

Analiza varijabilnosti mitogenoma autohtonih pasmina ovaca Republike Hrvatske

Diab, Filip

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:204:121700>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-21**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**ANALIZA VARIJABILNOSTI MITOGENOMA
AUTOHTONIH PASMINA OVACA REPUBLIKE
HRVATSKE**

DIPLOMSKI RAD

Filip Diab

Zagreb, rujan, 2023.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Genetika i oplemenjivanje životinja

**ANALIZA VARIJABILNOSTI MITOGENOMA
AUTOHTONIH PASMINA OVACA REPUBLIKE
HRVATSKE**

DIPLOMSKI RAD

Filip Diab

Mentor:

Doc.dr.sc. Vladimir Brajković

Zagreb, rujan, 2023.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Filip Diab**, JMBAG **0178125013**, rođen/a **31.05.1992** u **Zagrebu**, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

**ANALIZA VARIJABILNOSTI MITOGENOMA AUTOHTONIH PASMINA OVACA
REPUBLIKE HRVATSKE**

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/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Filip Diab**, JMBAG 0178125013 , naslova

**ANALIZA VARIJABILNOSTI MITOGENOMA AUTOHTONIH PASMINA OVACA
REPUBLIKE HRVATSKE**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|-----------------------------------|--------|-------|
| 1. | Doc. dr .sc. Vladimir Brajković | mentor | _____ |
| 2. | Prof. dr. sc. Vlatka Čubrić Čurik | član | _____ |
| 3. | Prof. dr. sc. dr. h. c. Ino Čurik | član | _____ |

Zahvala

Velika zahvala ide mom mentoru, Vladimiru Brajkoviću, na neizmjerenom strpljenju, vodstvu i dragocjenim savjetima tijekom cijelog istraživanja i pisanja ovog rada. Bez njegove podrške i stručnosti ovaj rad ne bi bio moguć.

Želim se iskreno zahvaliti profesoru Ini Čuriku na njegovim dragocjenim preporukama i mogućnosti sudjelovanja u preporučenoj praksi na Sveučilištu Boku, koje su obogatile moje akademsko iskustvo.

Također bih želio izraziti veliku zahvalnost svojim roditeljima, koji su oduvijek bili moja podrška i inspiracija. Njihovo razumijevanje i poticaj bili su ključni za moj uspjeh tijekom akademskog puta.

Sadržaj

| | |
|--|----|
| 1. Uvod..... | 1 |
| 2. Ciljevi rada..... | 3 |
| 3. Pregled dosadašnjih istraživanja | 4 |
| 3.1. Povijest domestikacije | 4 |
| 3.2. Hrvatske izvorne i zaštićene pasmine | 5 |
| 3.2. Stanje ovaca u svijetu..... | 6 |
| 3.3. Mitohondrij | 8 |
| 3.4. Mitohondrijska DNA | 9 |
| 3.5. Varijabilnost D-loop regije | 11 |
| 3.6. Varijabilnost mitogenoma..... | 23 |
| 4. Materijali i metode | 30 |
| 4.1. Materijali..... | 30 |
| 4.1.1. Uzorci i izrada baze podataka | 30 |
| 4.2. Metode | 31 |
| 4.2.1. Galaxy platforma | 31 |
| 4.2.2. Vizualizacija mitogenoma IGV programom..... | 35 |
| 4.2.3. Kvaliteta nukleotidnih sljedova | 37 |
| 4.2.4. Proučavanje filogenetskih odnosa između haplogrupa..... | 38 |
| 4.2.5. Analiza varijabilnosti mitogenoma po segmentima..... | 42 |
| 5. Rezultati | 43 |

| | |
|--|----|
| 5.1. Dubina i duljina pokrivenosti konsenzus sekvenci mitogenoma..... | 43 |
| 5.2. Deskriptivna statistika varijabilnih mjesta mitogenoma..... | 45 |
| 5.3. Varijabilnost mitogenoma i klasifikacija haplogrupa..... | 47 |
| 5.4. Varijabilnost mitogenoma po segmentima | 48 |
| 5.5. Filogentska analiza..... | 51 |
| 5.5.1. BEAST analiza..... | 51 |
| 5.5.2. Median joining mreža | 52 |
| 5.6. Filogeografska rasprostranjenost haplogrupa | 55 |
| 5.6.1 Filogeografska rasprostranjenost haplogrupa prema kontinentima | 55 |
| 5.6.2 Filogeografska rasprostranjenost haplogrupa prema državama..... | 56 |
| 6. Rasprava..... | 59 |
| 7. Zaključak..... | 65 |
| 8. Popis literature | 66 |
| 9. Prilozi..... | 75 |
| Tablica P1. Popis analiziranih mitogenoma..... | 76 |

Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Filip Diab**, naslova

Analiza varijabilnosti mitogenoma autohtonih pasmina ovaca Republike Hrvatske

Ovčarstvo je predstavlja važan tip ekstenzivnog stočarstva u Hrvatskoj. Proučavanje genetske varijabilnosti ovaca postaje sve važnije, posebno uzimajući u obzir male efektivne veličine populacija naših autohtonih pasmine ovaca, koje mogu rezultirati smanjenom genetskom raznolikošću, što može povećati rizik od negativnih genetskih anomalija i smanjiti otpornost stada na bolesti ili druge ekološke stresore. U ovom radu prvi put je analizirana varijabilnost rodovo na molekularnoj razini proučavanjem cijelog mitogenoma 23 jedinke koje predstavljaju osam autohtonih pasmina ovaca (creska ovca, dalmatinska pramenka, dubrovačka ruda, istarska ovca, krčka ovca, lička ovca, paška ovca i rapska ovca) i dva muflona iz Hrvatske. Pomoću bioinformatičkih alata iz cijelog genoma ovaca i muflona 12x pokrivenosti izdvojeni su mitogenomi s prosječnom dubinom pokrivenosti 1626, a genoma 30x pokrivenosti izdvojeni su mitogenomi s prosječnom dubinom pokrivenosti 1851. Fasta set od 25 mitogenoma duljine 16616 bp sastojao se od 247 singleton i 112 parsim informativnih mjesta čineći 24 haplotipa s raznolikošću haplotipova 0.997 pružajući korisne informacije o velikoj genetskoj raznolikosti i između naših pasmina ovaca i muflona. U svrhu detaljnije filogenetske i filogeografske analize mitogenoma, navedenih 25 mitogenoma analizirano je s dodatnih 348 mitogenoma različitih svjetskih pasmina ovaca iz GenBank repozitorija. Median joining mreža pokazala je da svi haplotipovi naših autohtonih pasmine ovaca i muflona iz Hrvatske pripadaju haplogrupi B te zanimljivo jedan haplotip krčke ovce A i jedan haplotip dubrovačke rude C haplogrupi. Beast filogenetska analiza temeljena na Bayesian metodi također je potvrdila pripadnost navedenih uzoraka A, B i C haplogrupi uz posteriori vjerojatnost 1 grananja navedenih haplogrupa. Filogeografska distribucija haplogrupa potvrdila je visoku učestalost haplogrupe A u pasminama iz srednje i istočne Azije, te visoku učestalost haplogrupe B u Europi i

Anatoliji. Rijetke haplogrupe C pojavljuju se na području Pirenejskog poluotoka, Bliskog istoka, regije Kaspijskog mora, Kine, Indije i Nepala, dok se haplogrupe D i E mogu pronaći na Bliskom istoku. Haplotipovi naših muflona svrstani su u haplogrupu B zajedno s ostalim europskim muflonima. Prisutnost dva haplotipa pripisana haplogrupama A i C sugerira migracijske kontakte između Balkana i Bliskog istoka koje je potrebno dodatno istražiti.

Ključne riječi: mtDNA, Genetska raznolikost, Haplogrupe, Filogenetska analiza

Summary

Of the master's thesis – student Filip Diab, entitled

Analysis of Mitogenome Variability in Indigenous Sheep Breeds of the Republic of Croatia

Sheep farming represents an important type of extensive livestock farming in Croatia. Studying the genetic variability of sheep is becoming increasingly crucial, especially considering the small effective population sizes of our indigenous sheep breeds. These small populations can result in reduced genetic diversity, which may increase the risk of negative genetic anomalies and reduce the herd's resistance to diseases or other environmental stressors. This study, for the first time, analyzed genetic variability at the molecular level by examining the entire mitogenome of 23 individuals representing eight indigenous sheep breeds (Cres Island sheep, Dalmatian Pramenka sheep, Dubrovnik Ruda sheep, Istrian sheep, Krk sheep, Lika sheep, Pag sheep, and Rab sheep) and two mouflons from Croatia. Using bioinformatics tools, mitogenomes with an average coverage depth of 1626 were extracted from the whole genomes of sheep and mouflons at 12x coverage, and mitogenomes with an average coverage depth of 1851 were extracted from genomes at 30x coverage. The fasta set of 25 mitogenomes, with a length of 16616 bp, consisted of 247 singletons and 112 parsimony-informative sites, comprising 24 haplotypes with a haplotype diversity of 0.997. This provided valuable information about high genetic diversity both within and between our sheep breeds and mouflons. For a more detailed phylogenetic and phylogeographic analysis of the mitogenomes, these 25 mitogenomes were analyzed alongside an additional 348 mitogenomes from various sheep breeds worldwide from the GenBank repository. The median-joining network revealed that all haplotypes of our indigenous sheep breeds and Croatian mouflons belong to haplogroup B. Interestingly, one Krk sheep haplotype belonged to haplogroup A, and one Dubrovnik Ruda sheep haplotype belonged to haplogroup C. Bayesian-based Beast phylogenetic analysis also confirmed the membership of these haplotypes in haplogroups A, B, and C, with posterior probabilities of 1 for the branching of these haplogroups. The phylogeographic distribution of haplogroups confirmed a high frequency of haplogroup A in breeds from Central and Eastern Asia, and a high frequency of haplogroup B in Europe and Anatolia. Rare haplogroups C were found in the Pyrenees, the Middle East, the Caspian Sea region, China, India, and Nepal, while haplogroups D and E were present in the Middle East. The haplotypes of our mouflons were

grouped into haplogroup B, along with other European mouflons. The presence of two haplotypes attributed to haplogroups A and C suggests migratory contacts between the Balkans and the Middle East, which require further investigation.

Keywords: mtDNA, Genetic Diversity, Haplogroups, Phylogenetic Analysis

1. Uvod

Ljudska povijest obiluje ključnim trenucima, a jedan od najutjecajnijih je domestikacija domaćih životinja, koja je bila temelj suvremene poljoprivrede i stočarstva (Dong i sur., 2019). Domestikacija predstavlja postupno ukroćivanje divljih biljaka i životinja kako bi se prilagodile ljudskim potrebama, uključujući proizvodnju hrane, odjeće i drugih resursa. Ovaj proces rezultirao je morfološkim i genetskim promjenama u životinjama, ali i u načinu života ljudi (Butler i Hodos, 2005).

Među prvim životinjama koje su ljudi ukrotili bile su ovce. Ovce su imale centralnu ulogu u ranim ljudskim zajednicama, pružajući ne samo meso, već i vunu, koja je bila presudna za odjeću i druge tekstilne proizvode. Proces domestikacije ovaca bio je postepen i odvijao se tijekom tisućljeća, često bivajući predmetom istraživanja arheologa, znanstvenika i stočara. Osim što se fokusira na sam proces domestikacije, istraživanja često razmatraju i puteve migracije i širenja ovčarstva (Zeder i sur., 2006).

Prema dostupnim povijesnim podacima, prvi dokazi o domestikaciji ovaca potječu iz perioda prije otprilike 10.000 godina. Bliski Istok često se ističe kao ključno područje gdje su počeci ovčarstva najuočljiviji. Divlje vrste poput (*Ovis orientalis*) često se navode kao potencijalni preci današnjih domaćih ovaca. S razvojem suvremene tehnologije i metodologije, naše razumijevanje domestikacije ovaca postalo je preciznije i detaljnije. Jedno od ključnih područja istraživanja jest genetika. Analiza mitohondrijske DNA (mtDNA) postala je dragocjen alat u proučavanju povijesti ovaca. MtDNA omogućuje istraživačima da prate evoluciju i migracijske puteve ovaca tijekom vremena zbog njenog majčinskog načina nasljeđivanja (Naderi, 2007).

Proučavanje varijabilnosti ovaca postaje sve važnije, posebno uzimajući u obzir male efektivne veličine populacija ovih životinja. Male efektivne veličine populacija mogu rezultirati

smanjenom genetskom raznolikošću, što može povećati rizik od negativnih genetskih anomalija i smanjiti otpornost stada na bolesti ili druge ekološke stresore. Uz to, očuvanje genetske raznolikosti unutar populacija ovaca ključno je za dugoročnu održivost i prilagodljivost ovčarstva, što ima direktne implikacije na poljoprivrednu produktivnost i sigurnost hrane. U radu (Priour i sur., 2017), naglašava se kako je razumijevanje genetske strukture i varijabilnosti populacija ovaca neophodno za informirane odluke u vezi s upravljanjem stada i selekcijskim programima. Zato je nužno pridavati veći značaj proučavanju ovog aspekta u ovčarstvu kako bi se osigurala njihova genetska vitalnost i dugoročna stabilnost.

Pored genetskih implikacija, mala efektivna veličina populacija može imati široke socioekonomske posljedice, pogotovo za male poljoprivrednike koji ovise o ovčarstvu kao primarnom izvoru prihoda. Gubitak genetske raznolikosti može dovesti do smanjenja proizvodnih performansi stada, kao što su manji prirast, smanjena mliječnost i slabija kvaliteta vune. To može značajno utjecati na tržišnu vrijednost ovaca i proizvoda od ovaca. Također, sa smanjenom genetskom raznolikošću, stada postaju ranjivija na promjene u okolišu, kao što su klimatske promjene ili nove bolesti. Uz sve ovo, očuvanje autohtonih pasmina ovaca, koje često imaju manje populacije, postaje imperativ, jer te pasmine često nose posebne genetske karakteristike prilagođene lokalnim uvjetima (Rodríguez-Ramilo i sur., 2019).

2. Ciljevi rada

Do sada se genetska varijabilnost hrvatskih autohtonih pasmina ovaca i muflona temeljila na analizi mikrosatelita, SNP čip genotipova ili nekodirajuće kontrolne regije mtDNA (D-loop). Cijeli mitogenom hrvatskih (autohtonih) pasmina ovaca i muflona, koji kodira za 37 gena i ne rekombinira, do sada nije analiziran i uspoređen s ostalim svjetskim pasminama ovaca.

Ciljevi ovog rada su:

- Analiza varijabilnosti mitogenoma i segmenata mitogenoma hrvatskih autohtonih pasmina ovaca i muflona.
- Analiza filogenetskih odnosa hrvatskih autohtonih pasmina ovaca i muflona usporedno s ostalim svjetskim pasminama ovaca i muflona dostupnih u GenBank repozitoriju.
- Prikazati filogeografsku distribuciju haplogrupa mitogenoma analiziranih uzoraka

3. Pregled dosadašnjih istraživanja

3.1. Povijest domestikacije

Domaće životinje igrale su važnu ulogu u ljudskoj povijesti, ali podrijetlo većine vrsta stoke nije dobro shvaćeno. Mitohondrijske DNA sekvence korištene su za proučavanje podrijetla goveda (Loftuset i sur., 1994), svinja (Kijas i sur., 2001), konja (Vila i i sur., 2001) i koza (Pietro i sur., 2003)

Domaće ovce, *Ovis aries*, imale su važnu ulogu u ljudskom naseljavanju, osiguravajući uzgojeni izvore hrane, vune i kože. Arheološki dokazi sugeriraju da su ovce vjerojatno prvi put pripitomljene u regiji Plodnog polumjeseca na Bliskom istoku prije otprilike 8000-9000 godina. Tri glavne skupine euroazijskih divljih ovaca, muflon (*O. musimon* ili *O. orientalis*), urial (*O. vignei*) i argali (*O. ammon*), predloženi su kao preci domaćih ovaca (Ryder, 1984).

Genetska studija koja je ispitivala kariotipove raznih postojećih vrsta divljih ovaca (Nadler i sur., 1973) je pokazala da naše domaće ovce potječu od azijskog muflona (*Ovis orientalis*) iz Anatolije, zapadnog Irana, i jugozapadnog Irana, a ne bilo koje druge vrste divljih azijskih ovaca poput uriala (*Ovis vignei*) i argalija (*Ovis ammon*)

Nedavne genetske tehnike, koristeći varijabilnost sekvence mitohondrijske DNA (mtDNA), dodatno su poboljšale ove rane nalaze podupirući jugozapadno azijsko podrijetlo domaćih ovaca i isključujući bilo kakve doprinose uriala i argalija (Hiendleder i sur., 2002).

3.2. Hrvatske izvorne i zaštićene pasmine

Različite pasmine domaćih životinja razvijale su se kroz vrijeme, prilagođavajući se lokalnim uvjetima i ljudima s kojima su bile u kontaktu. U teškim uvjetima, domaće životinje koje su se prilagodile specifičnim okolišima često su sposobnije preživljavati uz manja ulaganja, pružajući ljudima kvalitetne proizvode.

Republika Hrvatska, unatoč svojoj maloj površini, dom je raznolikosti pasmina domaćih životinja koje su se tijekom stoljeća razvijale. Ova različitost pasmina čini Hrvatsku bogatom u genetskim resursima, što predstavlja ključnu stratešku vrijednost. Ove pasmine, osim svoje nasljedne vrijednosti, igraju kritičnu ulogu u očuvanju prirodnog i kulturnog identiteta regije. Stoga je imperativ očuvati ove autohtone pasmine, a odgovornost za njihovo očuvanje najviše leži na uzgajivačima koji se brinu o njima.

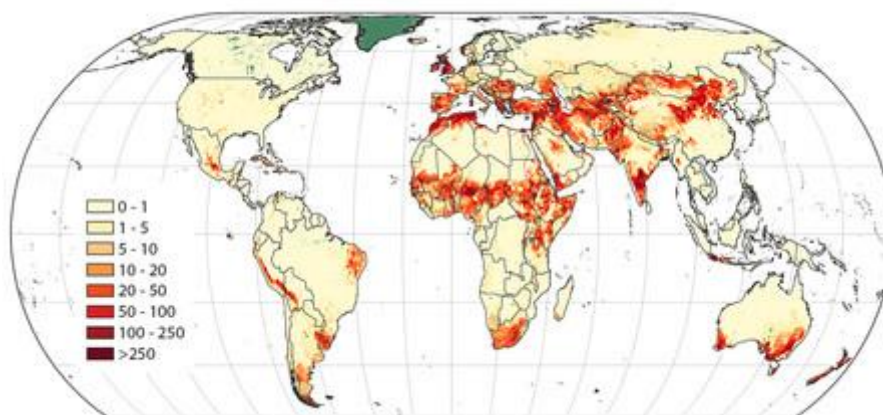
| Ovce | Broj muških jedinki | Broj ženskih jedinki | Efektivna veličina populacije (Ne) | Kategorizacija ugroženosti |
|----------------------|---------------------|----------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Dubrovačka ruda | 43 | 990 | 164,84 | ugrožena |
| Dalmatinska pramenka | 246 | 9.586 | 959,38 | ranjiva |
| Paška ovca | 78 | 3.892 | 305,87 | ranjiva |
| Rapska ovca | 17 | 366 | 64,98 | ugrožena |
| Krčka ovca | 2 | 162 | 7,90 | kritična |
| Creska ovca | 49 | 866 | 185,50 | ugrožena |
| Istarska ovca | 37 | 930 | 142,34 | ugrožena |
| Lička pramenka | 332 | 10.36 | 1.286,76 | Ranjiva |
| Cigaja | 25 | 976 | 97,50 | ugrožena |

Tablica 1. Popis različitih pasmina ovaca u Hrvatskoj (<https://bag.mps.hr>).

Tablica 1 pruža uvid u autohtone pasmine ovaca koje se uzgajaju u Hrvatskoj. Zanimljivo je da unatoč različitim imenima i podrijetlu, većina ovih pasmina je klasificirana kao ranjiva ili ugrožena. Najveći broj jedinki možemo vidjeti kod pasmine lička pramenka s čak 10.358 jedinki, dok je pasmina krčka ovca s tek 162 jedinke označena kao kritično ugrožena. Rapska ovca i krčka ovca imaju manje od 400 jedinki, što ih čini posebno osjetljivima na promjene u okolišu ili bolesti. S druge strane, razlika u populacijama između najmanje zastupljene pasmine (krčka ovca) i najzastupljenije (lička pramenka) je golema, gotovo 10.200 jedinki. Osim toga, prostorno raspoređivanje ovih pasmina odražava geografsku raznolikost Hrvatske, od obalnih područja poput Dubrovnika, Paga i Raba, do unutrašnjih regija poput Like.

3.2. Stanje ovaca u svijetu

Ovce su jedna od najstarijih domaćih životinja, uzgajane zbog vune, mesa, mlijeka i kože. U globalnom kontekstu, situacija ovaca se razlikuje ovisno o regiji, klimi i ekonomskim uvjetima. U nastavku je prikazan pregled trenutačne situacije ovaca na globalnoj razini (Slika 1).



Slika 1. Broj ovaca po četvornom kilometru u 2015. godini (<https://www.fao.org>).

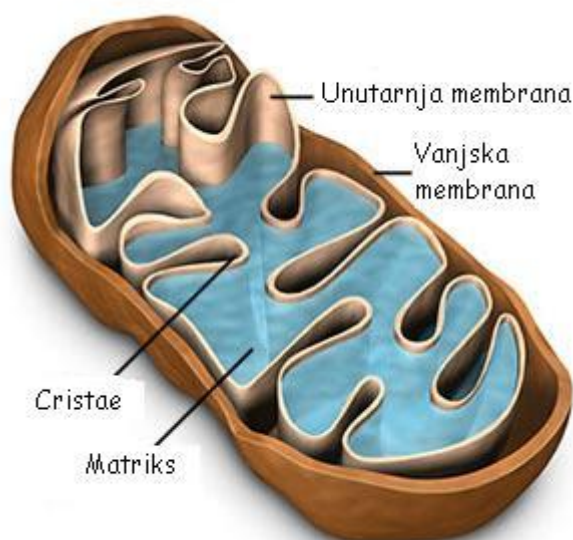
Globalna populacija ovaca kontinuirano raste. Na početku 21. stoljeća, broj ovaca se procjenjuje na preko milijardu, s najvećim koncentracijama u Kini, Australiji, Indiji, Iranu i Novom Zelandu. Dok su neke zemlje poput Australije i Novog Zelanda poznate po svojoj ovčarskoj industriji, druge, poput Kine, su se više fokusirale na proizvodnju mesa. I dok su neke pasmine ovaca brojčano jake, mnoge tradicionalne i autohtone pasmine suočavaju se s izazovima. Gubitak staništa, promjena u poljoprivrednim praksama i konkurencija s komercijalno profitabilnijim pasminama dovode do smanjenja broja nekih autohtonih pasmina. Ovčarstvo ima važnu ulogu u svjetskoj ekonomiji. Vuna australskih i novozelandskih ovaca često je na vrhu svjetske tržišne ponude zbog svoje kvalitete. Osim toga, ovčje meso, poznato i kao janjetina, sve je popularnije u globalnim prehrambenim tržištima, posebno u Bliskom Istoku i Europi.

U modernom dobu, ovčarstvo je također prepoznato kao način održivog korištenja zemljišta, posebno u sušnim i brdskim područjima gdje je teško uzgajati druge stoke ili usjeve. Ovce često služe kao sredstvo kontrole erozije tla i održavanja biološke raznolikosti pašnjaka.

3.3. Mitochondrij

Semiautonorni organeli (Slika 2) promjera od oko 0.5 μm okruglastog i duguljastog oblika čija glavna uloga je proizvodnja metaboličke energije u eukariotskoj stanici (Whittaker i Danks, 1978). Građeni su od molekula kružne DNA, RNA, ribosoma, lipida te bjelančevina. Zajedno sa plastidima u biljkama to su jedini organeli koji imaju vlastiti DNA koja kodira ribosomske RNA (rRNA), transportne RNA (tRNA) i protein kodirajuće regije (Chinnery i Schon 2003.)

Obavijeni ovojnicom od unutarnje i vanjske membrane između kojih je međuprostor. Unutarnja membrana pripada mitohondriju a vanjska citoplazmi. Unutarnja membrana je površinski veća jer stvara nabore koji služe za proces staničnog disanja. Osnovna supstanca je matriks koja ispunjava unutrašnjost mitohondrija.



Slika 2. Građa mitohondrija (<https://e-skola.bio.hr>).

3.4. Mitohondrijska DNA

Životinjska mtDNA je mali kromosomski genom, poznat još kao mitogenom, koji je obično veličine 15 do 20 kb. Uz nekoliko iznimaka, svi mitogenomi životinja sadrže istih 37 gena: 2 ribosomske RNA (rRNA) jedna mala ribosomalna podjedinica-12S rRNA i velika ribosomalna podjedinica-16S rRNA koji kodiraju gotove RNA molekule, 22 prijenosne RNA (tRNA) i 13 gena za kodiranje proteina (Boore, 1999.). Tih 13 gena su uglavnom kodirajući i sastoje se od podjedinica NADH dehidrogenaze (ND1, ND2, ND3, ND4L, ND4, ND5, ND6), gena za ATPazu (ATP6, ATP8), gene za citokrom oksidaze (COX1, COX2, COX3) te gen za citokrom b (CYTB). MtDNA ne sadrži introne ali ima kontrolnu regiju koja je nekodirajuća te se smatra da ne podliježe prirodnoj selekciji pa je pogodna za filogenetska istraživanja (Taanman, 1999).

Kod ovaca mitogenom obuhvaća 16500 oko parova baza, a raspored i organizacija njegovih gena isti je kao kod drugih sisavaca. (Villalta i sur., 1992). Mitohondrijska DNA ima visoku stopu mutacije, 100 do 1000 puta veća naspram DNA od jezgre te se nalazi u velikom broju u životinjskim stanicama pa je moguće napraviti ekstrakciju DNA u razgrađenim tkivima te je vrlo korisna u arheogenetici. Zbog ovih karakteristika mtDNA je korištena kao važan izvor informacija analizirajući evolucijske odnose (Moritz i sur., 1987). Analizom strukture i funkcije mitohondrijske DNA možemo dobiti korisne informacije u proučavanju klasifikacija, molekularne evolucije, identifikaciji odnosa te populacijskoj genetičkoj analizi. Sekvenciranje mitogenoma korišteno je za razjašnjavanje složenosti i podrijetla mnogih modernih domaćih vrsta stoke, što je dovelo do opće teme višestrukih majčinskih rodova. Nedavna istraživanja svinja (Larson i sur., 2005) i koza (Joshi i sur., 2004; Sardina i sur., 2006), za koje se smatra da potječu iz Plodnog polumjeseca (područje u jugozapadnoj Aziji i sjevernoj Africi i sastoji se od plodnih pod regija Mezopotamije i Levanta) otkrila su dodatne materinske rodove. Nakon

šireg geografskog uzorkovanja životinja, koze sada imaju šest priznatih rodova u Europi i Aziji, dok šest rodova svinja obuhvaća Europu, Aziju i Pacifik. Varijacije koje se javljaju kroz sekvencu ljudskog mitohondrijskog genoma stvaraju niz fenotipskih učinaka, od kojih neki uzimaju veliki danak ljudskom zdravlju (Wallace, 1992). Postoje mnoga izvješća o rodovima koja utječe na osobine rasta, reprodukcije i laktacije kod domaćih životinja, a opisano je i nekoliko DNA markera za varijante mitohondrijske DNA u korelaciji sa svojstvima proizvodnje mlijeka kod mliječnih goveda (Brown i sur., 1989; Schutz i sur., 1993; Ron i sur., 1992).

