



ZAŠTITA AGROBIODIVERZITETA I OČUVANJE AUTOHTONIH RASA DOMAĆIH ŽIVOTINJA

– ZBORNIK RADOVA –

Dimitrovgrad, 28–30. jun, 2019.

Drugi simpozijum: “ZAŠTITA AGROBIODIVERZITETA I OČUVANJE
AUTOHTONIH RASA DOMAĆIH ŽIVOTINJA”

PROGRAMSKI ODBOR:

Vladan Đermanović, Svetlana Grdović, Aleksandar Igov, Vojislav Ilić, Sergej Ivanov,
Vladimir Magaš, Milan Maletić, Darko Marinković, Ivan Pavlović, Mila Savić, Dragiša
Trailović, Ružica Trailović, Milivoje Urošević, Miloš Vučićević

PRESEDNIK PROGRAMSKOG ODBORA:

Prof. dr Dragiša Trailović

UREDNIK:

Prof. dr Dragiša Trailović

IZDAJE I ŠTAMPA:

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu,
Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd

Za izdavača:

Prof. dr Vlado Teodorović

Tiraž: CD izdanje 100 kom.

SADRŽAJ

PLENARNA PREDAVANJA	1
Srdan Stojanović: <i>Stanje životinjskih genetičkih resursa u Republici Srbiji</i>	2
Jevrosima Stevanović, Ljubodrag Stanišić, Milan Rajković, Marko Ristanić, Vladimir Dimitrijević, Srdan Stojanović, Zoran Stanimirović: <i>Molekularno-genetička karakterizacija nekih autohtonih rasa životinja u Srbiji</i>	10
Slobodanka Vakanjac, Miloje Đurić: <i>Značaj savremenih biotehnoških postupaka u iskorišćavanju i biokonzervaciji genetičkih resursa u stočarstvu</i>	19
Ružica Trailović, Mila Savić: <i>Perspektiva održivog uzgoja autohtonih rasa domaćih životinja u Srbiji</i>	24
Igor Rabat, Vladan Đermanović: <i>Stanje animalnih genetičkih resursa u zapadnoj Srbiji</i>	35
Ljiljana Uzelac, Marko Tikvicki, Grgo Tikvicki: <i>Stanje animalnih genetičkih resursa u Severnoj Bačkoj sa posebnim osvrtom na uzgoj podolskog govečeta</i>	40
Stefan Stepić, Predrag Perišić, Dragan Stanojević, Srdan Stojanović: <i>Stanje populacije i parametri kvaliteta mleka domaćeg bivola u Srbiji</i>	45
Miloš Vučićević, Radmila Resanović: <i>Autohtone rase živine u Srbiji: stanje i mogućnost održivog uzgoja i proizvodnje</i>	55
Milivoje Urošević, Darko Drobňjak: <i>Autohtone rase pasa u Srbiji i regionu</i>	64
Milivoje Urošević, Sergej Ivanov, Darko Drobňjak, Ružica Trailović, Goran Stanišić: <i>Autohtone rase magaraca u Srbiji i regionu</i>	91
Miroslav Valčić, Sonja Radojičić: <i>Epizootiologija važnijih zaraznih bolesti životinja u Srbiji i susednim zemljama i procena rizika od pojave novih bolesti koje mogu da ugroze zdravlje životinja na slobodnim pašnjacima</i>	108
Darko Marinković: <i>Značaj monitoringa zdravstvenog stanja domaćih i divljih životinja na širem području Stare planine u zaštiti zdravlja životinja na pašnjacima</i>	130
Marko Stojiljković, Marija Manić, Nemanja Šubarević, Ilija Jovanović, Miloš Petrović: <i>Vektori zaraznih i parazitskih bolesti životinja na planinskim pašnjacima: rizik po zdravlje životinja i ljudi</i>	137
Dragan Bacić, Sonja Obrenović, Miloš Petrović, Marija Manić, Marko Stojiljković: <i>Boginje ovaca i koza: realna pretnja u regionu</i>	147

