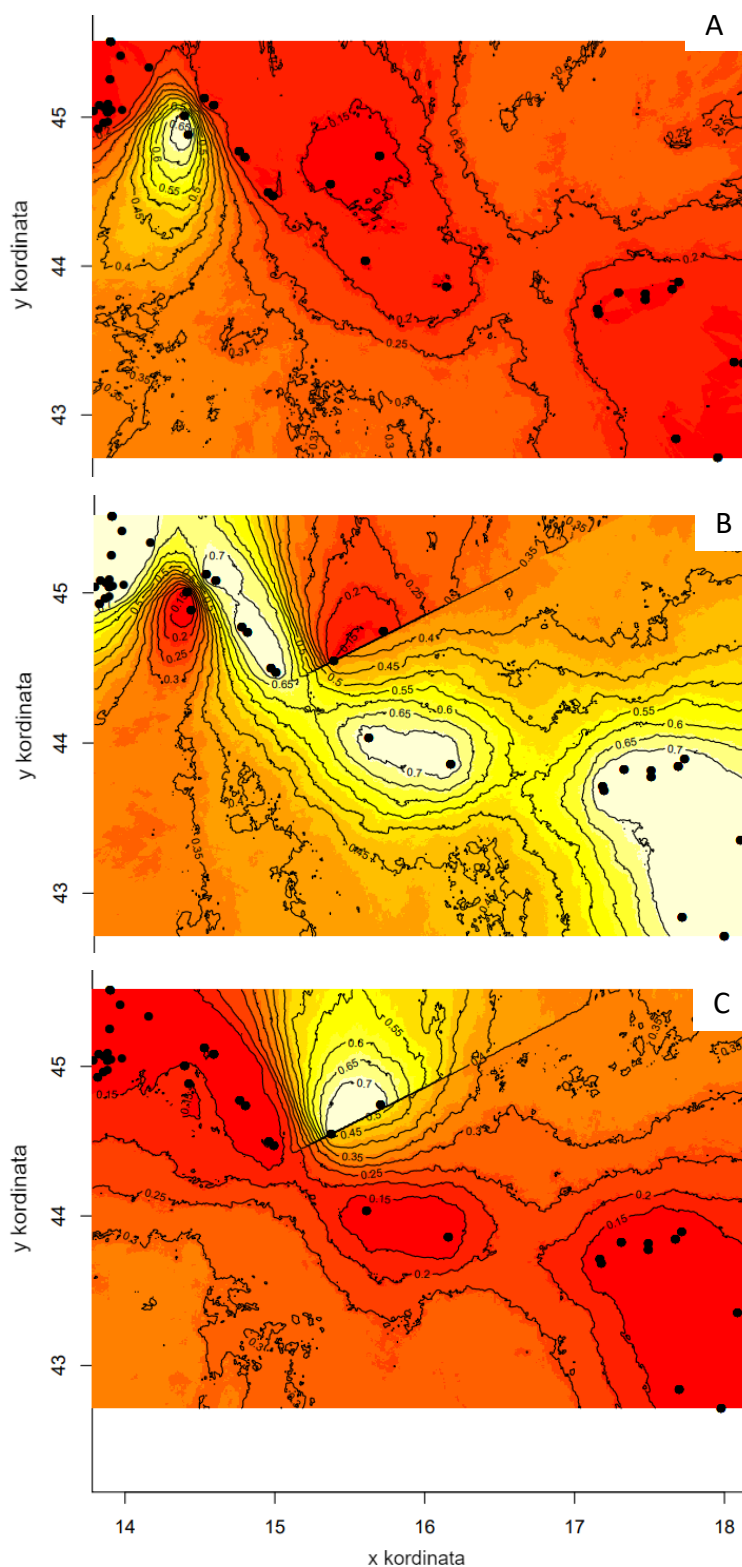
#### **4.1.2. Prostorni model bez pretpostavke korelacije alelnih frekvencija**

Prostorni model bez pretpostavljene korelacije alelnih frekvencija prepoznao je samo tri klastera, konzistentno u svih 10 ponavljanja i uz dobro miješanje Markovljevih lanaca (Slika 4.1.2.1). Očekivana je niska diferencijacija klastera zbog veće varijabilnosti unutar pasmina nego među njima te homogenosti populacije koju svrstava u jedan klaster (Šalamon i sur. 2014.). Tako je uočljivo da su u zasebne klastera dodijeljeni uzorci ličke pramenke i creske

ovce, dok su svi ostali uzorci zajedno u jednom klasteru (Slika 4.1.2.2), što pokazuje i u rezultatima istraživanja Šalamon i sur. (2014., 2015.) gdje lička pramenka i creska ovca imaju zasebne klasterne, kao i u sPCA (Banadinović 2017.). Vrlo oštro je naznačeno razgraničenje uzoraka ličke pramenke prema svim južnijim uzorcima naglim padom posteriorne vjerojatnosti.



**Slika 4.1.2.1.** Indeks iteracije cijelog Markovljevog lanca Monte Carlo (lijevo) sa maksimalnom, a posteriori procjenom broja klastera  $k$  nakon burn-in iteracija (desno) prostornog modela bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija analize 13 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 28 biljega



**Slika 4.1.2.2.** Karta tri genetska klastera prostornog modela bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija u analizi 13 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 28 biljega. Klaster 1 (A) obuhvaća uzorke creske ovce. Klaster 2 (B) obuhvaća sve pasmine osim creske i ličke pramenke. Klaster 3 (C) obuhvaća uzorke ličke pramenke. Svijetlo područje na grafu prikazuje

centar genetske populacije (klastera), dok je tonovima prema crvenoj pokazana posteriorna vjerojatnost pripadnosti klasteru u danom prostoru s naznačenim linijama vjerojatnosti.

