



Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Aneta Piplica

**GENETSKA VARIJABILNOST I UTJECAJ
JEDNONUKLEOTIDNIH
POLIMORFIZAMA GENA LEPTINA,
LEPTINSKOG RECEPTORA I
NEUROPEPTIDA Y NA SVOJSTVA
PLODNOSTI IZVORNE PASMINE
GOVEDA BUŠA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2024.



Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Aneta Piplica

**GENETSKA VARIJABILNOST I UTJECAJ
JEDNONUKLEOTIDNIH
POLIMORFIZAMA GENA LEPTINA,
LEPTINSKOG RECEPTORA I
NEUROPEPTIDA Y NA SVOJSTVA
PLODNOSTI IZVORNE PASMINE
GOVEDA BUŠA**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Sven Menčik

Zagreb, 2024.



University of Zagreb

Faculty of Veterinary Medicine

Aneta Piplica

GENETIC VARIABILITY AND THE
EFFECT OF SINGLE-NUCLEOTIDE
POLYMORPHISMS OF LEPTIN, LEPTIN
RECEPTOR, AND NEUROPEPTIDE Y
GENES ON FERTILITY TRAITS OF THE
NATIVE BUSHA CATTLE BREED

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:

Sven Menčik, PhD, Associate Professor

Zagreb, 2024.



Sveučilište u Zagrebu
VETERINARSKI FAKULTET

IZJAVA

Ja, _____ (*ime i prezime studenta*),
potvrđujem da je moj doktorski rad izvorni rezultat mojega rada te da se u
njegovoj izradi nisam koristio/-la drugim izvorima do onih navedenih u radu.

(potpis studenta)

Zagreb, 2024

Doktorski rad izrađen je u Zavodu za uzgoj životinja i stočarsku proizvodnju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Sven Menčik

Predstojnica:

prof. dr. sc. Anamaria Ekert Kabalin

Doktorski rad sadrži:

232 stranice,

40 tablica,

4 slike,

3 priloga.

Doktorski rad predan je na ocjenu Fakultetskom vijeću Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti iz znanstvenog područja Biomedicina i zdravstvo, polja Veterinarska medicina, grane Animalna proizvodnja i biotehnologija.

SAŽETAK

Istraživanje je provedeno u populaciji izvorne pasmine goveda buša u Republici Hrvatskoj. Cilj ovog doktorskog rada bio je i) analizirati strukturu i genetsku varijabilnost populacije, ii) procijeniti vrijednosti reprodukcijskih pokazatelja, iii) otkriti jednonukleotidne polimorfizme u kodirajućim i nekodirajućim regijama gena za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) i neuropeptid Y (NPY), iv) procijeniti utjecaj jednonukleotidnih polimorfizama (engl. *Single Nucleotide Polymorphisms*, SNP) LEP, LEPR i NPY gena te negenetskih čimbenika na reprodukcijsku učinkovitost krava. Pomoću lančane reakcije polimeraze (engl. *Polymerase Chain Reaction*, PCR) umnoženi su odsječci genomskih regija i to egzona 2 (467 pb) i 3 (496 pb) LEP gena, egzona 5 (473 pb) i 19 (513 pb) LEPR gena te egzona 1 (188 pb), 2 (323 pb) i 3 (288 pb) NPY gena. Umnoženi PCR produkti podvrgnuti su metodi ciljanog genomskog sekvenciranja na platformi Illumina HiSeq™ PE150. Regresijskom analizom u općim linearnim modelima istražen je utjecaj varijabli geografskog područja podrijetla, sezone rođenja, godine rođenja, veličine stada, utjecaja rasplodnjaka, rednog broja telenja, individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu te pojedinačnog učinka jednonukleotidnih polimorfizama LEP, LEPR i NPY gena na pokazatelje reprodukcijske učinkovitosti. Ukupna populacija izvorne pasmine goveda buša u Republici Hrvatskoj kroz promatrano 36-godišnje razdoblje, iznosila je 10 411 životinja. Koeficijent uzgoja u srodstvu u ukupnoj populaciji iznosio je 2,44 %. Prosječno trajanje rasplodne uporabe krava iznosilo je 5,9 godina, dok je prosječna vrijednost reprodukcijskog pokazatelja dobi pri prvom telenju iznosila 33,3 mjeseca, međutelidbenog razdoblja 490 dana, a servisnog razdoblja 367 dana. Učestalost genotipova većine otkrivenih SNP-ova LEP, LEPR i NPY gena nije bila raspodjeljena u skladu s Hardy-Weinberg-ovom ravnotežom ($P > 0,05$). Varijacije u reprodukcijskim pokazateljima dobi pri prvom telenju, međutelidbenom i servisnom razdoblju te trajanju gravidnosti objašnjene su relativno manjim vrijednostima koristeći opće linearne regresijske modele (R^2 od 36,18 do 48,75 %). Za SNP-ove LEP gena (LEP02, LEP04, LEP06) zabilježena je značajna povezanost s trajanjem servisnog razdoblja ($P < 0,05$). Varijacije u vrijednostima reprodukcijskih pokazatelja, kao što su dob pri prvom telenju, međutelidbeno i servisno razdoblje te trajanje gravidnosti u regresijskim modelima najvećim dijelom objašnjene su učinkom sezone rođenja, godine rođenja, utjecaja rasplodnjaka u stadu te veličinom stada.

Ključne riječi: izvorne pasmine goveda, buša, reprodukcijska učinkovitost, genetska varijabilnost, SNP, gen LEP, gen LEPR, gen NPY, negenetski čimbenici

EXTENDED ABSTRACT

Genetic variability and the effect of single-nucleotide polymorphisms of leptin, leptin receptor, and neuropeptide y genes on fertility traits of the native cattle breed Busha

INTRODUCTION

The research of this doctoral thesis assumed that in the population of the native breed of Busha cattle, there is a different rate of inbreeding by generation, which with the influence of single nucleotide polymorphisms of the leptin (LEP), leptin receptor (LEPR) and neuropeptide Y (NPY) genes and environmental factors can significantly explain the variability of fertility traits. Therefore, the aim of this research was in the Croatian native cattle breed Busha to a) analyze the population structure and genetic variability, b) determine the values of reproductive efficiency parameters of the first and successive calvings, calving interval and service period and gestation length in the population of breeding cows, c) identify single nucleotide polymorphisms in the coding and non-coding regions of the LEP, LEPR and NPY gene, d) assess the influence of single nucleotide polymorphisms of the LEP, LEPR and NPY genes and environmental factors on fertility traits.

MATERIAL AND METHODS

The data used in this research were compiled from the Directorate for Livestock and Food Quality of the Ministry of Agriculture of Croatia and the Veterinary Information System (VetIs) database and include identification numbers for cows, bulls, and calves, their dates of birth, sex, and geographical area of origin. The data analysis covered the period from January 1987 to December 2022. Total population (TP) of 10,411 animals was considered. From the total number of the animals, the reference population was distinguished including 6,057 animals. Breeding cows that had produced at least one offspring were categorized as breeding population. The following demographic parameters were calculated: effective population size, average relatedness of individuals, generation intervals, and the coefficient of inbreeding. For the analysis of reproductive efficiency in the breeding population, data were taken on a) total number of calvings, b) age at first and subsequent matings and calvings, c) calving interval, d) gestation length and e) service period. Environmental factors included in the analysis were season and year of calving, area of geographic origin, herd size, sire effect, parity, individual inbreeding coefficient and SNP effect of LEP, LEPR and NPY genes. Genomic deoxyribonucleic acid (DNA) was isolated on blood clot samples. Using Polymerase Chain

Reaction (PCR), fragments of genomic regions were amplified according to primers for the coding regions of exons 2 (467 pb) and 3 (496 pb) of the LEP gene, exons 5 (473 pb) and 19 (513 pb) of LEPR gene and exons 1 (188 pb), 2 (323 pb) and 3 (288 pb) of the NPY genes. The PCR products were purified and pooled, whereby one pooled biological sample of a cow contained the specified segments of the genomic regions of the LEP, LEPR, and NPY genes. Sequencing libraries were prepared, and the samples were sequenced using target genome sequencing method on the Illumina HiSeq™ PE150 platform. Data obtained by sequencing were subjected to bioinformatics analysis in order to map the analyzed sequences to the bovine reference genome and identify SNPs. The observed reproductive characteristics of age at first calving, calving interval, service period and gestation length were analyzed by regression analysis using general linear models (GLM). Results of the analysis of regression models for each trait were described by the Least Square Mean (LSM) and confidence intervals (95 %). The significance of the differences between the variables was tested by analysis of variance. At the same time, the coefficient of determination (R^2) explained how much of the dependent variable of the investigated trait was explained based on independent variables and models.

RESULTS

The total population of the native cattle breed Busha in the Republic of Croatia during the observed 36-year period amounted to 10,411 animals. The reference population consisted of a total of 6,064 animals, of which 5,381 were female (88.73%) and 683 (12.23%) were male. In the breeding population, 3,160 individuals were recorded, including 2,882 cows (91.20%) and 278 breeding bulls (8.80%). The completeness of pedigrees in the overall population, considering the first parental generation, was 97.08%, while in the reference population, it was 99.05%. In the total population, the average number of all known generations was 4.62, the average number of complete generations was 2.07, and the average number of equivalent complete generations was 2.92. The average inbreeding coefficient (F) was 2.44%, with a variation range from 0.00 to 42.62%, while the average relatedness coefficient (AR) was 3.55%. The effective population size (N_e) calculated in the reference population using the individual increase in inbreeding (F_x) was 60.36. In this study, the average duration of reproductive use of cows was 5.9 years, ranging from 2.6 to 8.3 years. The average age at first calving was 33.3 months. Observing the total population, the average calving interval was 490 days, ranging from 341 to 515 days, and the service period lasted 367 days. The frequency of genotypes of most detected SNPs of the LEP, LEPR, and NPY genes was not distributed according to the

Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$). Variations in reproductive parameters, including age at first calving, calving interval, service period, and gestation length, were explained by relatively lower values in the models (R^2 from 36.18% to 48.75%). The greatest contribution to variations in reproductive parameters were the effects of season and year of birth, herd size, and the influence of the sire in the herd. Significant associations ($P < 0.05$) were found for LEP gene SNPs (LEP02, LEP04, LEP06) with the length of the service period. Breeding cows with the homozygous CC genotype had a shorter service period duration (LSM = 173.71 days) compared to cows with the heterozygous genotype CT, in which the service period value was 242.05 days. The same results for the effect on the service period were also observed for the LEP04 SNP. SNP LEP06 showed a significant effect on the service period, with animals with the homozygous TT genotype having a shorter service period, which was 118.79 days, compared to animals with the heterozygous genotype CT (142.82 days).

CONCLUSION

In the total, reference and breeding population of the native cattle breed Busha, an increase in the inbreeding coefficient was observed alongside a simultaneous increase in the number of animals. Based on the pedigree data assessment, the results indicate the presence of genetic variability in the total, reference, and breeding populations. However, certain results were lower than the recommended values, which could lead to a possible increase in relatedness between animals, potentially impacting the long-term preservation of the population. The values of population parameters for reproductive efficiency, such as age at first mating, age at first and subsequent calvings, calving interval and service periods, showed noticeable variability. The identified single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the genes for leptin (LEP), leptin receptor (LEPR), and neuropeptide Y (NPY) revealed low genetic variability in the studied population of breeding cows. Additionally, no significant influence of the SNPs on reproductive parameters such as age at first calving, calving interval, service period, and gestation length was observed. The inbreeding coefficient had a significant impact only on the age at first calving. Variations in the values of reproductive parameters, such as age at first calving, calving interval, service period, and gestation length in the regression models were largely explained by the effects of the calving season, year, the sire influence, and herd size.

Key words: native cattle breed, Busha cattle, reproductive efficiency, genetic variability, SNP, LEP gene, LEPR gene, NPY gene, non-genetic factors

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	3
2.1. Razvoj i pripitomljavanje goveda	3
2.1.1. Izvorna pasmina goveda buša	6
2.1.1.1. Povijest pasmine	6
2.1.1.2. Opis pasmine	9
2.1.1.3. Istraživanja izvorne pasmine goveda buša na području Republike Hrvatske	10
2.2. Genetska varijabilnost	13
2.2.1. Istraživanja genetske varijabilnosti u izvornih pasmina goveda	16
2.3. Reprodukcijski pokazatelji	26
2.3.1. Dob pri prvom telenju	28
2.3.2. Servisno razdoblje	30
2.3.3. Trajanje gravidnosti	31
2.3.4. Međutelidbeno razdoblje	32
2.4. Istraživanja jednonukleotidnih polimorfizama gena za leptin (LEP), gena za leptinski receptor (LEPR) i gena za neuropeptid Y (NPY)	33
2.4.1. Leptin	33
2.4.1.1. Istraživanja jednonukleotidnih polimorfizama gena za leptin (LEP)	35
2.4.2. Leptinski receptor	39
2.4.2.1. Istraživanja jednonukleotidnih polimorfizama gena za leptinski receptor (LEPR)	39
2.4.3. Neuropeptid Y	41
2.4.3.1. Istraživanja jednonukleotidnih polimorfizama gena za neuropeptid Y (NPY)	42
3. OBRAZLOŽENJE TEME	44
4. MATERIJAL I METODE	45
4.1. Materijal	45
4.1.1. Životinje obuhvaćene istraživanjem	45
4.1.2. Životinje odabrane za genotipizaciju	45
4.1.2.1. Uvjeti držanja životinja	46

4.2. Metode	47
4.2.1. Analiza strukture populacije	47
4.2.2. Analiza genetske varijabilnosti	48
4.2.2.1. Informativnost i kompletnost rodovnika	48
4.2.2.2. Efektivan broj osnivača, značajnih predaka i genoma osnivača	48
4.2.2.3. Generacijski interval	49
4.2.2.4. Uzgoj u srodstvu i srodnost predaka u rodovniku	49
4.2.2.5. Efektivna veličina populacije	50
4.3. Pokazatelji reproduktivne učinkovitosti	51
4.4. Negenetski čimbenici	51
4.5. Analiza jednonukleotidnih polimorfizama gena za leptin (LEP), gena za leptinski receptor (LEPR) i gena za neuropeptid Y (NPY)	52
4.5.1. Izolacija genomske deoksiribonukleinske kiseline (DNK)	52
4.5.2. Umnažanje kodirajućih i nekodirajućih genomskih regija LEP, LEPR i NPY gena lančanom reakcijom polimeraze (engl. <i>Polymerase Chain Reaction</i> , PCR)	53
4.5.3. Pročišćavanje umnoženih PCR produkata	59
4.5.4. Priprema knjižnice za sekvenciranje	59
4.6. Bioinformatička obrada podataka	60
4.7. Statistička obrada podataka	61
5. REZULTATI	65
5.1. Struktura populacije	65
5.2. Genetska varijabilnost	75
5.2.1. Informativnost i kompletnost rodovnika	75
5.2.2. Efektivan broj osnivača, predaka i genoma osnivača	76
5.2.3. Generacijski interval	77
5.2.4. Uzgoj u srodstvu i srodnost predaka u rodovniku	79
5.2.5. Efektivna veličina populacije	83
5.3. Parametri reproduktivnih pokazatelja	84
5.3.1. Dob pri uspješnoj koncepciji	86
5.3.2. Dob pri telenju	87
5.3.3. Servisno razdoblje	88

5.3.4. Trajanje gravidnosti	89
5.3.5. Međutelidbeno razdoblje	89
5.4. Genska varijabilnost gena za leptin (LEP), leptinski reeptor (LEPR) i neuropeptid Y (NPY)	91
5.4.1. Jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptin (LEP)	91
5.4.2. Jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptinski receptor (LEPR)..	96
5.4.3. Jednonukleotidni polimorfizmi gena za neuropeptid Y (NPY)	100
5.5. Procjena utjecaja koeficijenta uzgoja u srodstvu, jednonukleotidnih polimorfizama LEP, LEPR i NPY gena i negenetskih čimbenika na reprodukcijske pokazatelje	104
5.5.1. Dob pri prvom telenju	104
5.5.2. Servisno razdoblje	114
5.5.3. Trajanje gravidnosti	125
5.5.4. Međutelidbeno razdoblje	129
6. RASPRAVA	139
6.1. Struktura populacije	139
6.2. Genetska varijabilnost	142
6.3. Genska varijabilnost jednonukleotidnih polimorfizama LEP, LEPR i NPY gena	150
6.3.1. Jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptin (LEP)	150
6.3.2. Jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptinski receptor (LEPR)	154
6.3.3. Jednonukleotidni polimorfizmi gena za neuropeptid Y (NPY)	156
6.4. Utjecaj koeficijenta uzgoja u srodstvu, jednonukleotidnih polimorfizama LEP, LEPR i NPY gena i negenetskih čimbenika na reprodukcijske pokazatelje	157
6.4.1. Dob pri prvom telenju	157
6.4.2. Servisno razdoblje	162
6.4.3. Trajanje gravidnosti	166
6.4.4. Međutelidbeno razdoblje	169
7. ZAKLJUČCI	174
8. POPIS LITERATURE	176
9. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA	220
9.1. Životopis	220

9.2. Popis objavljenih radova	222
10. PRILOZI	229
10.1. Mogući novootkriveni jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptin (LEP)	230
10.2. Mogući novootkriveni jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptinski receptor (LEPR)	232
10.3. Mogući novootkriveni jednonukleotidni polimorfizmi gena za neuropeptid Y (NPY)	234

POPIS TABLICA I SLIKA

TABLICE

Tablica 1. Tipovi pasmine buša goveda uzgajani u regijama i državama Balkanskog poluotoka (Prilagođeno prema: RAMLJAK i sur., 2018.)	8
Tablica 2. Odabrane početnice umnoženih odsječaka gena LEP, LEPR i NPY	50
Tablica 3. Sastav reakcijskih smjesa i koncentracije reagensa korištenih za umnažanje odsječaka kodirajućih regija 2 i 3 LEP gena, 5 i 19 LEPR gena i 1, 2 i 3 NPY gena	51
Tablica 4. PCR postupak umnažanja odsječaka egzonskih regija 2 i 3 LEP gena	52
Tablica 5. PCR postupak umnažanja odsječaka kodirajućih regija 5 i 19 LEPR gena	52
Tablica 6. PCR postupak umnažanja odsječaka egzonskih regija 1, 2 i 3 NPY gena	53
Tablica 7. Zastupljenost rodova krava s brojem potomaka po rodu u ukupnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša kroz istraživano razdoblje od 1987. do 2022. godine.....	63
Tablica 8. Broj registriranih potomaka te udio muških i ženskih potomaka po linijama bikova u ukupnoj populaciji	67
Tablica 9. Reprodukcijski pokazatelji i selekcijski pritisak u rasplodnih bikova i krava izvorne pasmine goveda buša u ukupnoj populaciji s obzirom na broj registriranih životinja od 1987. do 2022. godine	69
Tablica 10. Poredbeni podaci analize rodovnika u ukupnoj, referentnoj i rasplodnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša kroz promatrano razdoblje od 1987. do 2022. godine	72
Tablica 11. Generacijski intervali i prosječna dob roditelja izražena u godinama pri rođenju njihova potomstva u ukupnoj i referentnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša	74
Tablica 12. Distribucija i udio jedinki prema rasponu individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu u ukupnoj populaciji	77
Tablica 13. Distribucija prosječnog koeficijenta uzgoja u srodstvu (F) i srodnosti (AR) prema generacijskim skupinama u petogodišnjim intervalima u ukupnoj i rasplodnoj populaciji ..	78
Tablica 14. Dob junica i krava pri prvom i uzastopnim uspješnim koncepcijama prema rednom broju telenja izraženi u mjesecima	81
Tablica 15. Dob junica i krava pri prvom i uzastopnim telenjima prema rednom broju telenja izražena u mjesecima	82
Tablica 16. Dob krava za reprodukcijski pokazatelj servisno razdoblje prema rednom broju telenja izražena u danima	84

Tablica 17. Dob krava za reproduksijski pokazatelj međutelidbeno razdoblje prema rednom broju telenja izražena u danima	85
Tablica 18. Jednonukleotidni polimorfizmi (SNP) utvrđeni u genu za leptin (LEP)	88
Tablica 19. Učestalost genotipova i alela jednonukleotidnih polimorfizama (SNP) utvrđenih u genu za leptin (LEP)	90
Tablica 20. Jednonukleotidni polimorfizmi (SNP) utvrđeni u genu za leptinski receptor (LEPR)	93
Tablica 21. Učestalost genotipova i alela jednonukleotidnih polimorfizama (SNP) utvrđenih u genu za leptinski receptor (LEPR)	94
Tablica 22. Jednonukleotidni polimorfizmi utvrđeni u genu za neuropeptid Y (NPY)	97
Tablica 23. Učestalost genotipova i alela jednonukleotidnih polimorfizama (SNP) utvrđenih u genu za neuropeptid Y (NPY)	98
Tablica 24. Analiza varijance i koeficijent determinacije regresijskog modela (R^2) u istraživanju utjecaja negenetskih čimbenika na reproduksijski pokazatelj dob pri prvom telenju	100
Tablica 25. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) nezavisnih varijabli uključenih u analizu regresijskog modela za reproduksijski pokazatelj dob pri prvom telenju izraženi u danima	101
Tablica 26. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) za dob pri prvom telenju izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptin (LEP) i negenetske čimbenike	104
Tablica 27. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) za dob pri prvom telenju izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptinski receptor (LEPR) i negenetske čimbenike	106
Tablica 28. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) za dob pri prvom telenju izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za neuropeptid Y (NPY) i negenetske čimbenike	108
Tablica 29. Analiza varijance i koeficijent determinacije regresijskog modela (R^2) u istraživanju utjecaja negenetskih čimbenika na reproduksijski pokazatelj servisno razdoblje	110
Tablica 30. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) nezavisnih varijabli uključenih u analizu regresijskog modela za reproduksijski pokazatelj servisno razdoblje	111

Tablica 31. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za servisno razdoblje izračunati u regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptin (LEP) i negenetske čimbenike	114
Tablica 32. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) za servisno razdoblje izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptinski receptor (LEPR) i negenetske čimbenike	116
Tablica 33. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) za servisno razdoblje izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za neuropeptid Y (NPY) i negenetske čimbenike	118
Tablica 34. Analiza varijance i koeficijent determinacije regresijskog modela (R^2) u istraživanju utjecaja negenetskih čimbenika na reprodukcijski pokazatelj međutelidbeno razdoblje	120
Tablica 35. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) nezavisnih varijabli uključenih u analizu regresijskog modela za reprodukcijski pokazatelj trajanje gravidnosti	121
Tablica 36. Analiza varijance i koeficijent determinacije regresijskog modela (R^2) u istraživanju utjecaja negenetskih čimbenika na reprodukcijski pokazatelj međutelidbeno razdoblje	125
Tablica 37. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) nezavisnih varijabli uključenih u analizu regresijskog modela za reprodukcijski pokazatelj međutelidbeno razdoblje izraženi u danima	127
Tablica 38. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za međutelidbeno razdoblje izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptin (LEP) i negenetske čimbenike	129
Tablica 39. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za međutelidbeno razdoblje izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptinski receptor (LEPR) i negenetske čimbenike	131
Tablica 40. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za međutelidbeno razdoblje izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za neuropeptid Y (NPY) i negenetske čimbenike	132

SLIKE

Slika 1. Evolucija goveda tijekom vremenskog razdoblja od 700 000 godina, od pragoveda (<i>Bos taurus primigenius (Aurochs)</i>) do današnjeg domaćeg goveda (<i>Bos taurus taurus</i>); izvor: (AJMONE-MARSAN i sur., 2010.)	4
Slika 2. Stado izvorne pasmine goveda buša u Lici. Primjer očuvanja pasmine u izvornom okruženju (<i>in situ</i> model).....	12
Slika 3. Prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu (F) prosječna srodnost (AR) u odnosu na ukupan broj registriranih životinja u ukupnoj populaciji kroz promatrano razdoblje od 1987. do 2022. godine (cijela godina)	80
Slika 4. Fenotipske korelacije između pokazatelja reproduktivske učinkovitosti	85

POPIS KRATICA

KRATICA	ZNAČENJE
3'UTR	tri primarna neprevedena regija (engl. <i>3'prime untranslated region</i>)
AnGR	genetski životinjski resurs (engl. <i>Animal Genetic Resources</i>)
AR	prosječna srodnost (engl. <i>Average Relatedness</i>)
BCS	procjena tjelesne kondicije (engl. <i>Body Condition Score</i>)
BTA	goveđi kromosom (engl. <i>Bos taurus autosome</i>)
DNK	deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>Deoxyribonucleic acid</i>)
dNTP	deoksiribonukleotid (engl. <i>Deoxynucleotide Triphosphates</i>)
ECG	ekvivalentne potpune generacije (engl. <i>Equivalent Complete Generations</i>)
EDTA	etilendiamintetraoctena kiselina (engl. <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
FSH	folikulostimulirajući hormon (engl. <i>follicle-stimulating hormone</i>)
F	koeficijent uzgoja u srodstvu (engl. <i>fixation index</i>)
GnRH	gonadotropin-oslobađajući hormon (engl. <i>gonadotropin-releasing hormone</i>)
JAK	Janus kinaza (engl. <i>Janus kinase</i>)
kDa	Kilodalton
LEP	leptin (engl. <i>Leptin</i>)
LEPR	leptinski receptor (engl. <i>Leptin receptor</i>)
LH	luteinizirajući hormon (engl. <i>luteinizing hormone</i>)
LSM	korigirana srednja vrijednost (engl. <i>Least Square Means</i>)
MgCl ₂	magnezijev klorid
Mol	množina tvari
NPY	neuropeptid Y (engl. <i>Neuropeptide Y</i>)

pb	parovi baza
PCI	indeks potpunosti rodovnika (engl. <i>Pedigree Completeness Index</i>)
PCR	lančana reakcija polimeraze (engl. <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
rs	identifikacijski broj jednonukleotidnog polimorfizma (engl. <i>rs identifier</i>)
SNP	jednonukleotidni polimorfizam (engl. <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>)
STAT3	transduktor signala i aktivator transkripcije 3 (engl. <i>signal transducer and transcription activator 3</i>)
TAE	tris acetat EDTA
VetIS	Veterinarski informacijski sustav
µg	mikrogram
µL	mikrolitar

POPIS PRILOGA

Prilog 1. Mogući jednonukleotidni polimorfizmi zabilježeni u genu za leptin	230
Prilog 2. Mogući jednonukleotidni polimorfizmi utvrđeni u genu za leptinski receptor (LEPR)	232
Prilog 3. Mogući jednonukleotidni polimorfizmi utvrđeni u genu za neuropeptid Y (NPY)	234

1. UVOD

Genetska varijabilnost sadržana u genomima izvornih pasmina životinja i održivo upravljanje genetskim resursima domaćih životinja (engl. *Animal Genetic Resources*, AnGR) imaju ključnu ulogu u očuvanju biološke raznolikosti (FAO, 2015.; LEROY i sur., 2017.). Uspješno upravljanje životinjskim genetskim resursima podrazumijeva opsežne spoznaje o karakteristikama različitih pasmina, odnosno obuhvaća podatke o veličini i strukturi te genetskoj varijabilnosti populacije i svojstvima reproduksijske učinkovitosti (LEROY i sur., 2016.a). Uvid u unutarpopulacijsku strukturu i varijabilnost omogućuje procjenu pokazatelja poput uzgoja u srodstvu i efektivne veličine populacije. U istraživanju genetske varijabilnosti i glavnih pokazatelja genetske erozije, nužno je uzeti u obzir više generacija jedinki, odnosno provesti istraživanje uzimajući u obzir duže vremensko razdoblje. Uz to, bitno je istovremeno promatrati i ostale pokazatelje poput omjera spolova, dobne strukture stada, pojave populacijskog „uskog grla“ (engl. *population bottleneck*) u populaciji u smislu učestalog korištenja pojedinih rasplodnih jedinki te njihova genetskog doprinosa. Navedene spoznaje pružaju učinkovitu osnovu za odgovarajuće upravljanje genetskim resursima, pri tome iskorištavajući genetsku raznolikost u programima očuvanja te uzgojnim strategijama u poboljšanju populacija (BISCARINI i sur., 2015.).

Dosadašnja istraživanja provedena u populaciji izvorne pasmine goveda buša obuhvaćala su procjenu strukture populacije i genetske varijabilnosti nakon sistematizacije uzgoja (ČAČIĆ i sur., 2012.a,b,c,d.). Uslijed povećanja brojnosti populacije, postoji pretpostavka povećanja koeficijenta uzgoja u srodstvu. Stoga je u ovom istraživanju analizirana struktura i genetska varijabilnost populacije te utjecaj genetskih i negenetskih čimbenika na reproduksijsku učinkovitost.

Plodnost u krava opisana je kao sposobnost jedinke za uspješnu koncepciju, održi gravidnost, oteli se i ponovno bude reproduksijski aktivna. Optimalna reproduksijska učinkovitost najčešće podrazumijeva sposobnost krave da ostane gravidna u dobi između 14 i 16 mjeseci, oteli se u dobi od 24 mjeseca te ima međutelidbeno razdoblje u trajanju oko 365 dana (DISKIN i sur., 2014.). Za postizanje reproduksijske učinkovitosti mora postojati usklađenost između fizioloških procesa i postupaka upravljanja u stadu, zatim je važno u obzir uzeti genetsku osnovu pasmine, strukturu stada, pravilnu ishranu i opće zdravlje životinja te varijacije u negenetskim čimbenicima.

Jednonukleotidni polimorfizmi (engl. *Single Nucleotide Polymorphisms*, SNP) predstavljaju genetske markere koji se koriste kao važan pokazatelj genske varijabilnosti u populaciji. Učestalosti genotipova i alela mogu varirati između pasmina pa čak i različitih populacija iste pasmine. Genska varijabilnost unutar pasmina važna je za očuvanje njihovih jedinstvenih kombinacija genotipova i alela (BREUKELEN i sur., 2019.). Identificiranje određenih genomskih regija i kandidatnih gena u plemenitih, ali i izvornih pasmina goveda pridonosi razumijevanju bioloških mehanizama svojstava plodnosti, omogućavajući tako primjenu dobivenih spoznaja u unaprjeđenju reprodukcijske učinkovitosti u goveda (FONSECA i sur., 2018.).

U procjeni genske varijabilnosti i učinka gena na fenotipske pokazatelje funkcionalnih ili proizvodnih svojstava, važno je uzeti u obzir međusobnu interakciju genotipa i okoliša te postojanje pleiotropije (SWEET i sur., 2020.). Do danas, sveobuhvatan uvid u genetsku pozadinu svojstava plodnosti krava, odnosno genomskih regija i gena uključenih u specifične značajke fenotipa plodnosti još uvijek nisu dovoljno istraženi (SHAO i sur., 2021.).

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Razvoj i pripitomljavanje goveda

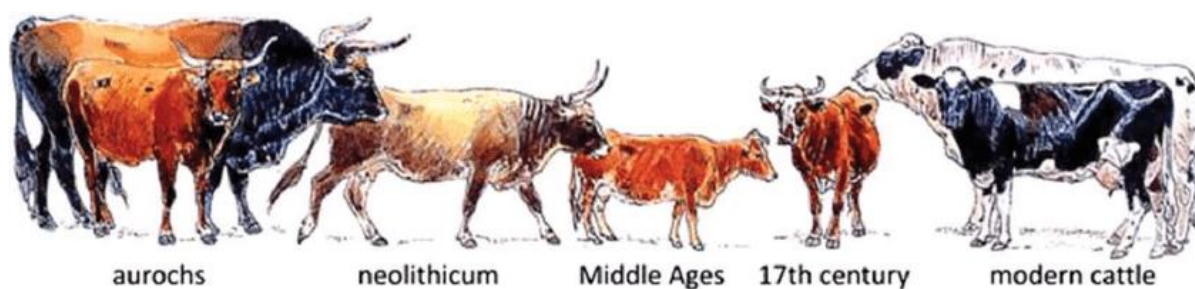
Goveda su vrsta pripitomljenih sisavaca iz porodice *Bovidae*, točnije potporodice *Bovinae* i zauzimaju jedinstveno mjesto u povijesti i razvitku civilizacije ljudske zajednice. Brojne filogenetske analize te istraživanja arheoloških ostataka kostiju drevnih goveda i današnjih prisutnih pasmina, nastoje razjasniti nastanak i podrijetlo te njihovu interakciju i karakteristike s ciljem dobivanja spoznaja o evoluciji goveda kao vrste (AJMONE-MARSAN i sur., 2010.; FELIUS i sur., 2014.; ZHANG i sur., 2020.; JOHNSON, 2023.).

Evolucijski razvoj papkara odnosno reda *Artiodactyla*, započeo je tijekom razdoblja paleogena, a najraniji pronađeni fosilni ostatci datiraju od prije 50 do 60 milijuna godina. Prije približno 20 do 25 milijuna godina, na prostorima Euroazije i Afrike pojavili su se *Eotragi*, prvi prethodnici svih danas živućih šupljorožaca čineći porodicu *Bovidae*, odnosno vrsta goveda, koza, ovaca, bizona i antilopa (LENSTRA i BRADLEY, 1999.). Tijekom razdoblja pleistocena, prije približno 1,8 milijuna godina, razvila se potporodica *Bovinae* kojoj pripadaju četiri glavna roda (*Bos*, *Bison*, *Bubalus* i *Syncerus*), a u Južnoj Africi pojavljuje se i *Bos planifrontis*, najstariji predstavnik roda *Bos* (BIBI, 2007.). Sagledavajući suvremenu podjelu, potporodicu *Bovinae* čine tri skupine kojima pripadaju različite vrste: a) jak (*Bos grunniens*), američki bizon (*Bison bison*) i europski bizon (*Bison bonasus*); b) gaur (*Bos gaurus*), gajal (*Bibos frontalis*) i banteng (*Bos javanicus*); c) govedo (*Bos taurus*) i grbavo indijsko govedo (*Bos indicus*) (FELIUS i sur., 2014.). Pretpostavlja se da je razdvajanje između ovih skupina započelo prije otprilike 3 do 5 milijuna godina, a procjene temeljene na novijim genomskim podacima smještaju ih u vremenski raspon od 0,5 do 1,7 milijuna godina (GAUTIER i sur., 2016.). Najveći broj današnjih pasmina goveda potječe iz roda *Bos* i to vrste domaće govedo (*Bos taurus*), zebu ili grbavo indijsko govedo (*Bos indicus*) te jak (*Bos grunniens*) (AJMONE i MARSAN, 2010.).

Od početka srednjeg pleistocena, odnosno 700 000 godina prije sadašnjosti, datiraju fosilni ostatci tura, nazivanog još i ur, koji se smatra pravgovedom i od kojeg potječe domaće govedo (*Bos taurus*) (ZHANG i sur., 2020.). Govedo tur, *Bos taurus primigenius* (*Aurochs*) jedan od najvećih biljojeda u pleistocenu i holocenu, bio je prisutan na području današnjeg euroazijskog kontinenta uključujući sjeverni dio Azije te Indiju i Afriku (AJMONE-MARSAN i sur., 2010.). Točnije, tur je bio dio pleistocenske megafaune i prema pretpostavci razvio se u Aziji, migrirajući na zapad i sjever tijekom toplih interglacijalnih razdoblja pleistocena i holocena. Najstariji datirani poznati fosilni ostaci tura potječu iz srednjeg pleistocena i

pronađeni su u Indiji i Sjevernoj Africi, dok su u Europi datirani u razdoblje holocena (KANTANEN i sur., 2009.). Tijekom posljednjeg glacijalnog razdoblja pleistocena, što predstavlja 12 000 godina prije sadašnjosti, populacija goveda tur smanjila se zbog gubitka staništa i intenzivnog lova, što je imalo za posljedicu smanjenje brojnosti, a potom i njegovim izumiranjem. Posljednji poznati tur u Europi uginuo je 1627. godine u šumi Jaktorów u Poljskoj (ROKOSZ, 1995.).

Najraniji arheološki ostatci pripitomljavanja i obitavanja današnjih domaćih goveda datiraju u doba neolitika, od 10 800 do 10 300 godina prije sadašnjosti u području *Plodnog polumjeseca*, odnosno današnje Mezopotamije (VIGNE, 2015.; ARBUCKLE i KASSEBAUM, 2021.). Ovo područje bilo je jedno od najranijih središta razvoja civilizacija ljudskih zajednica, zbog plodnog tla nastalog između rijeka Eufrata i Tigrisa, kao i zbog povoljnih klimatskih uvjeta za razvoj poljoprivrede. Tijekom neolitika, odvila su se dva neovisna smjera u kojem je pripitomljen tur. Jedan je rezultirao razvojem domaćeg goveda (*Bos taurus*) u *Plodnom polumjesecu* na Bliskom istoku, koje je kasnije stiglo u Europu preko Balkana i obala Sredozemnog mora prije otprilike 10 800 do 10 300 godina (PITT i sur., 2018.; ARBUCKLE i KASSEBAUM, 2021.), dok je pripitomljavanje indijskog tura (*Indian aurochs*) na Bliskom istoku dovelo do razvoja zebu goveda (*Bos indicus*) i to prije otprilike 4000 godina (LENSTRA i sur., 2012.). Nekoliko pasmina goveda koje se danas uzgajaju, pokazuje određene značajke koje podsjećaju na govedo tur, kao što su tamna boja dlake u bikova, svjetlija boja dlake u krava te svijetle jeguljaste pruge duž leđa i lirasti rogovi, a koji nalikuju na rogove tura (BIBI, 2007.; ZHANG i sur., 2020.).



Slika 1. Evolucija goveda tijekom vremenskog razdoblja od 700 000 godina; od pragoveda (*Bos taurus primigenius* (Aurochs)) do današnjeg domaćeg goveda (*Bos taurus taurus*); izvor: (AJMONE-MARSAN i sur., 2010.)

Goveda su dugotrajno pridonijela razvoju ljudskih zajednica te imaju značajan utjecaj na okoliš i biološku raznolikost. Točnije, u suživotu s ljudima postala su vrijedan izvor mesa,

mlijeka, kože i ostalih proizvoda. Korištena su za prijevoz i kao radna snaga, što je dodatno povećalo njihov značaj, dok se njihova prisutnost u ljudskim društvima kroz povijest povezivala s bogatstvom i obiljem. Imaju važnu ulogu u religiji, tradiciji te kulturno-folklornoj baštini, odražavajući time svoju vrijednost i duboko ukorijenjenu povezanost s ljudskim zajednicama (GANDINI i VILLA, 2003.; BERNUÉS i sur., 2014.). Također, ispašom pridonose očuvanju staništa i bioraznolikosti za mnoge biljne i životinjske vrste, ponajviše ovisne o travnatim ekosustavima (GRANDIN, 2022.).

Goveda su pratila migracije ljudskih populacija, što je imalo ključnu ulogu u njihovoj prilagodbi na različite biogeografske regije i sociokulturalna okruženja, rezultirajući značajnim varijacijama i brojnim lokalnim populacijama, točnije pasminama (FELIUS i sur., 2014; VIGNE i sur., 2015.). Područje balkanskog poluotoka predstavljalo je, povijesno gledano od neolitika do antičkog doba, zatim rimskog, bizantskog i osmanskog carstva, pa gotovo do 40 godina prije sadašnjosti, važno središte kretanja ljudi i životinja (ARBUCKLE i sur., 2014.; FELIUS i sur., 2014.). Goveda su se uzgajala u ekstenzivnim sustavima s minimalnim ulaganjima koristeći pašnjake. Uzgoj u takvim uvjetima oblikovao je izvorne pasmine goveda sa specifičnim svojstvima koja se manifestiraju kroz morfološke i fiziološke značajke, uključujući prilagodljivost, otpornost, dobru plodnost, skromne prehrambene i uzgojne potrebe, uz istovremeno dug proizvodni i životni vijek (PAPACHRISTOU i sur., 2020.). Glavne značajke koje obilježavaju izvorne pasmine goveda na području Balkanskog poluotoka i razlikuju ih od plemenitih visokoproizvodnih pasmina jesu da se u ovim populacijama ne provodi selekcija pod utjecajem čovjeka, zapisi iz rodovnika često su nepotpuni ili ne postoje, uzgojna udruženja uglavnom postoje u svrhu očuvanja, klasični pasminski standardi zahtijevaju revalorizaciju, a sustavni i standardizirani zapisi o proizvodnim i funkcionalnim svojstvima ne postoje. Nadalje, zbog geografskih i prirodnih barijera te odsutnosti umjetne selekcije u većine izvornih pasmina goveda posljedično se javila reproduktivna izolacija te smanjenje genetske varijabilnosti (MEDUGORAC i sur., 2009.; RAMLJAK i sur., 2011.; RAMLJAK i sur., 2018.). Nerijetko, izvorne pasmine kritično su ugrožene, a neke su već i izumrle. Ipak, istraživanja o genetskoj raznolikosti unutar i između pasmina od ključne su važnosti za unaprjeđenje njihove uporabe u održivoj stočarskoj proizvodnji i očuvanje vrijednih životinjskih genetskih resursa.

2.1.1 Izvorna pasmina goveda buša

2.1.1.1 Povijest pasmine

Među najranijim istraživanjem u kojem se spominje kratkorožno govedo buša smatra se rad ADAMETZ-a (1895.). U navedenom radu autor je razmatrao filogenezu ove pasmine, ukazujući da postoje dvije teorije o nastanku buše i to monofiletska i polifiletska (difiletska) teorija. Isti autor navodi da se prema polifiletskoj teoriji kratkorožno (lat. *Bos brachyceros*) i primigeno govedo razlikuju u podrijetlu, pri čemu pretpostavlja da današnje pasmine goveda na području Europe potječu od dva izvorna oblika te da je za primigenu skupinu goveda izvorni oblik samo tur. Ovu teoriju svojevremeno podržava i FRANGEŠ (1895.a;1895.b) u svojim istraživanjima što potkrepljuje eksterijernim opisom buše i osobitostima kranimetrijske građe te je naziva ilirsko govedo. Pod nazivom ilirsko govedo podrazumijeva se upravo izvorna pasmina goveda buša, nazvana još i ilirska buša, koja potječe iz planinskih regija jugoistočne Europe, uključujući Dinaride, Balkan i Rodope. Nadalje, isti autori prvi puta i opisuju govedo buša, koju su s obzirom na boju dlake podijelili na tri tipa – plavi, smeđi i crni.

Prema monofiletskoj teoriji sve europske pasmine goveda, uključujući i govedo buša, potječu od primigenog tipa, jednog izvornog oblika, divljeg tura *Bos taurus primigenius* (*Aurochs*). MEDUGORAC i sur. (1995.) proveli su istraživanja u kojima se navodi da je formiranje pasmine buša prema toj teoriji započelo prije 6500 godina dolaskom primigenog pripitomljenog goveda s Bliskog istoka te njegovim utjecajem na zatečene divlje populacije goveda. Navedeno je potvrđeno u kasnijim istraživanjima MEDUGORAC i sur. (2009.) te HRISTOV i sur. (2016.). U prilog toj tezi idu već spomenuti arheološki nalazi o pripitomljavanju goveda, a potječu iz razdoblja ranog neolitika od prije otprilike 8000 godina iz naselja Yabalkovo u Bugarskoj (ROODENBERG, 2014.). Nadalje, istraživanja D-petlje mitohondrijske DNK drevnih uzoraka kostiju goveda s područja Balkana ukazuju na prisutnost pojedinih specifičnih haplogrupa koje se pojavljuju i u jedinkama izvorne pasmine goveda buša s gorja Rodopi u Bugarskoj, ali i u Srbiji (HRISTOV i sur., 2015.; SCHEU i sur., 2015.; HRISTOV i sur., 2017.), što u konačnici potvrđuje podrijetlo izvornih tipova pasmine balkanskog kratkorožnog goveda iz razdoblja neolitika. U suglasju s navedenim, danas se, osim u Republici Hrvatskoj, ova specifična pasmina goveda uzgaja i u Bugarskoj, Sjevernoj Makedoniji, Albaniji, Srbiji, Bosni i Hercegovini, Crnoj Gori te Kosovu, čineći jedinstvenu metapopulaciju Balkanskog poluotoka (RAMLJAK i sur., 2018.).

Nakon što je industrijska revolucija značajno promijenila socio-ekonomske uvjete, populacije lokalnih pasmina buša goveda u stočarskoj proizvodnji zamijenjene su s visokoproizvodnim pasminama goveda. Posljedično tome, značajno se smanjio broj životinja, posebice čistokrvnih jedinki te su populacije postale visoko ugrožene, a neke su dovedene i do ruba izumiranja (RAMLJAK i sur., 2018.). Nadalje, gubitak genetske raznolikosti posljedica je pretapajućih križanja i uvođenja genetskog materijala plemenitih, visokoproizvodnih pasmina goveda u genom pasmine buša (MEDUGORAC i sur., 2009.; RAMLJAK i sur., 2011.).

U pojedinim populacijama pasmine goveda buša, prvenstveno s ciljem održanja brojnosti, primjenjuju se različite metode očuvanja uz uvažavanje stupnja ugroženosti, kao što je prikazano u tablici 1.

U tablici 1. prikazani su različiti tipovi pasmine buša goveda uzgajani u regijama i državama Balkanskog poluotoka.

Tablica 1. Tipovi pasmine buša goveda uzgajani u regijama i državama Balkanskog poluotoka (Prilagođeno prema: RAMLJAK i sur., 2018.)

Tipovi pasmine buša	Područje uzgoja	Ne*	Status	Model očuvanja i pohranjeni biološki materijal
crnogorski tip	Crna Gora	42	ugrožena	<i>in situ</i> , krv, dlaka
srbijski tip	Srbija	80	ugrožena	<i>in situ</i> , sjeme
hrvatski tip	Hrvatska	942**	potencijalno ugrožena	<i>in situ</i> , krv, sjeme
bosansko-hercegovački tip (<i>Domarac</i>)	Bosna i Hercegovina	nepoznato	ugrožena	<i>in situ</i>
kratkorožno rodope govedo (<i>Rhodope shorthorn</i>)	istočni dio planinskog masiva Rodopi (Bugarska)	622	ugrožena - održavana	<i>in situ</i> , sjeme
makedonski tip	Sjeverna Makedonija	155	ugrožena	<i>in situ</i> , krv, sjeme
albanski tip (<i>Prespa cattle</i>)	Albanija	31	ugrožena	<i>in situ</i>
ilirsko patuljasto govedo (<i>Lopa, Lekbibajt</i>)	pogranično područje Albanije, Crne Gore i Kosova - Lekbibaj	39	ugrožena	<i>in situ</i> , somatske stanice, sjeme
<i>Dibra</i>	pogranično područje Albanije, Crne Gore i Kosova - Korabi gorje	31/23	ugrožena	<i>in situ</i>
<i>Skodra</i>	sjeverni dio Albanije - Shkodra	11	kritično ugrožena	<i>in situ</i>
kosovski soj (<i>Dukagjini</i>)	Kosovo	375	ugrožena	<i>in situ</i>
<i>Sharri</i>	Šar Planina - Kosovo	190	ugrožena	<i>in situ</i>
crveni metohijski tip	Šar Planina - Kosovo	nepoznato	nepoznato	nepoznato

*Ne – efektivna veličina populacije: **Ne izračunata u predmetnom istraživanju

2.1.1.2 Opis pasmine

Opis izvorne pasmine goveda buša prikazan je u kontekstu morfoloških i fizioloških karakteristika. Iako često ograničena u tjelesnom rastu i razvoju zbog nedostatka adekvatne prehrane, buša je opisana kao kompaktno i iznimno pokretno govedo, sa snažnim nogama i papcima. Glava je uska i produljena, s uskim čelom. Rogovi izbijaju iz čeonih kostiju, prvo se šireći prema bočnim stranama, a zatim se usmjeravaju prema gore, pri čemu su vrhovi rogova okrenuti jedan prema drugome. Baza rogova je žućkaste do bijele boje, postupno prelazeći u tamniju nijansu prema sredini, gdje postaju prljavo bijeli, dok vrhovi rogova ostaju crni (RAKO, 1943.; KONJAČIĆ i sur., 2004.).

Vrat je umjereno dug, s minimalno razvijenom plahticom. Greben je relativno nizak i srednje širok, dok su prsa uska i duboka, dosežući 52-57 % visine grebena. Tijelo buše relativno je kratko, pravokutno, čineći 115-120 % visine grebena. Zdjelica je uska i sužava se prema korijenu repa, koji je tanak i doseže skočni zglob. Sluznice i papci su tamno pigmentirani, gotovo crni, dok u bikova donja trećina ili polovica testisa najčešće biva crna.

Buša je prepoznatljiva po svojoj srnećoj gubici i čestom kravljem (iks) stavu nogu. Vime je djelomično pigmentirano, ali slabo izraženo, prekriveno grubim i gustim dlakama. Sise su najčešće kratke. Boja varira od svijetle, gotovo bijele, do različitih nijansi crvene, smeđe, pa sve do gotovo potpuno crne. Karakteristična je i svijetla pruga na leđima koja kontrira osnovnoj boji, a posebno je izražena kod tamnijih varijeteta. Koža je tamno pigmentirana, elastična i mekana u dobro njegovanih životinja, dok u loše njegovanih životinja postaje tvrda i gruba. Dlaka je u njegovanih goveda kratka, sjajna i masna, dok je u slabije njegovanih životinja gusta, duga i lepršava (RAKO, 1943.; KONJAČIĆ i sur., 2004.).

Govedo buša opisano je kao kasnozrela pasmina. Junice se prvi puta pripuštaju u dobi od dvije godine te ostaju u reprodukciji između 10 i 12 godina (ponekad i 12 do 14 godina). Bikovi se počinju koristiti u rasplodu u dobi od dvije godine, dok se neki počinju koristiti već s jednu godinu i šest mjeseci. Ovisno o njihovoj vrijednosti i temperamentu, bikovi mogu biti korišteni u reprodukciji tijekom razdoblja od četiri do pet godina. Sagledavajući životni vijek, buše mogu doživjeti starost i preko 20 godina (RAKO, 1943.).

2.1.1.3 Istraživanja izvorne pasmine goveda buša na području Republike Hrvatske

U sljedećim radovima detaljnije su opisana istraživanja provedena na populaciji izvorne pasmine goveda buša u Republici Hrvatskoj.

Iz povijesnih izvora saznaje se kako je zastupljenost pasmine buša u ukupnoj populaciji goveda krajem devetnaestog stoljeća u krškim područjima Kraljevine Hrvatske, Slavonije i Dalmacije premašivala 92 % ukupnog broja goveda, osobito u priobalnim i gorskim područjima (FRANGEŠ, 1903.). U svojoj monografiji *“Die Buša”*, FRANGEŠ (1903.) detaljno opisuje vanjski izgled i proizvodnu sposobnost ove pasmine te ističe njene specifične karakteristike. Nadalje, ŠIC i sur. (1994.) navode kako je u razdoblju od 1898.-1993. godine na području Like i Dalmacije pasmina buša korištena u pretapajućim križanjima kako bi se stvorilo tzv. "domaće sivo govedo" te ističu kako su postupci križanja trajali ukupno 95 godina. Pretapajuća križanja s produktivnijim pasminama goveda provodila su se s ciljem unaprjeđenja proizvodnih svojstava, prvenstveno proizvodnje mlijeka. Oplemenjivanje pasmine buša započelo je 1826. godine uvozom bikova i nekoliko krava tux-zilertalske pasmine u Hrvatsko zagorje, nastavljeno je uvozom bikova, krava i junica molthalske pasmine na područje Križevaca, a zatim uvozom goveda pincgavske i oberintalske pasmine u Dalmaciju. Primarno je u tom procesu korišteno pincgavska pasmina, a kasnije je u pretapanje uključeno i simentalaska pasmina (ŠIC i sur., 1994.).

Povijesno gledano, u širokom području počevši od Žumberka preko tadašnje Modruško-riječke, Ličko-krbavske i Dalmatinske županije za pretapanje pasmine buša koristila se oberintalska pasmine, zbog tadašnjeg načela „pariti slično sa sličnim“. Isti autori navode kako je učinkovitost bila veća u onim područjima u kojima su vladali bolji uvjeti uzgoja i hranidbe, dok je u krajevima u kojima su prilike bile nepovoljne unaprjeđenje bilo sporije ili je izostalo. RAKO (1943.) navodi da se zbog niske proizvodne sposobnosti pasmina buša oplemenjivala s oberintalskom pasminom posebno na području kraških polja, Sinja, Knina, Imotskog i Benkovca. U svojim istraživanjima RAKO (1947.) te ŠMALCELJ i RAKO (1955.) ističu je kako je očekivani uspjeh pretapanja pasmine buša u Dalmaciji izostao te da se neuspjeh najviše pripisuje neodgovarajućoj hranidbi i načinu držanja. Prema ŠMALCELJ i RAKO (1955.), sustavno pretapanje imalo je za posljedicu drastično smanjenje broja čistokrvnih jedinki u populaciji. Točnije, krajem 20. stoljeća brojnost je bila svedena na nekoliko desetaka životinja na području današnje Republike Hrvatske, posebice u zabačenim planinskim predjelima, uz prisutnost velikog broja križanaca u populaciji. Utjecaj oplemenjivanja s navedenim pasminama bio je vidljiv i u povećanju tjelesnih mjera, iako to u cijeloj populaciji nije jednako

došlo do izražaja te je stoga utvrđena razlika tipa i tjelesnog okvira jedinki u različitim uzgojnim područjima (RAKO i DUMANOVSKI, 1957.; ŠUPE, 1965.).

