

SRPSKO VETERINARSKO DRUŠTVO



33.

SAVETOVANJE
VETERINARA
SRBIJE

ZBORNİK RADOVA I
KRATKIH SADRŽAJA



www.svd.rs



SRPSKO VETERINARSKO
DRUŠTVO

08 - 11. septembra 2022. god.
Zlatibor

**SRPSKO VETERINARSKO DRUŠTVO
SERBIAN VETERINARY ASSOCIATION**



ZBORNİK RADOVA I KRATKIH SADRŽAJA

**33. SAVETOVANJE VETERINARA SRBIJE
33rd CONFERENCE OF SERBIAN VETERINARIANS**



Hotel Palisad – Zlatibor, 8–11. septembar 2022.
Hotel Palisad – Zlatibor, September 8–11. 2022.

33. SAVETOVANJE VETERINARA SRBIJE
Zlatibor, 08–11. septembar, 2022.

Organizator / Organizer:
SRPSKO VETERINARSKO DRUŠTVO

Suorganizatori / Co-organizer:
Fakultet veterinarske medicine – Univerzitet u Beogradu
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Departman za veterinarsku medicinu

Pokrovitelji / Patrons:
Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, Uprava za veterinu
Veterinarska komora Srbije

Predsednik SVD-a / President of SVA: Prof. dr Milorad Mirilović, dekan FVM

Organizacioni odbor / Organizational board:

Predsednik / President: Milorad Mirilović

Potpredsednici / Vice-presidents: Stamen Radulović i Miodrag Rajković

Sekretar / Secretary: Jasna Stevanović

Tehnički sekretar / Technical secretary: Katarina Vulović, Maja Gabrić

Programski odbor / Programme committee:

Vladimir Dimitrijević (predsednik), Danijela Kirovski, Sonja Radojičić, Vanja Krstić, Bojan Toholj,
Slobodanka Vakanjac, Tamaš Petrović, Ivan Vujanac, Stamen Radulović, Milutin Đorđević,
Vesna Đorđević, Ivan Stančić, Drago Nedić

Počasni odbor / Honorary committee:

Branislav Nedimović, Emina Milakara, Nedeljko Tica, Jakov Nišavić, Dragana Oklješa, Mišo Kolarević,
Saša Bošković, Nenad Budimović, Velibor Kesić, Ranko Savić

Sekretarijat / Secretariat:

Slobodan Stanojević, Sava Lazić, Ivan Miloš, Miodrag Bošković, Katarina Nenadović, Milutin Simović,
Zoran Rašić, Milan Đorđević, Predrag Maslovarić, Zoran Jevtić, Zoran Knežević, Vojislav Arsenijević,
Ljubinko Šterić, Dragutin Smoljanović, Bojan Blond, Dobrila Jakić-Dimić, Miloš Petrović, Zorana
Kovačević, Milica Lazić, Laslo Matković, Darko Bošnjak, Petar Milović, Rade Došenović, Nikola
Milutinović, Mirjana Ludoški, Gordana Žugić, Željko Sladojević, Miodrag Milković

Izdavač:

Srpsko veterinarsko društvo, Beograd

Za izdavača:

Prof. dr Milorad Mirilović, predsednik SVD

Urednici:

Prof. dr Vladimir Dimitrijević i prof. dr Miodrag Lazarević

Stručna lektura i korektura: Prof. dr Miodrag Lazarević

Dizajn i tehnička izrada korica i kolora: Branislav Vajnović

Tehnička obrada: Gordana Lazarević

Štampa: Naučna KMD, Beograd, 2022

Tiraž: 500 primeraka

ISBN 978-86-83115-47-1

IDENTIFIKACIJA POTPISA SELEKCIJE PROIZVODNIH I REPRODUKTIVNIH OSOBINA I STEPENA GENOMSKOG INBRIDINGA U POPULACIJI SRPSKIH HOLŠTAJN-FRIZIJSKIH KRAVA