### **4.1.3. Prostorni model s pretpostavkom korelacije alelnih frekvencija**

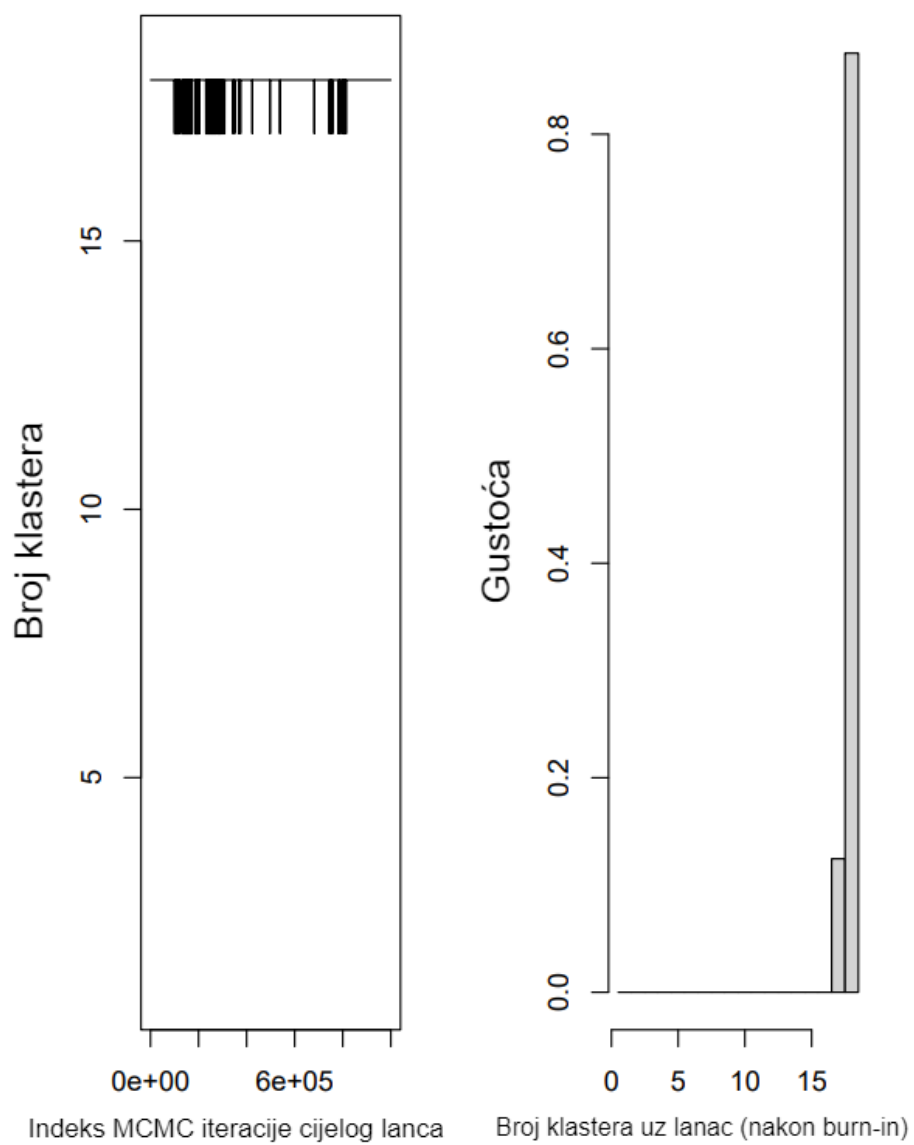
Prostorni model uz pretpostavljenu korelaciju alelnih frekvencija imao je modalni  $k = 18$  uz umjereno miješanje Markovljevih lanaca oko te vrijednosti (Slika 4.1.3.1). Od definiranih osamnaest prostornih područja, pet prostornih klastera ne sadržavaju uzorke te se smatraju nerelevantnim praznim klasterima (eng. ghost clusters), a trinaest klastera ima uzorke i smatraju se valjanima.

Uzorci su u trinaest genetskih populacija grupirani prema pasminskom podrijetlu s manjom rezolucijom za južne populacije, među kojima su četiri bosanskohercegovačke pasmine gdje svaka ima svoj klaster. Dalmatinska pramenka i u ovom modelu ima dva klastera (Slika 4.1.3.2).

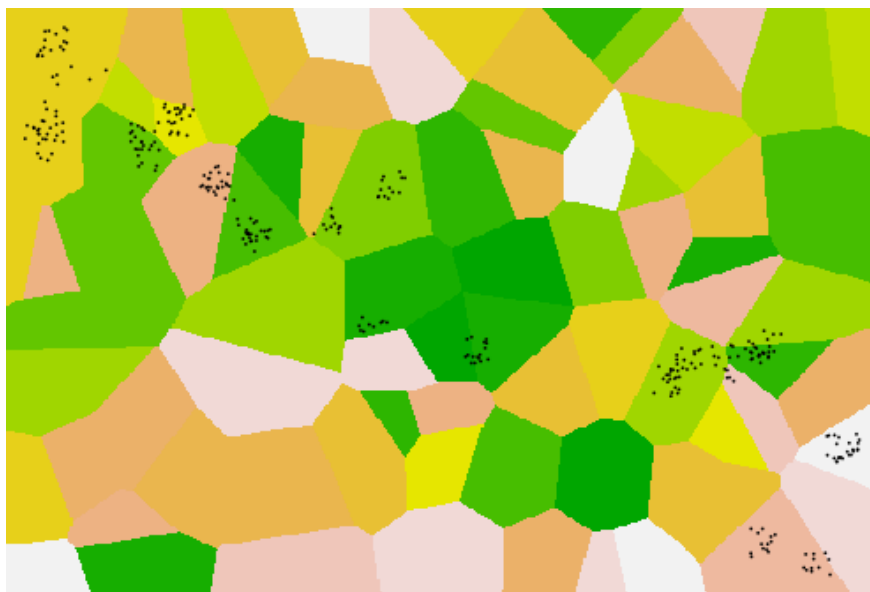
Kao što pokazuje Slika 4.1.3.2 istarska pramenka iz Slovenije i istarska ovca iz Hrvatske ulaze u jedan zajednički klaster, dok se 12 ostalih klastera odnosi na pojedinih 12 pasmina. To pokazuje da je rezultat dobiven ovim modelom u skladu sa prethodnim istraživanjem (Šalamon i sur. 2015.) gdje je genetska diferencijacija analizirana faktorijalnom analizom korespondencije i strukturnim klasteriranjem, te je dobivena jedna distinktna populacija istarske ovce neovisno o geografskom podrijetlu uzorka. Genetička divergencija istarske ovce iz Slovenije i Hrvatske nije izražena (Šalamon i sur. 2015). Dalmatinska pramenka ima dva klastera, te je ovaj rezultat u skladu s činjenicom da ova pasmina ima najšire uzgojno područje, ali i najveći broj grla (HAPIH, 2021).

Procijenjeni nizak parametar umiješanosti  $a$  ( $a = 3,9$ ) odnosi se na razlike varijanci unutar klastera koji su dobiveni analizom, te ukazuje na razliku u razinama umiješanosti (engl. admixture) unutar pojedinih klastera. Parametar prostorne skale ( $b = 63$ ) ukazuje na značaj prostorne komponente u strukturi analiziranih populacija (Guillot 2012.).

Iako su za četiri bosanskohercegovačke pasmine određena četiri klastera, uzorci dodijeljeni genetskim klasterima se ne poklapaju u potpunosti po pasminskom porijeklu. Sličan rezultat našem je dobiven u radu Šalamon i sur. 2014, gdje je najmanja genetska razlučivost dobivena za te pasmine, te je analizom strukture pokazana i veća razina genetske umiješanosti. .