Sonja Obrenović, Dragan Bacić, Miloš Petrović, Marija Manić, Marko Stojiljković: <i>Artritis-encefalitis koza</i>	152
Jovan Bojkovski, Mila Savić: <i>Uzgoj i patologija autohtonih rasa svinja</i>	159
Dragiša Trailović, Stefan Đoković, Lazar Marković, Sergej Ivanov: <i>Aktuelna patologija autohtonih rasa konja i magaraca na staroj planini</i>	165
Milan Maletić, Vladimir Magaš, Miloje Đurić: <i>Najčešći poremećaji reprodukcije kod autohtonih rasa goveda, ovaca i koza</i>	174
Nemanja Šubarević, Slavča Hristov, Sergej Ivanov: <i>Tradicionalne metode zaštite zdravlja i lečenja životinja na području Stare planine</i> ..	181
RADIONICE: UVODNA PREDAVANJA	192
Vladimir Magaš, Miloje Đurić, Milan Maletić: <i>Ultrazvučna dijagnostika graviditeta i poremećaja reprodukcije kod krava, ovaca i koza u poluslobodnom sistemu držanja na planinskim pašnjacima</i>	193
Bojana Mijatović, Ivan Pavlović, Dragiša Trailović, Slavica Živković: <i>Pour-on primena antihelminatika u kontroli parazita kod životinja na pašnjacima</i>	201
Stefan Đoković, Ljubodrag Stanišić: <i>Termografija u dijagnostici oboljenja akropodijuma i vimena kod životinja u poluslobodnom sistemu držanja na planinskim pašnjacima</i>	208
POSTER SEKCIJA – KRATKA SAOPŠTENJA	213
Jelena Nikitović, Bogoljub Novaković, Gordana Đurić: <i>Pregled populacije psa tornjaka na području Bosne i Hercegovine</i>	214
Aleksandar Milovanović, Tomislav Barna, Jelena Apić, Miodrag Lazarević, Nevena Maksimović: <i>Oplodna sposobnost ovnova i vansezonska nehormonska indukcija ciklusa kod sjeničke ovce</i>	223
Marko R. Cincović, Ognjen Stevančević, Nenad Stojanac, Ivana Lakić, Branislava Belić, Radoslav Šević: <i>Biohemijski profil krvi mangulice u Vojvodini (Srbija)</i>	234
Branislava Belić, Marko R. Cincović, Ivana Lakić, Ognjen Stevančević, Nenad Stojanac, Radoslav Šević: <i>Hematološki parametri mangulice u Vojvodini (Srbija)</i>	237
Ivana Lakić, Marko R. Cincović, Branislava Belić, Nikolina Novakov: <i>Kako smanjiti preanalitičku grešku kod određivanja metaboličkog profila krava sa pašnjaka?</i>	239
Stefan Đoković, Lazar Marković, Ljiljana Sabljčić, Ljubomir Jovanović, Ružica Trailović: <i>Elektrokardiografske karakteristike balkanskih magaraca</i>	242

Milan Bogdanović, Lazar Marković, Ljiljana Sabljic, Stefan Đoković, Milica Kovačević Filipović, Dragiša Trailović: <i>Uticaj fizičkog opterećenja na hematološke parametre domaćih brdskih konja samaraša</i>	246
Lazar Marković, Stefan Đoković, Ljiljana Sabljic, Dragiša Trailović, Milica Kovačević Filipović: <i>Metabolički sindrom kod balkanskih magaraca na Staroj planini</i>	251
Ljiljana Sabljic, Zorana Rosić, Lazar Marković, Milan Bogdanović, Stefan Đoković, Dragiša Trailović: <i>Trovanje konja pirolizidinskim alkaloidima: mogući uzrok hroničnih hepatopatija i slabe telesne kondicije domaćih brdskih konja na pašnjacima Stare planine</i>	258
Milan Bogdanović, Lazar Marković, Ljiljana Sabljic, Stefan Đoković, Dragiša Trailović: <i>Stringhalt – idiopatska hiperfleksija skočnog zgloba kod balkanskih magaraca na Staroj planini</i>	263
Strahinja Ćibić, Milan Rađenović, Bojan Gajić: <i>Uporedni prikaz biodiverziteta endoparazita kod autohtonih konja i magaraca</i>	268
Zorana Rosić: <i>Funkcionalno stanje jetre i lipidni status kod domaćeg brdskog konja</i>	275

**MOLEKULARNO-GENETIČKA KARAKTERIZACIJA NEKIH
AUTOHTONIH RASA ŽIVOTINJA U SRBIJI**
*MOLECULAR GENETIC CHARACTERIZATION OF SOME
INDIGENOUS ANIMAL BREEDS IN SERBIA*

Jevrosima Stevanović¹, Ljubodrag Stanišić¹, Milan Rajković¹, Marko Ristić¹,
Vladimir Dimitrijević¹, Srđan Stojanović², Zoran Stanimirović¹

¹Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu,
Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd

⁴Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije,
Nemanjina 22–26, 11000 Beograd

Kratak sadržaj

Molekularno-genetička karakterizacija autohtonih rasa životinja je značajna jer doprinosi razvoju efektivnih planova za održivo korišćenje i konzervaciju animalnih genetskih resursa (AnGR). U ovom radu prikazani su najvažniji rezultati molekularno-genetičkih istraživanja koje su autori ostvarili u okviru projekata III46002¹ i D31028¹ analizom autohtonih rasa magaraca, goveda, pasa, pčela i njihovih parazita sa teritorije Srbije, Revijalno su predstavljani i najznačajniji rezultati drugih istraživanja, ali samo kada je reč o ovcama.

Ključne reči: *analize jedarne DNK, analize mitohondrijske DNK, autohtone rase životinja, Srbija.*

Summary

Molecular genetic characterization of indigenous animal breeds is important as it contributes to the development of effective plans for sustainable use and conservation of AnGR. This paper presents the most important results of molecular genetic investigation the authors performed within the projects III46002 and i D31028 by the analysis of indigenous breeds of donkeys, cattle, dogs, bees and their parasites from the territory of Serbia. The most significant results of other studies were presented in the case of sheep.