Do sredine 20. stoljeća, u Hrvatskoj je prevladavala tradicionalna praksa uzgoja goveda te su bikovi i volovi pasmine buša uglavnom bili korišteni kao radna snaga, a u manjoj su se mjeri krave koristile za proizvodnju mesa i mlijeka, prvenstveno za lokalne potrebe stanovništva. Tada su se goveda većinom uzgajala na ekstenzivan način tijekom cijele godine, dok su staje pružale zaštitu životinjama od nepovoljnih vremenskih uvjeta. Brojna istraživanja ističu nedostatak značajne pažnje i brige posvećene tadašnjem uzgoju izvorne pasmine buša goveda, posebice u pogledu njihove prehrane, smještaja i reprodukcije. Proizvodna sposobnost opisana je u literaturi s naglaskom na proizvodnju mlijeka, a manje mesa. Mliječnost se u odnosu na druge pasmine opisuje kao vrlo niska, s prosječno 700-800 kg mlijeka i 4,5-6 % mliječne masti (RAKO, 1943.; 1945.). U radu IVANKOVIĆ i sur. (2016.) navodi se da krave pasmine buša u laktaciji mogu proizvesti oko 2500 kg mlijeka. Stoga, isti autori ističu kako u krava pasmine buša postoji dobra genetska osnova za mliječnost koja bi se uz primjerene uzgojne uvjete mogla unaprijediti. O tovnj sposobnosti vrlo je malo podataka u literaturi. RAKO (1943.) u svom radu navodi klaoničke vrijednosti pasmine buša u uzgoju u neretvanskom području pri čemu je utvrđeno da udio mišićnog tkiva u krava iznosi oko 41,5 %, a u bikova 45,5 %. Međutim, ŠMALCELJ i RAKO (1955.) navode kako udio mišićnog tkiva u utovljenih bikova i volova može iznositi do 55 %, što upućuje na mogućnost da se u dobro držanih, hranjenih i njegovanih životinja može postići bolja tovnj sposobnost.

KONJACIĆ i sur. (2004.) navode kako morfološka obilježja pasmine buša ne odstupaju značajno u odnosu na ranija istraživanja, no zamjetna je njihova velika varijabilnost te su utvrdili značajnu razliku u izraženosti tjelesnih mjera po županijama. Pri tome su goveda buša na području Like imale više vrijednosti morfoloških obilježja uz, kako navode, "na razini fenotipa zamjetne tragove introdukcije drugih pasmina u njen genom".

Godine 2003. osnovan je registar pasmine zatvorenog tipa, odnosno uzgoj u čistoj krvi s ciljem zaštite i očuvanja izvorne pasmine goveda buša. U nacionalni govedarski uzgojni program uključena je 2007. godine, a na temelju toga 2008. godine, osnovano je uzgojno udruženje uzgajivača pasmine buša, registrirano pri Ministarstvu poljoprivrede Republike Hrvatske. Donošenje uzgojnog programa prvenstveno je imalo za cilj prvenstveno održati zatečenu brojnost populacije te očuvati genetsku varijabilnost. Uzgojni program izvorne pasmine goveda buša danas se zasniva na i) provedbi uzgojnih ciljeva, ii) očuvanju karakterističnih morfoloških obilježja pasmine buša, iii) testiranju fenotipa, iv) genetskom

potvrđivanju očinstva, v) genetskom vrednovanju rasplodnih bikova i krava te vi) vođenju planskog sparivanja. Prilikom sistematizacije rodoslovlja populacije pasmine buša, prvenstveno zbog vođenja planskog pripusta, utvrđene su potencijalne 24 linije bikova i 154 rodova krava (BARAĆ i sur., 2012.). U međuvremenu su u zapise u rodovniku pribrojana još dva roda krava, što čini ukupno 156 rodova. Prema Godišnjem izvješću za govedarstvo u 2023. godini, buša je najbrojnija izvorna pasmina goveda (68,52 %) u odnosu na preostale izvorne pasmine goveda u Republici Hrvatskoj (MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE, 2023.). Nadalje, u populaciji izvorne pasmine goveda buša provode se različite metode za očuvanje pasmine, uključujući *in situ* i *ex situ* pristupe. Model očuvanja *in situ* podrazumijeva držanje i uzgoj životinja u njihovim prirodnim staništima, što se za pasminu buša goveda provodi kroz Nacionalni program očuvanja izvornih i zaštićenih pasmina domaćih životinja u Republici Hrvatskoj te rad Udruge uzgajivača buše. *Ex situ* model očuvanja obuhvaća prikupljanje te pohranu genetskog materijala poput dlake i krvi s pratećim podacima o životinjama registriranim u Banci gena domaćih životinja. Objedinjujući *in situ* i *ex situ* modele omogućava se dugoročno očuvanje genetske varijabilnosti životinja populacije pasmine goveda buša (SHERF, 2000.; ČAČIĆ i sur., 2015.).



Slika 2. Stado izvorne pasmine goveda buša u Lici.
Primjer očuvanja pasmine u izvornom okruženju (*in situ* model).

2.2. Genetska varijabilnost

U vrijeme industrijske revolucije i urbanizacije koja je započela u 19. stoljeću, uz rastuću svjetsku populaciju potrošnja hrane na globalnoj razini doživjela je promjene, što je rezultiralo razvojem modernog uzgoja životinja početkom 20. stoljeća. Tijekom nekoliko desetljeća, uzgojni rad i uzgojni programi bili su uglavnom usmjereni na razvoj i genetsko poboljšanje pasmina goveda specijaliziranih za proizvodnju mlijeka ili mesa odnosno kombiniranu proizvodnju (meso i mlijeko). Navedeni procesi rezultirali su gubitkom interesa za lokalne, izvorne pasmine goveda, no današnja znanstvena i stručna zajednica prepoznaje njihov značaj u dugoročnom očuvanju bioraznolikosti (WELLMANN i sur., 2023.).

Smanjenje brojnosti populacija izvornih pasmina goveda uglavnom je potaknuto ekonomskim čimbenicima zbog njihove manje produktivnosti u usporedbi s visokoproizvodnim pasminama. Mnoge izvorne pasmine goveda potpuno su zamijenjene, a neke su čak i izumrle kao posljedica neselektivnog uzgoja i pretapajućih križanja između izvornih i plemenitih pasmina (LEROY i sur., 2016.b). Važnost očuvanja genetske varijabilnosti izvornih pasmina goveda očituje se u prilagodbi i otpornosti, što je posebno bitno za suočavanje s izazovima poput klimatskih promjena ili potencijalnih pojava bolesti (STEFFEN i sur., 2015.; CURONE i sur., 2018.; HUNTER i sur., 2018.). Osim toga, izvorne pasmine goveda imaju važnu ulogu u očuvanju kulturne baštine te se mogu koristiti i u ekološkom uzgoju za proizvodnju specijaliziranih proizvoda, naročito u ruralnim područjima (SENCZUK i sur., 2020.).

Genetska varijabilnost opisana je kao raznolikost genotipova i alela različitih gena koji utječu na izražavanje svojstava. Stupanj genetske varijabilnosti unutar neke populacije životinja povezan je s prilagodbom i odgovorom na selekciju te uzgojnim ciljevima (GROENEVELD i sur., 2010.). Postoji nekoliko čimbenika koji utječu na genetsku varijabilnost, a to su: migracije, mutacije, selekcija, genski pomak (engl. *genetic drift*), populacijsko ili genetsko usko grlo (engl. *bottleneck*) te uzgoj u srodstvu (engl. *inbreeding*) (AMOS i HARWOOD, 1998.). Migracija predstavlja uvođenje novog genetskog materijala u populaciju, doprinoseći tako genetskoj raznolikosti, dok mutacija služi kao izvor novih genetskih varijacija. Selekcija ima ulogu u oblikovanju genetske varijabilnosti davajući prednost određenim genotipovima i alelima te na taj način utječe na učestalost poželjnih alela u populaciji. Genski pomak odnosi se na slučajne promjene u učestalosti alela unutar populacije kroz generacije. Ove promjene nisu posljedica prirodne selekcije, već su rezultat slučajnih događaja, osobito u malim populacijama. Genski pomak može rezultirati gubitkom genetskih varijanti naročito ukoliko

zbog smanjenja populacije dođe do pojave uskog grla. Populacijsko ili genetsko usko grlo nastaje kada populacija doživi drastičan i nagli pad broja jedinki, što rezultira smanjenjem genetske raznolikosti. Ovaj događaj uzrokuje da preostala populacija nosi samo dio početne genetske varijabilnosti. Stoga, promjene u strukturi populacije tijekom određenog razdoblja utječu na pojavu uzgoja u srodstvu, čiji je trend najčešće korišten čimbenik za procjenu stope genskog pomaka (GUTIÉRREZ i sur., 2003.; FERNÁNDEZ i sur., 2011.).

Koeficijent uzgoja u srodstvu (engl. *fixation index*, *F*) opisan je kao vjerojatnost da jedinka ima dva alela na određenom lokusu koji su identični po porijeklu zajedničkog pretka (WRIGHT, 1922.). Uzgoj u srodstvu odnosi se na parenje između genetski srodnih jedinki unutar populacije, što povećava vjerojatnost da će potomci naslijediti iste alele od zajedničkog pretka, što dovodi do povećanja homozigotnosti. Povećanje vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu javlja se kao posljedica smanjenja brojnosti neke populacije te učestalog parenja srodnih jedinki u malim populacijama (PERDOMO-GONZÁLEZ i sur., 2022.), ali i uslijed uzgojno-seleksijskih postupaka u populacijama visokoproizvodnih pasmina (LEROY, 2014.; HOWARD i sur., 2017.). HUISMAN i sur. (2016.) te DOEKES i sur. (2021.) ističu kako je uslijed povećanja uzgoja u srodstvu i homozigotnosti zabilježeno smanjenje prosječne vrijednosti fenotipskih svojstava. Kako bi se spriječili negativni učinci uzgoja u srodstvu, FAO (2015.) postavlja maksimalnu stopu uzgoja u srodstvu od 1 % po generaciji (SHERF, 2000.). LEROY (2014.) te DOEKES i sur. (2021.) su ustanovili da za svakih 1 % povećanja koeficijenta uzgoja u srodstvu u populaciji, dolazi do smanjenja od 0,14 % u prosječnoj vrijednosti i 0,59 % u vrijednosti standardne devijacije nekog svojstva. Točnije, u istraživanju MIGLIOR i sur. (1992.), zabilježeno je da je učinak uzgoja u srodstvu na svojstva bio izraženiji kada su individualni koeficijenti bili veći od 12,5 %.

Prema KRISTENSEN i SØRENSEN (2005.) te BAES i sur. (2019.) funkcionalna svojstva poput reprodukcijske učinkovitosti, prilagodljivosti na promjene u okolišu te zdravlje i dugovječnost, češće su pod negativnim utjecajem uzgoja u srodstvu u usporedbi s drugim svojstvima poput tjelesne veličine ili boje dlake. Nekoliko istraživanja u različitim vrsta pokazalo je da su svojstva plodnosti među svojstvima koja su najviše podložna negativnom učinku uzgoja u srodstvu, kako je opisano u CHARLESWORTH i WILLIS (2009.), SAURA i sur. (2015.), MARTIKAINEN i sur. (2018.), AZCONA i sur. (2020.). DOEKES i sur. (2020.; 2021.) te ZHANG i sur. (2022.a). Brojna istraživanja opisuju učinak uzgoja u srodstvu u mliječnim i kombiniranim pasmina krava poput pasmina holštajn (*Holstein*), džersez (*Jersey*) i ajšajr (*Ayshire*) te u smeđeg goveda (*Braunvieh*) kako je sažeto u radu BAES i sur. (2019.) i

GUTIÉRREZ-REINOSO i sur. (2022.), u populaciji čistokrvne španjolske pasmine konja pod nazivom konja *Pura Raza Española* (LASECA i sur., 2024.), zatim u populaciji mliječne pasmine ovaca baskijska-bernaise (*Basco-Béarnaise*) (ANTONIOS i sur., 2021.) i u pasmine svinja veliki jorkšir (*Large White*) (ZHANG i sur., 2022b.).

2.2.1 Istraživanja genetske varijabilnosti u izvornih pasmina goveda

Rodovnik ili pedigree (engl. *pedigree*) bilježi roditelje i daljnje pretke koji su sustavno poredani po generacijama. Analiza podataka iz rodovnika smatra se osnovnom metodom u proučavanju genetske varijabilnosti unutar neke populacije. FRANKHAM (1999.) ističe da rodovnik doprinosi boljem razumijevanju evolucije neke populacije dajući uvid u događaje poput populacijskog uskog grla ili identifikaciju osnivača populacije. Osim toga, podaci iz rodovnika omogućavaju procjenu uzgoja u srodstvu, generacijskih intervala i efektivne veličine populacije. Pri tome je kompletnost rodovnika značajan čimbenik u procjeni navedenih pokazatelja. Analiza podataka iz rodovnika može se koristiti kako bi se spriječio daljnji gubitak genetske varijabilnosti, ali i unaprijedili uzgojni programi (BOUQUET i sur., 2011.; DOUBLET i sur., 2019.; ABLONDI i sur., 2022.; LOZADA-SOTO i sur., 2021.).

Informativnost rodovnika odnosi se na količinu i kvalitetu podataka koji su dostupni u rodovniku, uključujući informacije o podrijetlu, zdravlju te proizvodnim i funkcionalnim svojstvima životinja. Veća informativnost omogućava precizniju procjenu genetskih parametara i bolje upravljanje populacijom. Kompletnost rodovnika označava opseg podataka u rodovniku, tj. koliko su podaci o rodu, prethodnim generacijama i srodstvu životinja potpuni. Kompletnost rodovnika je ključna za točnost analize genetske varijabilnosti i rizika od uzgoja u srodstvu unutar populacije (FRANKHAM, 1999.).

Efektivna veličina populacije (N_e) predstavlja broj jedinki u idealnoj populaciji koja bi imala istu razinu genetskog pomaka i uzgoja us kao stvarna populacija. Efektivna veličina uzima u obzir distribuciju broja potomaka koje svaka jedinka ostavlja, spolnu neravnotežu i druge čimbenike koji mogu smanjiti genetsku raznolikost, poput nejednakog sudjelovanja u reprodukciji. Manja efektivna veličina može povećati rizik od gubitka genetske varijabilnosti i fiksacije štetnih alela.

Genetska varijabilnost populacije mjeri se zastupljenošću predaka osnivača (f). Efektivni broj osnivača (f_e) pokazatelj je koji ukazuje koliki je udio doprinosa osnivača sačuvan kroz generacije, a može biti pod utjecajem uzgoja i selekcije te promjena u broju potomaka u populaciji (engl. *family size*). Pri tome efektivni broj osnivača ne uzima u obzir mogući gubitak gena tijekom generacija, za razliku od efektivnog broja značajnih predaka (f_a). Nadalje, značajni predci imaju važan doprinos genetskoj varijabilnosti populacije, a nisu nužno osnivači populacije. Efektivan broj značajnih predaka (f_a) pokazatelj je učinka uskog grla i ukazuje na gubitak alela u populaciji (JAMES, 1972.; LACY, 1989.). Efektivan broj genoma osnivača (f_g)

je pokazatelj koji doprinosi razumijevanju koliko su različiti genomi osnivača zastupljeni i koliko je ta raznolikost sačuvana u populaciji tijekom vremena.

U Republici Hrvatskoj je u 2011. godini započela je sistematizacija uzgoja izvorne pasmine goveda buša na temelju podataka upisanih u rodovnik. Tada je buša govedo uzgajalo svega 66 uzgajatelja, a rasplodnu populaciju činile su 341 jedinke (33 bika i 308 krava), dok je efektivna veličina populacije s obzirom na broj rasplodnih muških i ženskih jedinki iznosila 119,26. Prema brojnosti i vrijednosti efektivne veličine populacije, buša govedo je u Republici Hrvatskoj pripadalo kategoriji visoko ugroženih pasmina (ČAČIĆ i sur., 2012.a).

ČAČIĆ i sur. (2012.a) su u istraživanju zabilježili stalan pozitivan trend u porastu veličine populacije pasmine buša. Navode da je glavni razlog povećanja populacije bilo ažuriranje registra do tada neumatičenih jedinki, dok je manji dio povećanja populacije bio rezultat reproduksijske aktivnosti umatičenih jedinki, ali i korištenja državnih poticaja koji su podržali reproduksijske aktivnosti. Nakon što je pasminska matična knjiga zatvorena 2009. godine, populacija se nastavila povećavati prvenstveno zbog reproduksijske aktivnosti rasplodnih životinja. Nadalje, isti autori ističu da je u razdoblju od 2006.-2011. godine oteljen veći broj muške u odnosu na žensku telad s najmanjom razlikom od 1,7 % u 2009. i najvećom od 22,4 % u 2008. godini. Od prvih umatičenih grla do 2011. godine, ukupno je evidentirano 1020 životinja poznatog podrijetla. S obzirom na godinu telenja, do 2003. godine, tj. do godine utemeljenja pasminskog registra pasmine buša, oteljeno je 137 ili 13,4 % od ukupnog broja umatičenih životinja. Od početka 2003. do kraja 2011. godine, taj broj iznosio je 883 (86,6 %) (ČAČIĆ i sur., 2012.a). S obzirom na spol, omjer muških i ženskih životinja u početku registra pasmine iznosio je 341 (33,4 %) u odnosu na 679 (66,6 %) ČAČIĆ i sur. (2012.a). Sa stajališta reproduksijske aktivnosti, udio rasplodnih životinja iznosio je 361 (35,4 %) (bikovi 55 ili 5,4 %; krave 342 ili 33,5 %), dok je 623 životinja (61,1 %) upisano u registar, ali se nisu koristile u rasplodu.

Informativnost i kompletnost rodovnika pasmine buša goveda povećavala se kroz vrijeme. ČAČIĆ i sur. (2012.b) zabilježili su u prvoj roditeljskoj generaciji indeks kompletnosti rodovnika koji je u ukupnoj populaciji iznosio 75,59 %. Međutim, niže vrijednosti zabilježene su u drugoj roditeljskoj generaciji te je iznosio 31,42 %, dok je u trećoj roditeljskoj generaciji iznosio 4,87 %. U prvoj roditeljskoj generaciji iznosio je 92,21 %, u drugoj 41,53 %, a u trećoj 6,45 %. Prosječan broj ekvivalentnih potpunih generacija u pasmine buša iznosio je 1,41 (ČAČIĆ i sur., 2012.d), dok je najveći broj poznatih generacija predaka iznosio pet, što je tada ukazivalo na slabu informativnost rodovnika.

Prema pokazateljima koji slijede prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu i srodnosti u rodovniku buše iznosili su 1,27 % i 1,78 % s velikom varijabilnosti oba parametara kroz godine (ČAČIĆ i sur., 2012.c). Efektivna veličina populacije izračunata na temelju broja svih poznatih generacija iznosila je 32,27, na temelju broja potpunih generacija 39,37, dok je na temelju broja ekvivalentnih potpunih generacija iznosila 27,74 (ČAČIĆ i sur., 2012.d).

Broj osnivača i poluosnivača u ukupnoj populaciji iznosio je 329 i 249, dok je efektivni broj osnivača iznosio 72,58 (ČAČIĆ i sur., 2012.b). U referentnoj populaciji broj osnivača i poluosnivača iznosio je 285 i 219. U udjelu značajnih predaka koji doprinose 50 % varijabilnosti genskog bazena, omjer muških i ženskih osnivača iznosio je 76,5:23,5 %, a muških i ženskih značajnih predaka 55:45 %. Efektivan broj osnivača u referentnoj populaciji (f_e) iznosio je 54, a efektivni broj značajnih predaka 46. Odnos f_e/f u referentnoj populaciji buša goveda iznosio je 0,19 i ukazivao je na veliku neravnotežu doprinosa osnivača genetskoj varijabilnosti. Budući da je vrijednost omjera f_e/f u populaciji pasmine buša bila niska (0,19), ČAČIĆ i sur. (2012.b) istaknuli su kako bi u budućim generacijama moglo doći do smanjenja genetske varijabilnosti. Omjer f_e/f_a koji je iznosio 1,04, ukazivao je da ne postoji učinak uskog grla te je vrijednost bila gotovo idealna (1). Međutim, omjer f_g/f_e (0,85) ukazivao je na vrlo blagi genski pomak. Trajanje prosječnog generacijskog intervala u ukupnoj populaciji pasmine buša goveda iznosilo je 6,06 godina, dok je prosječna dob roditelja u trenutku rođenja njihova potomstva koji su kasnije korišteni u reprodukciji iznosila 5,86 godina. U referentnoj populaciji prosječan generacijski interval iznosio je 5,97, a prosječna dob roditelja u trenutku rođenja njihova potomstva koji su kasnije korišteni u reprodukciji bila je 5,85 godina (ČAČIĆ i sur., 2012.c)

Analiza rodovnika pasmine buša goveda 2012. godine otkrila je nedostatak planiranog uzgoja i ravnomjernog korištenja rasplodnih muških i ženskih životinja u uzgoju, a sistematizacija uzgoja kroz utvrđivanje linija bikova i rodova krava omogućila je planirano upravljanje pripustom rasplodnih životinja (ČAČIĆ i sur., 2012.d). Također, ČAČIĆ i sur. (2012.b) navode da s obzirom na niske vrijednosti pokazatelja informativnosti i kompletnosti rodovnika u populaciji pasmine goveda buša nije bilo moguće objektivno utvrditi pojavu uskog grla i stvarne vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu.

Slično kako je prikazano za izvornu pasminu goveda buša, u sljedećim poglavljima detaljnije su opisana istraživanja provedena na populacijama europskih izvornih pasmina goveda.

U istraživanju koje su proveli CAÑAS-ÁLVAREZ i sur. (2014.), analizirane su španjolske mesne pasmine goveda, uključujući asturiana de los vels (*Asturiana de los Valles*), avilena negra iberika (*Avileña-Negra Ibérica*), bruna del pirineus (*Bruna del Pirineus*), moruha (*Morucha*), pirenaika (*Pirenaica*), retinta (*Retinta*) i rubia galega (*Rubia Gallega*). Indeks kompletnosti rodovnika u populacijama pasmina pirenaika, avilena negra iberika i retinta iznosio je 96 % u prvoj roditeljskoj generaciji, s postupnim smanjenjem na 80 % u šestoj roditeljskoj generaciji. Koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio je od 0,6 % u pasmine bruna del pirineus do 7,2 % u pasmine retinta. Kada su analizirane samo srodne jedinice, koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio je od 3,6 % u pasmine pirenaika, dok je u pasmine bruna del pirineus iznosio 17,6 %. Također, zabilježeno je i povećanje udjela srodnih jedinki tijekom vremena u istraživanim populacijama. Efektivna veličina populacije u istraživanju CAÑAS-ÁLVAREZ i sur. (2014.), izračunata je na temelju individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu, a iznosila je od 43,0 do 378,0 u pasminama retinta i bruna del pirineus, dok je u pasmine rubia galega iznosila 100,0. U pasmine bruna del pirineus bila je znatno viša, dosežući vrijednost od 9985. Nadalje, efektivni broj značajnih predaka (*fa*) iznosio je od 42 u pasmine rubia galega do 220 u pasmine asturiana de los vels. Prosječan generacijski interval u španjolskih izvornih pasmina goveda bio je 4,7 u pasmine asturiana de los vels te od 5,95 do 7,8 godina u pasminama rubia galega i moruha. Zabilježeno je da je u svih analiziranih pasmina prosječan generacijski interval, promatrajući rodbinske veze oca i potomstva bio duži u odnosu na rodbinske veze majke s potomstvom.

CORTÉS i sur. (2014.) analizirali su populaciju španjolske izvorne pasmine goveda lidija (*Lidia*). Indeks kompletnosti rodovnika u ukupnoj populaciji pasmine goveda lidija pokazao je vrijednosti više od 75 % u prvih četiri roditeljske generacije, s postupnim smanjenjem na 13 % u sedmoj roditeljskoj generaciji. Vrijednosti broja ekvivalentnih potpunih generacija bile su u rasponu od 4,0 do 5,2 između različitih linija. U referentnoj populaciji, indeks kompletnosti rodovnika u prvoj roditeljskoj generaciji iznosio je 99,0 %, dok je prosječna vrijednost broja ekvivalentnih potpunih generacija iznosila 6,3. Najviša vrijednost prosječnog generacijskog intervala bila je 9 godina, a najmanja 6 godina. Prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu u cijeloj populaciji pasmine goveda lidija iznosio je 7,8 %, sa zabilježenom najmanjom vrijednosti u jedne linije od 3,8 % i najvećom vrijednosti u jedne linije od 18,7 %,

dok je u referentnoj populaciji iznosio 10,7 %. Stopa uzgoja u srodstvu izračunata na temelju broja ekvivalentnih potpunih generacija iznosila je 1,5 % u 19 od 30 analiziranih linija, a u ukupnoj populaciji iznosila je 1,9 %. Koeficijent uzgoja u srodstvu jednak nuli zabilježen je u svega pet životinja, dok je promatrajući ukupnu populaciju pasmine lidija najviša vrijednost koeficijenta uzgoja u srodstvu od 50 % zabilježena u svega tri životinje. Efektivna veličina populacije izračunata na temelju individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu prema ekvivalentnim potpunim generacijama iznosila je 35,7, dok je u referentnoj populaciji iznosila 22,9. U ukupnoj populaciji pasmine lidija, efektivan broj osnivača (fe) iznosio je 27,6, a efektivan broj značajnih predaka iznosio je 15,8. Odnos između fe/fa bio je 1,74, a odnos fg/fe 0,44. Odnos između efektivnog broja osnivača, značajnih predaka i genoma osnivača te efektivne veličine populacije ukazao je na gubitak genetske varijabilnosti u pasmine lidija zbog učinka genskog pomaka (CORTÉS i sur., 2014.).

KADLEČÍK i sur., (2016.) analizirali su populacije mesnih pasmina goveda blond akiten (*Blonde d'Aquitaine*), šarole (*Charolais*), limuzin (*Limousine*) i simentalSKU pasminu goveda (*Simmental*) u Slovačkoj. Broj ekvivalentnih potpunih generacija iznosio je od 3,98 u blond akiten, 3,82 u šarole, 3,38 u limuzin do 4,38 u simentalSke pasmine goveda, ukazujući na objektivnost podataka iz rodovnika. Najviša vrijednost koeficijenta uzgoja u srodstvu zabilježena je u simentalSke pasmine goveda (6,4 %), a značajno niže vrijednosti utvrđene su u pasmina blond akiten (0,8 %), limuzin (0,7 %) i šarole (1,1 %). Prosječna srodnost iznosila je 3,2 % u blond akiten, 0,7 % u limuzin, 1,1 % u šarole i 6,4 % u simentalSke pasmine goveda. Efektivni broj osnivača zabilježen u pasmine blond akiten bio je 80, dok je u pasmine šarole bio 232, a u limuzin i simentalSke pasmine 226 i 30. Efektivan broj značajnih predaka utvrđen u pasmine blond akiten iznosio je 19, u šarole 72 te u limuzin 54 i u simentalSke pasmine goveda 13. Najviša vrijednost omjera fe/f utvrđena je u pasmine blond akiten (0,44), što ukazuje na uravnoteženiji doprinos osnivača u usporedbi s pasminama šarole (0,18), limuzin (0,29) i simentalSkom pasminom (0,13). Istoimeni autori zabilježili su neravnotežu u doprinosu osnivača u istraživanim populacijama pasmina s prekomjernim korištenjem malog broja pojedinih rasplodnih bikova u uzgojnim programima. Međutim, odnos fe/fa koji je u populaciji pasmina blond akiten iznosio 0,23, u šarole 0,31 te limuzin i simentalSke pasmine 0,23 i 0,43, ukazuje da nije bilo učinka uskog grla. Najmanja vrijednost omjera fe/fg utvrđena je u pasmine blond akiten (0,16), dok je u pasmina limuzin, šarole i simentalSke goveda iznosila 0,18, 0,22 i 0,27. Nadalje, dobivene vrijednosti ukazuju kako povećanje broja srodnih jedinki i

koeficijenta uzgoja u srodstvu u populacijama analiziranih pasmina značajno ovisi o strategiji odabira rasplodnjaka unutar populacija.

U radu FABBRI i sur. (2019.) analizirani su podaci iz rodovnika šest izvornih talijanskih pasmina: kalvana (*Calvana*), pisana (*Mucca Pisana*) i pontremoleze (*Pontremolese*) iz regije Toskana te sarda (*Sarda*), sardinijska smeđa (*Sardo Bruna*) i sardinijska modikana (*Sardo Modicana*) s otoka Sardinije te dvije visokoproizvodne pasmine šarole i limuzin. U pasmine pisana zabilježene su najviše vrijednosti indeksa potpunosti rodovnika u prvoj roditeljskoj generaciji (74 %), a zatim slijede kalvana i limuzin (66 % i 59 %). Generacijski interval utvrđen u pasmine sardinijska modikana iznosio je 7,8 godina, u sardinijske smeđe 13,3 godina, dok su pasmine sarda i kalvana imale slične vrijednosti generacijskog intervala (10 godina). U pasmina limuzin i šarole zabilježene su niže vrijednosti prosječnog generacijskog intervala te su iznosile 7,0 i 6,7 godina. Nadalje, najviša vrijednost generacijskog intervala u rodbinskim vezama otac-sin i otac-kći zabilježena je u pasmine pontremoleze, dok su najniže vrijednosti zabilježene u rodbinskoj vezi otac-sin u pasmina sardinijska smeđa i šarole. U pasmina pisana i pontremoleze vrijednosti generacijskog intervala bile su niže u rodbinskim vezama majka-sin i majka-kćer u odnosu na rodbinske veze otac-sin i otac-kćer. U pasmina sardinijska smeđa, sardinijska modikana i šarole te limuzin u rodbinskim veza majke s potomstvom zabilježen je duži generacijski interval. Najviša vrijednost generacijskog intervala između bikova i krava te njihova potomstva zabilježene su u pasmine pontremoleze te je u bikova iznosila približno 15 godina, a u krava približno 9 godina.

Vrijednosti prosječnog koeficijenta uzgoja u srodstvu bile su više u pasmina goveda iz regije Toskana, a iznosile su 7,25 % u pasmine pisana, 5,10 % u pasmine kalvana, 3,64 % u pasmina pontremoleze, u usporedbi s pasminama goveda sa Sardinije koje su iznosile 1,23 % u sardinijske smeđe, 1,66 % u sardinijske modikana te 1,90 % u pasmine sarda. U pasmina šarole i limuzin utvrđene vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu bile su manje od 1 %. Prosječna srodnost u populaciji u skupini pasmina goveda iz regije Toskana iznosila je od 6,4 do 10,5 % što ukazuje na visoki postotak zajedničkih alela između jedinki u odnosu na populaciju. Vrijednosti prosječne srodnosti u skupine pasmina goveda sa Sardinije bile su niske (< 0,4 %), što može biti niži rezultat zbog nepotpunosti rodovnika ovih populacija. Najveći udio parenja između polubraće zabilježen je u pasmina kalvana (približno 9 %) i pisana (6,5%), dok je najveći udio parenja (8 %) zabilježen između roditelja i potomstva u pasmine pisana. Efektivna veličina populacije bila je u rasponu od 14,62 u pasmina pontremoleze do 39,79 u pasmine sardinijska modikana. U pasmine šarole efektivna veličina populacije iznosila je 90,29, a u

pasmine limuzin 132,65. Odnos između efektivnog broja osnivača i značajnih predaka (fe/fa) bio je blizu 1, što ukazuje na visoku ravnotežu doprinosa osnivača i značajnih predaka te posljedično odsutnost pojave uskog grla u istraživanim populacijama pasmina. Međutim, u pasmina limuzin i šarole zabilježene su visoke vrijednosti odnosa fe/fa (3 i 2,1) što se može pripisati uzgojno-seleksijskom radu. S obzirom na istraživane parametre u ovim populacijama goveda, FABBRI i sur. (2019.) ističu gubitak genetske varijabilnosti, naročito u pasmina kalvana, pisana i pontremolese.

CAROLINO i sur. (2020.) analizirali su genetsku varijabilnost u portugalske izvorne pasmine goveda mertolenga (*Mertolenga*). Kompletност rodovnika iznosila je 99 % u prvoj roditeljskoj generaciji, dok je u drugoj roditeljskoj generaciji iznosila 95 %. Vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu i prosječne srodnosti u ukupnoj populaciji iznosile su 7,04 % i 1,76 %, dok su u referentnoj populaciji iznosile 8,82 % i 2,05 %. Efektivna veličina populacije izračunata na temelju broja ekvivalentnih potpunih generacija iznosila je 38,83. Sagledavajući prosječnu vrijednost generacijskog intervala u pasmine mertolenga ona je iznosila 7,05 godina. Nadalje, zabilježena je prosječna dob bikova i krava pri rođenju njihova potomstva koja je iznosila 6,4, odnosno 7,1 godina. Zabilježene vrijednosti efektivnog broja osnivača i značajnih predaka bile su 87,9 i 59,4. Broj osnivača i značajnih predaka koji objašnjavaju 50 % genetske varijabilnosti iznosio je 56 i 41. Efektivan broj osnivača genoma u referentnoj populaciji iznosio je 48,7. S obzirom na odnos fe/fa (1,48) zabilježena je pojavnost uskog grla u populaciji pasmine mertolenga.

JARNECKA i sur. (2021.) analizirali su genetsku varijabilnost u populaciji pasmine crveno poljsko govedo (*Red Polish*). Prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio je 4 %, pri čemu je zabilježena viša vrijednost koeficijenta uzgoja u srodstvu u muških (6 %) nego u ženskih životinja (2 %). Nadalje, utvrđeno je da je 76,2 % populacije imalo koeficijent uzgoja u srodstvu jednak nuli, dok je 28,70 % populacije imalo koeficijent uzgoja u srodstvu niži od 5,00 %, a u samo jedne jedinke utvrđen je koeficijent uzgoja u srodstvu viši od 30,00 %. U istraživanoj populaciji pasmine crveno poljsko govedo zabilježeno je ukupno 23,8 % srodnih životinja. Kako se povećavala veličina populacije pasmine crveno poljsko govedo, tako se povećavao i koeficijent uzgoja u srodstvu. Naime, pri utemeljenju registra, koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio je nula te se kroz generacije povećavao do najviše vrijednosti od 3,7 %. Najniža vrijednost efektivne veličine populacije iznosila je 167,14, dok je najviša iznosila 253,33.

UEMOTO i sur. (2021.) analizirali su populaciju pasmine japansko kratkorožno govedo (*Japanese Shorthorn*). Informativnost i kompletnost rodovnika povećavala se kroz generacije te je zabilježeno da je promatrajući u pet roditeljskih generacija iznosila od 38 % u petoj do 99 % u prvoj roditeljskoj generaciji. U analiziranom 28.-godišnjem razdoblju, prosječan generacijski interval bio je u rasponu od 6,0 do 7,5 godina. U prosjeku je bio veći u bikova u odnosu na krave, promatrajući rodbinsku vezu otac-sin (8,12 godina) te otac-kćer (7,27 godina), dok je promatrajući rodbinsku vezu majka-sin iznosio 6,32 godina, a majka-kćer 7,00 godina. Isti autori utvrdili su prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu koji je bio u rasponu od 1,5 % do 4,2 %. Efektivna veličina populacije, izračunata na temelju individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu bila je u rasponu od 60 do 80. Vrijednost efektivne veličine populacije s obzirom na povezanost prema zajedničkim precima bila je znatno niža u prethodnim generacijama predaka, dok je u posljednjim generacijama bila na približnoj vrijednosti od 90, a u rasponu od 82,6 do 127,8.

U radu GONZÁLEZ-CANO i sur. (2022.) analizirane su dvije španjolske izvorne pasmine crno berenda govedo (*Berrenda en Negro*) i obojeno berenda govedo (*Berrenda en Colorado*). Indeks potpunosti rodovnika u prvoj roditeljskoj generaciji u ukupnoj populaciji pasmine crno berenda govedo iznosio je 82,76 %, a u pasmine obojeno berenda govedo 79,57 %. Nadalje, zabilježene su više vrijednosti u referentnim populacijama dosežući 99,5 % u pasmine crno berenda govedo i 99,25 % u pasmine obojeno berenda govedo. Prosječan generacijski interval u referentnim populacijama, iznosio je 6,50 godina u pasmine crno berenda govedo te 6,92 godina u pasmine obojeno berenda govedo. Nadalje, prosječna dob roditelja kada im se rodi prvo potomstvo u pasmine crno berenda govedo iznosila je 5,51 godina u krava i 3,20 godina u bikova. U populaciji pasmine obojeno berenda govedo dobivene vrijednosti bile su slične, 5,27 godina u krava i 3,56 godina u bikova. Ukupan udio rasplodnih životinja u populacijama obje pasmine koje su imale potomstvo u dobi starijoj od 10 godina iznosio je 12 % u bikova i 36 % u krava, dok se približno 10 % krava nastavilo teliti u dobi starijoj od 15 godina što ukazuje na duži reproduktivni vijek krava ovih pasmina. Prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu u referentnim populacijama pasmina crno berenda govedo i obojeno berenda govedo iznosio je 7,00 i 5,7 %. Nadalje, u referentnim populacijama utvrđen je i visok postotak srodnih životinja (49,91 % u pasmina crno berenda govedo i 36,86 % u obojenog berenda goveda. Ukupno je 14,30 % jedinki u pasmine crno berenda govedo i 9,75 % u pasmine obojeno berenda govedo imalo koeficijent uzgoja u srodstvu veći od 20,00 %. Prosječan koeficijent srodnosti iznosio je 0,95 % u pasmine crno berenda govedo te 0,40 % u

obojenog berenda goveda. Vrijednosti efektivnog broja osnivača (f_e) i značajnih predaka (f_a) u obje pasmine iznosile su 238 i 234 te je odnos f_e/f_a bio blizu 1, što predstavlja jednak doprinos osnivača i značajnih predaka, odnosno ukazuje da nije bilo pojave učinka uskog grla u ovim populacijama. Također, efektivan broj genoma osnivača (f_g) te omjer f_g/f_e nisu ukazale na neujednačen doprinos osnivača koji bi mogao dovesti do gubitka genetske varijabilnosti. Međutim, ovi parametri bili su nešto veći u pasmine crno berenda govedo, što ukazuje na intenzivniju upotrebu pojedinih rasplodnih životinja. Navedeno potvrđuju i zabilježene vrijednosti prosječnog koeficijenta uzgoja u srodstvu. Vrijednost odnosa f_g/f_a također je bio blizu vrijednosti od 1, što ukazuje na odsutnost učinka genskog pomaka.

U radu IVANKOVIĆ i sur. (2022.) analizirana je populacija istarskog goveda koja od uspostavljanja registra pasmine broji ukupno 6756 životinja, dok je referentnoj populaciji bilo 2 207 životinja. Prosječan broj ekvivalentnih potpunih generacija u pasmine istarsko govedo bio je relativno nizak te je iznosio 2,99. Vrijednost generacijskog intervala iznosila je $5,93 \pm 3,65$ godina i s obzirom na rodbinske veze između roditelja i potomstva bila je u rasponu od $4,77 \pm 3,07$ za vezu otac-sin do $6,69 \pm 3,84$ za vezu majka-sin. Prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu u referentnoj populaciji iznosio je 3,14 %, varirajući od minimalnih 1,41 % (2002.) do maksimalnih 3,19 % (2018.), dok je prosječna vrijednost srodnosti iznosila 4,00 %, varirajući od 3,31 % (2008.) do 4,27 % (2000.) Efektivna veličina populacije u istarskog goveda izračunata na temelju individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu iznosila je 91,92, a omjer efektivnog broja osnivača i značajnih predaka bio je 1,03.

GARCÍA-ATANCE i sur. (2023.) analizirali su strukturu populacije i genetsku varijabilnost u pet španjolskih izvornih pasmina goveda smještenih u regiji Galicija, a to su kačena (*Cachena*), vianeza (*Vianesa*), kaldela (*Caldelá*), frierejša (*Frieiresa*) i limija (*Limiá*). Indeks kompletnosti rodovnika iznosio je između 96 i 98 % u prvoj roditeljskoj generaciji u svih analiziranih pasmina promatrano u ukupnoj populaciji, dok je u referentnoj populaciji iznosio 100 %. Vrijednost broja ekvivalentnih potpunih generacija bila je najviša u pasmine kačena (5,3), dok je u pasmine limija bila najniža i iznosila je 4,5. Prosječna vrijednost generacijskog intervala iznosila je 5,8 godina u pasmine kačena, u pasmine vianeza 6,2 godine, u pasmine kaldela 6,1 godinu te je u pasmina limija i frierejša iznosila 6,6 godina. U referentnoj populaciji španjolskih izvornih pasmina goveda generacijski interval iznosio je približno 7 godina u svih pasmina, osim u pasmine frierejša u koje je iznosio 7,8 godina. Promatrajući ukupnu populaciju analiziranih pasmina koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio je od 3,1 % u pasmina kačena i vianeza, do 4,1 % u pasmine limija. U referentnoj populaciji zabilježen je

koeficijent uzgoja u srodstvu od 4,2 % u pasmine vianeza do 5,6 % u pasmine kaldela. Prosječna srodnost između životinja varirala je unutar pasmina te je iznosila 3,5 % u kačena, 4,00 % u vianeza, 5,6 % u kaldela, 7,3 % u limija i 6,8 % u frierejša goveda. Nadalje, autori su zabilježili da je više od dvije trećine životinja promatrajući sve populacije pasmina imalo koeficijent uzgoja u srodstvu veći od nula te su se vrijednosti uglavnom kretale između 14,0 i 24,0 %. Najmanji udio srodnih jedinki zabilježen je u pasmine vianeza (69,8 %), a najveći u pasmine kaldela (79,2 %).

Analiza strukture populacije i genetske varijabilnosti u dvije plemenite pasmina limuzin i šarole u istraživanju GARCÍA-ATANCE i sur. (2023.) zabilježila je indeks kompletnosti rodovnika. U prve tri roditeljske generacije, u pasmine limuzin vrijednosti su iznosile 84,14 %, 68,72 % i 60,11 %, dok su u pasmine šarole zabilježene vrijednosti bile 77,27 %, 59,70 % i 51,03 %. Vrijednosti generacijskih intervala u pasmine limuzin bile su sljedeće: 7,26 godina (otac-sin), 6,22 godina (otac-kći), 9,11 godina (majka-sin) i 7,52 godina (majka-kći) s prosječnim generacijskim intervalom u ukupnoj populaciji od 7,05 godina. Generacijski intervali u pasmine šarole iznosili su 6,30 godina u vezi otac-sin, 5,44 godina u vezi otac-kći, 7,57 godina u vezi majka-sin i 7,81 godina u vezi majka-kći, s prosječnim generacijskim intervalom u ukupnoj populaciji od 6,70 godina. Prosječna stopa uzgoja u srodstvu uzimajući u obzir broj svih poznatih generacija, potpunih generacija te ekvivalentnih potpunih generacija iznosila je 0,47 %, 0,14 % i 0,38 % u populaciji pasmine limuzin, dok je u pasmine šarole iznosila 0,85 %, 0,15 % i 0,55 %. Nadalje, uzimajući u obzir broj svih poznatih generacija, potpunih generacija i ekvivalentnih potpunih generacija efektivna veličina populacije iznosila je 105,97 potom 355, 97 te 132, 64 u pasmine limuzin, dok je u pasmine šarole iznosila 59,14 i 329,75 te 91,60. Efektivan broj osnivača (f_e) i značajnih predaka (f_a) bio je 1079 i 513, dok je vrijednost omjera f_e/f_a iznosila 2,10 u pasmine limuzin. U pasmine šarole, f_e i f_a iznosili su 1310 i 470, a omjer f_e/f_a 2,78. U obje populacije omjer f_e/f_a uvijek bio je veći od 2,00, što ukazuje na neravnotežu između doprinosa osnivača i značajnih predaka te pojavu učinka uskog grla.

2.3. Reprodukcijski pokazatelji

Svojstvo plodnosti ženskih životinja opisano je kao poligenetsko, odnosno kvantitativno svojstvo koje je određeno učinkom više različitih gena (BERRY i sur., 2014.). Ukupna varijabilnost pokazatelja svojstva plodnosti uključuje genetske varijacije, koje proizlaze iz genetskih razlika između jedinki te utjecaja negenetskih čimbenika. Genetske varijacije nekog pokazatelja svojstva plodnosti unutar populacija životinja ovise o učestalosti alela na lokusima, veličini učinka zamjene alela te načinu djelovanja gena. Tako se unutar populacije mogu mijenjati učestalosti alela zbog primjerice utjecaja uzgoja u srodstvu, selekcije, migracije ili mutacija (ROBINSON i sur., 2023.).

Optimalna reprodukcijska učinkovitost ključni je čimbenik u proizvodnim sustavima mliječnih (CROWE i sur., 2018.) i mesnih pasmina krava (DISKIN i KENNY, 2016.). Ovisi o genetskim varijacijama, uzgoju i odgoju mladih životinja koje postaju rasplodne jedinke, upravljanju hranidbom, smještajem i dobrobiti krava, zatim upravljanju prijelaznim razdobljem koje uključuje razdoblje prije i nakon telenja, sezonu parenja i telenja te zdravlju životinja (LEAN i sur., 2016.).

Pokazatelji svojstva plodnosti posjeduju nisku do umjerenu razinu nasljednosti jer fenotipski ishod proizlazi iz uzajamnog djelovanja genetskih varijacija i različitih negenetskih čimbenika. Česta pretpostavka je da je preostala varijacija isključivo posljedica upravljanja uzgojem, međutim, ona može biti i posljedica pogreški u zapisivanju vrijednosti ili podataka o podrijetlu životinja u rodovniku (BERRY i sur., 2014.). Vrijednosti heritabiliteta pokazatelja reprodukcijske učinkovitosti goveda detaljno su prikazani u istraživanju SHAO i sur. (2021.). Heritabilitet je općenito nizak, što znači da postoji veliki utjecaj negenetskih čimbenika, a zabilježeno je da se kreće u rasponu od 0,01 i 0,40 (GUTIÉRREZ i sur., 2002.; SHAO i sur., 2021.).

Reprodukcijska učinkovitost krava opisuje se pokazateljima kao što su dob pri prvom telenju, međutelidbeno i servisno razdoblje, duljina produktivnog života, stopa koncepcije te stopa blizanačke gravidnosti i poteškoće pri telenju (LACERDA i sur., 2018.). U većini sustava u kojima se drže mesne pasmine goveda, menadžment upravljanja reprodukcijom teži k sljedećim ciljevima: trajanje međutelidbenih razdoblja od 365 dana, junice koje se tele u dobi od 24 mjeseca, razdoblje sezone telenja u kojoj se 80 % krava teli unutar 42 dana, stopa zamjene junica od 16 do 18 % te usklađivanje datuma telenja s početkom dostupnosti ispaše u proljeće (DISKIN i KENNY, 2016.). U suglasju s time, pravovremeno se moraju dogoditi i sljedeći

dogadjaji poput ponovnog uspostavljanja spolnih ciklusa nakon telenja, izražavanja estrusa te uspješna koncepcija i održavanje gravidnosti do telenja (LAMB, 2013.).

2.3.1 Dob pri prvom telenju

Pubertet predstavlja razdoblje u životu mlade životinje u kojem ona postaje sposobna za reprodukciju te uključuje složeni niz bioloških procesa i međudjelovanje fizioloških, hranidbenih i negenetskih čimbenika (KENNY i sur., 2017.). Na početku puberteta dolazi do porasta koncentracije hormona progesterona u krvi što ukazuje na početak cikličkih aktivnosti jajnika. Zatim dolazi do uspostavljanja pozitivne hormonalne sprege hipotalamus-hipofiza-jajnici, pri čemu jajnici prvenstveno izgube osjetljivost na negativne povratne učinke hormona estrogena, time omogućujući učinak folikulostimulirajućeg (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH) za poticanje sazrijevanja folikula, ovulacije i formiranje žutog tijela (DISKIN i KENNY, 2016.). Istovremeno dolazi do rasta i razvoja reproduktivnih organa u ženskih životinja, poput jajovoda i maternice. Uslijed promjena u endokrinom i reproduktivnom sustavu, a nakon uspostavljanja fiziološke funkcije jajnika i pojave ovulacije, dolazi do pojave vizualnih znakova estrusa (PERRY, 2016.).

Dob u kojoj počinje pubertet u junica ovisi o njihovoj tjelesnoj masi i konstituciji, pasmini, hranidbi, genetskoj osnovi životinje, ali i sezoni telenja (D'OCHIO i sur., 2019.). SHILLLO i sur. (1992.) navode značajan utjecaj sezone na početak puberteta, ali i na duljinu spolnog ciklusa te postpartalno anestrusno razdoblje posredovano učinkom svjetlosnog ciklusa. Nadalje, poznato je da junice pasmina koje obilježava veći tjelesni okvir ulaze ranije u pubertet (DISKIN i KENNY, 2016.). Tjelesne zalihe energije i metaboličko stanje također utječu na početak puberteta u junica (CARDOSO i sur., 2020.). Odgođeni ili kasniji početak puberteta moguć je ukoliko postoje čimbenici poput pothranjenosti životinje, bakterijskih ili virusnih infekcija, parazitarne infestacije, metaboličkih poremećaja te nepovoljnih vremenskih uvjeta.

Dob pri prvom telenju opisana je kao broj dana od rođenja krave do njenog prvog telenja te obuhvaća uspješnu koncepciju i gravidnost. Fenotipske vrijednosti pokazatelja dobi pri prvom telenju mogu se bilježiti tek nakon postizanja spolne zrelosti, a zbog niske do umjerene nasljednosti (0,09 do 0,28), izravan genetski napredak putem selekcije manje je učinkovit (MOTA i sur., 2017.). Odluka uzgajivača o trenutku uključivanja ženskih životinja u rasplod također utječe na dob pri kojoj počinje njihova reproduktivna aktivnost (SHIN i sur., 2021.).

Uz međutelidbeno razdoblje, dob pri prvom telenju ima važnu ulogu u sustavima uzgoja goveda za proizvodnju mesa, gdje krave koje se tele ranije i redovito tijekom proizvodnog života mogu dati veći broj teladi (BERRY i sur., 2014.; DAMIRAN i sur., 2018.). LÓPEZ-PAREDES i sur. (2018.) navode kako ranija dob pri prvom telenju i kraće trajanje razdoblja

postpartalnog anestrusa povećavaju stopu produktivnosti i utječu na poboljšanje reprodukcijske učinkovitosti. DAY i NOGUEIRA (2013.) te DISKIN i KENNY. (2014.) ističu da je za optimalnu reprodukcijsku učinkovitost tijekom proizvodnog života krave poželjno da se prvi puta tele u dobi između 22 i 24 mjeseca. U krava mesnih pasmina goveda zabilježena je veća vjerojatnost poteškoća s telenjem u prvotelki koje su se telile u dobi do dvije godine, u usporedbi s kravama koje su se prvi puta telile u starijoj dobi (TWOMEY i CROMIE, 2023.).

Sezona telenja često je ograničena na nekoliko mjeseci tijekom godine i odvija se od siječnja do travnja (BRZÁKOVÁ i sur., 2020.), a neplansko upravljanje reprodukcijom u stadu može rezultirati telenjima izvan sezone. Dob pri prvom telenju snažno ovisi o sezoni telenja u kojoj je junica oteljena, ali i kada se prvi puta pripuštala zbog prilagodbe na prirodne izvore hrane kako bi zadovoljile svoje metaboličke potrebe (CLAUS i sur., 2017.). FERREIRA i sur. (2021.) ističu da junice koje se prvi puta tele, tjelesno i fiziološki nisu u potpunosti zrele te da se nalaze u drugačijem metaboličkom statusu za razliku od višetelki. Također, preporučuje se da u područjima umjerene klime sezona telenja bude u kasnu zimu i rano proljeće (BERRY i EVANS, 2014.). LÓPEZ-PAREDES i sur. (2018.) navode da je u uzgoju kasnozrelih pasmina krava u okvirima manje intenzivne proizvodnje ili ograničenih resursa hrane često preporučeno da se junice tele prvi put do dobi od tri godine.