**Slika 4.1.3.1.** Indeks iteracije cijelog Markovljevog lanca Monte Carlo (lijevo) sa maksimalnom, a posteriori procjenom broja klastera  $k$  nakon burn-in iteracija (desno) prostornog modela uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija analize 13 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 28 biljega



**Slika 4.1.3.2** Rezultat prostornog modela s pretpostavkom korelacije alelnih frekvencija analiziranih 13 pasmina istočnojadranskih pramenki temeljem 28 biljega – karta genetskih klastera. Obojeni poligoni predstavljaju 18 razlučivih klastera. Pet klastera analize su „ghost clusters” i ne sadržavaju uzorke (crne točke)

## 4.2. Druga skupina analiza: 14 pasmina i 7 biljega

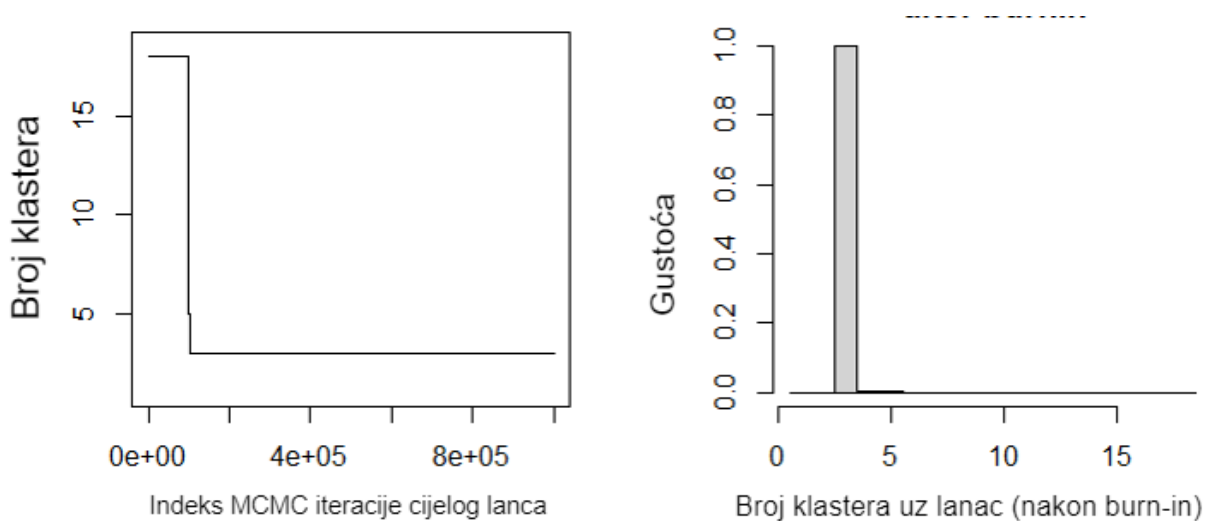
Dobiveni rezultati druge skupine analiza koje uz prethodnih 13 pasmina obuhvaćaju i belokranjsku pramenku, ali su vršene temeljem sedam mikrosatelitnih biljega, daju slične rezultate za prostorni i neprostorni model bez pretpostavke korelacija alelnih frekvencija. U prvom slučaju je analiza izdvojila najrazlučeniju pasminu kao zaseban genetski klaster. U neprostornoj analizi to je belokranjska pramenka, a u prostornoj su to belokranjska i lička.

Analize modela sa pretpostavkom korelacije alelnih frekvencija i u ovom primjeru su se pokazale spremnije razlučiti veći broj genetskih populacija, te se opet prostorni model pokazao uspješnijim u smislu konvergencije i u razvrstavanju uzoraka prema pasminskom podrijetlu u zasebne genetske klastere. No, u konačnici pokazana je manja moć razlučivanja nego u analizi sa četverostruko većim brojem biljega korištenih za modeliranje, osobito pri razlučivanju pasmina koje su se i ranije pokazale kao teške za razlučiti ili svrstati u zasebne genetske klastere.

Konzistentni rezultat svih modela ove skupine analiza pokazuje belokranjsku pramenku kao zasebni prostorno-genetski klaster.

### 4.2.1. Neprostorni modeli

Neprostorni model uz pretpostavku nekoreliranih alelnih frekvencija u skupini analiza 14 pasmina temeljem 7 mikrosatelitnih biljega je konzistentno u 10 ponavljanja iteracija lanaca pokazao, uz slabo miješanje lanaca, 3 klastera, odnosno  $k=3$  je bila maksimalna *a posteriori* procjena  $k$  (Slika 4.2.1.1).



**Slika 4.2.1.1.** Indeks iteracije cijelog Markovljevog lanca Monte Carlo (lijevo) sa maksimalnom, *a posteriori* procjenom broja klastera  $k$  nakon burn-in iteracija (desno)



neprostornog modela bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija analize 14 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 7 biljega.

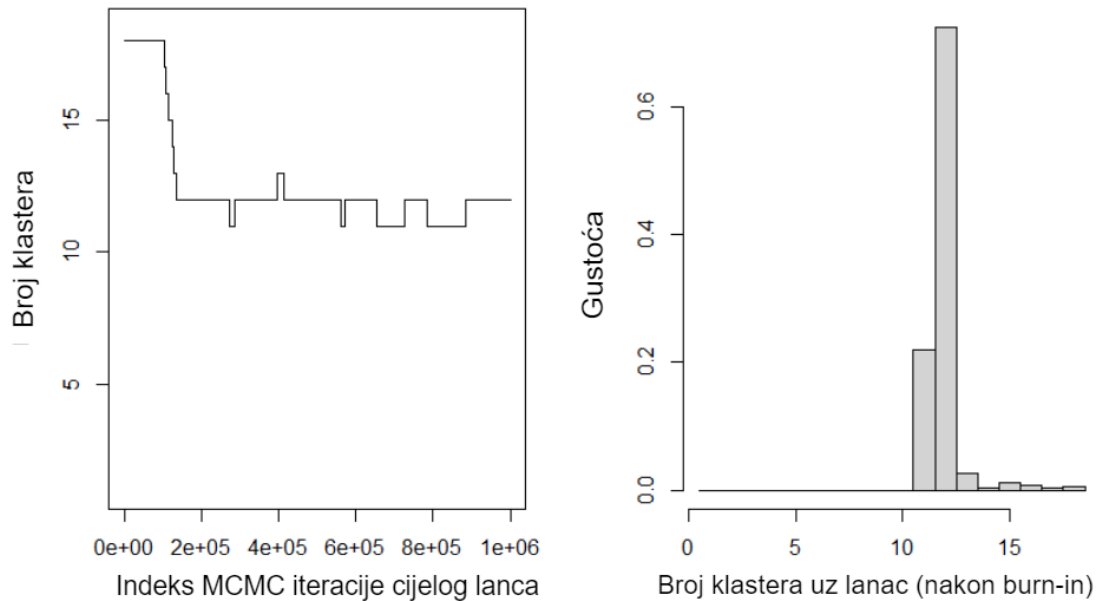
Dvije genetske populacije simulirane iz posteriorne distribucije odnose se na belokranjsku pramenku u jednom klasteru i sve ostale uzorke u druga dva klastera bez logičnog rasporeda kao što je vidljivo na karti posteriorne vjerojatnosti pripadnosti simuliranim populacijama (Slika 4.2.1.2). Dobra razlučivost belokranjske pramenke je dobivena i u radu Jevšinek Skok i sur. (2015.), gdje je utvrđeno da je belokranjska pramenka autentična pasmina temeljem deset mikrosatelitnih biljega.



**Slika 4.2.1.2.** Karta tri klastera neprostornog modela bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija u analizi 14 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 7 biljega. Klaster žute boje predstavlja uzorke belokranjske pramenke, a ostali uzorci pasmina su svrstani u druga dva klastera.