**Marko Ristanić¹, Minja Zorc², Uroš Glavinić¹, Jovan Blagojević¹,
Milan Maletić¹, Peter Dovč², Zoran Stanimirović¹**

Kratka sadržaj

Kontrola inbridinga u populacijama farmskih životinja je veoma značajna, zbog toga što povećana stopa srodstva među životinjama dovodi do brzog gubitka genetske varijabilnosti i do štetnih fenotipskih efekata povezanih sa inbriding depresijom. Identifikovanje nedavnih potpisa pozitivne selekcije kod domaćih životinja može pružiti informacije o genomskim regionima koji su pod uticajem veštačke i prirodne selekcije i na taj način pomoći u identifikaciji korisnih mutacija i osnovnih bioloških puteva za ekonomski važne osobine. U našem istraživanju, upotrebom SNP čipa Axiom Bovine BovMDv3 sa 63 648 predefinisanih lokusa od interesa u genomu *Bos taurus*, sproveli smo identifikaciju ROH segmenata, procenjivanje stepena genomskog inbridinga (F_{ROH}), kao i identifikaciju ROH ostrva za otkrivanje regija koja su pod pritiskom selekcije u populaciji od 334 Holštajn-frizijskih (HF) krava. Većina otkrivenih ROH je bila u kategoriji dužine od 1 do 2 Mbp. Ukupna dužina svih segmenata ROH po životinji iznosi 197,92 Mbp, pri čemu je kod životinje sa najvećom ukupnom dužinom ROH (433,37 Mbp), 17 procenata autozoma prekriveno ROH. Vrednost genomskog inbridinga (F_{ROH}) kod te životinje iznosi 0,173, a kod najmanje inbridirane životinje 0,005. Genomski inbriding u istraživanoj populaciji u proseku iznosi 0,079. ROH ostrva smo identifikovali na hromozomima 1, 7, 10, 16, 22 i 26. Na hromozomu BTA1 uočena je najveća stopa ROH (45 procenata životinja) i to na markerima AX-106742409 (rs41578805), AX-106740136 (rs109562914), AX-106719581 (rs41603780), AX-185115133 (rs523828967) i AX-124379394 (rs110792335). Naši rezultati ukazuju na postojanje ROH ostrva na BTA1 veličine 2 Mbp (od 83 do 85 Mbp). Kod 45 procenata životinja iz ispitivane populacije javljaju se potpisi selekcije u vidu gena: PARL, YEATS2, KLHL24. Rezultati analize ROH segmenata ukazuju na nizak nivo nedavnog i ukupnog genomskog inbridinga u ispitanjoj populaciji HF goveda. Utvrđena je povezanost između detektovanih ROH ostrva i

¹Dr sci. vet. med, Marko Ristanić, asistent; dr sci. vet. med, Uroš Glavinić, docent; dr vet. Jovan Blagojević, istraživač pripravnik; dr sci. vet. med, Milan Maletić, vanredni profesor; dr Zoran Stanimirović, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, R. Srbija

²Dr Minja Zorc, docent; dr Peter Dovč, redovni profesor, Univerzitet u Ljubljani, Biotehnički fakultet, Katedra za stočarstvo, Ljubljana, R. Slovenija

*e-mail autora za korespondenciju: mristanić@vet.bg.ac.rs

proizvodnih i reproduktivnih karakteristika mlečnih grla, ali i regija u genomu pod pristiskom selekcije na druge ekonomski važne osobine goveda.

Ključne reči: F_{ROI} Holštajn-frizijska goveda, potpis selekcije, ROH, ROH ostrva, SNP čip

UVOD

Identifikacija molekularnih markera koji imaju ekonomski značaj kao i primena selekcije pomoću markera (*Marker Assisted Selection* - MAS) omogućena je, u poslednjih 30 godina, razvojem molekularne genetike. Prema tome, MAS je poboljšao efikasnost odgajivačkih programa kroz praćenje malog broja genetskih markera koji se koriste u genetičkim istraživanjima, što je omogućilo efikasniju selekciju (Zimin et al. 2009). MAS je postao značajan alat u selekciji poželjnih osobina kod domaćih životinja. Međutim, njegova primena i upotreba je prvobitno bila ograničena na mali broj markera i stoga nije pružila očekivana poboljšanja odgajivačkih programa (Dekkers et al. 2004). Prvobitni pristup za otkrivanje genetskih varijacija za ekonomski važne osobine na nivou celog genoma bio je mapiranje lokusa kvantitativnih osobina (*Quantitative Trait Loc-QTL*). Do danas je otkriveno i objavljeno više hiljada QTL za veliki broj osobina (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/>). Međutim, većina ovih prijavljenih lokusa otkrivena je pomoću mikrosatelitskih markera niske rezolucije (Schreiweis et al. 2005; Soller et al. 2006). Upravo iz tog razloga je, na osnovu informacija dobijenih analizama mikrosatelita, teško otkriti gene za osobine od interesa. Razvojem istraživanja u ovoj oblasti osmišljena je nova tehnologija genotipizacije markera visoke gustine, kako bi se simultano koristile informacije iz velikog broja molekularnih markera. Genom domaćeg govečeta (*Bos taurus*) je u potpunosti mapiran 2009. godine, pa je tako ova vrsta postala jedna od prvih farmskih životinja sa mapiranim genomom ukupne dužine od približno 2,8 milijardi bp (Zimin et al. 2009). Ovo otkriće molekularne genetike je omogućilo drugačiji, moderniji pristup genotipizaciji – SNP čip analizu. SNP su okupirali pažnju istraživača poslednjih godina, tako što su postali sve popularnije sredstvo u izučavanju genoma farmskih životinja, a naročito goveda (Ristanic et al. 2020). Poznate kompanije Affymetrix, Illumina i Neogen/GeneSeek su razvile više SNP čip panela namenjenih analizama kod goveda, uključujući SNP panele niske gustine (3K, 7K, 15K, 25K), srednje gustine (50K SNP) i SNP panele visoke gustine (150K, 250K, 650K, 800K). Raspoloživost velikog broja poznatih SNP i SNP čip analiza, omogućila je genetička istraživanja, kao što su: mapiranje genetskih bolesti, GWAS i genomski selekcija (Murgiano et al. 2014; Tiezzi et al. 2015; Brown et al. 2016; Boison et al. 2017). Važan faktor u održivosti selektiranih populacija mlečnih goveda predstavlja kontrola stope inbridinga i održavanje genetskog diverziteta. Za procenu stepena inbridinga, u ranijem periodu su korišćeni koeficijenti inbridinga na osnovu analize pedigreea (Luo, 1992). Pojavom savremenih metoda genotipizacije, došlo je do porasta interesovanja za korišćenje genomskih informacija u cilju preciznije procene koeficijenata inbridinga (VanRaden, 2008). Istraživanja drugih autora ukazuju na to