2.3.2 Servisno razdoblje

Servisno razdoblje je vremensko razdoblje od telenja do uspješne koncepcije i pokazatelj je učinkovitosti uspostavljanja ponovnog spolnog ciklusa nakon telenja. Biološka mogućnost ponovne koncepcije u razdoblju nakon telenja temelji se na usklađenom djelovanju hipotalamusa, hipofize, jajnika i maternice, što rezultira involucijom maternice i ponovnim uspostavljanjem funkcije jajnika (TEMESGEN i sur., 2022.). Uz učinkovitost otkrivanja estrusa, odluka uzgajivača o početku pripuštanja ili umjetnog osjemenjivanja i ukupni postotak koncepcije najvažniji su čimbenici koji određuju trajanje razdoblja od telenja do ponovne koncepcije. Osim toga, različiti čimbenici, kao što su ocjena tjelesne kondicije (engl. *Body Condition Score*, BCS) tijekom prijelaznog razdoblja prije i nakon telenja, dob odnosno redni broj telenja te peripartalni poremećaji (abnormalni položaji teleta, upala maternice i zaostajanje posteljice) utječu na trajanje servisnog razdoblja (GRIMARD i sur., 2006.).

Očekivano, krava bi trebala jedno tele unutar razdoblja od 365 dana. U tom vremenskom razdoblju, trajanje servisnog razdoblja ne bi trebalo biti duže od 80 do 85 dana (KUNKLE i sur., 2021.). Navedeno razdoblje je često puno dulje te se u većini uzgojnih sustava nastoji smanjiti trajanje servisnog razdoblja kako bi se poboljšala reprodukcijska učinkovitost te produktivnost krava (DISKIN i KENNY, 2016.). Nadalje, u uzgojima stada plemenitih pasmina krava smanjenje trajanja servisnog razdoblja ima ekonomsku korist jer povećava prinos mlijeka ili mesa (GOYACHE i sur., 2005.; CABRERA, 2014.) te povećava broj teladi po kravi kao i trajanje proizvodnog životnog vijeka (GONZÁLEZ-RECIO i sur., 2004.).

2.3.3 Trajanje gravidnosti

Trajanje gravidnosti obuhvaća prenatalno razdoblje od koncepcije do telenja i jedno je od najvažnijih svojstava koje značajno utječe na uzgoj i proizvodnju potomaka. Točnije, trajanje gravidnosti povezano je sa zdravljem i reprodukcijom učinkovitošću na koje utječu brojni genetski i negenetski čimbenici, uključujući hormonalne promjene, prenatalni rast, spol teleta, pojedinačne ili blizanačke gravidnosti, kao i dob krave te redni broj i sezonu telenja (ECHTERNKAMP i sur. 2007.; NORMAN i sur., 2009.). U krava koje imaju mušku telad te uniparne gravidnosti, zabilježeno je duže trajanje gravidnosti nego u krava koje imaju blizanačku gravidnost (TOMASEK i sur., 2017.). Isti autori ističu utjecaj rednog broja telenja, pri čemu je u starijih krava zabilježeno duže trajanje gravidnosti u odnosu na mlađe krave.

Prema JENKINS i sur. (2016.) trajanje gravidnosti kao svojstvo ima složenu genetsku strukturu koje je pod izravnim utjecajem genoma krave i teleta. Međutim, FANG i sur. (2019.) otkrivaju neizravan utjecaj genoma i epigenoma rasplodnjaka preko regulacije embrionalnog razvoja, stope koncepcije i sposobnosti telenja. Iako su fenotipske varijacije trajanja gravidnosti biološki ograničene i nemaju izravnu ekonomsku korist, brojna istraživanja pokazala su visoke genetske korelacije između trajanja gravidnosti i primjerice porođajne tjelesne mase teleta te poremećaja pri telenju (CHUD i sur., 2014.). VIEIRA-NETO i sur. (2017.) ističu kako je duže trajanje gravidnosti povezano s većom porođajnom tjelesnom masom, otežanim telenjima te smanjenom stopom sljedeće koncepcije.

U sustavima uzgoja mliječnih i mesnih pasmina goveda, trajanje gravidnosti kao svojstvo ima praktičnu primjenu jer se precizniji očekivani datumi mogu koristiti u upravljanju reprodukcijom, zdravljem i hranidbenim režimima (VIEIRA-NETO i sur., 2017.). NORMAN i sur. (2009.) zabilježili su povezanost između trajanja gravidnosti i trajanja servisnog razdoblja te je u krava koje su imale kraće trajanje gravidnosti utvrđena bolja sposobnost da se tele i budu plodne tijekom narednih pripusta. Isti autori zabilježili su da krave koje imaju trajanje gravidnosti u optimalnom razdoblju (274-279 dana) imaju bolju proizvodnu sposobnost proizvodnje mlijeka, ali i dulje trajanje proizvodnog života.

2.3.4 Međutelidbeno razdoblje

Međutelidbeno razdoblje predstavlja broj dana između dva uzastopna telenja. Obuhvaća razdoblje od telenja do prvog estrusa (postpartalno razdoblje), trajanje razdoblja umjetnog osjemenjivanja ili prirodnog pripusta do uspješne koncepcije te trajanje gravidnosti (BERRY i sur., 2013.; ROCHE i sur., 2017.). U tom razdoblju krave moraju zadržati sposobnost da se nakon telenja ponovno vrate u spolni ciklus i izraze znakove estrusa, uspješno koncipiraju te uspostave i održe steonost (BERRY i EVANS, 2014.). U većini uzgojnih sustava teži se trajanju međutelidbenog razdoblja od 365 dana i skraćivanju razdoblja u kojima krave nisu gravidne kako bi se umanjili neproizvodni dani jer je duljina međutelidbenih razdoblja izravno povezana s brojem teladi godišnje (LÓPEZ-PAREDES i sur. 2018.).

Trajanje međutelidbenog razdoblja može biti znatno pod utjecajem upravljanja u uzgoju. Razdoblje između telenja duži od 365 dana onemogućuje sljedeća uzastopna telenja tijekom uzgojne sezone u populacijama mesnih pasmina goveda zbog čega uzgajivači često odgađaju sezonu parenja pojedinih krava do sljedeće godine (DISKIN i KENNY, 2016.). Također, poznato je da se višetelke mogu brže oporaviti i vratiti u spolni ciklus u usporedbi s prvotelkama (LIN i sur., 2021.). Odnosno, krave koje se tele u mlađoj dobi najčešće nisu dovoljno fiziološki zrele i razvijene, što može dovesti do dužeg vremena potrebnog za oporavak i ponovno uspostavljanje spolnog ciklusa.

2.4. Istraživanja jednonukleotidnih polimorfizama gena za leptin (LEP), gena za leptinski receptor (LEPR) i gena za neuropeptid Y (NPY)

2.4.1 Leptin

Plodnost se u goveda može opisati kao uspješnost reproduktivnog ciklusa od razvoja spermatozoida i jajne stanice, preko ovulacije i uspješne koncepcije, uspostavljanja steonosti uz pretpostavku preživljavanja embrija, sve do telenja. Spolna zrelost kojom započinje reproduktivna aktivnost javlja se u pubertetu koji je hormonski posredovan i to samo kada su energetske zalihe tijela dovoljne. Nadalje, brojni hormoni i metaboliti u tijelu djeluju kao potencijalni posrednici koji putem hranidbenog statusa životinje mogu utjecati na reproduktivnu funkciju, a jedan od njih jest i leptin (WILLIAMS i sur., 2002.; SHAO i sur., 2021.).

Leptin je hormon koji proizvodi masno tkivo, odnosno adipociti i smatra se jednim od glavnih čimbenika koji signaliziraju hranidbeni status jedinke središnjem živčanom sustavu (HOUSEKNECHT i sur., 1998.). Uključen je u regulaciju mnogih procesa povezanih s metabolizmom energije i reproduktivnom funkcijom (ZIEBA i sur., 2005.). Osim što je uključen u biološke procese u imunološkom i reproduktivnom sustavu, leptin ima ulogu u oksidaciji lipida, metabolizmu glukoze, angiogenezi, regulaciji krvnog tlaka, diferencijaciji i proliferaciji stanica, razvoju mozga te zacijeljivanju rana (SCARAMUZZI i sur., 2010.; D'OCCHIO i sur., 2019.; LE DUC i sur., 2021.; CASADO i sur., 2023.). Koncentracije slobodnog cirkulirajućeg leptina u krvi ovise o količini masnog tkiva te se leptin smatra ključnom signalizacijskom molekulom koja povezuje stanje uhranjenosti s funkcijom hipotalamus-hipofiza-gonadnom osi, ali i ostalim organima uključenima u reprodukciju (HOUSEKNECHT i sur., 1998.; ZIEBA i sur., 2005.). Prema CUNNINGHAM i sur. (1999.) za dostizanje puberteta potrebna je odgovarajuća količina cirkulirajućeg leptina, a u radu THORN i sur. (2007.) zabilježeno je da koncentracija cirkulirajućeg leptina u krvi u goveda raste u razdoblju koje prethodi pubertetu.

Gen za leptin (LEP) otkriven je 1953. godine u pretilog laboratorijskog miša pri čemu je bjelančevina dugačka 167 aminokiselina (16 kDa) nazvana leptin što je izvedeno iz grč. *leptos*, a što u prijevodu znači „tanak“ (ZHANG i sur., 1997.). U goveda se LEP gen nalazi na četvrtom kromosomu (engl. *Bos taurus autosome 4*, BTA 4) i sastoji se od tri kodirajuće egzonske i tri nekodirajuće intronske regije, pri čemu prva kodirajuća egzonska regija nije uključena u sintezu bjelančevina (PFISTER-GENSKOW i sur., 1996.).

Fiziologija leptina zasniva se na njegovom međudjelovanju sa specifičnim receptorima u hipotalamusu i perifernim dijelovima tijela (DI YORIO i sur., 2008.). Mnogi hormonski receptori ugrađeni u staničnu membranu koriste enzime kinaze za svoje unutarstanične signalne akcije. Ukoliko hormon ili metabolit nema vlastitu kinazu, koristi Janus kinazu (JAK), koja predstavlja obitelj unutarstaničnih nerekceptorskih tirozin kinaza koje prenose signale posredovane citokinima putem JAK-STAT signalnog puta. Djelovanje hormona leptina ostvaruje se putem šest izoformi leptinskog receptora. Leptinski receptori pripadaju razredu receptora citokina klase I i nemaju vlastiti enzim kinazu, već koriste Janus kinazu (JAK) za fosforilaciju STAT3, jednog od članova obitelji pretvornika signala i aktivatora transkripcije, što predstavlja dio molekularne komponente leptinske signalne putanje (TARTAGLIA i sur., 1997.; BUETTNER i sur., 2006.).

Leptin ima izravan utjecaj na hipofizu pri čemu dolazi do otpuštanja folikulostimulirajućeg (FSH) i luteinizirajućeg (LH) hormona te bazalnog i gonadotropin-oslobađajućeg hormona (GnRH) (ZIEBA i sur., 2003.; BARB i KRAELING, 2004.; WILES i sur., 2014.). Također, ima i lokalni učinak na jajnike stimulacijom steroidogeneze preko leptinskih receptora na granuloznim stanicama. Nadalje, varijacije u koncentracijama leptina tijekom gravidnosti u krava pod utjecajem su polimorfizama u genu za leptinski receptor (LEPR), što sugerira na moguću povezanost LEPR gena sa svojstvima poput energetske ravnoteže i plodnosti (LIEFERS i sur., 2004.). Osim toga, leptinski receptori smješteni u hipotalamusu sudjeluju u oslobađanju gonadotropnih hormona što potvrđuje njihovu ulogu u postizanju spolne zrelosti (MAGNI i sur., 1999.). Vezujući se na receptor neuropeptida Y, leptin utječe na smanjenje unosa hrane i povećanje utroška energije te se time smatra kako je i gen za neuropeptid Y (NPY) također uključen u kontrolu reproduksijske funkcije (MAGNI i sur., 2000.).

Brojna istraživanja zabilježila su pleiotropan učinak gena za leptin (LEP) na različita proizvodna i funkcionalna svojstva. Tako su BUCHANAN i sur. (2003.), LIEFERS i sur. (2003.) te KOMISAREK (2010.) ustanovili utjecaj LEP gena na prinos mlijeka. SCHENKEL i sur. (2005.) zabilježili su povezanost LEP gena s kvalitetom trupa, dok su KULIG i KMIEĆ (2009.) te LAGONIGRO i sur. (2003.) zabilježili povezanost s prirastom mesa u mesnih pasmina goveda. Nadalje, povezanost LEP gena s kvalitetom mesa i karakteristikama trupa istraživali su CHUNG i sur. (2008.), DE OLIVEIRA i sur. (2013.) te DA SILVA i sur. (2012.). Genetske varijacije LEP gena u goveda proučavali su LUSK (2007.), SHIN i CHUNG (2007.), YANG i sur. (2007.), GUO i sur. (2008.) i KONONOFF i sur. (2017.) analizirajući povezanost

s tjelesnom masom i rastom, karakteristikama trupa i kvalitetom mesa te povezanost krivulje rasta tjelesne mase i leđne masti u goveda. Nadalje, utvrđeni su kandidatni markeri unutar lokusa gena za leptin koji su povezani s različitim svojstvima, poput negativne energetske ravnoteže u krava (MADEJA i sur., 2004.; LIEFERS i sur., 2005.; YANG i sur., 2007.; BANOS i sur., 2008.; CORVA i sur., 2009.), ukupne koncentracije leptina u serumu (LIEFERS i sur., 2003.; NKRUMAH i sur., 2005.), unosa suhe tvari (BANOS i sur., 2008.) te unosa hrane (LIEFERS i sur., 2002.; LAGONIGRO i sur., 2003.; NKRUMAH i sur., 2005.). Jednonukleotidni polimorfizmi otkriveni u LEP genu povezani su s različitim fenotipskim karakteristikama u goveda kao što su tjelesna masa, prosječan dnevni prirast, visina u grebenu i opseg prsa (KULIG i KMIEĆ, 2009.) te masnokiselinski sastav mesa (ORRÚ i sur., 2011.).

2.4.1.1 Istraživanja jednonukleotidnih polimorfizama (SNP) gena za leptin (LEP)

U egzonskoj regiji 2 LEP gena nalazi se SNP rs29004488 (u nomenklaturi opisan i kao R25C, C305T, R4C, C73T, LepKpn2I), a prvi put je zabilježen u radu KONFORTOV i sur. (1999.). BUCHANAN i sur. (2003.) zabilježili su kako mutacija u SNP-u rs29004488 ima utjecaj na aktivnost hormona leptina zbog promjene nukleotidne baze iz C u T što ima za posljedicu dodavanje nesparenog cisteina umjesto arginina i promjenu tercijarne strukture bjelančevine. Prema KONFORTOV i sur. (1999.) ova promjena može utjecati na sposobnost vezanja hormona za njegove receptore i time promijeniti signalni put djelovanja leptina.

LIEFERS i sur. (2003.) istraživali su SNP rs29004488 u junica pasmine holštajn i utvrdili tri genotipa (CC = 0,46, CT = 0,42 i TT = 0,12), s većom učestalošću alela C (0,81). U analizi povezanosti SNP-a s razdobljem od telenja do prve ovulacije nije zabilježena značajna povezanost, ali je zabilježena značajna povezanost ($P < 0,05$) s promjenama koncentracije leptina u serumu prije telenja. Krave koje su imale homozigotni genotip TT imale su niže koncentracije leptina u serumu od onih s homozigotnim genotipom CC. KOMISAREK i ANTKOWIAK (2007.) su u pasmine džersez analizirali SNP, pri čemu je zabilježena viša učestalost alela C (0,80). Međutim, nije zabilježena značajna povezanost istraživanog SNP-a s trajanjem međutelidbenog razdoblja. BANOS i sur. (2008.) su u populaciji pasmine holštajn utvrdili tri genotipa s višom učestalošću C alela (0,65). Nadalje, u radu CHEBEL i sur. (2008.) za SNP je zabilježena učestalost C i T alela koja je iznosila 0,83 i 0,17, a udio krava koje nose genotipove CC, CT i TT bio je 34,6 %, 48,2 % i 17,2 %. Također, viša učestalost alela C (0,84) zabilježena je u populaciji pasmine japansko crno govedo (*Japanese Black cattle*) s

ustanovljena tri genotipa (KAWAGUCHI i sur., 2017.). Analizirajući utjecaj SNP-a na reproduktivnu učinkovitost u pasmine holštajn, CHEBEL i SANTOS (2011.) nisu zabilježili značajnu povezanost s trajanjem servisnog razdoblja. Međutim, u prvotelki je zabilježena tendencija ($P < 0,10$) više stope gravidnosti u usporedbi s višetelkama. Prosječna vrijednost broja dana od telenja do koncepcije zbilja je manje za 14 dana te je servisno razdoblje u prvotelki u prosjeku trajalo 129 dana, u odnosu na višetelke u kojih je trajalo 143 dana. SZYDA i sur. (2011.) analizirali su SNP u pasmine holštajn pri čemu su utvrdili sva tri genotipa (CC, CT i TT) s učestalošću od 0,23, 0,49 i 0,27 i neznatno višom učestalošću alela T (0,56).

U egzonskoj regiji 3 LEP gena smješten je SNP rs29004508 (u nomenklaturi opisan i kao A80V, LepHphI, A59V), a prvi put je zabilježen u radu KONFORTOV i sur. (1999.). SNP rs29004508 utvrđen je u radu HAEGEMAN i sur. (2000.) u pasmina belgijsko bijelo plavo govedo (*Belgian Blue*), piedmonteze (*Piedmontese*), blond akiten, šarole, limuzin, crveno šareno govedo (*Red Pied*), crveno belgijsko govedo (*Red Belgian*) i holštajn. LIEFERS i sur. (2003.) navode kako mutacija u ovom SNP-u uzrokuje promjenu aminokiseline alanina u valin. Isti autori zabilježili su veću učestalost alela C (0,92) u krava pasmine holštajn s utvrđena tri genotipa (CC, CT i TT).

U radu KOMISAREK i ANTKOWIAK (2007.) u pasmine džerzej utvrđen je SNP rs29004508 te je zabilježena viša učestalost alela C (0,67) u odnosu na alel T (0,33). Značajna povezanost ovog SNP-a ($P < 0,05$) utvrđena je s trajanjem međutelidbenog i servisnog razdoblja u krava. Isti autori navode da su junice s homozigotnim genotipom CC za SNP imale značajno nižu dob pri prvom osjemenjivanju i raniju dob pri prvom telenju (za 16 odnosno 15 dana). Krave s homozigotnim genotipom TT imale su kraće trajanje servisnog i međutelidbenog razdoblja u usporedbi s kravama s heterozigotnim TC i homozigotnim CC genotipom.

Učestalost homozigotnog genotipa CC bila je viša (0,61) u odnosu na heterozigotni TC (0,33) i homozigotni genotip TT (0,06) u pasmine holštajn, kako navode CLEMPSON i sur. (2011.). Značajna povezanost SNP-a zabilježena je sa svojstvom dobi pri prvom osjemenjivanju te dobi pri prvom telenju ($P < 0,05$). Osim opisanog SNP-a rs29004508, u radu CLEMPSON i sur. (2011.) utvrđeni su i ostali SNP-ovi iz promotorske regije LEP gena za koje je zabilježena značajna povezanost s važnim svojstvima plodnosti, poput ukupnog broja osjemenjivanja (A1457G i UASMS2), servisnog razdoblja (UASMS1, UASMS2 i A1457G), udjela krava koje su ostale steone unutar 100 dana od telenja (UASMS1) te međutelidbenog razdoblja (UASMS1 i A1457G).

ÖZTABAK i sur. (2010.) istraživali su SNP rs29004508 u tri izvorne pasmine u Turskoj, a to su južnoanatolijsko crveno govedo (*South Anatolian Red*) i istočnoanatolijsko crveno govedo (*East Anatolian Red*) te tursko sivo govedo (*Turkish Grey Cattle*). U pasmina južnoanatolijsko crveno govedo i istočnoanatolijsko crveno govedo utvrđena su sva tri genotipa s najvećim brojem heterozigotnih jedinki i s većom učestalošću C alela (0,58, 0,51). U istraživanju provedenom u populaciji krava nelore (*Nellore*) pasmine goveda, zabilježena su samo dva genotipa (homozigotni genotip TT i heterozigotni genotip TC) (SILVA i sur., 2014.). KAWAGUCHI i sur. (2017.) analizirali su SNP rs29004508 u pasmine japansko crno govedo, pri čemu su zabilježili tri genotipa s višom učestalošću C alela (0,87).

DE MATTEIS i sur. (2012.) proveli su sekvenciranje odsječka LEP gena, pri čemu je u pasmine holštajn zabilježeno 26 SNP-ova i to 24 u promotorskoj regiji gena i dva u egzonskim regijama gena. U istraživanoj populaciji utvrdili su SNP rs29004488 u egzonskoj regiji 2 i SNP rs29004508 u egzonskoj regiji 3.

U radu JECMINKOVA i sur. (2018.) istraživana je povezanost SNP-a rs29004508 LEP gena u češkom soju pasmine simentalско govedo (*Czech Fleckvieh*). Utvrđena su tri genotipa s učestalošću homozigotnog genotipa CC od 0,58, heterozigotnog genotipa od 0,37 i homozigotnog genotipa TT od 0,05. Učestalost alela C bila je viša (0,77) u odnosu na učestalost alela T (0,23). Nadalje, zabilježena je tendencija povezanosti ($P=0,094$) navedenog SNP-a s duljim trajanjem međutelidbenog razdoblja u krava s homozigotnim genotipom TT u odnosu na životinje sa heterozigotnim genotipom TC. Značajna povezanost SNP-a rs29004508 ustanovljena je za svojstvo servisnog razdoblja, pri čemu su životinje s homozigotnim genotipom TT imale dulje trajanje servisnog razdoblja. Krave s homozigotnim genotipom TT imale su najdulje trajanje servisnog razdoblja u drugom telenju u usporedbi s homozigotnim genotipom CC ($P=0,006$) i heterozigotnim genotipom TC ($P=0,009$). Životinje s homozigotnim genotipom TT imale su duže trajanje međutelidbenog razdoblja ($P<0,01$). Suprotno tome, u istraživanju KOMISAREK (2010.) u populaciji holštajn-frizijske pasmine te KOMISAREK i ANTKOWIAK (2007.) u pasmine džersez nije zabilježena značajna povezanost SNP-a rs29004508 s trajanjem međutelidbenog razdoblja.

U egzonskoj regiji 2 LEP gena smješten je SNP rs29004487 (u nomenklaturi opisan kao Y7F, A252T), a prvi put je zabilježen u radu LAGONIGRO i sur. (2003.). Isti autori utvrdili su SNP rs29004487 u krava pasmine holštajn, angus, hereford (*Hereford*), škotskog visinskog goveda (*Highland cattle*) i šarole. U svih istraživanih pasmina najveću učestalost imao je homozigotni genotip AA, a zatim heterozigotni genotip AT. Homozigotni genotip TT nije

utvrđen u krava pasmina holštajn, škotsko visinsko govedo i šarole. BANOS i sur. (2008.) utvrdili su u populaciji holštajn pasmine samo dva genotipa (AA i AT) s višom učestalošću alela A (0,97). Također, u radu KOMISAREK (2010.) analiziran je SNP rs29004487 u 309 krava holštajn pasmine u kojih su utvrđena samo dva genotipa s visokom učestalošću homozigotnog genotipa AA (0,97). U radu CLEMPSON i sur. (2011.) u junica pasmine holštajn istraživao je SNP rs29004487 pri čemu su zabilježeni homozigotni AA i heterozigotni genotip AT. KAWAGUCHI i sur. (2017.) istraživali su SNP rs29004487 u dvije različite populacije krava pasmine japansko crno govedo te su u jednoj populaciji utvrdili sva tri genotipa (AA, AT i TT) s učestalošću od 0,79, 0,19 i 0,02, dok su u drugoj populaciji utvrdili samo dva genotipa (AA, AT) s učestalošću od 0,97 i 0,03. Učestalost alela A bila je viša u obje populacije (0,98 i 0,89).

U istraživanju MALETIĆ i sur. (2019.) u populaciji 36 krava pasmine buša i 10 krava križanaca s pasminom buša u Bosni i Hercegovini utvrđeni su SNP rs29004508 koji se nalazi u egzonskoj regiji 3 i SNP SAU3AI koji se nalazi u promotorskoj regiji LEP gena. Za SNP rs29004508 utvrđen je samo homozigotni genotip CC. Za SNP SAU3AI utvrđena su dva genotipa (AA i AB) s višom učestalošću homozigotnog genotipa AA (0,78). Nadalje, isti autori utvrdili su značajnu povezanost ($P < 0,05$) SNP-a SAU3AI, odnosno homozigotnog genotipa AA s prinosom mlijeka te količinom bjelancevina i mliječne masti.

2.4.2 Leptinski receptor

Leptinski receptor opisan je kao glikoprotein s jednom transmembranskom regijom te se sastoji od ukupno šest izoformnih oblika (*ObRa*, *ObRb*, *ObRc*, *ObRd*, *ObRf* i topljivi, krvotokom nošeni *ObRe*) smještenih u različitim tkivima (TARTAGLIA i sur., 1997.). Kratke izoforme leptinskih receptora (*ObRa*, *ObRc*, *ObRd*, *ObRe*) mogu se vezati na unutarstanične receptore Janus kinaza (JAK kinaze) te aktivirati ostale kaskadne reakcije prenošenja signala u stanici. Topiva izoforma (receptor *ObRe*) ujedno može regulirati koncentraciju leptina u serumu i služiti kao protein nosač hormona leptina do membranskih receptora. Dakle, hormon leptin svoje djelovanje izražava putem leptinskih receptora, koristeći JAK/STAT signalni put aktivacije staničnih reakcija (GORSKA i sur., 2010.). Leptinski receptori smješteni su u mozgu, masnom tkivu, placenti, hipotalamusu i srcu, međutim samo receptor smješten u hipotalamusu, *Ob-Rb* predstavlja izoformu leptinskog receptora koji ima važnu ulogu u prijenosu signala (WAUMAN i TAVERNIER, 2011.). Nadalje, leptinski receptori smješteni unutar hipotalamusa povezani su s otpuštanjem gonadotropnih hormona te se smatraju ključnim mjestom djelovanja zaduženog za kontrolu apetita, reprodukciju i specifičan rast tkiva (MAGNI i sur., 2000.). Prema navodima MARTIN i sur. (2021.) leptinski receptori prisutni su u jajnicima, gdje leptin utječe na steroidogenezu i sposobnost oocita da održe prenatalni razvoj embrija.

2.4.2.1 Istraživanja jednonukleotidnih polimorfizama LEPR gena

Gen za leptinski receptor otkriven je 1995. godine (TARTAGLIA i sur., 1997.). U goveda se nalazi na trećem kromosomu (engl. *Bos taurus autosome 3*, BTA 3) (PFISTER-GENSKOW i sur., 1996.) i sastoji se od 18 kodirajućih egzonskih regija.

Unutar LEPR gena, LIEFERS i sur. (2004.) prvi puta su opisali SNP rs133672995 (u nomenklaturi opisan i kao T945M), lokus u kojem se događa zamjena nukleotidne baze citozina s timinom na poziciji 115 u egzonu 18, a što rezultira zamjenom aminokiseline treonin u metionin. SNP je istraživao u pasmine holštajn te su utvrđena samo dva genotipa, homozigotni genotip CC i heterozigotni genotip CT, a učestalost alela C bila je viša (0,93), u odnosu na alel T (0,07) (LIEFERS i sur., 2004.). Isti autori istraživali su povezanost SNP-a s razinom koncentracije leptina u krvi tijekom kasne gravidnosti, pri čemu su utvrdili da su krave s homozigotnim genotipom CC imale više vrijednosti od krava s heterozigotnim genotipom CT. ALMEIDA i sur. (2008.) analizirali su SNP rs133672995 u pasmina šarole i angus. U obje populacije učestalost alela C bila je viša i iznosila je u pasmine šarole 0,98, a u pasmine angus

0,92. Također, ALEMIDA i sur. (2008.) istraživali su povezanost ovog SNP-a s trajanjem međutelidbenog razdoblja u istraživanim pasmina, međutim nisu utvrdili značajan utjecaj. Kao i u prethodnim istraživanjima, CLEMPSON i sur. (2011.) su analizirajući SNP u krava pasmine holštajn zabilježili samo dva genotipa, homozigotni genotip CC s učestalošću od 0,85 i heterozigotni genotip CT s učestalosti od 0,15. Nije utvrđena značajna povezanost SNP-a s istraživanim svojstvima dobi pri prvom pripustu i dobi pri prvom telenju.

U istraživanju BANOS i sur. (2008.) u pasmine holštajn analiziran je SNP rs133672995, pri čemu su utvrđeni homozigotni genotip CC i heterozigotni genotip CT, s učestalošću od 0,86 i 0,14. Učestalost alela C bila je viša (0,93) od učestalosti alela T (0,07). U pasmina holštajn i crveno švedsko govedo (*Swedish Red cattle*) analiziran je navedeni SNP te su utvrđeni homozigotni genotip CC (0,80) i heterozigotni genotip CT (0,20) (GLANTZ i sur. (2011.)). KOMISAREK i DORNYEK (2006.) utvrdili su SNP-a u pasmine džersez s većom učestalošću alela C (0,79) od alela T (0,21).

U radu DE MATTEIS i sur. (2012.) u pasmine holštajn provedeno je sekvenciranje LEPR gena, uključujući i 5 primarnu neprevedenu regiju, pri čemu je utvrđeno ukupno 16 SNP-ova. Otkriveni SNP-ovi bili su kako slijedi: u egzonskoj regiji 2 SNP rs43347906, u intronskoj regiji SNP rs43208611, u intronskoj regiji 8 SNP rs43208612, u egzonskoj regiji 10 SNP rs43349293, u egzonskoj regiji 16 SNP rs43349279, u intronskoj regiji 16 SNP rs43349276 te u egzonskoj regiji 18 SNP rs133672995. Preostalih devet SNP-ova zabilježenih u radu DE MATTEIS i sur. (2012.) predstavljali su novootkrivene mutacije, a nalazili su se u 5 primarnoj neprevedenoj regiji, egzonskim regijama 7, 8, 11 i 12 i 18 te intronskim regijama 15 i 17.

TRAKOVICKÁ i sur. (2013.) analizirali su SNP rs133672995 u pasmine slovačko pjegavo govedo (*Slovak Spotted cattle*) i pincgavsko govedo (*Pinzgauer*) te su u obje populacije zabilježili dva genotipa, homozigotni genotip CC i heterozigotni genotip CT. Učestalost alela C u pasmine slovačko pjegavo govedo bila je 0,96, dok je učestalost alela C u pincgavskog goveda bila 0,91. Autori su utvrdili povezanost SNP-a s trajanjem međutelidbenog razdoblja ($P < 0,01$), pri čemu su krave u kojih je zabilježen heterozigotni genotip imale kraće trajanje međutelidbenog razdoblja. Nadalje, zabilježena je tendencija povezanosti ($P < 0,10$) heterozigotnog genotipa s trajanjem servisnog razdoblja. NANAIE i sur. (2014.) su u pasmine holštajn ustanovili SNP rs133672995 pri čemu je učestalost homozigotnog genotipa CC iznosila 0,40, heterozigotnog genotipa CT 0,49 te homozigotnog genotipa TT s većom učestalošću alela C (0,65) od alela T (0,35). Također, CARVAJAL i sur. (2016.) utvrdili su prisutnost SNP-a rs133672995 u četiri različite pasmine: holštajn, džersez, crno frizijsko govedo

(*Frisón Negro*), montbeliard (*Montbéliarde*) i crveno overo govedo (*Overo Colorado*). U pasmina holštajn, crno frizijsko govedo i crveno overo govedo ustanovljena su dva genotipa, homozigotni genotip CC i heterozigotni genotip. Nadalje, u svih istraživanih pasmina zabilježena je viša učestalost alela C u odnosu na alel T.

2.4.3 Neuropeptid Y

Neuropeptid Y (NPY) je neurotransmitter središnjeg živčanog sustava. Jedan je od najzastupljenijih peptida u hipotalamusu i ima značajnu ulogu u brojnim biološkim procesima koji reguliraju apetit, ponašanje u hranjenju i energetske ravnoteže u ljudi i životinja (KALRA i KALRA, 2004.; BAHAR i SWEENEY, 2008.; ALAM i sur., 2012.).

U goveda se gen za neuropeptid Y nalazi na četvrtom kromosomu (BTA4), a sastoji se od tri kodirajuće egzonske i dvije nekodirajuće intronske regije (THUE i BUCHANAN, 2004.; BAHAR i SWEENEY, 2008.). Različite funkcije neurotransmitera neuropeptida Y posredovane su putem receptora (Y1, Y2, Y4, Y5 i Y6) (GEHLERT, 2004.). Neuropeptid Y prvenstveno se nalazi u središnjem živčanom sustavu (TATEMOTO i sur., 1982.). U perifernim tkivima izražaj gena NPY zabilježen je u potkožnom masnom tkivu te u tankom crijevu (BAHAR i SWEENEY, 2008.).

Gen za NPY povezan je s kontrolom unosa hrane i lučenja gonadotropin-oslobađajućeg hormona (GnRH). Dio je leptinskog sustava uključenog u kontrolu apetita, unosa hrane i energetske ravnoteže te je prepoznat i kao gen uključen u funkciju reproduktivnog, imunološkog i kardiovaskularnog sustava (CERDÁ-REVERTER i LARHAMMAR, 2000.; MAGNI i sur., 2000.). Ima funkciju kontrole aktivnosti leptina u hipotalamusu, utječući na oslobađanje luteinizirajućeg hormona (LH) i somatotropina (FETISSOV i sur., 2004.). Međutim, neka istraživanja pokazuju inhibitornu ulogu gena za NPY na lučenje GnRH i time oprečno djelovanje na reproduksijsku funkciju (GONZALES i sur., 2004.).

Prema navodima VAICIUNAS i sur. (2008.) i FORTES i sur. (2013.) izražaj gena za leptin (LEP) kao i dva receptora neuropeptida Y (NPY-Y1 i NPY-Y4) povezani su s ranim razdobljem puberteta u junica i ranog embrionalnog razvoja ploda (WAUMAN i TAVERNIER, 2011.; PÉREZ-PÉREZ i sur., 2018.). BRICKELL i sur. (2010.) te CHILDS i sur. (2021.) navode da pravilno funkcioniranje sustava leptin-neuropeptid Y ima ključnu ulogu u procesu oplodnje i kasnijem preživljavanju embrija, reproduksijskoj funkciji i održavanju gravidnosti.

2.4.3.1 Istraživanja jednonukleotidnih polimorfizama NPY gena

Provedena istraživanja SNP-ova NPY gena u goveda zabilježila su povezanost sa svojstvima tjelesnog rasta, iskorištavanja hrane i kvalitete trupa u pasmina angus, šarole te njihovih križanaca (SHERMAN i sur., 2008.; TRUJILLO i sur., 2013.). Isto je utvrđeno u pasmina nanjang (*Nanyang*) (ZHANG i sur., 2011.) i piedmonteze (LISA i sur., 2013.).

U radu BAHAR and SWEENEY (2008.) provedena je analiza odsječka NPY gena koja je obuhvatila promotorsku, egzonsku i intronsku regiju, pri čemu je ukupno zabilježeno 50 SNP-ova. Najveći broj SNP-ova (n=41) utvrđen je u intronskim regijama 1, 2 i 3. U četiri egzonske regije utvrđeno je ukupno četiri SNP-a, dok je u 3 primarnoj neprevedenoj regiji otkriveno pet SNP-ova.

SHERMAN i sur. (2008.) analizirali su tri SNP-a NPY gena smještenih u intronskoj regiji 2 (NPY 1 - AY491054-284 G/A, NPY2 - AY491054-666 G/A i NPY3 - AY491054-3032 T/C) u pasmina angus, šarole i njihovih križanaca, a prethodno otkrivenih u radu THUE i BUCHANAN (2004.). Isti autori su u sve tri populacije za SNP NPY1 zabilježili nižu učestalost alela G (0,08, 0,09 i 0,11), dok je za SNP NPY2 zabilježena niža učestalost alela A (0,46, 0,50 i 0,28). Nadalje, za SNP NPY3 zabilježena je niža učestalost alela C (0,11, 0,14 i 0,15) za razliku od alela T. Analizirajući NPY gen u kineskih mesnih pasmina, ZHANG i sur. (2011.) ustanovili su pet SNP-ova u tri lokusa. Otkriveni SNP C38017G smješten je u egzonskoj regiji 1, a C34240A u egzonskoj regiji 2, dok su SNP-ovi G34168A i A32463C smješteni u intronskoj regiji 2. Zabilježeni SNP C32302G smješten je u 3 primarnoj neprevedenoj regiji NPY gena.

U radu CLEMPSON i sur. (2011.) u junica pasmine holštajn istraživan je SNP NPY1 (AY491054-284 G/A), koji je smješten u intronskoj regiji 2 NPY gena. Utvrđena su tri genotipa (GG, AG i AA) s učestalošću 0,70, 0,27 i 0,03, redom. Usporedbom GG i AG genotipa utvrđena je statistički značajna povezanost ($P < 0,05$) homozigotnog genotipa GG SNP-a NPY1 s vjerojatnošću da će krava koncipirati unutar 100 dana od telenja u prvoj laktaciji. Nadalje, SINGH i sur. (2022.) zabilježili su tri SNP-a u 5 primarnoj neprevedenoj regiji NPY gena, a to su rs210235706 (G>A), rs209325496 (T>C) i rs521915723 (G>A). U radu TRUJILLO i sur. (2012.) u populaciji angus pasmine goveda za SNP NPY2 utvrđena su sva tri genotipa s višom učestalošću alela A (0,68).

U istraživanju LASAGNA i sur. (2020.) u talijanskih izvornih pasmina piedmonteze, kianina (*Chianina*), markedana (*Marchigiana*) i romanjola (*Romagnola*) za SNP NPY3 (AY491054-3032 T/C) zabilježen je jedino homozigotni genotip CC. Također, u istih pasmina utvrđena je prisutnost SNP-ova NPY 1 - AY491054-284 G/A i NPY2 - AY491054-666 G/A.

Promatrajući SNP NPY1 u sve četiri pasmine zabilježena je niža učestalost alela A i bila je kako slijedi, u pasmina kianina 0,097, markedana 0,060, piedmonteze 0,232 i romanjola 0,129. Za SNP NPY2 ustanovljena je niža učestalost alela C i iznosila je u populaciji pasmina kianina 0,267, markedana 0,178, piedmonteze 0,311 i romanjola 0,491.

3. OBRAZLOŽENJE TEME

Važnost očuvanja izvornih pasmina goveda očituje se u njihovoj jedinstvenoj genetskoj osnovi. Analizom strukture populacije i pokazatelja genetske varijabilnosti poput uzgoja u srodstvu, efektivne veličine populacije i vjerojatnosti porijekla gena, unaprijedit će se spoznaje o trenutnom statusu te budućim uzgojnim strategijama u populaciji izvorne pasmine goveda buša. S obzirom na status ugrožene održive populacije i trend povećanja broja rasplodnih jedinki, u izvorne pasmine goveda buša, neplanski uzgoj može značajno utjecati na varijacije fenotipskih pokazatelja svojstava plodnosti i reprodukcijske učinkovitosti. Očuvanost istraživanih genomskih regija gena za leptin, leptinski receptor i neuropeptid Y u izvorne pasmine goveda buša s obzirom na otkrivene jednonukleotidne polimorfizme doprinijeti će boljem razumijevanju varijabilnosti u odnosu na druge izvorne, ali i plemenite pasmine goveda. Stoga, uzimajući u obzir fenotipske, genotipske te negenetske čimbenike istražen je njihov utjecaj na svojstva plodnosti, što može poboljšati saznanja u postupcima očuvanja i genetskom unaprijeđenju izvornih pasmina goveda.

Ciljevi istraživanja ovog doktorskog rada provedenog u populaciji izvorne pasmine goveda buša u Republici Hrvatskoj bili su:

1. analizirati strukturu populacije i izračunati vrijednosti pokazatelja genetske varijabilnosti efektivne veličine populacije, prosječne srodnosti jedinki, generacijskih intervala i koeficijenta uzgoja u srodstvu,
2. utvrditi vrijednosti reprodukcijskih pokazatelja dobi pri prvom i uzastopnim telenjima, međutelidbenog razdoblja, servisnog razdoblja i trajanja gravidnosti u populaciji rasplodnih krava,
3. istražiti jednonukleotidne polimorfizme u kodirajućim i nekodirajućim regijama gena za leptin, leptinski receptor i neuropeptid Y,
4. procijeniti utjecaj jednonukleotidnih polimorfizama gena za leptin, leptinski receptor i neuropeptid Y te negenetskih čimbenika na reprodukcijske pokazatelje.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Materijal

4.1.1 Životinje obuhvaćene istraživanjem

Istraživanje je provedeno u populaciji izvorne pasmine goveda buša u Republici Hrvatskoj, a obuhvatilo je podatke u vremenskom razdoblju od 1987. do 2022. godine. U analizi su korišteni objedinjeni podaci iz baze Uprave za stočarstvo i kvalitetu hrane i Veterinarskog informacijskog sustava (VetIS) Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane pri Ministarstvu poljoprivrede Republike Hrvatske.

Za analizu strukture populacije i genetske varijabilnosti sastavljeni su detaljni zapisi o ukupnoj populaciji koja se odnosila na podatke o rodovniku, a sadržavala je identifikacijski broj teleća, identifikacijski broj krave i bika, datum rođenja, spol i područje podrijetla. Referentnu populaciju u istraživanju činile su trenutno žive životinje, dok je rasplodna populacija obuhvatila rasplodne krave i bikove koji su imali najmanje jednog zabilježenog potomka. Za analizu reproduktivne učinkovitosti i genotipizaciju životinja sastavljena je baza podataka o ukupnoj populaciji ženskih rasplodnih životinja. Nadalje, iz rasplodne populacije, a za svaku junicu, odnosno kravu, prikupljeni su sljedeći podatci: datum rođenja, datumi uspješne koncepcije, datumi prvog i uzastopnih telenja, datumi od telenja do ponovne uspješne koncepcije te datum izlučenja.

4.1.2 Životinje odabrane za genotipizaciju

Uzorci krvnih ugrušaka korišteni za genotipizaciju prikupljeni su u Hrvatskom veterinarskom institutu (HVI) u Zagrebu i podružnicama Veterinarskih zavoda u Splitu, Rijeci i Križevcima, temeljem Suglasnosti Ministarstva poljoprivrede, Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane. Uzorci su u HVI i podružnicama Veterinarskih zavoda prikupljeni u okviru „Naredbe o mjerama zaštite zdravlja životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2022. godini“ (NN 145/2021). Navedeni uzorci pohranjeni su Laboratoriju za primijenjenu genetiku u uzgoju životinja Zavoda za uzgoj životinja i stočarsku proizvodnju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u zamrzivač na -20 °C.

Životinje koje su bile podvrgnute genotipizaciji bile su odabrane iz rasplodne populacije ženskih životinja. Od ukupno 1123 prikupljena uzorka, odabrano je 100 životinja ženskog

spola, primjenjujući sljedeće kriterije: dostupnost i informativnost podataka o rodozačetnici ili informativnost podataka o kravama potomcima rodozačetnica te zastupljenosti živućih rodova krava, pri čemu su najviše tri uzorka krava bile potomci istog bika. Nadalje, uključujući kriterij pri odabiru uzoraka za genotipizaciju bio je i kompletnost podataka za reprodukcijske pokazatelje s najmanje pet telenja.

4.1.2.1 Uvjeti držanja životinja

Sve su krave uvedene u evidenciju uzgojno valjanih ženskih grla pri Ministarstvu poljoprivrede Republike Hrvatske te umatičene kao čistokrvna grla buša pasmine goveda. Farme ili uzgojni objekti u kojima su držane krave nalaze se u različitim geografskim područjima Republike Hrvatske, odnosno u nizinskoj/panonskoj, planinskoj/dinarskoj i primorskoj/jadranskoj regiji. Životinje su uglavnom držane u ekstenzivnom sustavu uzgoja, dok krave iz pojedinih uzgoja tijekom zimskog razdoblja borave u stajama. Tijekom razdoblja parenja, pripust se organizira pretežno prirodnim načinom te bikovi borave s kravama na pašnjacima, dok telad ostaje uz majku nakon telenja. Rasplodne krave većinu svojih hranidbenih potreba zadovoljavaju na pašnjaku, dok se sijeno i voda postavljaju na za to predviđena skupna mjesta. Krave iz pojedinih uzgoja također su na pašnjacima opskrbljene i mineralnim solima. Veterinarska skrb obuhvaća povremene preglede stada, a osobito prilikom provođenja propisanih mjera od strane nadležnih veterinarskih organizacija prema Naredbi o mjerama zaštite zdravlja životinja od zaraznih i nametničkih bolesti Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske.

4.2. Metode

4.2.1 Analiza strukture populacije

U analizi strukture populacije buša pasmine goveda prikazan je ukupan broj registriranih životinja, broj ženskih i muških životinja te životinja bez potomstva u ukupnoj, referentnoj i rasplodnoj populaciji u promatranom razdoblju. Istražena je dobna struktura rasplodne populacije te ukupan broj potomaka po kravi i biku. Analizirana je ženska rasplodna populacija s obzirom na 156 rodova krava, kako bi se dobio uvid u zastupljenost rodova krava u populaciji, odnosno broj potomaka prema rodovima krava. Nadalje, analizirana je muška rasplodna populacija te zastupljenost 24 linije bikova u ukupnoj populaciji s obzirom na broj potomaka. Seleksijski pritisak rasplodnjaka i rasplodnih krava prikazan je koristeći generacijske skupine koje su opisane kao skupine životinja rođene unutar približno jednakih generacijskih intervala.

U ovom istraživanju geografsko područje podrijetla odnosilo se na regije, odnosno na prirodno-geografsku podjelu na nizinsku/panonsku, planinsku/dinarsku i primorsku/jadransku Hrvatsku (KLEMENČIĆ, 1993.). Nizinsku/panonsku regiju karakterizira ravničarski teren i plodno tlo ispod 200 metara nadmorske visine. Planinska/dinarska regija obuhvaća gore (501-1000 metara), podnožja planina (1001-1500 metara) i visoka planinska područja (iznad 1501 metra). Primorska/jadranska regija obuhvaća brežuljkaste predjele i visoravni s visinama od 201 do 500 metara nadmorske visine te s ograničenim plodnim tlom. Unutar navedenih geografskih područja podrijetla izračunati su sljedeći demografski parametri: broj registriranih životinja te broj muških i ženskih životinja kao i broj te udio rasplodnjaka i krava po regijama.

4.2.2 Analiza genetske varijabilnosti

4.2.2.1 Informativnost i kompletnost rodovnika

Informativnost i kompletnost rodovnika procijenjena je koristeći indeks potpunosti (engl. *Pedigree Completeness Index*, PCI) na temelju izračuna MACCLUER-a i sur. (1983.), a analiziran je u ukupnoj i referentnoj populaciji prema najvećem broju poznatih generacija. Indeks kompletnosti računa se prema sljedećoj formuli:

$$PCI = \frac{2 \times I_{p,d} \times I_{m,d}}{I_{p,d} + I_{m,d}},$$

gdje $I_{p,d}$ i $I_{m,d}$ predstavljaju proporcije poznatih predaka tijekom određenog broja poznatih generacija unatrag (d) u očevoj (p) i majčinskoj (m) liniji.

Kompletnost rodovnika procijenjena je koristeći broj svih poznatih generacija, potpunih generacija i ekvivalentnih potpunih generacija (engl. *Equivalent Complete Generations*, ECG) u ukupnoj, referentnoj i rasplodnoj populaciji (GUTIÉRREZ i GOYACHE, 2005.). Prosječan broj svih poznatih generacija obuhvaća sve poznate generacije u rodovniku, što predstavlja uključivanje informacija o svim generacijama koje su dostupne. Prosječan broj potpunih generacija odnosi se samo na one generacije unutar rodovnika koje su potpune, odnosno za koje su dostupni podaci o svim jedinkama iz generacije. Generacije koje imaju nepotpune podatke ili nepoznate jedinke ne uključuju se u ovu analizu. Prosječan broj ekvivalentnih potpunih generacija predstavlja prilagođenu verziju potpunih generacija, a računa se kao $\Sigma (1/2)^n$ gdje je n broj generacija između jedinki i svakog poznatog pretka (MAIGNEL i sur., 1996.).

4.2.2.2 Efektivan broj osnivača, značajnih predaka i genoma osnivača

U ukupnoj i referentnoj populaciji izračunat je broj predaka osnivača (f) i značajnih predaka. Izračunat je efektivan broj osnivača (f_e), značajnih predaka (f_a) i genoma osnivača (f_g) prema LACY (1989.) i BOICHARD i sur. (1997.). U svrhu istraživanja pojave i učinka genskog pomaka i uskog grla u populaciji, izračunati su odnosi između broja osnivača i efektivnog broja osnivača (f/f_e), efektivnog broja osnivača i značajnih predaka (f_e/f_a), efektivnog broja značajnih predaka i osnivača (f_a/f_e) te efektivnog broja genoma osnivača i osnivača (f_g/f_e). Izračunat je i broj osnivača i značajnih predaka koji objašnjavaju 50 % genetske varijabilnosti u populaciji.

Genetska varijabilnost populacije mjeri se zastupljenošću predaka osnivača (f). Efektivni broj osnivača (f_e) pokazatelj je koji ukazuje koliki je udio doprinosa osnivača sačuvan

kroz generacije, a može biti pod utjecajem uzgoja i selekcije te promjena u broju potomaka u populaciji (engl. *family size*). Pri tome efektivni broj osnivača ne uzima u obzir mogući gubitak gena tijekom generacija, za razliku od efektivnog broja značajnih predaka (f_a). Nadalje, značajni predci imaju važan doprinos genetskoj varijabilnosti populacije, a nisu nužno osnivači populacije. Efektivan broj značajnih predaka (f_a) pokazatelj je učinka uskog grla i ukazuje na gubitak alela u populaciji (JAMES, 1972.; LACY, 1989.). Efektivan broj genoma osnivača (f_g) je pokazatelj koji doprinosi razumijevanju koliko su različiti genomi osnivača zastupljeni i koliko je ta raznolikost sačuvana u populaciji tijekom vremena.

4.2.2.3 Generacijski interval

Generacijski intervali izračunati su za ukupnu i referentnu populaciju koristeći dva pristupa. Prvi pristup temelji se na izračunu prosječne dobi roditelja pri rođenju njihova potomstva koje se kasnije koristi u rasplodu, prema definiciji JAMES (1977.). Drugi pristup definira generacijski interval kao prosječnu dob roditelja pri rođenju njihovih potomaka, neovisno o tome jesu li korišteni u rasplodu. Navedeni generacijski intervali izračunati su za rodbinske veze otac-sin, otac-kćer te majka-sin i majka-kćer.

4.2.2.4 Uzgoj u srodstvu i srodnost predaka u rodovniku

Prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu (F) izračunat je u ukupnoj, referentnoj i rasplodnoj populaciji te po generacijama, a prema MEUWISSEN i LUO (1992.). Povećanje koeficijenta uzgoja u srodstvu ΔF u ukupnoj populaciji te u srodnih jedinki izračunato je za broj svih poznatih i potpunih generacija prema formuli:

$$\Delta F = \frac{F_t - F_{t-1}}{1 - F_{t-1}},$$

gdje je F_t prosječni koeficijent uzgoja u srodstvu u i -toj generaciji, a F_{t-1} u generaciji prije nje.

Prosječna srodnost (engl. *Average Relatedness*, *AR*) pojedine jedinice s ostatkom populacije izračunat je za ukupnu, referentnu i rasplodnu populaciju. Također, izračunat je i prosječan koeficijent srodnosti po generacijama za broj svih poznatih i potpunih generacija. Prosječna srodnost predstavlja prosječnu genetsku povezanost pojedinca s ostatkom populacije,

što odražava udio zajedničkih predaka ili genetskog materijala između pojedinca i populacije. Ovaj pristup pruža uvid u genetski doprinos određene životinje unutar populacije, a opisan je u radu GUTIÉRREZ i GOYACHE (2005.).

U ukupnoj, referentnoj i rasplodnoj populaciji izračunate su apsolutna i relativna učestalost parenja između bliskih srodnika koji su zabilježeni u rodovniku (braća-sestre, polubraća-polusestre, roditelji-potomstvo). Izračunat je i udio srodnih jedinki po generacijama prikazan brojem svih poznatih i potpunih generacija.