Key words: *analyses of nuclear DNA, analyses of mitochondrial DNA, indigenous animal breeds, Serbia.*

Molekularno-genetička karakterizacija balkanskog magaraca na teritoriji Srbije

Balkanski magarac (*Equus asinus* L.) predstavlja ugroženu, neselektovanu, nestrukturiranu i tradicionalno gajenu autohtonu rasu magaraca. Za formiranje standarda rase i implementaciju odgajivačkih, reproduktivnih i mera upravljanja

koje bi omogućile očuvanje i održivu eksploataciju balkanskog magarca, neophodan je uvid u fenotipske karakteristike, genetski status i poreklo balkanskog magarca. Nakon uspostavljanja morfometrijskih, biohemijskih i hematoloških vrednosti kod populacija balkanskog magarca sa teritorije Srbije, obavljena je procena genetičkog diverziteta i strukture tri najveće populacije magaraca u centralnom Balkanu: jedne sa područja SRP „Zasavica“ (ZA), druge iz regiona Stare planine (SP) i treće iz okoline mesta Kovilj (KO), nadomak Novog Sada (Stanišić i sar., 2017a, 2017b). Analize su obavljene na osnovu varijabilnosti nuklearnih mikrosatelita (77 jedinki) i mitohondrijalnog (mtDNK) kontrolnog regiona (49 jedinki).

Genetički diverzitet rase balkanski magarac na nivou jedarne DNK. Ukupan broj alela (A) na 11 mikrosatelitskih lokusa u ispitivanoj populaciji balkanskog magarca bio je 102. Broj alela po lokusu bio je u opsegu od pet (*HTG6*) do 13 (*AHT5*), sa prosečnim brojem alela po lokusu od 9,27. Za pet ispitivanih mikrosatelitskih lokusa (*AHT4*, *ASB23*, *CA425*, *HTG6*, *HMS2*) veličina ustanovljenih alela (bp) je odgovarala očekivanom opsegu dužina za date mikrosatelitske markere. Sedam mikrosatelitskih lokusa (*AHT5*, *HTG7*, *HTG10*, *HMS3*, *HMS6*, *LEX3* i *VHL20*) je pokazalo alele čija je veličina bila van očekivanog opsega (navedenom u dokumentaciji proizvođača panela “Equine Genotypes Panel 1.1, Thermo Scientific”). Analizom lokusa *LEX3* (137-161 bp) u uzorcima balkanskog magarca ustanovljen je jedan alel dužine 164 bp, odnosno alel čija veličina za dva dinukleotidna ponovka premašuje očekivani opseg. Kod lokusa *AHT5* (126-146 bp), *HTG10* (83-111 bp), *HMS3* (146-170 bp) i *HMS6* (154-170 bp) su nađena po dva alela koja su bila van preporučenog opsega za jedan ili dva dinukleotidna ponovka i to: *AHT5* (122 i 124 bp), *HTG10* (78 i 80 bp), *HMS3* (141 i 143 bp) i *HMS6* (152 i 174 bp). Za dva lokusa *HTG7* (114-128 bp) i *VHL20* (82-102 bp) ustanovljena su po tri alela izvan očekivanog opsega dužina 131, 133, 135 bp i 70, 72, 74 bp, respektivno. Najveći broj alela, 13, pokazao je lokus *AHT5*, kod koga su četiri alela pokazala veću učestalost među kojima je alel 2 imao najveću učestalost od 0.337.

X-vezani lokus *LEX3* se uspešno amplifikovao kod svih analiziranih jedinki sa ustanovljenih 8 alela od kojih je alel označen kao 7 (162bp) imao najveću učestalost (0,649) među analiziranim markerima. Nakon isključivanja lokusa *LEX3*, najveću učestalost pojedinačnog alela u celokupnoj analiziranoj populaciji imao je alel 3 na lokusu *VHL20* koja je iznosila 0,532. Lokusi kod kojih takođe postoji značajno visoka učestalost jednog alela u poređenju sa učestalostima ostalih ustanovljenih alela su *HTG6* (sa učestanošću alela 4 od 0,460), *HMS2* (sa učestanošću alela 6 od 0,440) i *HMS6* (sa učestanošću alela 1 od 0,455). Lokusi koji su pokazali najviši polimorfizam i prema broju ustanovljenih alela, 12, i prema distribuciji učestalosti alela su *HTG10* i *HMS3*. Za marker *AHT4* takođe je ustanovljen veliki broj alela, 11, pri čemu je najvišu učestalost od 0,230 ispoljio alel 3 (Stanišić i sar., 2017b).