da karakterizacija inbridinga na osnovu dugačkih nizova homozigotnih genotipova (*Runs of Homozygosity*–ROH) predstavlja precizniju metodu merenja individualne autozigotnosti u odnosu na procenu inbridinga zasnovanu na pedigreu (Purfield et al. 2012; Ferenčaković et al. 2013a; Ferenčaković et al. 2013b, Ristanic et al. 2022). Naime, ROH osigurava bolju procenu autozigotnosti na nivou genoma i omogućava detekciju specifičnih regiona gena nasleđenih od predaka (*Gene Identity By Descent* – IBD). Analize ROH regiona mogu se koristiti prilikom pravljenja odgajivačkih planova u cilju smanjenja nepovoljnih efekata inbridinga. U nekoliko studija je ispitivana povezanost ROH sa nepovoljnim varijantama gena kod farmških životinja (Zhang et al. 2015a; Zhang et al. 2015b). Potpisi prirodne i veštačke selekcije „utisnuti“ na genomu, mogu se pratiti unazad i učiniti razumljivijim evolutivne procese koji su oblikovali genom (Rothhammer et al. 2013; Gouveia et al. 2014). Najveći značaj u razumevanju bioloških mehanizama koji leže u osnovi fenotipskih razlika uočenih između različitih vrsta farmških životinja, a koje imaju različitu namenu i koji su pod uticajem različitih uslova životne sredine da je utvrđivanje gena i genomskih regiona koji su pod uticajem selekcije (Rothhammer et al. 2013).

Cilj ovog istraživanja je bio analiza povezanosti pojedinih SNP sa stepenom inbridinga i potpisima selekcije koji se odnose na ispoljavanje proizvodnih i reproduktivnih osobina kod srpskih Holštajn-frizijskih goveda.

MATERIJAL I METODE

Uzorci i genotipizacija

Nakon ekstrakcije DNK od 334 krave HF rase, u saradnji sa IAEA i njihovom Laboratorijom za zaštitu zdravlja životinja i produkciju (Animal Production and Health Laboratory, International Atomic Energy Agency - IAEA, Seibersdorf, Vienna, Austria), na istim uzorcima je izvršena genotipizacija životinja pomoću SNP čipa Axiom Bovine BovMDv3 (ThermoFisher Scientific, USA) sa 63 648 predefinisanih lokusa od interesa u genomu *Bos taurus*. Analize su sprovedene prema ustaljenom protokolu navedene laboratorije.

Provera kvaliteta SNP čip podataka

Provera kvaliteta SNP čip podataka je izvršena pomoću softvera SNP & Variation Suite v 8.9.1 (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT). Uzorci sa stopom uspešnosti genotipizacije $\leq 0,90$ su uklonjeni. Dodatno, markeri su uklonjeni ako je stopa uspešnosti genotipizacije iznosila $< 0,95$, ako su imali > 2 alela ili ako je frekvencija manje zastupljenog alela (*Minor allele frequency*– MAF) bila $< 0,01$. Podaci su zatim filtrirani da bi se uklonili markeri koji su bili u neravnoteži veze (*Linkage disequilibrium*– LD) jedan sa drugim, a ostavljajući određene markere da predstavljaju grupe koje su međusobno povezane. Ovim postupkom je ostavljeno 29 503 od 63 648 markera kod 307 životinja. Prečišćavanje MAF i LD je preskočeno za analizu ROH segmenata, te je ostalo 52 934 markera kod 307 ži-

votinju. U set podataka za analizu ROH (52 934 markera) nisu uključeni markeri sa polnih hromozoma.

Identifikacija ROH segmenata

Segmenti ROH su identifikovali korišćenjem SNP & Variation Suite v8.9.1 (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT) softvera. ROH je definisan kao 25 ili više uzastopnih homozigotnih markera na segmentu minimalne dužine 1 000 kilo baznih parova (Kbp). Heterozigotni markeri nisu bili dozvoljeni i nije bilo više od pet neočitanih SNP. Algoritam softvera, kroz svaki hromozom za svaki mogući segment, preispituje ispunjavanje uslova, postavljenih pri definiciji ROH. Svaki ROH je zatim klasifikovan na osnovu njegove fizičke dužine.