U ovom istraživanju izračunat je postotak životinja s obzirom na individualni koeficijent uzgoja u srodstvu koji je prikazan za ukupnu populaciju, a prema raspodjeli, kako slijedi: $F = 0,00$; $0,01 < F < 6,25$; $6,26 < F < 12,50$; $12,51 < F < 18,75$; $18,76 < F < 25,00$ i $F > 25,01$.

4.2.2.5 Efektivna veličina populacije

Efektivna veličina populacije (N_e) procijenjena je u ukupnoj populaciji sljedećim metodama: a) koristeći koeficijent regresije individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu preko (i) broja svih poznatih generacija; (ii) broja potpunih generacija; (iii) broja ekvivalentnih potpunih generacija, (b) kao individualno povećanje uzgoja u srodstvu. Ove metode koriste se pri procjeni efektivne veličine populacije uzimajući u obzir broj rasplodnih jedinki u populaciji i individualne vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu, razmatrajući različiti broj generacija. Na temelju toga, procjenjuje se stvarni doprinos genotipova rasplodnih jedinki budućim generacijama, što pruža uvid u genetsku varijabilnost populacije (GUTIÉRREZ i GOYACHE, 2005.).

U referentnoj populaciji efektivna veličina populacije izračunata je koristeći: (i) individualni porast koeficijenta uzgoja u srodstvu, (ii) regresijski koeficijent individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu preko broja ekvivalentnih potpunih generacija, (iii) logaritamsku regresiju preko broja ekvivalentnih potpunih generacija, (iv) varijancu veličine familije.

4.3. Pokazatelji reprodukcije učinkovitosti

Za analizu varijacija fenotipskih pokazatelja reprodukcije učinkovitosti junica i krava iz rasplodne populacije, u obzir su uzeti podaci o i) ukupnom broju telenja, ii) dobi pri prvom i uzastopnim telenjima, kao broj dana protekao od datuma rođenja do datuma telenja, iii) međutelidbenom razdoblju, kao broj dana između dva uzastopna telenja, iv) servisnom razdoblju, kao broj dana od datuma prethodnog telenja do datuma uspješne koncepcije i v) trajanju gravidnosti, kao broj dana od datuma uspješne koncepcije do datuma telenja. Dob pri prvom i uzastopnim telenjima izražena je u mjesecima za junice i krave, dok su servisno razdoblje, trajanje gravidnosti i međutelidbeno razdoblje izraženi u danima za krave. Korigirane srednje vrijednosti te gornja i donja granica pouzdanosti (95 %) pokazatelja reprodukcije učinkovitosti u općim linearnim regresijskim modelima prikazani su u danima.

U ovom istraživanju za dob pri prvoj uspješnoj koncepciji uzete su u obzir vrijednosti od 365 dana u junica, dok je za dob pri prvom telenju uzeta vrijednost od 625 dana, kao najniže vrijednosti definirane biološkim svojstvima krava, dok su ostali podaci uklonjeni. Gornja granica koja je uzimana za dob pri prvoj uspješnoj koncepciji i telenju nije uzeta u obzir upravo kako bi se zabilježili najveći rasponi uporabe rasplodnih krava. Najniža vrijednost za međutelidbeno razdoblje promatrana je na razini od 328 dana, uzimajući u obzir trajanje gravidnosti u rasponu od 260 do 300 dana, a uz trajanje servisnog razdoblja od najmanje 45 dana.

4.4. Negenetski čimbenici

U ovom istraživanju u obzir su uzeti negenetski čimbenici koji su obuhvaćali veličinu stada, sezonu rođenja, godinu rođenja, geografski položaj podrijetla, redni broj telenja, utjecaj rasplodnjaka i koeficijent uzgoja u srodstvu.

Veličina stada bila je kategorizirana u četiri različite skupine: prva skupina (1) obuhvaćala je stada s 1 do 5 krava, druga skupina (2) sa 6 do 10 krava, treća skupina (3) s 11 do 30 krava, dok je četvrta skupina (4) obuhvaćala stada s više od 31 krave. Definicija sezone telenja odnosila se na četiri različita kalendarska razdoblja: proljetna (1), ljetna (2), jesenska (3) i zimska (4) sezona. Godina telenja krave obuhvaćala je razdoblje od ukupno 27 godina, od 1993. do 2020. godine. Geografsko područje podrijetla bilo je podijeljeno prema prirodno-geografskoj podjeli Republike Hrvatske na nizinsku/panonsku Hrvatsku (1), planinsku/dinarsku Hrvatsku (2) i primorsku/jadransku Hrvatsku (3). Redni broj telenja bio je

podijeljen od prvog do desetog telenja, uz dodatnu skupinu krava koje su telile jedanaest ili više puta. Utjecaj rasplodnjaka u stadu obuhvaćao je skupine rasplodnih krava koje su držane s jednim (1), s dva ili tri (2) te sa četiri i više rasplodnjaka (3) u stadu. Koeficijent uzgoja u srodstvu (%) bio je uključen kao kvantitativna varijabla u istraživanju, uzimajući u obzir individualni koeficijent uzgoja u srodstvu rasplodne krave.

Dob pri prvom telenju bila je uključena kao kategorijska varijabla u regresijske modele analize trajanja međutelidbenog razdoblja i trajanja gravidnosti, pri čemu je kategorizirana u tri skupine, čineći tako skupinu krava koje su se telile do dobi od 24 mjeseca (1), od 25 do 34 mjeseca (2) i 35 i više mjeseci (3).

4.5. Analiza jednonukleotidnih polimorfizama gena za leptin (LEP), leptinski receptori (LEPR) i neuropeptid Y (NPY)

4.5.1 Izolacija genomske deoksiribonukleinske kiseline (DNK)

Izolacija DNK provedena je komercijalnim kitom (GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka) prema protokolu proizvođača. Izvagana je količina od 10 mg krvnog ugruška i prenesena u mikrocentrifugalnu epruvetu od 1,5 mL te je uzorak u epruveti zadržan na ledu radi sprječavanja degradacije DNK. Ostatak uzorka krvnog ugruška vraćen je u zamrzivač na -20 °C. U mikrocentrifugalnu epruvetu s uzorkom krvnog ugruška dodana je količina od 180 µL lizirajuće otopine T (engl. *Lysis Solution T*) i 25 µL otopine enzima proteinaze K. Otopina je promiješana vorteksiranjem i inkubirana na 55 °C preko noći u vodenoj kupelji kako bi se ugrušak potpuno razgradio. Nakon razgradnje, otopina je kratko promiješana te je dodana količina od 200 µL lizirajuće otopine C (engl. *Lysis Solution C*), nakon čega je temeljito promiješana vorteksiranjem u vremenskom trajanju od 15 sekundi. Otopina je inkubirana na 70 °C kroz vremensko razdoblje od 10 minuta u vodenoj kupelji.

Zatim je DNK otopljena sa silikatne membrane u 100 µL ultračiste vode i eluat je prikupljen u sterilnu plastičnu mikroepuvetu. Koncentracija i čistoća izolirane DNK očitane su na spektrofotometru bioDrop µLITE (BioDrop, Cambridge, UK) pomoću omjera apsorancija valnih duljina 260/280 nm, a očitane vrijednosti bile su u rasponu od 8 do 47 µg/mL te su uzorci pohranjeni u zamrzivaču na -20 °C.

4.5.2 Umnažanje kodirajućih i nekodirajućih genomskih regija LEP, LEPR i NPY gena lančanom reakcije polimeraze (engl. *Polymerase Chain Reaction*, PCR)

Umnažanje odsječaka DNK provedeno je postupkom PCR-a. Slijed oligonukleotidnih baza uzvodnih i nizvodnih početnica za gene LEP, LEPR i NPY prikazan je u tablici 2. Reakcijska smjesa za PCR pripravljena je pomoću GoTaq® Colorless Master Mix (Promega Corporation, SAD) koji sadrži Taq DNK polimerazu, smjesu dinukleotida (dNTP), $MgCl_2$ i optimizirane reakcijske pufere te su toj smjesi dodani uzvodna i nizvodna početnica, genomska DNK kao i ultra-čista voda. Umnažanje je provedeno u ukupnom volumenu od 15 μL u uređaju za PCR Mastercycler® Personal (Eppendorf AG, Hamburg, Njemačka). U svakoj PCR reakciji napravljena je jedna negativna kontrola. Sastav reakcijske smjese, koncentracija i volumeni reagensa prikazani su u tablici 3. Protokoli za provođenje PCR reakcija za kodirajuće i nekodirajuće regije gena LEP, LEPR i NPY prikazani su u tablicama 4., 5. i 6.

Provjera umnažanja PCR produkata provedena je postupkom elektroforeze na 1 % agaroznom gelu, uz upotrebu bojila za nukleinske kiseline Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega Corporation, SAD). Za izradu gela korišteno je 0,5 g agaroze i 50 mL 1x TAE pufera (1 mM EDTA, 40 mM Tris baza, 20 mM ledena octena kiselina). U jažice agaroznog gela dodano je po 3 μL PCR produkta. Elektroforeza je trajala 20 minuta pod stalnim naponom od 80 V, a provedena je u uređaju za horizontalnu elektroforezu (BIO-RAD, PowerPac HC – Cleaver Scientific Ltd MS mini, UK). Vizualizacija uzoraka nakon provedene elektroforeze provedena je pod ultraljubičastim (UV) svjetlom i fotografirana transiluminatorom (Mini BIS Pro®, DNR Bio-Imaging Systems, Jeruzalem, Izrael).

U tablici 2. prikazane su početnice korištene u analizi SNP-ova odsječaka gena za leptin, leptinski receptor i neuropeptid Y.

Tablica 2. Odabrane početnice umnoženih odsječaka gena LEP, LEPR i NPY

Gen	Redoslijed oligonukleotida početnica	Literatura
LEP – egzon 2	F: 5' – GATTCCGCCGCACCTCTC – 3' R: 3' – GGCTGTGCAGCCTTGCACAGG – 5'	LIEFERS i sur. (2002.)
LEP – egzon 3	F: 5' – CCCTCTCTCCCACTGAGCTC – 3' R: 3' – GCCTATGTGGGCATCCTTTA – 5'	LIEFERS i sur. (2002.)
LEPR – egzon 5	F: 5' – ACTGTTGCCTCATTGTCT – 3' R: 3' – TAGGCACAACCTTACCAAC – 5'	GUO i sur. (2008.)
LEPR – egzon 19	F: 5' – GACCTTTGGCCCTCTTCTTTT – 3' R: 3' – GACAGGCCTTTCATTATTATTTTC – 5'	LIEFERS i sur. (2004.)
NPY – egzon 1	F: 5' – ATGCTGGGTAGCAAGCG – 3' R: 3' – CTCTGCCTGGTGATGAGA – 5'	ZHANG i sur. (2011.)
NPY – egzon 2	F: 5' – ATCACTCTGTTGCTTTCA – 3' R: 3' – CCCTGACCACCTTGA – 5'	ZHANG i sur. (2011.)
NPY – egzon 3	F: 5' – TTAGAATGCCAGCAGC – 3' R: 3' – CAATGATGACAAAGGGA – 5'	ZHANG i sur. (2011.)

U tablici 3. prikazan je sastav reakcijskih smjesa i koncentracije reagensa korištenih za umnažanje odsječaka kodirajućih regija 2 i 3 LEP gena, 5 i 19 LEPR gena i 1, 2 i 3 NPY gena.

Tablica 3. Sastav reakcijskih smjesa i koncentracije reagensa korištenih za umnažanje odsječaka kodirajućih regija 2 i 3 LEP gena, 5 i 19 LEPR gena i 1, 2 i 3 NPY gena

Kemikalije	Konačna koncentracija	Volumen LEP gen egzon 2	Volumen LEP gen egzon 3	Volumen LEPR gen egzon 5	Volumen LEPR gen egzon 19	Volumen NPY gen egzon 1	Volumen NPY gen egzon 2	Volumen NPY gen egzon 3
Ultra-čista H ₂ O	-	5,1 µL	4,7 µL	4,9 µL	4,9 µL	4,5 µL	4,5 µL	4,5 µL
GoTaq® Colorless Master Mix	1x	7,5 µL	7,5 µL	7,5 µL	7,5 µL	7,5 µL	7,5 µL	7,5 µL
Uzvodna početnica (F)	10µM	0,3 µL	0,4 µL	0,4 µL	0,4 µL	0,6 µL	0,6 µL	0,6 µL
Nizvodna početnica (R)	10µM	0,3 µL	0,4 µL	0,4 µL	0,4 µL	0,6 µL	0,6 µL	0,6 µL
Genomska DNK	~20 ng/µL	1,8 µL	2,0 µL	1,8 µL	1,8 µL	1,8 µL	1,8 µL	1,8 µL
Ukupni volumen reakcijske smjese		15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL

U tablici 4. prikazan je postupak umnažanja odsječaka egzonskih regija 2 i 3 LEP gena lančanom reakcijom polimeraze (PCR).

Tablica 4. PCR postupak umnažanja odsječaka egzonskih regija 2 i 3 LEP gena

PCR postupak	LEP gen egzon 2			LEP gen egzon 3		
	Temperatura	Vrijeme	Broj ciklusa	Temperatura	Vrijeme	Broj ciklusa
Početna denaturacija	94 °C	2 min	1	94 °C	2 min	1
Denaturacija	94 °C	30 sek	34	94 °C	30 sek	34
Sparivanje početnica	62 °C	30 sek		58 °C	30 sek	
Produljivanje lanca	72 °C	30 sek		72 °C	30 sek	
Završno produljivanje lanca	72 °C	7 min	1	72 °C	7 min	1
Hlađenje	4 °C	neograničeno	1	4 °C	neograničeno	1

U tablici 5. prikazan je postupak umnažanja odsječaka egzonskih regija 5 i 19 LEPR gena lančanom reakcijom polimeraze (PCR).

Tablica 5. PCR postupak umnažanja odsječaka kodirajućih regija 5 i 19 LEPR gena

PCR postupak	LEPR gen egzon 5			LEPR gen egzon 19		
	Temperatura	Vrijeme	Broj ciklusa	Temperatura	Vrijeme	Broj ciklusa
Početna denaturacija	95 °C	5 min	1	94 °C	3 min	1
Denaturacija	94 °C	30 sek	35	94 °C	1 min	32
Sparivanje početnica	56 °C	30 sek		57 °C	1 min	
Produljivanje lanca	72 °C	45 sek		72 °C	1 min	
Završno produljivanje lanca	72 °C	10 min	1	72 °C	4 min	1
Hlađenje	4 °C	neograničeno	1	4 °C	neograničeno	1

U tablici 6. prikazan je postupak umnažanja odsječaka egzonskih regija 1, 2, i 3 NPY gena lančanom reakcijom polimeraze (PCR).

Tablica 6. PCR postupak umnažanja odsječaka egzonskih regija 1, 2 i 3 NPY gena

PCR postupak	NPY gen egzon 1			NPY gen egzon 2			NPY gen egzon 3		
	Temperatura	Vrijeme	Broj ciklusa	Temperatura	Vrijeme	Broj ciklusa	Temperatura	Vrijeme	Broj ciklusa
Početna denaturacija	95 °C	5 min	1	95 °C	5 min	1	95 °C	5 min	1
Denaturacija	94 °C	30 sek	34	94 °C	30 sek	34	94 °C	30 sek	34
Sparivanje početnica	59 °C	30 sek		54 °C	30 sek		53,4 °C	30 sek	
Produljivanje lanca	72 °C	30 sek		72 °C	30 sek		72 °C	40 sek	
Završno produljivanje lanca	72 °C	10 min	1	72 °C	10 min	1	72 °C	10 min	1
Hlađenje	4 °C	neograničeno	1	4 °C	-	1	4 °C	-	1

4.5.3 Pročišćavanje umnoženih PCR produkata

Pročišćavanje umnoženih PCR produkata provedeno je koristeći izopropanol. Za svaki uzorak u reakcijskoj otopini korišten je PCR produkt u volumenu od 10-15 μL , izopropanol (100 %) u volumenu od 25 μL , natrijev acetat (3 Mol) u volumenu od 1,5 μL i destilirana voda u volumenu od 8,5 μL . Otopina je pripremljena na sobnoj temperaturi u mikroepurveti i promiješana okretanjem 7-8 puta te zatim centrifugirana 5 minuta na 14 000 okretaja/min. Zatim je pelet PCR produkta otopljen u 50 μL 70 % etanola ponovnim miješanjem okretanjem. Provedeno je centrifugiranje na 14 000 okretaja/min u trajanju od 5 minuta. Supernatant je odbačen te je pelet PCR produkta ostavljen 30 minuta na sušenju na sobnoj temperaturi kako bi isparila preostala količina etanola zadržana na stijenkama mikroepurvete. Na kraju je pelet PCR produkta otopljen u 20 μL ultra-čiste destilirane vode.

Kao dodatni mehanizam, kako bi se provjerilo da je postupak pročišćavanja ispravno izveden, provedena je ponovna elektroforeza u 2 %-tnom agaroznom gelu uz upotrebu bojila za nukleinske kiseline Diamond™ Nucleic Acid Dye (Promega Corporation, SAD). Gelovi su pripremljeni otapanjem 2 g agaroze u 100 mL TAE pufera (1 mM EDTA, 40 mM Tris baza, 20 mM ledena octena kiselina). U jažice je nanoseno 3 μL uzorka uz dodatak 1 μL pufera označivača. Elektroforeza je provedena u trajanju od 20 minuta uz napon od 100 V u uređaju za horizontalnu elektroforezu (BIO-RAD, PowerPac HC – Cleaver Scientific Ltd MS mini, UK). Vizualizacija uzoraka nakon provedene elektroforeze provedena je pod ultraljubičastim svjetlom (UV) i fotografirana transiluminatorom (Mini BIS Pro®, DNR Bio-Imaging Systems, Jeruzalem, Izrael). Pročišćeni uzorci pohranjeni su u zamrzivaču na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Uspješno umnoženi i pročišćeni PCR produkti su objedinjeni (engl. *pooled samples*) pri čemu je jedan objedinjeni uzorak sadržavao navedene odsječke genomskih regija gena LEP, LEPR i NPY. Korišteni volumen PCR produkta pojedinih odsječaka genomskih regija navedenih gena izračunat je uzimajući u obzir koncentracije DNK i molekularne mase umnoženih PCR produkata kako bi se zadovoljili minimalni zahtjevi potrebnih volumena i koncentracija za pripremu knjižnica za sekvenciranje. Pripremljeni uzorci poslani su na sekvenciranje u Novogen Co., Ltd., Peking, Kina.

4.5.4 Priprema knjižnice za sekvenciranje

Ukupna količina od 0,2 μg objedinjenog PCR produkta po uzorku korištena je kao ulazni materijal za pripremu knjižnice. Knjižnica za sekvenciranje pripremljena je pomoću

NEBNext® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina (NEB, SAD) prema protokolu proizvođača. Pojedini uzorak PCR produkta razdvojen je ultrazvučnom fragmentacijom na veličine od 150 pb te su krajevi odsječaka obrađeni dodavanjem nukleotida adenina na 3 prim kraj (engl. *dA-tailing*) te vezivanjem adaptera i fragmenata enzimom ligaza čineći kompletnu molekulu za sekvenciranje. Nakon toga, provedena je završna reakcija umnažanja kako bi se dobila zadovoljavajuća količina PCR produkta potrebna za sekvenciranje. Zatim su PCR produkti pročišćeni sustavom AMPure XP (Beverly, SAD) kako bi se uklonilo ostatak dimera adaptera te je kvaliteta knjižnice procijenjena na sustavu Agilent 5400 (Agilent, SAD) i kvantificirana pomoću QPCR (1,5 nM). Pripremljene knjižnice su objedinjene te je sekvenciranje uzoraka provedeno na platformi Illumina PE150 metodom sekvenciranja sintezom (engl. *Sequencing By Synthesis*, SBS) sljedeće generacije sekvenciranja (engl. *Next Generation Sequencing*, NGS).

4.6. Bioinformatička obrada podataka

Bioinformatička obrada podataka dobivenih sekvenciranjem obuhvatila je mapiranje sekvenci na referentni genom, otkrivanje genetskih varijanti i filtriranje tih varijanti prema specifičnim kriterijima. U analizi su korišteni sljedeći alati: BWA, SAMtools, FreeBayes, BgZip, Tabix i BCFtools.

Izvorne datoteke fluorescentne slike dobivene s platforme DNBSEQ-T7 nakon sekvenciranja transformirane su u kratka očitavanja, tzv. neobrađene podatke (engl. *raw data*) pomoću CASAVA softvera (engl. *Illumina's Consensus Assessment of Sequence and Variation*) za prepoznavanje baza (engl. *base calling*), a kratka očitavanja zabilježena su u formatu datoteke FASTQ (COCK i sur., 2010.) koja sadrži informacije o sekvenci i odgovarajuće informacije o kvaliteti sekvenciranja.

Filtriranje neobrađenih podataka provedeno je prema sljedećim kriterijima: uklanjanje para očitavanja ukoliko je jedno očitavanje sadržavalo kontaminaciju adapterom (više od 10 nukleotida poravnatih s adapterom uz dopušteno $\leq 10\%$ nepodudaranja), uklanjanje para očitavanja ukoliko je više od 10 % baza bilo nepoznato u bilo kojem očitavanju, uklanjanje para očitavanja ukoliko je udio baza bio niske kvalitete (Phred kvaliteta < 5) više od 50 % u bilo kojem očitavanju.

Idući korak u analizi bilo je mapiranje sekvenci na referentni genom. Referentni genom korišten u ovom doktorskom radu bio je ARS-UCD1.2. Ispravne sekvence mapirane su na

referentni genom koristeći softver BWA verzija 0.7.17-r1188 (Burrows-Wheeler Aligner) (LI i sur., 2009.). Mapiranjem su ulazne sekvence bile usklađene s referentnim genomom te su stvorene SAM datoteke. Zatim je provedena konverzija datoteke iz SAM formata u BAM format, sortiranje prema poziciji te indeksiranje datoteke pomoću SAMtools programa (verzija 1.14.) (LI i sur., 2009.).

Sljedeći korak u analizi bilo je otkrivanje genetskih varijanti. Za ovaj postupak korišten je softver FreeBayes (verzija 1.3.6). Softver FreeBayes omogućio je otkrivanje genetskih varijanti u sortiranim BAM datotekama, stvarajući VCF datoteke. Nakon što je dobivena VCF datoteka, komprimirana je pomoću BgZip alata (verzija 1.14) te indeksirana pomoću Tabix alata (verzija 1.14). Ovi postupci bili su potrebni za daljnje filtriranje genetskih varijanti pomoću BCFtools softvera.

Filtriranje varijanti prema specifičnim pozicijama i dubini sekvenciranja provedeno je pomoću softvera BCFtools (verzija 1.14). Genetske varijante filtrirane su prema pozicijama relevantnih gena (LEP, LEPR i NPY) i zadržane su samo one varijante koje imaju dubinu sekvenciranja od najmanje 10. Konačno, softver SAMtools korišten je za određivanje broja mapiranih sekvenci i dubine sekvenciranja za svaku poziciju relevantnih gena. Ovi podaci bili su ključni za razumijevanje kvalitete sekvenciranja i pouzdanosti otkrivenih varijanti.

Softver ANNOVAR korišten je za anotaciju SNP-ova kako bi se označio biološki značaj otkrivenih varijanti u relevantnim genima, odnosno njihovim egzonskim, intronskim i promotorskim regijama (WANG i sur. 2010.).

4.7. Statistička obrada podataka

Za unos, analizu, prikaz, tumačenje te dizajn modela pri statističkoj obradi podataka korišteni su statistički programi Statistica v.14.8.0 (Tibco Software Inc., 2020.) i zbirke paketa tidyverse (ggplot, dplyr, tidyr, readr, purr, tibble, stringr, forcats), HardyWeinberg, lsmeans i car R programskog softvera v.4.4.1. (R Core Team (2024). u integriranom okružju RStudio softvera verzije 2024.09.1. Statistička značajnost rezultata promatrana je na razini od $P < 0,05$.

Deskriptivna statistička analiza provedena je na fenotipskim varijablama za kvantitativna svojstva, a prikazane su mjerama središnjeg okupljanja i raspršenosti podataka, dok su kvalitativne varijable prikazane frekvencijama i postotcima. Normalnost raspodjele podataka istraživanih varijabli testirana je Kolmogorov-Smirnovim i Shapiro-Wilk-ovim testom. Podaci koji nisu slijedili normalnu raspodjelu, podvrgnuti su logaritamskoj transformaciji koristeći

bazu e. Za utvrđivanje međuovisnosti između kvantitativnih varijabli korišten je Pearsonov koeficijent korelacije (r).

Rezultati analize regresijskih modela za svako svojstvo opisani su korigiranom srednjom vrijednosti (engl. *Least Square Mean*, LSM) te donjom i gornjom granicom intervala pouzdanosti (95 %). Analiza varijance (ANOVA) provedena je kako bi se usporedila značajnost razlika između varijabli, a ukoliko je zabilježena statistička značajnost, Tukey-jev post hoc test korišten je kako bi se istražile značajnosti razlika između pojedinih skupina.

Koeficijent determinacije (R^2) korišten je kako bi se rastumačilo koliki je dio zavisne varijable istraživnog svojstva objašnjiv na temelju nezavisnih varijabli u modelima. Rezultati korigiranih srednjih vrijednosti (LSM) i standardne pogreške (engl. *Standard Error*, SE) povratno su transformirani u izvorne podatke koristeći delta metodu (CORLU i sur., 2020.) s ciljem interpretabilnosti podataka.

Na temelju provedenog sekvenciranja utvrđeni su SNP-ovi te genotipovi i alelne varijante u kodirajućim i nekodirajućim regijama umnoženih odsječaka gena za leptin, leptinski receptor i neuropeptid Y. Izračunata je učestalost pojedinih genotipova, odnosno alelnih varijanti te je odstupanje opaženih od teoretski očekivanih vrijednosti u populaciji (Hardy-Weinbergov zakon) ustanovljeno korištenjem hi-kvadrat testa.

Fenotipska svojstva dob pri prvom telenju, međutelidbeno i servisno razdoblje te trajanje gravidnosti analizirana su u modelu u kojem su u obzir uzete varijable: veličina stada, sezona telenja krave, godina telenja krave, geografski položaj podrijetla, redni broj telenja, utjecaj rasplodnjaka, koeficijent uzgoja u srodstvu te pojedinačni učinak SNP-ova LEP, LEPR i NPY gena.

Analiza dobi pri prvom telenju u rasplodnih krava provedena je sljedećim modelom:

$$Y_{ijklmn} = \mu + GP_i + UR_j + VS_k + SR_l + GR_m + US_n + \varepsilon_{ijklmn}$$

gdje je: Y_{ijklmn} – fenotipska vrijednost dobi pri prvom telenju; μ – ukupna srednja vrijednost; GP_i – geografsko područje podrijetla ($i = 1 - 3$); UR_j – utjecaj rasplodnjaka ($j = 1 - 4$); VS_k – veličina stada ($k = 1 - 4$); SR_l – sezona telenja krave ($l = 1 - 4$); GR_m – godina telenja krave ($m = 1 - 27$); US_n – koeficijent uzgoja u srodstvu (n = kontinuirana varijabla); ε_{ijklmn} – slučajna pogreška (neprotumačeni dio).

Analiza međutelidbenog razdoblja u rasplodnih krava provedena je sljedećim modelom:

$$Y_{ijklmnop} = \mu + RBT_i + UR_j + VS_k + SR_l + GR_m + GP_n + DPT_o + US_p + \varepsilon_{ijklmnop}$$

gdje je: $Y_{ijklmnop}$ – fenotipska vrijednost međutelidbenih razdoblja; μ – ukupna srednja vrijednost; RBT_i – redni broj telenja ($i = 1 - 11$); UR_j – utjecaj rasplodnjaka ($j = 1 - 4$); VS_k – veličina stada ($k = 1 - 4$); SR_l – sezona telenja krave ($l = 1 - 4$); GR_m – godina telenja krave ($m = 1 - 28$); GP_n – geografsko područje podrijetla ($n = 1 - 3$); DPT_o – dob pri prvom telenju ($i = 1 - 3$); US_p – koeficijent uzgoja u srodstvu (p = kontinuirana varijabla); $\varepsilon_{ijklmno}$ – slučajna pogreška (neprotumačeni dio).

Analiza servisnog razdoblja u rasplodnih krava provedena je sljedećim modelom:

$$Y_{ijklmn} = \mu + RBT_i + UR_j + VS_k + SR_l + GR_m + US_n + \varepsilon_{ijklmn}$$

gdje je: Y_{ijklmn} – fenotipska vrijednost servisnog razdoblja; μ – ukupna srednja vrijednost; RBT_i – redni broj telenja ($i = 1 - 11$); UR_j – utjecaj rasplodnjaka ($j = 1 - 4$); VS_k – veličina stada ($k = 1 - 3$); SR_l – sezona telenja krave ($l = 1 - 4$); GR_m – godina telenja krave ($m = 1 - 27$); US_n – koeficijent uzgoja u srodstvu (n = kontinuirana varijabla); ε_{ijklmn} – slučajna pogreška (neprotumačeni dio).

Analiza trajanja gravidnosti u rasplodnih krava provedena je sljedećim modelom:

$$Y_{ijk} = \mu + RBT_i + SR_j + DPT_k + \varepsilon_{ijk}$$

gdje je: Y_{ijk} – fenotipska vrijednost trajanja gravidnosti; μ – ukupna srednja vrijednost; RBT_i – redni broj telenja ($i = 1 - 11$); SR_j – sezona telenja krave ($j = 1 - 4$); DPT_k – dob pri prvom telenju ($k = 1 - 3$); ε_{ijk} – slučajna pogreška (neprotumačeni dio).

Analiza utjecaja pojedinačnog učinka SNP-ova gena za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) i neuropeptid Y (NPY) na dob pri prvom telenju provedena je sljedećim modelom:

$$Y_{ijklm} = \mu + SR_i + UR_j + VS_k + GP_l + GEN_m + \varepsilon_{ijklm},$$

gdje je: Y_{ijklm} – fenotipska vrijednost dobi pri prvom telenju; μ – ukupna srednja vrijednost; SR_i – sezona telenja krave ($i = 1 - 4$); UR_j – utjecaj rasplodnjaka ($j = 1 - 4$); VS_k – veličina stada ($k = 1 - 3$); GP_l – geografsko područje podrijetla ($l = 1 - 3$); GEN_m – genotip LEP, LEPR i NPY gena ($m = AA, AB, BB$), ε_{ijklm} – slučajna pogreška (neprotumačeni dio).

Analiza utjecaja pojedinačnog učinka SNP-ova gena za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) i neuropeptid Y (NPY) na međutelidbeno razdoblje provedena je sljedećim modelom:

$$Y_{ijklmn} = \mu + SR_i + UR_j + VS_k + RBT_l + DPT_m + GEN_n + \varepsilon_{ijklmn},$$

gdje je: Y_{ijklmn} – fenotipska vrijednost dobi pri prvom telenju; μ – ukupna srednja vrijednost; SR_i – sezona telenja krave ($i = 1 - 4$); UR_j – utjecaj rasplodnjaka ($j = 1 - 4$); VS_k – veličina stada ($k = 1 - 3$); RBT_l – redni broj telenja ($l = 1 - 11$); DPT_m – dob pri prvom telenju ($m = 1 - 3$); GEN_n – genotip LEP, LEPR i NPY gena ($n = AA, AB, BB$); ε_{ijklmn} – slučajna pogreška (neprotumačeni dio).

Analiza utjecaja pojedinačnog učinka SNP-ova gena za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) i neuropeptid Y (NPY) na servisno razdoblje provedena je sljedećim modelom:

$$Y_{ijklm} = \mu + SR_i + UR_j + VS_k + RBT_l + GEN_m + \varepsilon_{ijklm},$$

gdje je: Y_{ijklm} – fenotipska vrijednost dobi pri prvom telenju; μ – ukupna srednja vrijednost; SR_i – sezona telenja krave ($i = 1 - 4$); UR_j – utjecaj rasplodnjaka ($j = 1 - 4$); VS_k – veličina stada ($k = 1 - 3$); RBT_l – redni broja telenja ($l = 1 - 11$); GEN_m – genotip LEP, LEPR i NPY Y gena ($m = AA, AB, BB$); ε_{ijklm} – slučajna pogreška (neprotumačeni dio).

Analiza utjecaja pojedinačnog učinka učinka jednonukleotidnih polimorfizama gena za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) i neuropeptid Y (NPY) na trajanje gravidnosti provedena je sljedećim modelom:

$$Y_{ijkl} = \mu + RBT_i + SR_j + DPT_k + GEN_l + \varepsilon_{ijkl}$$

gdje je: Y_{ijkl} – fenotipska vrijednost trajanja gravidnosti; μ – ukupna srednja vrijednost; RBT_i – redni broj telenja ($i = 1 - 11$); SR_j – sezona telenja krave ($j = 1 - 4$); DPT_k – dob pri prvom telenju ($k = 1 - 3$); GEN_l – genotip LEP, LEPR i NPY Y gena ($l = AA, AB, BB$); ε_{ijkl} – slučajna pogreška (neprotumačeni dio).

5. REZULTATI

5.1. Struktura populacije

Na temelju zapisa iz objedinjenih baza podataka utvrđene su ukupna, referentna i rasplodna populacija izvorne pasmine goveda buša. Prvi predak zabilježen je 1987., dok su najmlađi potomci obuhvaćeni istraživanjem oteľjeni u prosincu 2022. godine. Ukupna populacija izvorne pasmine goveda buša u Republici Hrvatskoj kroz vremensko razdoblje od 36 godina iznosila je 10 411 životinja: 6449 bile su životinje ženskog spola (61,95 %), a 3962 (38,05 %)  ivotinje muškog spola. Trenutno živuće životinje sačinjavale su referentnu populaciju, u kojoj je zabilježeno ukupno 6064 životinja, od čega su 5381 životinje bile ženskog (88,73 %), a 683 (11,26 %) muškog spola. Nadalje, rasplodnoj populaciji pripadale su ne ivu e i živuće životinje muškog i ženskog spola te je zabilježeno 3160 životinja i to 2882 krave (91,20 %) i 278 rasplodnjaka (8,80 %). U ukupnoj populaciji broj životinja bez potomaka kroz promatrano razdoblje iznosio je 7251, dok je u referentnoj populaciji iznosio 3458 jedinki.

Kroz istraživano razdoblje zabilježen je stalan porast broja registriranih životinja u ukupnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša s najvećim porastom zabilježenim u 2021. godini i registriranih 1100 ženskih i 754 muških životinja. U 2022. godini broj registriranih životinja bio je nešto manji, odnosno zabilježeno je 907 ženskih i 646 muških životinja.

Udio rasplodnih krava u odnosu na ukupan broj ženskih registriranih životinja ($n = 6449$) iznosio je 44,69 %, sa svega 2,41 % rodozačetnica. Prve registrirane ženske životinje označene su kao začetnice rodovnih linija. S obzirom na ukupan broj potomaka, rodovi krava s najvećim brojem potomaka u populaciji bili su B2, B4, B27, B96, B97 i B128 s ukupno kako slijedi 317, 320, 313, 457, 384 i 306 potomaka. Najveći broj zabilježenih telenja bio je 15 u krava iz rodova B4, B19 i B97. Prosječan broj potomaka po kravi iznosio je 3,53 potomka, s najmanje jednim i najviše 15 potomaka. Nadalje, 56,62 % krava imalo je više od tri potomka, dok je 18,14 % krava imalo samo jednog potomka. Neovisno o trajanju prosječnog generacijskog intervala, najduže korištene krave u rasplodu bile su iz rodova B19 i B97, koje su imale zabilježenih 15 telenja, a njihova dob iznosila je 21 godinu.

U tablici 7. prikazana je zastupljenost pojedinih rodova u ukupnoj populaciji s obzirom na zabilježeni broj potomaka unutar svakog roda. Od ukupno 156 rodova krava, u 22 ženske životinje nije zabilježen niti jedan potomak tijekom promatranog razdoblja, dok je u 10 rodova krava zabilježen po jedan potomak. Najveći broj telenja (6946) zabilježen je u 40 različitih rodova krava. Najzastupljeniji rodovi krava po broju potomaka bili su rodovi B96, B97, B4,

B2, B27, B128, B116, B56, B54, B32, B16, B52, B63, B80, B92, B1, B82, B83, B30, B14, B77, B126, B37, B61, B114, B91, B39, B79 i B18.

U tablici 7. prikazana je zastupljenost rodova krava s brojem potomaka u ukupnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša.

Tablica 7. Zastupljenost rodova krava s brojem potomaka po rodu u ukupnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša kroz istraživano razdoblje od 1987. do 2022. godine

Broj potomaka po rodu	Broj rodova	Rodovi krava
1	10	B42, B55, B62, B65, B86, B99, B100, B101, B111, B137
2	5	B17, B18, B21, B25, B107
3	3	B7, B64, B135
4	2	B33, B125
6	2	B74, B78
7	1	B70
8	1	B84
9	2	B93, B122
10	2	B23, B138
12	2	B48, B57
13	1	B35
14	2	B112, B118
15	2	B49, B89
17	1	B155
20	2	B136, B156
21	1	B28
23	1	B9
24	3	B36, B81, B148
25	2	B5, B68
27	1	B133
28	1	B60
29	1	B73
31	1	B109
33	2	B34, B51
34	2	B108, B124
36	2	B24, B95
37	3	B11, B44, B119
39	2	B10, B134
40	1	B103
42	1	B127
43	1	B121
46	1	B139

...nastavak tablice 7.

Broj potomaka po rodu	Broj rodova	Rodovi krava
48	1	B29
51	3	B20, B71, B88
55	3	B40, B76, B123
56	1	B31
57	1	B50
59	2	B6, B43
60	1	B117
61	1	B110
64	1	B38
66	1	B26
70	1	B59
71	2	B90, B98, B131
73	1	B19
74	1	B41
75	2	B72, B106
77	1	B132
78	2	B102, B130
84	1	B75
90	1	B15
93	2	B104, B105
95	4	B45, B53, B115, B129
105	2	B13, B13
107	1	B8
109	1	B79
112	1	B39
95	4	B45, B53, B115, B129
105	2	B13, B13
107	1	B8
109	1	B79
112	1	B39
77	1	B132
78	2	B102, B130
84	1	B75
90	1	B15
93	2	B104, B105
95	4	B45, B53, B115, B129
105	2	B13, B13
107	1	B8
109	1	B79

...nastavak tablice 7.

Broj potomaka po rodu	Broj rodova	Rodovi krava
112	1	B39
114	1	B91
115	1	B114
119	1	B61
120	2	B46, B67
121	3	B12, B113, B120
124	1	B37
125	1	B126
133	1	B77
135	1	B14
142	1	B30
143	1	B83
145	1	B82
153	1	B1
157	1	B92
170	1	B80
179	1	B63
187	1	B52
220	1	B16
222	1	B32
226	1	B54
250	1	B56
267	1	B116
306	1	B128
313	1	B27
317	1	B2
320	1	B4
384	1	B97
457	1	B96

Muške životinje izvorne pasmine goveda buša raspoređene su u registru pasmine u 24 genealoške linije bikova (LB). Sa stajališta reproduktivne aktivnosti, udio rasplodnjaka iznosio je 7,01 % od ukupnog broja registriranih muških jedinki. Od tog broja, 0,6 % bili su začetnici genealoških linija. Tijekom promatranog razdoblja korišteno je ukupno 278 rasplodnjaka s barem jednim potomkom, od kojih se 174 (62,59 %) trenutno koriste u rasplodu, dok su 104 (37,41 %) izlučena iz uzgoja. Od svih registriranih rasplodnjaka, polovica je imala više od 21 potomka, dok je 6,6 % imalo samo jednog potomka. Neovisno o generacijskom intervalu u istraživanoj populaciji, najdulje korišteni rasplodnjak pripadao je liniji LB12, a u rasplodu je bio aktivan 16 godina i dao je 108 potomaka. U tablici 8. prikazan je broj potomaka te udio muških i ženskih potomaka po liniji bikova u ukupnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša. Bikovi označeni kao začetnici linija LB20, LB21, LB22, LB23 i LB24 nisu imali zabilježenih potomaka te su i izlučeni iz uzgoja. Štoviše, ustanovljen je manji broj muških potomaka iz linija LB13, LB15, LB16, LB18 i LB19.

U tablici 8. prikazan je broj registriranih potomaka te udio muških i ženskih potomaka po linijama bikova.

Tablica 8. Broj registriranih potomaka te udio muških i ženskih potomaka po linijama bikova u ukupnoj populaciji

Linija bika	Ukupan broj potomaka	Muški potomci %	Ženski potomci %
LB1	882	35,33	64,67
LB2	219	33,64	66,36
LB3	1093	38,40	61,60
LB4	1486	40,29	59,71
LB5	1103	46,38	53,62
LB6	525	36,12	63,88
LB7	219	23,64	76,36
LB8	914	35,96	64,04
LB9	1163	46,22	53,78
LB10	134	34,81	65,19
LB11	672	45,47	54,53
LB12	606	43,00	57,00
LB13	14	40,00	60,00
LB14	483	38,64	71,36
LB15	3	50,00	50,00
LB16	2	66,67	33,33
LB17	508	44,20	55,80
LB19	5	66,67	33,33

Intenzitet selekcije muških i ženskih rasplodnih životinja u izvorne pasmine goveda buša, izračunat u petogodišnjim intervalima, prikazan je u tablici 9. U ovom istraživanju, intenzitet selekcije izračunat je kao udio potomaka muških i ženskih životinja koji su korišteni u rasplodu, uz pretpostavku da je omjer spolova 1:1. Rezultati za muške rasplodne životinje pokazuju značajne oscilacije. U razdoblju od 1999. do 2004. godine, 60 % muških potomaka kasnije je imalo svoje potomstvo, dok se od 2005. do 2010. godine taj postotak smanjio i iznosio je 11 %, a od 2011. do 2016. godine 8 %. Negativan trend se nastavio i u posljednjem petogodišnjem razdoblju od 2017. do 2022. godine s ukupno svega 3 % muških potomaka. Sagledavajući prva tri vremenska razdoblja intenzitet selekcije bio je manji u ženskih životinja u odnosu na muške životinje te je zabilježeno da je prosječno 74 % rasplodnih krava kasnije imalo svoje potomke. Ovaj rezultat ukazuje na umjeren intenzitet selekcije u ženskih životinja, odnosno od ukupnog broja oteljenih i registriranih životinja u pojedinom vremenskom razdoblju gotovo 80 % odabire ih se za rasplod. U posljednjem razdoblju, od 2017. do 2022. godine, taj postotak je pao na 26 %, što ukazuje na znatno povećanje intenziteta selekcije. Također, zabilježen je značajno veći broj potomaka upisan u registar pasmine u istom razdoblju.

U tablici 9. prikazani su reprodukcijski pokazatelji i selekcijski pritisak u rasplodnih bikova i krava izvorne pasmine goveda buša u ukupnoj populaciji.

Tablica 9. Reprodukcijski pokazatelji i selekcijski pritisak u rasplodnih bikova i krava izvorne pasmine goveda buša u ukupnoj populaciji s obzirom na broj registriranih životinja od 1987. do 2022. godine

Godine rođenja	Ukupno bikovi	Bikovi s potomcima u reprodukciji	Prosječan broj potomaka po biku ^a	Selekcijski pritisak u bikova ^b	Ukupno krave	Krave s potomcima u reprodukciji	Prosječan broj potomaka po kravi ^c	Selekcijski pritisak u krava ^d	Ukupan broj potomaka
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1987.-1992.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1993.-1998.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1999.-2004.	5	3	2	0,60	8	4	1,25	0,80	10
2005.-2010.	27	27	18,18	0,11	216	176	2,27	0,71	491
2011.-2016.	87	83	22,42	0,08	861	684	2,26	0,70	1951
2017.-2022.	229	122	33,08	0,03	2654	1007	2,85	0,26	7577

^aIzračunato – J/B; ^bIzračunato s pretpostavkom da je omjer spolova 1:1 – C/(J/2); ^cIzračunato – J/F; ^dIzračunato s pretpostavkom da je omjer spolova 1:1 – G/(J/2)

Geografsko područje podrijetla bilo je poznato za ukupno 10 403 životinja. Zabilježen je približno jednak broj registriranih životinja u dvije regije, planinskoj/dinarskoj (4747) i primorskoj/jadranskoj (4461) Hrvatskoj, dok je najmanji broj životinja registriran u nizinskoj/panonskoj regiji (1195). S obzirom na broj muških i ženskih životinja, najviše ženskih životinja registrirano je u primorskoj/jadranskoj regiji (2946), u odnosu na muške životinje kojih je zabilježeno 1515. U planinskoj/dinarskoj regiji broj ženskih životinja iznosio je 2872, a muških 1875. Najmanji broj životinja upisan je u nizinskoj ili panonskoj regiji, pri čemu su 629 ženke, a 566 mušjaci.

Promatrajući broj rasplodnjaka prema geografskom području podrijetla, najveći broj registriranih muških životinja zabilježen je u planinskoj/dinarskoj Hrvatskoj i iznosio je 1875, s najvećim brojem rasplodnjaka korištenih u rasplodu kojih je bilo 113. U primorskoj/dinarskoj Hrvatskoj broj registriranih muških životinja iznosio je 1515, odnosno 106 rasplodnjaka, dok je u nizinskoj/panonskoj Hrvatskoj registriran najmanji broj muških životinja (566) te je njih 59 registrirano u ovom području korišteno za rasplod. Promatrajući odnos korištenih rasplodnjaka za koje je bilo poznato podrijetlo, rezultati ukazuju da od 278 registriranih bikova s barem jednim potomkom, 20,22 % potječe iz nizinske/panonske regije, 44,40 % iz planinske/dinarske regije, dok je 35,38 % podrijetlom iz primorske/jadranske regije Hrvatske.

Najveći broj registriranih ženskih životinja zabilježen je u primorskoj/jadranskoj Hrvatskoj (2946) s najvećim broj rasplodnih krava (1436). U planinskoj/dinarskoj Hrvatskoj registrirano je 2872 ženske životinje, a 1131 krava registrirana u ovom području korištena je u rasplodu tijekom istraživanog razdoblja. Najmanji broj registriranih ženskih životinja bio je u nizinskoj/panonskoj Hrvatskoj (629), a polovica krava, 315 korištena je u rasplodu. Od 2882 registriranih rasplodnih krava s barem jednim potomkom, u nizinskoj/panonskoj regiji zabilježen je udio od 10,93 %, u planinskoj/dinarskoj regiji 39,24 %, dok je u primorskoj/jadranskoj regiji zabilježen udio od 49,82 %.

5.2. Genetska varijabilnost

5.2.1 Informativnost i kompletnost rodovnika

Informativnost i kompletnost rodovnika odnosi se na postotak poznatih roditelja po generacijama i izračunata je na temelju indeksa potpunosti. U ovom istraživanju bilo je poznato ukupno devet generacija, što ujedno predstavlja i dubinu rodovnika. Kompletnost rodovnika povećavala se kroz generacije te je bila viša u referentnoj nego u ukupnoj populaciji.

Kompletnost rodovnika je, promatrajući prvu roditeljsku generaciju, u ukupnoj populaciji iznosila 97,08 %, dok je u referentnoj populaciji iznosila 99,05 %. S povećanjem dubine rodovnika, zabilježeno je smanjene kompletnosti rodovnika te su tako zabilježene manje vrijednosti u ukupnoj i referentnoj populaciji, kako slijedi: 2. generacija 88,62 % i 95,56; 3. generacija 63,95 % i 67,76 %; 4. generacija 31,27 % i 33,74 %; 5. generacija 9,45 % i 10,34 %.

Analiza informativnosti i kompletnosti podataka iz rodovnika provedena je u ukupnoj, referentnoj i rasplodnoj populaciji koristeći tri različita tipa generacija, a to su prosječan broj svih poznatih generacija, broj potpunih generacija i broj ekvivalentnih potpunih generacija. U ukupnoj populaciji, prosječan broj svih poznatih generacija iznosio je 4,62, dok je prosječan broj potpunih generacija bio 2,07, a prosječan broj ekvivalentnih potpunih generacija 2,92. U referentnoj populaciji, prosječan broj svih poznatih generacija bio je nešto viši i iznosio je 4,85, dok je prosječan broj potpunih generacija bio 2,17. Nadalje, u referentnoj populaciji prosječan broj ekvivalentnih potpunih generacija bio je 3,05. U rasplodnoj populaciji, prosječan broj svih poznatih generacija iznosio je 3,74, dok je prosječan broj potpunih generacija bio 1,70. Prosječan broj ekvivalentnih potpunih generacija u rasplodnoj populaciji iznosio je 2,39.

5.2.2 Efektivan broj osnivača, predaka i genoma osnivača

Rezultati analize rodovnika u ukupnoj, referentnoj i rasplodnoj populaciji prikazani su u tablici 10. U ukupnoj populaciji broj osnivača iznosio je 396, a efektivan broj osnivača (f_e) iznosio je 38. Broj značajnih predaka iznosio je 200, dok je efektivan broj značajnih predaka (f_a) iznosio 33. Odnos između efektivnog broja osnivača i osnivača (f_e/f) bio je 0,09, a između efektivnog broja osnivača i značajnih predaka (f_e/f_a) 1,15. U referentnoj i rasplodnoj populaciji broj osnivača iznosio je 222 i 148, a efektivan broj osnivača (f_e) 40. Odnos između efektivnog broja osnivača i osnivača (f_e/f) u referentnoj populaciji iznosio je 0,18, dok je u rasplodnoj populaciji iznosio 0,27. Vrijednosti omjera između efektivnog broja osnivača i značajnih predaka (f_e/f_a) iznosio je 1,14 u referentnoj i rasplodnoj populaciji.

Tablica 10. Poredbeni podaci analize rodovnika u ukupnoj, referentnoj i rasplodnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša kroz promatrano razdoblje od 1987. do 2022. godine

Genetski parametar	Ukupna populacija	Referentna populacija	Rasplodna populacija
Veličina populacije	10 411	6064	3160
Broj osnivača (f)	396	222	148
Broj značajnih predaka	200	214	148
Efektivan broj osnivača (f_e)	38	40	40
Efektivan broj značajnih predaka (f_a)	33	35	35
Efektivan broj genoma osnivača (f_g)	28,11	26,94	27,54
Odnos f_e/f	0,09	0,18	0,27
Odnos f_e/f_a	1,15	1,14	1,14
Odnos f_a/f_e	0,86	0,87	0,87
Odnos f_g/f_e	0,74	0,67	0,68
Broj značajnih predaka koji objašnjavaju 50 % genetske varijabilnosti	12	13	9
Broj poznatih generacija predaka	9	9	8

5.2.3 Generacijski interval

Generacijski intervali analizirani su za četiri različite rodbinske veze: otac-sin, otac-kćer, majka-sin i majka-kćer, što je prikazano u tablici 11. Uzimajući u obzir prosječnu dob roditelja pri rođenju njihova potomstva koje je kasnije uvedeno u reprodukciju u ukupnoj populaciji, generacijski interval iznosio je $5,80 \pm 3,60$ godina. Prosječan generacijski interval u vezi otac-sin iznosio je $5,98 \pm 3,37$ godina, dok je u vezi otac-kćer iznosio $6,28 \pm 3,44$ godina. Nadalje, zabilježene su nešto manje vrijednosti promatrajući generacijske intervale u rodbinskim vezama majke i potomstva te su iznosili $4,92 \pm 3,53$ godina za vezu majka-sin i $5,39 \pm 3,76$ godina za vezu majka-kćer.

U istraživanju je izračunat i generacijski interval u ukupnoj populaciji, uzimajući u obzir prosječnu dob roditelja pri rođenju njihova potomstva, neovisno o tome jesu li ti potomci korišteni za rasplod, pri čemu je utvrđeno da je iznosio $5,83 \pm 3,47$ godina. Međutim, promatrajući rodbinske veze oca i potomstva, vrijednost generacijskog intervala iznosila je $6,39 \pm 3,50$ godina za otac-sin i $6,31 \pm 3,34$ godina za otac-kćer, u odnosu na vrijednosti rodbinskih veza majke i potomstva koji su iznosili $5,20 \pm 3,33$ godina za vezu majka-sin i $5,42 \pm 3,54$ godina za vezu majka-kćer.