Na 11 analiziranih mikrosatelitskih lokusa, učestalosti genotipova na 4 lokusa (*AHT4*, *ASB23*, *HMS2* i *HTG7*) su u skladu sa očekivanjima prema Hardy-

Weinberg-ovoj ravnoteži, dok na preostalih 7 lokusa postoji značajno odstupanje učestalosti genotipova od Hardy-Weinberg-ovih očekivanja. Značajan deficit heterozigota se primećuje na 3 lokusa (*AHT5*, *HTG6* i *VHL20*) u ZA populaciji i 2 lokusa (*HTG6* i *AHT5*) u SP populaciji magaraca, dok je statistički značajan višak heterozigota u navedene tri populacije ispoljen na po 4 lokusa u ZA i SP populaciji i na 6 lokusa KO populaciji. Kada se uzmu u obzir svi lokusi, prosečne vrednosti učestalosti genotipova u populacijama ZA i KO značajno odstupaju od očekivanja prema Hardy-Weinberg-ovoj ravnoteži.

Genetički diverzitet ispitivanih populacija balkanskog magarca na nivou mitohondrijske DNK. Uprkos značajnoj depopulaciji u prošlosti, rezultati su ukazali na visoke vrednosti genetičkog diverziteta balkanskog magarca u Srbiji i na nuklearnom i mtDNK nivou. Utvrđeno je da u Srbiji egzistiraju dve grupe magaraca sličnih fenotipskih odlika, donekle udaljenih nuklearnih profila i sa različitom proporcijom raspodele mtDNK haplotipova u maternalne klade, 1 i 2. Još jedna grupa magaraca, koju karakteriše veća veličina tela, različita boja dlake, poseban nuklearni genski pul i pretežna pripadnost mtDNK haplotipova kladi 2, je obeležena kao druga rasa, banatski magarac. Dobijeni podaci za kontrolni region (HVR1) mtDNK su poređeni sa 209 objavljenih sekvenci mtDNK drevnih i današnjih magaraca poreklom iz 19 evropskih i afričkih populacija da bi se obezbedio uvid u poreklo i istoriju balkanskog magarca. Utvrđeno je da su populacije magaraca sa Balkanskog poluostrva genetički slične sa različitim populacijama etiopskih magaraca, što je ukazalo na visoku heterogenost, kompleksnije maternalno poreklo i filogenetsku struktuiranost nego što je to pre objavljivano. Prisutnost i pozicioniranje grčkih haplotipova i kod klade 1 ali i kod klade 2 potvrđuje teoriju da se ekspanzija jedinki na Balkansko poluostrvo odvijala preko Grčke. Na osnovu spektra i geografske distribucije genealoški vezanih linija klade 1 i klade 2 zaključeno je da su magaraci za koje su karakteristični haplotipovi klade 1 ranije stigli na Balkansko poluostrvo, ali da je njihova dalja ekspanzija bila ograničena. Iako su magaraci koji nose haplotipove klade 2 dospeli na Balkan nakon magaraca iz klade 1, imali su uspešnu ekspanziju i diversifikaciju u ovom regionu (Stanišić i sar., 2017a).

Molekularno epizootiološka situacija piroplazmoze konja kod balkanskog magarca i domaćeg brdskog konja

Prva molekularno genetička ispitivanja prevalencije piroplazmoze konja kako kod balkanskog magarca na teritoriji Srbije, tako i kod domaćeg brdskog konja u Srbiji i susednim zemljama, obavljena su tokom prethodnih godina od strane tima istog projekta u okviru koga su obavljena i ostala istraživanja čiji rezultate navodimo u ovom radu. Molekularno-epizootiološka analiza protozoarnih parazita *Theileria equi* i *Babesia caballi* (korišćenjem metode *multiplex Polymerase Chain Reaction* – multiplex PCR) sprovedena je na 70 jedinki balkanskog magarca bez vidljivih znakova bolesti (25 sa područja SRP „Zasavica“, 25 iz regiona Stare planine i 20 iz okoline mesta Kovilj, nadomak Novog Sada). Rezultati su otkrili prisustvo infekcije sa *T. equi* kod 50% slučajeva (16 iz

Zasavice, 12 sa Stare pčanine i 7 iz Kovilja), ali nijedan slučaj *B. caballi*. Na osnovu hematoloških analiza, kod magaraca inficiranih sa *T. equi* utvrđena je povezanost infekcije i sledećih promena hematoloških parametara (smanjeni broj eritrocita, smanjena koncentracija hemoglobina, snižen hematokrit i broj trombocita, povećan broj leukocita). Navedene hematološke promene mogu dovesti do smanjenja radnog kapaciteta i proizvodnih performanci (Davitkov i sar., 2017).