3.5. Varijabilnost D-loop regije

Smatra se da regija D-petlje kod životinja ne kodira proteine. Budući da nije ograničeno na način na koji je kodirani gen za proteine, regija D-petlje ima najvišu razinu varijabilnosti sekvence u cijelom genomu (Aquadro i Greenberg. 1983) što, u kombinaciji s nedostatkom rekombinacije, ovu regiju čini visoko informativno za ispitivanje genealogije unutar vrsta (Vigilant i sur., 1989)

Stoga možemo reći da je analiza D-loop regije vrlo koristan pristup za istraživanje povijesti i filogenih odnosa domaćih životinja. Varijabilnost i struktura kontrolne regije mtDNA omogućuje opisivanje genetskih polimorfizama i majčinog podrijetla ovaca, uglavnom zato što mtDNA pokazuje jednostavno majčino nasljeđe bez rekombinacije i s relativno brzom stopom evolucije (Hiendleder i sur., 1998). Viša stopa supstitucije u Dloop-u, u usporedbi sa stopom heterogenosti u drugim dijelovima mtDNA može se bolje koristiti za optimalnu karakterizaciju genetske raznolikosti (Jia i sur., 2007)

Prva filogenetska analiza mtDNA domaćih ovaca otkrila je postojanje 2 glavne haplogrupe (HG), nazvane A i B (Tablica 2). One su prvi put identificirane u populaciji novozelandskih ovaca (Wood i Phua 1996.). U tom radu su sekvencirane kontrolne regije mitohondrijskog genoma 50 nesrodnih ovaca kako bi se utvrdila distribucija njegove varijabilnosti.

| Breed | Number sampled | Sequence type | |
|-------------------|----------------|---------------|----|
| | | A | B |
| Romney | 25 | 11 | 14 |
| Coopworth | 14 | 11 | 3 |
| Merino | 7 | 2 | 5 |
| Perendale/Romney? | 4 | 1 | 3 |
| | 50 | 25 | 25 |

Tablica 2. Učestalost A i B tipova sekvenci u različitim pasminama ovaca (Wood i Phua, 1996.).

U nekim od varijabilnih lokusa zabilježena je vrlo visoka stopa varijabilnosti u odnosu na konsenzusnu sekvencu, pri čemu je 15 ili više životinja imalo varijantnu baznog para na tim mjestima. Ukupno je bilo 39 ovakvih "hipervarijabilnih" lokusa, a različite baze koje su se javljale na njima formirale su dosljedan uzorak, pri čemu je 25 ili više od 50 životinja imalo konsenzusnu bazu na većini ovih lokusa. Stoga je bilo moguće podijeliti životinje u dvije skupine: one koje su imale konsenzusnu bazu na 39 hipervarijabilnih lokusa (nazvane A), i one koje su imale varijantnu bazu na većini ovih lokusa (B)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|--|--|--|--|
| Base number | 23 | 48 | 111 | 147 | 161 | 199 | 202 | 203 | 207 | 210 | 221 | 273 | 279 | 296 | 354 | 371 | 423 | 428 | 446 | 504 | 508 | 521 | 522 | 523 | 537 | 543 | 547 | 585 | 587 | 601 | 607 | 613 | 661 | 662 | 774 | 782 | 1006 | 1019 | 1167 | | | | |
| Consensus | T | A | A | T | C | G | T | G | T | G | A | C | G | A | G | A | C | G | A | G | G | C | A | C | A | C | G | G | C | A | C | C | T | G | T | T | C | A | T | | | | |
| 'A' type | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 'B' type variant | C | G | G | C | T | A | C | A | O | A | G | T | A | C | A | G | T | A | G | A | A | T | G | T | G | T | A | A | T | G | T | T | C | A | C | C | T | G | C | | | | |

O = deletion.

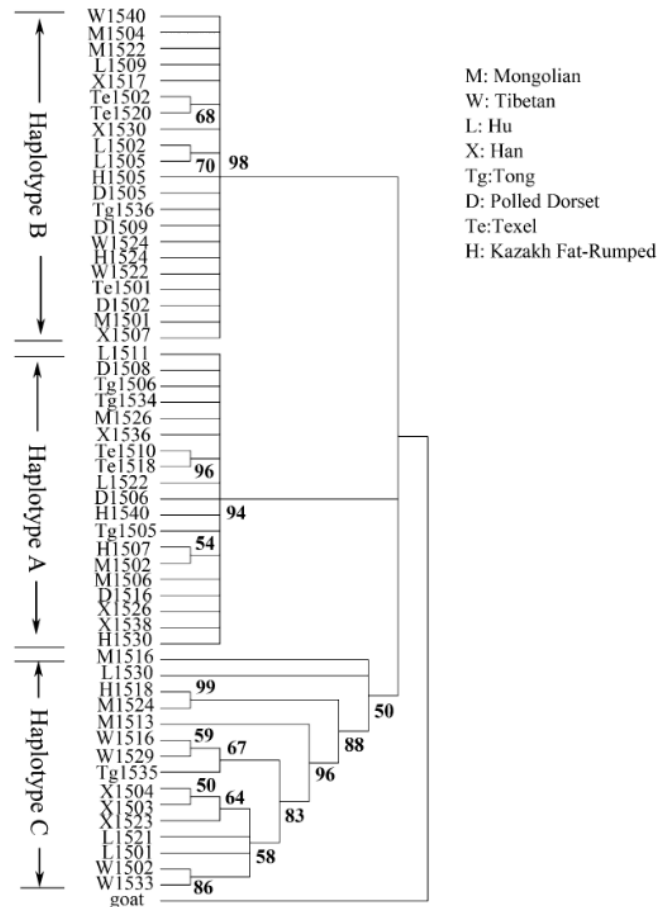
Tablica 3. Baza na svakom varijabilnom mjestu (Wood i Phua, 1996).

Među 50 životinja zabilježeno je ukupno 1081 razlika u odnosu na konsenzusnu sekvencu (Tablica 3), od kojih je većina (1052) bila jednobazna promjena prelaznog tipa (Tablica 4). Šest lokusa je bilo pogođeno delecijama (od kojih se četiri dogodile u jednom bloku koji je bio izbrisan), a samo jedan lokus je pokazivao umetanje, pri čemu je dodan dodatni "T" u nizu od 5 "T"-ova.

| Base change type | Number observed |
|---------------------------|------------------------|
| Transitions | |
| A to G | 516 |
| G to A | 50 |
| C to T | 289 |
| T to C | 197 |
| Deletions* | 26 |
| Insertions | 3 |
| Total base changes | 1081 |

Tablica 4. Analiza varijacije sekvence u D-loop regiji (Wood i Phua ,1996).

Proširenje na tri priznate klase dogodilo se 2005. kada su (Guo i sur., 2005). i (Pedrosa i sur., 2005) sekvencirali lokalne pasmine iz Kine, odnosno Turske. Haplogrupe C sekvence prijavljene su s niskom učestalošću kod ovaca porijeklom iz Portugala (Pereira i sur., 2006). U tom radu se pokazalo da haplogrupa C sadrži više genetske raznolikosti nego A ili B.



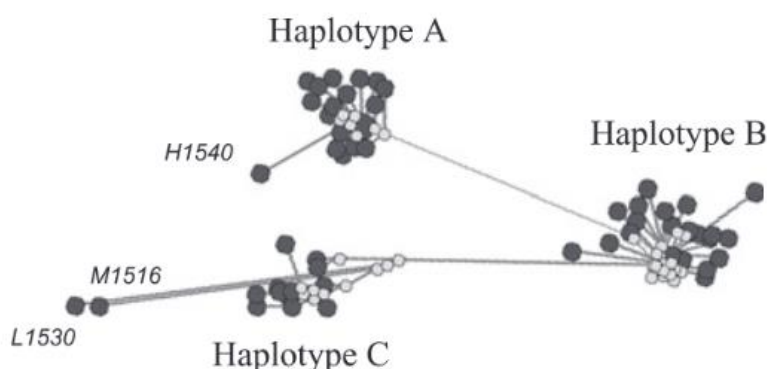
Slika 3. Stablo susjednih veza (Guo i sur., 2005).

Brojevi na granama predstavljaju vrijednosti bootstrapa dobivene iz 1000 simuliranih replikacija (vrijednosti ispod 50% nisu prikazane). Radi jasnoće, genetske udaljenosti nisu skalirane proporcionalno prema veličinama procjena (Slika 3).

U okviru istraživanja (Guo i sur., 2005) , analizirano je 281 uzoraka mitohondrijske DNA (mtDNA) šest kineskih lokalnih pasmina i dvije zapadne pasmine (Tablica 5). Prilikom korištenja osam parova primera, utvrđeno je da su dva para primera (OV6 i OV11) pokazala nove uzorke s varijacijama u jednonančanim konformacijskim polimorfizmima (SSCP) koje dosad nisu bile prijavljene. Da bi se detaljnije proučio OV6, sekvencirano je 12 PCR produkata. Analizom tih sekvenci, identificirana su tri različita haplotipa: A (n = 3), B (n = 3) i novi tip C (n = 6).

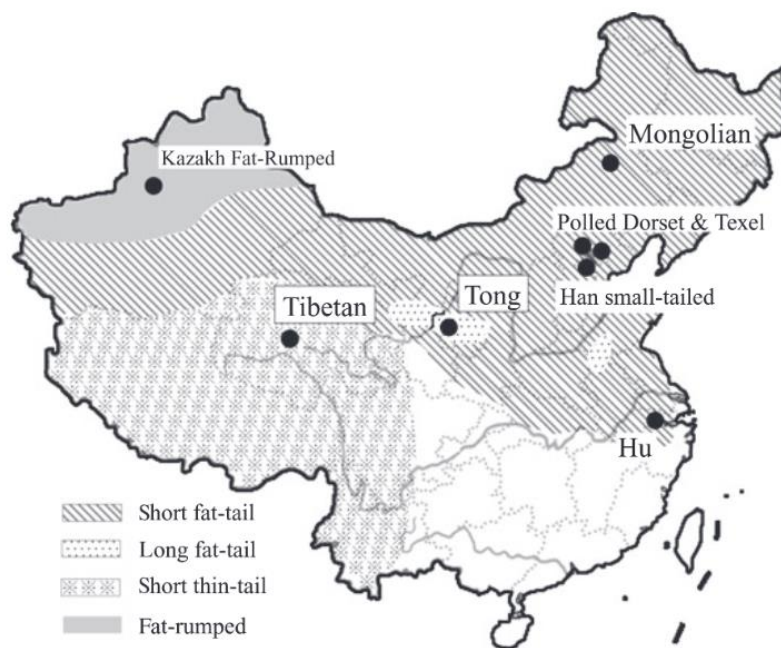
| Breed | Frequency (%) | | |
|--------------------|----------------|-------------------|----------------|
| | A (Asian type) | B (European type) | C (Novel type) |
| Mongolian | 57.7 (15/26) | 30.8 (8/26) | 11.5 (3/26) |
| Kazakh Fat-Rumped | 68.8 (33/48) | 22.9 (11/48) | 8.3 (4/48) |
| Tibetan | 82.6 (38/46) | 8.7 (4/46) | 8.7 (4/46) |
| Tong | 70.7 (29/41) | 26.8 (11/41) | 2.4 (1/41) |
| Han (small-tailed) | 55.3 (21/38) | 28.9 (11/38) | 15.8 (6/38) |
| Hu | 62.5 (20/32) | 21.9 (7/32) | 15.6 (5/32) |
| Polled Dorset | 30.0 (9/30) | 70.0 (21/30) | 0.0 |
| Texel | 25.0 (5/20) | 75.0 (15/20) | 0.0 |

Tablica 5. Frekvencije mitohondrijskih haplotipova1 u osam pasmina ovaca (Guo i sur., 2005).



Slika 4. Mreža od tri linije u *Ovis aries* (Guo i sur., 2005).

Tamni krugovi predstavljaju 55 uzoraka, a prazni krugovi predstavljaju središnji vektor.(Slika 4)

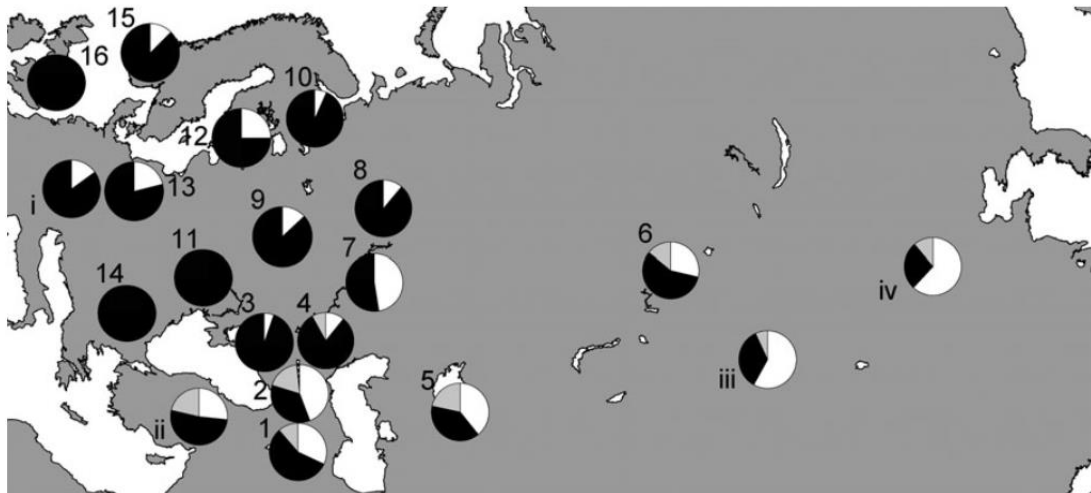


Slika 5. Geografska distribucija pasmina ovaca uključenih u istraživanje (Guo i sur., 2005).

U radu (Tapio i sur., 2006) uzorci dviju zapadnih pasmina, koje su uvezenje u Kinu 1997. godine, prikupljeni su iz Pekinga. Karachi životinja sekvencirana sa sjevernog Kavkaza otkrila je kontrolne regiju, koja se grupirala odvojeno od tri definirane ovčje mitohondrijske DNA klase. Ovo je uzeto kao dokaz za četvrtu haplogrupu, tj. haplogrupu D.

Distribucija haplogrupa imala je dvije karakteristične geografske obrasce (slika 6). Prvo, haplogrupa C bila je prisutna na Kavkazu i u Srednjoj Aziji, ali odsutna na istočnom rubu Europe (sjeverno i zapadno od Crnog mora i planina Ural). Na područjima istočno od Crnog mora, učestalost haplogrupe C varirala je od 8,1% (Kaspijska depresija) do 22% (istočno od Kaspijskog mora). Drugi zabilježeni obrazac bio je odsutnost haplogrupe A u četiri proučavane populacije iz jugoistočne Europe (pasmine tsigai i ukrajinske pasmine). Područje koje dominira haplogrupom B dosegalo je sjeverno od Crnog mora i uključivalo je rusku Kareliju i Volgo-Kamsku regiju, dok je haplogrupa A pronađena kao migracijska grupa na tom području. Dalje

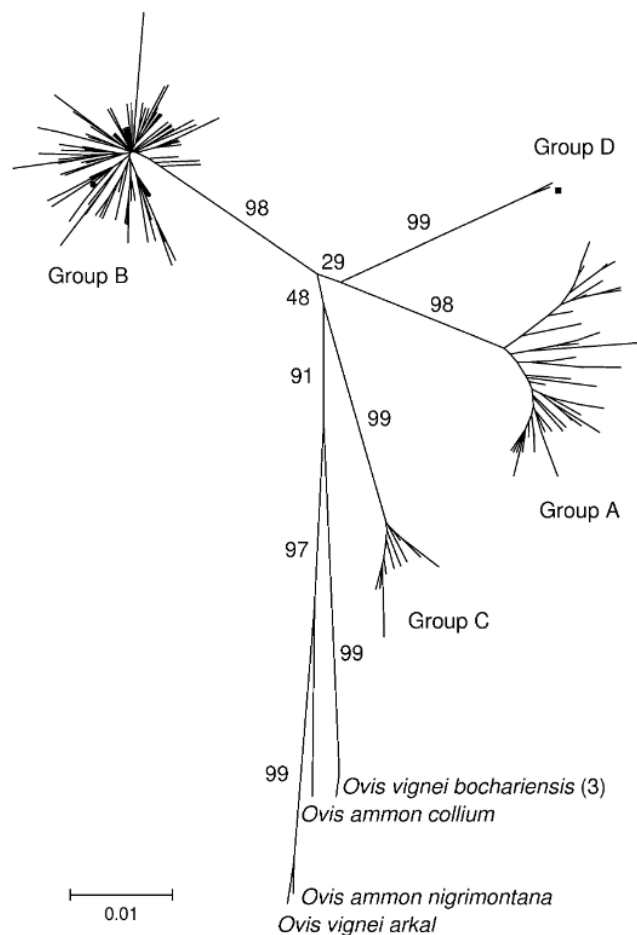
prema istoku, učestalost Grupe B se smanjuje, dok Grupa A postaje važnija. Prijelaz je postupan i samo 7,8% mitohondrijske varijacije bilo je zbog diferencijacije između 3 široka područja.



Slika 6. Distribucija 4 različite haplotipske grupe u područjima istraživanja (Tapio i sur., 2006).

Razine u dijagramima kolača predstavljaju haplogrupu A (bijelu), B (crnu), C (sivu) i D.

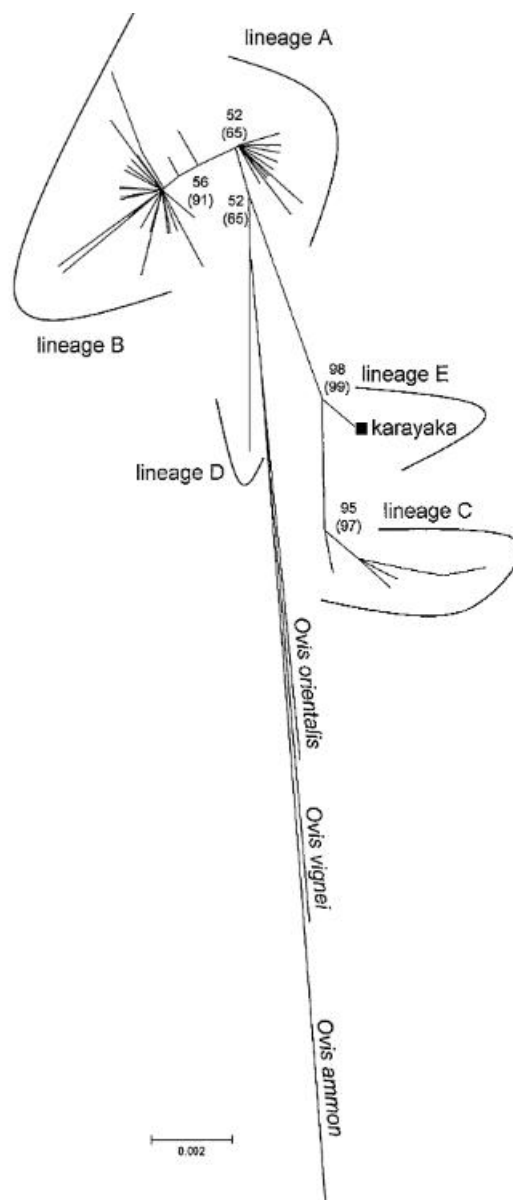
Neighbour-joining stablo (slika 7) prikazuje razlike unutar i između 4 haplogrupe ovaca (A, B, C i D) te njihovo odstupanje od divljih vrsta ovaca. Unutar haplogrupa B i D, ispunjeni krug označava haplotip europskog muflona, a ispunjeni kvadrat domaćeg mongolskog haplotipa), respektivno. Stablo je utemeljeno na omjeru različitih nukleotida između haplotipova, a brojevi označavaju podršku pridruživanja za glavne grane kao postotke između 10.000 ponovljenih uzoraka (bootstrap podrška).



Slika 7. Medija joining mreža (Tapio i sur., 2006).

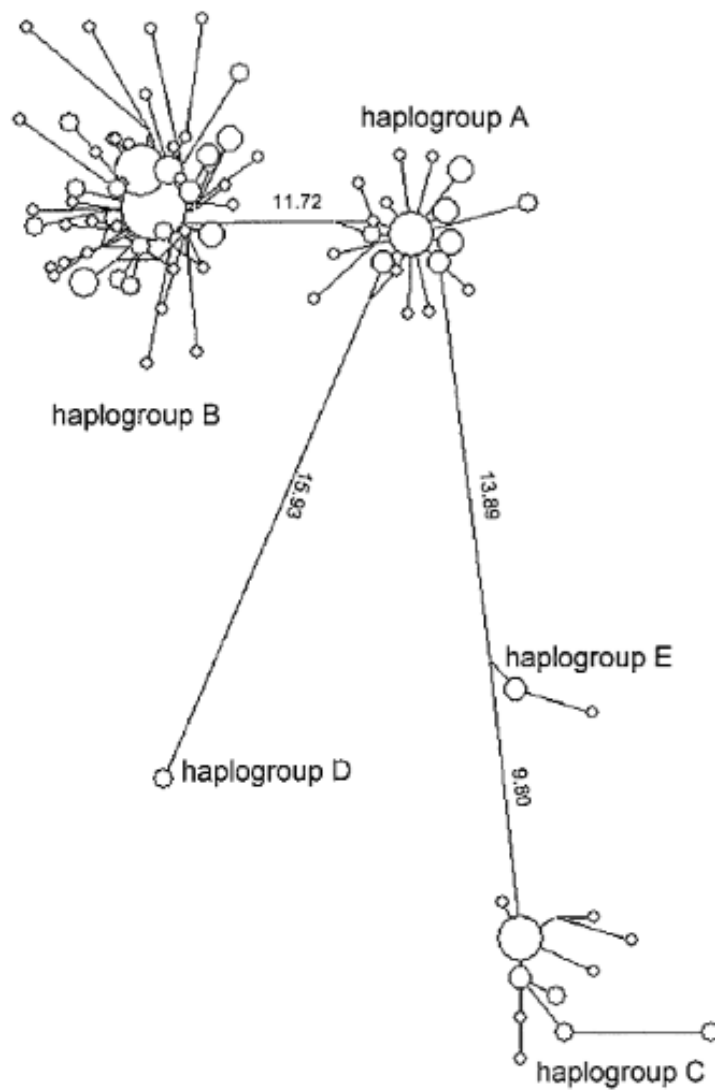
Posljednja haplogrupa E je otkrivena (Meadows i sur., 2007) u Turskoj gdje je sekvencirano 197 nesrodnih ovaca. Glavne haplogrupe A i B nalaze se u Aziji, dok B dominira u Europi. Haplogrupa C pronađena je u Portugalu, Turskoj, Kavkazu i Kini

Ukupno 2027 baznih parova (bp) mitohondrijske DNA (mtDNA) sekvence dobiveno je iz 197 uzoraka ovaca, otkrivajući ukupno 85 haplotipova i visoku razinu genetske raznolikosti. Šest jedinki nosilo je tri haplotipa koji su se grupirali odvojeno od poznatih mtDNA haplogrupa kod ovaca A, B i C.



Slika 8. Bootstrap vrijednosti prikazane su na čvorovima grozdova (Meadows i sur., 2007).

Analiza genetske udaljenosti, raspodjele neusklađenosti i usporedbe s divljim ovcima potvrdile su da se radi o dvije dodatne mtDNA haplogrupe koje su označene s D i E. Utvrđeno je da dvije sekvence haplogrupe E povezuju prethodno identificirane grupe A i C. Jedna sekvenca haplogrupe D grana se zajedno s istočnim muflonom (*Ovis orientalis*), urijalom (*O. vignei*) i argali ovnom (*O. ammon*) (Slika 8).



Slika 9. Mreža ponderiranog medijalnog spajanja (Meadows i sur., 2007).

Veličina čvora proporcionalna je frekvenciji haplotipa, a mutacijske razlike između haplogrupa proporcionalne su duljini grana (D prikazano na grani). Najmanji čvor predstavlja jednu životinju (Slika 9).

| | Clade A | Clade B | Clade C | Clade D | Clade E | <i>O. orientalis</i> |
|----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|----------------------|
| Clade A | | | | | | |
| Clade B | 0.58 (0.31) | | | | | |
| Clade C | 0.98 (1.08) | 1.37 (1.29) | | | | |
| Clade D | 0.79 (0.77) | 1.07 (0.98) | 1.28 (1.55) | | | |
| Clade E | 0.66 (0.70) | 1.05 (0.91) | 0.49 (0.44) | 1.06 (1.16) | | |
| <i>O. orientalis</i> | (1.60) | (1.80) | (2.34) | (1.86) | (1.99) | |

Tablica 6. Genetska raznolikost među pet haplogrupa domaćih ovaca i njihovog najbližeg divljeg rođaka (Meadows i sur., 2007).

Genetska raznolikost (K) izračunata je između svake domaće haplogrupe i najbliže divlje vrste (Tablica 6).

| | Haplogroup | | | | | Total (<i>n</i>) |
|---|------------|-------|------|------|------|-----------------------|
| | HA | HB | HC | HD | HE | |
| Sequences | 45 | 119 | 27 | 2 | 4 | 197 |
| Variable sites ^a | 27 | 72 | 16 | 0 | 2 | 116 |
| Haplotypes | 19 | 52 | 11 | 1 | 2 | 85 |
| Nucleotide diversity ^b (π) | 1.06 | 1.64 | 1.15 | 0.00 | 0.49 | |
| Haplogroup membership (%) | | | | | | |
| Karakas (KK) | 20.0 | 60.0 | 20.0 | | | 20 |
| Morkaraman (MK) | 26.3 | 57.9 | 5.3 | 10.5 | | 19 |
| Tuj (TJ) | 18.8 | 43.8 | 31.2 | | 6.2 | 16 |
| Karya (KR) | 12.5 | 87.5 | | | | 24 |
| Norduz (NZ) | 46.8 | 26.6 | 26.6 | | | 15 |
| Cine Capari (CC) | 14.3 | 50.0 | 35.7 | | | 14 |
| Karayaka (KY) | 40.0 | 60.0 | | | | 15 |
| Sakiz (SZ) | | 100.0 | | | | 17 |
| Awassi (AW) | 26.3 | 54.4 | 14.0 | | 5.3 | 57 |

Tablica 7. Sažetak filogenetske varijabilnosti pasmine ovaca i mitohondrijskih haplogrupa (Meadows i sur., 2007).

Frekvencija haplogrupa određena je unutar svake od devet istraživanih pasmina (Tablica 7).

Većina pasmina (šest od devet) pokazala je visoke razine raznolikosti haplogrupa.