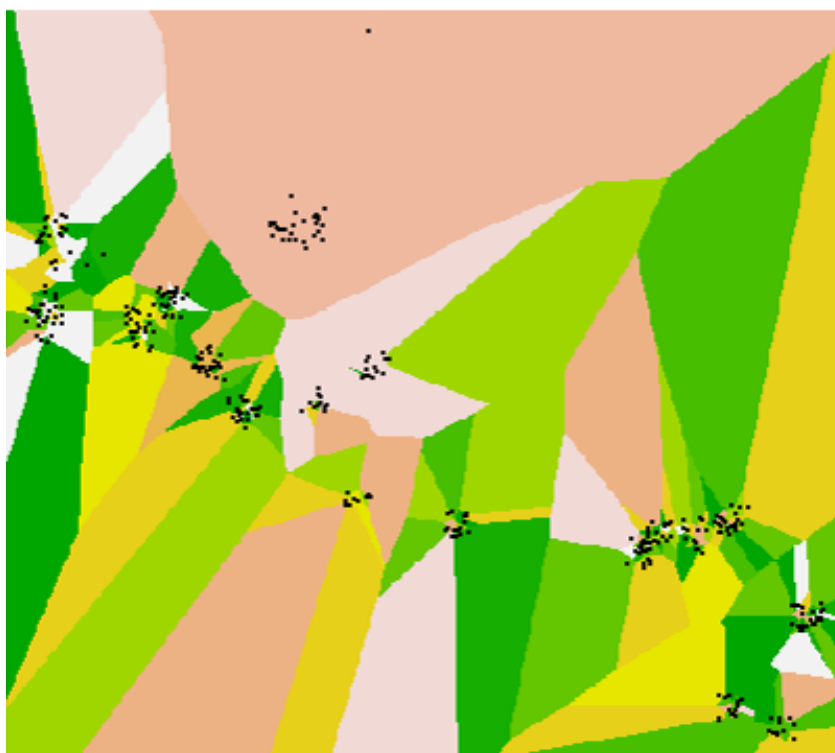
Neprostorni model uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija u prvoj skupini analiza nije imao konzistentan zaključak o broju klastera u 10 ponavljanja iteracije lanaca. Uz malo miješanje lanaca oko vrijednosti 12, kao najbolja vrijednost ka s maksimalnom *a posteriori* vjerojatnošću  $k=12$  (Slika 4.2.1.3). Analiza nije konzistentna u 10 ponavljanja

iteracije lanca, odnosno u tri ponavljanja je rezultat bio  $k = 11$ , u pet ponavljanja je  $k = 10$ , dok je dva ponavljanja prikazao  $k = 12$ .



**Slika 4.2.1.3.** Indeks iteracije cijelog Markovljevog lanca Monte Carlo (lijevo) sa maksimalnom, a posteriori procjenom broja klastera  $k$  nakon burn-in iteracija (desno) neprostornog modela uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija analize 14 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 7 biljega.

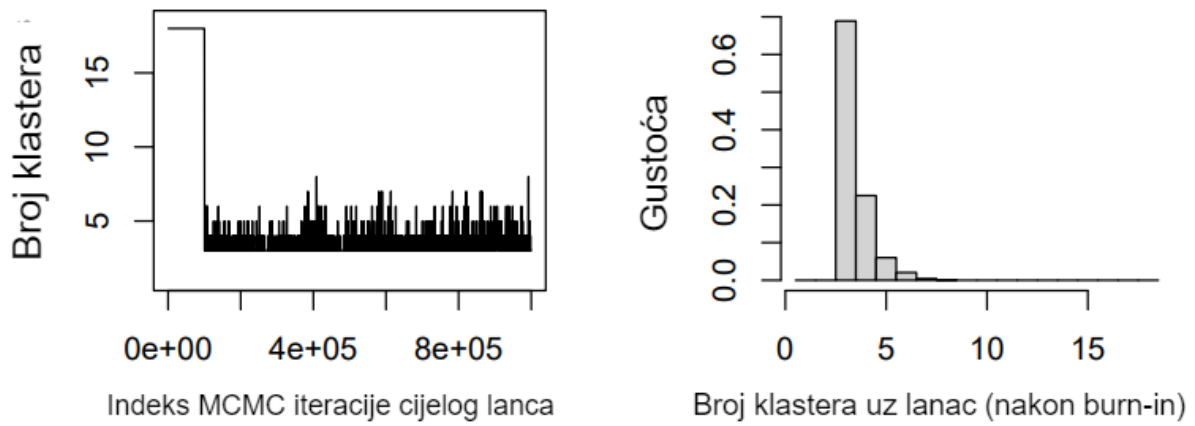
Populacije simulirane ovim modelom iz posteriorne distribucije odnose se na dvanaest populacija za 14 pasmina u kojima uzorci svih pasmina ulaze u dva ili više klastera, te se uzorci pojedinih pasmina nalaze u klasterima sa uzorcima drugih pasmina kao što je vidljivo na karti posteriorne vjerojatnosti pripadnosti simuliranim populacijama (Slika 4.2.1.4). Belokranjska pramenka je jedina pasmina koja je dobila zasebni klaster koji uključuje sve uzorke, naš rezultat potvrđuje istraživanje Jevšinek Skok i sur. (2015.) gdje navodi da je belokranjska pramenka autentična pasmina. Uzorci rapske ovce smješteni u više klastera u kojima nema uzoraka iz drugih pasmina. Velika većina uzoraka ličke pramenke je svrstana u klaster jedanaest, gdje su smješteni i uzorci drugih pasmina.



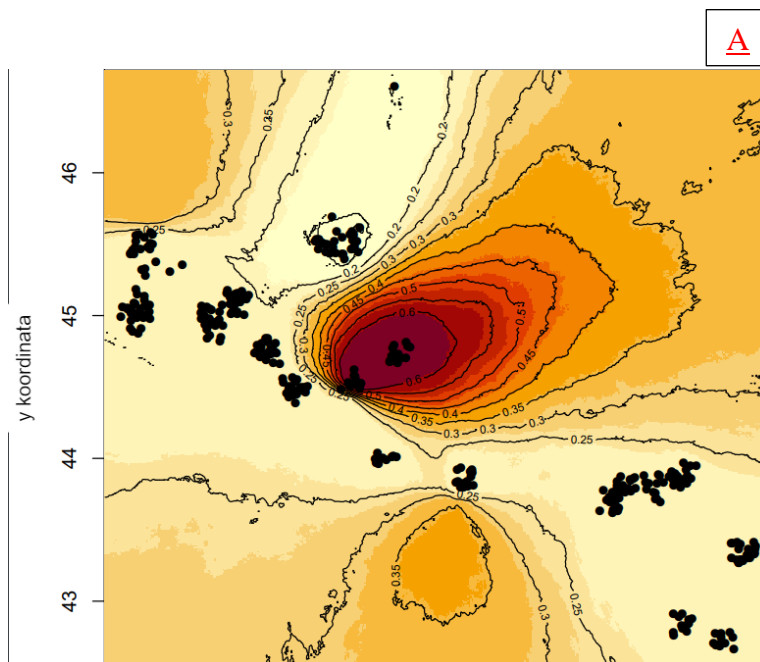
**Slika 4.2.1.4.** Karta dvanaest klastera neprostornog modela uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija u analizi 14 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 7 biljega. Svaka boja obuhvaća zasebni klaster, a točke označavaju uzorke genotipova.