U referentnoj populaciji je generacijski interval, uzimajući u obzir prosječnu dob roditelja pri rođenju njihova potomstva koje je kasnije uvedeno u reprodukciju, iznosio $5,78 \pm 3,60$ godina. Vrijednost prosječnog generacijskog intervala promatrajući rodbinske veze oca i potomstva bila je viša ($6,17 \pm 3,23$ godina za vezu otac-sin i $6,29 \pm 3,44$ godina za vezu otac-kćer) u usporedbi s nešto manjim vrijednostima generacijskog intervala u vezi majke s potomstvom ($4,73 \pm 3,42$ godina za vezu majka-sin i $5,32 \pm 3,72$ godina za vezu majka-kćer).

U tablici 11. prikazani su generacijski intervali te prosječna dob roditelja izražena u godinama pri rođenju njihova potomstva u ukupnoj i referentnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša.

Tablica 11. Generacijski intervali i prosječna dob roditelja izražena u godinama pri rođenju njihova potomstva u ukupnoj i referentnoj populaciji izvorne pasmine goveda buša

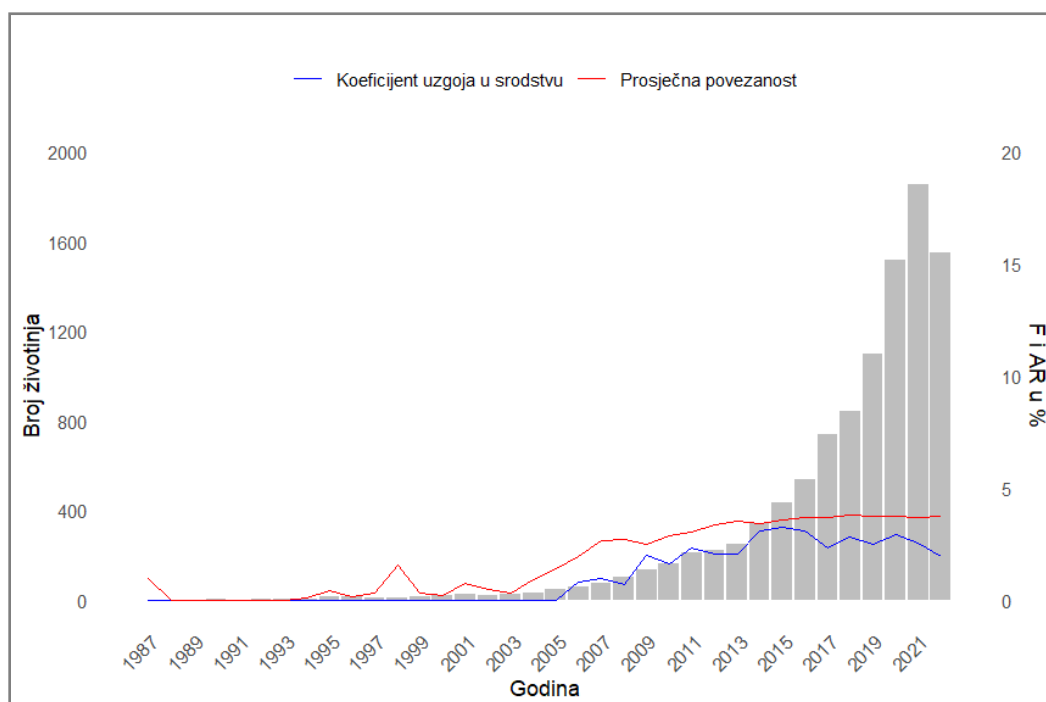
Rodbinska veza	Ukupna populacija				Referentna populacija			
	Generacijski interval		Prosječna dob roditelja		Generacijski interval		Prosječna dob roditelja	
	n	$\bar{X} \pm S.D.$	n	$\bar{X} \pm S.D.$	n	$\bar{X} \pm S.D.$	n	$\bar{X} \pm S.D.$
Otac - sin	259	5,98 $\pm$ 3,37	3879	6,39 $\pm$ 3,50	174	6,17 $\pm$ 3,23	676	6,29 $\pm$ 3,36
Otac - kćer	2692	6,28 $\pm$ 3,44	6151	6,31 $\pm$ 3,34	2374	6,29 $\pm$ 3,44	5310	6,29 $\pm$ 3,33
Majka - sin	266	4,92 $\pm$ 3,53	3942	5,20 $\pm$ 3,33	174	4,73 $\pm$ 3,42	680	5,23 $\pm$ 3,36
Majka - kćer	2732	5,39 $\pm$ 3,76	6241	5,42 $\pm$ 3,54	2396	5,32 $\pm$ 3,72	5347	5,38 $\pm$ 3,50
Ukupno	5949	5,80 $\pm$ 3,60	20213	5,83 $\pm$ 3,47	5118	5,78 $\pm$ 3,60	12013	5,82 $\pm$ 3,44

5.2.4 Uzgoj u srodstvu i srodnost predaka u rodovniku

U ovom je istraživanju u ukupnoj populaciji prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio 2,44 %, s maksimalnom vrijednošću do 42,62 %, a prosječan koeficijent srodnosti iznosio je 3,55 % s maksimalnom vrijednošću do 8,67 %. U referentnoj populaciji, prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio je također 2,44 %, s maksimalnom vrijednošću do 42,62 % dok je prosječan koeficijent srodnosti iznosio 3,61 % s maksimalnom vrijednošću do 7,87 %. Konačno, u rasplodnoj populaciji, vrijednost prosječnog koeficijenta uzgoja u srodstvu iznosila je 2,14 %, s maksimalnom vrijednošću također do 40,62 %. Prosječan koeficijent srodnosti u rasplodnoj populaciji iznosio je 3,38 % s maksimalnom vrijednošću do 8,67 %.

Promatrajući srodnost jedinki kroz rodbinske veze u ukupnoj i referentnoj populaciji zabilježen je broj sparivanja između braće i sestara između svega tri rasplodna para (0,03 %), a u rasplodnoj populaciji između dva rasplodna para (0,02 %). Broj sparivanja između polubraće i polusestara zabilježen u ukupnoj populaciji iznosio je 244 (2,34 %), dok je u referentnoj i rasplodnoj populaciji iznosio 156 (1,50 %) i 102 (0,10 %). Najveći broj sparivanja zabilježen je između roditelja i potomstva u ukupnoj populaciji te je iznosio 357 (3,43 %). Broj sparivanja između roditelja i potomstva u referentnoj populaciji iznosio je 197 (1,89 %), dok je najniža vrijednost broja sparivanja između roditelja i potomstva zabilježena u rasplodnoj populaciji te je iznosila 90 (0,09 %).

Na slici 3. prikazan je porast broja životinja kroz promatrano razdoblje od 1987. do kraja 2022. godine.



Slika 3. Prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu (F) i prosječna srodnost (AR) u odnosu na sve registrirane životinje u ukupnoj populaciji kroz promatrano razdoblje od 1987. do 2022. godine

Prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu (F) po godinama teljenja od prvih upisanih životinja do 2005. godine bi o je jednak nuli, ali se s porastom broja životinja povećavao pokazujući oscilacije kroz promatrane godine. Nadalje, prosječan koeficijent srodnosti (AR) pokazao je također oscilacije kroz godine, međutim od 2015. do 2022. godine vrijednost se održavala stabilnom tijekom navedenog vremenskog razdoblja.

U tablici 12. prikazana je distribucija jedinki iz ukupne populacije prema definiranim rasponima individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu.

Tablica 12. Distribucija i udio jedinki prema rasponu individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu u ukupnoj populaciji

Koeficijent uzgoja u srodstvu F (%)	Broj jedinki (n)	Udio jedinki (%)
$F = 0,00$	6142	59,00
$0,01 < F < 6,25$	3267	31,38
$6,26 < F < 12,50$	483	4,64
$12,51 < F < 18,75$	144	1,38
$18,76 < F < 25,00$	245	2,35
$F > 25,01$	130	1,25

Većina populacije (59,00 %) ima zabilježenu vrijednost individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu jednaku nuli. U rasponu od 0,01 do 6,25 % nalazi se 31,38 % životinja iz populacije, dok značajno manji postotak životinja (4,98 %) ima koeficijent uzgoja u srodstvu veći od 12,51 %.

Promatrajući generacijske skupine u petogodišnjim vremenskim intervalima, zabilježen je porast vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu i srodnosti jedinki u populaciji (tablica 13). Niske vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu prva tri vremenska razdoblja posljedica su malog broja životinja u populaciji u prvim godinama utemeljenja registra pasmine. Naime, jedinke u populaciji u prvim godinama utemeljenja jesu bile u određenom stupnju srodnosti s obzirom na zajedničke pretke, ali nije zabilježen uzgoj u srodstvu. Najviša zabilježena vrijednost prosječnog koeficijenta uzgoja u srodstvu bila je u vremenskom razdoblju između 2011. i 2016. godine te je iznosila 2,80 %, dok je najviša prosječna srodnost u obje populacije bila najviša unazad posljednjih pet godina (2017.-2022. godine).

U tablici 13 prikazana je distribucija prosječnog koeficijenta uzgoja u srodstvu te srodnosti prema generacijskim skupinama u petogodišnjim intervalima u ukupnoj i rasplodnoj populaciji.

Tablica 13. Distribucija prosječnog koeficijenta uzgoja u srodstvu (F) i srodnosti (AR) prema generacijskim skupinama u petogodišnjim intervalima u ukupnoj i rasplodnoj populaciji

Generacijske skupine	Ukupna populacija				Rasplodna populacija			
	n	$\bar{x}$ (F)	Maks. (F)	$\bar{x}$ (AR)	n	$\bar{x}$ (F)	Maks. (F)	$\bar{x}$ (AR)
1987.-1992.	14	0,00	0,00	0,19	1	0,00	0,00	0,00
1993.-1998.	60	0,00	0,00	0,45	6	0,00	0,00	0,19
1999.-2004.	143	0,00	0,00	0,55	16	0,00	0,00	0,07
2005.-2010.	586	1,25	25,00	2,52	28	0,00	0,00	1,93
2011.-2016.	2000	2,80	37,50	3,50	115	2,58	32,81	3,22
2017.-2022.	7608	2,50	42,62	3,74	2994	2,16	40,62	3,43
Ukupno	10411				3160			

n – ukupan broj jedinki; F – prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu; AR – prosječan koeficijent srodnosti životinja u populaciji

5.2.5 Efektivna veličina populacije

Vrijednost efektivne veličine populacije (N_e) u ukupnoj populaciji izračunata je koristeći individualni koeficijent uzgoja u srodstvu prema broju svih poznatih generacija i iznosila je 131,25. Prema broju potpunih generacija iznosila je 74,74, dok je prema broju ekvivalentnih potpunih generacija iznosila 74,96.

Efektivna veličina populacije izračunata u referentnoj populaciji pomoću individualnog porasta uzgoja u srodstvu (F_x) iznosila je 60,36. Efektivna veličina populacije izračunata pomoću koeficijenta regresije individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu u ekvivalentnim potpunim generacijama iznosila je 48,40, dok je izračunata pomoću logaritamske regresije, uzimajući u obzir broj ekvivalentnih potpunih generacija ('realizirana N_e '), iznosila 44,44. Nadalje, izračunata pomoću varijance veličine obitelji iznosila je 516,82.

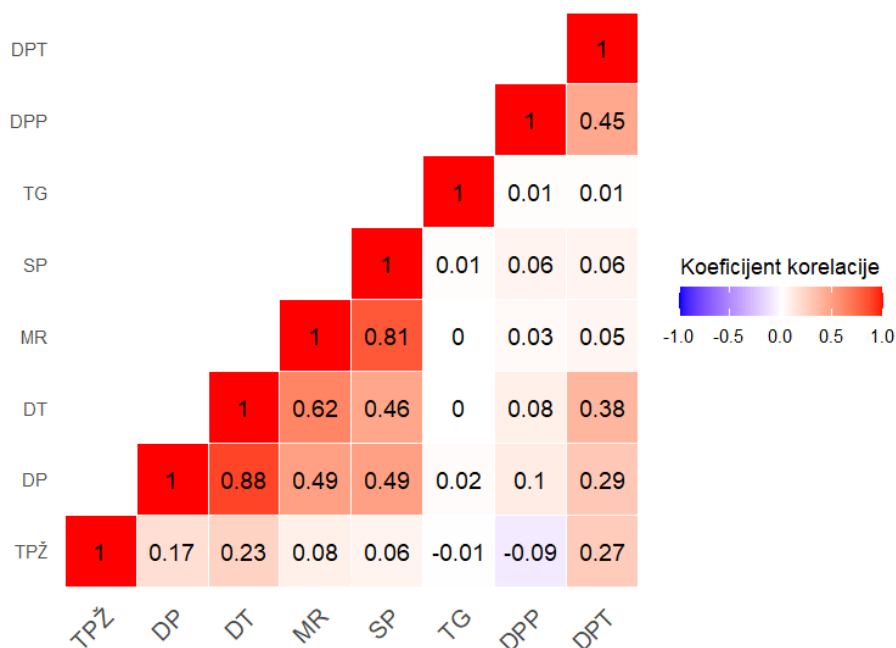
5.3. Parametri reprodukcijskih pokazatelja

Rasplodnu populaciju ženskih životinja izvorne pasmine goveda buša u promatranom razdoblju činile su ukupno 2882 krave. Prosječno trajanje rasplodne uporabe krava iznosilo je 5,9 godina, s rasponom od 2,6 do 8,3 godina, a zabilježeno je za 442 krave. Ova vrijednost obuhvaća razdoblje od prve uspješne koncepcije do zadnjeg telenja, odnosno datuma izlučenja rasplodne krave, čime se smatra da je prestala biti reproduktivno aktivna. Prosječno trajanje životnog vijeka rasplodnih krava izvorne pasmine goveda buša, opisano kao razdoblje između datuma rođenja i izlučenja, u ovom istraživanju iznosilo je 9,7 godina, s rasponom između 5,3 i 13,4 godine u više od 50 % populacije rasplodnih krava.

Promatrajući broj telenja po mjesecima u godini, najveći broj telenja zabilježen je u travnju (1720 telenja), ožujku (1595 telenja) i svibnju (1584 telenja), a po učestalosti zatim slijede lipanj (1007 telenja) i srpanj (709 telenja). Analizirajući učestalost telenja prema sezonama, najveći broj telenja zabilježen je u proljetnoj (4473) i zimskoj sezoni (2915), a zatim slijede ljetna (1982) i jesenska (1041) sezona.

Fenotipske korelacije između pokazatelja reprodukcijske učinkovitosti prikazane su na slici 4. Vrijednosti korelacija za istraživana svojstva varirale su između -0,09 i 0,88. Značajna povezanost zabilježena je između istraživanih svojstava, kako slijedi: dobi pri pripustu i dobi pri telenju (0,88; $P < 0,05$); međutelidbenog i servisnog razdoblja (0,81; $P < 0,05$); međutelidbenog razdoblja i dobi pri pripustu (0,49; $P < 0,05$); međutelidbenog razdoblja i dobi pri telenju (0,62; $P < 0,05$); servisnog razdoblja i dobi pri pripustu (0,49; $P < 0,05$); servisnog razdoblja i dobi pri telenju (0,46; $P < 0,05$).

Na slici 4 prikazane su fenotipske korelacije između pokazatelja reprodukcijske učinkovitosti u izvorne pasmine goveda buša.



TPŽ – trajanje proizvodnog života; DP – dob pri pripustu; DT – dob pri telenju; MR – međutelidbeno razdoblje; SP – servisno razdoblje; TG – trajanje gravidnosti; DPP – dob pri prvom pripustu; DPT – dob pri telenju

Slika 4. Fenotipske korelacije između pokazatelja reprodukcijske učinkovitosti u izvorne pasmine goveda buša

5.3.1 Dob pri uspješnoj koncepciji

U tablici 14 prikazani su rezultati istraživanog svojstva dobi pri prvom i uzastopnim uspješnim koncepcijama prema rednom broju telenja.

Tablica 14. Dob junica i krava pri prvom i uzastopnim uspješnim koncepcijama prema rednom broju telenja izraženi u mjesecima

Uspješna koncepcija	Dob junica i krava pri uspješnoj koncepciji izražena u mjesecima			
	n	$\bar{x}$	Medijan	$Q_1 - Q_3$
1.	1767	20,7	16,7	14,6 – 24,3
2.	1770	38,3	32,6	27,4 – 42,2
3.	1268	53,7	47,8	40,0 – 60,8
4.	867	68,8	62,5	52,4 – 76,0
5.	623	83,2	75,7	65,2 – 90,5
6.	442	98,7	90,5	78,2 – 110,2
7.	295	115,3	105,3	93,9 – 129,6
8.	185	124,2	116,8	106,3 – 138,1
9.	123	136,0	131,1	116,8 – 151,0
10.	69	148,9	138,6	131,0 – 162,4
11. i više	94	174,0	165,9	146,0 – 195,7

n – broj životinja; $\bar{x}$ - srednja vrijednost; $Q_1 - Q_3$ – interkvartilni raspon

Dob pri prvoj uspješnoj koncepciji bila je poznata za ukupno 1767 prvotelki i iznosila je prosječno 20,7 mjeseci. Međutim, vrijednosti interkvartilnog raspona pokazuju da se više od 50 % ženskih životinja prvi puta pripuštalo u dobi između 14,6 i 24,3 mjeseca. Rezultati statističkih pokazatelja u uzastopnim telenjima ukazuju na veliku varijabilnost dobi pri koncepciji između rasplodnih jedinki, pri čemu je utvrđeno da se krave pripuštaju i u dobi između 144 i 288 mjeseci odnosno između 12 i 24 godine.

5.3.2 Dob pri telenju

U tablici 15. prikazani su rezultati istraživanog svojstva dobi pri prvom i uzastopnim telenjima prema rednom broju telenja.

Tablica 15. Dob junica i krava pri prvom i uzastopnim telenjima prema rednom broju telenja izražena u mjesecima

Redni broj telenja	Dob junica i krava pri prvom i uzastopnim telenjima izražena u mjesecima			
	n	$\bar{X}$	Medijan	$Q_1 - Q_3$
1.	2385	33,3	26,6	23,9 – 35,2
2.	2206	49,7	42,5	36,6 – 53,4
3.	1598	64,7	57,9	49,0 – 72,3
4.	1092	80,8	73,0	62,1 – 88,5
5.	765	94,4	85,9	75,4 – 102,7
6.	531	109,0	100,7	88,4 – 121,0
7.	342	124,6	114,7	103,7 – 137,6
8.	212	134,7	126,2	115,8 – 148,3
9.	136	145,6	140,4	125,2 – 160,4
10.	77	158,9	148,1	140,0 – 172,1
11. i više	100	182,5	173,6	156,0 – 203,3

n – broj životinja; $\bar{X}$ - srednja vrijednost; $Q_1 - Q_3$ – interkvartilni raspon

Prosječna dob pri prvom telenju iznosila je 33,3 mjeseca, dok je interkvartilni raspon iznosio od 23,9 do 35,2 mjeseca te ukazuje na dob u kojoj se polovica rasplodnih krava teli, što odgovara rasponu dobi od 2 do 3 godine.

Dob pri drugom telenju u polovice rasplodnih krava bila je između 36,6 i 53,4 mjeseci iznosi približno od 3 do 4,5 godina, dok je dob pri trećem telenju u više od polovice rasplodnih krava bila između 49,0 i 72,3 mjeseca, što je otprilike između 4 i 6 godina. Pozitivan trend smanjenja varijabilnosti u rezultatima dobi pri telenju vidljiv je s povećanjem rednog broja telenja. Nadalje, u tablici 15 prikazani su rezultati za starije rasplodne krave (n=100) koje su imale između 11 i 15 telenja te je zabilježeno da se više od polovice rasplodnih krava s 11 i više telenja telila između 156,0 i 203,3 mjeseci, odnosno u dobi između 13 i 17 godina.

5.3.3 Servisno razdoblje

U tablici 16 prikazani su rezultati trajanja servisnih razdoblja prema rednom broju telenja.

Tablica 16. Dob krava za reprodukcijski pokazatelj servisno razdoblje prema rednom broju telenja izražena u danima

Servisno razdoblje	Dob krava za servisno razdoblje izražena u danima			
	n	$\bar{X}$	Medijan	$Q_1 - Q_3$
1.	1863	274,1	144,0	78,0 – 353,0
2.	1297	213,1	107,0	60,0 – 231,0
3.	877	186,4	91,0	63,0 – 202,0
4.	620	179,7	91,0	53,0 – 181,0
5.	434	189,6	97,5	57,0 – 179,0
6.	295	189,9	90,0	52,0 – 201,0
7.	184	174,5	99,5	59,0 – 176,0
8.	120	145,8	89,5	52,0 – 148,5
9.	69	132,5	92,0	67,0 – 148,0
10.	94	151,0	98,5	51,0 – 164,0

n – broj životinja; $\bar{X}$ - srednja vrijednost; $Q_1 - Q_3$ – interkvartilni raspon

U ovom istraživanju za prvo servisno razdoblje u ukupno 1863 telenja zabilježena je prosječna vrijednost od 274,1 dana, pri čemu su u više od polovice rasplodnih krava vrijednosti bile između 78 i 353 dana (tablica 16). Promatrajući drugo servisno razdoblje zabilježeno je prosječno trajanje od 213,1 dana, dok su u 50 % populacije utvrđene vrijednosti interkvartilnog raspona između 60 i 231 dana. Za treće servisno razdoblje zabilježena je prosječna vrijednost od 186,4 dana, a interkvartilni raspon bio je od 63 do 202 dana.

5.3.4 Trajanje gravidnosti

U rasplodnoj populaciji krava pasmine buša, prosječno trajanje gravidnosti za ukupno 7978 zabilježenih telenja iznosilo je 281,0 dana, sa standardnom devijacijom od 7,5 dana. Minimalna vrijednost zabilježena za trajanje gravidnosti bila je 253 dana, dok je maksimalna iznosila 307 dana. U više od 50 % populacije rasplodnih krava zabilježene su vrijednosti svojstva trajanja gravidnosti između 276 i 286 dana.

5.3.5 Međutelidbeno razdoblje

U ukupnoj populaciji rasplodnih krava, odnosno za 7342 zabilježenja telenja prosječno trajanje međutelidbenog razdoblja iznosilo je 490 dana, s interkvartilnim rasponom od 341 do 515 dana.

U tablici 17 prikazani su rezultati istraživanog svojstva međutelidbenog razdoblja prema rednom broju telenja.

Tablica 17. Dob krava za reproduksijski pokazatelj međutelidbeno razdoblje prema rednom broju telenja izražena u danima

Međutelidbeno razdoblje	Dob krava za međutelidbeno razdoblje izražena u danima			
	n	$\bar{x}$	Medijan	$Q_1 - Q_3$
1.	2308	550,7	423,0	359,0 – 626,0
2.	1581	494,1	390,0	345,0 – 519,0
3.	1091	472,4	376,0	338,0 – 490,0
4.	750	464,0	374,0	338,0 – 470,0
5.	515	463,4	380,0	339,0 – 459,0
6.	336	467,2	371,0	335,0 – 476,0
7.	210	455,8	379,0	340,0 – 459,0
8.	130	422,7	373,0	336,0 – 429,0
9.	75	405,6	377,0	353,0 – 428,0
10.	46	424,1	399,0	337,0 – 452,0
11. i više	50	436,7	369,0	335,0 – 431,0

n – broj životinja; $\bar{x}$ - srednja vrijednost; $Q_1 - Q_3$ – interkvartilni raspon

Trajanje prvog međutelidbenog razdoblja iznosilo je prosječno 550,7 dana, dok su vrijednosti interkvartilnog raspona iznosile od 359 do 626 dana. Promatrajući trajanja uzastopnih međutelidbenih razdoblja, zabilježeno je da se s povećanjem rednog broja telenja smanjuju vrijednosti, uz iznimke u krava koje su imale 10. te 11. i više telenja. Na primjer, u drugom međutelidbenom razdoblju zabilježena je prosječna vrijednost od 494,1 dana, a u više od polovice rasplodnih krava bila je u rasponu između 345,0 i 519,0 dana, dok je u trećem međutelidbenom razdoblju iznosila prosječno 472,4 dana u rasponu od 338 do 490 dana. Minimalne i maksimalne vrijednosti trajanja svih analiziranih međutelidbenih razdoblja ukazuju na vrlo širok raspon trajanja između najkraćeg i najduljeg međutelidbenog razdoblja zabilježenog u istraživanoj populaciji.

5.4. Genska varijabilnost gena za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) i neuropeptid Y (NPY)

U ovom istraživanju analizirani su SNP-ovi gena za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) i neuropeptidni hormon Y (NPY) u izvorne pasmine goveda buša. Na temelju podataka ciljanog sekvenciranja genomskih regija zabilježeni su SNP-ovi te učestalost genotipova i alela za svaki lokus. Istražena je učestalost alela te su uspoređene očekivane od opaženih frekvencija kako bi se utvrdilo odstupaju li od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže. U okviru ovog istraživanja otkriveni SNP-ovi radi preglednosti nazvani su prema kratici analiziranog gena i rednim brojevima s obzirom na poziciju u odsječku gena.

5.4.1 Jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptin (LEP)

U tablici 18 prikazani su rezultati otkrivenih SNP-ova u istraživanim regijama LEP gena te njihov položaj u kromosomu i genu, kao i vrsta mutacije. Također, prikazani su i zabilježeni genotipovi u pojedinom lokusu SNP-a. Prikazani SNP-ovi u tablici 19 odabrani su za analizu učestalosti genotipova i alela s obzirom na potreban najmanji ukupan broj uočenih genotipova u istraživanih rasplodnih krava kako bi se statistički pouzdano provjerila Hardy-Weinbergova ravnoteža, pri čemu je kao najmanji potreban broj uzorka za analizu uzeto 30 rasplodnih krava.

U tablici 18. prikazani su otkriveni SNP-ovi utvrđeni u genu za leptin (LEP).

Tablica 18. Jednonukleotidni polimorfizmi (SNP) utvrđeni u genu za leptin (LEP)

SNP	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Postojeća varijanta (broj lokusa)	Vrsta mutacije	Genotip (n)		
					TT	TC	CC
LEP02	4:92448883-92448883	intron 1	rs29004484	intronska varijanta	-	58	36
					CC	CG	GG
LEP04	4:92448906-92448906	intron 1	rs29004485	intronska varijanta	-	58	36
					AA	AT	TT
LEP05	4:92449032-92449032	egzon 2	rs29004487	nesinonimna	-	12	1
					TT	TC	CC
LEP06	4:92449085-92449085	egzon 2	rs29004488	nesinonimna	-	58	37
					GG	GA	AA
LEP11	4:92450765-92450765	intron 2	rs382104217	intronska varijanta	-	-	2
					CC	CT	TT
LEP15	4:92451008-92451008	egzon 3	rs29004508	nesinonimna	-	41	14
					CC	CT	TT
LEP16	4:92451165-92451165	egzon 3	rs29004509	sinonimna	1	-	-
					TT	TC	CC
LEP17	4:92451168-92451168	egzon 3	rs29004510	sinonimna	1	-	-
					TT	TC	CC
LEP18	4:92451180-92451180	egzon 3	rs29004511	sinonimna	1	-	2
					TT	TC	CC
LEP19	4:92451198-92451198	egzon 3	rs518320795	nesinonimna	1	-	2
					CC	CT	TT
LEP20	4:92451264-92451264	egzon 3	rs29004512	sinonimna	2	-	1

... nastavak tablice 18.

SNP	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Postojeća varijanta (broj lokusa)	Vrsta mutacije	Genotip (n)		
					GG	GA	AA
LEP22	4:92451376-92451376	3'UTR** egzon 3	rs29004513	UTR varijanta	1	-	2
					1	-	2
LEP23	4:92451392-92451392	3'UTR egzon 3	rs519235394	UTR varijanta	GG	GA	AA
					-	6	1
LEP24	4:92451404-92451404	3'UTR egzon 3	rs29004514	UTR varijanta	TT	TC	CC
					1	-	2
LEP25	4:92451429-92451429	3'UTR egzon 3	rs29004515	UTR varijanta	GG	GA	AA
					1	-	2

*ENSBTAT00000019853.6 – transkript LEP gena ; **3'UTR – engl. *3'prime untranslated region* – 3 primarna neprevedena regija

U tablici 19 opisana je učestalost genotipova i alela SNP-ova utvrđenih u genu za leptin (LEP).

Tablica 19. Učestalost genotipova i alela jednonukleotidnih polimorfizama (SNP) utvrđenih u genu za leptin (LEP)

SNP	Postojeća varijanta (broj lokusa)	Genotip			Alelne varijante		Provjera ravnoteže genotipova i alela	
		TT	TC	CC	T	C	χ^2	P
LEP02	rs29004484	-	58	36	0,309	0,691	18,71	P<0,05
		-	0,617	0,383				
		CC	CG	GG	C	G	χ^2	P
LEP04	rs29004485	-	58	36	0,309	0,691	18,71	P<0,05
		-	0,617	0,383				
		TT	TC	CC	T	C	χ^2	P
LEP06	rs29004488	-	58	37	0,305	0,695	18,34	P<0,05
		-	0,611	0,389				
		CC	CT	TT	C	T	χ^2	P
LEP15	rs29004508	-	41	14	0,373	0,627	19,41	P<0,05
		-	0,745	0,255				
		GG	GA	AA	G	A	χ^2	P
LEP26	nije određeno	10	74	-	0,560	0,440	52,06	P<0,05
		0,120	0,880					

U ovom je istraživanju sekvenciranjem ciljanih genomskih regija gena za leptin (LEP) ukupne duljine 467 pb egzonske regije 2 i 496 pb egzonske regije 3 s pripadajućim intronskim regijama 2 i 3, otkriveno ukupno 15 SNP-ova.

Za SNP LEP02 koji je smješten u intronskoj regiji 1 zabilježena su dva genotipa (TC i CC), s učestalošću od 0,617 i 0,383, pri čemu je učestaliji bio alel C (0,691). Također, SNP LEP02 pokazao je odstupanje od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže s obzirom na učestalost utvrđenih alela. Nadalje, za SNP LEP04 utvrđena su dva genotipa (CG i GG) te je s obzirom na učestalost alela zabilježeno odstupanje od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže (tablica 19). U egzonskoj regiji 2 LEP gena utvrđena su dva SNP-a, LEP05 i LEP06. LEP05 uočen je u 13 rasplodnih krava, pri čemu su ustanovljena dva genotipa AT i TT, dok je SNP LEP06 utvrđen u 96 rasplodnih krava s dva zabilježena genotipa, TC i CC. Učestalost heterozigotnog genotipa bila je 0,611, dok je učestalost homozigotnog genotipa CC bila 0,389. U intronskoj regiji 2 LEP gena uočen je SNP LEP11, pri čemu je zabilježen samo homozigotni genotip AA u dvije rasplodne krave. U 55 rasplodnih krava utvrđen je SNP LEP15 s dva genotipa (CC i CT), pri čemu je zabilježena viša učestalost heterozigotnog genotipa (0,745) u odnosu na homozigotni genotip CC (0,255) te viša učestalost alela T (0,627). Po jedan genotip zabilježen je za SNP-ove LEP16 (CC) i LEP17 (TT). Za SNP LEP18 utvrđena su dva genotipa (TT i CC) u tri rasplodne krave, dok je za SNP LEP19 zabilježen heterozigotni genotip u jedne rasplodne krave. Dva genotipa, TT i CC zabilježena su u tri rasplodne krave za SNP LEP20.

U 3 primarnoj neprevedenoj regiji egzona 3, zabilježeni su SNP-ovi LEP22, LEP23, LEP24 i LEP25. U SNP-a LEP23 utvrđena su dva genotipa (GA i AA) u sedam rasplodnih krava, dok su po dva genotipa ustanovljena u tri rasplodne krave za SNP LEP22 (AA i GG), odnosno LEP24 (CC i CT) te LEP25 (AA i GG). Također, u 3 primarnoj neprevedenoj regiji egzona 3 zabilježen je novo otkriveni SNP LEP26, pri čemu su zabilježena dva genotipa (GG i GA) u 84 rasplodne krave s većom učestalošću alela G (0,560) (tablica 19).

Učestalosti genotipova smještenih u SNP-ovima LEP gena (LEP02, LEP04, LEP05, LEP06, LEP15) u istraživanoj populaciji izvorne pasmine goveda buša nisu bile u suglasju s Hardy-Weinbergovom ravnotežom ($P > 0,05$).

5.4.2 Jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptinski receptor (LEPR)

Rezultati otkrivenih SNP-ova u istraživanim regijama LEPR gena te njihov položaj u kromosomu i genu, kao i vrsta mutacije, prikazani su u tablici 20. Također, prikazani su i zabilježeni genotipovi u pojedinom lokusu SNP-a. Prikazani SNP-ovi u tablici 21 odabrani su za analizu učestalosti genotipova i alela s obzirom na potreban najmanji ukupan broj uočenih genotipova u istraživanih rasplodnih krava kako bi se statistički pouzdano provjerila Hardy-Weinbergova ravnoteža, pri čemu je kao najmanji potreban broj uzorka za analizu uzeto 30 rasplodnih krava.

U tablici 20 opisani su SNP-ovi utvrđeni u genu za leptinski receptor (LEPR).

Tablica 20. Jednonukleotidni polimorfizmi (SNP) utvrđeni u genu za leptinski receptor (LEPR)

SNP	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Postojeća varijanta (broj lokusa)	Vrsta mutacije	Genotip (n)		
					CC	CT	TT
LEPR04	3:79742411-79742411	egzon 19	rs380826347	nesinonimna	-	3	-
					CC	CT	TT
LEPR05	3:79742504-79742504	egzon 19	rs384117860	nesinonimna	-	2	-
					CC	CT	TT
LEPR06	3:79742587-79742587	egzon 19	rs133672995	nesinonimna	1	42	9
					CC	CT	TT
LEPR11	3:79790153-79790153	egzon 5	rs459445825	nesinonimna	-	5	-
					CC	CT	TT
LEPR12	3:79790169-79790169	egzon 5	rs479367181	sinonimna	-	5	-
					CC	CT	TT
LEPR13	3:79790182-79790182	egzon 5	rs448103804	nesinonimna	-	5	-
					TT	TC	CC
LEPR14	3:79790427-79790427	intron 4	rs482148173	intronska varijanta	-	5	-
					GG	GA	AA
LEPR15	3:79790465-79790465	intron 4	rs450732574	intronska varijanta	-	5	-
					AA	AG	GG

*ENSBTAT00000007764.6 – transkript LEPR gena

U tablici 21 prikazana je učestalost genotipova i alela SNP-ova utvrđenih u genu za leptinski receptor (LEPR).

Tablica 21. Učestalost genotipova i alela jednonukleotidnih polimorfizama (SNP) utvrđenih u genu za leptinski receptor (LEPR)

SNP	Postojeća varijanta (broj lokusa)	Genotip			Alelne varijante		Provjera ravnoteže genotipova i alela	
		TT	TC	CC	T	C	χ^2	P
LEPR06	rs133672995	1	42	9	0,423	0,577	22,27	P<0,05
		0,020	0,807	0,173				
		AA	AG	GG	A	G	χ^2	P
LEPR07	nije određeno	-	2	97	0,010	0,990	0,010	P>0,05
		-	0,020	0,980				
		GG	GA	AA	G	A	χ^2	P
LEPR08	nije određeno	-	1	76	0,006	0,994	0,003	P>0,05
		-	0,013	0,987				
		TT	TA	AA	T	A	χ^2	P
LEPR09	nije određeno	-	2	64	0,015	0,985	0,015	P>0,05
		-	0,030	0,970				

Analizom odsječaka genomskih regija LEPR gena i to ukupne duljine 473 pb egzona 4 i 513 pb egzona 19, otkriveno je osam SNP-ova u proučavanoj populaciji. Istraživane genomske regije obuhvatile su i dio intronskih te intergenskih regija gena, što je vidljivo u tablici 20.

U egzonskoj regiji 19 uočena su tri SNP-a, a to su: LEPR04, LEPR05 i LEPR06. SNP LEPR04 utvrđen je u tri rasplodne krave u kojih je zabilježen heterozigotni genotip CT, dok je LEPR05 uočen u dvije rasplodne krave također s heterozigotnim genotipom CT. SNP LEPR06 utvrđen je u 52 rasplodnih krava, pri čemu je homozigotni genotip GG uočen u jedne životinje, heterozigotni genotip GA u 42 životinje, dok je homozigotni genotip AA uočen u devet životinja. Viša učestalost zabilježena je za alel A i iznosila je 0,577 (tablica 21). U istom SNP-u istraživanoj populaciji izvorne pasmine goveda buša, učestalosti genotipova i alela nisu bile u suglasju s Hardy-Weinberg-ovom ravnotežom ($P < 0,05$).

U egzonskoj regiji 5 LEPR gena otkrivena su tri SNP-a, LEPR11, LEPR12 i LEPR13. Sva tri SNP-a zabilježena su u pet rasplodnih krava u kojih je uočen samo heterozigotni genotip CT.

Dva SNP-a, LEPR14 i LEPR15 otkrivena su u intronskoj regiji 4. Oba SNP-a ustanovljena su u pet rasplodnih krava te je za SNP LEPR14 uočen heterozigotni genotip GA, a za SNP LEPR15 ustanovljen je također heterozigotni genotip AG.

Učestalost genotipova i alela SNP-ova smještenih u istraživanim genomskim regijama LEPR gena, u ovom istraživanju nisu bile u suglasju s Hardy-Weinberg-ovom ravnotežom ($P > 0,05$), osim za SNP LEPR06 koji je pokazao značajno odstupanje ($P < 0,05$).

5.4.3 Jednonukleotidni polimorfizmi gena za neuropeptid Y (NPY)

Rezultati otkrivenih SNP-ova u istraživanim regijama NPY gena te njihov položaj u kromosomu i genu, kao i vrsta mutacije, prikazani su u tablici 22. Nadalje, prikazani su i zabilježeni genotipovi u pojedinom lokusu SNP-a. Prikazani SNP-ovi u tablici 23 odabrani su za analizu učestalosti genotipova i alela s obzirom na potreban najmanji ukupan broj uočenih genotipova u istraživanih rasplodnih krava kako bi se statistički pouzdano provjerila Hardy-Weinbergova ravnoteža, pri čemu je kao najmanji potreban broj uzorka za analizu uzeto 30 rasplodnih krava.

U tablici 22 opisani su SNP-ovi utvrđeni u genu za neuropeptid Y (NPY).

Tablica 22. Jednonukleotidni polimorfizmi utvrđeni u genu za neuropeptid Y (NPY)

SNP	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Postojeća varijanta (broj lokusa)	Vrsta mutacije	Genotip (n)		
					AA	AC	CC
NPY02	4:71617028-71617028	3'UTR** egzon 4	rs109487678	UTR varijanta	-	2	-
NPY03	4:71617121-71617121	intron 3	rs209191991	intronska varijanta	TT	TG	GG
					-	15	1
NPY06	4:71617185-71617185	intron 3	rs448738497	intronska varijanta	GG	GT	TT
					-	1	-
NPY12	4:71618826-71618826	intron 3	rs211641193	intronska varijanta	CC	CT	TT
					-	15	1
NPY25	4:71622605-71622605	egzon 2	rs469115949	nesinonimna	TT	TG	GG
					17	-	-
NPY26	4:71622634-71622634	egzon 2	rs1115152070	sinonimna	GG	GA	AA
					-	6	-
NPY27	4:71622673-71622673	egzon 2	rs522914554	sinonimna	GG	GC	CC
					-	3	-
NPY28	4:71622679-71622679	egzon 2	rs110711537	sinonimna	GG	GA	AA
					-	16	1
NPY29	4:71622717-71622717	egzon 2	rs110630648	sinonimna	GG	GA	AA
					-	16	-

*ENSBTAT00000005903.4 – transkript NPY gena; **3'UTR – engl. *3 prime untranslated region* – 3 primarna neprevedena regija

U tablici 23 prikazana je učestalost genotipova i alela SNP-ova utvrđenih u genu za neuropeptid Y (NPY).

Tablica 23. Učestalost genotipova i alela jednonukleotidnih polimorfizama utvrđenih u genu za neuropeptid Y (NPY)

SNP	Postojeća varijanta (broj lokusa)	Genotip			Alelne varijante		Provjera ravnoteže genotipova i alela	
		AA	AT	TT	A	B	χ^2	P
NPY01	nije određeno	-	26	25	0,255	0,745	5,96	P<0,05
		-	0,510	0,490				
		TT	TC	CC	T	C	χ^2	P
NPY07	nije određeno	-	4	57	0,033	0,967	0,07	P>0,05
		-	0,065	0,935				
		TT	TC	CC	T	C	χ^2	P
NPY08	nije određeno	15	6	-	0,857	0,143	0,58	P>0,05
		0,715	0,285	-				
		TT	TG	GG	T	G	χ^2	P
NPY23	nije određeno	-	14	42	0,125	0,875	1,14	P>0,05
		-	0,250	0,750				

Istraživanje genomskih regija NPY gena obuhvatilo je odsječke ukupne duljine od 188 pb za egzonsku regiju 1, 232 pb za egzonsku regiju 2 i 288 pb za egzonsku regiju 3. U istraživanoj populaciji otkriveno je devet SNP-ova, koji su prikazani u tablici 22.

SNP NPY02 koji se nalazi unutar 3 primarne neprevedene regije utvrđen je u dvije rasplodne krave s jednim zabilježenim heterozigotnim genotipom (AC). U intronskoj regiji 3 otkrivena su tri SNP, NPY03, NPY06 i NPY12. SNP NPY03 ustanovljen je u 16 rasplodnih krava, pri čemu su zabilježeni heterozigotni genotip GT i homozigotni genotip GG. SNP NPY06 uočen je u samo jedne rasplodne krave s heterozigotnim genotipom GT, dok je SNP NPY12 također uočen u 16 rasplodnih krava i to s dva utvrđena genotipa (heterozigotni genotip CT i homozigotni genotip TT).

U egzonskoj regiji 2 NPY gena otkriveno je pet SNP-ova: NPY25, NPY26, NPY27, NPY28 i NPY29. Sagledavajući broj životinja u kojih su ustanovljeni navedeni SNP-ovi, u 17 rasplodnih krava utvrđen je SNP NPY25 s jednim homozigotnim genotipom (TT), a također je utvrđen SNP NPY28 za koji je u jedne životinje uočen homozigotni genotip AA i u 16 životinja heterozigotni genotip GA. U 16 rasplodnih krava otkriven je SNP NPY29 u kojih je utvrđen samo heterozigotni genotip GA. U tri rasplodne krave s jednim heterozigotnim genotipom utvrđeni su SNP-ovi NPY26 (GT) i NPY27 (GC).

5.5. Procjena utjecaja koeficijenta uzgoja u srodstvu, SNP-ova LEP, LEPR i NPY gena te negenetskih čimbenika na reprodukcijske pokazatelje

5.5.1 Dob pri prvom telenju

U tablici 24 prikazani su rezultati analize varijance i koeficijent determinacije regresijskog modela (R^2) u kojem je istraživana utjecaj nezavisnih varijabli na fenotipski pokazatelj dob pri prvom telenju.

Tablica 24. Analiza varijance i koeficijent determinacije regresijskog modela (R^2) u istraživanju utjecaja negenetskih čimbenika na reprodukcijski pokazatelj dob pri prvom telenju

Nezavisna varijabla	SS	F	P	R^2 (%)
Geografsko područje podrijetla	2	0,03	0,973	36,18 ($P < 0,001$)
Utjecaj rasplodnjaka	2	9,36	$< 0,001$	
Veličina stada	3	3,07	0,026	
Sezona telenja krave	3	5,14	0,001	
Godina telenja krave	27	38,51	$< 0,001$	
Koeficijent uzgoja u srodstvu (%)	1	4,00	0,045	

SS – stupnjevi slobode

U tablici 25 prikazane su korigirane srednje vrijednosti (LSM) te donja i gornja granica intervala pouzdanosti (95 %) regresijskog modela u istraživanju utjecaja nezavisnih varijabli na fenotipsko svojstvo dob pri prvom telenju.

Tablica 25. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) nezavisnih varijabli uključenih u analizu regresijskog modela za reprodukcijski pokazatelj dob pri prvom telenju izraženi u danima

Nezavisna varijabla	Kategorija nezavisne varijable	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)
Geografsko područje podrijetla	Nizinska/panonska Hrvatska	227	1403,11	1362,32	1445,13
	Planinska/dinarska Hrvatska	854	1397,05	1360,96	1434,10
	Primorska/jadranska Hrvatska	938	1399,14	1365,00	1434,14
Utjecaj rasplodnjaka	1 bik	1326	1472,41 ^a	1439,92	1505,62
	2 ili 3 bika	620	1407,69 ^a	1373,01	1443,25
	4 i više bikova	73	1323,22 ^b	1273,38	1375,01
Veličina stada	1 do 5 krava	94	1377,20	1329,24	1426,89
	6 do 10 krava	149	1448,07 ^a	1402,86	1494,73
	11 do 30 krava	584	1365,22 ^c	1330,32	1401,04
	31 i više krava	1192	1410,05 ^b	1377,39	1443,47
Sezona telenja krave	Proljeće	951	1376,85 ^a	1341,75	1412,86
	Ljeto	365	1358,62 ^b	1323,33	1394,86
	Jesen	147	1427,29 ^b	1383,06	1472,93
	Zima	556	1437,89 ^b	1398,88	1477,99

a, b, c – označene vrijednosti unutar istih kategorija međusobno se statistički razlikuju na razini $P < 0,05$

...nastavak tablice 25.

Nezavisna varijabla	Kategorija nezavisne varijable	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)
Godina telenja krave	2005.	12	999,56	928,48	1076,07
	2006.	20	979,61	924,22	1038,33
	2007.	27	918,02	873,16	965,18
	2008.	31	905,35	863,19	949,56
	2009.	52	923,10	889,05	958,46
	2010.	63	1024,27	989,37	1060,41
	2011.	84	983,05	953,00	1014,04
	2012.	97	931,83 ^a	905,16	959,28
	2013.	101	811,14 ^b	788,18	834,77
	2014.	161	924,57 ^a	902,17	947,53
	2015.	192	863,60	843,94	883,73
	2016.	206	848,73	829,73	868,17
	2017.	312	827,92	811,30	844,88
	2018.	295	772,57 ^c	756,99	788,48
	2019.	302	718,04	703,62	732,77
	2020.	20	615,39	580,46	652,42

^{a, b, c} – označene vrijednosti unutar istih kategorija međusobno se statistički razlikuju na razini $P < 0,05$

Analizom varijance (tablica 24) utvrđeno je da su utjecaj rasplodnjaka ($F = 9,36$; $P < 0,001$), veličina stada ($F = 3,07$; $P = 0,026$), sezona telenja krave ($F = 5,14$; $P = 0,001$), godina telenja krave ($F = 38,51$; $P < 0,001$) i koeficijent uzgoja u srodstvu ($F = 4,00$; $P = 0,045$) imali značajan utjecaj na dob pri prvom telenju. Model objašnjava 36,18 % varijance istraživanog svojstva dobi pri prvom telenju ($R^2 = 36,18$; $F = 31,11$; $P < 0,001$).

Najniža dob pri prvom telenju zabilježena je u skupini krava koje su držane u stadu s četiri i više bikova (LSM = 1323,22 dana; 95 % = 1273,38 - 1375,01 dana), u odnosu na krave koje su držane s dva ili tri bika (LSM = 1407,69 dana; 95 % = 1373,01 - 1443,25 dana), odnosno u skupini krava koje su držane s jednim bikom (LSM = 1472,41 dana; 95 % = 1439,92 - 1505,62 dana). Također, zabilježena je statistički značajna razlika između skupina krava koje su bile smještene s jednim bikom u odnosu na skupine krava sa dva ili tri bika te četiri i više bikova ($P < 0,001$). Utjecaj veličine stada bio je statistički značajan u modelu ($P = 0,026$) te je zabilježeno da je najniža dob pri prvom telenju bila u stadu s 1 do 5 krava (LSM = 1377,20 dana; 95 % = 1329,24 - 1426,89 dana) i 11 do 30 krava (LSM = 1365,22 dana; 95 % = 1330,32 - 1401,04 dana). S obzirom na veličinu stada, zabilježena je statistički značajna razlika u dobi pri prvom telenju između stada sa 6 do 10 krava i 11 do 30 krava ($P = 0,010$) te 11 do 30 krava i više od 31 krave ($P = 0,024$). Sagledavajući sezonu rođenja krave, vrijednost dobi pri prvom telenju bila je najniža u ljeto (2) (LSM = 1358,62 dana; 95 % = 1323,33 - 1394,86 dana), a zatim u proljeće (1) (LSM = 1376,85 dana; 95 % = 1341,75 - 1412,86 dana), dok je najviša bila u zimu (4) (LSM = 1437,89 dana; 95 % = 1398,88 - 1477,99 dana). Nadalje, zabilježena je statistički značajna razlika u dobi pri prvom telenju između proljeća te ljeta, jeseni i zime ($P < 0,001$).

Utjecaj godine rođenja krave bio je značajan u modelu ($P < 0,001$). U analizu je bilo uključeno ukupno 27 godina unutar kojih su se krave obuhvaćene analizom telile te njihova dob pri prvom telenju, od 1992. do 2020. godine. Sagledavajući navedeno razdoblje, zabilježeno je kako se dob pri prvom telenju smanjivala kroz godine. Najviše smanjenje dobi pri prvom telenju u rasplodnih krava zabilježeno je od 2005. godine na dalje (LSM = 999,56 dana; 95 % = 928,48 - 1076,07 dana), a najniža dob iznosila je 615,39 dana (95 % = 580,46 - 652,42 dana) u 2020.-toj godini (tablica 25).

Koeficijent uzgoja u srodstvu (%) u modelu pokazao je značajan utjecaj na dob pri prvom telenju ($P = 0,0456$). Srednja vrijednost utjecaja koeficijenta uzgoja u srodstvu iznosila je 0,021, ukazujući da prosječna vrijednost dobi pri prvom telenju raste za 0,021 sa svakim postotkom povećanja koeficijenta uzgoja u srodstvu.

U tablici 26 opisane su korigirane srednje vrijednosti te gornja i donja granica pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za dob ori prvom telenju izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptin (LEP) i negenetske čimbenike.

Tablica 26. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za dob pri prvom telenju izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptin (LEP) i negenetske čimbenike

SNP	Genotip	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)	F	P	Utjecaj negenetske čimbenika
LEP02	TC	58	953,74	830,11	1095,80	0,002	0,849	SR**, GP*
	CC	36	969,52	844,21	1113,44			
LEP04	CG	58	931,53	812,42	1068,09	0,003	0,855	SR**, GP*
	GG	36	946,29	825,76	1084,41			
LEP06	TC	58	926,89	809,26	1061,61	0,019	0,891	SR**, GP*
	CC	37	937,56	820,40	1071,46			
LEP15	CT	41	945,46	818,05	1092,72	0,698	0,407	SR**, GP*
	TT	14	861,18	726,85	1020,35			
LEP26	GG	10	946,70	794,00	1128,77	0,010	0,922	SR**
	GA	74	960,05	832,87	1106,65			

SR –sezona telenja krave, GP –geografsko područje podrijetla

*P<0,01; **P<0,001

Analizirani SNP-ovi LEP gena nisu imali značajan utjecaj na fenotipsko svojstvo dobi pri prvom telenju (tablica 26). Međutim, za SNP LEP02 zabilježeno je kako su rasplodne krave koje su imale homozigotni genotip CC imale višu dob pri prvom telenju (LSM = 969,52 dana; 95 % = 844,21 - 1113,44 dana) od rasplodnih krava s heterozigotnim genotipom (LSM = 953,74; 95 % = 830,11 - 1095,80 dana). Rasplodne krave u kojih je otkriven SNP LEP04 i koje su imale homozigotni genotip GG telile su se prvi puta u dobi od 946,29 dana (95 % = 825,76 - 1084,41 dana), za razliku od onih koje su imale heterozigotni genotip (LSM=931,53 dana; 95 % = 812,42 - 1068,09 dana). SNP LEP06 utvrđen je u ukupno 94 rasplodne krave, pri čemu su krave koje su imale homozigotni genotip CC imale višu dob pri prvom telenju (LSM = 937,56 dana; 95 % = 820,40 - 1071,46 dana) u usporedbi s kravama koje su imale heterozigotni genotip (LSM=926,89 dana; 95 % = 809,26 - 1061,61 dana). U ukupno 55 rasplodnih krava otkriven je SNP LEP15, a krave koje su imale homozigotni genotip TT imale su nižu dob pri prvom telenju koja je iznosila 861,18 dana (95 % = 726,85 - 1020,35 dana) u odnosu na krave s heterozigotnim genotipom u kojih je dob pri prvom telenju iznosila 945,46 dana (95 % = 818,05 - 1092,72). Za SNP LEP26 zabilježeno je kako su krave s heterozigotnim genotipom imale višu dob pri prvom telenju, koja je iznosila 960,05 dana (95 % = 832,87 - 1106,65 dana), u usporedbi s kravama koje su imale homozigotni genotip GG (LSM = 946,70 dana; 95 % = 794,00 - 1128,77 dana). Sagledavajući analize regresijskih modela u kojima je istraživao utjecaj SNP-ova LEP gena te negenetskih čimbenika, zabilježen je utjecaj nezavisnih varijabli sezone rođenja krave ($P<0,001$) i geografskog područja podrijetla ($P<0,01$) (tablica 26).