Osim ovih radova spomenuti ćemo i rezultate rada Ferenčaković i sur., 2012. Uzorci su prikupljeni od 9 creskih ovaca, 8 dubrovačkih ruda, 10 istarskih ovaca, 9 krčkih ovaca, 11 ličkih pramenki, 23 paške ovce, 17 rabskih ovaca, 61 dalmatinskih pramenki, 9 muflona s obalnih i unutrašnjih područja te 9 muflona s jadranskih otoka. Koristio se 1246-bp fragment mitohondrijske DNA pozicije 15983–592, koji sadrži mitohondrijsku kontrolnu regiju (CR; 525 bp). Analizom 180 sekvenci mitohondrijske DNA (mtDNA) kod ovaca, identificirano je 70 različitih haplotipova s 45 varijabilnih mjesta. Nukleotidna i haplotipska raznolikost varirala je između pasmina, pri čemu je najveća nukleotidna raznolikost bila unutar dalmatinskih pramenki, a najmanja unutar pasmine ličkih pramenki. Haplotipska raznolikost bila je najveća kod ovaca iz područja Imotskog i najmanja kod pasmine lička pramenka. Većina haplotipova pripadala je haplogrupi B, dok su samo tri bila pripisana haplogrupi A. Analiza ukazuje na nisku razinu diferencijacije kod ovaca s istočnog Jadrana, što ukazuje na visok genetski tok među ovim populacijama.

3.6. Varijabilnost mitogenoma

Do sada pet haplogrupa identificirano je kod domaćih ovaca analizirajući varijabilnost mitohondrijske sekvence. Međutim, ove klasifikacije su se do sada temeljile na malim fragmentima mtDNA; djelomično kontrolnom području ili genu citokroma B. Sada ćemo gledati studije koje prikazuje varijabilnost potpune sekvencu mitogenoma te predstavnika svake haplogrupe domaćih ovaca i uzoraka njihovih divljih srodnika.

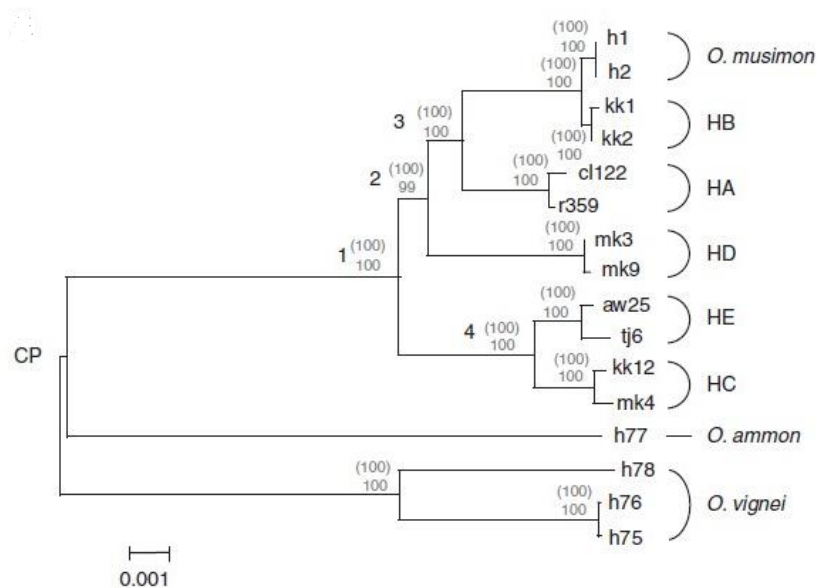
U radu (Meadows i sur .,2011) usporedba sekvenci uspješno je razjasnila odnose među haplogrupama i njihov odnos prema divljim ovacima. Sekvencirano je ukupno 16 potpunih mtDNA gena, od kojih svaki predstavlja jedinstveni haplotip. Pet haplogrupa karakterizirano je kao neovisno razgranavanje koje dijeli zajedničkog pretka od prije približno 920 000±190 000 godina.

| | HA | HB | HC | HD | HE | Mouflon | Urial | Argali |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|--------|
| HA | — | 0.57 | 0.93 | 0.75 | 0.90 | 0.58 | 2.19 | 2.53 |
| HB | 93 | — | 1.01 | 0.81 | 1.00 | 0.07 | 2.31 | 2.59 |
| HC | 150.5 | 163.5 | — | 1.00 | 0.36 | 1.00 | 2.33 | 2.65 |
| HD | 122.5 | 131.5 | 162 | — | 0.98 | 0.81 | 2.27 | 2.61 |
| HE | 147 | 162 | 58.5 | 159.5 | — | 0.98 | 2.30 | 2.63 |
| Mouflon | 94 | 11 | 162.5 | 131.5 | 160 | — | 2.31 | 2.60 |
| Urial | 357.7 | 377 | 380.3 | 370.5 | 375.7 | 377.3 | — | 2.32 |
| Argali | 413 | 423 | 433 | 425.5 | 429 | 424 | 379 | — |

Tablica 8. Genetska raznolikost između mitogenoma domaćih i divljih ovaca (Meadows i sur., 2011).

Tablica 8 prikazuje genetsku raznolikost između mitogenoma domaćih i divljih ovaca, konkretno kroz prosječan broj nukleotidnih razlika (D). Haplogrupe domaćih ovaca (HA, HB, HC, HD i HE) pokazuju varijabilne razine razlika međusobno, dok se najveće razlike primjećuju između domaćih i divljih ovaca. Primjerice, razlika između haplogrupe HA i urial je 357.7, dok je između HA i argali čak 413. Očigledno je da divlje ovce, posebno argali, imaju značajno različite mitogenomske sekvence u usporedbi s domaćim ovacima. Također je

zanimljivo primijetiti da su razlike unutar haplogrupa domaćih ovaca relativno male u usporedbi s razlikama između domaćih i divljih ovaca. Ovo ukazuje na blisku genetsku povezanost unutar domaćih ovaca, dok divlje ovce predstavljaju značajno različitu genetsku skupinu.

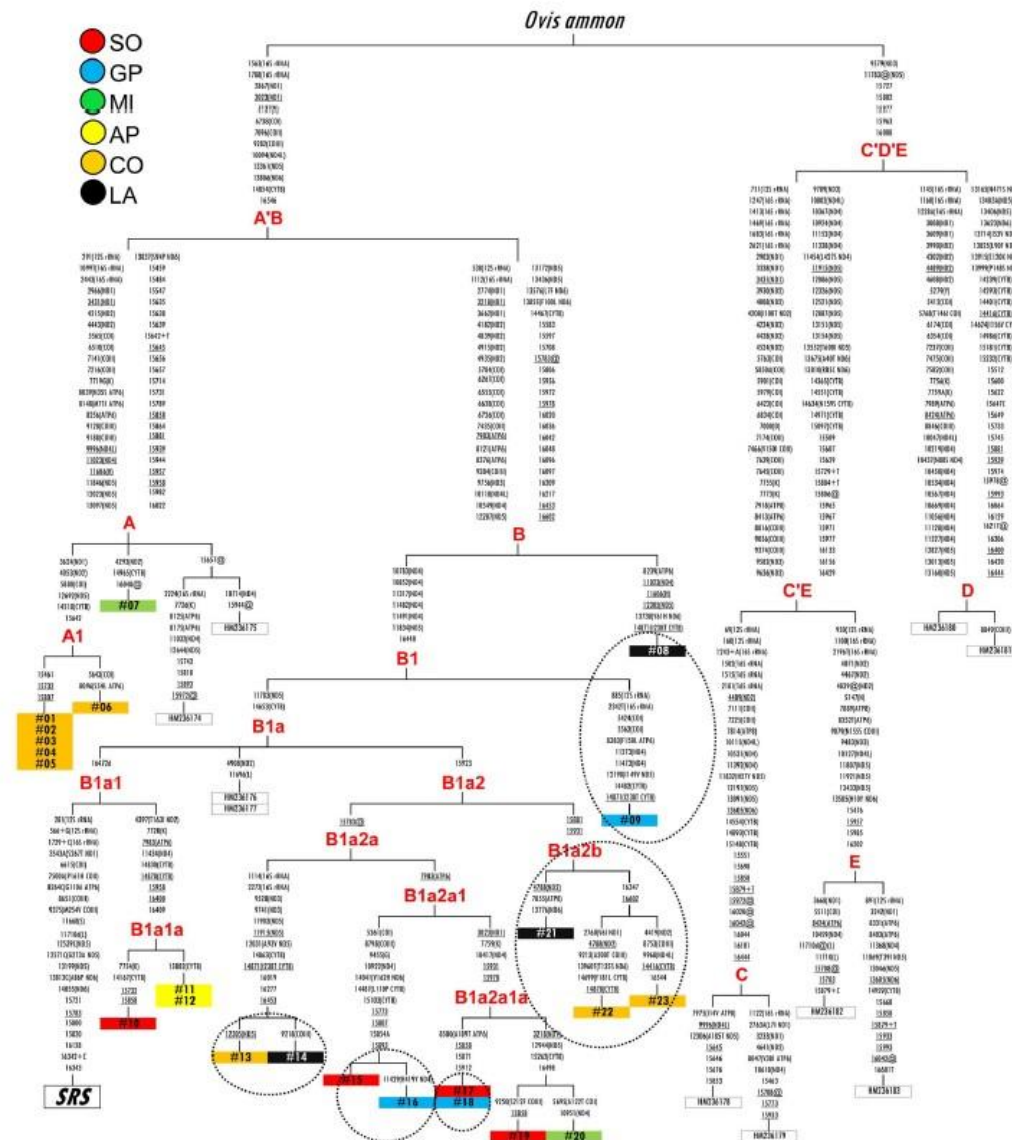


Slika 10. Filogenetski odnos između šest divljih i deset domaćih ovaca (Meadows i sur., 2011).

Stablo dobiveno iz mitogenoma uzetih u ovom istraživanju (Slika 10) jasno je pokazalo da ni urialske ni argalske ovce nisu matični preci domaćih ovaca. To uključuje i domaće životinje koje su nosile rijetke haplotipove pripadajući haplogrupama HC, HD i HE. Osim toga, Slika 10 je otkrila da su argalske ovce bliže povezane s domaćim životinjama u usporedbi s urialskim ovcima.

Mitogenom europskog muflona (*O. musimon*) grupirao se s drugim sekvencama haplogrupe HB, u skladu s prethodnim saznanjima koja sugeriraju da ga se ne bi trebalo smatrati kao pravu divlju ovcu (Pedrosa i sur., 2005).

Analiza u radu (Lancioni i sur., 2013) je provedena na 33 jedinke na razini cijelih mitogenoma . Ustanovljeno je da postoje tri različite podhaplogrupe unutar B haplogrupe.



Slika 11. Pairwise stablo potpunih mtDNA sekvenci iz ovaca. (Lancioni i sur ., 2013)

Cjelokupna evolucijska povijest 33 mitogenoma zaključena je parsimonijskim pristupom, koristeći objavljenu sekvencu argalija (*Ovis ammon*) (GenBank: HM236188) kao vanjsku grupu (Slika 11). Što se tiče uzoraka koji dijele isti haplotip (između nukleotidnih pozicija 15.452 i 16.263), samo jedan set (sastavljen od pasmina gentile di puglia i

sopravissana) pokazao se identičnim na razini cijele molekule, dok jedna mutacija (na nukleotidnoj poziciji 11429) razdvaja jedinke gentile di puglia od jedinki sopravissane, i drugi set mutacija (na nukleotidnim pozicijama 9218 i 12305) razlikuje comisanu od lacaune.

| | <i>ID#</i> ^a | <i>Original name</i> | <i>Haplogroup</i> | <i>Breed</i> | <i>GenBank</i> |
|-----------------------|-------------------------|----------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| | Outgroup | <i>Ovis ammon</i> | | | HM236188 |
| Novel mitogenomes | 01 | CO014 | A1 | Comisana | KF302440 |
| | 02 | CO015 | A1 | Comisana | KF302441 |
| | 03 | CO020 | A1 | Comisana | KF302442 |
| | 04 | CO021 | A1 | Comisana | KF302443 |
| | 05 | CO026 | A1 | Comisana | KF302444 |
| | 06 | CO017 | A1 | Comisana | KF302445 |
| | 07 | MI066 | A | Merinzata Italiana | KF302446 |
| | 08 | LA021 | B | Lacaune | KF302447 |
| | 09 | GP117 | B1 | Gentile di Puglia | KF302448 |
| | 10 | SO006 | B1a1a | Sopravissana | KF302449 |
| | 11 | AP038 | B1a1a | Appenninica | KF302450 |
| | 12 | AP053 | B1a1a | Appenninica | KF302451 |
| | 13 | CO002 | B1a2a | Comisana | KF302452 |
| | 14 | LA068 | B1a2a | Lacaune | KF302453 |
| | 15 | SO012 | B1a2a1 | Sopravissana | KF302454 |
| | 16 | GP092 | B1a2a1 | Gentile di Puglia | KF302455 |
| | 17 | SO030 | B1a2a1a | Sopravissana | KF302456 |
| | 18 | GP105 | B1a2a1a | Gentile di Puglia | KF302457 |
| | 19 | SO009 | B1a2a1a | Sopravissana | KF302458 |
| | 20 | MI075 | B1a2a1a | Merinzata Italiana | KF302459 |
| | 21 | LA047 | B1a2b | Lacaune | KF302460 |
| | 22 | CO027 | B1a2b | Comisana | KF302461 |
| | 23 | CO046 | B1a2b | Comisana | KF302462 |
| Published mitogenomes | HM236174 | HM236174 | A | Merino | HM236174 |
| | HM236175 | HM236175 | A | Romney | HM236175 |
| | HM236176 | HM236176 | B1a | Karakas | HM236176 |
| | HM236177 | HM236177 | B1a | Karakas | HM236177 |
| | HM236178 | HM236178 | C | Karakas | HM236178 |
| | HM236179 | HM236179 | C | Morkaraman | HM236179 |
| | HM236182 | HM236182 | E | Awassi | HM236182 |
| | HM236183 | HM236183 | E | Tuj | HM236183 |
| | HM236180 | HM236180 | D | Morkaraman | HM236180 |
| | HM236181 | HM236181 | D | Morkaraman | HM236181 |
| | SRS | NC_001941 | B1a1 | Merinolandschaf | NC_001941 |

Tablica 6. Izvori i pripadnost haplogrupi potpunih mitohondrijskih sekvenci ovaca (Lancioni i sur., 2013).

U pruženom popisu prikazane su mitohondrijske DNA (mtDNA) sekvence ovaca s različitim oznakama (ID#), originalnim imenima, haplogrupama, pasminama i pripadajućim GenBank referencama.

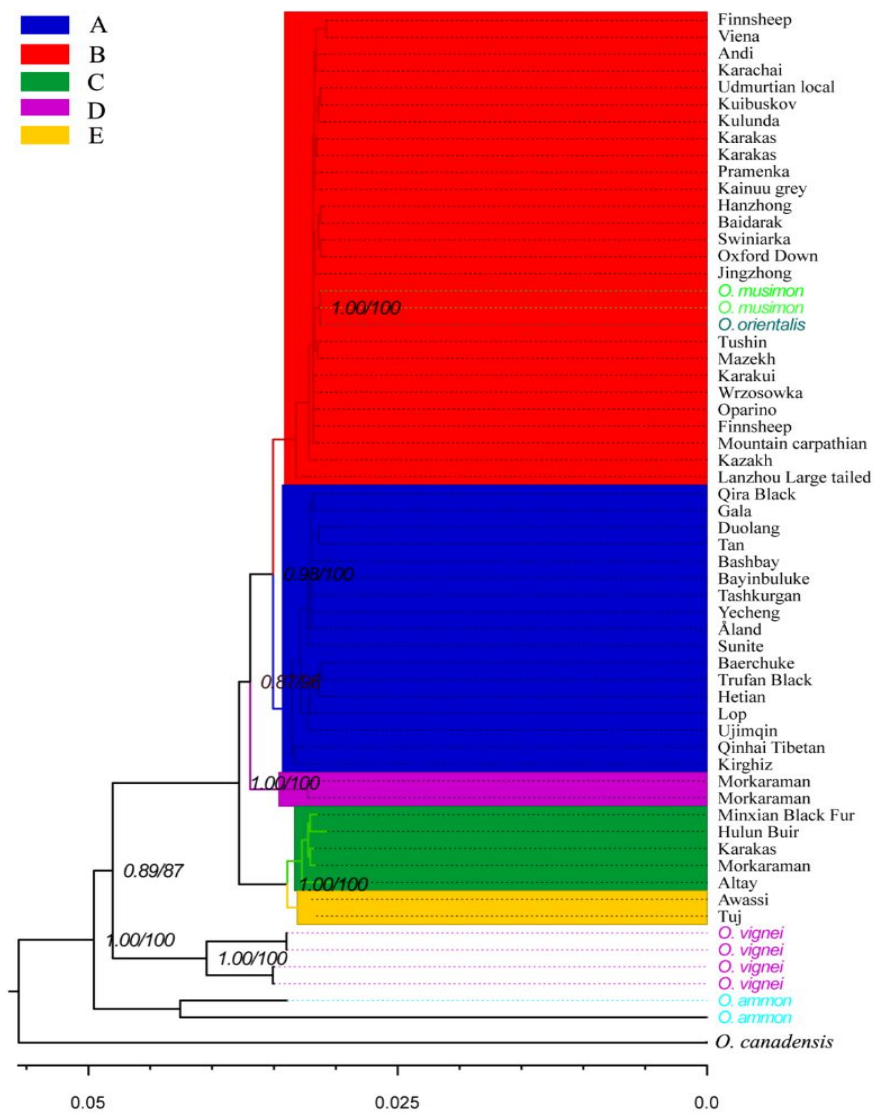
U tablici 6 pod "Novel mitogenomes" predstavljene su nove, ranije nepublicirane sekvence mtDNA. Većina ovih uzoraka pripada pasmini comisana unutar haplogrupe A1. Također, vidimo druge pasmine poput merinizzata italiana, lacaune, gentile di puglia, sopravissana i appenninica, koje se klasificiraju pod različite podgrupe haplogrupe B1a.

U tablici 6 pod "Published mitogenomes" navedene su već publicirane sekvence mtDNA različitih pasmina ovaca, uključujući merino, romney, karakas, morkaraman, awassi, tuj i merinolandschaf. Ove sekvence su već dostupne u GenBank bazi podataka s navedenim referencama.

Navedena tablica osigurava sveobuhvatan uvid u genetsku raznolikost ovaca na temelju njihovih mitogenoma. Zanimljivo je primijetiti da iako neke pasmine poput comisana dominiraju unutar određene haplogrupe, mnoge druge pasmine, kao što su lacaune, gentile di puglia i sopravissana, pokrivaju širok spektar haplogrupa i njihovih podgrupa. Ovo može sugerirati zanimljive evolucijske i selekcijske putove unutar ovih pasmina.

Uz to, jasno je da postoji znatna genetska razlika među pasminama na temelju haplogrupa. Na primjer, merino ovce su navedene pod haplogrupom A, dok su karakas ovce navedene pod B1a i C. Ove razlike u haplogrupama mogu pružiti uvide o migracijskim putovima, povijesti domesticiranja i selekcijskim pritiscima koji su oblikovali ove pasmine tijekom vremena.

Sljedeći rad je analizirao mitogenom 85 jedinki (Lv i sur., 2015) te isto tako utvrdio pet haplogrupa. (Slika 12)



Slika 12. Analiza haplogrupa i distribucija korištenih mitogenome iz GenBank (Lv i sur., 2015)

Haplogrupa B je bila dominantna i široko rasprostranjena, s prosječnom frekvencijom od otprilike 89% . U istom istraživanju, zapaženo je da je haplogrupa A imala značajnu zastupljenost na Indijskom potkontinentu, gdje je zabilježena frekvencija od približno 77%. Međutim, u kontekstu Europe, njezina zastupljenost bila je ispod 10%. S druge strane, haplogrupa B bila je prepoznata kao dominantna u Europi, posebno u jugozapadnom dijelu gdje je frekvencija dosegala oko 49%. Haplogrupa C, prema dostupnim podacima, najčešće je zabilježena na područjima Bliskog istoka, Kaspijske regije, sjeverne Kine i Mongolske visoravni s prosječnom zastupljenošću od otprilike 18%. Zanimljivo je da su pojedini haplotipi haplogrupe C također identificirani na Iberskom poluotoku, u Indiji, Nepal i jugozapadnoj Kini.

4. Materijali i metode

4.1. Materijali

4.1.1. Uzorci i izrada baze podataka

U pruženoj bazi podataka (Tablica P1) predstavljen je skup uzoraka mitogenoma ovaca. Svaki unos u bazi podataka nudi skup informacija o pojedinom uzorku, uključujući broj uzorka, naziv izolata, vrstu, haplogrupu i, kao i geografske informacije o mjestu podrijetla uzorka.

S ukupno 373 uzorka, baza podataka nudi širok spektar genetskih informacija. Svaki uzorak donosi svoju jedinstvenu kombinaciju genetskih markera, haplotipova i drugih karakteristika. Iz tih 373 uzorka, važno je napomenuti da su 25 sirovih sekvenci hrvatskih ovaca dobivene od strane prof.dr.sc. Vlatke Čubrić Čurik i doc.dr.sc. Vladimira Brajkovića, dok su ostale sekvence preuzete iz baze podataka GenBank.

U proučavanoj bazi podataka, evidentirane su 178 različitih pasmina ovaca, što predstavlja značajnu genetsku varijabilnost. Svaka od ovih pasmina može se smatrati distinktnom populacijom s vlastitim setom alelnih frekvencija, mutacija i genetskih kombinacija. Ova genetska raznolikost pasmina omogućuje dubinsko istraživanje evolucijskih putova, fluktuacija populacija i migracijskih događaja. Različite pasmine često imaju jedinstvene haplotipske strukture, koje su rezultat povijesnih selektivnih pritisaka, geografske izolacije ili specifičnih uzgojnih praksi. Baza podataka sadrži informacije iz 32 različita znanstvena rada ili publikacije. Ovi radovi predstavljaju različite istraživačke pristupe i metode koje su primijenjene u analizi ovčjeg mitogenoma.

Uzorci potječu iz 43 različite države, što odražava geografsku distribuciju i migracijske putove ovaca. Svaka država i regija donosi svoje specifične uvjete i izazove, a genetska raznolikost ovaca često je odraz tih okolišnih i povijesnih čimbenika.

4.2. Metode

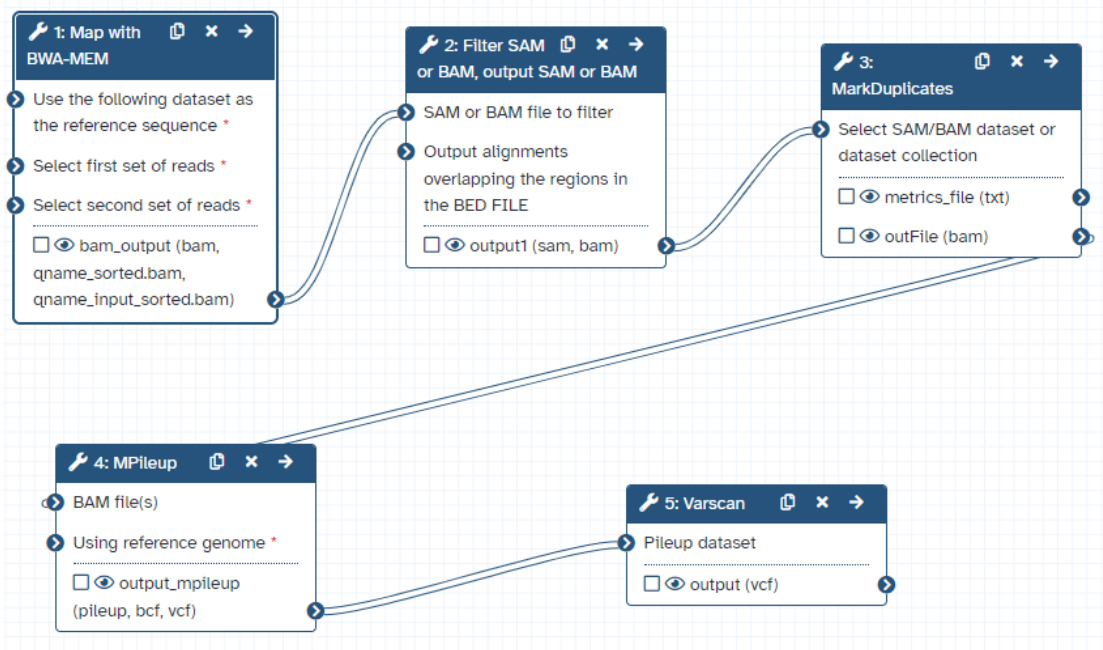
4.2.1. Galaxy platforma

Galaxy je internetska platforma namijenjena znanstvenoj obradi velikih količina informacija, a posebno se primjenjuje u području genetike. Referentni mitogenom i 24 dodatnih genoma, smještenih u ENA bazi podataka, preneseni su u Galaxy platformu radi daljnjih analiza.

Koristeći javni server za obradu informacija i seriju integriranih alata, obavljene su analize kako bi se dobio FASTA format, odnosno konsenzualni mitonukleotidni niz, koji je svojstven za svaki pojedinačni uzorak (Afgan i sur., 2016). Nakon generiranja konsenzualnog niza, provodi se njegova vizualizacija i analiza, što na kraju rezultira kreiranjem haplotipova.

FASTA predstavlja tekstualni format koji opisuje nukleinske kiseline ili proteinske sekvence u kojima se baze ili aminokiseline označavaju jedinstvenim kodovima. Kada se sekvence učitavaju na Galaxy platformu iz ENA baze podataka, odabiru se dvije FASTQ datoteke. FASTQ format nastaje kao rezultat uređaja za određivanje nukleotidnih sekvenci, sličan je FASTA formatu i uključuje informacije o kvaliteti svakog očitavanja.

Daljnja obrada 24 pojedinačno učitanih sekvenci odvijala se kroz 5 navedenih faza, a automatizirani protokol (workflow) olakšao je proces:



Slika 13. Galaxy automatizirani protokol (<https://usegalaxy.eu>)

2. Algoritam Map with BWA-MEM (ver. 0.7.15.1) korišten je za poravnavanje/mapiranje čitanja sekvenci u odnosu na referentni mitogenom (Li i Durbin, 2009). Taj korak počinje odabirom opcije Upotrijebi genom iz povijesti i izgradnju indeksa, te pod opcijom Upotrijebi sljedeći skup podataka kao referentnu sekvencu odabire se učitani referentni mitogenom NC_001941.fasta. Zatim, pod opcijom Odaberi prvi skup čitanja, odabire se prva izlazna datoteka iz prethodnog koraka, a pod Odaberi drugi skup čitanja odabire se druga FASTQ Groomer izlazna datoteka. Ostale zadane opcije se ne mijenjaju.

3. Kvaliteta se filtrirala pomoću Filter SAM or BAM, output SAM or BAM (ver. 1.1.2) s zadanim opcijama, što je rezultiralo datotekama u .bam i .bai formatima. Ti su formati generički za pohranu poravnanja velikih nukleotidnih sekvenci (Danecek i sur., 2011). Faza se izvodi prema putanji: Genomska manipulacija datoteka → SAM/BAM → Filter SAM or BAM, output SAM or BAM file.