Za procenu prevalencije piroplazmoze kod domaćeg brdskog konja u Srbiji i dve susedne države (Crnoj Gori i Bosni i Hercegovini) sakupljeni su uzorci od 142 konja sa sedam različitih lokacija. Nakon što je obavljen PCR kojim se detektuju fragmenti veličine 450 bp 18SrRNK regiona specifičnog za piroplazme, multipleks PCR svih pozitivnih uzoraka obavljen je radi određivanja vrsta *Theileria equi* i *Babesia caballi*. Rezultati specijalne identifikacije su takođe potvrđeni i sekvenciranjem deset uzoraka *T. equi* i *B. caballi*. Utvrđena prevalencija za *T. equi* je 22,5%, a za *B. caballi* 2,1%. Značajne razlike u prevalenciji uočene su u različitim geografskim regionima (Davitkov i sar., 2016).

Molekularno-genetička karakterizacija goveda rase buša na teritoriji Srbije

Od autohtonih rasa goveda na teritoriji Srbije, analizirana je populacija rase buša sa područja Stare planine, odnosno iz regiona Dimitrovgrada (43°01'N, 22°47'E). Za karakterizaciju je odabrano 47 jedinki iz istog krda vodeći računa da uzorkovane jedinke nisu u srodstvu najmanje dve generacije unazad. Analizom 12 mikrosatelitskih markera (*TGLA227*, *BM2113*, *TGLA53*, *ETH10*, *SPS115*, *TGLA126*, *TGLA122*, *INRA23*, *BM1818*, *ETH3*, *ETH225*, *BM1824*) odnosno panela preporučenog od strane Međunarodnog društva za genetiku životinja ISAG (*International Society of Animal Genetics*) utvrđeno je da se broj alela kreće u opsegu od 6 (za lokus *ETH10*) do 16 (za lokus *TGLA122*), a prosečan broj alela po lokusu bio je 9,5. Ukupan broj alela na svih 12 analiziranih lokusa iznosio je 114. Vrednosti informativnog sadržaja polimorfizma (*Polymorphism Information Content – PIC*) bile su u opsegu od 0,513 (*BM1818*) do 0,905 (*TGLA53*). Moć isključenja (*Power of Exclusion – PE*) za pojedinačne markere kretala se u opsegu od 0,228 (*BM1818*) do 0,607 (*BM2113*), a moć diskriminacije (*Power of Discrimination – PD*) od 0,75 (*BM1818*) do 0,96 (*TGLA227*). Kumulativne vrednosti moći diskriminacije i isključenja bile su veoma visoke (0,999 i 0,995, respektivno) kada je uzeto u obzir svih 12 markera (Stevanov-Pavlović i sar., 2015). Iste populacija buša goveda korišćena je za utvrđivanje distribucije genotipova κ -kazeina (κ -CN) i β -laltoglobulina (β -Lg). Genotipovi su određivani putem metode PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism*). Radi poređenja, iste analize su obavljane i u populaciji mlečne holštajn (HF) rase goveda. U populaciji buša je 44,44% jedinki imalo AA genotip, a 55,56% AB genotip κ -CN (BB genotip nije utvrđen u analiziranoj populaciji). Ista distribucija je utvrđena i kada je u pitanju drugi gen: 44,44% krava imalo je AA genotip, a 55,56% AB genotip

β -Lg, dok genotip BB nije registrovan. U poređenju sa kravama HF rase, krave rase buša imale su učestaliji alel A oba gena, k-CN i β -Lg (Maletić i sar., 2016)

Molekularno-genetička karakterizacija ovaca rase cigaja i pramenka sa teritorije Srbije

U ovom delu su prikazani najvažniji rezultati molekularno genetičke analize dve rase, cigaje i pramenke. Kada je reč o cigaji, ranije analize genetičke strukture trinaest lokalnih populacija ovaca sa prostora Rumunije, Albanije, Hrvatske, Turske i Srbije otkrile su da novi tip cigaje u poređenju sa čokan, starim tipom cigaje, ima viši stepen genetičke varijabilnosti u pogledu broja alela, ali je novi tip pokazao deficit heterozigotnosti. U istraživanju Ćinkulov i sar. (2008a) obavljena je genotipizacija 100 jedinki cigaja poreklom iz Srbije korišćenjem 23 mikrosatelitska lokusa (*BM0757*, *BM1314*, *BM1818*, *BM4621*, *BM6506*, *BM6526*, *BM8125*, *CSSM31*, *MAF214*, *MAF36*, *MAF48*, *MAF65*, *McM527*, *OarCP20*, *OarCP34*, *OarCP38*, *OarFCB11*, *OarFCB128*, *OarFCB304*, *OarFCB48*, *OarHH47*, *OarHH64* i *OarVH72*). Rezultati su pokazali da su svi mikrosatelitski lokusi bili polimorfni kod oba tipa cigaja. Nađeno je ukupno 205 alela. Prosečan broj alela na lokusu iznosio je 8,7, a kretao se od 5 (*BM0757*, *BM6506* i *OarCP34*) do 12 (*BM1314* i *BM1818*). Dva lokusa (*MAF214* i *OarHH64*) su pokazala značajna odstupanja of Hardi-Vajnbergove ravnoteže ($P < 0,001$) u oba tipa cigaja zbog viška homozigota. Prosečan broj alela po lokusu bio je veći kod novog tipa cigaje; 52 alela utvrđeno je samo kod novog tipa cigaje, dok je 33 alela bilo specifično za stari tip cigaje. Procena stepena inbridinga unutar populacije kod oba tipa cigaje bila je pozitivna i signifikantno različita od nule ($P < 0,001$), pokazujući da su roditelji bili mogo srodniji nego što je očekivano u slučaju nasumičnog parenja. Isključujući markere *MAF214* i *OarHH64* oba tipa cigaje su pokazivala pozitivne F vrednosti, ali je samo za stari tip F vrednost odstupala od nule. Pozitivna F vrednost kod čokan cigaje ukazuje na pojavu inbridinga kod ovog tipa. Proporcija neravnoteže vezanosti bila je ispod očekivanog. Kod dva lokusa utvrđeno je značajno odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže, ali ono nije izmenilo zaključke izvedene na osnovu svih podataka, tj. da su dva tipa cigaja ovce jasno diferencirana i da je novi tip nastao pod uticajem krosbridinga. Prema tome, čokan cigaju treba smatrati posebno ugroženom rasom prema FAO klasifikaciji (Ćinkulov i sar., 2008a).