Tablica 27. prikazuje korigirane srednje vrijednosti te donju i gornju granicu pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za dob pri prvom telenju izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptinski receptor (LEPR) i negenetske čimbenike.

Tablica 27. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za dob pri prvom telenju izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptinski receptor (LEPR) i negenetske čimbenike

SNP	Genotip	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)	F	P	Utjecaj negenetskih čimbenika
LEPR06	GG	1	807,19	502,69	1296,12	0,138	0,871	SR*, VS*
	GA	42	822,25	690,86	978,62			
	AA	9	888,45	712,57	1107,74			
LEPR07	AG	2	790,41	613,47	1018,39	0,594	0,422	SR***, GP**
	GG	97	938,94	828,49	1064,11			
LEPR08	CT	1	799,17	510,93	1250,01	0,423	0,517	SR**
	TT	76	1047,88	884,61	1241,27			
LEPR09	TA	2	1405,28	943,36	2093,38	0,195	0,660	SR**
	AA	64	1210,12	1003,39	1459,45			

SR – sezona telenja krave; VS – veličina stada; GP – geografsko područja podrijetla

*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001

Rezultati analize utjecaja SNP-ovi LEPR gena na dob pri prvom telenju prikazani su u tablici 27. Analizirani SNP-ovi nisu imali statistički značajan utjecaj na dob pri prvom telenju. Za SNP LEPR06 utvrđena su tri genotipa (GG, GA, AA), a najnižu dob pri prvom telenju imala je rasplodna krava s homozigotnim genotipom GG (LSM = 807,19 dana; 95 % = 690,86 - 978,62 dana), zatim krave s heterozigotnim genotipom (LSM = 822,25 dana; 95 % = 690,86 - 978,62 dana), a najvišu dob pri prvom telenju imale su krave s homozigotnim genotipom AA (LSM = 888,45 dana; 95 % = 712,57 - 1107,74 dana). U regresijskom modelu u kojem je istraživao utjecaj SNP-a LEPR06 na dob pri prvom telenju, nezavisne varijable sezona telenja krave i veličina stada pokazale su značajan učinak ($P < 0,05$). SNP LEPR07 utvrđen je u ukupno 99 rasplodnih krava, a zabilježena su dva genotipa pri čemu su krave s heterozigotnim genotipom imale nižu dob pri prvom telenju (LSM = 790,41 dana; 95 % = 613,47 - 1018,39 dana) u odnosu na krave s homozigotnim genotipom (LSM = 938,94; 95 % = 828,49 - 1064,11 dana). Također, u modelu u kojem je istraživao utjecaj navedenog SNP-a, značajan učinak imale su nezavisne varijable sezona telenja krave ($P < 0,001$) i geografsko područje podrijetla ($P < 0,01$). Rasplodne krave u kojih je zabilježen SNP LEPR08 i koje su imale homozigotni genotip TT, imale su znatno višu dob pri prvom telenju koja je iznosila 1047,88 dana (95 % = 884,61 - 1241,27 dana), u odnosu na rasplodne krave s heterozigotnim genotipom. U ukupno 68 rasplodnih krava otkriven je SNP LEPR09, pri čemu su krave s heterozigotnim genotipom imale višu dob pri prvom telenju (LSM = 1405,28 dana; 95 % = 943,36 - 2093,38 dana) u odnosu na krave s homozigotnim genotipom AA u kojih je ona iznosila 1210,12 dana (95 % = 1003,39 - 1459,45 dana). U regresijskim modelima u kojima je istraživao utjecaj SNP-ova LEPR08 i LEPR09, značajan je bio učinak sezone rođenja krave ($P < 0,01$).

Tablica 28 prikazuje korigirane srednje vrijednosti te intervale pouzdanosti (95 %) izražene u danima za dob pri prvom telenju izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za neuropeptid Y (NPY) i negenetske čimbenike.

Tablica 28. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervale pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za dob pri prvom telenju izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za neuropeptid Y (NPY) i negenetske čimbenike

SNP	Genotip	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)	F	P	Utjecaj negenetskih čimbenika
NPY01	AT	17	714,34	586,49	870,08	1,937	0,174	SR****, GP*
	TT	23	855,07	730,73	1000,56			
NPY07	TC	4	907,43	746,32	1103,33	1,204	0,277	SR**
	CC	57	1145,51	967,74	1355,93			
NPY23	TG	12	1024,13	842,67	1244,68	0,020	0,980	SR*
	GG	42	1045,18	890,56	1226,65			

SR – sezona telenja krave; GP – geografsko područje podrijetla

*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001

Istražen je utjecaj SNP-ova NPY gena (NPY01, NPY07 i NPY27) na fenotipski pokazatelj dob pri prvom telenju, a rezultati analize prikazani su u tablici 28. SNP NPY01 otkriven je 40 rasplodnih krava, pri čemu su zabilježena dva genotipa. U krava s heterozigotnim genotipom zabilježena je niža dob pri prvom telenju koja je iznosila 714,34 dana (95 % = 586,49 - 870,08 dana) u odnosu na krave s homozigotnim genotipom TT u kojih je ista iznosila 855,07 dana (95 % = 730,73 - 1000,56 dana). Značajan utjecaj u regresijskom modelu u kojem je istraživani SNP NPY01, ustanovljen je za nezavisne varijable sezone rođenja krave ($P < 0,001$) i geografskog područja podrijetla ($P < 0,05$). U ukupno 61 rasplodne krave otkriven je SNP NPY07, pri čemu su krave s heterozigotnim genotipom imale nižu dob pri prvom telenju koja je iznosila 907,43 dana (95 % = 746,32 - 1103,33 dana), u usporedbi s kravama s homozigotnim genotipom CC (LSM = 855,07 dana; 95 % = 967,74 - 1355,93 dana). SNP NPY23 otkriven je u 54 rasplodne krave s utvrđena dva genotipa. Najniža vrijednost dobi pri prvom telenju zabilježena je u životinja s homozigotnim genotipom GG i bila je 1024,13 dana (95 % = 842,67 - 1244,68 dana).

5.5.2 Servisno razdoblje

Rezultati analize varijance i koeficijent determinacije (R^2) regresijskog modela kojim je istražen utjecaj nezavisnih varijabli rednog broja telenja, utjecaja rasplodnjaka, veličine stada, sezone rođenja krave, godine rođenja krave te koeficijenta uzgoja u srodstvu (%) na fenotipsko svojstvo servisno razdoblje, prikazani su u tablici 29.

Tablica 29. Analiza varijance i koeficijent determinacije regresijskog modela (R^2) u istraživanju utjecaja negenetskih čimbenika na reprodukcijski pokazatelj servisno razdoblje

Nezavisna varijabla	SS	F	P	R^2 (%)
Redni broj telenja	10	64,97	<0,001	38,82 ($P < 0,001$)
Utjecaj rasplodnjaka	2	12,49	<0,001	
Veličina stada	3	1,77	0,150	
Sezona telenja krave	3	0,371	0,773	
Godina telenja krave	27	37,61	<0,001	
Koeficijent uzgoja u srodstvu (%)	1	1,44	0,229	

SS – stupnjevi slobode

Rezultati analize regresijskog modela koji uključuje korigirane srednje vrijednosti (LSM) te donja i gornja granica intervala pouzdanosti (95 %) izraženi u danima, prikazani su u tablici 30.

Tablica 30. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) nezavisnih varijabli uključenih u analizu regresijskog modela za reprodukcijski pokazatelj servisno razdoblje izraženi u danima

Nezavisna varijabla	Kategorija nezavisne varijable	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)
Redni broj telenja	1	495	555,41	474,61	649,96
	2	445	894,19 ^a	823,26	971,22
	3	377	564,45	520,54	612,07
	4	247	433,42	399,01	470,79
	5	188	359,34	330,28	390,97
	6	154	267,26	245,22	291,28
	7	109	235,02	215,12	256,77
	8	56	179,57	161,50	199,66
	9	49	172,07	153,62	192,75
	10	46	120,56 ^b	107,47	135,25
	11	21	96,46	82,02	113,43
Utjecaj rasplodnjaka	1 bik	537	257,70 ^a	241,98	274,43
	2 ili 3 bika	157	310,10 ^b	289,17	332,54
	4 i više bikova	29	287,92 ^a	259,89	318,98

^{a, b} – označene vrijednosti unutar istih kategorija međusobno se statistički razlikuju na razini $P < 0,05$

...nastavak tablice 30.

Nezavisna varijabla	Kategorija nezavisne varijable	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)
Veličina stada	1 do 5 krava	41	271,96	247,17	299,23
	6 do 10 krava	50	304,70	279,19	332,55
	11 do 30 krava	215	290,37	270,43	311,78
	31 i više krava	417	271,96	254,82	290,25
Sezona telenja krave	Proljeće	324	289,21	269,31	310,58
	Ljeto	125	280,36	260,78	301,41
	Jesen	56	277,70	255,20	302,19
	Zima	218	290,62	269,58	313,31
Godina telenja krave	2005.	10	560,22 ^a	457,66	685,78
	2006.	18	413,21 ^a	353,93	482,43
	2007.	28	432,00 ^a	381,58	489,09
	2008.	32	394,85 ^a	350,85	444,36
	2009.	56	397,87 ^a	362,82	436,31
	2010.	63	321,78 ^a	294,71	351,33
	2011.	88	263,36 ^a	243,40	284,95

^{a, b} – označene vrijednosti unutar istih kategorija međusobno se statistički razlikuju na razini $P < 0,05$

...nastavak tablice 30.

Nezavisna varijabla	Kategorija nezavisne varijable	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)
Godina telenja krave	2012.	90	247,99 ^a	229,26	268,25
	2013.	104	198,57 ^a	184,38	213,84
	2014.	157	169,91 ^a	158,92	181,67
	2015.	183	144,30 ^{ab}	135,19	154,03
	2016.	179	113,75 ^{ab}	106,33	121,68
	2017.	241	83,03 ^b	77,78	88,63
	2018.	226	63,75 ^b	59,63	68,16
	2019.	188	57,72 ^b	53,26	61,85
	2020.	9	45,02 ^b	40,81	50,01

^{a, b} – označene vrijednosti unutar istih kategorija međusobno se statistički razlikuju na razini $P < 0,05$

Statistički značajan utjecaj na varijacije u servisnom razdoblju pronađen je za nezavisne varijable redni broj telenja ($F = 64,97$; $P < 0,001$), utjecaj rasplodnjaka ($F = 12,49$; $P < 0,001$) i godina telenja krave ($F = 37,61$; $P < 0,001$). Model objašnjava 38,83 % varijance istraživanog svojstva servisnog razdoblja ($F = 24,60$; $P < 0,001$). Trajanje servisnog razdoblja variralo je s obzirom na redni broj telenja. U krava koje su imale ukupno 11 telenja zabilježeno je najkraće trajanje servisnog razdoblja i iznosilo je 96,46 dana (95 % = 82,02 - 113,43 dana), dok je najduže trajanje servisnog razdoblja zabilježeno između drugog i trećeg telenja i iznosilo je 894,19 dana (95 % = 823,26 - 971,22 dana). Nadalje, trajanje servisnog razdoblja skraćivalo se od trećeg do 11 telenja u rasplodnih krava. Sagledavajući utjecaj rasplodnjaka u stadu, najniža vrijednost zabilježena je u skupini krava koje su držane u stadu s jednim bikom (LSM = 257,70 dana; 95 % = 241,98 - 274,43 dana), zatim u stadu s četiri i više bikova (LSM = 287,92 dana; 95 % = 259,89 - 318,98 dana), dok je najviša vrijednost zabilježena u skupine krava držanih u stadu s dva ili tri bika (LSM = 310,10 dana; 95 % = 289,17 - 332,54 dana). Statistički značajna razlika zabilježena je između skupina krava s jednim i dva ili tri bika u stadu te između skupina krava s dva ili tri te četiri i više bikova ($P < 0,001$). Nezavisna varijabla godina telenja krava promatrana je kroz ukupno 27 godina te je vidljivo da se nakon 2005. godine trajanje servisnog razdoblja postupno smanjivalo, kako je prikazano u tablici 30.

U tablici 31 prikazane su vrijednosti korigiranih srednjih vrijednosti te donja i gornja granica intervala pouzdanosti genotipova SNP-ova gena za leptin (LEP) i negenetskih čimbenika analiziranih u modelu kao i njihov utjecaj na fenotipski pokazatelj servisno razdoblje izraženi u danima.

Tablica 31. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za servisno razdoblje izračunati u regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptin (LEP) i negenetske čimbenike

SNP	Broj krava (n)	Genotip	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)	F	P	Utjecaj negenetskih čimbenika
LEP02	TC	58	242,05	195,37	299,88	6,614	0,012*	UR*
	CC	36	173,71	139,54	216,25			
LEP04	CG	58	242,05	195,37	299,88	6,614	0,012*	UR*
	GG	36	173,71	139,54	216,25			
LEP06	CT	41	142,82	124,54	163,77	4,650	0,029*	RBT**
	TT	14	118,79	103,51	136,32			
LEP15	GG	10	156,10	122,23	199,36	2,580	0,117	-
	GA	74	112,96	81,89	155,82			
LEP26	TC	58	258,44	196,55	339,81	1,684	0,198	VS*
	CC	36	191,28	149,58	244,61			

UB – utjecaj rasplodnjaka; RBT – redni broj telenja; VS – veličina stada

*P<0,05; P<0,001

U analizi utjecaja SNP-ova gena za leptin (LEP) na fenotipski pokazatelj servisno razdoblje zabilježen je statistički značajan utjecaj SNP-ova LEP02, LEP04 i LEP06 (tablica 31). Za SNP LEP02 ($F = 6,614$; $P=0,012$) utvrđene su dvije genetske varijante (T i C). Rasplodne krave s homozigotnim genotipom CC imale su kraće trajanje servisnog razdoblja ($LSM = 173,71$ dana; $95 \% = 139,54 - 216,25$ dana) u odnosu na krave s heterozigotnim genotipom u kojih je vrijednost servisnog razdoblja iznosila 242,05 dana ($95 \% = 195,37 - 299,88$ dana). Isti rezultati utjecaja i trajanja servisnog razdoblja zabilježeni su i za SNP LEP04, što je vidljivo u tablici 31. Za oba SNP-a u modelima je značajan utjecaj zabilježen i za nezavisnu varijablu utjecaj bika u stadu ($F = 3,127$; $P = 0,049$). SNP LEP06 ($F = 4,650$; $P = 0,029$) pokazao je značaj utjecaj na trajanje servisnog razdoblja, pri čemu su životinje s homozigotnim genotipom TT imale kraće trajanje servisnog razdoblja koje je iznosilo 118,79 dana ($95 \% = 103,51 - 136,32$ dana), u odnosu na životinje s heterozigotnim genotipom u kojih je iznosilo 142,82 dana ($95 \% = 124,54 - 163,77$ dana). Analizirajući SNP LEP06, značajan učinak na trajanje servisnog razdoblja imao je čimbenik redni broj telenja ($F = 12,052$; $P<0,001$). Za SNP LEP15 nije ustanovljen značajan utjecaj na trajanje servisnog razdoblja, međutim životinje s heterozigotnim genotipom imale su niže vrijednosti istraživog pokazatelja ($LSM = 112,96$ dana; $95 \% = 81,89 - 155,82$ dana), u usporedbi sa životinjama koje su imale homozigotni genotip GG ($LSM = 156,10$ dana; $95 \% = 122,23 - 199,36$ dana). U rasplodnih krava u kojih je zabilježen SNP LEP26, nije zabilježen njegov značajan utjecaj na trajanje servisnog razdoblja, međutim u istom modelu značajan utjecaj imala je nezavisna varijabla veličina stada ($F = 3,906$; $P = 0,012$). Sagledavajući utjecaj genotipa SNP-a LEP26 na trajanje servisnog razdoblja, kraće trajanje zabilježeno je u krava s homozigotnim genotipom CC u kojih je ono iznosilo 191,28 dana ($95 \% = 149,58 - 244,61$ dana).

U tablici 32 prikazane su vrijednosti korigiranih srednjih vrijednosti te donja i gornja granica intervala pouzdanosti genotipova SNP-ova gena za leptinski receptor (LEPR) i negenetskih čimbenika analiziranih u modelu kao i njihov utjecaj na fenotipski pokazatelj servisno razdoblje izraženi u danima.

Tablica 32. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za servisno razdoblje izračunati u regresijskim modelima koji uključuju genotipove jednonukleotidnog polimorfizma gena za leptinski receptor (LEPR) i negenetske čimbenike

SNP	Genotip	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)	F	P	Utjecaj negenetskih čimbenika
LEPR06	GG	1	142,02	65,11	309,77	0,761	0,475	VS*, UR**
	GA	42	212,46	166,67	270,83			
	AA	9	166,50	119,23	232,52			
LEPR07	AG	2	151,65	100,05	229,85	0,808	0,371	VS*, UR*
	GG	97	208,93	169,76	257,14			
LEPR08	GA	1	389,88	195,14	778,97	0,573	0,451	VS*
	AA	76	241,28	186,41	312,31			
LEPR09	TA	2	179,01	96,97	330,48	0,329	0,569	VS*
	AA	64	235,73	173,47	320,35			

VS – veličina stada; UB – utjecaj rasplodnjaka

*P<0,05; **P<0,01

Rezultati analize utjecaja SNP-ova LEPR gena nisu pokazali značajan utjecaj na fenotipski pokazatelj servisno razdoblje u istraživanoj populaciji rasplodnih krava (tablica 32). Za SNP LEPR06 zabilježena su tri genotipa, među kojima je najniža vrijednost servisnog razdoblja zabilježena u životinja koje su imale homozigotni genotip GG i iznosila je 142,02 dana (95 % = 65,11 - 309,77 dana), a najviša u životinja koje su imale heterozigotni genotip (LSM = 212,46 dana; 95 % = 166,67 - 270,83 dana). U istom modelu značajan utjecaj zabilježen je za nezavisne varijable veličina stada ($P = 0,034$) i utjecaj rasplodnnjaka u stadu ($P = 0,004$). U ukupno 99 rasplodnih krava ustanovljen je SNP LEPR07, pri čemu su krave s heterozigotnim genotipom imale kraće trajanje servisnog razdoblja (LSM = 151,65 dana; 95 % = 100,05 - 229,85 dana). Niža vrijednost trajanja servisnog razdoblja za SNP LEPR08 zabilježena je u životinja koje su imale homozigotni genotip AA i iznosila je 241,28 dana (95 % = 186,41 - 312,31 dana), dok je za SNP LEPR09 niža vrijednost trajanje servisnog razdoblja zabilježena u životinja koje su imale heterozigotni genotip (LSM = 179,01 dana; 95 % = 96,97 - 330,48 dana). Analizirajući utjecaj SNP-ova LEPR08 i LEPR09 u regresijskim modelima, statistički značajan utjecaj utvrđen je za nezavisnu varijablu veličina stada ($P = 0,017$ i $P = 0,015$).

U tablici 33 prikazane su vrijednosti korigiranih srednjih vrijednosti te donja i gornja granica intervala pouzdanosti genotipova SNP-ova gena za neuropeptid Y (NPY) i negenetskih čimbenika analiziranih u modelu kao i njihov utjecaj na fenotipski pokazatelj servisno razdoblje izraženi u danima.

Tablica 33. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za servisno razdoblje izračunati u regresijskim modelima koji uključuju genotipove jednonukleotidnog polimorfizma gena za neuropeptid Y (NPY) i negenetske čimbenike

SNP	Genotip	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)	F	P	Utjecaj negenetskih čimbenika
NPY01	AT	17	169,30	126,26	227,02	0,726	0,403	-
	TT	23	139,46	105,46	184,41			
NPY07	TC	4	155,16	103,14	233,41	2,300	0,137	VS*, UR*
	CC	57	326,67	230,59	462,80			
NPY23	TG	12	209,73	150,00	293,25	2,885	0,069	VS*, UR*
	GG	42	271,64	207,67	355,33			

VS – veličina stada; UR – utjecaj rasplodnjaka

*P<0,05

Analizom pojedinačnog učinka SNP-ova NPY gena (NPY01, NPY07, NPY23) na trajanje servisnog razdoblja nije zabilježen statistički značajan utjecaj u regresijskim modelima (tablica 33). Sagledavajući SNP NPY01 rasplodne krave s homozigotnim genotipom TT imale su kraće trajanje servisnog razdoblja (LSM = 139,46 dana; 95 % = 105,46 - 184,41 dana) u odnosu na krave s heterozigotnim genotipom (LSM = 169,30 dana; 95 % = 126,26 - 227,02 dana). Također, nije pronađen utjecaj ostalih nezavisnih varijabli uključenih u modelu na navedeno svojstvo. Prilikom analiza u kojima je u obzir uzet utjecaj SNP-a NPY07 i negenetski čimbenici, značajan utjecaj imale su nezavisne varijable veličina stada ($F = 3,163$; $P = 0,034$) i utjecaj rasplodnjaka u stadu ($F = 4,036$; $P = 0,025$). Iako nije utvrđen utjecaj SNP-a NPY07 na trajanje servisnog razdoblja, zabilježeno je da su životinje s heterozigotnim genotipom imale kraće trajanje servisnog razdoblja, koje je iznosilo 155,16 dana (95 % = 103,14 - 233,41 dana), u usporedbi sa životinjama koje su imale homozigotni genotip CC, u kojih je prosječna vrijednost bila 326,67 dana (95 % = 230,59 - 462,80 dana). SNP NPY23 ustanovljen je u ukupno 54 rasplodne krave, a u životinja koje su imale homozigotni genotip TT ustanovljene su niže vrijednosti trajanja servisnog razdoblja (LSM = 209,73 dana, 95 % = 150,00 - 293,25 dana).

5.5.3 Trajanje gravidnosti

U tablici 34 prikazane su vrijednosti analize varijance i koeficijent determinacije (R^2) regresijskog modela u kojem su bile uključene nezavisne varijable redni broj telenja, sezona telenja krave i dob pri 1. telenju.

Tablica 34. Analiza varijance i koeficijent determinacije regresijskog modela (R^2) u istraživanju utjecaja negenetskih čimbenika na reprodukcijski pokazatelj trajanje gravidnosti

Nezavisna varijabla	SS	F	P	R^2 (%)
Redni broj telenja	10	0	0,950	0,004 (P=0,898)
Sezona telenja krave	3	1	0,236	
Dob pri 1. telenju	2	1	0,560	

SS – stupnjevi slobode

Rezultati analize koja uključuje korigirane srednje vrijednosti (LSM) te donje i gornje granice intervala pouzdanosti (95 %) nezavisnih varijabli uključenih u regresijski model istraživanja utjecaja navedenih čimbenika na fenotipsko svojstvo trajanja gravidnosti, prikazani su u tablici 35.

Tablica 35. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) nezavisnih varijabli uključenih u analizu regresijskog modela za reprodukcijski pokazatelj trajanje gravidnosti

Nezavisna varijabla	Kategorija nezavisne varijable	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)
Redni broj telenja	1	279	278,83	276,93	280,75
	2	453	280,95	279,41	282,50
	3	356	279,94	278,23	281,67
	4	236	283,21	281,13	285,30
	5	158	282,84	280,35	285,36
	6	144	281,57	278,96	284,20
	7	99	282,26	279,15	285,41
	8	50	281,43	277,13	285,81
	9	40	281,07	276,26	285,96
	10	39	282,15	277,26	287,11
	11	19	281,26	274,31	288,40
Dob pri 1. telenju	Do 24 mjeseca	623	282,23	280,56	283,92
	Od 25 do 34 mjeseci	840	280,48	279,06	281,91
	35 i više mjeseci	410	281,51	279,77	283,27

...nastavak tablice 35.

Nezavisna varijabla	Kategorija nezavisne varijable	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)
Sezona telenja krave	Proljeće	890	279,39	278,02	280,77
	Ljeto	333	281,22	279,40	283,05
	Jesen	133	282,28	279,50	285,09
	Zima	517	282,76	281,11	284,42

Provedeni regresijski model u istraživanju utjecaja genetskih i negenetskih čimbenika objašnjava 0,004 % varijance reprodukcijskog pokazatelja trajanja gravidnosti ($F = 0,570$; $P = 0,898$), pri čemu niti jedna promatrana nezavisna varijabla nije pokazala statistički značajan utjecaj ($P > 0,05$). Analizirajući utjecaj dobi pri prvom telenju, najniža vrijednost zabilježena je u krava koje su se prvi puta telile u dobi od 25 do 34 mjeseci i iznosila je 280,48 dana (95 % - 279,06, 281,91 dana), dok je najviša vrijednost ustanovljena u krava koje su prvi puta telile u dobi do 24 mjeseca i iznosila je 282,23 dana (95 % - 280,56, 283,92 dana). S obzirom na sezonu rođenja krave, najkraće trajanje gravidnosti zabilježeno je u krava koje su se otelile u proljeće (LSM = 279,39 dana; 95 % - 278,02, 280,77 dana), dok su nešto više vrijednosti utvrđene u krava koje su se telile u jesen (LSM = 282,28 dana; 95 % - 279,50, 285,09 dana) i zimu (LSM = 282,76 dana; 95 % - 281,11, 284,42 dana). Promatrajući redni broj telenja, zabilježene vrijednosti trajanja gravidnosti kretale su se između 278,83 dana (95 % - 276,93, 280,75 dana) u prvom i 283,21 dana (95 % - 281,13, 285,30 dana) u četvrtom telenju.

Prilikom analiza utjecaja pojedinačnog učinka SNP-ova gena za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) i neuropeptid Y (NPY) te negenetskih čimbenika u regresijskim modelima na fenotipsko svojstvo trajanja gravidnosti, niti jedan SNP kao niti promatrani negenetski čimbenik nisu pokazali statistički značajan utjecaj na navedeno svojstvo.

5.5.4 Međutelidbeno razdoblje

U tablici 36 prikazane su analiza varijance, relativna važnost nezavisnih varijabli i koeficijent determinacije (R^2) regresijskog modela u istraživanju reprodukcijskog pokazatelja međutelidbenog razdoblja.

Tablica 36. Analiza varijance i koeficijent determinacije regresijskog modela (R^2) u istraživanju utjecaja negenetskih čimbenika na reprodukcijski pokazatelj međutelidbeno razdoblje

Nezavisna varijabla	SS	F	P	R^2 (%)
Redni broj telenja	10	102,68	<0,001	48,75 ($P < 0,001$)
Utjecaj rasplodnjaka	2	5,66	0,003	
Veličina stada	3	1,42	0,234	
Sezona telenja krave	3	5,34	0,001	
Godina telenja krave	27	48,01	<0,001	
Geografsko područje podrijetla	2	1,14	0,319	
Dob pri 1. telenju	2	43,40	<0,001	
Koeficijent uzgoja u srodstvu (%)	1	0,50	0,478	

SS – stupnjevi slobode

Rezultati analize regresijskog modela koji uključuje korigirane srednje vrijednosti (LSM) te donja i gornja granica intervala pouzdanosti (95 %) izraženi u danima, prikazani su u tablici 37.

Tablica 37. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) nezavisnih varijabli uključenih u analizu regresijskog modela za reprodukcijski pokazatelj međutelidbeno razdoblje izraženi u danima

Nezavisna varijabla	Kategorija nezavisne varijable	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)
Redni broj telenja	1	495	1000,52	937,78	1067,44
	2	427	1137,17 ^a	1096,20	1179,66
	3	362	885,59 ^b	854,57	917,73
	4	239	740,38 ^{ab}	714,22	767,51
	5	161	632,89 ^b	609,87	656,78
	6	147	544,64 ^b	524,63	565,40
	7	98	502,24	482,81	522,44
	8	50	450,82 ^c	429,70	472,97
	9	40	427,23	405,40	450,24
	10	39	370,37 ^b	351,42	390,35
	11	19	330,48 ^b	328,00	355,81
Utjecaj rasplodnjaka	1 bik	1084	575,64 ^a	560,18	591,54
	2 ili 3 bika	459	608,72 ^b	590,51	627,48
	4 i više bikova	62	587,65 ^a	561,62	614,90

^{a, b, c} – označene vrijednosti unutar istih kategorija međusobno se statistički razlikuju na razini $P < 0,05$

...nastavak tablice 37.

Nezavisna varijabla	Kategorija nezavisne varijable	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)
Geografsko područje podrijetla	Nizinska/panonska Hrvatska	189	580,66	560,40	601,64
	Planinska/dinarska Hrvatska	651	599,86	581,30	619,00
	Primorska/jadranska Hrvatska	765	591,19	573,87	609,03
Veličina stada	1 do 5 krava	77	579,50	555,60	604,45
	6 do 10 krava	122	615,48	592,46	639,40
	11 do 30 krava	477	583,69	565,78	602,17
	31 i više krava	929	584,06	567,67	600,93
Sezona telenja krave	Proljeće	741	600,36 ^a	581,92	619,39
	Ljeto	303	564,30 ^a	546,79	582,37
	Jesen	115	586,87 ^b	564,95	609,63
	Zima	446	611,59 ^a	591,63	632,22
Dob pri 1. telenju	Do 24 mjeseca	509	644,44 ^a	623,54	666,03
	Od 25 do 34 mjeseci	726	606,86 ^a	587,81	626,52
	35 i više mjeseci	370	526,53 ^b	510,21	543,38

^{a, b} – označene vrijednosti unutar istih kategorija međusobno se statistički razlikuju na razini $P < 0,05$

Značajan utjecaj na varijacije u međutelidbenom razdoblju pronađen je za nezavisne varijable redni broj telenja ($F = 102,68$; $P < 0,001$), utjecaj rasplodnjaka ($F = 5,66$; $P = 0,003$), sezona telenja krave ($F = 5,34$; $P = 0,001$), godina telenja krave ($F = 48,01$; $P < 0,001$) i dob pri prvom telenju ($F = 43,40$; $P < 0,001$). Nezavisne varijable uključene u regresijski model objašnjavale su 48,75 % varijacija u istraživanom svojstvu ($F = 31,52$; $P < 0,001$).

Iz rezultata ovog istraživanja razdvidno je kako su se vrijednosti međutelidbenog razdoblja smanjivale s porastom rednog broja telenja, pri čemu je drugo međutelidbeno razdoblje bilo najduže (LSM = 1137,17 dana; 95 % = 1096,20 - 1179,66 dana). S obzirom na utjecaj rasplodnjaka, trajanje međutelidbenog razdoblja variralo je između 575,64 dana u stadima s jednim bikom, 587,65 dana u stadima s četiri i više bikova te 608,72 dana u stadima s dva ili tri bika. Razlike između stada s jednim bikom i četiri i više bikova bile su statistički značajne u odnosu na stada s dva ili tri bika ($P < 0,001$). Trajanje međutelidbenog razdoblja razlikovalo se s obzirom na sezonu rođenja krava. Zabilježeno je duže trajanje međutelidbenog razdoblja u proljeće i zimu (600,36 i 611,59 dana) u odnosu na ljeto i jesen (564,30 i 586,87 dana). Razlike između sezona statistički su se razlikovale između jeseni i proljeća, ljeta i zime ($P < 0,05$). Sagledavajući dob pri prvom telenju, zabilježeno je da su krave koje su se telile u dobi do 24 mjeseca imale duže trajanje međutelidbenog razdoblja (LSM = 644,44 dana; 95 % = 623,54 - 666,03 dana) u odnosu na krave koje su se telile u dobi od 25 do 34 mjeseca (LSM = 606,86 dana; 95 % = 587,81 - 626,52 dana) i više od 35 mjeseci (LSM = 526,53 dana; 95 % = 510,21 - 543,38 dana). Statistički značajna razlika u trajanju međutelidbenog razdoblja zabilježena je između krava koje su se telile u dobi od 35 mjeseci i više u odnosu na krave koje su se telile u dobi do 24 mjeseca i između 25 i 34 mjeseca ($P = 0,001$).

U tablici 38 prikazane su vrijednosti korigiranih srednjih vrijednosti te donja i gornja granica intervala pouzdanosti genotipova SNP-ova gena za leptin (LEP) i negenetskih čimbenika analiziranih u modelu kao i njihov utjecaj na fenotipski pokazatelj međutelidbeno razdoblje izraženi u danima.

Tablica 38. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za međutelidbeno razdoblje izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptin (LEP) i negenetske čimbenike

SNP	Broj krava (n)	Genotip	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)	F	P	Utjecaj negenetskih čimbenika
LEP02	TC	58	469,46	452,35	487,21	2,452	0,822	UR*, VS*, RBT*
	CC	36	467,01	449,50	485,20			
LEP04	CG	58	469,46	452,35	487,21	0,498	0,822	UR*, VS**, RBT**, GP**
	GG	36	467,01	449,50	485,20			
LEP06	CT	58	556,54	478,83	646,86	1,324	0,785	UR*, VS**, RBT**, GP**
	TT	38	529,91	457,52	613,77			
LEP15	GG	41	509,36	432,34	600,10	0,597	0,445	DPT*
	GA	14	483,94	390,65	599,50			
LEP26	TC	58	496,83	473,24	521,60	0,723	0,481	VS**, RBT**
	CC	36	482,84	462,62	503,95			

UR – utjecaj rasplodnjaka; VS – veličina stada; RBT – redni broj telenja; GP – geografsko područje podrijetla

*P<0,05; **P<0,01

Ukupno je pet SNP-ova bilo uključeno u analizu, pri čemu niti jedan nije pokazao statistički značajan utjecaj na trajanje međutelidbenog razdoblja. Međutim, u rasplodnih krava u kojih je otkriven SNP LEP02, zabilježeno je da su krave s heterozigotnim genotipom imale duže trajanje međutelidbenog razdoblja (LSM = 469,46 dana; 95 % = 452,35 - 487,21 dana) u odnosu na krave koje su imale homozigotni genotip CC u kojih je vrijednost bila 467,01 dana (95 % = 449,50 - 485,20 dana). U krava u kojih je zabilježen SNP LEP04 uočena je tendencija sličnih rezultata. SNP LEP06 otkriven je u 65 rasplodnih krava pri čemu je trajanje međutelidbenog razdoblja u životinja koje su imale heterozigotni genotip iznosilo 373,59 dana (95 % = 341,26 - 408,98 dana), a u životinja koje su imale homozigotni genotip TT 370,13 dana (95 % = 332,91 - 411,51 dana). Za SNP LEP15 zabilježene su dvije genetske varijante (G i A) u ukupno 84 rasplodne krave, a trajanje međutelidbenog razdoblja u životinja koje su imale homozigotni genotip GG bilo je 373,59 dana (95 % = 341,26 - 411,51 dana) (tablica 38). U ukupno 94 rasplodne krave utvrđen je SNP LEP26 s uočena dva genotipa, a životinje s heterozigotnim genotipom imale su zabilježeno duže trajanje međutelidbenog razdoblja koje je iznosilo 496,83 dana (95 % = 473,24 - 521,60 dana), u usporedbi s životinjama koje su imale homozigotni genotip CC (LSM = 482,84 dana; 95 % = 462,62 - 503,95 dana).

U tablici 39 prikazane su vrijednosti korigiranih srednjih vrijednosti te donja i gornja granica intervala pouzdanosti genotipova SNP-ova gena za leptinski receptor (LEPR) i negenetskih čimbenika analiziranih u modelu kao i njihov utjecaj na fenotipski pokazatelj međutelidbeno razdoblje izraženi u danima.

Tablica 39. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za međutelidbeno razdoblje izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za leptinski receptor (LEPR) i negenetske čimbenike

SNP	Genotip	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)	F	P	Utjecaj negenetskih čimbenika
LEPR06	GG	1	471,51	357,99	621,02	0,749	0,481	UR**, VS**, RBT**, DPT*
	GA	42	573,66	527,75	623,55			
	AA	9	530,02	471,77	595,45			
LEPR07	AG	2	473,26	409,69	546,68	1,647	0,203	UR*, VS**, RBT**
	GG	97	555,03	516,16	596,82			
LEPR08	GA	1	701,02	546,61	899,06	0,447	0,506	UR*, VS**, RBT**
	AA	76	601,89	547,78	661,35			
LEPR09	TA	2	571,14	462,66	705,06	0,660	0,421	UR*, VS**, RBT*
	AA	64	653,37	584,89	729,85			

UR – utjecaj rasplodnjaka; VS – veličina stada; RBT – redni broj telenja; DPT – dob pri prvom telenju

*P<0,05; **P<0,001

Analizirani SNP-ovi nisu pokazali statistički značajan utjecaj na trajanje međutelidbenog razdoblja. SNP LEPR06 utvrđen je u ukupno 52 rasplodne krave sa zabilježene dvije genetske varijante (G i A), pri čemu je najviša vrijednost za trajanje međutelidbenog razdoblja zabilježena u životinja koje su imale heterozigotni genotip (LSM = 573,66 dana; 95 % = 527,75 - 623,55 dana) za razliku od životinja koje su imale homozigotni genotip GG (LSM = 471,51; 95 % = 357,99 - 621,02 dana) i homozigotni genotip AA (LSM = 530,02 dana; 95 % = 471,77 - 595,45 dana). SNP LEPR07 utvrđen je u ukupno 99 rasplodnih krava, a životinje s homozigotnim genotipom GG imale su duže trajanje međutelidbenog razdoblja koje je iznosilo 555,03 dana (95 % = 516,16 - 596,82 dana) u odnosu na životinje s heterozigotnim genotipom u kojih je vrijednost iznosila 473,26 dana (95 % = 409,69 - 546,68 dana). U rasplodnih krava u kojih je otkriven SNP LEPR08, životinje koje su imale homozigotni genotip AA imale su kraće trajanje međutelidbenog razdoblja (LSM = 601,89 dana; 95 % = 547,78 - 661,35 dana). Analizirajući SNP LEPR09, isti je zabilježen u 66 rasplodnih krava, pri čemu su životinje s heterozigotnim genotipom imale niže vrijednosti međutelidbenog razdoblja (LSM = 571,14 dana, 95 % = 462,66 - 705,06 dana), nego životinje s homozigotnim genotipom AA (LSM = 653,37 dana; 95 % = 584,89 - 729,85 dana).

U tablici 40 prikazane su vrijednosti korigiranih srednjih vrijednosti te donja i gornja granica intervala pouzdanosti genotipova SNP-ova gena za neuropeptid Y (NPY) i negenetskih čimbenika analiziranih u modelu kao i njihov utjecaj na fenotipski pokazatelj međutelidbeno razdoblje izraženi u danima.

Tablica 40. Korigirane srednje vrijednosti (LSM) te intervali pouzdanosti (95 %) izraženi u danima za međutelidbeno razdoblje izračunati prema regresijskim modelima koji uključuju genotipove SNP-ova gena za neuropeptid Y (NPY) i negenetske čimbenike

SNP	Genotip	Broj krava (n)	LSM	Donja granica intervala pouzdanosti (95 %)	Gornja granica intervala pouzdanosti (95 %)	F	P	Utjecaj negenetskih čimbenika
NPY01	AT	17	558,74	504,99	618,22	3,688	0,069	RBT*
	TT	23	481,39	437,37	529,85			
NPY07	TC	4	502,45	431,86	584,58	1,544	0,221	UR*, VS**
	CC	57	643,43	556,62	743,77			
NPY23	TG	12	541,30	485,39	603,66	1,792	0,181	UR**, VS**
	GG	42	600,83	551,07	655,08			

RBT – redni broj telenja; UR – utjecaj rasplodnjaka; VS – veličina stada

*P<0,05; **P<0,01

Pri analizi SNP-ova NPY01, NPY07 i NPY23 gena za neuropeptidni hormon Y i na trajanje međutelidbenog razdoblja nije utvrđen statistički značajan utjecaj (tablica 40). Za SNP NPY01 utvrđene su dvije genetske varijante (A i T) s dva uočena genotipa. Rasplodne krave koje su imale heterozigotni genotip imale su više vrijednosti međutelidbenog razdoblja (LSM = 558,74 dana; 95 % = 504,99 - 618,22 dana) nego životinje s homozigotnim genotipom TT (LSM = 481,3 dana; 95 % = 437,37 - 529,85 dana). Promatrajući SNP NPY07 u rasplodnih krava koje su imale homozigotni genotip CC zabilježene su više vrijednosti trajanje međutelidbenog razdoblja (LSM = 643,33 dana; 95 % = 556,62 - 743,77 dana) u odnosu na rasplodne krave koje su imale heterozigotni genotip (LSM = 502,45 dana; 95 % = 431,86 - 584,58 dana). Za SNP NPY23 ustanovljena je viša vrijednost trajanja međutelidbenog razdoblja u životinja s homozigotnim genotipom GG i iznosila je 600,83 dana (95 % = 551,07 - 655,08 dana), dok je u životinja s homozigotnim genotipom TT bila 541,30 dana (95 % = 485,39 - 603,66 dana).

6. RASPRAVA

6.1. Struktura populacije

Prema rezultatima ovog istraživanja od 2012. do kraja 2022. godine u registar izvorne pasmine goveda buša ukupno je upisano 9391 životinja. U odnosu na broj životinja u posljednjih 10 godina zabilježen je porast njihova broja kroz godine telenja: od 222 jedinke upisane u 2012. godini do najviše 1854 jedinki umatičenih u 2020. godini. Broj oteljene i umatičene teladi dosegnuo je svoju najvišu vrijednost u 2021. godini, i to 1854 registrirane životinje, odnosno 754 muških i 1100 ženskih životinja. Porast broja životinja u populaciji može se objasniti značajnim financijskim potporama i interesom uzgajivača za uzgoj, što predstavlja jedan od primarnih ciljeva uzgojnog programa izvorne pasmine goveda buša.

Registar pasmine utemeljen je 2003. godine, a program zaštite buša goveda kao izvorne pasmine goveda u Republici Hrvatskoj započeo je 2004. godine. Pri utemeljenju registra, buša je bila kategorizirana kao visoko ugrožena pasmina prema kriterijima Organizacije za poljoprivredu i hranu za definiranje statusa rizika ugroženosti animalnih genetskih resursa (FAO, 2015.). U 2022. godini, populacija je dostigla broj od 3505 rasplodnih životinja te trenutno pripada skupini potencijalno ugroženih populacija izvornih pasmina (MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE, 2023.). Prvu analizu strukture populacije i genetske varijabilnosti te sistematizaciju uzgoja izvorne pasmine goveda buša proveli su ČAČIĆ i sur. (2012.a; 2012.b; 2012.c; 2012.d).

Promatrajući ukupan broj zabilježenih telenja koji je od utemeljenja registra iznosio 10411, 66,71 % telenja zastupljeno je s ukupno 40 različitih rodova krava. U tablici 7 vidljivo je prema broju zabilježenih potomaka kako je postojalo neplansko sparivanje i određena neravnoteža u korištenju rasplodnih krava pojedinih rodova u uzgoju. Promatrajući dinamiku telenja u zadnjih 10 godina u ukupno 22 ženske životinje začetnice rodova nije bio zabilježenih potomaka, dok su u 10 rodova, krave imale samo jednog potomka. Na temelju zabilježenih rezultata o nepostojanju potomaka određenih rodova krava, ali i izlučenja samih rodozačetnica iz uzgoja, značajno je smanjena genetska raznolikost sadržana unutar ovih rodova, ali i ukupne populacije. U očuvanju genetske raznolikosti postojanje manjeg broja rodova ili linija rasplodnih životinja unutar referentne populacije ima utjecaj na upravljanje uzgojem u srodstvu i moguću posljedicu genskog pomaka (SCHMIDTMANN i sur., 2021.). Također, smanjenje genetske raznolikosti, odnosno heterozigotnosti u populaciji praćeno je višim vrijednostima uzgoja u srodstvu koji može imati utjecaj na smanjenje fenotipske srednje vrijednosti

proizvodnih i funkcionalnih svojstava (DOEKES i sur., 2019.; MALTECCA i sur., 2020.). Posljedično tome, smanjena je sposobnost životinja za prilagodbu na klimatske promjene, uzgojne prilike i potencijalna širenja bolesti (SCHMIDTMANN i sur., 2021.).

Zabilježen je trend povećanja broja registriranih ženskih životinja, pri čemu je od 2012. do 2020. godine, približno 85 % krava koje su korištene u rasplodu imalo potomstvo. Prosječan broj potomaka po kravi tijekom rasplodnog vijeka životinje iznosio je 3,53, s najmanje jednim i najviše 15 potomaka, dok je 56,62 % krava imalo više od tri potomka, odnosno 27,06 % krava više od pet potomaka. Ovi rezultati u suglasju su s istraživanjem GONZÁLEZ-CANO i sur. (2022.) u kojem je prosječan broj registriranih potomaka u populaciji španjolskih izvornih pasmina crno berenda govedo iznosio $2,96 \pm 2,19$ teladi po kravi, a u obojenog berenda goveda $3,13 \pm 2,29$ teladi po kravi.

Nakon utemeljenja registra 2003. godine, najveći broj umatičenih muških životinja bio je ujedno korišten i u rasplodu u narednim generacijama. Nakon 2006. godine broj umatičenih muških životinja porastao je na 22, međutim samo su četiri muška potomka uvedena u reprodukciju. Od 2012. godine broj rasplodnjaka u odnosu na ukupan broj umatičenih muških životinja iznosio je približno 10 %, sve do 2020. godine kada je umatičeno ukupno 559 muških životinja, od kojih je njih 20 (0,03 %) bilo korišteno u rasplodu u narednim generacijama. Iz rezultata je uočljivo da je 2021. godine svega 4 % bikova od ukupno 559 umatičenih korišteno u uzgoju. Razlog tome može biti intenzivnija selekcija muških potomaka nakon sistematizacije uzgoja i odabira rasplodnjaka s poželjnim karakteristikama prvenstveno morfoloških obilježja na temelju tjelesnih mjera i boje dlake karakteristične za pasminu buša. Također, intenzivnija selekcija muških životinja i izbjegavanje višegodišnjeg korištenja rasplodnjaka iz vlastitih stada provodi se zbog planskog sparivanja sa ženskim životinjama, s obzirom na stupanj srodnosti kako bi se smanjila vjerojatnost daljnjeg gubitka genetske varijabilnosti. U ovom je istraživanju uočeno da rasplodnjaci budu dugo korišteni u uzgoju te zamijenjeni samo kada dostignu visoku dob ili se razbole. Slični rezultati zabilježeni su i u populacijama španjolskih izvornih pasmina goveda u istraživanju CAROLINO i sur. (2020.). Prema FERNÁNDEZ i sur. (2011.) te SANTANA i sur. (2016.) duže korištenje rasplodnjaka smatra se korisnim u očuvanju populacije neke pasmine i selekcijskim programima, uz uvjet da se izbjegava sparivanje srodnih životinja.

Sagledavajući razdoblje od utemeljenja registra 2003. godine, 38 rasplodnjaka (13,67 %) imalo više od 75 muških potomaka i pridonose više od 46,94 % od svih ukupnih telenja. Rezultat sistematizacije rodovničkih podataka muških grla buše bilo je osnivanje 24 linije

bikova. Prema podacima sistematizacije uzgoja, više od 78,77 % teladi potomci su bikova od samo osam različitih linija. Rezultati ukazuju na značajne razlike u broju potomaka po rasplodnjaku, pri čemu je prosječan broj potomaka iznosio 36,1 s rasponom od 6 do 46 potomaka. Slični rezultati zabilježeni su u istraživanju GONZÁLEZ-CANO i sur. (2022.) koji su utvrdili su da je otprilike 30 % rasplodnjaka u pasmine crno berenda govedo imalo po 10 potomaka, a 24 % imalo je više od 50 potomaka. U populaciji pasmine obojeno berenda govedo, 22 % rasplodnjaka imalo je manje od 10 potomaka, a 25 % imalo je više od 50 potomaka. Tako je primjerice u radu CAROLINO i sur. (2020.) zabilježeno kako je u pasmine mertolenga svega 2 % rasplodnjaka imalo više od 500 muških potomaka. Ova neravnoteža u broju potomaka po rasplodnjaku česta je pojava u lokalnih, izvornih populacija pasmina goveda što je zabilježeno i u istraživanju CAÑAS-ALVAREZ i sur. (2014.), ali i u visokoproduktivnih pasmina u kojih se primjenjuju planske metode uzgoja putem umjetnog osjemenjivanja, kao što je opisano u populacijama holštajn, normande (*Normande*) i montbeliard pasmina (DANCHIN-BURGE i sur., 2012.; ABLONDI i sur., 2022.).

Veliki broj životinja bez potomaka u ukupnoj (n=7251), odnosno referentnoj populaciji (n=3458) u ovom istraživanju može se objasniti selektivnim uzgojem odabranih rasplodnjaka i krava, odnosno uzgojnim praksama pojedinih uzgajivača. Kako je opisano u istraživanjima DOUBLET i sur. (2019.) te JACQUES i sur. (2023.), potpuni nedostatak ili smanjenje broja potomaka iz specifičnih linija rasplodnjaka ima značajan utjecaj na učinkovitost uzgoja putem smanjenja genetske varijabilnosti unutar populacije.

Rezultati ovog istraživanja također ukazuju kako je najviše potomaka zabilježeno u linijama rasplodnjaka LB3, LB4, LB5 i LB9, s time da se pojedine linije bikova (LB3) znatno više koriste u rasplodu. Međutim, značajno smanjenje odnosno gubitak genetske varijabilnosti unutar populacije moguć je i zbog toga što su bikovi označeni kao LB15 i LB16 te od LB20 do LB24 bili bez zabilježenih potomaka te su potencijalni rodozačetnici izlučeni iz uzgoja. Stoga, iako je sistematizacija uzgoja imala za cilj planski pripust rasplodnjaka svih linija za očuvanje pasmine, moguće je da su pojedini rasplodnjaci rjeđe korišteni ili čak izlučeni iz uzgoja zbog nedostatka fenotipskih pokazatelja vanjskih obilježja, loših uvjeta držanja i zdravstvenog stanja, a prema potrebama uzgajivača s obzirom na uzgojne ciljeve te prilagodbe uzgojnom programu (JACQUES i sur., 2023.).

Rezultati ovog istraživanja ukazuju da je prosječan broj muških potomaka koji budu odabrani za rasplod bio 10 % umatičenih muških životinja, što ukazuje na značajan intenzitet selekcije. Slični rezultati utvrđeni u ovom istraživanju pronađeni su u populacijama izvornih

španjolskih pasmina (CAÑAS-ALVAREZ i sur., 2014.) te u talijanske izvorne pasmine goveda maremana (*Maremana*), u kojih je uz pretpostavku omjera spolova 1:1, intenzitet selekcije bio 10 % (FIORETTI i sur., 2020.). Nadalje, od ukupnog broja oteljenih i umatičenih ženskih životinja približno 80 % odabrano je za rasplod, što je značajno više u odnosu na rezultate utvrđene u pasmine maremana, u kojih prosječno 55 % krava bude odabrano za rasplod (FIORETTI i sur. 2020.).

Sagledavajući geografsku rasprostranjenost izvorne pasmine goveda buša u Republici Hrvatskoj rezultati ukazuju da postoji značajna razlika u zastupljenosti životinja s obzirom na regije. Podaci o geografskoj rasprostranjenosti rasplodnjaka i rasplodnih krava pružaju uvid u bazu genetskog materijala neke populacije na određenom uzgojnom području. Naime, negenetski čimbenik poput geografske rasprostranjenosti može imati utjecaj na genetsku varijabilnost zbog promjena orografskih i klimatskih uvjeta. Povećanje ili smanjenje atmosferskih oborina kao i povećanje temperature zraka te smanjenje zelenih površina odnosno dostupnosti prirodnih resursa, utječu na proizvodnju životinja (ROJAS-DOWNING i sur., 2017.; WANJALA i sur., 2023.). Sposobnost prilagodbe neke pasmine na promjene u negenetskim čimbenicima može rezultirati evolucijskim događajima poput uskog grla, genskog pomaka te migracija koje mogu imati za posljedicu smanjenje genetske raznolikosti (KLINGENBERG, 2019.). SENCZUK i sur. (2020.) istraživali su u 26 talijanskih izvornih pasmina goveda utjecaj geografske rasprostranjenosti i klimatskih uvjeta na genetsku raznolikost. Isti autori navode kako su geografska dužina i širina, kao obilježje područja uzgoja pojedine pasmine imale značajan utjecaj na genetsku raznolikost u krava, a navedeno objašnjavaju biološkim i proizvodnim specifičnostima ove vrste. Klimatski uvjeti imali su manji utjecaj na genetsku raznolikost te je navedeno bilo rezultat interakcije negenetskih čimbenika i utjecaja čovjeka.