4. Analiza BAM zapisa provodi se pomoću MarkDuplicates (ver. 2.7.1.1) kako bi se identificirali duplikati (Jones i sur., 2012); smjer: Genomic Toolkits: Picard → Označavanje duplikata čitanja.

5. Mpileup (ver. 2.1.3) koristi izlaznu datoteku prethodne faze (BAM) i referentni mitogenom; smjer: Genomska manipulacija datoteka → SAM/BAM → Sam Tools → samtools mpileup multi-way pileup of variants → Mpileup SNP and indel caller. Ovaj alat generira BCF (binary variant call format) ili pileup format za jednu ili više BAM datoteka. Ti formati uključuju informacije o polimorfizmima jednog nukleotida (SNP-ovima), insercijama i delecijama (Li, 2011).

6. VarScan (ver. 0.1) je alat za detekciju SNP-ova, insercija i delecija, te procjenu njihovih frekvencija u sekvenciranim podacima (Koboldt i sur., 2009). Po završetku, generira se datoteka u VCF formatu (Variant Call Format) koja sadrži podatke o DNA polimorfizmima. Navedeni format je tekstualan te se može indeksirati za brzo pretraživanje varijanti na različitim lokacijama referentnog mitogenoma (Adams i sur., 2012). Smjer: Genomics analysis → Variant Calling → VarScan for variant detection.

Nakon završetka preuzimaju se datoteke dobivene iz faza 3. i 6. (bam, bai i vcf). Budući da izvođenje faza zahtijeva određeno vrijeme i zauzima memoriju na javnom poslužitelju, sekvence se analiziraju pojedinačno, dok je referentni mitogenom konstantan.

7. 6. Consensus fasta (Dodatak_Mtgenome) -> U ovom postupku, koji se koristi za generiranje .fasta datoteka za daljnje analize, koristi se .vcf datoteka koja sadrži informacije o svim polimorfnim mjestima mitogenoma u odnosu na referentni mitogenom NC_001941. Referentni mitogenom služi kao predložak, a promjene se primjenjuju samo na varijabilnim mjestima specifičnim za analizirane jedinice, što je zabilježeno u .vcf datoteci. Kako bismo pripremili referentnu sekvencu za analizu, prvo smo stvorili .dict datoteku koristeći Picard alat. Ova datoteka omogućava bolje upravljanje referentnom sekvencijom tijekom analize.

Zatim smo generirali FAI datoteku pomoću samtools alata. Ovaj korak omogućuje brži pristup sekvencijama iz referentnog mitogenoma. Nakon što su svi potrebni alati i datoteke pripremljeni u istom folderu, koristili smo GATK alat za izradu .fasta datoteke. Linija koda koja se koristi za ovu svrhu uključuje informacije o referentnoj sekvenci (NC_001941.fasta), .vcf datoteci (SRR50555.vcf) koja sadrži polimorfne informacije, .dict datoteci (NC_001941.dict) i FAI datoteci (NC_001941.fai).

Ovaj postupak osigurava da dobijemo .fasta datoteku koja je prilagođena specifičnim genetičkim varijacijama analiziranih jedinki u odnosu na referentni mitogenom, što je ključno za daljnje analize u istraživanju.

Usporedba BCF i GATK alata -> Ovim postupkom provodimo usporedbu rezultata dobivenih iz dva različita programa kako bismo potvrdili njihovu konzistenciju. Za analizu smo koristili set sekvenci naših ovaca koji su prošli kroz BFC i GATK procesiranje, a zatim smo ih spojili i izvršili poravnanje. Nakon toga, dobiveni podaci su preneseni u MEGA format te dalje analizirani korištenjem alatki poput DNAsp za izradu haplotipova.

Rezultati su zatim pregledani, te smo usporedili haplotipove dobivene iz oba programa. Analizom primjećujemo da su haplotipovi identični, što ukazuje na konzistentne rezultate iz oba programa. Ova konzistencija daje nam osnovu za vjerovanje u točnost i pouzdanost naših rezultata, te možemo biti sigurni u valjanost analize.

4.2.2. Vizualizacija mitogenoma IGV programom

Nakon završetka analitičkih procesa putem Galaxy alata, slijedi grafički prikaz dobivenog mitogenoma kroz IGV softver verzije 2.6.3. (Integrative Genomics Viewer). Prikaz ove vizualizacije možete vidjeti na Slici 14. Primjer pokrivenosti jednog mitogenoma je izuzetno informativan. Dubina pokrivenosti na poziciji 3545 baznog para prema referentnom mitogenomu iznosi 877, pri čemu se 876 puta pojavljuje adenin (A), dok je timin (T) prisutan samo jednom. Ova analiza pokazuje da je duljina pokrivenosti 100%, što znači da su svi dijelovi mitogenoma barem jednom zastupljeni, pružajući nam cjelovitu sliku o njegovoj sekvenci.



Slika 14. Prikaz dobivenog mitogenoma kroz IGV.

Dakle, cilj grafičkog prikaza jest analiza dubine i duljine pokrivenosti u usporedbi s referentnim genomom. IGV softver donosi niz funkcija za grafičko predstavljanje, dozvoljavajući dubinsku analizu velikih genetskih podataka do pojedinačne baze (Robinson i sur., 2011).

Osim analize pokrivenosti i dubine, ključna komponenta korištenja IGV softvera je njegova sposobnost identifikacije i prikaza polimorfnih mjesta. Identificirane mutacije, SNP-ovi (jednostruki nukleotidni polimorfizmi) i druge varijacije omogućuju bolje razumijevanje specifičnih karakteristika proučavanog mitogenoma. Kroz ovu vizualizaciju, istraživači mogu precizno locirati regije od interesa, što olakšava daljnje analize i interpretacije. Ova sposobnost je posebno korisna u kontekstu uspoređivanja mitogenoma iz različitih uzoraka ili populacija, omogućavajući dublje uvide u evolucijske procese i adaptacije.

4.2.3. Kvaliteta nukleotidnih sljedova

Evaluacija kvalitete temelji se na dva kriterija: dubina pokrivenosti (eng. Depth of coverage) i duljina pokrivenosti (eng. Breadth of coverage)

Dubina pokrivenosti daje uvid koliko puta je pojedini dio mitogenoma „obuhvaćen“ sekvenciranim fragmentima ili kratkim nizovima. Mjeri se kao prosječan broj puta koliko su baze sekvencirane, izračunavajući broj baznih parova svih kratkih čitanja koja se slažu s genom i podjelom s ukupnom dužinom mitogenoma. Ova mjera se često prezentira kao 1X, 2X, 3X itd. (1, 2 ili 3 puta obuhvaćenost). Prosjek opsega pokrivenosti dobiven je sumiranjem svih pojedinačnih mjerenja i dijeljenjem s ukupnim brojem analiziranih nukleotidnih nizova.

Duljina pokrivenosti označava postotak mitogenoma koji je „obuhvaćen“ kratkim nizovima te identificira postojanje li nekih dijelova koji nisu obuhvaćeni niti jednim nizom. Ovaj kriterij pokazuje koliki je postotak baznih parova referentnog mitogenoma obuhvaćen određenom intenzitetom (Metagenomika, 2019).

Dodatno, važnost ovih metričkih mjerenja nije samo u preciznosti i točnosti sekvenciranja, nego i u shvaćanju njihovog utjecaja na daljnje analize. Pouzdanost ocjene kvalitete nukleotidnih nizova ima direktan utjecaj na interpretaciju rezultata i može osigurati bolje razumijevanje genetske strukture mitogenoma. Proučavanjem ovih parametara, istraživači mogu donositi informirane odluke prilikom analize i usporedbe genoma.

4.2.4. Proučavanje filogenetskih odnosa između haplogrupa

Svi nukleotidna nizovi mtDNA uneseni su u MEGA aplikaciju verzije 7.0.26 (Kumar i sur., 2016) i usklađena s referentnim nukleotidnim nizom cjelokupnog ovčjeg mitogenoma pomoću Clustal Omega softvera (Chenna i sur., 2003). Clustal Omega je alat za višestruko poravnavanje nukleotidnih i proteinskih sekvenci koji pruža brze i precizne rezultate. Ovaj softver omogućava bolje razumijevanje evolucijskih odnosa među različitim biološkim sekvencama. Nakon što su sekvence usklađene, a njihova ukupna dužina iznosi 16.671 bp, klasifikacija haplogrupa provodi se putem MitoToolPy programa verzije 1.2 (Peng i sur., 2017).

MitoToolPy je sofisticirani programski alat razvijen u Pythonu, osmišljen za analizu podataka cijelog mtDNA ili odabranih pozicija unutar njega (Wu i sur., 2017). Ovaj program omogućava istraživačima da analiziraju mtDNA osam različitih vrsta domaćih životinja, uključujući i ovcu (Fan, 2014). MitoToolPy analiza obuhvaća varijabilnost u odnosu na referentni mitogenom, klasifikaciju haplogrupa te provjeru mogućih grešaka (Wu i sur., 2017). Jedna od prednosti MitoToolPy-a je njegova fleksibilnost i prilagodljivost za analizu različitih vrsta domaćih životinja. Njegova točnost u klasifikaciji haplogrupa temelji se na najnovijim znanstvenim istraživanjima i literaturi. Međutim, s obzirom na to da se nova istraživanja neprestano provode, program možda nije uvijek ažuriran s najnovijim otkrićima novih haplogrupa. Unatoč tome, MitoToolPy ostaje vrijedan alat za istraživače koji rade na analizi mitohondrijske DNA, nudeći im brze i pouzdane rezultate.

Program MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) je sveobuhvatan softver koji se široko koristi u molekularnoj biologiji i genetici za analizu evolucijskih procesa na razini sekvenci (Kumar i sur., 2016). Jedna od njegovih ključnih funkcionalnosti je određivanje broja polimorfničkih mjesta unutar genetskih sekvenci. Polimorfna mjesta su pozicije u DNA

sekvenci na kojima se različiti organizmi razlikuju u nukleotidima. Korištenjem MEGA softvera, istraživači mogu usklađivati sekvence različitih organizama kako bi identificirali i kvantificirali polimorfna mjesta. Točnost određivanja polimorfnih mjesta pomaže u proučavanju genetske raznolikosti, evolucije vrsta i filogenetskih odnosa među organizmima. MEGA softver nudi različite algoritme za usklađivanje sekvenci, kao što su Clustal Omega, MUSCLE i T-Coffee. Nakon uspješnog usklađivanja sekvenci, MEGA generira statističke podatke o polimorfnim mjestima, uključujući broj polimorfnih mjesta, ukupnu varijabilnost i sličnost među sekvencama. Ovi podaci omogućuju istraživačima da bolje razumiju genetsku strukturu i evolucijske procese koji oblikuju raznolikost vrsta.

U cilju određivanja broja mjesta u kojima se pojavljuju različiti tipovi nukleotida ili aminokiselina, korišten je verzija MEGA 7.0.21. Ova mjesta nazivaju se polimorfna ili varijabilna mjesta, a mogu biti singleton mjesta ili parsimonijska informativna mjesta. Singleton mjesta sadrže najmanje dva različita tipa nukleotida ili aminokiselina, pri čemu se jedan od njih može pojaviti više puta. Da bi se singletoni mogli identificirati, potrebne su najmanje tri sekvence koje sadrže jednoznačne nukleotide ili aminokiseline.

Parsimonijska informativna mjesta su mjesta koja sadrže najmanje dva različita tipa nukleotida ili aminokiselina, pri čemu se svaki od njih pojavljuje barem dva puta. Ova mjesta se mogu također procijeniti pomoću programa DnaSP, koji se često koristi u populacijskoj genetici (Librado i Rozas, 2009). Konzervirana mjesta se pak odnose na mjesta u kojima se ne pojavljuju različiti tipovi nukleotida ili aminokiselina.

DnaSP (DNA Sequence Polymorphism) je softver koji se koristi u analizi genetskih sekvenci i proučavanju polimorfizma unutar populacija (Rozas i sur., 2017). U animalnoj genetici, DnaSP omogućuje istraživačima da analiziraju genetsku varijabilnost i evolucijske procese među različitim vrstama i populacijama.

Kroz DnaSP, korisnici mogu izračunati različite parametre genetske varijabilnosti, kao što su broj polimorfnih mjesta, broj haplotipa, haplotipsku raznolikost te nukleotidnu raznolikost. Ovaj alat također nudi metode za testiranje selekcije, neutralnosti i rekonstrukciju filogenetskih odnosa, čime pomaže u razumijevanju evolucije i genetske strukture životinja

Za izradu haplotipova mitogenoma i izračunavanje njihove raznolikosti, korišten je program DnaSP ver. 5.10.01. Genetska raznolikost, koja se često mjeri kao razlika među haplotipovima u jednom uzorku, definira se kao vjerojatnost da se dva slučajno odabrana haplotipa razlikuju unutar tog uzorka (Nei, 1987).

Prikaz filogenetskih veza i raspodjela haplotipske varijabilnosti prema haplogrupama ilustriran je kroz Median joining mrežu (Bandelt i sur., 1999). Za izradu ove mreže korišten je program PopART verzija 1.7 (Analiza populacija s retikuliranim stablima), softverski alat stvoren kako bi se olakšalo razumijevanje evolucijskih povezanosti unutar i među populacijama (Leigh i Bryant, 2015).

Softver BEAST je iznimno koristan alat za analizu filogenetike. Ovaj softver omogućuje znanstvenicima da istraže evolucijske odnose između organizama, koristeći Bayesian metode. BEAST je posebno moćan jer omogućuje modeliranje različitih evolucijskih procesa, uključujući različite stope evolucije i vrijeme zajedničkog pretka. Također, omogućuje analizu vremenskog okvira evolucije, što znači da možete procijeniti kada se zajednički pretci različitih vrsta ili populacija pojavili. Ključna prednost BEAST-a je njegova sposobnost rada s molekularnim podacima, kao što su sekvence DNA ili aminokiseline. Ovaj softver omogućuje istražiteljima da izgrade složene filogenetske modele i procijene parametre evolucije koristeći bayesijanski pristup, što često rezultira preciznijim i pouzdanijim rezultatima u usporedbi s drugim metodama (Drummond i sur., 2006). Program je pokrenut s duljinom Markovljevog lanca Monte Carlo dok vrijednosti efektivne veličine uzorka (ESS) nisu premašile 200. Izračuni su izvedeni koristeći generalizirani vremenski reverzibilni model (GTR; Lanave i sur., 1984). Datoteka s konvergiranim stablima sastavljena je u TreeAnnotator v2.4.7 s „burn-in“ fazom od 20%, dok je završno stablo s posteriori vjerojantostima prikazano u FigTree v1.4.3 (Drummond i sur., 2012).

U sklopu izrade diplomskog rada, korišten je i programski jezik R za izradu filogeografske distribucije haplogrupa mitogenoma analiziranih jedinki. Koordinate uzorkovanja svake jedinice određene su koristeći Google Maps, a u skladu s literaturom. Nakon toga, korištenjem R paketa za vizualizaciju, ggplot2, kreirani su kružni dijagrami koji vizualno predstavljaju udjele haplogrupa u različitim regijama na geografskoj karti. Svaki kružni dijagram predstavljao je jednu regiju, a sektori unutar njih prikazivali su različite haplogrupe. Konačno, integrirani su kružni dijagrami s geografskim kartama kako bih se jasno prikazala raspodjela haplogrupa na karti. Ovaj pristup omogućio je preciznu i informativnu analizu genetičkih podataka na geografskoj razini, pružajući dublje razumijevanje distribucije haplogrupa.

4.2.5. Analiza varijabilnosti mitogenoma po segmentima

Analiza je obavljena na uzorku od 373 mitogenoma, koji su temeljeni na referentnom nukleotidnom slijedu mtDNA domaćih ovaca (dugom 16.241 bp). Za podjelu uzorka na segmente koristili smo MEGA softver verziju 7.0.21 (Smith i sur., 2016). Informacije o dužinama i položajima segmenata na mtDNA preuzete su iz NCBI-jeve baze podataka. Kao rezultat podjele dobivene su specifične sekvence za svaki segment: 12S rRNA, 16S rRNA, ND1, ND2, L-ianac, COX1, COX2, ATP8, ATP6, COX3, ND3, ND4L, ND4, ND5, ND6, CYTB, D_loop i tRNA22 (NCBI GenBank, Accession No. NC_001941; Hassanin i sur., 2010). Uzorci su uspoređeni s referentnim mtDNA sekvencama koristeći isti softver. Dodane su 373 sekvence, koje su ručno poravnate ako je bilo potrebno, a dobivene sekvence prilagođene su duljini na mjestima gdje su se sve poklopile.

Raznolikost je procijenjena pomoću Arlequin softvera, verzija 3.5.2 (Peterson i sur., 2010), uzimajući u obzir broj i postotak polimorfni mjesta (S i S%), broj i raznolikost haplotipova (Br. H i HD), te standardnu devijaciju (SD) raznolikosti segmenata i cijele mtDNA. Standardna devijacija često se koristi u mjerenju varijabilnosti. Prema Milleru i Jonesu (2005), SD uzorka se može koristiti kao procjena varijabilnosti populacije iz koje je uzorak dobiven.

Generirana je i nukleotidna raznolikost (π) uz pridruženu standardnu devijaciju. Nukleotidna raznolikost (π) definira se kao vjerojatnost da su dva nasumično odabrana homologna nukleotida različita, što ovisi o broju polimorfni mjesta i njihovim frekvencijama (Green i sur., 2004). Delecije su, kao i u prvom dijelu analize, isključene.

5. Rezultati

5.1. Dubina i duljina pokrivenosti konsenzus sekvenci mitogenoma

Analizirajući dane rezultate (Tablica 7), možemo primijetiti nekoliko značajnih podataka o sekvencama. Sve sekvence su dužine 16616 nukleotidnih baza s pokrivenošću od 100%. Pokrivenost od 100% sugerira da su sekvenciranje i poravnavanje prošli uspješno za svaki uzorak, bez propuštenih područja.

Prosječno preklapanje (Avg_fold) varira među uzorcima, najniže je kod uzorka POG1 s vrijednošću 330.9, a najviši kod uzorka MR1 s vrijednošću 9587.8. To sugerira da postoji znatna varijacija u broju puta koliko su individualne nukleotidne pozicije sekvencirane, što može utjecati na pouzdanost varijacija detektiranih u svakom uzorku.

Uzorak MR1 također ima najviše Plus_očitavanja i Minus_očitavanja, što sugerira da je ovaj uzorak mogao imati više sekvenciranja ili veću učinkovitost od ostalih uzoraka.

Unatoč varijacijama u prosječnom preklapanju, postotak GC sadržaja (Read_GC) je vrlo sličan među svim uzorcima, kreće se oko 0.389, što ukazuje na sličnosti u sastavu nukleotida među sekvencama.

Što se tiče standardne devijacije (Std_Dev), također vidimo značajne razlike među uzorcima, s MR1 koji pokazuje najveću vrijednost (814.02), što može sugerirati veću varijabilnost u broju preklapanja sekvenciranja u ovom uzorku.

S druge strane, u stupcu „Cover“, vrijednosti „12X“ i „30X“ ukazuju na to koliko puta je cjelokupna sekvencija na kraju prekrivena nakon sekvenciranja. Uzorci označeni s „12X“ imaju niže vrijednosti Avg_fold, Plus_očitavanja, i Minus_očitavanja u usporedbi s onima označenima s „30X“.

| Uzorak | Prosječno preklapanje | Duzina | Pokrivenost (%) | Plus_očitavanja | Minus_očitavanja | GC% | Srednja_preklapanja | Std_Dev | Pokrivenost |
|--------|-----------------------|--------|-----------------|-----------------|------------------|--------|---------------------|---------|-------------|
| C1 | 791.1 | 16616 | 100 | 45987 | 46056 | 0.3732 | 794 | 80.81 | 12X |
| C2 | 1057.8 | 16616 | 100 | 61142 | 61205 | 0.3733 | 1067 | 104.12 | 12X |
| DR1 | 609.5 | 16616 | 100 | 35687 | 35744 | 0.3881 | 613 | 61.44 | 12X |
| IO3 | 519.3 | 16616 | 100 | 30411 | 30462 | 0.3888 | 523 | 56.38 | 12X |
| IO1 | 506.1 | 16616 | 100 | 30517 | 30555 | 0.3878 | 509 | 62.45 | 12X |
| K1 | 1100.5 | 16616 | 100 | 63507 | 63591 | 0.3892 | 1109 | 101.91 | 12X |
| K2 | 926.2 | 16616 | 100 | 53477 | 53567 | 0.3894 | 928 | 95.68 | 12X |
| LP1 | 1710.9 | 16616 | 100 | 98761 | 98861 | 0.3892 | 1722 | 150.28 | 12X |
| LP2 | 1448.9 | 16616 | 100 | 83723 | 83842 | 0.3893 | 1458 | 141.97 | 12X |
| MR1 | 9587.8 | 16616 | 100 | 550582 | 552550 | 0.3896 | 9582 | 814.02 | 12X |
| MR2 | 5504.4 | 16616 | 100 | 316162 | 317102 | 0.3897 | 5481 | 486.76 | 12X |
| POG2 | 322.1 | 16616 | 100 | 19297 | 19307 | 0.3883 | 325 | 39.59 | 12X |
| POG3 | 574.3 | 16616 | 100 | 34396 | 34482 | 0.3878 | 578 | 58.06 | 12X |
| POG1 | 330.9 | 16616 | 100 | 19724 | 19753 | 0.3885 | 333 | 40.52 | 12X |
| R1 | 870.4 | 16616 | 100 | 50916 | 51006 | 0.3888 | 876 | 87.46 | 12X |
| R2 | 1330.5 | 16616 | 100 | 76353 | 76423 | 0.3897 | 1340 | 130.62 | 12X |
| ZO1 | 458.3 | 16616 | 100 | 27209 | 27237 | 0.3876 | 462 | 51.21 | 12X |
| C3 | 2840.8 | 16616 | 100 | 164267 | 164540 | 0.3895 | 2864 | 236.76 | 30X |
| D1 | 2066.3 | 16616 | 100 | 120372 | 120553 | 0.3892 | 2079 | 195.73 | 30X |
| DR2 | 865.0 | 16616 | 100 | 51342 | 51348 | 0.3878 | 878 | 91.49 | 30X |
| IO2 | 1902.3 | 16616 | 100 | 111845 | 111893 | 0.3894 | 1921 | 194.45 | 30X |
| K3 | 2323.5 | 16616 | 100 | 135187 | 135270 | 0.3914 | 2347 | 237.2 | 30X |
| LP3 | 1793.5 | 16616 | 100 | 104268 | 104384 | 0.3898 | 1805 | 172.97 | 30X |
| PO1 | 1281.1 | 16616 | 100 | 75757 | 75862 | 0.3896 | 1292 | 121.58 | 30X |
| R3 | 1735.2 | 16616 | 100 | 100062 | 100215 | 0.3898 | 1750 | 185.02 | 30X |

Tablica 7. Dubina i duljina pokrivenosti konsenzus sekvenci mitogenoma

Prosječno pokrivanje od 12x (17 uzoraka) = 1626.41. Min. = 322.06 Max. = 9587.76

Prosječno pokrivanje od 30x (8 uzoraka) = 1850.96 Min. = 864.98 Max. = 2840.79

5.2. Deskriptivna statistika varijabilnih mjesta mitogenoma

Rezultati dobiveni za hrvatske pasmine ovaca i muflona pružaju značajne informacije o genetskoj strukturi i diverzitetu ovih vrsta (Tablica 8). S obzirom na referentnu sekvencu (NC_001941) dužine 16616 baznih parova, obavljena analiza poravnanja sekvenci (tzv. sequence alignment) rezultirala je ukupnom dužinom poravnanja od 16624 baznih parova

Većina ovih mjesta, točnije 16259/16624, su konzervirana mjesta. Konzervirane sekvence su identične ili slične sekvence u nukleinskim kiselinama (DNA i RNA) ili proteinima između vrsta. Konzervacija ukazuje da je sekvencu održala prirodna selekcija, što znači da su ovi dijelovi sekvenci bitni za preživljavanje i funkciju organizma (Margulies. 2003). Ovi podaci upućuju na visoki stupanj genetske konzervacije među analiziranim ovcama i muflonima, što ukazuje na bliske evolucijske veze između njih.

Međutim, postoji i 359 varijabilnih mjesta. Varijabilna mjesta sadrže barem dva tipa nukleotida, što pokazuje genetsku varijabilnost unutar vrsta. Ova genetska varijabilnost može biti rezultat mutacija i važna je za održavanje genetske raznolikosti unutar populacije.

| |
|--|
| Hrvatske pasmine ovaca i mufloni (n=25) + ref. Seq. NC_001941 (16616 bp) |
| duljina poravnavanja: 16624 |
| konzervirane lokacije: 16259/16624 |
| varijabilne lokacije: 359/16624 |
| parsim-info lokacije: 112/16624 |
| singleton lokacije: 247/16624 |

Tablica 8. Analiza baznih parova sekvence NC_001941

Zanimljivo je napomenuti da je u ovoj analizi pronađeno 112 parsim-info mjesta. Ove sekvence su korisne za filogenetske analize jer mogu ukazati na evolucijske odnose između različitih vrsta. S druge strane, 247 singleton mjesta upućuje na mjesta u sekvencama gdje barem tri sekvence sadrže neambivalentne nukleotide.

5.3. Varijabilnost mitogenoma i klasifikacija haplogrupa

U proučavanoj bazi podataka identificirane su različite haplogrupe koje predstavljaju rodove nasljeđivanja na mitohondrijskoj DNA. Detaljnom analizom identificirano je ukupno 5 glavnih haplogrupa, a ovdje ćemo proširiti tu analizu i dodati dodatne informacije o svakoj od ovih glavnih haplogrupa:

Haplogrupa A: U bazi podataka evidentirano je ukupno 126 uzoraka pripadnika ove haplogrupe. Haplogrupa A često se nalazi u populacijama diljem svijeta i često je povezana s raznim geografskim područjima.

Haplogrupa B: Haplogrupa B zastupljena je sa 213 uzoraka. Ova haplogrupa često se nalazi u populacijama u Europi i povezana je s ovim geografskim područjem.

Haplogrupa C: Identificirano je 30 uzoraka pripadnika haplogrupe C. Ova haplogrupa može biti prisutna u različitim dijelovima svijeta, ali njezina zastupljenost može varirati.

Haplogrupa D: U bazi podataka zabilježena su samo 2 uzorka pripadnika haplogrupe D, što ukazuje na njenu rijetku prisutnost u ovoj populaciji.

Haplogrupa E: Haplogrupa E također je zabilježena s 2 uzorka. Ova haplogrupa može biti rijetka u ovoj populaciji ili je prisutna u malom broju primjeraka.

Važno je napomenuti da svaka od ovih glavnih haplogrupa može se dodatno podijeliti na pod-haplogrupe koje predstavljaju specifičnije rodove nasljeđivanja. Ova analiza temelji se na dostupnim podacima u proučavanoj bazi podataka. Za dublje i usporedno istraživanje sa drugim rezultatima preporučuje se pristupiti relevantnim znanstvenim izvorima kako bi se dobila potpuna slika o haplogrupama kod ovih ovaca.