Kada je u pitanju pramenka, u regionu Balkana se u različitim ekološkim i sociokulturološkim uslovima razvilo nekoliko različitih fenotipova autohtone ovce pramenke. Ćinkulov i sar. (2008b) su obavili genotipizaciju 178 jedinki iz sedam različitih tipova zapadnobalkanske pramenke analiziranjem 15 mikrosatelitskih markera i mitohondrijalne DNK, a dobijeni rezultati su korišćeni za analizu genetičke različitosti unutar i između tipova pramenki, kao i za utvrđivanje genetičke strukture ove rase. Svi mikrosatelitski lokusi su bili polimorfni. Ukupno je identifikovano 185 alela kod 178 jedinki pramenke. Ukupan broj alela po lokusu kretao se od 6 (*BM0757*) do 20 (*CSSM31*). Prosečna

očekivana heterozigotnost za sve lokuse iznosila je 0,781, a kretala se u opsegu od 0,693 (*BM6506*) do 0,860 (*BM4601*). Prosečan broj alela po mikrosatelitskom lokusu iznosio je 7,90. Adekvatnom statističkom metodom (Bayesian method) utvrđeno je postojanje najveće panmiktične populacije formirane od srpskog, kosovskog, bosanskog, crnogorskog i albanskoj soja, dok su hrvatski i makedonski soj uključeni u druge dve glavne populacije. Analizom mtDNK otkrivene su dve mtDNK haplogrupe kod pramenke, B i A, sa učestalošću 93,7% i 6,3%, respektivno. Ukupno 60 haplotipova mtDNK utvrđeno je kod 64 životinje čiji su uzorci poslani na sekvenciranje. Prosečan nukleotidni diverzitet iznosio je 0,013, a haplotipski 0,945. Obavljena molekularno genetička ispitivanja ukazala su da zapadnobalkanska pramenka potiče iz dve različite majčinske linije domaćih ovaca, a različiti fenotipovi pramenki teže formiranju nekoliko panmiktičnih populacija (Ćinkulov i sar., 2008b).

Molekularno-genetička karakterizacija jugoslovenskog šarplaninca na teritoriji Srbije

Jugoslovenski ovčarski pas šarplaninac je rasa koja se od davnina gaji u planinskim jugoistočnim predelima nekadašnje Jugoslavije, pre svega na Šar Planini, na osnovu čega je rasa i dobila ime. O poreklu ove rase ne zna se mnogo. Pretpostavlja se da vodi poreklo iz Azije, odnosno da su narodi koji su migrirali iz Azije u Evropu doveli i pse čuvare svojih stada. Tokom vekova selekcije u specifičnim geografskim i klimatskim uslovima nastala je rasa jugoslovenski ovčarski pas šarplaninac. Psi ove rase u osnovnom tipu zadržali su se samo u onim područjima u kojima još uvek postoji ovčarstvo ekstenzivnog tipa. Za karakterizaciju je odabrano 103 jedinki pasa ove rase koji nisu u srodstvu, što je utvrđivano na osnovu podataka o poreklu, s obzirom da su uzorci uzimani na izložbama pasa i u Centru za obuku pasa u Nišu. Analizirano je 10 mikrosatelitskih lokusa (*PEZ01*, *FHC2054*, *FHC2010*, *PEZ05*, *PEZ20*, *PEZ12*, *PEZ03*, *PEZ06*, *PEZ08* i *FHC2079*) i utvrđeno da broj alela varira od 5 do 12, pri čemu je prosečan broj alela po lokusu bio 7,83. Prosečne vredosti za uočenu heterozigotnost i PIC iznosile su 0,64, odnosno 0,66, respektivno. Devet od 10 mikrosatelitskih markera pokazalo je visoku informativnost, odnosno PIC vrednost veću od 0,5. Ustanovljene vrednosti indikatora diverziteta ukazuju na visoku genetičku heterogenost i očuvanu genetičku strukturu rase (Dimitrijević i sar., 2013).