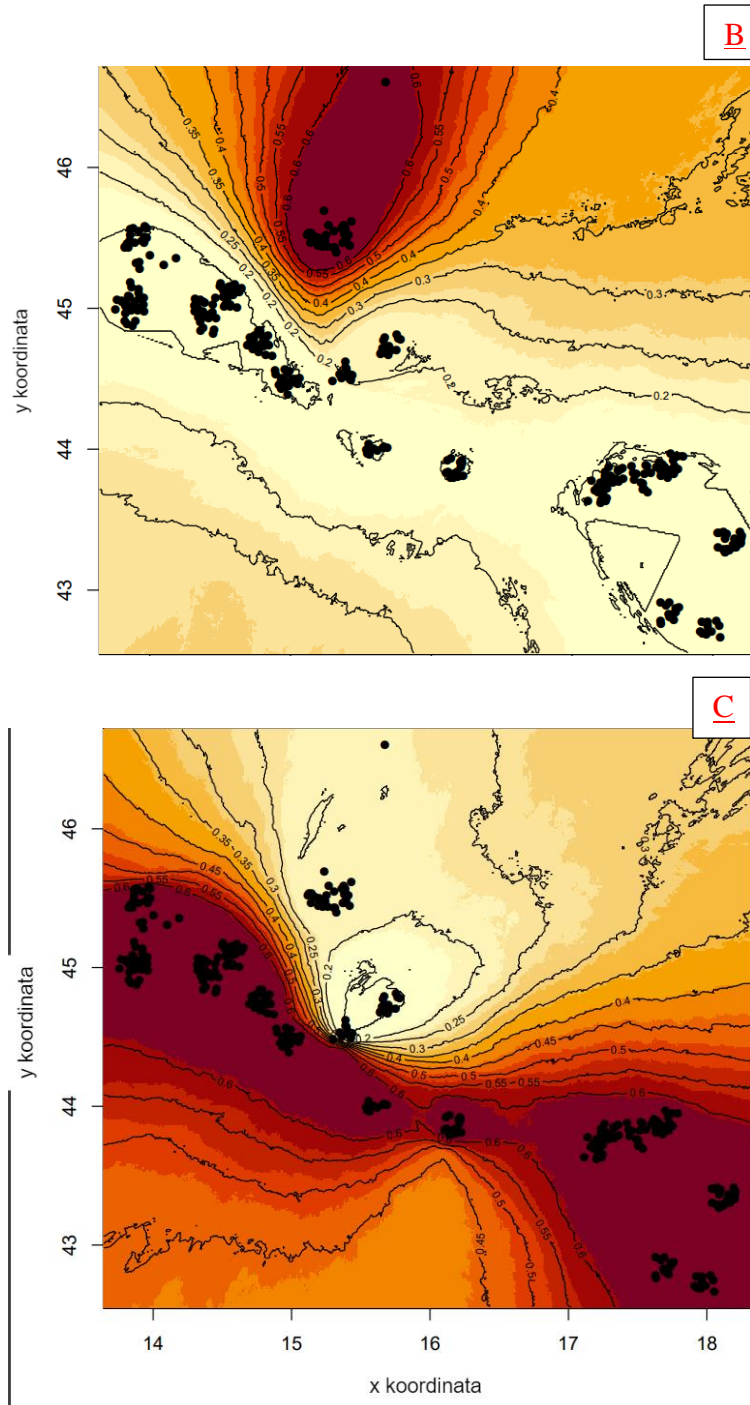
#### **4.2.2. Prostorni model bez pretpostavke korelacije alelnih frekvencija**

Prostorni model bez pretpostavljene korelacije alelnih frekvencija prepoznao je samo tri klastera, konzistentno u svih 10 ponavljanja i uz dobro miješanje Markovljevih lanaca (Slika 4.2.2.1). Očekivana je niska diferencijacija klastera zbog veće varijabilnosti unutar pasmina nego među njima te homogenosti populacije koju svrstava u jedan klaster (Šalamon i sur. 2014.). Tako je uočljivo da su zasebne klasterne dobile lička pramenka i belokranjska pramenka, dok su svi ostali uzorci zajedno u jednom klasteru (Slika 4.2.2.2).



Slika 4.2.2.1. Indeks iteracije cijelog Markovljevog lanca Monte Carlo (lijevo) sa maksimalnom, *a posteriori* procjenom broja klastera  $k$  nakon burn-in iteracija (desno) prostornog modela bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija analize 14 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 7 biljega



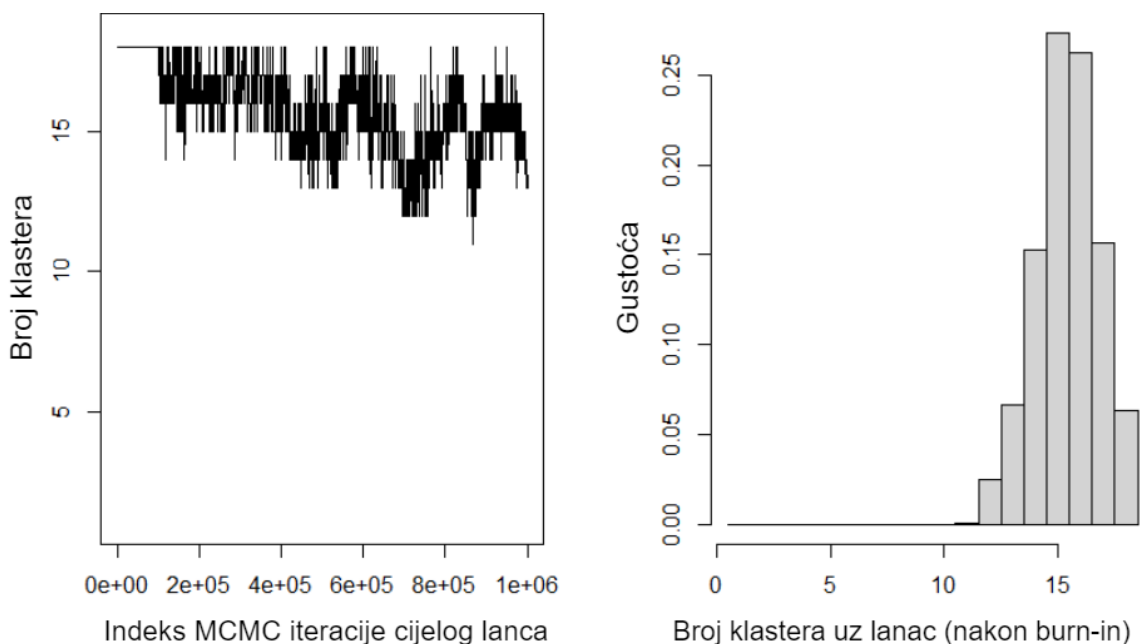


**Slika 4.2.2.2.** Karta tri klastera prostornog modela bez pretpostavke koreliranih alelnih frekvencija u analizi 14 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 7 biljega. Klaster 1 (A) obuhvaća uzorke ličke pramenke. Klaster 2 (B) obuhvaća uzorke belokranjske pramenke. Klaster 3 (C) obuhvaća sve preostale uzorke. Tamno područje na grafu prikazuje centar genetske populacije (klastera), dok je tonovima prema bijeloj pokazana posteriorna vjerojatnost pripadnosti klasteru u danom prostoru s naznačenim linijama vjerojatnosti.