5.4. Varijabilnost mitogenoma po segmentima

Detaljan prikaz raznolikosti mtDNA raščlanjene po segmentima prikazuje Tablice 9. Dobiveni rezultati navode raznolikost tipične strukture mtDNA koja se sastoji od dva ribosomalna RNA gena (12S i 16S rRNA), 22 transportna RNA gena (tRNA²²), 13 protein-kodirajućih gena i nekodirajuće kontrolne regije.

Primjetno je da su neki segmenti, poput D-loop-a, pokazali izuzetno visoku raznolikost što se poklapa s nalazima drugih studija koje su pokazale da D-petlja često pokazuje visoku razinu genetičke varijabilnosti (Ballard i Whitlock, 2004). Ovaj segment pokazuje π od 0.02162, što je znatno više u odnosu na druge segmente. Ova visoka raznolikost može biti rezultat brzih stopa mutacija koje se obično vide u ne-kodirajućim regijama mitogenoma (Jan-Willem Taanman, 1999).

S druge strane, segmenti poput ATP8 prikazuju manje varijabilnosti. ATP8 ima samo 27 varijabilnih mjesta (S) i haplotipsku raznolikost (Hd) od 0.278. Ovaj segment je vjerojatno konzervativniji, što može biti povezano s njegovom ključnom ulogom u mitohondrijskoj funkciji, što zahtijeva stabilnost genetskog koda (Zardoya, 2020). COI, ND4 i CytB pokazali su relativno nisku razinu haplotipske raznolikosti u skladu s prethodnim istraživanjima koja su pokazala visoki stupanj konzervativnosti ovih gena u drugim vrstama (Ballard i Whitlock, 2004).

| Segment | Duljina bez razmaka | | | | | |
|-----------|---------------------|------|---------|----------|-----|-------|
| | (bp) [“] | S | π | k | h | Hd |
| 12S rRNA | 954 | 102 | 0.00261 | 2.48679 | 61 | 0.679 |
| 16S rRNA | 1558 | 254 | 0.00359 | 5.59882 | 91 | 0.826 |
| ATP8 | 201 | 27 | 0.00301 | 0.60426 | 25 | 0.278 |
| ATP6 | 679 | 150 | 0.00656 | 4.45588 | 102 | 0.87 |
| COX1 | 1545 | 198 | 0.00452 | 6.98508 | 111 | 0.854 |
| COX2 | 684 | 86 | 0.00505 | 3.45558 | 57 | 0.724 |
| COX3 | 784 | 115 | 0.00482 | 3.77663 | 88 | 0.831 |
| CYTB | 1140 | 210 | 0.00477 | 5.4428 | 113 | 0.881 |
| tRNA22* | 1524 | 113 | 0.00182 | 2.77441 | 72 | 0.778 |
| ND1 | 955 | 96 | 0.0047 | 4.48762 | 94 | 0.849 |
| ND2 | 1042 | 150 | 0.00547 | 5.70244 | 87 | 0.806 |
| ND3 | 346 | 47 | 0.00496 | 1.71704 | 41 | 0.671 |
| ND4L | 297 | 27 | 0.00593 | 1.76063 | 35 | 0.634 |
| ND4 | 1378 | 202 | 0.00511 | 7.04454 | 126 | 0.907 |
| ND5 | 1820 | 295 | 0.0054 | 9.83232 | 142 | 0.907 |
| ND6 | 528 | 82 | 0.00612 | 3.22906 | 55 | 0.703 |
| D-loop | 832 | 177 | 0.02162 | 17.99087 | 262 | 0.994 |
| Mitogenom | 16624 | 2330 | 0.00538 | 87.44954 | 350 | 1 |

Tablica 9. Varijabilnost mitogenoma po segmentima.

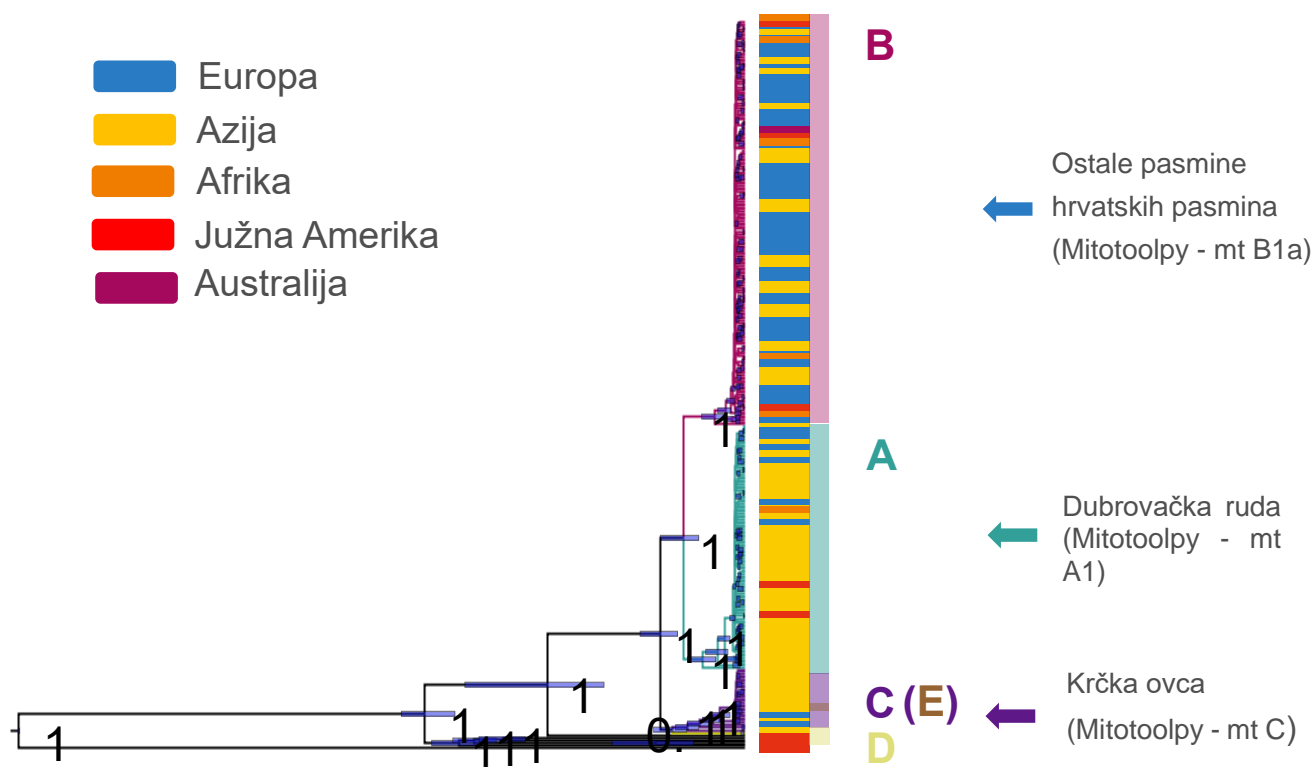
S – Broj varijabilnih mjesta; π – Nukleotidna raznolikost (po mjestu); k – Prosječan broj razlika u nukleotidima; h – Broj haplotipova; Hd – Haplotipska (genska) raznolikost; *tRNA22 – Sva područja mitogenoma koja kodiraju aminokiseline su sastavljena u niz.

U analizi, segmenti s većom dužinom imaju generalno veći broj promjenjivih mjesta, što je očekivano. Isto vrijedi i za prosječan broj nukleotidnih razlika i broj haplotipa. Na primjer, gen za ND5 s dužinom od 1820 baznih parova (bp) ima najvišu vrednost za S, k i h, što ukazuje na visok nivo genetičke raznolikosti u tom segmentu. To može ukazivati na evolucijski pritisak na ovaj gen, što ga čini ključnim za proučavanje genetičke raznolikosti.

Analizirani segmenti mitogenoma imaju različite funkcije i stoga su podložni različitim razinama selekcije. Na primjer, geni koji kodiraju proteine koji su integralni dijelovi mitohondrijskog respiratornog lanca (kao što su COX i ND geni) mogu biti podložni snažnom pročišćavajućom (ili negativnom) selekcijom, što znači da su nove mutacije koje promjene njihovu funkciju vjerojatno štetne i stoga se eliminiraju iz populacije. S druge strane, D-petlja, koja ne kodira proteine, može biti podložnija neutralnoj selekciji, što znači da su promjene u njenom slijedu vjerojatno neutralne i stoga se mogu akumulirati tijekom vremena (Ballard i Whitlock, 2004).

5.5. Filogentska analiza

5.5.1. BEAST analiza



Slika 15. Beast filogenetsko stablo.

U analizi koja je provedena koristeći program BEAST (Slika 15), obrađeno je ukupno 373 uzorka ovaca, od kojih je njih 25 bilo hrvatskog porijekla. Analiza je jasno je identificirala četiri (A, B, C, D) od pet različitih haplogrupa (A, B, C, D i E) s posteriori vrijednosti 1, što ukazuje na 100% sigurnošću grananja navedenih haplogrupa. Jasno se može vidjeti da se haplogrupa E ugnijezdila unutar haplogrupe C te se statistički ne odvaja od ostalih haplogrupa.

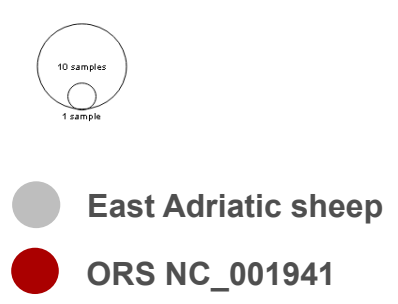
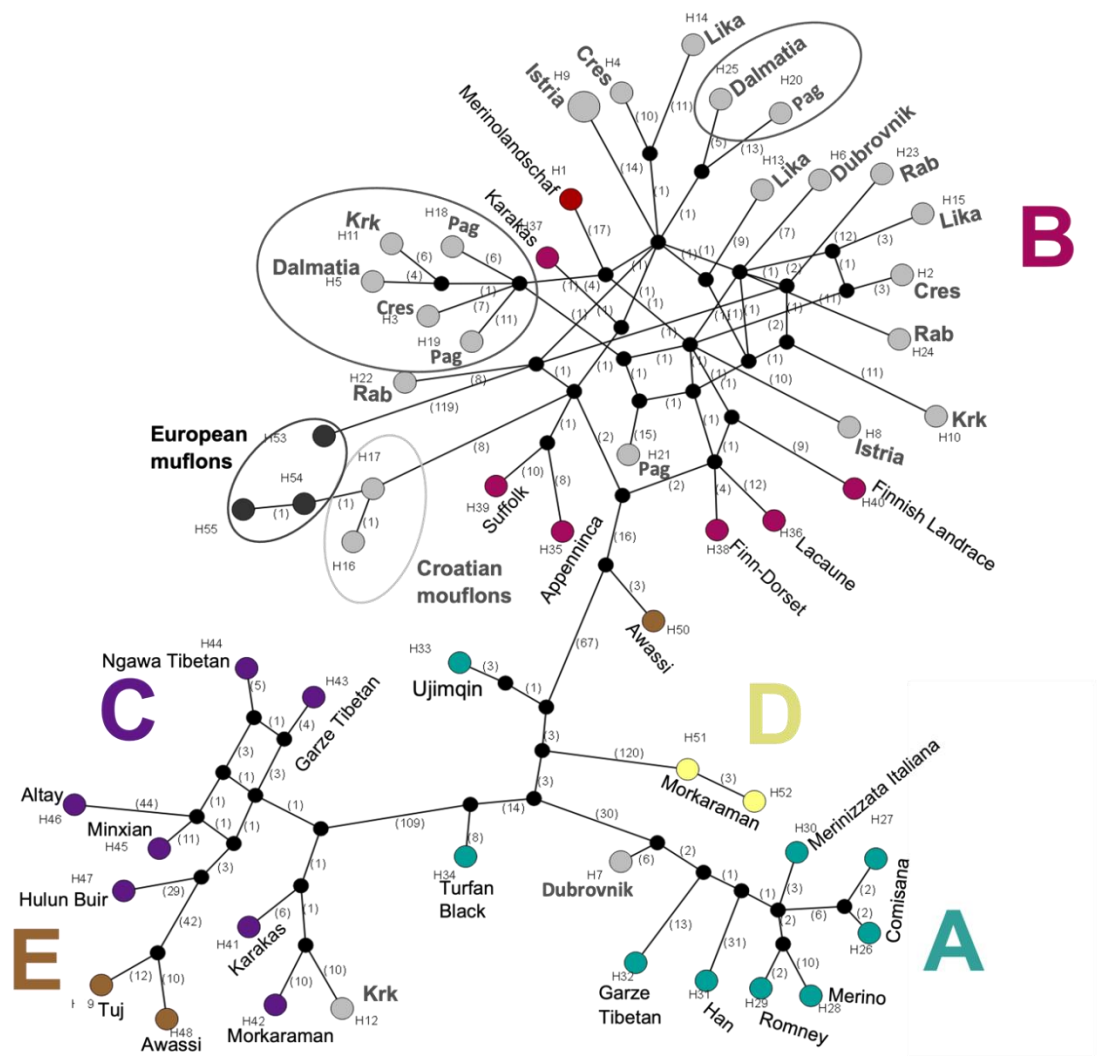
Najčešća haplogrupa koja se pojavila u ovim uzorcima bila je haplogrupa B. Zanimljivo je da su geografska područja imala značajan utjecaj na raspodjelu ovih haplogrupa. Naš grafički prikaz koristio je pozadinu u boji kako bi jasno prikazao pripadnost svake haplogrupe određenom geografskom području. Primijetili smo da je haplogrupa A najčešća u azijskim regijama, dok je haplogrupa B dominirala u europskim populacijama ovaca. Rjeđe zastupljene

haplogrupa C pojavljuju se na također u području azijskih regija (regije Kaspijskog mora, Kine, Indije i Nepala), Bliskog istoka i Pirenejskog poluotoka, dok se haplogrupe D i E mogu pronaći na Bliskom istoku. Svi uzorci naših autohtonih pasmine ovaca i muflona iz Hrvatske pripadaju haplogrupi B te zanimljivo jedan haplotip krčke ovce A i jedan haplotip dubrovačke rude C haplogrupi što je istaknuto strelicama na Slici 15.

5.5.2. Median joining mreža

Medija joining mreža predstavlja složen skup genetskih sekvenci ili haplotipova, pri čemu svaki kružić u mreži predstavlja haplotip, a brojke u zagradama označavaju broj polimornih mjesta između jedinki. Ako nas zanima koliko ima različitih polimornih mjesta između bilo koja dva haplotipa moramo zbrojiti sve brojke u zagradama između ta dva haplotipa. Veličina kružića predstavlja broj jedinki unutar haplotipa, tako možemo vidjeti na slici 16 na vrhu media joining mreže da kružić haplotipa H9 je veći od ostalih. To nam govori da taj haplotip ima dvije jedinice za razliku od ostalih koji imaju jednu. Haplogrupe su označene bojama, sive predstavljaju hrvatske ovce. To smo napravili tako da vidimo kako su se naše ovce integrirale u ostale haplogrupe. Crni kružići su imaginarni haplotipovi koje je median joining algoritam konstruirao kako bi najkraćim putem povezali haplotipovi. Tamno sivi kružići su moufloni.

Median joining mreža prikazuje odnos 55 haplotipova konstruiranih od 56 sekvenci mitogenoma od čega je 25 sekvenci naših pasmina ovaca i muflona iz Hrvatske, a ostale sekvence su predstavnici drugih haplogrupa i pasmina ovaca (Slika 16). Važno je za napomenuti da je median joining mreža rađena na smanjenom setu za razliku od Beast filogenetske analize zbog samog median joining algoritma koji teže procesuiraju veliki broj sekvenci. Također, korištenje cijele baze podataka rezultiralo bi prevelikom i neurednom mrežom, te bi bilo teško razumjeti genetske odnose između haplotipova i haplogrupa. Median joining mreža također je potvrdila da svi haplotipovi naših autohtonih pasmine ovaca i muflona iz Hrvatske pripadaju haplogrupi B te jedan haplotip krčke ovce A i jedan haplotip dubrovačke rude C haplogrupi.



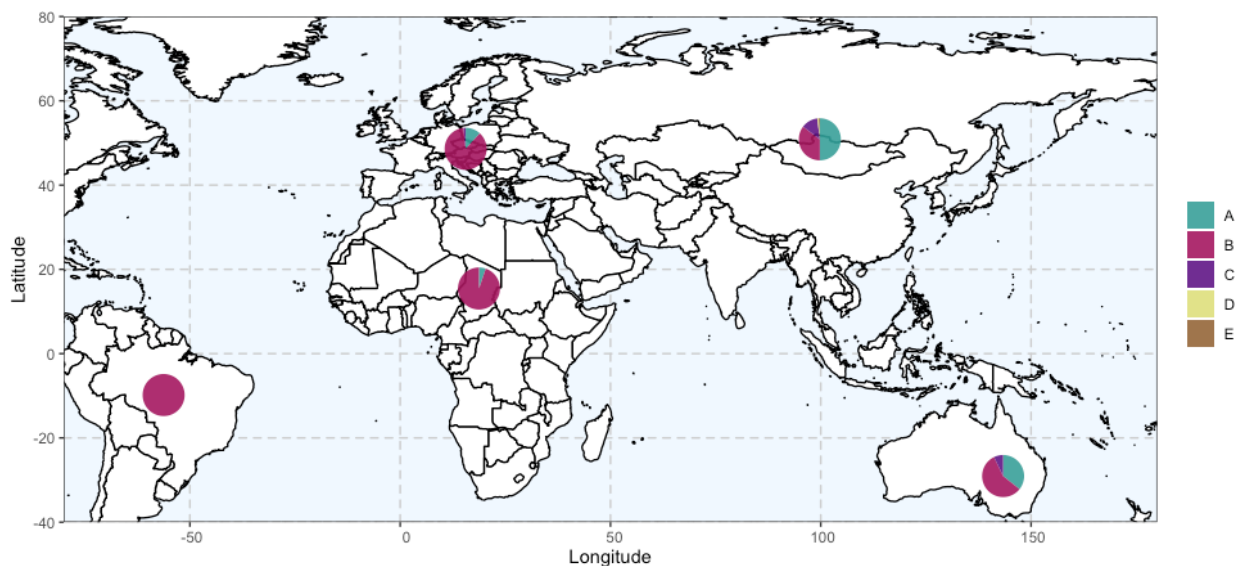
| | Set mitogenoma | |
|----|----------------|--------------|
| | n=56 | n=25 Croatia |
| bp | 16625 | 16624 |
| V | 672 | 359 |
| Pi | 368 | 112 |
| S | 304 | 247 |
| h | 55 | 25 |
| Hd | 0.9994 | 0.9969 |

Slika 16. Media joning mreža. Brojke na crtama između haplotipova predstavljaju broj polimofrnih mjesta.

5.6. Filogeografska rasprostranjenost haplogrupa

5.6.1 Filogeografska rasprostranjenost haplogrupa prema kontinentima

Analiza mitokondrijalnih DNA (mtDNA) haplogrupa u populacijama ovaca diljem različitih kontinenata na ukupno 373 sekvence mitogenoma.



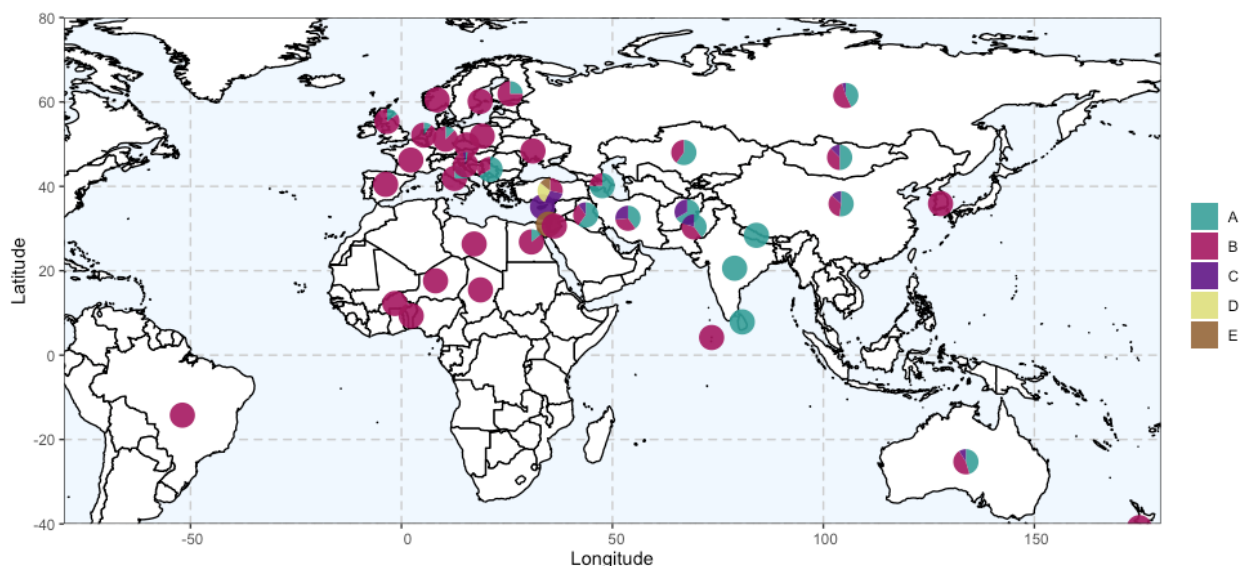
Slika 17. Distribucija haplogrupa na kontinentima.

| Kontinent | Haplogrupe | | | | |
|---------------|------------|-----|----|---|---|
| | A | B | C | D | E |
| Afrika | 1 | 18 | 0 | 0 | 0 |
| Azija | 105 | 74 | 27 | 2 | 2 |
| Australija | 5 | 8 | 1 | 0 | 0 |
| Europa | 15 | 110 | 2 | 0 | 0 |
| Južna Amerika | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |

Tablica 10. Broj haplogrupa prema kontinentima.

Na azijskom kontinentu, haplogrupe A i B bile su dominantne. Haplogrupa A zabilježena je u 105 slučajeva, dok je haplogrupa B zabilježena u 74 slučaja. Ova distribucija usklađuje se s prethodnim istraživanjima koja su pokazala prevalenciju ovih linija u regiji. Konkretno, haplogrupa A smatra se da se prvotno proširila na Mongolsku visoravan i indijski potkontinent, kasnije šireći se na sjevernu i jugozapadnu Kinu. Haplogrupa B slijedila je sličan put, nastala na Mongolskoj visoravni i naselila sjevernu i jugozapadnu Kinu te Indiju (Machova,2022). U afričkim populacijama ovaca, haplogrupa A bila je najrasprostranjenija, s 18 pojavljivanja. Ovo otkriće podudara se s prethodnim studijama koje su identificirale mitohondrijsku haplogrupu B kao dominantnu haplogrupu u Africi. Analiza australskih populacija ovaca otkrila je raznovrsnu distribuciju haplogrupa A i B. Haplogrupa A zabilježena je u 8 slučajeva, dok je haplogrupa B pronađena u 5 slučajeva. U europskim populacijama ovaca, haplogrupa B bila je značajno dominantna, s 110 pojavljivanja, dok je haplogrupa A zabilježena 15 puta.

5.6.2 Filogeografska rasprostranjenost haplogrupa prema državama



Slika 18. Distribucija haplogrupa prema državama.

| Država | Haplogrupa | | | | |
|-------------------------------------|------------|----|----|---|---|
| | A | B | C | D | E |
| Afganistan | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Australija | 5 | 5 | 1 | 0 | 0 |
| Azerbajdžan | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Benin | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Brazil | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Burkina Faso | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| Čad | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Kina | 63 | 42 | 16 | 0 | 0 |
| Hrvatska | 1 | 29 | 1 | 0 | 0 |
| Cipar | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Češka Republika | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Egipat | 1 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| Finska | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Francuska | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| Njemačka | 1 | 7 | 0 | 0 | 0 |
| Indija | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Iran | 6 | 5 | 4 | 0 | 0 |
| Irak | 6 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| Izrael | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Italija | 7 | 21 | 0 | 0 | 0 |
| Jordan | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Kazahstan | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Korejski Poluotok (Sjeverna Koreja) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Libija | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Maldivi | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Mongolija | 4 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| Nepal | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Nizozemska | 1 | 9 | 0 | 0 | 0 |
| Novi Zeland | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Niger | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Norveška | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| Pakistan | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| Poljska | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Rusija | 9 | 11 | 1 | 0 | 0 |
| Srbija | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Španjolska | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Šri Lanka | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Švedska | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| Turska | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| Ukrajina | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Ujedinjeno Kraljevstvo | 2 | 11 | 0 | 0 | 0 |

Tablica 11. Broja haplogrupa prema državama.

U proučavanju haplogrupa ovaca prema državama, Kina se izdvaja s najvećom zastupljenošću u tri haplogrupe: A (63), B (42) i C (16). U Hrvatskoj, haplogrupa B je dominantna s ukupno 23 jedinice, dok su ostale haplogrupe manje prisutne. Italija i Rusija također imaju visoku zastupljenost u haplogrupi B s 21 i 11 primjeraka. Izrael je jedinstven jer je jedina zemlja s predstavnikom u haplogrupi E. Turska je jedina zemlja s primjercima u svih pet haplogrupa, uključujući i dvije ovce u haplogrupi D – haplogrupi koja nije zastupljena u nijednoj drugoj navedenoj državi. Mnoge zemlje, poput Benina, Burkina Fasa, Čada i Niger, imaju ovce isključivo iz haplogrupe B. Neke zemlje, kao što su Afganistan i Indija, imaju ovce samo u haplogrupi A, dok druge zemlje kao Cipar imaju ovce samo u haplogrupi C.

6. Rasprava

Mitohondrijska DNA (mtDNA) predstavlja ključni element u proučavanju genetske evolucije i filogenetike, budući da se nasljeđuje isključivo putem majčinske linije kao što smo vidjeli u radu. Ova jedinstvena karakteristika mtDNA omogućuje istraživačima da prate genetsku povijest unazad u vremenu s posebnom pažnjom na žensku liniju. S obzirom na odsutnost rekombinacije u mtDNA, svaka promjena u sekvenci mtDNA akumulira se tijekom generacija i zadržava se gotovo nepromijenjena. Ova stabilnost i neprekidna akumulacija mutacija omogućuju znanstvenicima da konstruiraju filogenetska stabla i rekonstruiraju evolucijske odnose među različitim populacijama ili vrstama. Osim toga, mtDNA često služi kao marker za praćenje migracija i širenje populacija tijekom vremena. Stoga, istraživanje mtDNA i nasljeđivanje putem majčinske linije igra ključnu ulogu u razumijevanju genetske raznolikosti, evolucije i filogenetskih odnosa među živim organizmima, pružajući dragocjene uvide u povijest i povezanost različitih populacija i vrsta.