6.2. Genetska varijabilnost

Rezultati indeksa kompletnosti rodovnika promatrani su kroz devet generacija, koliko je i iznosio najveći broj poznatih predaka. Broj svih poznatih generacija u ovom istraživanju bio je viši u odnosu na vrijednosti zabilježene u populacijama nekoliko izvornih španjolskih pasmina (GUTIÉRREZ i sur., 2003.; CAÑAS-ÁLVAREZ i sur., 2014.; CORTÉS i sur., 2014.), ali manji u odnosu na pasmine šarole i limuzin u kojih je kompletnost rodovnika bila viša od 15 generacija poznatih predaka (BOUQUET i sur., 2011.). Visoki udio kompletnosti rodovnika zabilježen je u posljednjoj roditeljskoj generaciji te je iznosio 97,08 % u ukupnoj populaciji,

dok je u referentnoj populaciji iznosio 99,05 %. U radu ČAČIĆ i sur. (2012.c) kompletnost rodovnika u posljednjoj roditeljskoj generaciji u ukupnoj populaciji pasmine buša bila je manja u odnosu na rezultate utvrđene u ovom istraživanju. Udio poznatih predaka bio je veći u posljednjim generacijama u odnosu na početak vođenja registra pasmine. Navedeno se može objasniti povećanjem broja životinja u populaciji uslijed reproduktivne aktivnosti, ali i sistematiziranim upisivanjem podataka o životinjama u rodovnik. Očekivano, udio poznatih predaka postupno se smanjivao u ukupnoj i referentnoj populaciji s povećanjem dubine rodovnika, na što upućuju vrijednosti kompletnosti rodovnika niže od 70, 50 i 20 % u trećoj, četvrtoj i petoj generaciji. Prema BOICHARD i sur. (1997.) s povećanjem dubine smanjuje se i kompletnost rodovnika. Ukoliko je u rodovniku 10 % nepoznatih podataka o predcima, procijenjena vrijednost uzgoja u srodstvu ne odražava stvarnu vrijednost ovog pokazatelja u populaciji.

U istraživanju strukture populacije i genetske varijabilnosti, posebno u malim populacijama u kojih su podaci u rodovniku nedostadni, potrebno je kompletnost rodovnika, koeficijent uzgoja u srodstvu i efektivnu veličinu populacije procijeniti u različitim tipovima generacija. Na taj način dobiva se uvid u broj poznatih generacija, broj potpunih generacija i broj ekvivalentnih potpunih generacija (GUTIÉRREZ i GOYACHE, 2005.). Najbolji pokazatelj informativnosti i kompletnosti rodovnika je prosječan broj ekvivalentnih potpunih generacija. Što je veći prosječan broj ekvivalentnih potpunih generacija, to su rodovnici detaljniji i kvalitetniji u smislu pružanja podataka o predcima u generacijama unatrag, a što je ključno za razumijevanje genetske strukture populacije (ABLONDI i sur., 2018.).

Vrijednosti broja svih poznatih, potpunih i ekvivalentnih potpunih generacija u ovom istraživanju iznosile su 4,62, 2,07 i 2,92, redom. U istraživanju ČAČIĆ i sur. (2012.b) vrijednosti ovih pokazatelja bile su 1,62, 0,78 i 1,12. S obzirom na nisku vrijednost prosječnog broja ekvivalentnih potpunih generacija, informativnost rodovnika pasmine buša do 2012. godine bila je slaba, odnosno nepotpuna te nedovoljno informativna za stvarnu procjenu pokazatelja uzgoja u srodstvu, srodnosti jedinki i efektivne veličine populacije (ČAČIĆ i sur., 2012.b).

Prosječan broj ekvivalentnih potpunih generacija u pasmine istarsko govedo iznosio je 2,99 (IVANKOVIĆ i sur., 2016.), što je slično rezultatima ovog istraživanja. Vrijednost prosječnog broja ekvivalentnih potpunih generacija bila je manja u pasmine buša u odnosu na vrijednosti utvrđene u španjolske izvorne pasmine goveda lidija (4,2) CORTÉS i sur. (2014.) kao i u skupini španjolskih izvornih pasmina (4,5 i 5,00), kako je opisano u GARCÍA -

ATANCE i sur. (2023.). Međutim, broj ekvivalentnih potpunih generacija utvrđen u pasmine buša bio je veći u odnosu na pasminu goveda bruna del pirineus (1,00) (CAÑAS-ÁLVAREZ i sur., 2014.). Značajno više vrijednosti zabilježene su u pasmine šarole u Francuskoj, u koje je vrijednost prosječnog broja ekvivalentnih potpunih generacija iznosila 9,3, dok je u pasmine šarole u Švedskoj bila 8,3 (BOUQUET i sur., 2011.). Isti autori navode za pasminu limuzin vrijednost prosječnog broja ekvivalentnih potpunih generacija od 6,5, dok su u pasmine šarole zabilježene prosječne vrijednosti od 7,5. Visoka vrijednost kompletnosti rodovnika izračunata prema broju ekvivalentnih potpunih generacija ustanovljena je u pasmine holštajn te je iznosila 10,67 (ABLONDI i sur., 2022.). S obzirom na utvrđenu vrijednost broja ekvivalentnih potpunih generacija, informativnost i kompletnost rodovnika i dalje se smatra niskom. Niže vrijednosti broja ekvivalentnih potpunih generacija zabilježene u ovom istraživanju ukazuju na malu veličinu populacije pasmine buša te nepostojanje podataka o predcima u početku osnivanja registra i umatičenja životinja. Prema LEROY i sur. (2013.) navedeno implicira važnost pri procjeni i interpretaciji rezultata uzgoja u srodstvu, srodnosti jedinki u populaciji te procjeni efektivne veličine populacije.

U ovom istraživanju uočen je manji broj osnivača u ukupnoj populaciji (396) u usporedbi s referentnom populacijom (222). Navedeno ukazuje na smanjenje genetske varijabilnosti u referentnoj u odnosu na ukupnu populaciju. Nadalje, zabilježena je vrijednost pokazatelja omjera između efektivnog broja osnivača i broja osnivača (fe/f) te je uočena značajna razlika između ukupne (0,09) i referentne populacije (0,18). Točnije, vrijednost fe/f sugerira da je samo 9 % početne genetske varijabilnosti osnivača zadržano kroz generacije. Utvrđene vrijednosti ukazuju na neravnotežu doprinosa osnivača trenutnoj populaciji. Na temelju navedenog, može se pretpostaviti da je populacija izvorne pasmine buša doživjela određeni gubitak genetske varijabilnosti, a vjerojatno kao posljedica učestalog korištenja određenih rasplodnih životinja u populaciji i činjenice da značajan broj osnivača nije imao potomke u narednim generacijama, unatoč sistematizacije uzgoja. U istraživanju ČAČIĆ i sur. (2012.d) omjer između efektivnog broja osnivača i značajnih predaka (fe/fa) u referentnoj populaciji iznosio je 1,04 te su autori istaknuli kako nije bilo pojave učinka uskog grla. Usko grlo se obično smatra prisutnim kada je vrijednost odnosa fe/fa manja od 1, dok omjer fe/fa koji je približno 1 pridonosi očuvanju genetske varijabilnosti u populaciji. U ovom istraživanju, omjer fe/fa iznosio je 1,15 u ukupnoj i 1,14 u referentnoj populaciji, što ukazuje na odsutnost učinka uskog grla. Nešto manje vrijednosti zabilježene su u pasmine istarsko govedo (1,03), što ukazuje da također nije bilo očitog populacijskog uskog grla (IVANKOVIĆ i sur., 2022.). Isti autori ove vrijednosti

objasnili su posljedicom češće prisutnosti prirodnog načina pripusta u odnosu na umjetno osjemenjivanje koje se učestalo koristi u uzgojima. Suprotno tome, NYMAN i sur. (2022.) su u pasmine norveško crveno govedo (*Norwegian Red cattle*) utvrdili veću vrijednost efektivnog broja osnivača u odnosu na efektivan broj predaka (u rasponu od 1,16 do 3,35), a time i značajan učinak uskog grla u ovim populacijama. Isti autori pojavnost uskog grla objašnjavaju relativno manjim brojem životinja dostupnim prilikom osnivanja ovih populacija.

Omjer efektivnog broja značajnih predaka i osnivača (fa/fe) u ovom istraživanju bio je manji od 1, što implicira da je broj značajnih predaka manji od broja osnivača. U ukupnoj populaciji, omjer fa/fe iznosio je 0,86, dok je u referentnoj populaciji iznosio 0,87. Idealan odnos bio bi 1:1, odnosno fa bi trebao biti manji ili jednak fe . Vrijednosti zabilježene promatrajući omjer efektivnog broja osnivača i značajnih predaka u pasmine buša pokazuju sličnosti s ostalim populacijama izvornih pasmina avilena negra iberika (1,15) i moruha (1,24) (CAÑAS-ALVÁREZ i sur., 2014.) te pasmine mertolenga (1,48), (CAROLINO i sur., 2020.). Iako se obično smatra da se događaj poput uskog grla pojavljuje u malim i ugroženim populacijama, istraživanja su pokazala da se ono može pojaviti i u populacijama plemenitih pasmina kao što su šarole i limuzin, što potvrđuje vrijednost fe/fa viša od 2,5, a objašnjava se kontinuiranim uzgojno-seleksijskim radom (DE REZENDE i sur., 2020.). Prema FRANKHAM i sur. (2002.) niža vrijednost efektivnog broja predaka u odnosu na efektivan broj osnivača dovodi do smanjenja genetske raznolikosti, a pojavljuje se kao posljedica prošlih populacijskih uskih grla.

Visoke vrijednosti efektivnog broja genoma osnivača ukazuju na očuvanje genetske raznolikosti i stabilnost populacije, dok niske vrijednosti mogu ukazivati na rizik od gubitka genetske varijabilnosti i uzgoja u srodstvu u populaciji zbog neravnoteže u zastupljenosti genoma ili uslijed gubitka pojedinih osnivača tijekom vremena (BOSSE i VAN LOON, 2022.). U ovom istraživanju vrijednost efektivnog broja genoma osnivača (fg) u referentnoj populaciji iznosila je 26,94. Ova vrijednost ukazuje da od 40 osnivača u referentnoj populaciji, u slučaju da svi imaju jednaki doprinos i kada ne bi bilo gubitka alela, njih 26,94 % imalo bi doprinos trenutnoj genetskoj varijabilnosti u populaciji. Također, u ovom istraživanju utvrđene su vrijednosti omjera efektivnog broja genoma osnivača i efektivnog broja osnivača (fg/fe) od 0,74 u ukupnoj te 0,67 u referentnoj populaciji. Ovi rezultati ukazuju na pojavu genskog pomaka u pasmine buša u istraživanom razdoblju. Naime, ČAČIĆ i sur. (2012.d) zabilježili su omjer fg/fe koji je bio 0,85 i ukazivao na blagi učinak genskog pomaka. Niže vrijednosti ovog pokazatelja zabilježene su u istraživanju CORTÉS i sur. (2014.) u pasmine lidija koju čini 30 različitih

uzgojnih linija. U ovim populacijama omjer fg/fe bio je u rasponu od 0,15 do 0,54, što ukazuje na značajan učinak genskog pomaka. Također, isti autori navode da je s obzirom na zabilježene vrijednosti efektivnog broja osnivača, predaka i genoma osnivača, pojavnost genskog pomaka zbog male efektivne veličine populacije unutar istraživanih linija imala veći utjecaj na smanjenje genetske raznolikosti u odnosu na populacijsko usko grlo. Prema STAR i SPENCER (2013.) genski pomak u populacijama s malim brojem životinja brže rezultira promjenama u učestalosti alela što ima za posljedicu značajno smanjenje genetske varijabilnosti. Naime, pokazatelji vjerojatnosti porijekla gena korisni su za analizu strukture populacije i genetske varijabilnosti kada je poznat mali broj generacija predaka, dok su uzgoj u srodstvu i efektivna veličina populacije korisniji promatrajući duže vremensko razdoblje, posebno kada su dostupne informacije o većem broju generacija predaka.

Sagledavajući razdoblje od 2011. godine, rezultati prosječnog koeficijenta uzgoja u srodstvu zabilježeni u ovom istraživanju u ukupnoj (2,44 %) i referentnoj populaciji (2,14 %) ukazuju na povećanje vrijednosti, bez obzira na povećanje broja životinja, što se može objasniti parenjem između srodnih životinja. Naime, ČAČIĆ i sur. (2012.c) ustanovili su da je prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu u ukupnoj populaciji pasmine buša bio 1,27 % s maksimalnom vrijednošću do 37,5 %. Povećanje broja srodnih životinja može se objasniti učestalim korištenjem pojedinih rasplodnjaka i krava što ima za posljedicu veći genetski doprinos njihovih potomaka u sljedećim generacijama, što je u suglasju s pretpostavkama iz prethodnih istraživanja (ČAČIĆ i sur., 2012c.) te s rezultatima istraživanja u pasmine maremana (FIORETTI i sur., 2020.). Prema CORTÉS i sur. (2014.) visoke vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu u populaciji mogu biti i posljedica smanjenog efektivnog broja reproduktivno aktivnih životinja te reproduktivne izolacije među jedinkama. Kao posljedica reproduktivne izolacije nastaju genetski različiti klasteri životinja i najčešće se smanjuje protok gena između subpopulacija (SOBEL i CHEN, 2014.). Uslijed smanjenog broja životinja unutar svake od subpopulacija, posebno u izvornih pasmina, s vremenom se parenjem srodnih životinja drastično povećava uzgoj u srodstvu što utječe na sposobnost prilagodbe kao i reproduktivnu učinkovitost u životinja. Razina razmjene gena u konačnici određuje koliko se određena populacija može evolucijski razvijati, a u kontekstu izvornih pasmina utječe na njihovu održivost i dugoročno očuvanje (KRISTENSEN i sur., 2015.).

Vrijednosti prosječnog koeficijenta uzgoja u srodstvu bile su više u pasmina goveda iz regije Toskana, poput pasmine pisana (7,25 %), kalvana (5,10 %), pontremoleze (3,64 %) u odnosu na pasminu buša, dok su vrijednosti u pasmina sardinijska smeđa (1,23 %), sardinijska

modikana (1,6 %) i sarda (1,9 %) bile sličnije rezultatima ovog istraživanja (FABBRI i sur., 2019.). U talijanske izvorne pasmine goveda maremana prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio je 4,9 % (BISCARINI i sur., 2020.). Prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu u referentnoj populaciji pasmine istarsko govedo iznosio je 3,14 %, varirajući od minimalnih 1,41 % u 2002. godini do maksimalnih 3,19 % u 2018. godini (IVANKOVIĆ i sur., 2022.). U pasmine holštajn prosječan koeficijent uzgoja u srodstvu iznosio je 7,00 % (ABLONDI i sur., 2022.), dok su HINRICHS i sur. (2015.) utvrdili nešto manje vrijednosti također u pasmine holštajn (3,25 %).

U ovom istraživanju zabilježen je visok udio životinja (59,0 %) s koeficijentom uzgoja u srodstvu jednakom nula, dok je 4,98 % životinja imalo vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu više od 12,5 %. U radu CAROLINO i sur. (2020.) u pasmine mertolenga 85,0 % životinja imalo je koeficijent uzgoja u srodstvu veći od nula. Iako se vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu jednake nuli smatraju poželjnim rezultatom u istraživanju, njihova interpretacija ovisi o tome u kojoj mjeri su poznati pretci u rodovniku. Ukoliko su podaci o podrijetlu predaka nedostatni, to rezultira niskom vrijednošću broja ekvivalentnih potpunih generacija, a niska vrijednost ovog pokazatelja ograničava mogućnost precizne procjene stvarne vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu (VILLANUEVA i sur., 2021.). Nekoliko istraživanja predstavilo je strategije za kontrolu i minimiziranje učinaka uzgoja u srodstvu u programima očuvanja, od kojih neke uključuju povećanje genetskih doprinosa značajnih predaka sa smanjenjem odabira srodnih jedinki u preklapajućim generacijama i ograničenje korištenja rasplodnih jedinki prema dobnim granicama (SONNESSON i sur., 2001.; SANTANA i sur., 2016.). Također, planski pripust parenja s ciljem očuvanja genetske varijabilnosti trebao bi se provoditi uz istovremeni naglasak na očuvanju poželjnih karakteristika izvornih pasmina goveda, kako navode BISCARINI i sur. (2015.).

Prosječan koeficijent srodnosti (AR) u istraživanoj populaciji izvorne pasmine goveda buša u ukupnoj populaciji iznosio je 3,55 %, dok je u referentnoj populaciji bio nešto veći (3,61 %), a u rasplodnoj populaciji iznosio je 3,38 %. U pasmine istarsko govedo utvrđena je viša vrijednost prosječnog koeficijenta srodnosti i iznosila je 4,0 %, a u rasponu od 3,31 do 4,27 % (IVANKOVIĆ i sur., 2022.). Također, više vrijednosti zabilježene su u pasmine ređana (*Reggiana*) (5,7 %), dok su u pasmine modenese (*Modenese*) zabilježene slične vrijednosti kao i u ovom istraživanju (3,00 %) (SCHIAVO i sur., 2022.). Značajno manje vrijednosti ustanovili su KADLEČÍK i sur. (2013.) u pasmine slovačko pjegavo govedo (0,9 %) i pincgavske pasmine (0,74 %). Naime, očuvanje genetske varijabilnosti unutar populacije postiže se kada svaki

roditelj doprinosi budućim generacijama s barem jednim potomkom. Optimalno, ti bi potomci također trebali imati potomstvo u sljedećim generacijama što omogućuje da genetska raznolikost ostane visoka, osobito u slučajevima slučajnog parenja bez prisutnosti selekcijskog pritiska (WANG i sur., 2016.). Međutim, navedeno predstavlja više teorijsku pretpostavku da sve životinje u stvarnoj populaciji imaju jednak doprinos u idućim generacijama. Manji broj rasplodnih životinja korištenih u reprodukciji, uz istovremeni porast broja potomaka značajno utječe na dinamiku, uzrokujući povećanje vrijednosti koeficijenta uzgoja u srodstvu i smanjenje efektivne veličine populacije, kako su na primjeru pasmine crveno poljsko govedo opisali JARNECKA i sur. (2021.).

Efektivna veličina populacije (N_e) iznosila je 131,25 prema broju svih poznatih generacija, zatim 74,24 prema broju potpunih generacija, dok je prema broju ekvivalentnih potpunih generacija iznosila 74,96. Vrijednosti efektivne veličine populacije bile su više u pasmine buša u odnosu na dvije španjolske izvorne pasmine: crno berenda govedo, u koje je prema broju ekvivalentnih potpunih generacija N_e iznosila 12,44, dok je u pasmine obojeno berenda govedo iznosila 16,62 (GONZÁLEZ-CANO i sur., 2022.). GARCÍA-ATANCE i sur. (2023.) utvrdili su značajno niže vrijednosti u španjolskih izvornih pasmina kačena, vianeza, kaldela, limija i frierejša, u kojih su vrijednosti N_e bile kako slijedi: 45, 48, 46, 40 i 37. Vrijednost efektivne veličine populacije izračunata na temelju individualnog porasta uzgoja u srodstvu u izvorne pasmine goveda buša iznosila je 60,36, dok je u radu CAROLINO i sur. (2020.) u pasmine mertolenga iznosila 41,69. U pasmine istarsko govedo vrijednost efektivne veličine populacije bila je znatno viša i iznosila je 91,92 (IVANKOVIĆ i sur., 2022.). Suprotno tome, u istraživanju FABBRI i sur. (2019.) vrijednosti efektivne veličine populacije bile su značajno više u plemenitim pasmina blond akiten ($N_e = 468$), šarole ($N_e = 153$) i limuzin ($N_e = 429$). Isti autori zabilježili su manje vrijednosti efektivne veličine populacije u talijanskih izvornih pasmina goveda, kako slijedi: kalvana (19,68), pisana ($N_e = 18,52$), pontremoleze ($N_e = 14,62$), sarda ($N_e = 16,64$), smeđa sardinijska ($N_e = 18,91$) i sardinijska modikana ($N_e = 39,79$). MORAVČIKOVÁ i sur. (2017.) zabilježili su u pasmine slovačko pjegavo govedo manju vrijednost efektivne veličine populacije u odnosu na pasminu buša, koja je iznosila 30,29. Prema MEUWISSEN (2009.) održavanje efektivne veličine populacije na ili iznad vrijednosti 50 do 100 predstavlja temeljni kriterij u očuvanju pasmina. Međutim, istraživanja pokazuju kako je u većine populacija izvornih pasmina goveda vrijednost efektivne veličine populacije uglavnom manja od 50, dok u plemenitim pasmina u nekim slučajevima iznosi i više od 500, što odražava značajnu razliku u brojnosti i genetskoj varijabilnosti između različitih populacija

goveda (FRANKHAM i sur., 2014.). Također, WANG i sur. (2016.) navode da vrijednost efektivne veličine populacije ukazuje na promjene poput genskog pomaka te omogućava planiranje strategija za održanje prihvatljive vrijednosti zbog dugoročnog očuvanja populacije.

U ovom istraživanju prosječna vrijednost generacijskog intervala je iznosila 5,80 godina u ukupnoj populaciji, dok je u referentnoj populaciji iznosila 5,78 godina. Navedeno ukazuje na smanjenje vrijednosti u odnosu na prethodno istraživanje, u kojem je u ukupnoj populaciji vrijednost generacijskog intervala iznosila 6,06, a u referentnoj populaciji 5,86 godina (ČAČIĆ i sur., 2012c.). Sagledavajući trajanje generacijskog intervala između rodbinske veze majke i potomstva, ono je bilo duže u odnosu na vezu između oca i potomstva. Slični rezultati zabilježeni su u istraživanju talijanskih izvornih pasmina kalvana, pisana, pontremoleze i sarda, ali i u pasmina šarole i limuzin (FABBRI i sur., 2019.). Nadalje, nešto duži generacijski intervali od približno dvije godine zabilježeni su između majke i potomstva u odnosu oca s potomstvom u šest španjolskih izvornih pasmina goveda, kako je opisano u radu GARCÍA-ATANCE i sur. (2023.). Dulji generacijski interval u krava utvrđen u većine populacija izvornih pasmina goveda moguće je posljedica uzgojnih praksi pri čemu se krave pripuštaju u kasnijoj dobi, odnosno obilježja kasnozrelosti, ali i dužeg životnog vijeka u stadima te zadržavanja u rasplodu više od 10 godina. Više vrijednosti generacijskog intervala mogu biti i rezultat pristranosti uzgajivača u korist rasplodne uporabe određenih životinja. Manja vrijednost generacijskog intervala u rodbinskoj vezi otac-sin nego u vezi majka-kćer može značiti raniju zamjenu bikova njihovim muškim potomcima u rasplodu, u odnosu na žensku populaciju životinja. Prema CAROLINO i sur. (2020.) dugovječnost se smatra poželjnom karakteristikom izvornih pasmina goveda, no ona zbog dužeg zadržavanja rasplodnih životinja u uzgoju može imati negativan utjecaj na genetski napredak.

6.3. Genska varijabilnost jednonukleotidnih polimorfizama LEP, LEPR i NPY gena

6.3.1 Jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptin (LEP)

Analizirajući odsječak LEP gena u intronskoj regiji 1 utvrđena su dva SNP-a, LEP02 (rs29004484) i LEP04 (rs29004485). U istraživanoj populaciji pasmine buša za SNP LEP02 utvrđena su dva genotipa, heterozigotni CT i homozigotni CC s učestalošću od 0,617 odnosno 0,383. Za SNP LEP04 zabilježena su dva genotipa, heterozigotni genotip CG i homozigotni genotip GG. Učestalost alela G bila je viša i iznosila je 0,691. Učestalost alela C iznosila je 0,691, a T alela 0,309. Prema HARUNA i sur. (2020.) istraživanje provedeno u sklopu NextGen Consortium (2020.) u NCBI bazi (pristupni broj NC_037331.1:g.92448883T>C; ARS-UCD1.3) zabilježilo je slične vrijednosti učestalosti alela T i C od 0,69 i 0,31 za navedeni SNP. FONTANESI i sur. (2014.) zabilježili su SNP LEP04 u bikova pasmine holštajn s većom učestalošću G alela (0,585). Također, isti autori zabilježili su da je u kćeri potomkinja analiziranih bikova s prisutnim alelom bila značajno viša proizvodnja mlijeka te su uočili povezanost SNP-a LEP04 s količinom masti, bjelančevina i brojem somatskih stanica u mlijeku ($P < 0,001$). Viša učestalost alela G SNP-a LEP04 zabilježena je u bikova simentalke pasmine te je iznosila 0,740, kako navode CHESSA i sur. (2015.). Isti autori utvrdili su povezanost SNP-a LEP04 s ocjenama konformacije nogu i papaka u krava kćeri potomaka analiziranih bikova ($P < 0,05$).

U egzonskoj regiji 2 LEP gena ustanovljena su dva SNP-a, LEP05 (rs29004487) i LEP06 (rs29004488). Za SNP LEP05 u ovom istraživanju utvrđena su samo dva genotipa (heterozigot AT i homozigot TT). Učestalost heterozigotnog genotipa AT bila je viša te je iznosila 0,923. Suprotno rezultatima ovog istraživanja, KOMISAREK (2010.) u populaciji krava pasmine holštajn nisu zabilježili homozigotni genotip TT, a učestalost alela T bila je 0,02. U istraživanjima BANOS i sur. (2008.) te CLEMPSON i sur. (2011.) u pasmine holštajn također nije zabilježen homozigotni genotip TT. KAWAGUCHI i sur. (2017.) istraživali su SNP LEP05 u dvije populacije pasmine japanskog crnog goveda, pri čemu su zabilježili sva tri genotipa (AA, AT, TT). Međutim, učestalost homozigotnog genotipa TT bila je 0,02 te je ustanovljen u samo jednoj od dvije istraživane populacije. Učestalost homozigotnog genotipa AA bila je 0,97 i 0,79 u odnosu na heterozigotni genotip AT, dok je učestalost alela A iznosila 0,89 u obje populacije.

Također samo dva genotipa (CC i CT) za SNP LEP06 utvrđena su u ovom istraživanju u genotipiziranih jedinki. Učestalost alela C bila je viša u odnosu na T alel i iznosila je 0,695.

Suprotno tome, LIEFERS i sur. (2003.) utvrdili su za SNP LEP06 u pasmine holštajn sva tri genotipa s učestalošću od 0,46 (CC), 0,42 (CT) i 0,12 (TT). Nadalje, CHEBEL i sur. (2008.) zabilježili su za SNP LEP06 učestalost genotipova CC, CT i TT, kako slijedi: 0,36, 0,47 i 0,17. FONTANESI i sur. (2014.) te CHESSA i sur. (2015.) ustanovili su SNP LEP06 u bikova simentalke pasmine, odnosno bikova pasmine holštajn u kojih je zabilježena viša učestalost alela C (0,760 i 0,585). KAWAGUCHI i sur. (2017.) istraživali su SNP LEP06 u dvije populacije pasmine japanskog crnog goveda, a u obje populacije ustanovili su sva tri genotipa (CC, CT i TT) s učestalošću od 0,70, 0,28 i 0,02 te 0,48, 0,44 i 0,08. Međutim, homozigotni genotip TT bio je vrlo rijedak u obje populacije (0,02 i 0,08), dok su zabilježene učestalosti alela C bile 0,84 odnosno 0,70. FERNANDES i sur. (2020.) istraživali su u junica pasmine nelore (*Nellore*) SNP LEP06, pri čemu su utvrdili veću učestalost alela C (0,82) u odnosu na alel T (0,18), s utvrđena tri genotipa (CC, CT i TT), s tim da je homozigotni genotip TT zabilježen u svega 4 % životinja u istraživanoj pasmini.

Utvrđeni SNP LEP11 (rs382104217) koji se nalazi u intronskoj regiji 2 LEP gena, potvrđen je do sada u sklopu NextGen Consortium (2020.) u NCBI bazi (pristupni broj NC_037331.1:g.92448883T>C; ARS-UCD1.3).

Analizirajući egzonsku regiju 3 LEP gena, utvrđeno je sedam SNP-ova: LEP15 (rs29004508), LEP16 (rs29004509), LEP17 (rs29004510), LEP18 (rs29004511), LEP19 (rs518320795) i LEP20 (rs29004512). U istraživanoj populaciji izvorne pasmine goveda buša za SNP LEP15 utvrđeni su heterozigotni genotip (0,745) i homozigotni genotip TT (0,255). Viša učestalost utvrđena je za alel T i iznosila je 0,627. SNP LEP15 istraživan je u populaciji pasmine buša i njenih križanaca u radu MALETIĆ i sur. (2019.), međutim zabilježena je prisutnost samo homozigotnog genotipa CC). Isti autori istraživali su prisutnost SNP-a SAU3AI koji je smješten u intronskoj regiji 2 LEP gena u pasmine buša i njenih križanaca. Za navedeni SNP zabilježili su dva genotipa (AA i AB), pri čemu je učestalost homozigotnog genotipa AA (0,7826) bila značajno viša od heterozigotnog genotipa AB (0,2174). SNP SAU3AI nalazi se u intronskoj regiji 2 LEP gena koja je bila obuhvaćena sekvenciranjem, međutim nije zabilježen u populaciji izvorne pasmine goveda buša u ovom istraživanju. Također, MALETIĆ i sur. (2019.) su za SNP-ove rs29004508 i SAU3AI uočili smanjenje heterozigotnosti, što može ukazivati na gubitak genetske varijabilnosti u populaciji zbog odabira često istih rasplodnih životinja kao i mogućeg gubitka ili fiksacije alela.

KOMISAREK i DORNYEK (2007.) ustanovili su za SNP LEP15 u pasmine džerzej sva tri genotipa, s učestalošću alela C od 0,67 i alela T od 0,33. Također, u radu LIEFERS i sur.

(2003.) u pasmine holštajn zabilježena su sva tri genotipa, kako slijedi: homozigotni genotip CC (0,58), heterozigotni genotip (0,34) i homozigotni genotip TT (0,08). Slični rezultati pronađeni su pasmine džerzej s većom učestalošću alela C (0,70) i učestalošću genotipova CC (0,52), CT (0,40) i TT (0,08) (KULIG i sur., 2009.). ÖZTABAK i sur. (2010.) istraživali su SNP LEP15 u tri turske izvorne pasmine goveda, a to su južnoanatolijsko crveno i istočnoanatolijsko crveno govedo te tursko sivo govedo, pri čemu su zabilježili sva tri genotipa (CC, CT, TT) s većom učestalošću T alela (0,58, 0,51 i 0,45) u istraživanim populacijama. CLEMPSON i sur. (2011.) zabilježili su tri genotipa SNP-a LEP15, s učestalošću od 0,61 (CC), 0,33 (CT) i 0,06 (TT). Nadalje, slični rezultati s obzirom na učestalost genotipova SNP-a LEP15 pronađeni su u pasmine nelore u kojoj su zabilježena dva genotipa, heterozigotni s učestalošću od 0,30 i homozigotni genotip TT s učestalošću od 0,70. U dvije populacije pasmine japansko crno govedo, KAWAGUCHI i sur. (2017.) ustanovili su sva tri genotipa SNP-a LEP15, s većom učestalošću C alela (0,87 i 0,96) u odnosu na T alel (0,13 i 0,04).

DE MATTEIS i sur. (2012.) analizirali su u pasmine holštajn odsječak LEP gena, duljine ukupno 2,6 kb, pri čemu su otkrili 26 SNP-ova. Od toga su se 24 SNP-a nalazila u promotorskoj regiji LEP gena, a 2 SNP-a nalazila su se u egzonskim regijama 2 i 3, pri čemu su to bili SNP-ovi LEP06 i LEP15.

Zabilježeni SNP-ovi LEP16, LEP17, LEP18, LEP19 i LEP20 u dosadašnjoj literaturi utvrđeni su u populacijama mesnih pasmina u radu HARUNA i sur. (2020.) te DAR i sur. (2021.) u populaciji pasmine karan-frizijsko govedo (*Karan Fries*).

Analiza genske varijabilnosti SNP-ova obuhvaćenih ovim istraživanjem ukazala je na smanjenje heterozigotnosti, kao i odstupanje od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže. Manja učestalost genotipova ili alela za pojedine SNP-ove u istraživane pasmine buša može se pripisati genskom pomaku koji nastaje zbog slučajnih promjena koje nisu povezane s prirodnom selekcijom. Naime, u malim populacijama najčešće se u rasplodu koristi manji broj životinja što značajno utječe na to koji aleli će biti prisutni u sljedećim generacijama. Dakle, u manjoj populaciji, genski pomak može biti vrlo izražen jer promjene u broju potomaka mogu značajno promijeniti učestalost alela. Također, genski pomak može dovesti do gubitka genetske varijacije unutar populacije, jer određeni aleli mogu postati rijetki ili čak potpuno nestati zbog slučajnih događaja, no neki aleli mogu postati fiksni, odnosno prisutni u svih životinja u populaciji. Genski pomak najčešće može biti primjetan u ukoliko je populacija bila izložena populacijskom „uskom grlu“ ili značajnom utjecaju osnivača (engl. *founder effect*) u kojem se genetski materijal manjeg broja osnivača prenosi na sljedeće generacije. S obzirom na činjenicu da se u

izvorne pasmine goveda buša ne provodi izravna selekcija, potpuni izostanak pojedinih genotipova može biti rezultat genskog pomaka, najvjerojatnije uslijed manjeg broja životinja u populaciji, učestalog korištenja istih rasplodnih životinja te fiksacije određenih alela.

6.3.2 Jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptinski receptor (LEPR)

U egzonskoj regiji 19 LEPR gena, zabilježena su tri SNP-a LEPR04 (rs380826347), LEPR05 (rs384117860) i LEPR06 (rs133672995). Utvrđeni SNP LEPR06 (rs133672995) u istraživanoj populaciji izvorne pasmine goveda buša zabilježen je u 52 rasplodne krave. Zabilježena su tri genotipa, homozigotni CC, heterozigotni CT i homozigotni TT genotip, s učestalošću kako slijedi: 0,020, 0,807 i 0,173. Učestalost alela C bila je viša (0,577) u odnosu na alel T (0,423). Slično rezultatima ovog istraživanja u pincgavske pasmine za SNP LEPR06 uočena je viša učestalost heterozigotnog genotipa CT (0,565) u odnosu na homozigotne genotipove CC (0,071) i TT (0,364) (TRAKOVICKÁ i sur., 2013.). Učestalost alela C (0,67) bila je viša u odnosu na alel T (0,35). Nadalje, u radu NANA EI i sur. (2014.) u pasmine holštajn uočena su također sva tri genotipa s učestalošću genotipova od 0,40 (CC), 0,49 (CT) i 0,11 (TT). Isti autori zabilježili su veću učestalost alela C (0,65) u odnosu na alel T (0,35). Iz rezultata utvrđenih u ovom istraživanju uočljivo je da postoji sličnost u učestalosti genotipova i alela između pasmine buša i ostalih pasmina.

Suprotno tome, LIEFERS i sur. (2004.) su u pasmine holštajn za SNP LEPR06 ustanovili dva genotipa i to homozigotni genotip CC s izrazito visokom učestalošću od 0,929 te heterozigotni genotip (CT) čija je učestalost bila 0,071. Međutim, nisu ustanovili homozigotni genotip TT. Slične vrijednosti više učestalosti alela C i genotipa CC ustanovljene su u pasmina simentalaskog i pincgavskog goveda (TRAKOVICKÁ i sur., 2013.). Isti autori uočili su za SNP LEPR06 dva genotipa, homozigotni CC i heterozigotni genotip, s većom učestalošću homozigotnog genotipa CC u obje populacije (0,92 odnosno 0,82). Također, više vrijednosti opažene su u pasmine holštajn u koje su zabilježena sva tri genotipa (TT, TC, CC), međutim najviša učestalost zabilježena je za homozigotni genotip CC (0,84) (KOMISAREK, 2010.). Isti autori zabilježili su veću učestalost C alela (0,92), u odnosu na učestalost T alela (0,08). U pasmine nelore, utvrđena su sva tri genotipa s učestalošću od 0,73 (CC), 0,24 (CT) i 0,02 (TT) te je zabilježena viša učestalost alela C (0,85) od alela T (0,15) (FERNANDES i sur., 2020.).

DE MATTEIS i sur. (2012.) analizirali su u pasmine holštajn odsječak LEPR gena duljine 7,8 kb, koja je uključivala 5 primarnu neprevedenu regiju, cijelu kodirajuću egzonsku regiju obuhvaćajući i intronske regije te je zabilježeno ukupno 16 SNP-ova. Dvije nove mutacije otkrili su u 5 primarnoj neprevedenoj regiji, a osim toga nove mutacije zabilježili su i u egzonskim regijama 7, 8, 11, 12 i 18 te u intronskim regijama 15 i 17. Mutacije koje su otkrivene u dosadašnjim istraživanjima, a zabilježene su u radu DE MATTEIS i sur. (2012.)

bile su, kako slijedi: u egzonskoj regiji 2 SNP rs43347906, u intronskoj regiji 7 SNP rs43208611, u intronskoj regiji 8 SNP rs43208612, u egzonskoj regiji 10 SNP rs43349293, u egzonskoj regiji SNP rs43349279, u intronskoj regiji 16 SNP rs43349276.

6.3.3 Jednonukleotidni polimorfizmi gena za neuropeptid Y (NPY)

Analizirajući odsječke NPY gena, u 3 primarnoj neprevedenoj regiji egzona 4 utvrđen je SNP NPY02 (rs109487678). U intronskoj regiji 3 NPY gena zabilježena su tri SNP-a, NPY03 (rs209191991), NPY06 (rs448738497) i NPY12 (rs211641193). U egzonskoj regiji 2 NPY gena otkriveno je ukupno pet SNP-ova, a to su kako slijedi: NPY25 (rs469115949), NPY26 (rs1115152070), NPY 27 (rs522914554), NPY28 (rs110711537) i NPY29 (rs110630648).

SNP NPY02 u ovom istraživanju utvrđen je u dvije rasplodne krave koje su imale heterozigotni genotip AC. SNP-ovi NPY03 i NPY06 uočeni su u 15 rasplodnih krava te je za oba SNP-a ustanovljen heterozigotni genotip. SNP NPY12 uočen je u samo jedne rasplodne krave također s heterozigotnim genotipom. SNP NPY12 zabilježen je u 17 rasplodnih krava koje su imale homozigotni genotip TT. Za preostale SNP-ove utvrđene u egzonskoj regiji 2, u rasplodnih krava zabilježen je jedino heterozigotni genotip, a to su bili kako slijedi: za NPY26 GA (n=6), za NPY27 GC (n=3), za NPY28 GA (n=16) i za NPY29 GA (n=16).

U radu BAHAR i SWEENEY (2008.) utvrđeno je sedam SNP-ova u promotorskoj regiji koji utječu na vezanje transkripcijskih čimbenika NPY gena. SHERMAN i sur. (2008.) su za tri SNP-a smještenim u intronskoj regiji 2 ustanovili povezanost s tjelesnim rastom, učinkovitošću iskorištavanja hrane i svojstvima trupa. Ovi SNP-ovi bili su također povezani i s mramoriranošću mesa, prosječnim dnevnim prirastom i tjelesnom masom u goveda. SNP NPY1 bio je u značajnoj povezanosti s vjerojatnošću koncepcije unutar 100 dana nakon telenja u pasmine holštajn, ali i s trajanjem standardne laktacije kako navode CLEMPSON i sur. (2011.). ZHANG i sur. (2011.) su za SNP A32463C smješten u intronskoj regiji 2 i SNP C32302G smješten u 3 primarnoj neprevedenoj regiji ustanovili povezanost s morfološkim svojstvima poput dužine tijela i opsega prsa pasmine nanjang. Istraživanja u ljudi također ukazuju da su SNP-ovi NPY gena utječu na pretilost te da su u povezanosti s porođajnom tjelesnom masom, indeksom tjelesne mase, strukturom tjelesne masnoće i povećanjem koncentracije leptina (LE DUC i sur., 2021.).

6.4. Utjecaj koeficijenta uzgoja u srodstvu, jednonukleotidnih polimorfizama gena LEP, LEPR i NPY i negenetskih čimbenika na reproduksijske pokazatelje

6.4.1 Dob pri prvom telenju

U ovom istraživanju analizirana je dob pri prvom pripustu u rasplodnih krava izvorne pasmine goveda buša koja je bila između 14,6 i 24,3 mjeseca, sa značajnom varijabilnošću ovog pokazatelja ($KV = 48,0 \%$). Analiza vrijednosti fenotipskog pokazatelja dobi pri narednim pripustima također ukazuje na visoku varijabilnost te se većina junica bez obzirom na kasnozrelost, kao obilježje pasmine buša, pripušta ranije od pretpostavljenog, odnosno prije nego što navršše dob od 20 mjeseci. Također, uočene su razlike u dobi pri prvom pripustu s obzirom na godinu u uzgoju, pri čemu je iz rezultata uočljivo da se junice u recentnijim godinama pripuštaju ranije. Ovo se može pripisati povećanju broja ženskih životinja u populaciji te upravljanju reprodukcijom u stadima. Nadalje, ženska telad, junice i krave drže se zajedno s rasplodnjacima na pašnjacima, a najčešća posljedica takvog načina držanja jest što se oplođuju premlade i nedovoljno razvijene junice. Unatoč tome, postoje određene razlike u tjelesnoj masi koje junice moraju postići prije ulaska u pubertet te tako u tipičnih pasmina europskog podrijetla trebaju postići 60 % tjelesne mase odrasle jedinke prije ulaska u rasplod (PERRY, 2016.). Izrazito rani pripust junica ima za posljedicu nedovoljnu tjelesnu razvijenost, pogotovo ukoliko izostanu pravilna hranidba i njega životinje.

Nekoliko istraživanja opisuje da dob junice pri prvoj oplodnji utječe na daljnju reproduksijsku sposobnost. Prema PETRAITIENE i sur. (2020.) kćeri rasplodnih krava pripuštanih u ranijoj dobi mogu imati nedovoljno razvijene jajnike i ostale organe reproduktivnog sustava kao i više koncentracije FSH hormona, što ima utjecaj na plodnost. Nadalje, LÓPEZ-VALIENTE i sur. (2024.) ističu kako junice koje su fiziološki zrele u dobi u kojoj se prvi puta pripuštaju pokazuju bolju reproduksijsku sposobnost te duži proizvodni vijek. MCNEEL i sur. (2015.) te CUSHMAN i sur. (2018.) navode da su junice koje su bile fiziološki zrele u svojoj prvoj sezoni, imale veći broj antralnih folikula u kasnijim spolnim ciklusima. Prema CUSHMAN i sur. (2014.) najvažniji čimbenik koji utječe na broj antralnih folikula predstavlja hranidbeni status junice tijekom rane gravidnosti.

Dob pri prvom telenju predstavlja reproduksijski pokazatelj koji utječe na ukupnu produktivnost i profitabilnost, odnosno održivost rasplodnih junica i krava u stadima mliječnih (BERRY i sur., 2014.) i mesnih pasmina goveda (DAY i NOGUEIRA, 2013.). Prema TWOMEY i CROMIE (2023.) u sustavima uzgoja mesnih pasmina goveda smatra se poželjnim da se junice tele u dobi od 24 mjeseca. Razlike u dobi u kojoj se junice prvi puta pripuštaju

ovise o sustavima upravljanja, kakvoći i dostupnosti hrane te prilagodbi određene pasmine specifičnim negenetskim čimbenicima. Prije prvog pripusta i koncepcije junice trebaju biti spolno zrele s redovitim spolnim ciklusima te u skladu s tjelesnim rastom i razvojem moraju postići optimalnu tjelesnu kondiciju i masu (D'OCCHIO i sur., 2019.).

U ovom istraživanju prosječna dob u kojoj su se junice izvorne pasmine goveda buša prvi puta telile iznosila je $33,3 \pm 19,9$ mjeseci. Interkvartilni raspon, koji predstavlja 50 % srednjih zabilježenih rezultata istraživanog svojstva, bio je između 23,9 i 35,2 mjeseca, što odgovara dobi od dvije do tri godine. Međutim, u istraživanoj populaciji rasplodnih krava zabilježen je znajacan koeficijent varijabilnosti u vrijednostima ovog pokazatelja ($KV = 59,8$ %). Dobivene vrijednosti mogu se objasniti postupcima u upravljanju reprodukcijom u stadima krava izvorne pasmine buša u kojima ne postoji izravna selekcija i plansko pripuštanje tijekom sezone parenja. Također, tijekom sezone parenja ne postoji procjena uspješnosti koncepcije i gravidnosti te u pojedinim životinja zbog moguće infektivnih, kongenitalnih i funkcionalnih čimbenika koji uzrokuju neplodnost, ali i nedovoljne učinkovitosti rasplodnjaka, dob pri prvom pripustu, a time i telenju može biti odgođena. Iz podataka korištenih u istraživanju uočljivo je da u pojedinim stadima krava nema dostupnog rasplodnjaka, a poznato je da se u populaciji izvorne pasmine goveda buša ne provodi umjetno osjemenjivanje već prirodni pripust, što također može uzrokovati višu dob pri prvom telenju.

Prema istraživanju NIKOLOV i ALGURABI (2009.), prosječna dob pri prvom telenju u kratkorožnog rodope goveda (*Rhodope Shorthorn cattle*), koja predstavlja bugarski soj pasmine buša, iznosila je $861 \pm 28,3$ dana (28,7 mjeseci), uz koeficijent varijabilnosti od 22,5 %. Isti autori navode da se 74,5 % krava prvi puta telilo u dobi između 23 i 35 mjeseci, što je suglasju s rezultatima ovog istraživanja. Također, mogući utjecaj ranijeg pripusta u rodope kratkorožnog goveda imao je za posljedicu dužu reproduksijsku sposobnost krava koje se drže u rasplodu do dobi od 19 do 20 godina. MALINOVA i NIKOLOV (2014.) zabilježili su nešto kasnije u iste pasmine slične vrijednosti pokazatelja dobi pri prvom telenju koja je iznosila $936 \pm 13,6$ dana, odnosno približno 31,2 mjeseca. SOUSA i sur. (2018.) zabilježili su da je prosječna dob pri prvom telenju u pasmine mirandeza iznosila 954,8 dana (približno 31,1 mjeseci), s rasponom od 576 do 1460 dana. Visoki udio krava (77 %) imao je prvo zabilježeno telenje u dobi prije navršene dobi od tri godine. Isti autori navode da se junice izvornih pasmina mogu ranije uvoditi u reprodukciju, odnosno u dobi između 24 i 26 mjeseci, čime se neizravno utječe na produljenje produktivnog vijeka u stadu. U istraživanju LÓPEZ-PAREDES i sur. (2018.) zabilježen je veći raspon vrijednosti dobi pri prvom telenju (od 20 do 48 mjeseci) u

pasmine blond akiten u odnosu na pasminu buša. Prosječna dob pri prvom telenju u pasmina angus i šarole u radu BRZÁKOVÁ i sur. (2020.) iznosila je $1077,77 \pm 61$ dana, što odgovara otprilike dobi od 31,3 mjeseci, dok je manja vrijednost dobi pri prvom telenju zabilježena u pasmine angus ($756,13 \pm 54$ dana, približno 30,4 mjeseci). Manja prosječna vrijednost zabilježena je u pasmine simentalско govedo te je iznosila $865 \pm 82,0$ dana, odnosno 28,4 mjeseca (JECMINKOVA i sur., 2018.). DISKIN i KENNY (2016.) ističu kako bi optimalna dob pri prvom telenju u većini sustava uzgoja trebala bi biti između 24 do 30 mjeseci.

Rezultati provedenog regresijskog modela za fenotipsko svojstvo dobi pri prvom telenju ukazuju da su značajan utjecaj imali fiksni čimbenici utjecaj rasplodnjaka u stadu, veličina stada, koeficijent uzgoja u srodstvu te sezona telenja i godina telenja.

Promatrajući utjecaj sezone telenja, najveći broj krava ($n=951$) telio se u proljeće u kojih je dob pri prvom telenju iznosila 1376,85 dana. Međutim, najniža dob pri prvom telenju zabilježena je u krava ($n=365$) koje su se telile u ljeto i iznosila je 1358,62 dana. Analizirajući utjecaj veličine stada, najmanja vrijednost dobi pri prvom telenju zabilježena je u skupini od 11 do 30 krava te je iznosila 1365,22 dana. Više vrijednosti ustanovljene su u skupini s više od 31 krave ($n=1192$) u kojih je dob pri prvom telenju iznosila 1410,05 dana.

Analizirajući utjecaj negenetskih čimbenika na svojstvo dobi pri prvom telenju, BRZAKOVA i sur. (2020.) ustanovili su u pasmina šarole i angus značajan utjecaj sezone i godine telenja, ali i veličine stada te stada unutar kojeg su krave bile kada su se prvi puta telile. Isti autori ističu kako su utjecaj veličine stada, sezona telenja i godina telenja važni čimbenici koji utječu na reprodukcijske pokazatelje zbog toga što se krave koje se nalaze unutar istih skupina odnosno stada, žive i drže u sličnim uvjetima okoliša, upravljanja i hranidbe. Prema COPLEY i sur. (2022.) okolišni čimbenici predstavljaju za životinje značajan utjecaj što, osim samog područja uzgoja, uključuje temperaturu, padaline i dostupnost pašnjaka odnosno hranjivih tvari. Iako se za goveda smatra da nisu strogo sezonski poliestrične životinje, učinak sezone telenja vjerojatno je posredovan putem utjecaja svjetlosnog ciklusa (engl. *fotoperiod*) i smatra se važnim čimbenikom u postizanju puberteta i reprodukcijske sposobnosti (TORTONESE i INSKEEP, 1992.; PAL i sur., 2022.). Sezona telenja najčešće je ograničena na nekoliko mjeseci tijekom godine, a s obzirom na podneblje u kojima se uzgajaju europske pasmine goveda većina telenja odvija se tijekom proljeća, točnije od siječnja do travnja (BALASSE i sur., 2021.). U istraživanju CLAUS i sur. (2017.) te SOUSA i sur. (2018.) zabilježeno je da su način uzgoja te sezona ili godina telenja imali utjecaj na dob pri prvom telenju. Krave koje su uzgajane u ekstenzivnim sustavima telile su se kasnije od onih uzgajanih

u poluintenzivnim sustavima. Uočene razlike autori su obrazložili značajnim smanjenjem dostupnosti i niže nutritivne kvalitete pašnjačkih površina u ekstenzivnim sustavima uzgoja, posebno tijekom ljetnih mjeseci, odnosno kolovoza i listopada. Početak pripusne sezone junica potrebno je uskladiti s dostupnošću hranidbeno bogatijih pašnjaka (DAY i NOGUEIRA, 2013.).

U radu NIKOLOV i ALGURABI (2009.) u populaciji kratkorožnog rodope goveda većina telenja zabilježena je u veljači i ožujku. Slični rezultati zabilježeni su u pasmine mirandeza gdje su se krave najčešće telile između siječnja i ožujka (SOUSA i sur., 2018.). Nadalje, NIKOLOV i ALGURABI (2009.) navode da je u brdsko-planinskom području Rodope gorja u kojem se uzgaja pasmina kratkorožno rodope govedo, sezona telenja u veljači i ožujku izrazito nepovoljna zbog nedostatka hrane u kasnom zimskom razdoblju te su pašnjaci pogodni za pašu dva do tri mjeseca kasnije. Prema BALASSE i sur. (2021.) uobičajeno je da se izvorne pasmine goveda s područja Europe uzgajaju u ekstenzivnim sustavima držanja te da se drže na pašnjacima zajedno s bikovima i uglavnom tele tijekom veljače i ožujka, odnosno u skladu s izraženom sezonalnom reprodukcijom.

U ovom istraživanju najviša vrijednost dobi pri prvom telenju utvrđena je u skupini krava koje su boravile u stadima s jednim bikom, a iznosila je 1472,41 dana (48,4 mjeseci), za razliku od skupine krava s četiri i više bikova u kojih je vrijednost dobi pri prvom telenju iznosila 1323,22 dana (43,5 mjeseci). Najraširenija metoda uzgoja u populacijama izvornih pasmina goveda koje se uzgajaju u ekstenzivnim sustavima jest prirodni način pripusta. U takvim sustavima nerijetko se provodi slobodan pripust u kojem nije osigurano pripusno stajalište što onemogućava pravilan skok, pri čemu se rasplodnjak većinom suvišno iscrpi, a krave ostaju neoplođene. Također, broj skokova rasplodnjaka uz broj krava po biku predstavlja važan čimbenik pri procjeni reproduksijske učinkovitosti u stadima te postotak uspješnih bikova varira između stada. U istraživanju MONTROYA-MONSALVE i sur. (2021.) utvrđena je negativna korelacija ($r = -0,29$) između broja krava po biku u stadu i reproduksijske učinkovitosti. Isti autori navode da je na reproduksijsku učinkovitost značajno utjecalo kada je u stadu bilo više od 40 krava na jednog bika. Suprotno tome, TIMLIN i sur. (2019.) primjerice nisu zabilježili povezanost između krava koje nisu koncipirale i broja bikova u stadu, istražujući raspon omjera muških i ženskih životinja od 1:8 do 1:68.