Molekularno-genetička karakterizacija medonosne pčele i pčelinjih parazita na teritoriji Srbije

Istraživanja medonosne pčele *Apis mellifera* na teritoriji Srbije putem molekularnih markera započeta su još 2006. godine i bazirala su se na analizi tRNA_{leu}-cox2 (COI-COII) intergenskog regiona i CO-I gena (mtDNK). Nakon amplifikacije i sekvencioniranja navedenih regiona utvrđeno je postojanje polimorfizama pojedinačnih nukleotida (*Single-Nucleotide Polymorphism* – SNP) za

koje su identifikovani restrikcioni enzimi i postavljen PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) metod za diskriminaciju podvrsta *A. m. carnica* i *A. m. macedonica* (Stevanović i sar., 2010). Korišćenjem te metode, obavljena je biogeografska analiza pčela ne samo na teritoriji Srbije, nego i susednih zemalja, na osnovu čega je utvrđeno da je areal *A. m. macedonica* daleko veći nego što se ranije smatralo, odnosno da se granica rasprostranjena *A. m. macedonica* na teritoriji Balkana pruža mnogo severnije od ranije postavljene (Stevanović i sar., 2010), što je potvrđeno i kasnijim analizama putem mikrosatelitskih (*Short Tandem Repeat* – STR) markera. Novija ispitivanja molekularnog diverziteta pčela obavljena korišćenjem SNP markera pokazale su da kod pčela u Srbiji postoji čak 7 haplotipova (C1a, C2c, C2d, C2e, C2i, C2o i C2p), pri čemu su poslednja dva prvi put opisana, haplotip C2o, GenBank Access. No. JQ977704, i haplotip C2p, GenBank Access. No. JQ977705.1). Oba novoopisana haplotipa su autohtona, C2o za Banatski region, a C2p za Sjeničko-Peštarski region (Muñoz i sar., 2012). Dobijeni rezultati ukazuju da je molekularni diverzitet pčela iz Srbije znatno veći u odnosu na zemlje iz okruženja u kojima su obavljane ovakve analize, s obzirom da je u Makedoniji utvrđen samo jedan haplotip, u Albaniji dva i u Hrvatskoj četiri (Muñoz i sar., 2012). Takođe je utvrđeno postojanje hibrida *A. m. carnica* i *A. m. macedonica*, ali i introgresija podvrste *A. m. ligustica* (Muñoz i sar., 2012).

Kada su u pitanju paraziti pčela, molekularno genetičkim metodama analizirani su ekto i endoparaziti pčela u Srbiji. Kod pčelinjeg parazita *Varroa destructor* u Srbiji utvrđen neočekivan diverzitet (Gajić i sar., 2013, 2016), jer je za ovog krpelja svuda u svetu, sa izuzetkom Azije, utvrđeno ekstremno odsustvo polimorfizma. Varijabilnost kod *V. destructor* je otkrivena analizom sekvenci četiri gena na mtDNK. Polimorfizmi pojedinačnih nukleotipa (SNPs) utvrđeni su u okviru *cox1* i *cytb* gena. Na osnovu tih polimorfnihih mesta definisana su dva nova haplotipa, Srbija 1 (S1) GenBank Access. No. JX970938 i Pešter 1 (P1) GenBank Access. No. JX970945. Za navedene polimorfizme tipa tačkastih mutacija u cilju detekcije navedenih autohtonih haplotipova *V. destructor* razvili smo specifične metode i to ARMS (*Amplification Refractory Mutation System*) za S1 haplotip, odnosno PCR-RFLP za haplotip P1. Korišćenjem ARMS metode prilikom analize *cox1* i *cytb* sekvenci neočekivano smo otkrili nukleotidnu heteroplazmiju, što je prvi nalaz ovog fenomena kod vrste *V. destructor* (Gajić i sar., 2016).

Od endoparazita, najviše su zastupljene mikrosporidije i tripanozome. Retrospektivna analiza uzoraka DNK iz baze Katedre za biologiju Fakulteta veterinarske medicine, korišćenjem molekularnih markera, pokazala je da u pčelama u Srbiji tokom poslednje decenije apsolutno dominira jedna vrsta mikrosporidija (*Nosema ceranae*) i jedna vrsta tripanozoma (*Lotmaria passim*). Utvrđeno je odsustvo vrste *N. apis* i mešovitihi infekcija *N. apis/N. ceranae*, kao i odsustvo vrste *Crithidia mellificae* i mešovitihi infekcija *C. mellificae/L. passim*. Prosečna zastupljenost *N. ceranae* u Srbiji je tokom prethodnih 10 godina izuzetno visoka (95,7%) i nije zabeležen ni jedan pčelinjak bez *N. ceranae*. Prosečna zastu-

pljenost *L. passim* u istom periodu je bila 62,3%, pri čemu je većina pčelinjih društava (60,5%) bila koinficirana sa *N. ceranae* i *L. passim* (Stevanovic i sar., 2016; Vejnovic i sar., 2018).