Genomski koeficijenti inbridinga (F_{ROH})

Genomski koeficijent inbridinga F_{ROH} (McQuillan et al. 2008) je za svaku životinju izračunavan kao proporcija autozoma u ROH, prema formuli:

$$F_{ROH} = \frac{\sum L_{ROH}}{L_{Autosom}}$$

gde je L_{ROH} suma dužina svih segmenata ROH pojedine životinje, a $L_{autosom}$ dužina autozomalnog genoma ($L_{autosom}$ *Bos taurus* postavljen je na 2 512 082 506 bp). Sve genomske koordinate u analizi SNP čip podataka odnose se na verziju referentne sekvence kompletnog genoma *Bos taurus* UMD3.1.1. (genom *Bos taurus* https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000003055.6/).

F_{ROH} je izračunat uključujući sve klase ROH segmenata (1 do 2 Mbp, 2 do 4 Mbp, 4 do 8 Mbp, 8 do 16 Mbp, i >16 Mbp). Dodavanjem ROH segmenta pojedinih klasa, izračunali smo i $F_{ROH1-2 Mb}$, $F_{ROH2-4 Mb}$, $F_{ROH4-8 Mb}$, $F_{ROH8-16 Mb}$ i $F_{ROH > 16 Mb}$.

Detekcija ROHostrva

Procenjena je učestalost SNP lokusa u ROH (%) i zatim je ucrtana u odnosu na položaj SNP duž autozoma pomoću dijagrama Manhattan plot korišćenjem biblioteke *Manhattan* za statistički softver R (R Core Team, 2013). Minimalni prag za detekciju ROH ostrva (*ROHisland*) je postavljen na 30 procenata, što znači da ROH mora biti prisutan u najmanje 30 procenata populacije da bi lokus bio uključen u ROH ostrvo.

REZULTATI

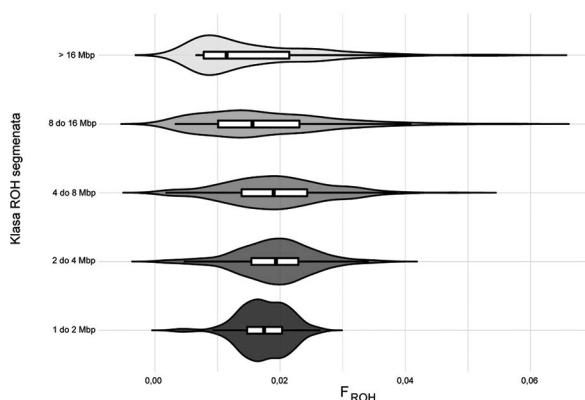
ROH

Nakon prečišćavanja SNP čip podataka, iskorišćena su 52 934 markera za identifikaciju ROH segmenata u genomima HF krava. Identifikovano je ukupno 18 549 ROH sa 60,42 ROH po životinji u rasponu od 8 do 95. ROH je klasifikovan

u pet različitih kategorija na osnovu njihove dužine: 1 do 2 Mbp, 2 do 4 Mbp, 4 do 8 Mbp, 8 do 16 i >16 Mbp. Deskriptivna statistika svake dužinske kategorije prikazana je u tabeli 1. Većina otkrivenih ROH je bila u kategoriji dužine od 1 do 2 Mbp (tabela 1). Najdužih ROH (>16 Mbp) je bilo najmanje, pri čemu kod 45 procenata životinja (n=139) nije uočen ROH u ovoj kategoriji. Prosečna dužina identifikovanih ROH je 3,28 Mbp. Najduži identifikovani ROH je bio dugačak 65,31 Mbp i nalazi se na hromozomu BTA7. Ukupna dužina svih segmenata ROH po životinji iznosi 197,92 Mbp, pri čemu je kod životinje sa najvećom ukupnom dužinom ROH (433,37 Mbp), 17 procenata autozoma prekriveno ROH. Vrednost genomskog inbridinga (F_{ROH}) kod te životinje iznosi 0,173, a kod najmanje inbridirane životinje 0,005. Genomski inbriding u istraživanoj populaciji u proseku iznosi 0,079. Za svaku dužinsku kategoriju, koeficijent inbridinga je izračunat kao proporcija autozoma svake jedinke koji je bio pokriven sa ROH iz te klase (npr. $F_{ROH>16}$) (slika 1).

Tabela 1. Dužina ROH, broj ROH i genomski inbriding (F_{ROH}) u različitim kategorijama dužina ROH po životinji