Rezultati analize genetskog materijala hrvatskih pasmina ovaca i muflona donose vrijedne uvide u njihovu genetsku strukturu. Na temelju usporedbe s referentnom sekvencom duljine 16616 baznih parova (NC_001941), uočena je visoka genetska konzervacija kod većine mjesta, što sugerira bliske evolucijske veze između ovaca i muflona. No, isto tako, analiza je otkrila 359 varijabilnih mjesta, pokazujući prisutnost genetske varijabilnosti unutar tih vrsta. Ova raznolikost može igrati ključnu ulogu u očuvanju genetske raznolikosti unutar populacija i evoluciji. Posebno važno su 112 parsim-info mjesta koja su korisna za filogenetske analize, pružajući nam uvid u evolucijske odnose među vrstama. Također, prisutnost 247 singleton mjesta dodatno obogaćuje analizu genetskog materijala.

Rezultati analize pokazali su da sve sekvence mitogenoma imaju duljinu od 16616 nukleotidnih baza i pokrivenost od 100%, što ukazuje na uspješno sekvenciranje i poravnavanje za svaki uzorak, bez nepokrivenih područja. Prosječno preklapanje (Avg_fold) varira među

uzorcima, s najnižim vrijednostima kod uzorka POG1 (330.9) i najvišim kod uzorka MR1 (9587.8). Ovo sugerira značajne razlike u broju puta koliko su pojedine nukleotidne pozicije sekvencirane, što može utjecati na pouzdanost otkrivanja genetskih varijacija u svakom uzorku. Iako postoji varijacija u prosječnom preklapanju, postotak GC sadržaja (Read_GC) je sličan među svim uzorcima, što ukazuje na sličnosti u sastavu nukleotida među sekvencama. Što se tiče standardne devijacije (Std_Dev), uočene su značajne razlike među uzorcima, pri čemu uzorak MR1 ima najveću vrijednost (814.02), što ukazuje na veću varijabilnost u broju preklapanja sekvenciranja u tom uzorku. Također, postotak pokrivenosti od 12X i 30X ukazuje na koliko puta je cjelokupna sekvencija prekrivena nakon sekvenciranja. Uzorci označeni s "12X" imaju niže prosječno preklapanje i manje očitavanja u usporedbi s onima označenima s "30X".

U analizi varijabilnosti mitogenoma i klasifikaciji haplogrupa identificirane su 5 glavnih haplogrupa kod proučavanih ovaca. Haplogrupa A je zastupljena s 126 uzoraka, a često se nalazi u populacijama diljem svijeta. Haplogrupa B je nabrojnija sa 213 uzoraka i često se povezuje s europskim populacijama. Haplogrupa C je identificirana u 30 uzoraka, a njezina zastupljenost može varirati geografski. Haplogrupa D ima rijetku prisutnost s samo 2 uzorka, dok je haplogrupa E također zabilježena u 2 uzorka, sugerirajući rijetku prisutnost ili nisku brojnost u populaciji.

Analiza pokrivenosti mitogenoma pruža značajne uvide u njegovu varijabilnost. Na primjer, primjećujemo da je Dloop, odnosno D kontrolna regija, najvarijabilnija u mitogenomu. Ovo je područje koje često pokazuje veliku raznolikost između različitih jedinki iste vrste. S druge strane, gen ATP8 se čini najmanje varijabilnim u usporedbi s drugim dijelovima mitogenom

Analizirajući varijabilnost mitogenoma po segmentima, primijetili smo značajne razlike među različitim dijelovima mitogenoma. D-loop segment je istaknuo visoku genetičku

raznolikost s π vrijednosti od 0.02162, što ukazuje na brze stope mutacija u ovoj nekodirajućoj regiji. S druge strane, segmenti poput ATP8, COX1, COX2 i CYTB pokazali su manju razinu genetičke varijabilnosti. Dužina segmenta često je korelirala s razinom varijabilnosti, pri čemu su dulji segmenti imali više varijabilnih mjesta i haplotipsku raznolikost. Na primjer, gen za ND5, s duljinom od 1820 baznih parova, imao je najviše varijabilnih mjesta i haplotipsku raznolikost, što sugerira visoku genetičku raznolikost u tom segmentu. Ovi rezultati sugeriraju da različiti dijelovi mitogenoma podliježu različitim razinama evolucijskog pritiska i selekcije.

U analizi koju smo proveli koristeći program BEAST, obradili smo ukupno 373 uzorka ovaca, od kojih je njih 25 bilo hrvatskog porijekla. Naša analiza jasno je identificirala četiri haplogrupe s visokom posteriori vjerojatnošću od 1, što znači da smo s 100% sigurnošću prepoznali ove haplogrupe. Najčešća haplogrupa koja se pojavila u ovim uzorcima bila je haplogrupa B. Zanimljivo je da su geografska područja imala značajan utjecaj na raspodjelu ovih haplogrupa. Naš grafički prikaz koristio je pozadinu kako bi jasno prikazao pripadnost svake haplogrupe određenom geografskom području. Primijetili smo da je haplogrupa A najčešća u azijskim regijama, dok je haplogrupa B dominirala u europskim populacijama ovaca. Također, unutar haplogrupe B, posebno se ističe haplogrupa H53, koja se genetski izdvaja od ostalih podgrupa unutar ove haplogrupe. Genetska udaljenost haplogrupe H53 od ostalih grupa iznosi 119 polimorfni mjesta, što ukazuje na njezinu izrazito visoku genetsku udaljenost. Ova izuzetna udaljenost sugerira da je haplogrupa H53 možda prošla kroz značajne genetske promjene ili potječe iz drugačijeg izvora u usporedbi s ostalim haplogrupama unutar grupe B. Ovi genetski podaci pružaju uvid u evolucijske odnose između europskih muflona i hrvatskih muflona te ukazuju na kompleksnost strukture unutar grupe B. Haplogrupa H53 se izdvaja kao posebno udaljena, što pruža temelj za daljnje istraživanje kako bi se bolje razumjele genetske raznolikosti i evolucijski procesi ovih divljih vrsta.

Analizirajući median joining mrežu možemo vidjeti da je udaljenost između haplogrupe A i haplogrupe B iznosi 87 polimorfni mjesta. Najveća genetska, koja iznosi 120 polimorfni mjesta, primjećuje se između haplogrupe D i ostalih grupa, čime se čini haplogrupa D najudaljenijom od svih. S druge strane, grupe C i E imaju najmanji broj polimorfni mjesta između njih, što znači da dijele više genetskih karakteristika i vjerojatno imaju zajedničkog evolucijskog pretka. Na median joining mreži zaokružena je grupa koja uključuje dvije ovce sa Paga, jednu sa Krka, jednu iz Dalmacije te Cresa, koja pokazuje mali broj polimorfni mjesta između njih. Ovaj niski broj polimorfni mjesta između njih sugerira da su ove grupe vrlo slične genetski, što može ukazivati na prisutnost križanja ili bliskog zajedničkog pretka.

Genetska analiza europskih muflona jasno pokazuje da su udaljeni za jedno polimorfno mjesto od hrvatskih muflona. Ovaj zaključak potkrepljuje blisku genetsku sličnost između ove dvije populacije muflona, sugerirajući da su vrlo slični u svojoj genetskoj strukturi. Četiri haplotipa muflona unutar grupe B udaljeni za 8 polimorfizama od ostatka te grupe. S druge strane, haplotip H53 ističe se kao posebno udaljen u odnosu na ostatak grupe B, udaljen čak 119 polimorfni mjesta. Ovaj izrazita velika razlika u broju polimorfni mjesta sugerira da je haplotip H53 prošao značajne genetske promjene ili da potječe iz drugačijeg izvora od ostalih haplotipova unutar grupe B. Od svih ovaca u skupinama C i A, samo dvije su iz Hrvatske. Ova ograničena zastupljenost domaćih ovaca u ovim skupinama sugerira da postoji vjerojatno neki specifičan povijesni ili uvozni kontekst koji je doveo do takvog rasporeda. Ovakve razlike u skupinama mogu proizaći iz različitih genetskih linija ili povijesnih događaja koji su utjecali na sastav ovčje populacije u Hrvatskoj u usporedbi s drugim regijama.

Osim toga, može se jasno vidjeti da u haplogrupi B dominiraju europske pasmine, dok se u haplogrupi A uglavnom nalaze azijske pasmine, iako su prisutne i europske. Što se tiče haplogrupe D i E, tamo se može pronaći isključivo azijske pasmine.

Analizirajući podatke iz tablice set mitogenoma, možemo vidjeti nekoliko stvari. Vidimo da genetska raznolikost uzoraka ovaca iz Hrvatske (označeno s "Croatia") nije jednako visoka kao i kod ukupnog skupa uzoraka. Konkretno, genetska raznolikost, mjerena kao P_i , među uzorcima iz Hrvatske iznosi 112, dok je u ukupnom skupu 368. Ovaj podatak ukazuje na određeni stupanj genetske homogenosti među ovcama u Hrvatskoj, što može biti posljedica selekcijskih praksi ili reproduktivnih obrazaca. Broj genetskih varijacija (označen kao "V") također je manji među uzorcima iz Hrvatske ($V = 359$) u usporedbi s ukupnim skupom ($V = 672$). Ovo ukazuje na manju genetsku varijabilnost unutar ovcama u Hrvatskoj. Sveukupno, ovi podaci sugeriraju da populacija ovaca u Hrvatskoj može biti manje genetski raznolika i homogenija u odnosu na ukupnu populaciju ovaca koja uključuje različite regije.

U analizi filogeografske rasprostranjenosti haplogrupa u populacijama ovaca na globalnoj razini, koristeći podatke iz 373 sekvence mitogenoma, otkrili smo značajne varijacije u distribuciji haplogrupa prema kontinentima. U Aziji, haplogrupe A i B dominirale su s 105 odnosno 74 slučaja. Ovo se podudaralo s prethodnim istraživanjima koja su pokazala prevalenciju ovih materinih linija u regiji. Haplogrupa A se smatra da se prvobitno proširila na Mongolsku visoravan i indijski potkontinent, dok je haplogrupa B slijedila sličan put. Afričke populacije ovaca pretežito su predstavljene haplogrupom A, dok su australske populacije pokazale raznovrsniju distribuciju između haplogrupa A i B. U europskim populacijama ovaca, haplogrupa B bila je dominirajuća, s 110 pojava, dok je haplogrupa A bila zabilježena 15 puta. Dalje, analizirali smo filogeografsku rasprostranjenost haplogrupa prema državama. Kina se izdvojila s najvećom zastupljenošću u haplogrupama A, B i C. U Hrvatskoj, haplogrupa B je bila dominantna, dok su druge haplogrupe bile manje prisutne. Italija i Rusija također su pokazale visoku zastupljenost haplogrupe B. Izrael se istaknuo kao jedina zemlja s prisustvom haplogrupe E, dok je Turska bila jedina zemlja koja je obuhvatila sve pet haplogrupa. Nekoliko zemalja, poput Benina, Burkina Fasa, Čada i Nigera, imalo je ovce isključivo u haplogrupi B,

dok su neke zemlje, poput Afganistana i Indije, imale ovce samo u haplogrupi A. Ova raznolikost i specifična distribucija haplogrupa unutar različitih država ukazuje na različite genetske utemeljenosti populacija ovaca širom svijeta. U konačnici, ovi rezultati pružaju važan uvid u genetsku raznolikost ovaca na globalnoj razini i mogu poslužiti kao temelj za buduće studije o njihovoj evoluciji i migracijama.

7. Zaključak

Na temelju pregleda literature te rezultata analiza provedenih na uzorku od 373 mitogenoma od kojih su 25 hrvatski uzorci, može se zaključiti slijedeće. Mitohondrijska DNA (mtDNA) predstavlja izuzetno važan alat u proučavanju genetske evolucije i filogenetike zbog svoje specifične naslijeđenosti putem majčinske linije. Stabilnost mtDNA i neprekidna akumulacija mutacija omogućuju konstrukciju filogenetskih stabala i rekonstrukciju evolucijskih odnosa među populacijama i vrstama. Prikazom filogenetskih odnosa analiziranih uzoraka, potvrđena je prisutnost svih haplogrupa navedenih u literaturnim izvorima (A,B,C,D i E). Analiza mitogenoma pokazuje visoku genetsku varijabilnost među pasminama ovaca i muflonima u Hrvatskoj. Prisutnost haplogrupa A, B i C sugerira moguće migracijske kontakte između Balkana i Bliskog istoka. Analiza genetskog materijala hrvatskih pasmina ovaca i muflona ukazuje na visoku genetsku konzervaciju s prisutnošću varijabilnih mjesta, što pruža uvid u njihove evolucijske veze. Filogeografska analiza haplogrupa pokazuje značajne razlike u distribuciji prema kontinentima i državama, što ukazuje na različite geneze i migracijske puteve ovaca širom svijeta. Ovo istraživanje ističe važnost genetske raznolikosti ovaca u Hrvatskoj za očuvanje autohtonih pasmina. Očuvanje genetske raznolikosti je ključno za zdrava stada i otpornost na bolesti te za buduće selekcijske programe i uzgoj. Daljnje filogenetske analize i istraživanja migracija mogu pružiti dublje uvide u genetsku povijest ovaca u ovom području.

8. Popis literature

1. Aquadro C.F. & Greenberg B.D. (1983). Human mitochondrial DNA variation and evolution: analysis of nucleotide sequences from seven individuals. *Genetics*, 103, 287-312.
2. Ballard, J. W., & Whitlock, M. C. (2004). The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*, 13(4), 729-744.
3. Boore, J. L. (1999). Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research*, 27, 1767-1780.
4. Brahi, O. H. D., Xiang, H., Chen, X., Farougou, S., & Zhao, X. (2015). Mitogenome revealed multiple postdomestication genetic mixtures of West African sheep. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 132(5), 399-405.
5. Brake, M. H., Migdadi, H. M., Sadler, M. T., Awabdeh, S., Jawasreh, K., Obeidat, W., ... & Haddad, N. J. (2021). Complete mitochondrial genome sequence of Awassi-Jo sheep breed (*Ovis aries*) in Jordan. *Mitochondrial DNA Part B*, 6(3), 1263-1264.
6. Brown D.R., Koehler C.M., Lindberg G.L., Freeman A.E., Mayfield J.E., Myers E.M., Schutz M.M. & Beitz D.C. (1989). Molecular analysis of cytoplasmic genetic variation in Holstein cows. *Journal of Animal Science*, 67, 1926-32.
7. Bruford, M. W., D. G. Bradley, and G. Luikart. (2003). DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics*, 4, 900-910.
8. Burgstaller, J. P., Schinogl, P., Dinnyes, A., Müller, M., & Steinborn, R. (2007). Mitochondrial DNA heteroplasmy in ovine fetuses and sheep cloned by somatic cell nuclear transfer. *BMC developmental biology*, 7(1), 1-10.
9. Chenna R., Sugawara H., Koike T., Lopez R., Gibson T.J., Higgins D., Thompson J.D. (2003). Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. *Nucleic Acid Research*, 31(13), 3497-3500.

10. Chinnery P. F., Schon E. A. (2003). Mitochondria. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 74(9), 1188–1199.
11. Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., DePristo, M. A., ... & McVean, G. A. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15), 2156-2158.
12. Deng, J., Xie, X. L., Wang, D. F., Zhao, C., Lv, F. H., Li, X., ... & Li, M. H. (2020). Paternal origins and migratory episodes of domestic sheep. *Current Biology*, 30(20), 4085-4095.
13. Drummond, A. J., Ho, S. Y. W., Phillips, M. J., & Rambaut, A. (2006). Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS biology*, 4(5), e88.
14. Fan, H., Zhao, F., Zhu, C., Li, F., Liu, J., Zhang, L., ... & Du, L. (2016). Complete mitochondrial genome sequences of Chinese indigenous sheep with different tail types and an analysis of phylogenetic evolution in domestic sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(5), 631.
15. Ferencakovic, M., Curik, I., Pérez-Pardal, L., Royo, L.J., Cubric-Curik, V., Fernández, I., Álvarez, I., Kostelic, A., Sprem, N., Krapinec, K., & Goyache, F. (2013). Mitochondrial DNA and Y-chromosome diversity in East Adriatic sheep. *Animal Genetics*, 44, 184-192.
16. Fu, Y., Dong, H., Bian, X., Qin, Z., Han, H., Lang, J., ... & Zhang, L. (2022). Molecular characterizations of *Giardia duodenalis* based on multilocus genotyping in sheep, goats, and beef cattle in Southwest Inner Mongolia, China. *Parasite*, 29.
17. Giuffra, E., Kijas, J.M. H., Amarger, V., Carlborg, O., Jeon, J.T. & Anderson, L. (2000). The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics*, 154, 1785-1791.

18. Guo, J., Du, L. X., Ma, Y. H., Guan, W. J., Li, H. B., Zhao, Q. J., ... & Rao, S. Q. (2005). A novel maternal lineage revealed in sheep (*Ovis aries*). *Animal Genetics*, 36(4), 331-336.
19. Hiendleder, H. Lewalski, R. Wassmuth, and A. Janke (1998). The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype. *Journal of Molecular Evolution*, 47(4), 441–448.
20. Hu, Xiao-di, and Li-zhi Gao (2016). The complete mitochondrial genome of domestic sheep, *Ovis aries*. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(2), 1425-1427.
21. Jan-Willem Taanman (1999). The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1410(2), 103.
22. Jia, S., Chen, H., Zhang, G., Wang, Z., Lei, C., Yao, R., & Han, X. (2007). Genetic variation of mitochondrial D-loop region and evolution analysis in some Chinese cattle breeds. *Journal of Genetics and Genomics*, 34(6), 510-518.
23. Jones, P., Binns, D., Chang, H. Y., Fraser, M., Li, W., McAnulla, C., ... & Hunter, S. (2012). InterProScan 5: genome-scale protein function classification. *Bioinformatics*, 30(9), 1236-1240.
24. Joshi, M. B., Rout, P. K., Mandal, A. K., Tyler-Smith, C., Singh, L., & Thangaraj, K. (2004). Phylogeography and origin of Indian domestic goats. *Molecular biology and Evolution*, 21(3), 454-46
25. Kijas, J. M. H., and L. Andersson. (2001). A phylogenetic study of the origin of the domestic pig estimated from the near-complete mtDNA genome. *Journal of Molecular Evolution*, 52, 302-308.

26. Koboldt, D. C., Chen, K., Wylie, T., Larson, D. E., McLellan, M. D., Mardis, E. R., ... & Wilson, R. K. (2009). VarScan: variant detection in massively parallel sequencing of individual and pooled samples. *Bioinformatics*, 25(17), 2283-2285.
27. Kumar S., Stecher G. i Tamura K. (2016). MEGA7:Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets.*Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874. DOI:10.1093/molbev/msw054
28. Lanave, C., Preparata, G., Sacone, C., & Serio, G. (1984). A new method for calculating evolutionary substitution rates. *Journal of molecular evolution*, 20, 86-93.
29. Lancioni, H., Di Lorenzo, P., Ceccobelli, S., Perego, U. A., Miglio, A., Landi, V., ... & Achilli, A. (2013). Phylogenetic relationships of three Italian merino-derived sheep breeds evaluated through a complete mitogenome analysis. *PloS one*, 8(9), e73712.
30. Larson, G., Dobney, K., Albarella, U., Fang, M., Matisoo-Smith, E., Robins, J., ... & Cooper, A. (2005). Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication. *Science*, 307(5715), 1618-1621.
31. Li, H. (2011). "A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data." *Bioinformatics*, 27(21), 2987-2993.
32. Li, H., & Durbin, R. (2009). "Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform." *Bioinformatics*, 25(14), 1754-1760.
33. Liu, J. B., Ding, X. Z., Guo, T. T., Yue, Y. J., Zeng, Y. F., Guo, X., ... & Yuan, C. (2016). The complete mitochondrial genome sequence of the wild Huoba Tibetan sheep of the Qinghai-Tibetan Plateau in China. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(6), 4689-4690.
34. Liu, J., Ding, X., Zeng, Y., Yue, Y., Guo, X., Guo, T., ... & Yuan, C. (2016). Genetic diversity and phylogenetic evolution of Tibetan sheep based on mtDNA D-Loop sequences. *PLoS One*, 11(7), e0159308.

35. Liu, R., Jin, L., Long, K., Tang, Q., Ma, J., Wang, X., ... & Li, M. (2018). Analysis of mitochondrial DNA sequence and copy number variation across five high-altitude species and their low-altitude relatives. *Mitochondrial DNA Part B*, 3(2), 847-851.
36. Loftus, R. T., MacHugh, D. E., Bradley, D. G., Sharp, P. M., & Cunningham, E. P. (1994). "Evidence for two independent domestications in cattle." *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 91, 2757-2761.
37. Loftus, R. T., MacHugh, D. E., Bradley, D. G., Sharp, P. M., & Cunningham, P. (1994). Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(7), 2757-2761.
38. Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J. D., Bouvet, J., & Taberlet, P. (2001). Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(10), 5927-5932.
39. Lv, F. H., Peng, W. F., Yang, J., Zhao, Y. X., Li, W. R., Liu, M. J., ... & Li, M. H. (2015). Mitogenomic meta-analysis identifies two phases of migration in the history of eastern Eurasian sheep. *Molecular biology and evolution*, 32(10), 2515-2533.
40. Machová, K., Málková, A., Vostrý, L. (2022). "Sheep Post-Domestication Expansion in the Context of Mitochondrial and Y Chromosome Haplogroups and Haplotypes." *Genes*, 13, 613.
41. Margulies, E. H. (2003). "Identification and Characterization of Multi-Species Conserved Sequences." *Genome Research*, 13(12), 2507–2518.
42. Meadows, J. R. S., Hiendleder, S., & Kijas, J. W. (2011). "Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel." *Heredity*, 106(4), 700-706.

43. Meadows, J. R., Cemal, I., Karaca, O., Gootwine, E., & Kijas, J. W. (2007). Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near East. *Genetics*, 175(3), 1371-1379.
44. Moritz, C., Dowling, T., & Brown, W. (1987). "Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics." *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 269-292.
45. Mustafa, S. I. (2021). "The complete mitogenome of the Iraqi Awassi sheep breed and the maternal lineage utilizing high throughput sequencing raw reads." *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 19(4), 465-470.
46. Naderi, S., Rezaei, H. R., Taberlet, P., Zundel, S., Rafat, S. A., Naghash, H. R., ... & Econogene Consortium. (2007). Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveals six haplogroups with high diversity. *PloS one*, 2(10), e1012.
47. Nadler, C. F., Hoffmann, R. S., & Woolf, A. (1973). "G-band patterns as chromosomal markers, and the interpretation of chromosomal evolution in wild sheep (*Ovis*)." *Experientia*, 29(1), 117-119.
48. Niu, L., Chen, X., Xiao, P., Zhao, Q., Zhou, J., Hu, J., ... & Zhong, T. (2017). Detecting signatures of selection within the Tibetan sheep mitochondrial genome. *Mitochondrial DNA Part A*, 28(6), 801-809.
49. Pal, A., Banerjee, S., Pathak, K., Das, M. K., & Chatterjee, P. N. (2022). Molecular phylogenetic analysis for *Ovis aries* with whole mitochondrial genome sequencing. *bioRxiv*, 2022-07.
50. Pedrosa, S., Uzun, M., Arranz, J. J., Gutiérrez-Gil, B., San Primitivo, F., & Bayón, Y. (2005). Evidence of three maternal lineages in Near Eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1577), 2211-2217.

51. Peng, M. S., Fan, L., Shi, N. N., Ning, T., Yao, Y. G., Murphy, R. W., ... & Zhang, Y. P. (2015). DomeTree: a canonical toolkit for mitochondrial DNA analyses in domesticated animals. *Molecular ecology resources*, 15(5), 1238-1242.
52. Pereira, F., Davis, S. J., Pereira, L., McEvoy, B., Bradley, D. G., & Amorim, A. (2006). Genetic signatures of a Mediterranean influence in Iberian Peninsula sheep husbandry. *Molecular Biology and Evolution*, 23(7), 1420-1426.
53. Pietro, P., Maria, F., GianFranco, G., & Giuseppe, E. (2003). The complete nucleotide sequence of goat (*Capra hircus*) mitochondrial genome: Goat mitochondrial genome. *DNA sequence*, 14(3), 199-203.
54. Prieur, V., Clarke, S. M., Brito, L. F., McEwan, J. C., Lee, M. A., Brauning, R., ... & Auvray, B. (2017). Estimation of linkage disequilibrium and effective population size in New Zealand sheep using three different methods to create genetic maps. *BMC genetics*, 18(1), 1-19.
55. Qiao, G., Zhang, H., Zhu, S., Yuan, C., Zhao, H., Han, M., ... & Yang, B. (2020). The complete mitochondrial genome sequence and phylogenetic analysis of Alpine Merino sheep (*Ovis aries*). *Mitochondrial DNA Part B*, 5(1), 990-991.
56. Rodríguez-Ramilo, S. T., Elsen, J. M., & Legarra, A. (2019). "Inbreeding and effective population size in French dairy sheep: Comparison between genomic and pedigree estimates." *Journal of Dairy Science*, 102(5), 4227-4237.
57. Ron, M., Genis, I., Ezra, E., Yoffe, O., Weller, J. I., & Shani, M. (1992). "Mitochondrial DNA polymorphism and determination of effects on economic traits in dairy cattle." *Animal Biotechnology*, 3, 201-219.
58. Ryder, M. L. (1984). "Sheep." In: Mason II, editor. *Evolution of domesticated animals*. London and New York: Longman Group Limited, p 63–84.

59. Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R., & Janke, A. (2002). "Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies." *Proceedings of the Royal Society B*, 269(1494), 893–904.
60. Sanna, D., Barbato, M., Hadjisterkotis, E., Cossu, P., Decandia, L., Trova, S., ... & Mereu, P. (2015). The first mitogenome of the Cyprus mouflon (*Ovis gmelini ophion*): new insights into the phylogeny of the genus *Ovis*. *PLoS one*, 10(12), e0144257.
61. Sardina, M. T., Ballester, M., Marmi, J., Finocchiaro, R., Van Kaam, J. B. C. H. M., Portolano, B., & Folch, J. M. (2006). Phylogenetic analysis of Sicilian goats reveals a new mtDNA lineage. *Animal Genetics*, 37(4), 376-378.
62. Schutz, M. M., Freeman, A. E., Lindberg, G. L., & Beitz, D. C. (1993). "Effects of maternal lineages grouped by mitochondrial genotypes on milk yield and composition." *Journal of Dairy Science*, 76, 621-629.
63. Shepherd, L. D., Whitehead, P., & Whitehead, A. (2019). "Genetic analysis identifies the missing parchment of New Zealand's founding document, the Treaty of Waitangi." *PLoS ONE*, 14(1), e0210528.
64. Smith, T. F., Waterman, M. S., & Burks, C. (2011). "The statistical distribution of nucleic acid similarities." *Nucleic Acids Research*, 39(2), 645-656.
65. Taanman, J.-W. (1999). "The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1410(2), 103.
66. Tapio, M., Marzanov, N., Ozerov, M., Činkulov, M., Gonzarenko, G., Kiselyova, T., ... & Kantanen, J. (2006). Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. *Molecular biology and evolution*, 23(9), 1776-1783.