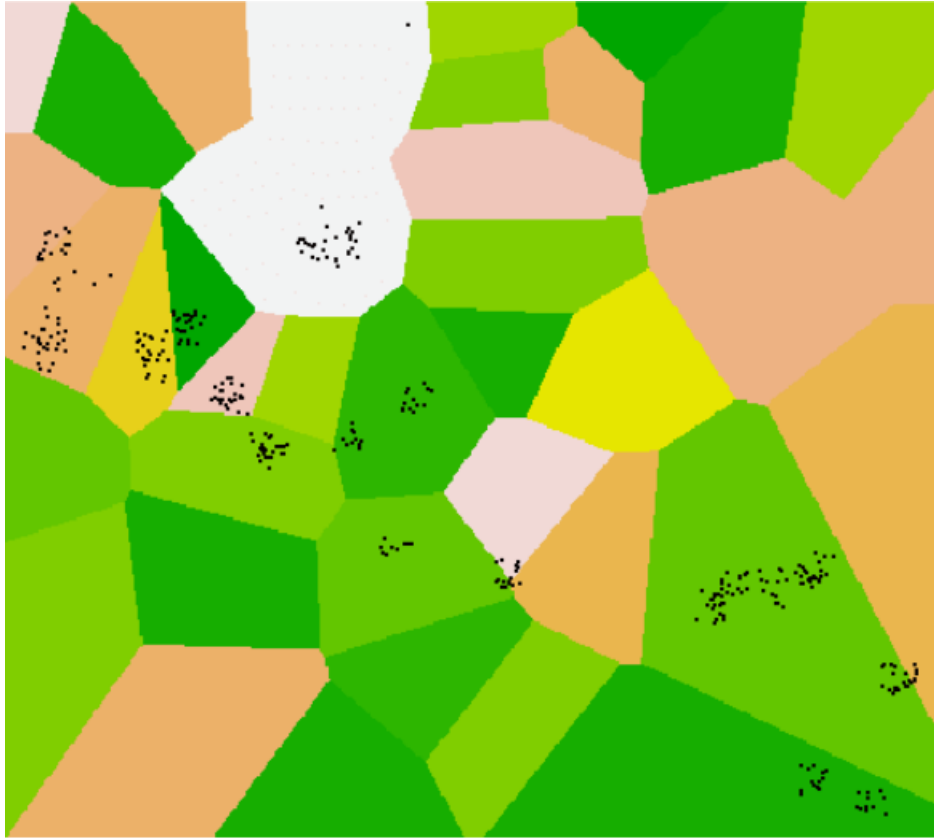
### 4.2.3. Prostorni model s pretpostavkom korelacije alelnih frekvencija

Prostorni model uz pretpostavljenu korelaciju alelnih frekvencija imao je modalni  $k=15$ , uz dobro miješanje Markovljevih lanaca oko te vrijednosti (Slika 4.2.3.1). Modalni  $k$  nije konzistentan u svih 10 ponavljanja, odnosno u šest ponavljanja zaključuje 15 klastera, četiri ponavljanja daju  $k = 14$ , dok jedno ponavljanje prikazuje  $k = 13$  i on je najlošiji po posteriornoj vjerojatnosti.

U ponavljanju s  $k=15$  sa najvećom posteriornom vjerojatnosti klasteri broj 6 i 7 su „Ghost clusters”. Guillot i sur. (2005.) i Puechmaille (2016.) su definirali „Ghost clusters” kao one sa srednjim koeficijentom pripadnosti  $<0,5$  iz bilo koje uzorkovane skupine, te se ne računaju kao pravi genetski klaster. U preostalih 13 klastera svoje zasebne genetske klasteru su dobili uzorci belokranjske pramenke, ličke pramenke, krčke ovce, creske ovce, rapske ovce, paške ovce i dubrovačke rude. Istarska ovca i istarska pramenka iz Slovenije imaju dva klastera, dok je dio istarske pramenke u istom klasteru sa istarskom ovcom. Dalmatinska pramenka je svrstana u tri klastera, a bosanskohercegovački uzorci u dva, te jedan od klastera dalmatinske pramenke pripada uzorcima privorske pramenke (Slika 4.2.3.2).



**Slika 4.2.3.1.** Indeks iteracije cijelog Markovljevog lanca Monte Carlo (lijevo) sa maksimalnom, a posteriori procjenom broja klastera  $k$  nakon burn-in iteracija (desno) prostornog modela uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija analize 14 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 7 biljega



**Slika 4.2.3.2.** Karta petnaest klastera prostornog modela uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija u analizi 14 pasmina istočnojadranskih ovaca temeljem 7 biljega. Zasebne klaster su dobili belokranjska pramenka, lička pramenka, krčka ovca, creska ovca, paška ovca, rapska ovca i dubrovačka ruda.

Manja razlučivost pasmina u ovom rezultatu od rezultata prostornog modela sa pretpostavkom koreliranih alelnih frekvencija u modelu sa 13 pasmina istočnojadranskih ovaca očekivana je s obzirom na manju informaciju koju daje četverostruko manji set biljega korištenih u ovoj analizi.

### **4.3. Očuvanje farmskih životinjskih genetskih resursa**

Organizacija Ujedinjenih naroda za hranu i poljoprivredu (FAO, 2007) pokrenula je 2007. globalnu strategiju za upravljanje genetskim resursima domaćih životinja (FAnGR, engl. Farm Animal Genetic Resources). Glavni ciljevi ovog plana su identificirati genetske resurse, karakterizirati ih i zaštititi kako bi se zaustavila daljnja genetska erozija i promicala genetska raznolikost u resursima domaćih životinja (FAO, 2011). Korištenjem geo-referenciranih multidisciplinarnih podataka dobili smo biološke izvorne populacije današnjih pasmina različitih država, odnosno dodatni izvor znanja za očuvanje lokalnih farmskih genetskih resursa. Promjenama granica inicijalna populacija istarske ovce je fragmentirana u tri genetski izolirane sub-populacije u Italiji, Sloveniji i Hrvatskoj. Dvije regionalne skupine istarske ovce pokazuju vrijedne razlike u genotipu i izrazitu genetsku raznolikost od drugih pasmina s niskim razinama umiješanosti. Međutim, istarska pramenka iz Slovenije pokazala je nižu genetsku varijabilnost od istarske ovce iz Hrvatske (Šalamon i sur. 2015.). Tapio i sur. 2005. navode da bi se trebalo obavljati svrstavanje jedinki u populacije na temelju obrasca genetske raznolikosti koji nudi potencijalno nepristrane načine razjašnjavanja strukture genetske populacije vrsta. Kombinacija informacije genetskih populacija s fenotipskim i etiološkim podacima omogućit će formuliranje preporuka za upravljanje genetskim resursima (Tapio i sur. 2005.). Preporučuje se analiza uzgojnih ciljeva populacija iz zajedničkog genetskog klastera, te provjera opravdanosti ukidanja genetske barijere.



## 5. Zaključak

Genetska varijabilnost istočnojadranskih pramenki je strukturirana u prostoru, jer su odgovarajući modeli koji opisuju naše podatke u obje skupine modela bili oni sa prostornom komponentom.