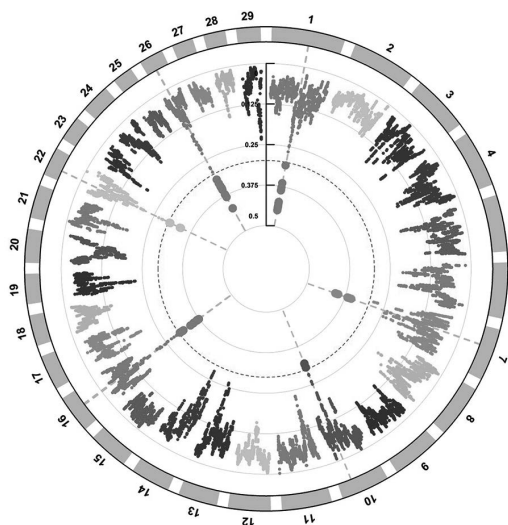
		Kategorija dužine ROH				
	Parametar	1 - 2 Mbp	2 - 4 Mbp	4 - 8 Mbp	8 - 16 Mbp	> 16 Mbp
Ukupna dužina ROH po životinji	Srednja vrednost	43,848	48,119	48,145	44,038	39,332
	Standardna devijacija	9,979	15,504	20,138	25,655	24,867
	Medijana	43,817	48,553	47,651	39,144	28,769
	Minimum	7,416	2,927	4,244	8,013	16,282
	Maksimum	66,538	93,096	119,858	144,577	141,065
Broj ROH po životinji	Srednja vrednost	30,140	17,505	8,679	3,992	1,726
	Standardna devijacija	6,723	5,488	3,550	2,286	0,933
	Medijana	30,000	18,000	8,000	4,000	1,000
	Minimum	6,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	Maksimum	45,000	35,000	21,000	12,000	5,000
Genomski inbriding F_{ROH}	Srednja vrednost	0,017	0,019	0,019	0,018	0,016
	Standardna devijacija	0,004	0,006	0,008	0,010	0,010
	Medijana	0,017	0,019	0,019	0,016	0,011
	Minimum	0,003	0,001	0,002	0,003	0,006
	Maksimum	0,026	0,037	0,048	0,058	0,056



Slika 1. Distribucija genomske inbridinga (F_{ROH}) dobijena iz različitih kategorija dužine ROH

Potpis selekcije

Da bi se ispitao efekat selekcije u populaciji HF krava, istražena je pojava segmenata ROH u genomima ispitivanih jedinki. Incidencija ROH nije bila uniformna kroz hromozome (slika 2). ROH ostrva su identifikovana na hromozomima 1, 7, 10, 16, 22 i 26. Na hromozomu 1 uočena je najveća stopa ROH (45 procenta životinja) i to na markerima AX-106742409 (rs41578805), AX-106740136 (rs109562914), AX-106719581 (rs41603780), AX-185115133 (rs523828967) i AX-124379394 (rs110792335) (slika 2). Potpisi selekcije značajni za proizvodne



Slika 2. Manhattan plot distribucije ROH ostrva na hromozomima 1, 7, 10, 16, 22 i 26. X-osa predstavlja distribuciju ROH kroz genom; Y-osa prikazuje frekvencu preklapajućih ROH koji su zajednički u ispitivanim uzorcima.

i reproduktivne karakteristike nalaze na hromozomima 10, 16, 22 i 26 i to u vidu gena *DHRS7*, *SIX6*, *NMNAT1*, *MTHFR*, *ENO1*, *BHLHE40*, *SUMF1*, *MIR146B* i *CNNM2* (tabela 2).

Tabela 2. Detektovani potpisi selekcije

Hr.	Genomska lokacija u Mbp	Životinje unutar ROH %	Geni	Prethodno objavljeni rezultati
1	83-84	44.95	<i>MAGEF1</i> , <i>MIR2284Y-3</i> , <i>EPHB3</i> , <i>LOC524771</i> , <i>THPO</i> , <i>POLR2H</i> , <i>CLCN2</i> , <i>FAM131A</i> , <i>PSMD2</i> , <i>ECE2</i> , <i>CAMK2N2</i> , <i>ALG3</i> , <i>MIR1224</i> , <i>ABCF3</i> , <i>AP2M1</i> , <i>HTR3C</i> , <i>ABCC5</i> , <i>PARL</i> , <i>MAP6D1</i>	Identifikovan potpis selekcije na genomskoj regiji 1:82 820 000-84 650 000 u lokalnoj populaciji goveda iz severne Afrike (Ben-Jemaa et al. 2020)
				Gen <i>ECE2</i> povezali su sa osetljivošću na respiratorne bolesti kod goveda rasa šarole, hereford, crveni angus, angus (Neupane et al. 2018).
1	84-85	44.95	<i>YEATS2</i> , <i>KLHL24</i> , <i>B3GNT5</i> , <i>LAMP3</i> , <i>MCCC1</i> , <i>DCUN1D1</i>	Serão et al. (2013) su otkrili asocijaciju ove regije sa rezidualnim unosom hrane (residual feed intake-RFI) kod angus i simentalске rase goveda.
7	42-43	39.74	<i>NLRP3</i>	Gen <i>NLRP3</i> asociran je rezistencijom na infekciju <i>Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis</i> kod HF goveda (Mallikarjunappa et al. 2018)
7	43-44	40.72	<i>MGC137030</i> , <i>LYPD8</i> , <i>SH3BP5L</i> , <i>ZNF692</i>	<i>LYPD8</i> je uključen u biološke procese odbrambenih odgovora na gram-negativne bakterije i povezan je sa adaptivnim odgovorima na stimulans iz okoline kao što su stres, infekcije i upale kod goveda (Pošćić et al. 2017).
10	72-73	31.92	<i>L3HYPDH</i> , <i>JKAMP</i> , <i>CCDC175</i> , <i>DHRS7</i> , <i>PPM1A</i> , <i>SIX6</i>	Gaddis et al. 2017 povezali su gene <i>DHRS7</i> i <i>SIX6</i> sa brojem embriona kod HF krava
10	73-74	31.92	<i>MNAT1</i> , <i>TRMT5</i> , <i>PRKCH</i>	<i>PRKCH</i> su povezali nagibom leđa kod HF krava (Yan et al. 2020).
16	42-43	36.81	<i>DHRS3</i> , <i>VPS13D</i> , <i>TNFRSF1B</i> , <i>MIIP</i> , <i>MFN2</i> , <i>PLOD1</i> , <i>KIAA2013</i> , <i>NPPB</i> , <i>NPPA</i> , <i>CLCN6</i> , <i>MTHFR</i> , <i>MIR12050</i> , <i>AGTRAP</i> , <i>DRAXIN</i> , <i>MAD2L2</i> , <i>FBXO6</i> , <i>FBXO44</i> , <i>FBXO2</i>	Kod krava rasa Jaroslav, Kolmogor i HF identifikovan je potpis selekcije na istoj regiji (Zinovieva et al. 2020)
				<i>MTHFR</i> je uključen u sintezu mlečnih proteina (Menzies et al., 2009).