Literatura

1. Ćinkulov M, Tapio M, Ozerov M, Kiselyova T, Marzanov N, Pihler I, Olsaker I, Vegara M, Kantanen J, 2008a, Genetic differentiation between the Old and New types of Serbian Tsigai sheep, *Genetics Selection Evolution*, 40 (3), 321–331.
2. Ćinkulov M, Popovski Z, Porcu K, Tanaskovska B, Hodžić A, Bytyqi H, Mehmeti H, Margeta V, Djedović R, Hoda A, Trailović R, Brka M, Marković B, Važić B, Vegara M, Olsaker I, 2008b, Genetic diversity and structure of the West Balkan Pramenka sheep types as revealed by microsatellite and mitochondrial DNA analysis, *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 125 (6), 417–426.
3. Davitkov D, Vucicevic M, Stevanovic J, Krstic V, Slijepcevic D, Glavinic U, Stanimirovic Z, 2016, Molecular detection and prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses of central Balkan, *Acta Parasitologica*, 61 (2), 337–342.
4. Davitkov D, Davitkov D, Vucicevic M, Stanisic Lj, Radakovic M, Glavinic U, Stanimirovic Z, 2017, A molecular and haematological study of *Theileria equi* in Balkan donkeys, *Acta Veterinaria Hungarica*, 65 (2), 234–241.
5. Dimitrijević V, Stevanović J, Savić M, Petrujkić B, Simeunović P, Milošević I, Stanimirović Z, 2013, Validation of 10 microsatellite loci for their use in parentage verification and individual identification in the Yugoslavian Shepherd Dog – Sharplanina, *Annals of Animal Science*, 13 (4), 715–722.
6. Gajić B, Radulović Z, Stevanović J, Kulišić Z, Vučićević M, Simeunović P, Stanimirović Z, 2013, Variability of the honey bee mite *Varroa destructor* in Serbia based on mtDNA analysis, *Experimental and Applied Acarology*, 61 (1), 97–105.
7. Gajić B, Stevanovic J, Radulović Ž, Kulišić Z, Vejnović B, Glavinic U, Stanimirović Z, 2016, Haplotype identification and detection of mitochondrial DNA heteroplasmy in *Varroa destructor* mites using ARMS and PCR–RFLP methods, *Experimental and Applied Acarology*, 70 (3), 287–297.
8. Maletić M, Aleksić N, Vejnović B, Nikšić D, Kulić M, Đukić B, Ćirković D, 2016, Polymorphism of κ -casein and β -lactoglobulin genes in Busha and Holstein Friesian dairy cows in Serbia, *Mljekarstvo*, 66 (3), 198–205.
9. Muñoz I, Stevanovic J, Stanimirovic Z, De la Rúa P, 2012, Genetic variation of *Apis mellifera* from Serbia inferred from mitochondrial analysis. *J Apic Sci*, 56, 1, 59–69.
10. Stanišić Lj, Aleksić J, Dimitrijević V, Simeunović P, Glavinic U, Stevanović J, Stanimirović Z, 2017a, New insights into the origin and the

- genetic status of the Balkan donkey from Serbia, *Animal Genetics*, 48 (5), 580–590.
11. Stanišić Lj, Dimitrijević V, Simeunović P, Glavinić U, Jovanović B, Stevanović J, Stanimirović Z, 2017b, Assessment of 17 microsatellite loci for their use in parentage verification and individual identification in the Balkan donkey breed, *Genetika – Belgrade*, 49 (1), 21–30.
 12. Stevanovic J, Stanimirovic Z, Radakovic M, Kovacevic RS, 2010, Biogeographic study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) from Serbia, Bosnia and Herzegovina and Republic of Macedonia based on mitochondrial DNA analyses, *Russian Journal of Genetics*, 46 (5) 603–609.
 13. Stevanovic J, Schwarz RS, Vejnovic B, Evans JD, Irwin RE, Glavinic U, Stanimirovic Z, 2016, Species-specific diagnostics of *Apis mellifera* trypanosomatids: a nine-year survey (2007–2015) for trypanosomatids and microsporidians in Serbian honey bees, *Journal of Invertebrate Pathology*, 139, 6–11.
 14. Stevanov-Pavlović M, Dimitrijević V, Marić S, Radović D, Stevanović J, Stanimirović Z, 2015, Applicability assessment of a standardized microsatellite marker set in endangered Busha cattle, *Slovenian Veterinary Research*, 52 (3), 133–139.
 15. Vejnovic B, Stevanovic J, Schwarz RS, Aleksic N, Mirilovic M, Jovanovic NM, Stanimirovic Z, 2018, Quantitative PCR assessment of *Lotmaria passim* in *Apis mellifera* colonies co-infected naturally with *Nosema ceranae*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 151, 76–81.