67. Vigilant, L., Pennington, R., Harpending, H., Kocher, T. D., & Wilson, A. C. (1989). Mitochondrial DNA sequences in single hairs from a southern African population. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(23), 9350-9354.
68. Vilà, C., Leonard, J. A., Gotherstrom, A., Marklund, S., Sandberg, K., Lidén, K., ... & Ellegren, H. (2001). Widespread origins of domestic horse lineages. *Science*, 291(5503), 474-477.
69. Villalta, M., Fernandez-Silva, P., Beltran, B., Enguita, L., Lopez-Perez, M. J., & Montoya, I. (1992). "Molecular characterisation and cloning of sheep mitochondrial DNA." *Current Genetics*, 21, 235-240.
70. Whittaker, P. A., & Danks, S. M. (1978). "Mitochondria: structure, function, and assembly." Addison-Wesley Longman Ltd.
71. Wood, N. J., & Phua, S. H. (1996). "Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome." *Animal Genetics*, 27(1), 25-33.
72. Yang, C., Li, L., Zhong, T., Wang, L., & Zhang, H. (2017). Characterization of the complete mitochondrial genome sequence of Ujumuqin sheep (*Ovis aries*). *Mitochondrial DNA Part A*, 28(3), 315-316.
73. Zardoya, R. (2020). "Recent advances in understanding mitochondrial genome diversity." *F1000Res*, 9, F1000 Faculty Rev-270.
74. Zeder, Melinda A. (2006). "Central questions in the domestication of plants and animals." *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*, 15(3), 105-117.

9. Prilozi

Tablica P1. Popis analiziranih mitogenoma.

| N | Fasta ime | Vrsta | Pasmina | Zemlja | Lat | Lon | Prvi autor |
|----|------------------------|---------------------------|-------------|----------------|--------|--------|-------------------------|
| 1 | AY858379_B1_KP_36_1_0 | <i>Ovis aries</i> | / | South Korea | 36.6 | 128.08 | Ha, J.M. (2004) |
| 2 | CM028731_B1_Fra_Ra_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Rambouillet | France | 48.65 | 1.82 | Davenport, K.M. |
| 3 | EF490451_B1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Finn-Dorset | United Kingdom | 56.93 | -4.02 | Burgstaller, J.P.(2007) |
| 4 | EF490452_B1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Finn-Dorset | United Kingdom | 57.23 | -2.85 | Burgstaller, J.P.(2007) |
| 5 | EF490453_B1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Finn-Dorset | United Kingdom | 56.84 | -2.96 | Burgstaller, J.P.(2007) |
| 6 | EF490454_B1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Finn-Dorset | United Kingdom | 56.49 | -3.93 | Burgstaller, J.P.(2007) |
| 7 | EF490455_B1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Finn-Dorset | United Kingdom | 56.67 | -3.24 | Burgstaller, J.P.(2007) |
| 8 | EF490456_B1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Finn-Dorset | United Kingdom | 56.98 | -2.86 | Burgstaller, J.P.(2007) |
| 9 | HM236174_A1_Aus-Ta_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Merino | Australia | -41.83 | 146.18 | Meadows, J.R.(2011) |
| 10 | HM236175_A1_Aus_Ro_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Romney | Australia | -41.54 | 145.68 | Meadows, J.R.(2011) |
| 11 | HM236176_B1_Tur_Va_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Karakas | Turkey | 38.5 | 43.36 | Meadows, J.R.(2011) |
| 12 | HM236177_B1_Tur_Va_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Karakas | Turkey | 38.48 | 43.42 | Meadows, J.R.(2011) |
| 13 | HM236178_C_Tur_Va_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Karakas | Turkey | 38.53 | 43.38 | Meadows, J.R.(2011) |
| 14 | HM236179_C_Tur_Er_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Morkaraman | Turkey | 39.88 | 41.21 | Meadows, J.R.(2011) |
| 15 | HM236180_D_Tur_Er_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Morkaraman | Turkey | 39.89 | 41.31 | Meadows, J.R.(2011) |
| 16 | HM236181_D_Tur_Er_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Morkaraman | Turkey | 39.94 | 41.33 | Meadows, J.R.(2011) |
| 17 | KF938319_E_Isr_Ki_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Awassi | Israel | 32.57 | 35.39 | Meadows, J.R.(2011) |
| 18 | HM236183_E_Tur_Er_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tuj | Turkey | 39.95 | 41.15 | Meadows, J.R.(2011) |
| 19 | HM236184_B1_Ger_He_1_0 | <i>Ovis aries musimon</i> | Mouflon | Germany | 50.69 | 9.36 | Meadows, J.R.(2011) |
| 20 | HM236185_B1_Ger_He_1_0 | <i>Ovis aries musimon</i> | Mouflon | Germany | 50.76 | 8.51 | Meadows, J.R.(2011) |
| 21 | KF302440_A1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Comisana | Italy | 43.09 | 12.37 | Lancioni, H.(2013) |
| 22 | KF302441_A1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Comisana | Italy | 43.09 | 12.33 | Lancioni, H.(2013) |
| 23 | KF302442_A1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Comisana | Italy | 43.11 | 12.29 | Lancioni, H.(2013) |
| 24 | KF302443_A1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Comisana | Italy | 43.14 | 12.32 | Lancioni, H.(2013) |
| 25 | KF302444_A1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Comisana | Italy | 43.15 | 12.39 | Lancioni, H.(2013) |
| 26 | KF302445_A1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Comisana | Italy | 43.07 | 12.45 | Lancioni, H.(2013) |

| | | | | | | | |
|----|------------------------|-------------------------------|----------------------|--------|-------|--------|--------------------|
| 27 | KF302446_A1_Ita_L'1_0 | <i>Ovis aries</i> | Merinizzata Italiana | Italy | 42.41 | 13.67 | Lancioni, H.(2013) |
| 28 | KF302447_B2_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Lacaune | Italy | 43 | 12.17 | Lancioni, H.(2013) |
| 29 | KF302448_B1_Ita_Fo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Gentile di Puglia | Italy | 43 | 12.46 | Lancioni, H.(2013) |
| 30 | KF302449_B1_Ita_Ro_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sopravissana | Italy | 41.76 | 12.49 | Lancioni, H.(2013) |
| 31 | KF302450_B1_Ita_Ro_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Appenninica | Italy | 41.92 | 12.51 | Lancioni, H.(2013) |
| 32 | KF302451_B1_Ita_Gr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Appenninica | Italy | 42.77 | 11.1 | Lancioni, H.(2013) |
| 33 | KF302452_B1_Ita_Pi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Comisana | Italy | 43.4 | 10.66 | Lancioni, H.(2013) |
| 34 | KF302453_B1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Lacaune | Italy | 43.13 | 12.2 | Lancioni, H.(2013) |
| 35 | KF302454_B1_Ita_Ri_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sopravissana | Italy | 42.4 | 12.83 | Lancioni, H.(2013) |
| 36 | KF302455_B1_Ita_Ca_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Gentile di Puglia | Italy | 41.56 | 14.67 | Lancioni, H.(2013) |
| 37 | KF302456_B1_Ita_Ri_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sopravissana | Italy | 42.44 | 12.9 | Lancioni, H.(2013) |
| 38 | KF302457_B1_Ita_L'1_0 | <i>Ovis aries</i> | Gentile di Puglia | Italy | 42.01 | 13.57 | Lancioni, H.(2013) |
| 39 | KF302458_B1_Ita_Ro_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sopravissana | Italy | 41.99 | 12.33 | Lancioni, H.(2013) |
| 40 | KF302459_B1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Merinizzata Italiana | Italy | 42.45 | 14.14 | Lancioni, H.(2013) |
| 41 | KF302460_B1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Lacaune | Italy | 43.06 | 12.08 | Lancioni, H.(2013) |
| 42 | KF302461_B1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Comisana | Italy | 43.05 | 12.31 | Lancioni, H.(2013) |
| 43 | KF302462_B1_Ita_Pe_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Comisana | Italy | 43.01 | 12.33 | Lancioni, H.(2013) |
| 44 | KF312238_CE_Cyp_Cy_1_0 | <i>Ovis orientalis ophion</i> | / | Cyprus | 34.92 | 33.26 | Sanna, D.(2015) |
| 45 | KF938317_A1_Chi_So_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sunite | China | 43.82 | 113.65 | Lv, F.H.(2015) |
| 46 | KF938318_C_Chi_Mi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Minxian Black Fur | China | 34.42 | 104.03 | Lv, F.H.(2015) |
| 47 | KF938319_A1_Chi_Xi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ujimqin | China | 43.92 | 116.03 | Lv, F.H.(2015) |
| 48 | KF938320_C_Chi_Al_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Altay | China | 47.48 | 87.43 | Lv, F.H.(2015) |
| 49 | KF938321_A1_Chi_Ba_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Baerchuke | China | 39.75 | 78.55 | Lv, F.H.(2015) |
| 50 | KF938322_A_Chi_Lo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Hetian | China | 37 | 80.18 | Lv, F.H.(2015) |
| 51 | KF938323_A1_Chi_Yu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Lop | China | 41.25 | 86.25 | Lv, F.H.(2015) |
| 52 | KF938324_A1_Chi_Tu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Turfan Black | China | 42.73 | 88.65 | Lv, F.H.(2015) |
| 53 | KF938325_A1_Chi_Ha_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Qinhai Tibetan | China | 37.37 | 97.37 | Lv, F.H.(2015) |
| 54 | KF938326_A1_Chi_Qi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Qira Black | China | 36.98 | 80.8 | Lv, F.H.(2015) |
| 55 | KF938327_C_Chi_Hu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Hulun Buir | China | 49.08 | 119.77 | Lv, F.H.(2015) |
| 56 | KF938328_B1_Chi_Ji_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Jingzhong | China | 37.65 | 112.75 | Lv, F.H.(2015) |
| 57 | KF938329_B1_Chi_Ha_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Hanzhong | China | 33.07 | 107.02 | Lv, F.H.(2015) |

| | | | | | | | |
|----|------------------------|-------------------|----------------------|----------------|-------|--------|-------------------|
| 58 | KF938330_A1_Chi_Yu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Bashbay | China | 46.2 | 82.97 | Lv, F.H.(2015) |
| 59 | KF938331_A1_Chi_Ba_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Bayinbuluke | China | 41.75 | 86.13 | Lv, F.H.(2015) |
| 60 | KF938332_A1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Duolang | China | 38.37 | 77.23 | Lv, F.H.(2015) |
| 61 | KF938333_B1_Chi_Te_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kazakh | China | 43.18 | 81.83 | Lv, F.H.(2015) |
| 62 | KF938334_A1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kirghiz | China | 38.37 | 77.23 | Lv, F.H.(2015) |
| 63 | KF938335_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Lanzhou large-tailed | China | 36.1 | 103.72 | Lv, F.H.(2015) |
| 64 | KF938336_A1_Chi_Ya_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tan | China | 37.75 | 107.4 | Lv, F.H.(2015) |
| 65 | KF938337_A1_Chi-Ta_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tashkurgan | China | 37.77 | 75.22 | Lv, F.H.(2015) |
| 66 | KF938338_A1_Chi_Ye_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Yecheng | China | 37.8 | 77.4 | Lv, F.H.(2015) |
| 67 | KF938339_B1_Rus_Bu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Baidarak | Russia | 50.85 | 105.44 | Lv, F.H.(2015) |
| 68 | KF938340_B1_Rus_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Andi | Russia | 42.78 | 46.49 | Lv, F.H.(2015) |
| 69 | KF938341_B1_Rus_Ud_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Udmurtian local | Russia | 56.85 | 53.2 | Lv, F.H.(2015) |
| 70 | KF938342_A1_Fin_Ål_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Aland | Finland | 60.08 | 19.93 | Lv, F.H.(2015) |
| 71 | KF938343_B1_Rus_So_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tushin | Russia | 43.03 | 44.67 | Lv, F.H.(2015) |
| 72 | KF938344_B1_Aze_So_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Mazekh | Azerbaijan | 40.58 | 46.33 | Lv, F.H.(2015) |
| 73 | KF938345_A1_Aze_So_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Gala | Azerbaijan | 40.51 | 47.65 | Lv, F.H.(2015) |
| 74 | KF938346_B1_Rus_Vo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kuibuskov | Russia | 52.84 | 49.02 | Lv, F.H.(2015) |
| 75 | KF938347_B1_Ser_So_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Pramenka | Serbia | 44.74 | 20.44 | Lv, F.H.(2015) |
| 76 | KF938348_B1_Mal_So_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Karakul | Maldives | 46.93 | 28.75 | Lv, F.H.(2015) |
| 77 | KF938349_B1_Pol_Po_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Swiniarka | Poland | 50.06 | 19.95 | Lv, F.H.(2015) |
| 78 | KF938350_B1_Pol_Po_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Wrzosowka | Poland | 49.63 | 20.21 | Lv, F.H.(2015) |
| 79 | KF938351_B1_Rus_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Karachai | Russia | 43.04 | 44.21 | Lv, F.H.(2015) |
| 80 | KF938352_B1_Rus_Vo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Oparino | Russia | 59.85 | 48.28 | Lv, F.H.(2015) |
| 81 | KF938353_B1_Fin_Fi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kainuu grey | Finland | 66.91 | 26.15 | Lv, F.H.(2015) |
| 82 | KF938354_B1_Fin_Fi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Finnish Landrace | Finland | 62.31 | 27.17 | Lv, F.H.(2015) |
| 83 | KF938355_B1_Fin_Fi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Finnish Landrace | Finland | 62.31 | 27.17 | Lv, F.H.(2015) |
| 84 | KF938356_B1_Rus_Ka_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Viena | Russia | 61.77 | 34.33 | Lv, F.H.(2015) |
| 85 | KF938357_B1_Ukr_Uk_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Mountain carpathian | Ukraine | 48.55 | 23.01 | Lv, F.H.(2015) |
| 86 | KF938358_B1_Rus_Al_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kulunda | Russia | 51.97 | 82.99 | Lv, F.H.(2015) |
| 87 | KF938359_B1_Uni_Th_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Oxford down | United Kingdom | 51.02 | -0.03 | Lv, F.H.(2015) |
| 88 | KF977845_B1_Ben_Co_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Djallonke | Benin | 6.38 | 2.39 | Brahi, O.H.(2015) |

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|-------------------|----------------------------------|-------------|-------|--------|--------------------|
| 89 | KF977846_B1_Ben_Co_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sahelian | Benin | 6.37 | 2.34 | Brahi, O.H.(2015) |
| 90 | KF977847_A2_Chi_He_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Small tail Han Sheep | China | 38.82 | 115.8 | Brahi, O.H.(2015) |
| 91 | KJ954145_B1_Net_Te_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Texel | Netherlands | 53.07 | 4.79 | Hu, X.D.(2016) |
| 92 | KP702285_B1_Chi_Fu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Small-tail hulubuir; Altay sheep | China | 45.73 | 88.24 | Hongying, F.(2016) |
| 93 | KP981378_C_Chi_Fu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Altay | China | 47.19 | 87.39 | Hongying, F.(2016) |
| 94 | KP981379_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Gansu Tibetan | China | 40.04 | 96.64 | Hongying, F.(2016) |
| 95 | KP981380_C_Chi_In_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Shandong large-tailed | China | 42.28 | 112.54 | Hongying, F.(2016) |
| 96 | KP998470_A1_Chi_Qi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Awang | China | 33.22 | 97.02 | Liu, J.B.(2016) |
| 97 | KP998471_C_Chi_Qi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Huoba | China | 33.39 | 97.1 | Liu, J.B.(2016) |
| 98 | KP998472_A1_Chi_Qi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | / | China | 33.27 | 97.15 | Liu, J.B.(2016) |
| 99 | KP998473_A1_Chi_Qi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | / | China | 33.41 | 97.3 | Liu, J.B.(2016) |
| 100 | KR868678_B1_Chi_Xi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ujumuin sheep | China | 43.95 | 116.04 | Yang, C.(2017) |
| 101 | KT148968_C_Chi_Qi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Oula sheep | China | 33.16 | 97 | Guo, J.(2020) |
| 102 | KU575248_A1_Chi_Ti_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Oula Tibetan sheep | China | 30.02 | 91.07 | Guo, X.(2016) |
| 103 | KU681175_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 29.9 | 101.88 | Niu, L.(2017) |
| 104 | KU681176_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 29.86 | 102.01 | Niu, L.(2017) |
| 105 | KU681177_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 29.84 | 102.14 | Niu, L.(2017) |
| 106 | KU681178_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 29.94 | 102.17 | Niu, L.(2017) |
| 107 | KU681179_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 30.01 | 102.09 | Niu, L.(2017) |
| 108 | KU681180_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 30.01 | 102.03 | Niu, L.(2017) |
| 109 | KU681181_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 30.06 | 102.05 | Niu, L.(2017) |
| 110 | KU681182_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 29.96 | 101.94 | Niu, L.(2017) |
| 111 | KU681183_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 29.96 | 101.87 | Niu, L.(2017) |
| 112 | KU681184_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 30.08 | 101.89 | Niu, L.(2017) |
| 113 | KU681185_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 30.09 | 102.09 | Niu, L.(2017) |
| 114 | KU681186_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 30.16 | 101.93 | Niu, L.(2017) |
| 115 | KU681187_C_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 30.09 | 101.83 | Niu, L.(2017) |
| 116 | KU681188_C_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 29.98 | 101.75 | Niu, L.(2017) |
| 117 | KU681189_C_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 29.93 | 101.89 | Niu, L.(2017) |
| 118 | KU681190_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 29.96 | 102.17 | Niu, L.(2017) |
| 119 | KU681191_C_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 30.13 | 102.07 | Niu, L.(2017) |

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|-------------------|---------------|-------|-------|--------|---------------|
| 120 | KU681192_B1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garze Tibetan | China | 30.18 | 101.92 | Niu, L.(2017) |
| 121 | KU681193_A1_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 32.69 | 101.72 | Niu, L.(2017) |
| 122 | KU681194_A_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 32.8 | 101.44 | Niu, L.(2017) |
| 123 | KU681195_B1_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 32.73 | 101.89 | Niu, L.(2017) |
| 124 | KU681196_B1_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 32.94 | 102.02 | Niu, L.(2017) |
| 125 | KU681197_A1_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 32.99 | 101.89 | Niu, L.(2017) |
| 126 | KU681198_A1_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 33.09 | 101.77 | Niu, L.(2017) |
| 127 | KU681199_B1_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 33.05 | 101.48 | Niu, L.(2017) |
| 128 | KU681200_B1_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 32.93 | 101.34 | Niu, L.(2017) |
| 129 | KU681201_C_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 32.73 | 101.36 | Niu, L.(2017) |
| 130 | KU681202_B1_Chi_Ng_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ngawa Tibetan | China | 32.94 | 102.24 | Niu, L.(2017) |
| 131 | KU681203_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.4 | 116.61 | Niu, L.(2017) |
| 132 | KU681204_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.38 | 116.77 | Niu, L.(2017) |
| 133 | KU681205_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.43 | 116.42 | Niu, L.(2017) |
| 134 | KU681206_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.36 | 116.34 | Niu, L.(2017) |
| 135 | KU681207_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.24 | 116.37 | Niu, L.(2017) |
| 136 | KU681208_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.22 | 116.75 | Niu, L.(2017) |
| 137 | KU681209_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.07 | 116.65 | Niu, L.(2017) |
| 138 | KU681210_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.04 | 116.44 | Niu, L.(2017) |
| 139 | KU681211_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.19 | 116.51 | Niu, L.(2017) |
| 140 | KU681212_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.27 | 116.29 | Niu, L.(2017) |
| 141 | KU681213_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.46 | 116.23 | Niu, L.(2017) |
| 142 | KU681214_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.21 | 116.78 | Niu, L.(2017) |
| 143 | KU681215_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.14 | 116.71 | Niu, L.(2017) |
| 144 | KU681216_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.24 | 116.66 | Niu, L.(2017) |
| 145 | KU681217_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 39.04 | 116.63 | Niu, L.(2017) |
| 146 | KU681218_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 38.69 | 116.69 | Niu, L.(2017) |
| 147 | KU681219_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 38.62 | 116.55 | Niu, L.(2017) |
| 148 | KU681220_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 38.67 | 116.51 | Niu, L.(2017) |
| 149 | KU681221_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 38.71 | 116.57 | Niu, L.(2017) |
| 150 | KU681222_A1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 38.82 | 116.56 | Niu, L.(2017) |

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|---------------------------|----------------------|----------------|--------|--------|----------------------|
| 151 | KU681223_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 38.81 | 116.49 | Niu, L.(2017) |
| 152 | KU681224_B1_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Suffolk | China | 38.9 | 116.64 | Niu, L.(2017) |
| 153 | KY786037_B1_Mon_Mo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | / | Mongolia | 48.62 | 103.45 | Sinding, M. |
| 154 | LC649167_A1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Arabi | Iraq | 33.07 | 43.22 | Habib,H.N.(2016) |
| 155 | LC649168_A1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Arabi | Iraq | 33.09 | 42.85 | Habib,H.N.(2016) |
| 156 | LC649169_A1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Arabi | Iraq | 33.33 | 44.38 | Habib,H.N.(2016) |
| 157 | MF004242_A1_ira_Ku_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Hamdani | iraq | 36.41 | 44.38 | Mustafa, S.I. |
| 158 | MF004243_A1_ira_Ku_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Hamdani | iraq | 36.49 | 44.23 | Mustafa, S.I. |
| 159 | MF004244_A1_ira_Ku_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Hamdani | iraq | 36.44 | 44.55 | Mustafa, S.I.(.) |
| 160 | MF004245_B1_Ira_Ar_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Karadi | Iraq | 36.18 | 44.05 | Mustafa, S.I.(.) |
| 161 | MF004246_B1_Ira_Mo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Karadi | Iraq | 36.33 | 43.04 | Mustafa, S.I.(.) |
| 162 | MG489885_B1_Ita_Sa_1_0 | <i>Ovis aries musimon</i> | Sardinian mouflon | Italy | 40.21 | 9.01 | Mereu, P.(2019) |
| 163 | MG837553_B_Chi_So_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan sheep | China | 32.56 | 103.5 | Liu, R.(2018) |
| 164 | MG837554_B1_Chi_Ji_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Small tail Han Sheep | China | 35.42 | 116.59 | Liu, R.(2018) |
| 165 | MH841966_B1_New_Wa_1_0 | <i>Ovis aries</i> | / | New Zealand | -35.25 | 174.06 | Shepherd, L.D.(2019) |
| 166 | MH841967_B1_New_Wa_1_0 | <i>Ovis aries</i> | / | New Zealand | -35.24 | 174.07 | Shepherd, L.D.(2019) |
| 167 | MH841968_B1_New_Wa_1_0 | <i>Ovis aries</i> | / | New Zealand | -35.24 | 174.04 | Shepherd, L.D.(2019) |
| 168 | MN011573_A1_Ind_Bi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Birbhum | India | 23.82 | 87.57 | Pal, A.(2022) |
| 169 | MN025257_A_Ind_Jh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Chotanagpuri | India | 23.28 | 84.59 | Pal, A.(2022) |
| 170 | MN025259_A1_Ind_We_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Garole | India | 24.98 | 90.31 | Pal, A.(2022) |
| 171 | MN882069_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Alpine Merino Sheep | China | 37.09 | 103.15 | Qiao, G.(2020) |
| 172 | MT768063_B1_Egy_Eg_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Rahmani Sheep | Egypt | 31.1 | 30.63 | Deng, J.(2020) |
| 173 | MT768064_B1_Bur_Bu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sahelian Sheep | Burkina Faso | 11.46 | 0.47 | Deng, J.(2020) |
| 174 | MT768065_C_Afg_Af_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Waggir Sheep | Afghanistan | 33.74 | 64.92 | Deng, J.(2020) |
| 175 | MT768066_B1_Egy_Eg_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Barki Sheep | Egypt | 27.69 | 26.16 | Deng, J.(2020) |
| 176 | MT768067_B1_Egy_Eg_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ossimi Sheep | Egypt | 23.96 | 31.92 | Deng, J.(2020) |
| 177 | MT768068_B1_Egy_Eg_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ossimi Sheep | Egypt | 22.34 | 32.45 | Deng, J.(2020) |
| 178 | MT768069_A1_Afg_Af_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Waggir Sheep | Afghanistan | 33.74 | 64.92 | Deng, J.(2020) |
| 179 | MT768070_B1_Egy_Eg_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Rahmani Sheep | Egypt | 31.1 | 30.63 | Deng, J.(2020) |
| 180 | MT768071_B1_Bur_Bu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sahelian Sheep | Burkina Faso | 11.46 | 0.47 | Deng, J.(2020) |
| 181 | MT768072_B1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Shetland Sheep | United Kingdom | 56.9 | -3.94 | Deng, J.(2020) |

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|-------------------|--------------------------------|--------------|-------|--------|----------------|
| 182 | MT768075_A1_Afg_Af_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Waggir Sheep | Afghanistan | 33.74 | 64.92 | Deng, J.(2020) |
| 183 | MT768076_B1_Bur_Bu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Mossi Sheep | Burkina Faso | 14.01 | -0.86 | Deng, J.(2020) |
| 184 | MT768077_B1_Bur_Bu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Mossi Sheep | Burkina Faso | 14.26 | -0.74 | Deng, J.(2020) |
| 185 | MT768078_B1_Egy_Eg_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Barki Sheep | Egypt | 27.95 | 29.76 | Deng, J.(2020) |
| 186 | MT768079_A1_Egy_Eg_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Barki Sheep | Egypt | 27.69 | 26.16 | Deng, J.(2020) |
| 187 | MT768080_B1_Bur_Bu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Djallonke | Burkina Faso | 11.79 | -3.45 | Deng, J.(2020) |
| 188 | MT768081_B1_Ita_It_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Altamura Sheep | Italy | 40.82 | 16.55 | Deng, J.(2020) |
| 189 | MT768082_B1_Ita_It_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Altamura Sheep | Italy | 40.84 | 16.54 | Deng, J.(2020) |
| 190 | MT768091_C_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Awassi Sheep | Iraq | 33.19 | 43.72 | Deng, J.(2020) |
| 191 | MT768092_A1_Mon_Mo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Bayad Sheep | Mongolia | 49.7 | 92.9 | Deng, J.(2020) |
| 192 | MT768093_A_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Baidarak Sheep | Russia | 17.74 | 16.88 | Deng, J.(2020) |
| 193 | MT768094_A1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Baidarak Sheep | Russia | 50.86 | 105.56 | Deng, J.(2020) |
| 194 | MT768095_A1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Baidarak Sheep | Russia | 50.85 | 105.44 | Deng, J.(2020) |
| 195 | MT768096_B1_Ger_Ge_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Bentheimer Sheep | Germany | 52.3 | 7.16 | Deng, J.(2020) |
| 196 | MT768098_A1_Aze_Az_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Bozakh Sheep | Azerbaijan | 40.53 | 46.02 | Deng, J.(2020) |
| 197 | MT768099_A1_Aze_Az_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Bozakh Sheep | Azerbaijan | 41.53 | 45.02 | Deng, J.(2020) |
| 198 | MT768100_B1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Caucasian Sheep | Russia | 45.71 | 42.88 | Deng, J.(2020) |
| 199 | MT768101_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan Sheep | China | 33.04 | 102.23 | Deng, J.(2020) |
| 200 | MT768102_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan Sheep | China | 33.02 | 102.28 | Deng, J.(2020) |
| 201 | MT768103_C_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Dagestan Mountain Merino Sheep | Russia | 43.6 | 46.77 | Deng, J.(2020) |
| 202 | MT768104_A1_Kaz_Ka_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Degeres Mutton-Wool Sheep | Kazakhstan | 43.27 | 76.81 | Deng, J.(2020) |
| 203 | MT768105_A1_Kaz_Ka_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Degeres Mutton-Wool Sheep | Kazakhstan | 43.27 | 76.78 | Deng, J.(2020) |
| 204 | MT768106_B1_Kaz_Ka_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Degeres Mutton-Wool Sheep | Kazakhstan | 43.17 | 76.72 | Deng, J.(2020) |
| 205 | MT768107_C_Chi_Xi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Duolang Sheep | China | 40.93 | 80.58 | Deng, J.(2020) |
| 206 | MT768108_A1_Chi_Xi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Duolang Sheep | China | 40.89 | 80.51 | Deng, J.(2020) |
| 207 | MT768109_A1_Chi_Xi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Duolang Sheep | China | 41.18 | 80.58 | Deng, J.(2020) |
| 208 | MT768110_A1_Chi_Xi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Duolang Sheep | China | 41.02 | 80.35 | Deng, J.(2020) |
| 209 | MT768111_C_Chi_Xi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Duolang Sheep | China | 40.84 | 80.39 | Deng, J.(2020) |
| 210 | MT768112_B1_Net_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Drente Heathen sheep | Netherlands | 53 | 6.56 | Deng, J.(2020) |
| 211 | MT768113_B1_Net_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Drente Heathen sheep | Netherlands | 52.81 | 6.63 | Deng, J.(2020) |
| 212 | MT768114_B1_Net_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Drente Heathen sheep | Netherlands | 53.06 | 6.19 | Deng, J.(2020) |