Rezultati dobiveni za 13 istočnojadranskih pramenki u setu analiza sa 28 i sa 7 biljega su slični, najvjerođostojnijim su se pokazali rezultati prostornog modela s pretpostavkom korelacije alelnih frekvencija. U obje skupine analiza, pasmine uglavnom odgovaraju genetskim populacijama, uz očekivanu manju rezoluciju analize na puno manjem setu biljega. Najdistinktnije pasmine su se pokazale kao zasebni genetski klasteri: creska ovca, lička pramenka, belokranjska pramenka, krčka ovca, rapska ovca i dubrovačka ruda. Izuzev najdistinktnijih pasmina, pojedini modeli teško su razlučili pasmine koje su u genetskom gradijentu (cline): istarska ovca, istarska pramenka, dalmatinska pramenka, paška ovca, kupreška pramenka, vlašička pramenka, stolačka i privorska pramenka.

Konzistentni rezultat svih modela koji su vršeni na skupini od 14 pasmina pokazuju da je belokranjske pramenka zaseban prostorno-genetski klaster, iako su te analize zbog manjeg broja biljega slabije razlučile neke druge pasmine u biološke populacije.

Prostornim modelom uz pretpostavku koreliranih alelnih frekvencija određeno je 13 klastera i prostornih obuhvata za trinaest pasmina u analizi sa 28 biljega. Prostornim modelima s pretpostavkom koreliranih alelnih frekvencija i bosanskohercegovačke pasmine, koje su pokazivale tešku razlučivost i veće razine genetske umiješanosti su razlučene svaka u svoj klaster i prostorni obuhvat. U zajednički klaster koji predstavlja biološku populaciju na određenom prostoru smještene su slovenska istarska pramenka i hrvatska istarska ovca.

Ako su usklađeni uzgojni ciljevi za pasmine koje se svrstavaju u zajedničku genetsku populaciju u smislu očuvanja genetske raznolikosti imalo bi smisla razmotriti ukidanje trenutno postojeće reproduktivne barijere. To je relevantno za istarsku ovcu i istarsku pramenku iz Slovenije. Preporuka je napraviti analize usporedbe uzgojnih ciljeva, analizu resursa talijanskog dijela populacije istrijanke i razmotriti prednosti i nedostatke razmjene genetskog materijala.

## 6. Popis literature

1. Balkenhol, N., Cushman, S., Storfer, A., Waits, L. (2015). *Landscape genetics: concepts, methods, applications*. John Wiley & Sons.
2. Banadinović M. (2017). *Geografska raspodjela genetske raznolikosti istočno-jadranskih i zapadno-dinarskih pasmina ovaca* (Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet. Zavod za stočarstvo).
3. Banadinović M., Džidić A., Simčić M., Šalamon D. (2017). *Geographic Patterns of Genetic Variation in Indigenous Eastern Adriatic Sheep Breeds*. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 82(3), 281-285.
4. Barać Z., Bedrica L., Čačić M., Dražić M., Dadić M., Ernoić M. i sur., park Krka, N. (2011). *Zelena knjiga izvornih pasmina Hrvatske/Green book of indigenous breeds of Croatia*. Državni zavod za zaštitu prirode.
5. Barać Z., Mioč B., Čokljat Z. (2006). *Ovčarstvo u Primorsko-goranskoj županiji*. Hrvatski savez zadruga, Zagreb.
6. Batinić V. (2020). *Morfologija vimena dominantnih pasmina kao pokazatelj proizvodnje mlijeka i pogodnosti za strojnu mužnju ovaca u Bosni i Hercegovini*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
7. Bojkovski D., Cividini A., Čepon M., Holcman A., Kompan D., Kovač M., Komprej A., Lotrič M. Ž., Malovrh Š., Potičnik K., Simičič M., Terčič D., Zajc, P. (2014). *Slovenske avtohtone in tradicionalne pasme domačih živali*. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje.
8. Böhm O. (2004). *Sheep and goat husbandry in Primorje (the Slovenian littoral) between 1946 and 1952*. *Slovenian Veterinary Research* 41, 95–123.
9. Cambon J., Hernangómez D., Belanger C., Possenriede D. (2021). "tidygeocoder: An R package for geocoding." *Journal of Open Source Software*, 6(65), 3544
10. Casellas J., Jiménez N., Fina M., Tarrés J., Sánchez A., Piedrafita J. (2004). *Genetic diversity measures of the bovine Alberes breed using microsatellites: variability among herds and types of coat colour*. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 121(2), 101-110.
11. Ciani, Elena, et al. "On the origin of European sheep as revealed by the diversity of the Balkan breeds and by optimizing population-genetic analysis tools." *Genetics Selection Evolution* 52.1 (2020): 1-14.

12. Držaić I. (2022). Genomska karakterizacija hrvatskih izvornih pasmina ovaca, Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb.
13. Duruz S., Flury C., Matasci G., Joerin F., Widmer I., Joost S. (2017). A WebGIS platform for the monitoring of Farm Animal Genetic Resources (GENMON). *PloS one*, 12(4), e0176362.
14. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) 2000. World watch list for domestic animal diversity (No. Ed. 3), Scherf B.D.
15. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) 2007. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture – in brief, edited by Dafydd Pilling & Barbara Rischkowsky. Rome.
16. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) 2011. Molekulargenetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal production and health guidelines. No. 9. Commission on genetic resources for food and agriculture. FAO, Rome, Italy.
17. Garibović Z., Pavić V., Mioč B., Prpić Z., Vnučec I. (2006). Važnost ovčarstva u hrvatskim priobalnim područjima. *Agronomski glasnik: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva*, 68(6), 509-522.
18. Grabrijan B. (1997): Belokranjska pramenka - pozabljena ovca. *Drobnica*, 2: 25.
19. Guillot G. Inference of structure in subdivided populations at low levels of genetic differentiation. The correlated allele frequencies model revisited. *Bioinformatics*, 24:2222-2228, 2008.
20. Guillot, G., Mortier, F., & Estoup, A. (2005). GENELAND: A computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Resources*, 5(3), 712– 715.
21. Guillot G., Renaud S., Ledevin R., Michaux J., Claude J. (2012). A unifying model for the analysis of phenotypic, genetic, and geographic data. *Systematic biology*, 61(6), 897-911.
22. Guillot G., Santos F., Estoup A. (2011). Population genetics analysis using R and the Geneland program. Lyngby, Denmark: Technical University of Denmark.
23. Guillot, G. (2012). Population genetic and morphometric data analysis using R and the Geneland program.
24. HPA (2014): Izvješće za 2013. godinu, Ovčarstvo, kozarstvo i male životinje. Hrvatska poljoprivredna agencija, Križevci.
25. HAPIH (2021): Godišnje izvješće za 2020. godinu, Ovčarstvo, kozarstvo i male životinje. Hrvatska agencija za poljoprivrednu i hranu, Osijek.