nastavak Tabele 2.

16	43-44	37.46	<i>DISP3, ANGPTL7, EXOSC10, SRM, MASP2, TARDBP, PEX14</i>	<i>EXOSC10</i> asociran je dugovečnošću kod HF krava (Steri et al. 2020).
16	44-45	36.81	<i>DFFA, CORT, CENPS, PGD, UBE4B, LOC112441838, NMNAT1, CTN-NBIP1, PIK3CD, TMEM201</i>	<i>NMNAT1</i> asociran je reproduktivnom efikasnošću krava (Mota et al., 2017, Khatkar, et al. 2014)
16	45-46	30.29	<i>SPSB1, MIR34A, SLC2A5, CA6, ENO1, MIR2285CK, SLC45A1, LOC786597</i>	Gen <i>ENO1</i> je bio značajno povezan sa plodnošću bikova (Park et al. 2012)
22	21-22	30.62	<i>EDEM1, ARL8B, BHLHE40, ITPR1, MIR2285AM</i>	<i>BHLHE40</i> asociran je sadržajem mlečnih proteina (Singh et al. 2022)
22	22-23	34.20	<i>SUMF1, SETMAR, LRRN1</i>	Gen <i>SUMF1</i> povezan je prinosom mleka kod HF krava (Pedrosa et al. 2021)
26	21-22	37.13	<i>CHUK, CWF19L1, SCD, MIR12016, SEC31B, NDUFB8, HIF1AN, SLF2, SEMA4G, MRPL43, TWNK, LZTS2, SFXN3, TLX1, LBX1</i>	Gen <i>SCD</i> povezan je sa nezasićenim masnim kiselinama srednjeg i dugog lanca mleka u populaciji kineskih HF krava (Li et al., 2016).
26	22-23	42.02	<i>BTRC, POLL, DPCD, FBXW4, FGF8, NPM3, OGA, KCNIP2, HPS6, PPRC1, NOLC1, ELOVL3, PITX3, GBF1, NFKB2, PSD, FBXL15, CUEDC2, MIR146B, MFS-D13A, ACTR1A, SUFU</i>	Wang et al. 2016 uočili su značajno povećanje nivoa ekspresije <i>MIR146B</i> u tkivu inficirane mlečne žlezde goveda subkliničkim, kliničkim i eksperimentalnim mastitisom.
26	23-24	34.85	<i>TRIM8, ARL3, SFXN2, MIR2392, CYP17A1, AS3MT, CNNM2, NT5C2</i>	<i>CNNM2</i> povezali su prinosom mleka kod HF krava (Jiang et al., 2019)

DISKUSIJA

Nivo inbridinga u populaciji je značajan parametar praćenja i upravljanja genetskim diverzitetom. Visok nivo inbridinga uzrokuje inbriding depresiju u