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|-------------------|-----------------------|----------------|-------|--------|----------------|
| 213 | MT768115_B1_Net_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Drente Heathen sheep | Netherlands | 53.2 | 6.03 | Deng, J.(2020) |
| 214 | MT768116_B1_Net_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Drente Heathen sheep | Netherlands | 53.1 | 6.81 | Deng, J.(2020) |
| 215 | MT768117_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan Sheep | China | 33.99 | 102.07 | Deng, J.(2020) |
| 216 | MT768118_B1_Swe_Sw_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Gotland Sheep | Sweden | 57.5 | 18 | Deng, J.(2020) |
| 217 | MT768119_B1_Swe_Sw_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Gotland Sheep | Sweden | 57.37 | 18.46 | Deng, J.(2020) |
| 218 | MT768120_B1_Swe_Sw_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Gotland Sheep | Sweden | 57.59 | 18.64 | Deng, J.(2020) |
| 219 | MT768121_B1_Swe_Sw_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Gotland Sheep | Sweden | 57.6 | 18.39 | Deng, J.(2020) |
| 220 | MT768122_B1_Uni_En_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Hampshire Sheep | United Kingdom | 51.6 | -1.32 | Deng, J.(2020) |
| 221 | MT768123_B1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Hanzhong Sheep | China | 33.07 | 107.02 | Deng, J.(2020) |
| 222 | MT768124_C_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Grey-Shiraz Sheep | Iran | 29.62 | 52.53 | Deng, J.(2020) |
| 223 | MT768125_A1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Grey-Shiraz Sheep | Iran | 29.62 | 52.53 | Deng, J.(2020) |
| 224 | MT768126_C_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ghezel Sheep | Iran | 38.07 | 46.3 | Deng, J.(2020) |
| 225 | MT768127_B1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ghezel Sheep | Iran | 37.89 | 47.08 | Deng, J.(2020) |
| 226 | MT768128_C_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Afshari Sheep | Iran | 36.67 | 48.48 | Deng, J.(2020) |
| 227 | MT768129_A1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Afshari Sheep | Iran | 36.69 | 48.52 | Deng, J.(2020) |
| 228 | MT768130_B1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Afshari Sheep | Iran | 36.64 | 48.32 | Deng, J.(2020) |
| 229 | MT768131_A1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Shal Sheep | Iran | 36.74 | 48.73 | Deng, J.(2020) |
| 230 | MT768132_A1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Shal Sheep | Iran | 35.86 | 50.94 | Deng, J.(2020) |
| 231 | MT768133_A1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Shal Sheep | Iran | 35.88 | 51.39 | Deng, J.(2020) |
| 232 | MT768134_C_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Baluchi Sheep | Iran | 26.9 | 59.88 | Deng, J.(2020) |
| 233 | MT768135_A1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Baluchi Sheep | Iran | 27.58 | 58.94 | Deng, J.(2020) |
| 234 | MT768136_C_Pak_Pa_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kachi Sheep | Pakistan | 25.21 | 67.34 | Deng, J.(2020) |
| 235 | MT768137_B1_Pak_Pa_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Karkul Sheep | Pakistan | 35.71 | 71.7 | Deng, J.(2020) |
| 236 | MT768138_A1_Pak_Pa_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Karkul Sheep | Pakistan | 35.69 | 71.66 | Deng, J.(2020) |
| 237 | MT768139_A1_Pak_Pa_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Thalli Sheep | Pakistan | 30.42 | 71.85 | Deng, J.(2020) |
| 238 | MT768140_B1_Pak_Pa_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Thalli Sheep | Pakistan | 30.09 | 71.34 | Deng, J.(2020) |
| 239 | MT768141_A1_Sri_Sr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Jaffna Local Sheep | Sri Lanka | 9.66 | 80.03 | Deng, J.(2020) |
| 240 | MT768142_A1_Uni_En_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Romney Sheep | United Kingdom | 51.87 | 1.68 | Deng, J.(2020) |
| 241 | MT768143_B1_Kaz_Ka_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kazakh Finewool Sheep | Kazakhstan | 42.95 | 71.42 | Deng, J.(2020) |
| 242 | MT768144_A1_Kaz_Ka_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kazakh Finewool Sheep | Kazakhstan | 42.79 | 71.26 | Deng, J.(2020) |
| 243 | MT768145_A1_Mon_Mo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Khotont Sheep | Mongolia | 48.57 | 101 | Deng, J.(2020) |

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|-------------------|----------------------------|----------------|--------|--------|----------------|
| 244 | MT768148_A1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kuibyshev Sheep | Russia | 52.84 | 49.02 | Deng, J.(2020) |
| 245 | MT768149_A1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kuibyshev Sheep | Russia | 52.85 | 49.52 | Deng, J.(2020) |
| 246 | MT768150_A1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kuibyshev Sheep | Russia | 52.9 | 48.77 | Deng, J.(2020) |
| 247 | MT768151_A1_Chi_Xi_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Lop Sheep | China | 41.25 | 86.25 | Deng, J.(2020) |
| 248 | MT768152_B1_Lib_Li_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Libyan Barbary Sheep | Libyan | 32.32 | 15.1 | Deng, J.(2020) |
| 249 | MT768153_B1_Ita_It_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Leccese Sheep | Italy | 40.36 | 17.68 | Deng, J.(2020) |
| 250 | MT768154_B1_Ita_It_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Leccese Sheep | Italy | 40.19 | 18.38 | Deng, J.(2020) |
| 251 | MT768155_B1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | North Ronaldsay Sheep | United Kingdom | 59.37 | -2.42 | Deng, J.(2020) |
| 252 | MT768156_B1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Makui Sheep | Iran | 39.05 | 44.93 | Deng, J.(2020) |
| 253 | MT768157_C_Mon_Mo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Barga Sheep | Mongolia | 47.87 | 115.23 | Deng, J.(2020) |
| 254 | MT768158_A1_Mon_Mo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Barga Sheep | Mongolia | 48.15 | 114.58 | Deng, J.(2020) |
| 255 | MT768159_B1_Ukr_Uk_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Carpathian Mountain Sheep | Ukraine | 48.55 | 23.01 | Deng, J.(2020) |
| 256 | MT768160_B1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Moghani Sheep | Iran | 39.08 | 47.41 | Deng, J.(2020) |
| 257 | MT768161_B1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Moghani Sheep | Iran | 39.09 | 47.45 | Deng, J.(2020) |
| 258 | MT768162_A1_Nep_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kage Sheep | Nepal | 27.29 | 86.76 | Deng, J.(2020) |
| 259 | MT768163_A1_Nep_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Kage Sheep | Nepal | 27.27 | 86.71 | Deng, J.(2020) |
| 260 | MT768164_A1_Ind_In_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Nellore Sheep | India | 14.39 | 79.94 | Deng, J.(2020) |
| 261 | MT768165_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Feral Sheep | Norway | 62.09 | 5.79 | Deng, J.(2020) |
| 262 | MT768166_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Old Spael Sheep | Norway | 60.38 | 6.75 | Deng, J.(2020) |
| 263 | MT768167_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Old Spael Sheep | Norway | 60.34 | 6.66 | Deng, J.(2020) |
| 264 | MT768168_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Old Spael Sheep | Norway | 60.27 | 6.76 | Deng, J.(2020) |
| 265 | MT768169_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Feral Sheep | Norway | 62.09 | 5.79 | Deng, J.(2020) |
| 266 | MT768170_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Feral Sheep | Norway | 62.09 | 5.74 | Deng, J.(2020) |
| 267 | MT768171_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Grey Tronder Sheep | Norway | 63.61 | 11.06 | Deng, J.(2020) |
| 268 | MT768172_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Norwegian White Sheep | Norway | 66.84 | 16.52 | Deng, J.(2020) |
| 269 | MT768173_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Norwegian White Sheep | Norway | 66.68 | 16.16 | Deng, J.(2020) |
| 270 | MT768174_B1_Nor_No_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Norwegian White Sheep | Norway | 66.72 | 17.39 | Deng, J.(2020) |
| 271 | MT768175_B1_Swe_Sw_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Helsinge Sheep | Sweden | 63.54 | 18.28 | Deng, J.(2020) |
| 272 | MT768176_B1_Bra_Br_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Brazilian Bergamasca Sheep | Brazil | -16.33 | -48.96 | Deng, J.(2020) |
| 273 | MT768177_B1_Bra_Br_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Brazilian Bergamasca Sheep | Brazil | -16.4 | -49.26 | Deng, J.(2020) |
| 274 | MT768178_B1_Pol_Po_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Olkuska Sheep | Poland | 49.78 | 21.34 | Deng, J.(2020) |

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|-------------------|------------------|----------------|-------|--------|----------------|
| 275 | MT768179_B1_Bra_Br_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Santa Inês Sheep | Brazil | -3.68 | -40.39 | Deng, J.(2020) |
| 276 | MT768180_B1_Fra_Fr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ouessant Sheep | France | 48.46 | -5.1 | Deng, J.(2020) |
| 277 | MT768181_B1_Cro_Cr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Pag Island Sheep | Croatia | 44.47 | 14.99 | Deng, J.(2020) |
| 278 | MT768182_B1_Cro_Cr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Pag Island Sheep | Croatia | 44.48 | 14.92 | Deng, J.(2020) |
| 279 | MT768183_B1_Cro_Cr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Pag Island Sheep | Croatia | 44.4 | 15.08 | Deng, J.(2020) |
| 280 | MT768184_A1_Ser_Se_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Pramenka Sheep | Serbia | 44.74 | 20.44 | Deng, J.(2020) |
| 281 | MT768185_A1_Ser_Se_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Pramenka Sheep | Serbia | 44.73 | 20.37 | Deng, J.(2020) |
| 282 | MT768186_A1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Romanov Sheep | Russia | 41.39 | 51.95 | Deng, J.(2020) |
| 283 | MT768187_A1_Ger_Ge_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Rhoen Sheep | Germany | 50.47 | 10.07 | Deng, J.(2020) |
| 284 | MT768188_B1_Ger_Ge_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Rhoen Sheep | Germany | 50.44 | 10.06 | Deng, J.(2020) |
| 285 | MT768189_B1_Ger_Ge_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Rhoen Sheep | Germany | 50.47 | 10.16 | Deng, J.(2020) |
| 286 | MT768190_B1_Spa_Sp_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ripollesa Sheep | Spain | 41.98 | 2.82 | Deng, J.(2020) |
| 287 | MT768191_B1_Cze_Cz_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sumavska Sheep | Czech Republic | 49 | 13.49 | Deng, J.(2020) |
| 288 | MT768192_A1_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan Sheep | China | 32.64 | 102.3 | Deng, J.(2020) |
| 289 | MT768193_C_Chi_Ga_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan Sheep | China | 32.65 | 102.33 | Deng, J.(2020) |
| 290 | MT768194_B1_Nig_Ni_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Mbororo Sheep | Niger | 13.92 | 9.46 | Deng, J.(2020) |
| 291 | MT768195_B1_Nig_Ni_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Mbororo Sheep | Niger | 13.73 | 10.33 | Deng, J.(2020) |
| 292 | MT768197_B1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Shetland Sheep | United Kingdom | 56.85 | -3.74 | Deng, J.(2020) |
| 293 | MT768198_A1_Uni_Sc_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Shetland Sheep | United Kingdom | 56.9 | -3.94 | Deng, J.(2020) |
| 294 | MT768199_B1_Cro_Cr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Dalmatian Sheep | Croatia | 43.86 | 16.16 | Deng, J.(2020) |
| 295 | MT768200_B1_Cro_Cr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Dalmatian Sheep | Croatia | 43.86 | 16.16 | Deng, J.(2020) |
| 296 | MT768201_B1_Fra_Fr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Solognote Sheep | France | 45.46 | 2.25 | Deng, J.(2020) |
| 297 | MT768202_B1_Fra_Fr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Solognote Sheep | France | 45.45 | 2.31 | Deng, J.(2020) |
| 298 | MT768203_B1_Fra_Fr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Solognote Sheep | France | 45.42 | 2.2 | Deng, J.(2020) |
| 299 | MT768204_A1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.73 | 117.38 | Deng, J.(2020) |
| 300 | MT768205_B1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.7 | 117.4 | Deng, J.(2020) |
| 301 | MT768206_A1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.79 | 117.4 | Deng, J.(2020) |
| 302 | MT768207_B1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.68 | 117.29 | Deng, J.(2020) |
| 303 | MT768208_A1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.76 | 117.27 | Deng, J.(2020) |
| 304 | MT768209_B1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.82 | 117.34 | Deng, J.(2020) |
| 305 | MT768210_B1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.58 | 117.22 | Deng, J.(2020) |

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|-------------------|----------------------------|----------------|-------|--------|------------------|
| 306 | MT768211_A1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.71 | 117.28 | Deng, J.(2020) |
| 307 | MT768212_B1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.46 | 117.11 | Deng, J.(2020) |
| 308 | MT768213_A1_Chi_Sh_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur Sheep | China | 35.31 | 117.79 | Deng, J.(2020) |
| 309 | MT768214_B1_Net_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Texel Sheep | Netherlands | 53.12 | 4.87 | Deng, J.(2020) |
| 310 | MT768215_B1_Net_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Texel Sheep | Netherlands | 53.06 | 4.75 | Deng, J.(2020) |
| 311 | MT768216_B1_Net_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Texel Sheep | Netherlands | 53.02 | 4.76 | Deng, J.(2020) |
| 312 | MT768217_B1_Mon_Mo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tamir Sheep | Mongolia | 47.85 | 101.14 | Deng, J.(2020) |
| 313 | MT768218_A1_Chi_Yu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tengchong Sheep | China | 25.04 | 98.53 | Deng, J.(2020) |
| 314 | MT768219_B1_Chi_Yu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tengchong Sheep | China | 25.02 | 98.49 | Deng, J.(2020) |
| 315 | MT768220_A1_Chi_Yu_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tengchong Sheep | China | 25.01 | 98.47 | Deng, J.(2020) |
| 316 | MT768223_A1_Chi_He_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Taihang Fur Sheep | China | 36.09 | 114.39 | Deng, J.(2020) |
| 317 | MT768224_B1_Cze_Cz_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Valachian Sheep | Czech Republic | 49.83 | 15.44 | Deng, J.(2020) |
| 318 | MT768225_B1_Cze_Cz_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Valachian Sheep | Czech Republic | 49.82 | 15.47 | Deng, J.(2020) |
| 319 | MT768226_B1_Cha_Ch_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Djallonke | Chad | 17.74 | 16.88 | Deng, J.(2020) |
| 320 | MT768227_B1_Cha_Ch_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Djallonke | Chad | 16.61 | 19.94 | Deng, J.(2020) |
| 321 | MT768228_B1_Ger_Ge_1_0 | <i>Ovis aries</i> | White Mountain Sheep | Germany | 47.95 | 8.36 | Deng, J.(2020) |
| 322 | MT768229_B1_Mon_In_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ujimqin Sheep | Mongolia | 43.92 | 116.03 | Deng, J.(2020) |
| 323 | MT768230_A1_Mon_In_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Ujimqin Sheep | Mongolia | 43.89 | 115.92 | Deng, J.(2020) |
| 324 | MT768233_A1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Transbaikal Finewool Sheep | Russia | 50.98 | 105.8 | Deng, J.(2020) |
| 325 | MT768234_B1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Transbaikal Finewool Sheep | Russia | 51.05 | 105.98 | Deng, J.(2020) |
| 326 | MT768235_A1_Rus_Ru_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Transbaikal Finewool Sheep | Russia | 50.84 | 105.75 | Deng, J.(2020) |
| 327 | MT768236_B1_Chi_Ti_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan Sheep | China | 28.91 | 89.61 | Deng, J.(2020) |
| 328 | MT768237_A1_Chi_Ti_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan Sheep | China | 29.22 | 94.22 | Deng, J.(2020) |
| 329 | MT768238_A1_Chi_Ti_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan Sheep | China | 29.19 | 94.2 | Deng, J.(2020) |
| 330 | MT768239_A1_Chi_Ti_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Tibetan Sheep | China | 29.23 | 94.07 | Deng, J.(2020) |
| 331 | MT768240_B1_Cro_Cr_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Dalmatian Sheep | Croatia | 43.86 | 16.16 | Deng, J.(2020) |
| 332 | MT768241_A1_Net_Ne_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Zwartbles Sheep | Netherlands | 52.8 | 5.1 | Deng, J.(2020) |
| 333 | MW200986_C_Chi_La_1_0 | <i>Ovis aries</i> | / | China | 36.08 | 103.77 | Tan, Y. Z. |
| 334 | MW260509_B1_Jor_Jo_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Awassi-Baladi | Jordan | 31.38 | 36.41 | Haddad, N.(2021) |
| 335 | MW364895_A1_Chi_Si_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sishui Fur | China | 35.67 | 117.25 | Han, C. |
| 336 | MW427606_A1_Chi_Ti_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Duoma | China | 31.28 | 88.81 | Gan, S. |

| | | | | | | | |
|-----|----------------------------|-------------------|----------------------|-----------|--------|--------|----------------------|
| 337 | MW427607_A1_Chi_Du_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Sewa | China | 31.15 | 90.92 | Gan, S. |
| 338 | MZ664406_B1_Ira_Ir_1_0 | <i>Ovis aries</i> | Awassi | Iraq | 32.53 | 42.21 | Mustafa, S.I.(2021) |
| 339 | NC_001941_B1_/_/1_0 | <i>Ovis aries</i> | Merinolandschaf | / | | | Hiendleder, S.(1998) |
| 340 | MR1_B1_Cro_Mu_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Muflon | Croatia | 44.83 | 14.73 | / |
| 341 | MR2_B1_Cro_Mu_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Muflon | Croatia | 44.77 | 14.71 | / |
| 342 | DR1_B1_Cro_Du_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Dubrovačka ruda | Croatia | 42.67 | 18.1 | / |
| 343 | DR2_A1_Cro_Du_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Dubrovačka ruda | Croatia | 42.63 | 18.2 | / |
| 344 | POG1_B1_Cro_PI_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Paška ovca | Croatia | 44.47 | 14.96 | / |
| 345 | POG2_B1_Cro_PI_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Paška ovca | Croatia | 44.48 | 14.92 | / |
| 346 | POG3_B1_Cro_PI_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Paška ovca | Croatia | 44.4 | 15.09 | / |
| 347 | PO1_B1_Cro_PI_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Paška ovca | Croatia | 44.39 | 15.15 | / |
| 348 | ZO1_B1_Cro_Da_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Dalmatinska pramenka | Croatia | 43.97 | 15.6 | / |
| 349 | D1_B1_Cro_Da_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Dalmatinska pramenka | Croatia | 43.75 | 16.09 | / |
| 350 | IO1_B1_Cro_Is_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Istarska ovca | Croatia | 45.31 | 14.21 | / |
| 351 | IO2_B1_Cro_Is_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Istarska ovca | Croatia | 45.04 | 13.96 | / |
| 352 | IO3_B1_Cro_Is_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Istarska ovca | Croatia | 45.33 | 14.15 | / |
| 353 | C1_B1_Cro_Cr_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Creska ovca | Croatia | 44.94 | 14.41 | / |
| 354 | C2_B1_Cro_Cr_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Creska ovca | Croatia | 44.54 | 14.48 | / |
| 355 | C3_B1_Cro_Cr_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Creska ovca | Croatia | 44.88 | 14.43 | / |
| 356 | K1_B1_Cro_Kr_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Krčka ovca | Croatia | 45.06 | 14.66 | / |
| 357 | K2_B1_Cro_Kr_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Krčka ovca | Croatia | 45.05 | 14.62 | / |
| 358 | K3_C_Cro_Kr_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Krčka ovca | Croatia | 45.04 | 14.6 | / |
| 359 | LP1_B1_Cro_Li_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Lička pramenka | Croatia | 44.68 | 15.6 | / |
| 360 | LP2_B1_Cro_Li_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Lička pramenka | Croatia | 44.29 | 15.84 | / |
| 361 | LP3_B1_Cro_Li_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Lička pramenka | Croatia | 44.61 | 15.38 | / |
| 362 | R1_B1_Cro_Ra_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Rabska ovca | Croatia | 44.74 | 14.81 | / |
| 363 | R2_B1_Cro_Ra_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Rabska ovca | Croatia | 44.72 | 14.83 | / |
| 364 | R3_B1_Cro_Ra_2_0 | <i>Ovis aries</i> | Rabska ovca | Croatia | 44.8 | 14.72 | / |
| 365 | SAMN07344347_B1_Aus_Au_3_0 | <i>Ovis aries</i> | SUFFOLK WHITE | Australia | -35.29 | 149.16 | / |
| 366 | SAMN07344345_B1_Aus_Au_3_0 | <i>Ovis aries</i> | SUFFOLK BLACKFACE | Australia | -37.7 | 145.62 | / |
| 367 | SAMN07344344_AB_Aus_Au_3_0 | <i>Ovis aries</i> | MERINO POLLED | Australia | -36.73 | 142.34 | / |

| | | | | | | | |
|-----|----------------------------|-------------------|------------------|-----------|--------|--------|---|
| 368 | SAMN07344331_CD_Aus_Au_3_0 | <i>Ovis aries</i> | MERINO HORNED | Australia | -36.52 | 147.51 | / |
| 369 | SAMN07344324_B1_Aus_Au_3_0 | <i>Ovis aries</i> | DORSET POLLED | Australia | -36.19 | 146.03 | / |
| 370 | SAMN07344318_A1_Aus_Au_3_0 | <i>Ovis aries</i> | COMPOSITE | Australia | -29.45 | 150.99 | / |
| 371 | SAMN07344269_B1_Aus_Au_3_0 | <i>Ovis aries</i> | BORDER LEICESTER | Australia | -32.22 | 116.41 | / |
| 372 | SAMN07344206_A1_Aus_Au_3_0 | <i>Ovis aries</i> | COOPWORTH | Australia | -34.02 | 116.98 | / |
| 373 | SAMN07343988_B1_Aus_Au_3_0 | <i>Ovis aries</i> | DORSET HORNED | Australia | -13.43 | 133.19 | / |

- Fasta ime
 - Genbank accession broj
 - Haplogrupa određena sa programom mitotoolpy
 - Iso 3 code države
 - Kratice za pasmine
 - 1 - genbank broj
 - 2 - sirove sekvence pružene sa strane fakulteta
 - 3 - arheo sekvence
 - 0 označava starost sekvenci/jedinke

Popis tablica

| | |
|--|----|
| Tablica 1. Popis različitih pasmina ovaca u Hrvatskoj (https://bag.mps.hr). | 5 |
| Tablica 2. Učestalost A i B tipova sekvenci u različitim pasminama ovaca (Wood i Phua, 1996.). | 12 |
| Tablica 3. Baza na svakom varijabilnom mjestu (Wood i Phua, 1996). | 12 |
| Tablica 4. Analiza varijacije sekvence u D-loop regiji (Wood i Phua, 1996). | 13 |
| Tablica 5. Frekvencije mitohondrijskih haplotipova1 u osam pasmina ovaca (Guo i sur., 2005). | 15 |
| Tablica 6. Izvori i pripadnost haplogrupi potpunih mitohondrijskih sekvenci ovaca (Lancioni i sur., 2013). | 26 |
| Tablica 7. Dubina i duljina pokrivenosti konsenzus sekvenci mitogenoma | 44 |
| Tablica 8. Analiza baznih parova sekvence NC_001941 | 46 |
| Tablica 9. Varijabilnost mitogenoma po segmentima. | 49 |
| Tablica 10. Broj haplogrupa prema kontinentima. | 55 |
| Tablica 11. Broja haplogrupa prema državama. | 58 |

Popis slika

| | |
|--|----|
| Slika 1. Broj ovaca po četvornom kilometru u 2015. godini (https://www.fao.org)..... | 6 |
| Slika 2. Građa mitohondrija (https://e-skola.bio.hr)..... | 8 |
| Slika 3. Stablo susjednih veza (Guo i sur., 2005). | 14 |
| Slika 4. Mreža od tri linije u <i>Ovis aries</i> (Guo i sur., 2005)..... | 15 |
| Slika 5. Geografska distribucija pasmina ovaca uključenih u istraživanje (Guo i sur., 2005).16 | |
| Slika 6. Distribucija 4 različite haplotipske grupe u područjima istraživanja (Tapio i sur., 2006). | 17 |
| Slika 7. Medija joining mreža (Tapio i sur., 2006)..... | 18 |
| Slika 8. Bootstrap vrijednosti prikazane su na čvorovima grozdova (Meadows i sur., 2007).19 | |
| Slika 9. Mreža ponderiranog medijalnog spajanja (Meadows i sur., 2007). | 20 |
| Slika 10. Filogenetski odnos između šest divljih i deset domaćih ovaca (Meadows i sur., 2011). | 24 |
| Slika 11. Pairwise stablo potpunih mtDNA sekvenci iz ovaca. (Lancioni i sur., 2013)..... | 25 |
| Slika 12. Analiza haplogrupa i distribucija korištenih mitogenome iz GenBank (Lv i sur., 2015) | 28 |
| Slika 13. Galaxy automatizirani protokol (https://usegalaxy.eu)..... | 32 |
| Slika 14. Prikaz dobivenog mitogenoma kroz IGV. | 35 |
| Slika 15. Beast filogenetsko stablo. | 51 |
| Slika 16. Media joining mreža. Brojke na crtama između haplotipova predstavljaju broj polimorfni mjesta. | 54 |
| Slika 17. Distribucija haplogrupa na kontinentima..... | 55 |
| Slika 18. Distribucija haplogrupa prema državama. | 56 |