26. Ivanković S., Ćurković M., Batinić V., Mioč B., Ivanković A. (2009). Eksterijerne odlike kupreške pramenke. *Stočarstvo: Časopis za unapređenje stočarstva*, 63(3), 163-173.
27. Jevšinek Skok D., Šalamon D., Džidić A., Bojkovski D., Simčić M. (2015). Genetic diversity of Bela Krajina pramenka compared to three Croatian sheep breeds—a preliminary study. *Poljoprivreda*, 21(1 SUPPLEMENT), 142-145.
28. Jombart T., Devillard S., Dufour A. B., Pontier D. (2008). Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. *Heredity*, 101(1), 92-103.
29. Kastelic M., Špehar M., Barać Z. (2013). Productivity of milk and milk composition of Istrian sheep in Croatia and Slovenia. *Slovenian Veterinary Research*, 50(4), 149-156.
30. Laloč D., Moazami-Goudarzi K., Lenstra J. A., Marsan P. A., Azor P., Baumung R., Bradley D. G., Bruford M. W., Canon J., Dolf G., Dunner S., Erhardt G., Hewitt G., Kantanen J., Obexer-Ruff G., Olsaker I., Rodellar C., Valentini A., Wiener P., Econogene Consortium (2010). Spatial trends of genetic variation of domestic ruminants in Europe. *Diversity*, 2(6), 932-945.
31. Mioč B., Pavić V., Barać Z. (1998). Odlike eksterijera ličke pramenke. *Stočarstvo*, 52(1), 93-98.
32. Mioč B., Pavić V., Sušić, V. (2007.a). Ovčarstvo. Hrvatska mljekarska udruga.
33. Mioč B., Pavić V., Barać Z., Sušić, V., Prpić Z., Vnučec I., Mulc D. (2006). Vanjština rapske ovce. *Stočarstvo: Časopis za unapređenje stočarstva*, 60(3), 163-171.
34. Mioč B., Barać Z., Pavić V., Prpić Z., Vnučec I. (2007.b, November). Odlike vanjštine i proizvodnosti nekih hrvatskih izvornih pasmina ovaca. In *Konferencija o izvornim pasminama i sortama kao dijelu prirodne i kulturne baštine s međunarodnim sudjelovanjem* (Vol. 13, No. 16.11, p. 2007).
35. Mioč B., Pavić V., Barać Z., Vnučec I., Prpić Z., Mulc D., Špehar M. (2011.a). Program uzgoja ovaca u Republici Hrvatskoj. *Hrvatski savez uzgajivača ovaca i koza*, Zagreb, 23-52.
36. Mioč B., Krvavica M., Vnučec I., Držaić V., Prpić Z., & Kegelj A. (2011.b). Klaonički pokazatelji i odlike trupova travničke pramenke. *Stočarstvo: Časopis za unapređenje stočarstva*, 65(3), 179-188.
37. Mioč B., Prpić Z., Barać Z., Vnučec I. (2012). Istarska ovca hrvatska izvorna pasmina. Zagreb, Hrvatski savez uzgajivača ovaca i koza. Zagreb, Hrvatska.
38. Mitić N. (1984); *Ovčarstvo, monografsko delo*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd.

39. Narodne novine (2021) Zakon o uzgoju domaćih životinja, Narodne novine, br. 115/18
40. Oldenbroek, K. (Ed.). (2007). Utilisation and conservation of farm animal genetic resources (Vol. 232). Wageningen: Wageningen Academic Publishers.
41. Genska banka Slovenije (2021): Pasmе; Javna služba nalog genske banke v živinoreji <https://www.genska-banka.si/pasme/istrska-pramenka/> - pristup: 05.04.2022.
42. Pavić V., Mioč B., Barać Z., Vnučec I., Sušić V., Antunac N., Samardžija D. (2005). Vanjština paške ovce. Stočarstvo: Časopis za unapređenje stočarstva, 59(2), 83-90.
43. Pavlinić P. (1936): Paška ovca. Poseban otisak iz Veterinarskog arhiva, knjiga 6, Zagreb.
44. Pecina M. (2006). Metode multivarijatne analize-osnove. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
45. Posavi M., Ernoić M., Ozimec R., Poljak F. (2002): Hrvatske pasmine domaćih životinja. Ministarstvo zaštite okoliša i prostornog uređenja Republike Hrvatske, Zagreb, 56-58.
46. Puechmaille, S. J. (2016). The program STRUCTURE does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: Subsampling and new estimators alleviate the problem. *Molecular Ecology Resources*, 16(3), 608–62
47. R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (URL <https://www.R-project.org/>).
48. Radović A. (2015). Programski jezik R u vizualizaciji i analizi prostornih podataka (S730). Sveučilišni računski centar SRCE.
49. Safner T., Miller M. P., McRae B. H., Fortin M. J., Manel S. (2011). Comparison of Bayesian clustering and edge detection methods for inferring boundaries in landscape genetics. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(2), 865-889.
50. Statistički godišnji ljetopis Federacije Bosne i Hercegovine, Sarajevo (2021).
51. Šakić V., Katica V., Katica J. (2018). Autohtone vrste domaćih životinja u Bosni i Hercegovini. Veterinarski fakultet, Sarajevo
52. Šalamon D., Džidić A. (2014). Preferences of Istrian sheep udder shape type on farms that apply machine milking. *Acta agraria Kaposvariensis*, 18(1), 166-172
53. Šalamon D., Gutierrez-Gil B., Arranz J. J., Barreta J., Batinić V., Džidić A. (2014). Genetic diversity and differentiation of 12 eastern Adriatic and western Dinaric native sheep breeds using microsatellites. *Animal*. 8, 2: 200-207.

54. Šalamon D., Gutierrez-Gil B., Simcic M., Kompan D., Dzidic A. (2015). Microsatellite based genetic structure of regional transboundary Istrian sheep breed populations in Croatia and Slovenia. *Mljekarstvo/Dairy*, 65(1).
55. Šalamon D., Furdić P., Tešija T., Džidić A. (2019). Genetic parameters for the external udder morphology in commercial farms of Istrian sheep from Croatia. *Journal of Central European Agriculture*, 20(1), 68-73.
56. Šmalcelj I. (1937). Vlašička ovca. *Poljoprivredni glasnik* 2
57. Tapio I., Tapio M., Grislis Z., Holm L. E., Jeppsson S., Kantanen J., Miceikiene I., Olsaker I., Viinalass H., Eythorsdottir E. (2005). Unfolding of population structure in Baltic sheep breeds using microsatellite analysis. *Heredity*, 94(4), 448-456.
58. Toksić A. (2015). Development of GIS at the Department of Geography, Faculty of Science, University of Zagreb. *Acta Geographica Croatica*, 41(1.), 1-17.
59. Yao Xiaobai A. (2020), Kobayashi, Audrey (ed.), "*Georeferencing and Geocoding*", *International Encyclopedia of Human Geography (Second Edition)*, Oxford: Elsevier

## Životopis

Lorena Mustać rođena je 16.02.1999. godine u Zadru. Pohađala je O.Š. Privlaka te je potom upisala Medicinsku školu Ante Kuzmanića u Zadru. Maturirala je 2017. godine i nakon završene srednje škole upisala je preddiplomski sveučilišni studij na Sveučilištu u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu, smjer Primijenjena ekologija u poljoprivredi. Pri završetku preddiplomskog studija na Sveučilištu u Zadru, dobila je sveučilišnog prvostupnika. Potom upisuje diplomski studij na Agronomskom fakultetu u Zagrebu, smjer „Genetika i oplemenjivanje životinja“. Tijekom srednje škole se bavila odbojkom. Odslušala je tečaj „Uvod u programiranje (Python)“ i „Programiranje u Pythonu“ na SRCU.