srodstvu i treba ga izbegavati kod farmskih životinja (Fernandez et al. 2002). Negativni efekti na proizvodne i reproduktivne karakteristike mlečnih krava u vezi su sa povećanjem inbridinga (Bjelland et al. 2013). Inbriding se najčešće određuje korišćenjem podataka o pedigreu. Međutim, koeficijent inbridinga zasnovan na pedigreu, poseduje određena ograničenja. Inbriding je široko prihvaćen koncept za karakterizaciju evolucije, diverziteta i opšte strukture populacije, te se može proučavati na različitim nivoima, počevši od jedinke, stada, pa do nivoa populacije (Howard et al. 2017; Ablondi et al. 2022) ili čak unutar konzorcijuma (npr. centri za veštačko osemenjavanje ili farme mlečnih goveda; Ablondi et al. 2021). Dolaskom do ovih saznanja omogućeno je bolje upravljanje diverzitetom i genetikom životinja, kontrolisanje depresije inbridinga ali i očuvanje manjih populacija. Za izračunavanje genomskog inbridinga u našem istraživanju, korišćene su genomske informacije dobijene pomoću SNP čipa srednje gustine (63 648 markera). Sa dobijenim SNP podacima, očekivane vrednosti inbridinga se zamenjuju dobijenim merenjima homozigotnosti, za koje se smatra da su precizniji način za procenu inbridinga i da bolje odražavaju nivo homozigotnosti. Posebno je važna kontrola stepena inbridinga u populacijama goveda, zbog toga što se za uzgoj koristi samo mali broj životinja iz cele populacije. U našem istraživanju, najmanje detektovanih ROH je bilo najveće dužine (>16 Mbp, nedavni inbriding) od čega 45 procenata životinja uopšte nije imalo $ROH_{>16\text{ Mb}}$, a što je približno rezultatima Doekes et al. (2019), koji u svom istraživanju kod 26 procenata ispitanih krava nisu uočili $ROH_{>16\text{ Mb}}$. Naši rezultati su u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima (McQuillan et al. 2008; Marras et al. 2015; Forutan et al. 2018) u kojima su kratki $ROH_{<2\text{ Mbp}}$ uočavani češće nego dugi ROH. U okviru naših nalaza srednje vrednosti broja ROH po životinji, posmatrano kroz različite kategorije (1 do 2 Mbp: 30,140; 2 do 4 Mbp: 17,505; 4 do 8 Mbp: 8,679; 8 do 16 Mbp: 3,992; >16 Mbp: 1,726, pojedinačno), u saglasnosti su sa rezultatima Marras et al. (2015) koji su utvrdili sledeće: 1 do 2 Mbp: 46,5; 2 do 4 Mbp: 17,0; 4 do 8 Mbp: 9,7; 8 do 16 Mbp: 5,9; >16 Mbp: 3,0. Prosečna vrednost genomskog inbridinga F_{ROH} u našem istraživanju izračunata je korišćenjem SVS Golden Helix softvera i iznosila je 0,079, što je nešto niže od vrednosti koje su dobili Marras et al. (2015) u populaciji italijanskih HF goveda (0,116), dok su Mekanjuola et al. (2020) koristeći SNP1101 softver i PLINK softver u populaciji kanadskih HF goveda dobili vrednost F_{ROH} 0,136 i 0,156, pojedinačno. U poređenju sa literaturnim navodima drugih autora, naši rezultati sugerišu nizak nivo nedavnog i ukupnog inbridinga u ispitivanoj populaciji HF goveda.

Određivanje nedavnih potpisa pozitivne selekcije kod domaćih životinja može pružiti informacije o genomskim regionima koji su pod uticajem veštačke i prirodne selekcije i na taj način pomoći u identifikaciji korisnih mutacija i osnovnih bioloških puteva za ekonomski važne osobine. Ustanovljeno je više različitih pristupa za otkrivanje potpisa selekcije, dok smo u ovom našem istraživanju koristili ROH kao parametar za njihovo otkrivanje. Najsavremenija metoda za analizu inbridinga u populacijama životinja su ROH. Štaviše, ROH su pogodni za otkrivanje potpisa selekcije preko identifikacije ROH ostrva. ROH ostrva se mogu

definisati kao genomski regioni sa smanjenim genetskim diverzitetom i posledično tome, visokom homozigotnošću oko odabranog lokusa koji bi mogao da sadrži ciljane regione pozitivne selekcije, a koji su pod jakim selektivnim pritiskom. U našem istraživanju, ROH ostrva su uočena na hromozomima 1, 7, 10, 16, 22 i 26, a na hromozomu 1 je detektovana najveća stopa ROH. Ostrva ROH na hromozomu BTA1 su identifikovana i u drugim populacijama goveda od strane Purfield et al. (2012), Mastrangelo et al. (2016) i Gurgul et al. (2016). Naši rezultati ukazuju na postojanje ROH ostrva na BTA1 veličine 2 Mbp (od 83 do 85 Mbp). Kod 45 procenata životinja, iz ispitivane populacije, javljaju se potpisi selekcije u vidu gena: *PARL*, *YEATS2*, *KLHL24*, a Serão et al. (2013) su otkrili asocijaciju ove regije sa rezidualnim unosom hrane (residual feed intake - RFI) kod angus i simentalske rase goveda. Gaddis et al. (2017) su otkrili povezanost gena *DHRS7* i *SIX6* sa brojem embriona kod HF krava. Menzies et al. (2009) su u svom radu opisali asocijaciju *MTHFR* sa sintezom mlečnih proteina. Khatkar et al. (2014) i Mota et al. (2017) su utvrdili vezu između *NMNAT1* gena i reproduktivne efikasnosti krava, dok su Park et al. (2012) opisali značajnu povezanost gena *ENO1* sa plodnošću bikova. Pored prethodno navedenih gena, koji se dovode u vezu sa reproduktivnim osobinama goveda, a koji su otkriveni i u našem istraživanju, pojedini autori opisuju gene povezane sa proizvodnim i zdravstvenim parametrima. Singh et al. (2022) su uočili asocijaciju gena *BHLHE40* sa sadržajem proteina mleka, dok su Pedrosa et al. (2021) otkrili povezanost gena *SUMF1* sa prinosom mleka kod krava, a Jiang et al. (2019) i Wang et al. (2016) su uočili značajno povećanje nivoa ekspresije *MIR146B* u tkivu inficirane mlečne žlezde goveda sa subkliničkim, kliničkim i eksperimentalnim mastitisom.

ZAKLJUČCI

Utvrđena je povezanost između detektovanih ROH ostrva produktivnih karakteristika mlečnih grla, ali i regija u genomu pod pritiskom selekcije na druge ekonomski važne osobine goveda. Rezultati analize ROH segmenata ukazuju na nizak nivo nedavnog i ukupnog genetskog inbridinga u ispitivanoj populaciji HF goveda. Naši nalazi, ali i nalazi drugih autora, navode na zaključak da otkriveni geni i ROH ostrva mogu biti u vezi i sa drugim proizvodnim, zdravstvenim i reproduktivnim parametrima goveda, a koji mogu služiti kao korisni markeri za savremene programe selekcije u našoj zemlji, ali i šire.

Zahvalnica:

Ovo istraživanje je finansirano od strane Međunarodne agencije za atomsku energiju (*International Atomic Energy Agency - IAEA*) iz projekta 20774, kojim rukovodi prof. dr Zoran Stanimirović.

LITERATURA

Spisak referenci (50) se može dobiti na lični zahtev od autora za korespondenciju.

IDENTIFICATION OF PRODUCTIVE AND REPRODUCTIVE TRAIT SELECTION SIGNATURES AND LEVEL OF GENOMIC INBREEDING IN POPULATION OF SERBIAN HOLSTEIN-FRIESIAN COWS

**Marko Ristanić, Minja Zorc, Uroš Glavinić, Jovan Blagojević,
Milan Maletić, Peter Dovč, Zoran Stanimirović**

Summary

Monitoring inbreeding levels in livestock is very important considering that increasing relatedness between animals leads to rapid loss of genetic variability and negative phenotypic effects associated with inbreeding depression. Identification of positive selection signatures in domestic animals can provide information on genomic regions affected by artificial and natural selection and thus help identify beneficial mutations and biological pathways for economically important traits. Our study aimed to identify ROH segments, assess the extent of genomic inbreeding (FROH), and identify ROH islands as markers of genomic regions under selection pressure in 334 Holstein-Friesian cows (HF) using the Axiom Bovine BovMDv3 SNP chip with 63 648 predefined loci of interest in the *Bos taurus* genome. The majority of the ROH detected were in the length category of 1 to 2 Mbp. The total length of all ROH segments per animal was 197.92 Mbp, whereas in the animal with the largest total ROH length (433,37 Mbp), 17% of autosomes were covered by ROH. The level of genomic inbreeding (FROH) in the mentioned animal is 0.173 and in the least inbred animal is 0.005. The genomic inbreeding in the studied population is 0.079 on average, which indicates a low level of recent and total genomic inbreeding in the studied population of HF cattle. ROH islands were detected on chromosomes 1, 7, 10, 16, 22 and 26. The highest ROH rate (45% of animals) was observed on chromosome BTA1 on markers AX-106742409 (rs41578805), AX-106740136 (rs109562914), AX-106719581 (rs41603780), AX-185115133 (rs523828967) and AX-124379394 (rs110792335) harbouring genes: *PARL*, *YEATS2* and *KLHL24*. The ROH analysis indicate a low level of recent and total genomic inbreeding in the investigated HF population. ROH islands in the studied population of HF cows revealed putative genomic regions under selection pressure on production, reproduction and other economically important traits.

Key words: FROH, Holstein-Friesian cattle, ROH, ROH islands, selection signature, SNP array

CIP - Каталогизација у публикацији - Народна библиотека Србије,
Београд

636.09:616(082)

614.31(082)

САВЕТОВАЊЕ ветеринара Србије (33 ; 2022 ; Златибор)

Zbornik radova i kratkih sadržaja / 33. savetovanje veterinara Srbije,
Zlatibor, 8-11. septembar 2022. = 33rd Conference of Serbian Veterinarians,
Zlatibor, September 8-11. 2022. ; [urednici Vladimir Dimitrijević i Miodrag
Lazarević]. - Beograd : Srpsko veterinarsko društvo, 2021 (Beograd : Naučna
KMD). - VIII, 584 str. : ilustr. ; 24 cm

Tiraž 500. - Summaries. - Bibliografija uz svaki rad.

ISBN 978-86-83115-47-1

а) Ветеринарска медицина - Зборници б) Ветеринарска
епизоотиологија -
Зборници с) Животне намирнице - Хигијена - Зборници

COBISS.SR-ID 73633289