Nižoj reproduksijskoj učinkovitosti u krava može pridonijeti neplodnost rasplodnjaka zbog smanjene količine i/ili loše kvalitete sjemena (O'CALLAGHAN i sur., 2021.). Rasplodnjaci također mogu imati utjecaj na neplodnost u krava s obzirom na infektivne

uzročnike, pri čemu utjecaj može biti izravan (patogeni uzročnici utječu na reprodukciju učinkovitost u bikova ili kvalitetu sjemena) ili neizravan (patogeni uzročnici prenose se s rasplodnjaka na kravu prirodnim načinom pripusta) (POLO i sur., 2023.). U istraživanju MONTROYA-MONSALVE i sur. (2021.) navodi se kako je niska plodnost u krava u ekstenzivnim sustavima držanja vjerojatno posljedica činjenice da je važnost rasplodnjaka zanemarena u smislu važnosti otkrivanja i praćenja uzročnika zaraznih bolesti.

NISHIO i sur. (2023.) istraživali su u pasmine japansko crno govedo utjecaj koeficijenta uzgoja u srodstvu izračunatog na temelju podataka iz rodovnika te genomskih podataka. Međutim, nisu zabilježili značajan utjecaj koeficijenta uzgoja u srodstvu izračunatog na temelju podataka iz rodovnika na dob pri prvom telenju. Slični rezultati za istraživano svojstvo utvrđeni su u istoimene pasmine u radu OYAMA i sur. (2002.) te u pasmine hereford u radu SUMREDDEE i sur. (2020.). Suprotno tome, MCPARLAND i sur. (2007.) pronašli su značajan utjecaj individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu ($P < 0,01$) i porast vrijednosti pokazatelja dobi pri prvom telenju u pasmine holštajn, međutim samo u onih u kojih je vrijednost koeficijenta uzgoja u srodstvu bila viša od 12,5 %, a slični rezultati opisani su u pasmine alentežana (*Alentejana*) u istraživanju CAROLINO i GAMA (2008.).

Analizirajući pojedinačan utjecaj SNP-ova LEP gena u regresijskom modelu na fenotipski pokazatelj dobi pri prvom telenju zajedno s negenetskim čimbenicima u izvorne pasmine goveda buša, nisu utvrđene značajne vrijednosti. Međutim, niže vrijednosti dobi pri prvom telenju u rasponu od 14 do 16 dana utvrđene su u životinja s heterozigotnim genotipovima za SNP-ove LEP gena, kako slijedi: LEP02, LEP04 i LEP06. U SNP-ova LEP15 i LEP26 niže vrijednosti dobi pri prvom telenju zabilježene su u životinja koje su imale homozigotne genotipove i to u LEP15 za životinje koje su imale genotip TT sa zabilježenom nižom vrijednošću dobi pri prvom telenju od 84 dana te od 14 dana za LEP26 u životinja koje su imale genotip GG.

KOMISAREK i ANTKOWIAK (2007.) su u pasmine džerzej, a FERNANDES i sur. (2020.) u pasmine nelore istraživali povezanost SNP-a LEP06 sa svojstvima dobi pri prvom telenju, pri čemu u oba istraživanja nije zabilježen značajan utjecaj. Međutim, FERNANDES i sur. (2020.) zabilježili su u pasmine nelore nešto više vrijednost dobi pri prvom telenju u krava koje su imale homozigotni genotip TT (914,42 dana) u odnosu na krave koje su imale homozigotni genotip CC (908,63 dana).

Analiza utjecaja pojedinačnog učinka SNP-ova LEPR gena u regresijskom modelu u istraživanoj populaciji izvorne pasmine goveda buša nije zabilježila značajne vrijednosti. Za

SNP LEPR06 najniža vrijednost dobi pri prvom telenju (807,19 dana) zabilježena je u krava koje su imale homozigotni genotip GG. Nešto više vrijednosti od 88 dana pronađene su u krava koje su imale homozigotni genotip AA, dok je u krava koje su imale homozigotni genotip GG vrijednost dobi pri prvom telenju bila za 66 dana viša. Suprotno rezultatima ovog istraživanja, TRAKOVICKÁ i sur. (2013.) utvrdili su u pasmine pincgavsko govedo utjecaj SNP-a LEPR06 na dob pri prvom telenju, pri čemu su se krave s homozigotnim genotipom CC prvi puta telile 21 dan ranije u odnosu na krave koje su imale heterozigotni genotip CT. CLEMPSON i sur. (2011.) u pasmine holštajn nisu zabilježili povezanost SNP-a LEPR06 s fenotipskim pokazateljem dobi pri prvom telenju, međutim junice s homozigotnim genotipom CC imale su niže vrijednosti dobi pri prvom telenju. Nadalje, u istraživanju FERNANDES i sur. (2020.) u krava pasmine nelore također nije zabilježen značajan utjecaj SNP-a LEPR06 na dob pri prvom telenju. Isti autori ustanovili su najniže vrijednosti dobi pri prvom telenju u krava koje su imale homozigotni genotip TT koje su se prvi puta telile u dobi od 899,77 dana, u odnosu na krave koje su imale heterozigotni genotip CT (937,05 dana) i homozigotni genotip CC (907,42 dana).

U ovom istraživanju nisu zabilježene značajne vrijednosti pojedinačnog učinka SNP-ova NPY gena na dob pri prvom telenju. Analizirajući SNP NPY01 u krava koje su imale heterozigotni genotip AT zabilježene su niže vrijednosti dobi pri prvom telenju (714,34 dana). Više vrijednosti fenotipskog pokazatelja dobi pri prvom telenju zabilježene su za SNP NPY23, pri čemu su se krave koje su imale homozigotni genotip GG prvi puta telile 21 dan ranije, u odnosu na krave s heterozigotnim genotipom TG.

6.4.2 Servisno razdoblje

Servisno razdoblje određeno je brojem dana od telenja do ponovne uspješne koncepcije. Sagledavajući fiziološke karakteristike krava, na trajanje servisnog razdoblja utječu vrijeme potrebno za potpunu involuciju maternice, ponovno uspostavljanje fiziološkog ciklusa jajnika, sposobnost otkrivanja estrusa i pojava "tihog" estrusa, zatim kvaliteta sjemeni kao i učinkovitost rasplodnjaka u stadi (BERRY i sur., 2014.; DISKIN i KENNY, 2016.). Servisno razdoblje pokazatelj je reproduktivne sposobnosti svake pojedine krave, ali može biti posljedica neuspjeha uzgajivača u otkrivanju ranih znakova estrusa nakon telenja zbog čega razdoblje od telenja do ponovnog pripusta te koncepcije može biti produženo (PÉREZ-MARÍN i sur., 2023.).

U ovom istraživanju analizirano je trajanje servisnih razdoblja prema rednom broju telenja u izvorne pasmine goveda buša. Rezultati su pokazali da je trajanje prvog servisnog

razdoblja bilo prosječno 274,1 dana, pri čemu su vrijednosti u više od polovice rasplodnih krava bile u širokom rasponu od 78,0 do 353,0 dana. S povećanjem broja rednog broja telenja, uočljivo je smanjenje trajanja servisnih razdoblja, međutim značajno duže od optimalnih preporučenih vrijednosti koje ne bi trebale biti više od 80 do 85 dana (KUNKLE i sur., 2021.).

CURONE i sur. (2016.) zabilježili su u talijanske izvorne pasmine goveda modeneze prosječno trajanje servisnog razdoblja u rasponu od 80 do 105 dana. Značajno niže vrijednosti u odnosu na istraživanu populaciju izvorne pasmine goveda buša utvrđene su u populaciji talijanske izvorne pasmine goveda ređana u koje su vrijednosti intervala od telenja do ponovnog pripusta iznosile od 108 dana, dok su prosječne vrijednosti u pasmina sivo tirolsko govedo (*Tirol Grey*) i pasmine crveno pjegavo valdostana govedo (*Valdostana Red Spotted*) iznosile 92 i 99 dana (MANCIN i sur., 2024.). Najviše vrijednosti prema rednom broju telenja utvrđene su od trećeg do devetog telenja (97,79 dana) u pasmine asturiana de los vels, dok su vrijednosti nakon desetog i više telenja bile od 103,03 dana (GOYACHE i sur., 2005.). BRZÁKOVÁ i sur. (2019.) su u pasmine holštajn zabilježili trajanje servisnog razdoblja od 124,26 dana, s rasponom od minimalno 20 do maksimalno 300 dana. Prema BIEBER i sur. (2019.) servisno razdoblje u pasmine smeđe govedo (*Brown Swiss*) iznosilo je 99 dana, u pasmine sivo tirolsko govedo 101 dana, u pasmine poljsko crveno govedo 95 dana, a u pasmine švedsko crveno govedo (*Swedish Red*) iznosilo je 107 dana. Nadalje, u radu TEMESGEN i sur. (2022.) zabilježeno je različito trajanje servisnog razdoblja u mliječnih krava osjemenjenih u različitim godišnjim dobima te je iznosilo 142, 154, 151 i 169 dana u krava osjemenjenih u jesen, zimu, proljeće i ljeto, pri čemu je zabilježeno kraće trajanje servisnog razdoblja u krava osjemenjenih u jesen nego u krava osjemenjenih tijekom ostalih godišnjih doba.

Analizirajući fenotipsko svojstvo trajanja servisnog razdoblja, rezultati provedenog regresijskog modela ukazali su na značajan utjecaj rednog broja telenja, utjecaja rasplodnjaka u stadu i godine telenja krave. Iako sezona telenja rasplodnih krava nije imala značajan utjecaj na trajanje servisnog razdoblja u ovom istraživanju, u radu BAYOU i sur. (2015.) ističu da sezona može imati važnu ulogu zbog dostupnosti hrane, odnosno zbog različitih hranidbenih režima tijekom godišnjih doba, posebno u stadima koja se drže na pašnjacima. Prema WOLFENSON i sur. (2000.) te DOVOLOU i sur. (2023.) promjene u vanjskoj temperaturi u ovisnosti o godišnjim dobima mogu utjecati na plodnost u goveda mijenjajući koncentracije hormona prolaktina i progesterona tijekom ljetnih i zimskih mjeseci. Tako na primjer, promjene u vanjskoj temperaturi mogu utjecati na koncentracije progesterona i lučenje LH hormona tijekom estrusnog ciklusa koji imaju ulogu u rastu i razvoju jajnih stanica te može doći do

smanjene reproduksijske sposobnosti. Nadalje, postpartalno razdoblje je vrijeme kada je većina krava u negativnoj energetske ravnoteži, a niske razine leptina u to vrijeme mogu biti povezane sa smanjenim izlučivanjem gonadotropina, čime se produžuje razdoblje do prve ovulacije čime se produžuje servisno razdoblje (LIEFERS i sur., 2005.).

U ovom istraživanju zabilježen je značajan utjecaj rednog broja telenja na trajanje servisnog razdoblja. Također, opaženo je kako su se vrijednosti servisnog razdoblja smanjivale s povećanjem rednog broja telenja. Najviša vrijednost zabilježena je za drugo servisno razdoblje te je iznosila prosječno 894,19 dana. Značajno niže vrijednosti ($P < 0,01$) trajanja servisnih razdoblja uočene su u krava koje su imale više od 8 telenja. Više vrijednosti trajanja servisnog razdoblja u prvotelki u odnosu na višetelke vjerojatno su posljedica izraženijeg utjecaja negativne energetske ravnoteže u prvotelki. WALSH i sur. (2011.) te ADRIEN i sur. (2012.) ističu da prvotelke imaju manju sposobnost održanja vlastitih metaboličkih uzdržnih potreba uz istovremenu proizvodnju mlijeka što često dovodi do odgođenog početka postpartalnog estrusa. Produženo trajanje servisnog razdoblja također može biti i posljedica odluke uzgajivača o odgađanju ponovnog pripusta ili osjemenjivanja nakon telenja. Nadalje, zbog neuspjeha otkrivanja prvog estrusa nakon telenja, uzgajivači često odgađaju pripust zbog postizanja pozitivnijeg ishoda, odnosno uočavanja sigurnih znakova estrusa i uspješne oplodnje (FODOR i sur., 2019.). Iz rezultata uzastopnih servisnih razdoblja dobivenih u ovom istraživanju uočljivo je da se s povećanjem rednog broja telenja smanjuje trajanje servisnog razdoblja, što bi se moglo pripisati sporijem rastu i postizanju spolne zrelosti s obzirom na obilježje kasnozrelosti pasmine buša, ali i činjenice da prvotelke i mlađe krave moraju nastaviti rasti u većoj mjeri nakon telenja te imaju veću potrebu za hranjivim tvarima. Također, duže trajanje servisnog razdoblja može biti posljedica upravljanja reprodukcijom u stadu, nedostupnosti i neplodnosti rasplodnjaka, ali i poteškoćama u postizanju koncepcije uslijed poremećaja u reproduktivnom ili endokrinom sustavu u krava. Naime, izravna selekcija i praćenje zdravlja stada u većini populacija izvornih pasmina goveda pa tako i u pasmine buša ne provodi se u toj mjeri da bi se navedene poteškoće mogle zabilježiti.

Najkraće trajanje servisnog razdoblja uočeno je u krava koje su držane u stadima s jednim bikom i ono je iznosilo prosječno 257,70 dana. TIMLIN i sur. (2021.) utvrdili su značajan utjecaj omjera između muških i ženskih životinja ($P = 0,01$; $r = 0,04$) i broja krava koje su ponovno uspostavile spolni ciklus i ostale gravidne u jesenskoj sezoni, u odnosu na proljetnu sezonu parenja ($P = 0,90$). Isti autori ustanovili su također značajnu, ali negativnu

korelaciju ($P < 0,001$; $r = 0,11$) između omjera bik:krava i povratka u spolni ciklus kao i stope gravidnosti u krava u jesenskoj sezoni parenja koje su bile držane u stadu s jednim bikom.

U ovom istraživanju zabilježen je značajan utjecaj triju SNP-ova LEP gena na trajanje servisnog razdoblja. Zabilježeni SNP-ovi za koje je zabilježen statistički značajan utjecaj bili su LEP02 ($P = 0,120$), LEP04 ($P = 0,012$) i LEP06 ($P = 0,029$). Analizirajući SNP LEP02 zabilježeno je da su krave koje su homozigotnog genotipa CC imale kraće trajanje servisnog razdoblja (LSM = 173,71 dana). U analizi SNP-ova LEP04 i LEP06 zabilježene su jednake vrijednosti rezultata, pri čemu je ustanovljeno da su krave s homozigotnim genotipom TT imale kraće trajanje servisnog razdoblja (LSM = 118,79 dana).

U radu KOMISAREK i ANTKOWIAK (2007.) u pasmine džersei nije zabilježena statistički značajna povezanost SNP-a LEP06 s trajanjem servisnog razdoblja. Međutim, isti autori utvrdili su statistički značajan utjecaj SNP-a LEP15, pri čemu su u rasplodnih krava s homozigotnim genotipom TT zabilježene niže vrijednosti u odnosu na životinje s heterozigotnim genotipom i homozigotnim genotipom CC. Nadalje, homozigotni genotip TT SNP-a LEP15 pokazao je značajnu povezanost s kraćim trajanjem servisnog razdoblja u pasmine holštajn, kako je opisano u radu CLEMPSON i sur. (2011.). U radu JECMINKOVA i sur. (2018.) za SNP LEP15 u pasmine simentalско govedo zabilježeno je da su rasplodne krave koje su imale homozigotni genotip TT imale 21 dan duže trajanje servisnog razdoblja u usporedbi s kravama koje su imale heterozigotni genotip. Iako u ovom istraživanju SNP LEP15 nije imao značajan utjecaj na trajanje servisnog razdoblja, ustanovljeno je da su krave s heterozigotnim genotipom imale kraće trajanje servisnog razdoblja (LSM = 112,96 dana) u odnosu na krave s homozigotnim genotipom CC (LSM = 156,10 dana). Analizirajući utjecaj SNP-a LEP06 na trajanje servisnog razdoblja nije zabilježen značajan utjecaj u ovom istraživanju, međutim slični rezultati pronađeni su u pasmine holštajn u istraživanjima CLEMPSON i sur. (2011.) te NANAIE i sur. (2014.).

6.4.3 Trajanje gravidnosti

Optimalno trajanje gravidnosti važno je za postizanje dobrog zdravlja i vitalnosti novorođene teladi, kao i za održavanje reproduktivne sposobnosti tijekom rasplodne uporabe u krava (SZENCI, 2023.). Prosječno trajanje gravidnosti u istraživanoj populaciji izvorne pasmine goveda buša iznosilo je $281,0 \pm 7,5$ dana, a u više od 50 % populacije rasplodnih krava zabilježene su vrijednosti između 276 i 286 dana. NIENARTOWICZ-ZDROJEWSKA i sur. (2018.) su u četiri izvorne pasmine goveda u Poljskoj (*White Backed, Polish Red, Polish Black and White, Polish Red and White*) ustanovili prosječno trajanje gravidnosti od $282 \text{ dana} \pm 6,33$ dana s rasponom od 254 do 257 dana. Nešto niže vrijednosti u odnosu na rezultate ovog istraživanja zabilježene su u pasmine mirandeza u kojih je prosječno trajanje gravidnosti iznosilo $287 \pm 8,9$ dana s rasponom od 260 do 310 dana (SOUSA i sur., 2018.). FOUZ i sur. (2013.) zabilježili su trajanje gravidnosti u krava pasmina holštajn ($279,16$ dana) te limuzin ($285,10$ dana) i belgijsko bijelo plavo govedo ($281,48$ dana). Prosječno trajanje gravidnosti u pasmine holštajn iznosilo je $278,75 \pm 6,03$ dana te se muška telad telila nešto kasnije ($+1,02$ dana) nego ženska telad (GALLUZZO i sur., 2023.). Isti autori navode kako su junice imale tendenciju ranijeg telenja ($278,02 \pm 6,01$ dana) u odnosu na višetelke ($279,25 \pm 5,99$ dana), a s prosječnom razlikom od $1,23$ dana.

U istraživanju NIENARTOWICZ-ZDROJEWSKA i sur. (2018.) zabilježen je značajan utjecaj sezone telenja i godine telenja pri čemu je prosječno trajanje gravidnosti u krava koje su se telile ljeti iznosilo $282,2$ dana, a u krava koje su se otelile zimi iznosilo je $281,8$ dana. Sagledavajući sezonu rođenja, odnosno telenja u istraživanoj populaciji izvorne pasmine buša najniže vrijednosti uočene su u krava koje su se oteljenje u proljeće (LSM = $279,39$ dana), dok su nešto više vrijednosti bile u krava koje su oteljene u jesen (LSM = $282,28$ dana) i zimu (LSM = $282,76$ dana). Nadalje, VIEIRA-NETO i sur. (2017.) također su zabilježili kako su krave tijekom toplijeg dijela godine imale za $1,5$ dan kraće trajanje gravidnosti ($274,7 \pm 0,2$ dana) u usporedbi s kravama koje su se telile u zimskim mjesecima ($276,2 \pm 0,2$ dana). Prema NORMAN i sur. (2009.) te GALLUZZO i sur. (2023.) mjesec u kojem su junice i krave koncipirale imao je značajan utjecaj na trajanje gravidnosti. Naime, junice i krave koje su koncipirale u prvoj polovici godine imale su pojavu dužeg trajanja gravidnosti u usporedbi s onim kravama koje su koncipirale u ostalim mjesecima. Utjecaj svjetlosnog ciklusa predstavlja najčešći okolišni čimbenik koji utječe na fiziološke procese, a posebno na reproduktivnu funkciju domaćih životinja (HANSEN i sur., 1983.; DAHL i sur., 2002.). Iako goveda nisu sezonski poliestrične životinje poput ovaca i konja, postoji pretpostavka da smanjenje trajanja svjetlosnog ciklusa u

jesen može imati utjecaj na trajanje gravidnosti. Naime, smanjenje izloženosti svjetlu utječe na izlučivanje hormona melatonina iz epifize koji ima izravan učinak na razvoj embrija, ali sudjeluje i u regulaciji proizvodnje progesterona u jajniku (BASINI i GRASSELLI, 2024.).

NIENARTOWICZ-ZDROJEWSKA i sur. (2018.) istraživali su utjecaj spola te pojedinačnih ili blizanačkih gravidnosti na trajanje gravidnosti. Rasplodne krave koje su nosile mušku telad imale su jedan dan dužu gravidnost, dok je trajanje gravidnosti u krava koje su nosile blizance bilo prosječno 6,8 dana kraće. Također, NOGALSKI i PIWCZYŃSKI (2012.) ustanovili su u krava koje su imale žensku telad 1,3 dana kraće trajanje gravidnosti ($275,4 \pm 0,1$ dana), u usporedbi s kravama koje su imale mušku telad ($276,7 \pm 0,1$ dana).

U ovom istraživanju, u krava koje su se prvi puta telile u dobi od 25 do 34 mjeseci trajanje gravidnosti bilo je kraće (280,48 dana) u odnosu na krave koje su se telile u dobi do 24 mjeseca (282,23 dana) i u dobi iznad 35 i više mjeseci (281,51 dana). Suprotno rezultatima ovog istraživanja, NOGALSKI i PIWCZYŃSKI (2012.) zabilježili su kraće trajanje gravidnosti ($274,1 \pm 0,2$ dana) u krava koje su se prvi puta telile u usporedbi s višetelkama ($276,8 \pm 0,2$ dana). U španjolske izvorne pasmine goveda asturiana de los vels trajanje gravidnosti u prvom telenju iznosilo je $286,26 \pm 5,71$ dana, u drugom telenju $286,88 \pm 5,61$ dana, u trećem do devetom telenju iznosilo je $287,66 \pm 5,69$ dana, dok je od desetog i više telenja iznosilo $288,09 \pm 5,94$ dana (GOYACHE i sur., 2005.). NIENARTOWICZ-ZDROJEWSKA i sur. (2018.) navode kako je trajanje gravidnosti u krava koje su se telile po deseti put bilo prosječno duže za 2,9 dana od najkraćeg trajanja gravidnosti zabilježenog u populaciji. U radu JENKINS i sur. (2016.) ističu da postoje nasljedni genetski čimbenici koji utječu na to da krave koje su oteljene u kraćim gravidnostima, daju kćeri potomke koje će također imati niže vrijednosti ovog fenotipskog pokazatelja, dok ANDERSEN i PLUM (1965.) navode da dob krave može imati značajan utjecaj na trajanje gravidnosti, pri čemu starije krave imaju duže trajanje gravidnosti od mlađih krava.

U ovom istraživanju nije zabilježen značajan utjecaj SNP-ova LEP, LEPR i NPY gena na trajanje gravidnosti. Međutim, GIBLIN i sur. (2010.) utvrdili su povezanost T alela SNP-a LEP06 s kraćim trajanjem gravidnosti u pasmine holštajn. Također utvrdili su povezanost G alela SNP-a LEP-128 te alela T SNP-a LEP-963 koji se nalaze u promotorskoj regiji gena s trajanjem gravidnosti. LIEFERS i sur. (2003.) otkrili su u pasmine holštajn povezanost dvaju SNP-ova, LEP06 i LEP15 s višom koncentracijom leptina u serumu tijekom kasne gravidnosti. Životinje koje su imale homozigotni genotip CC SNP-a LEP06 bile su u povezanosti sa značajno višom koncentracijom leptina u serumu tijekom kasne gravidnosti u usporedbi sa

životinjama s homozigotnim genotipom TT. Nadalje, za SNP LEP15 zabilježeno je da su životinje s genotipom TT imale značajno više koncentracije leptina tijekom kasne gravidnosti nego životinje s genotipom CC. Također, LIEFERS i sur. (2004.) istraživali su u pasmine holštajn SNP-ove u promotorskoj regiji LEP gena te su zabilježili ukupno 14 SNP-ova, pri čemu je 12 mutacija bilo povezano s višom koncentracijom leptina u serumu tijekom kasne gravidnosti. Isti autori utvrdili su značajnu povezanost SNP-a LEPR06 s koncentracijom leptina u serumu. Životinje koje su imale CC genotip imale su više koncentracije leptina u serumu za razliku od životinja s CT genotipom.

6.4.4 Međutelidbeno razdoblje

Međutelidbeno razdoblje predstavlja broj dana između dva uzastopna telenja i u goveda je poželjno da traje 365 dana, a u skladu s ciljem jedno tele godišnje (TITTERINGTON i sur., 2017.; SHIN i sur., 2021.). Nadalje, na trajanje međutelidbenog razdoblja mogu utjecati sezona i godina telenja krave te redni broj telenja, ali i učinkovitost otkrivanja estrusa i stopa koncepcije (TEMESGEN i sur., 2022.). Međutim, varijacije u trajanju međutelidbenih razdoblja mogu se pripisati niskoj nasljednosti ovog svojstva (BRZÁKOVÁ i sur., 2019.), ali i utjecaju negenetskih čimbenika kao što su geografsko područje uzgoja, veličina stada i utjecaj rasplodnjaka u stadu. Smatra se kako je trajanje međutelidbenog razdoblja najbolji pokazatelj reproduktivne učinkovitosti u goveda te se pravilnim upravljanjem u uzgoju mogu smanjiti negativni učinci i poboljšati plodnost krava u stadima (CROWE i sur., 2018.).

Prosječno trajanje međutelidbenog razdoblja u istraživanoj populaciji rasplodnih krava izvorne pasmine goveda buša iznosilo je 550,7 dana, s rasponom od 359,0 do 626,0 dana. Sagledavajući vrijednosti trajanja prvog, ali i uzastopnih međutelidbenih razdoblja u ovom istraživanju one su bile značajno više u odnosu na optimalne vrijednosti od 365 do 385 dana (WERTH i sur., 1996.). GROSSI i sur. (2016.) zabilježili su prosječno trajanje međutelidbenog razdoblja od 474 dana u pasmine nelore, dok su LÓPEZ-PAREDES i sur. (2018.) u pasmine blond akiten zabilježili trajanje međutelidbenog razdoblja od 444 dana. U pasmine ređana, prosječno trajanje međutelidbenog razdoblja iznosilo je 383,8 dana (MANCIN i sur., 2020.). NIKOLOV i ALGURABI (2009.) zabilježili su u kratkorožnog rodope goveda vrijednosti međutelidbenog razdoblja od 405,3 dana, s koeficijentom varijabilnosti od 20,6 %. Nadalje, MALINOVA i NIKOLOV (2014.) zabilježili su u istoimenoj pasmini nešto više vrijednosti prosječnog trajanja međutelidbenog razdoblja od 417 dana.

U radu BIEBER i sur. (2019.) u populacija pasmina smeđe govedo (392 dana), sivo govedo (381 dana) i poljsko crveno govedo (395 dana) međutelidbeno razdoblje bilo je kraće u usporedbi s pasminom holštajn (409 dana). DE REZENDE i sur. (2020.) zabilježili su prosječno trajanje međutelidbenog razdoblja od 438,09 dana u pasmine šarole te od 425,18 dana u pasmine limuzin.

Rezultati provedenog regresijskog modela ukazali su kako su značajan utjecaj na trajanje međutelidbenog razdoblja imali redni broj telenja, utjecaj rasplodnjaka u stadu, sezona telenja i godina telenja krave te dob pri prvom telenju. Analizirajući utjecaj rednog broja telenja u istraživanoj populaciji izvorne pasmine goveda buša, uočava se postepeno smanjenje vrijednosti međutelidbenog razdoblja s povećanjem rednog broja telenja. Tako je u ovom

istraživanju prosječna vrijednost prvog međutelidbenog razdoblja iznosila 1000,52 dana, a nešto viša vrijednost zabilježena je u drugom međutelidbenom razdoblju (1137,17 dana), dok su značajno niže vrijednosti uočene u rasplodnih krava koje su imale više od 8 telenja. Slični rezultati zabilježeni su u radu BAYOU i sur. (2015.) u kojem je redni broj telenja značajno utjecao na trajanje međutelidbenog razdoblja ($P < 0,01$) te su s povećanjem rednog broja telenja zabilježene niže vrijednosti ovog fenotipskog pokazatelja.

U ovom istraživanju je na trajanje međutelidbenog razdoblja značajan utjecaj imala dob pri prvom telenju. Najkraće trajanje međutelidbenog razdoblja (526,53 dana) zabilježeno je u rasplodnih krava koje su telile u dobi od 35 i više mjeseci, dok su one koje su se telile u dobi do 24 mjeseca imale najduže trajanje međutelidbenog razdoblja (644,4 dana). Suprotno tim rezultatima, značajno niže vrijednosti međutelidbenog razdoblja pronađene su u krava pasmine holštajn koje su se telile u dobi od 22 do 23 mjeseca (EASTHAM i sur., 2018.). Također, u stadima pasmina holštajn i češko pjegavo govedo (*Czech Spotted cattle*) u kojima su se krave prvi puta telile u dobi od 22 do 23 mjeseca, zabilježeno je kraće trajanje međutelidbenog razdoblja (KRPÁLKOVÁ i sur., 2014.) Ipak, dob pri prvom telenju niža od 22 mjeseca povezana je s učestalijim poteškoćama pri telenju, većim brojem mrtvorodene teladi te perinatalnim gubicima (ETTEMA i SANTOS, 2004.). TITTERINGTON sur. (2021.) uočili su statistički značajan utjecaj ($P < 0,001$) dobi krave pri telenju na dužinu trajanja međutelidbenog razdoblja u populacijama mesnih pasmina goveda, pri tome navodeći da je vrijednost međutelidbenog razdoblja bila viša u krava s većim rednim brojem telenja.

U radu NIKOLOV i ALGURABI (2009.) u kratkorožnog rodope goveda nije utvrđena značajna povezanost dobi i rednog broja telenja s trajanjem međutelidbenog razdoblja. Međutim, zabilježeno je da su krave u koje su se telile u dobi od 3 do 5 godina imale najniže vrijednosti ovog pokazatelja. Prema TWOMEY i CROMIE (2023.) u stadima mesnih pasmina goveda međutelidbeno razdoblje u krava nakon prvog telenja bilo je značajno duže nego u drugom i višim telenjima ($P < 0,001$). Isti autori navode da su krave koje su se telile u dobi od 22 do 24 mjeseca, imale za 6 dana duže prvo međutelidbeno razdoblje u usporedbi s kravama u drugom međutelidbenom razdoblju, a 8 dana duže nego krave u trećem, četvrtom i petom međutelidbenom razdoblju. Slični rezultati pronađeni su u pasmine holštajn kako je opisano u radu EASTHAM i sur. (2018.) Prema DISKIN i KENNY (2016.) duže trajanje međutelidbenog razdoblja može biti posljedica niže energetske ravnoteže u prvotelki jer nisu u mogućnosti konzumirati dovoljno za vlastiti rast i uzdržne potrebe te proizvodnju i reprodukciju što dovodi do odgođenog početka postpartalnog estrusa.

U ovom istraživanju, sezona telenja krave imala je značajan utjecaj na trajanje međutelidbenog razdoblja ($P < 0,001$) te je zabilježeno da su krave koje su se telile u proljeće imale više vrijednosti (600,36 dana) u usporedbi s kravama koje su se telile u ljeto (564,30 dana) i jesen (586,87 dana). Značajan utjecaj sezone telenja na trajanje međutelidbenog razdoblja zabilježen je u radovima BAYOU i sur. (2015.) te SOYDAN i sur. (2017.). U radu SOYDAN i sur. (2017.) u krava pasmine džersei trajanje međutelidbenog razdoblja bilo je 18 dana dulje ($P < 0,05$) u krava koje su se telile u proljeće ($388,1 \pm 7,7$ dana) u odnosu na krave koje su se telile zimi ($367,9 \pm 6,9$ dana). U populacijama mesnih pasmina blond akiten, šarole i simentalskog goveda najveći utjecaj na trajanje međutelidbenih razdoblja imao je mjesec telenja, a najveći broj telenja zabilježen je u ožujku, travnju i svibnju, dok godina telenja nije imala značajan učinak (TITTERINGTON i sur., 2017.).

Skraćenje vrijednosti međutelidbenih razdoblja može se postići odabirom rasplodnih krava s optimalnim vrijednostima ovog fenotipskog pokazatelja. Ukoliko se krave tele kasnije tijekom sezone ili je razdoblje između dva telenja duže od 365 dana, uzgajivači se često odlučuju čekati sljedeću sezonu parenja, što u uzgojima mliječnih i mesnih pasmina goveda ima za posljedicu ekonomske gubitke (WERTH i sur., 1996.; FERREIRA i sur., 2021.). Sagledavajući utjecaj godine telenja u regresijskom modelu koja je imala značajan utjecaj na međutelidbeno razdoblje, uočeno je smanjenje vrijednosti ovog pokazatelja u recentnijim godinama, unatoč tome što se ne provodi stvarna selekcija na navedena svojstva u populaciji izvorne pasmine goveda buša. Rezultati zapaženi u ovom istraživanju mogli bi se objasniti trenutnim poboljšanim postupcima upravljanja u stadima u usporedbi s uzgojnim prilikama u početku osnivanja registra pasmine i vođenja zapisa o promjenama u uzgoju populaciji.

U ovom istraživanju najveći broj rasplodnih krava ($n=1084$) držan je u stadima s jednim bikom u kojih je zabilježeno najkraće trajanje međutelidbenog razdoblja. Suprotno tome, više vrijednosti zabilježene su u skupine krava koje su držane u stadima s dva do tri bika. U uzgoju je važno procijeniti reproduktivnu sposobnost odabranih rasplodnjaka koja najčešće uključuje ocjenu eksterijera, fenotipa i proizvodnog tipa, podrijetlo u rodovniku te u visokoproizvodnih pasmina i progeno testiranje te genomsku selekciju (REZENDE i sur., 2018.; BUTLER i sur., 2019.). Na reproduktivnu učinkovitost krava značajan utjecaj mogu imati različiti čimbenici povezani s rasplodnjakom, poput neplodnosti, anatomskih defekata reproduktivnih organa, poteškoća s libidom, ali i hromosti te više hijerarhije neplodnih rasplodnjaka u stadu (BUTLER i sur., 2019.). Stoga je prije početka sezone parenja potrebno procijeniti kvalitetu rasplodnjaka u stadu kako bi se osigurala visoka stopa koncepcije (NICOLINI i sur., 2018.). Također, važno

je i odrediti odgovarajući broj rasplodnjaka u stadu. Naime, utjecaj rasplodnjaka u stadu može se odražavati na razdoblje unutar kojeg se krave vraćaju u spolni ciklus nakon telenja, a kao posljedica razlika u trajanju estrusa između pojedinih skupina krava koje se drže zajedno u stadu (TIMLIN i sur., 2021.). Preporučeni omjer u stadima koje se drže na pašnjacima jest 20 do 30 rasplodnih krava na jednog rasplodnjaka (CHENOWETH, 2015.; KING, 2015.). Nadalje, ukoliko se u stadu nalaze jednogodišnji bikovi koji su jedva dosegнули spolnu zrelost potrebno je smanjiti broj krava po biku, pri čemu se jednogodišnjaci najčešće pripuštaju na 10 do 20 krava (TIMLIN i sur., 2021.). Razina libida rasplodnjaka također utječe na stopu koncepcije u krava. Rasplodnjaci sa srednjom do visokom razinom libida imalu su više stope koncepcije od rasplodnjaka s niskom razinom libida (PETHERICK, 2005.).

Kvaliteta sjemena rasplodnjaka izrazito je bitna i utječe na reproduktivnu učinkovitost u stadima s obzirom da spermatozidi rasplodnjaka s niskim svojstvima plodnosti imaju kraće razdoblje održivosti odnosno sposobnosti za oplodnju jajne stanice (BERRY i sur., 2014.). BUTLER i sur., 2019.). Jedno od najčešćih svojstava na temelju kojeg se provodi selekcija rasplodnjaka jest opseg skrotuma koje je u pozitivnoj korelaciji s količinom i kvalitetom sjemena (BUTLER i sur., 2019.).

Iako u ovom istraživanju nije zabilježen utjecaj koeficijenta uzgoja u srodstvu na trajanje međutelidbenog razdoblja u regresijskom modelu ($P = 0,478$), OGAWA i SATOH (2021.) uočili su u pasmine japanskog crnog goveda značajan utjecaj ($\beta=29,45$; $P<0,05$) viših vrijednosti individualnog koeficijenta uzgoja u srodstvu na duže trajanje međutelidbenog razdoblja. Vrijednost β koeficijenta ukazuje da s povećanjem koeficijenta uzgoja u srodstvu od 1 % dolazi do povećanja vrijednosti međutelidbenog razdoblja za 29,45 dana.

Rezultati analize utjecaja jednonukleotidnih polimorfizama LEP, LEPR i NPY gena u provedenim regresijskim modelima na fenotipski pokazatelj međutelidbeno razdoblje nisu pokazali značajan utjecaj u istraživane pasmine buša.

U radu FERNANDES i sur. (2020.) za SNP LEP06 u pasmine nelore najviše vrijednosti fenotipskog pokazatelja međutelidbenog razdoblja zabilježene su u krava koje su imale homozigotni genotip TT (437,60 dana), u odnosu na krave s homozigotnim genotipom CC (424,81 dana) i heterozigotnim genotipom CT (415,40 dana). Suprotno tome, krave pasmine buša u ovom istraživanju koje su imale homozigotni genotip TT imale su niže vrijednosti trajanja međutelidbenog razdoblja (370,13 dana). U pasmine simentalskog goveda zabilježena je tendencija povezanosti SNP-a LEP15 i trajanja međutelidbenog razdoblja ($P=0,094$) (JECMINKOVA i sur., 2018.). Isti autori utvrdili su duže trajanje međutelidbenog razdoblja u

krava koje su imale homozigotni genotip TT. Slični rezultati za homozigotni genotip TT SNP-a LEP15 i kraće trajanje međutelidbenog razdoblja pronađeni su u pasmine holštajn u istraživanju CLEMPSON i sur. (2011.). Također, u pasmine džerzej za SNP LEP06 nije utvrđena statistički značajna povezanost s trajanjem međutelidbenog razdoblja, dok je u analizi SNP-a LEP15 zabilježeno kako su krave koje su imale homozigotni genotip TT imale niže vrijednosti međutelidbenog razdoblja ($P < 0,01$) u usporedbi s heterozigotnim genotipom i homozigotnim genotipom CC (KOMISAREK i ANTKOWIAK, 2007.). Rezultati navedenih istraživanja bili su oprečni u odnosu na utvrđene vrijednosti za SNP LEP15 u istraživanoj pasmini buša, u kojoj su najduže trajanje međutelidbenog razdoblja imale životinje s heterozigotnim genotipom.

U radu TRAKOVICKÁ i sur. (2013.) zabilježen je statistički značajan utjecaj SNP-a LEPR06 na trajanje međutelidbenog razdoblja u pasmine slovačko pjegavo govedo i pincgavsko govedo ($P < 0,01$). U obje populacije rasplodne krave koje su imale heterozigotni genotip CT imale su kraće trajanje međutelidbenog razdoblja (378,60 dana), u usporedbi s kravama koje su imale homozigotni genotip CC (407,82 dana). Suprotno tome, NANA EI i sur. (2014.) u pasmine holštajn nisu zabilježili značajan utjecaj SNP-a LEPR06 na trajanje međutelidbenog razdoblja. Međutim, vrijednosti međutelidbenog razdoblja bile su niže u krava koje su imale heterozigotni genotip (322,33 dana), nego u krava koje su imale homozigotni genotip CC (325,18 dana) i TT (326,61 dana).

7. ZAKLJUČCI

Ovaj doktorski rad imao je za cilj provesti analizu strukture populacije i genetske varijabilnosti te fenotipskih i genotipskih pokazatelja i njihova utjecaja na svojstva plodnosti koristeći regresijske modele u populaciji izvorne pasmine goveda buša u Republici Hrvatskoj. Na temelju provedenog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

- kompletnost i informativnost rodovnika izvorne pasmine goveda buša s obzirom na broj ekvivalentnih potpunih generacija, još uvijek ne pruža dovoljno potpune podatke za preciznu procjenu pokazatelja uzgoja u srodstvu i efektivne veličine populacije
- u istraživanoj populaciji izvorne pasmine goveda buša zabilježeno je povećanje koeficijenta uzgoja u srodstvu u ukupnoj i referentnoj populaciji, uz istodobno povećanje broja životinja
- parametri genetske varijabilnosti poput efektivne veličine populacije i vjerojatnosti porijekla gena ukazali su na relativno stabilnu populaciju izvorne pasmine goveda buša u smislu kratkoročnog očuvanja. Međutim, pojedini rezultati vjerojatnosti porijekla gena bili su niži od preporučenih vrijednosti što ima za posljedicu moguće povećanje srodnosti između životinja u određenim subpopulacijama, a time ima utjecaj i na dugoročno očuvanje populacije u određenim uvjetima uzgoja.
- vrijednosti generacijskog intervala ukazuju na kasniji početak uvođenja rasplodnih životinja u uzgoj
- vrijednosti unutarpopulacijskih parametara reproduksijskih pokazatelja dobi pri prvoj uspješnoj koncepciji, prvom i uzastopnim telenjima te međutelidbenog i servisnog razdoblja pokazali su značajnu varijabilnost i odstupanja od optimalnih vrijednosti u odnosu na ostale izvorne i visokoproizvodne pasmine goveda
- otkriveni jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) i neuropeptid Y (NPY) pokazali su značajno odstupanje od Hardy-Weinberg-ove ravnoteže i smanjenu gensku varijabilnost s obzirom na učestalost genotipova i alela u istraživanoj populaciji rasplodnih krava
- utvrđena smanjena genska varijabilnost ukazuje na mogući utjecaj genskog pomaka uslijed populacijskog uskog grla.
- u kodirajućim i nekodirajućim regijama gena za LEP, LEPR i NPY u genotipiziranoj populaciji rasplodnih krava utvrđeni su novo otkriveni jednonukleotidni polimorfizmi
- varijacije u vrijednostima reproduksijskih pokazatelja dobi pri prvom telenju, međutelidbenom i servisnom razdoblju te trajanju gravidnosti u regresijskim modelima

najvećim dijelom objašnjene su učinkom sezone i godine telenja te utjecajem rasplodnjaka u stadu i veličinom stada

- pojedinačni učinak jednonukleotidnih polimorfizama gena za LEP, LEPR i NPY nije u značajnoj mjeri objasnio varijacije pokazatelja dobi pri prvom telenju, međutelidbenog i servisnog razdoblja te trajanja gravidnosti, uz iznimku utvrđen statistički značajan utjecaj SNP-ova LEP02, LEP04 i LEP06 na servisno razdoblje
- koeficijent uzgoja u srodstvu pokazao je značajan utjecaj u regresijskom modelu jedino na varijabilnost u reprodukcijskom pokazatelju dobi pri prvom telenju

8. POPIS LITERATURE

ABLONDI, M., A. SABBIONI, G. STOCCO, C. CIPOLAT-GOTET, C. DADOUSIS, J. T. VAN KAAM, R. FINOCCHIARO, A. SUMMER (2022): Genetic diversity in the Italian Holstein dairy cattle based on pedigree and SNP data prior and after genomic delection. *Front. Vet. Sci.* 13, 773985.

DOI: 10.3389/fvets.2021.773985

ABLONDI, M., M. VASINI, V. BERETTI, P. SUPERCHI, A. SABBIONI (2018): Exploring genetic diversity in an Italian horse native breed to develop strategies for preservation and management. *J. Anim. Breed. Genet.* 135, 450-459.

DOI:10.1111/jbg.12357

ADAMETZ, L. (1895): Studien zur monographie des ilyrischen Rindes. *Journal fur Landwirtschaft.* 104-136.

ADRIEN, M. L., D. A. MATTIAUDA, V. ARTEGOITIA, M. CARRIQUIRY, G. MOTTA, O. BENTANCUR, A. MEIKLE (2012): Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal.* 6, 292-299.

DOI: 10.1017/S175173111100142X

AJMONE-MARSAN, P., J. F. GARCIA, J. A. LENSTRA (2010): On the origin of cattle: How aurochs became cattle and colonized the world. *Evol. Anthropol.* 19, 148-157.

DOI: 10.1002/evan.20267

ALAM, T., B. BAHAR, S. M. WATERS, M. MEGEC, J. V. O'DOHERTY, T. SWEENEY (2012): Functional characterization of the bovine neuropeptide Y gene promoter and evaluation of the transcriptional activities of promoter haplotypes. *Mol. Biol. Rep.* 39, 919-928.

DOI: 10.1007/s11033-011-0817-z

ALMEIDA, S. E. M., L. B. S. SANTOS, D. T. PASSOS, A. O. CORBELLINI, B. M. T. LOPES, C. KIRST, G. TERRA, J. P. NEVES, P. B. D. GONÇALVES, J. C. F. MORAES, T.

AZEVEDO WEIMER (2008): Genetic polymorphisms at the leptin receptor gene in three beef cattle breeds. *Genet. Mol. Biol.* 31, 680-685.

DOI: 10.1590/S1415-47572008000400013

AMOS, W., J. HARDWOOD (1998): Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philos. Trans. R Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 353, 177-186.

DOI: 10.1098/rstb.1998.0200

ANDERSEN, H., M. PLUM (1965): Gestation length and birth weight in cattle and buffaloes: a review. *J. Dairy Sci.* 48, 1224-1235.

DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(65)88431-4

ANTONIOS, S., S. T. RODRÍGUEZ-RAMILO, I. AGUILAR, J. M. ASTRUC, A. LEGARRA, Z. G. VITEZICA (2021): Genomic and pedigree estimation of inbreeding depression for semen traits in the Basco-Béarnaise dairy sheep breed. *J. Dairy Sci.* 104, 3221-3230.

DOI: 10.3168/jds.2020-18761

ARBUCKLE, B. S., T. M. KASSEBAUM (2021): Management and domestication of cattle (*Bos taurus*) in Neolithic Southwest Asia. *Anim. Front.* 19, 10-19.

DOI: 10.1093/af/vfab015

ARBUCKLE, B. S., S. W. KANSA, E. KANSA, D. ORTON, C. ÇAKIRLAR, L. GOURICHON, L. ATICI, A. GALIK, A. MARCINIAK, J. MULVILLE, H. BUITENHUIS, D. CARRUTHERS, B. DE CUPERE, A. DEMIRERGI, S. FRAME, D. HELMER, L. MARTIN, J. PETERS, N. PÖLLATH, K. PAWŁOWSKA, N. RUSSELL, K. TWISS, D. WÜRTENBERGER (2014): Data sharing reveals complexity in the westward spread of domestic animals across Neolithic Turkey. *PLoS One.* 9, e99845.

DOI: 10.1371/journal.pone.0099845

AZCONA, F., M. VALERA, A. MOLINA, P. TRIGO, P. PERAL-GARCÍA, M. SOLÉ, S. DEMYDA-PEYRÁS (2020): Impact of reproductive biotechnologies on genetic variability of Argentine polo horses. *Livest. Sci.* 231, 103848.

DOI: 10.1016/j.livsci.2019.103848

BAES, C. F., B. O. MAKANJOULA, F. MIGLIOR, G. MARRAS, J. T. HOWARD, A. FLEMING, C. MALTECCA (2019): Symposium review: The genomic architecture of inbreeding: How homozygosity affects health and performance. *J. Dairy Sci.* 102, 2807-2817. DOI:10.3168/jds.2018-15520

BAHAR, B., T. SWEENEY (2008): Mapping of the transcription start site (TSS) and identification of SNPs in the bovine neuropeptide Y (NPY) gene. *BMC Genet.* 9, 91. DOI: 10.1186/1471-2156-9-91

BALASSE, M., R. GILLIS, I. ŽIVALJEVIĆ, R. BERTHON, L. KOVAČIKOVÁ, D. FIORILLO, R. M. ARBOGAST, A. BĂLĂȘESCU, S. BRÉHARD, É. Á. NYERGES, V. DIMITRIJEVIĆ, E. BÁNFFY, L. DOMBORÓCZKI, A. MARCINIAK, K. OROSS, I. VOSTROVSKÁ, M. ROFFET-SALQUE, S. STEFANOVIĆ, M. IVANOVA (2021): Seasonal calving in European Prehistoric cattle and its impacts on milk availability and cheese-making. *Sci. Rep.* 11, 8185. DOI: 10.1038/s41598-021-87674-1

BANOS, G., J. A. WOOLLIAMS, B. W. WOODWARD, A. B. FORBES, M. P. COFFEY (2008): Impact of single nucleotide polymorphisms in leptin, leptin receptor, growth hormone receptor and diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) gene loci on milk production, feed, and body energy traits of UK dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91, 3190-3200. DOI: 10.3168/jds.2007-0930

BARAĆ, Z., M. ČAČIĆ, M. DRAŽIĆ, V. BULIĆ, D. PRANIĆ, D. JANDA, I. MARIĆ, M. ŠPEHAR, R. JUREKOVIĆ, A. KLJUJEV, O. ERCEG, P. ŠABIĆ, D. BARAĆ, D. KOREČIĆ (2012): Rodoslovlja buše - hrvatske izvorne pasmine goveda. Hrvatska poljoprivredna agencija, Križevci. 13-36.

BARB, C. R., R. R. KRAELING (2004): Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. *Anim. Reprod. Sci.* 82, 155-167. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2004.04.032

BASINI, G., F. GRASSELLI (2024): Role of melatonin in ovarian function. *Animals*. 14, 644.
DOI: 10.3390/ani14040644

BERNUÉS, A., T. RODRÍGUEZ-ORTEGA, R. RIPOLL-BOSCH, F. ALFNES (2014): Socio-cultural and economic valuation of ecosystem services provided by Mediterranean mountain agroecosystems. *PLoS One*. 18, e102479.
DOI: 10.1371/journal.pone.0102479

BERRY, D. P., E. WALL, J. E. PRYCE (2014): Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal*. 8, 105-121.
DOI: 10.1017/S1751731114000743

BERRY, D. P., J. F. KEARNEY, K. TWOMEY, R. D. EVANS (2013): Genetics of reproductive performance in seasonal calving dairy cattle production systems. *IJAFR*. 52, 1-16.
DOI: 10.2527/jas.2013-6723

BERRY, D. P., R. D. EVANS (2014): Genetics of reproductive performance in seasonal calving beef cows and its association with performance traits. *J. Anim. Sci.* 92, 1412-1422.
DOI: 10.2527/jas.2013-6723

BIBI F. (2007): Origin, paleoecology, and paleobiogeography of early Bovini. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 248, 60-72.
DOI:10.1016/j.palaeo.2006.11.009

BIEBER, A., A. WALLENBECK, F. LEIBER, B. FUERST-WALTL, C. WINCJKLER, P. GULLSTRAND, J. WALCZAK, P. WÓJCIK, A. S. NEFF (2019): Production level, fertility, health traits, and longevity in local and commercial dairy breeds under organic production conditions in Austria, Switzerland, Poland, and Sweden. *J. Dairy Sci.* 102, 5330-5341.
DOI: 10.3168/jds.2018-16147

BISCARINI, F., E. L. NICOLAZZI, A. STELLA, P. J. BOETTCHER, G. GANDINI (2015): Challenges and opportunities in genetic improvement of local livestock breeds. *Front. Genet.* 6, 33.

DOI: 10.3389/fgene.2015.00033

BISCARINI, F., S. MASTRANGELO, G. CATILLO, G. SENCZUK, R. CIAMPOLINI (2020): Insights into genetic diversity, runs of homozygosity and heterozygosity-rich regions in Maremmana semi-feral cattle using pedigree and genomic data. *Animals*. 10, 2285.

DOI: 10.3390/ani10122285

BOICHARD, D., L. MAIGNEL, E. VERRIER (1997): The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genet. Sel. Evol.* 29, 5-23.

DOI: 10.1186/1297-9686-29-1-5

BOSSE, M., S. VAN LOON (2022): Challenges in quantifying genome erosion for conservation. *Front. Genet.* 13, 960958.

DOI: 10.3389/fgene.2022.960958

BOUQUET, A., E. VENOT, D. LALOË, F. FORABOSCO, A. FOGH, T. PABIOU, K. MOORE, J. A. ERIKSSON, G. RENAND, F. PHOCAS (2011): Genetic structure of the European Charolais and Limousin cattle metapopulations using pedigree analyses. *J. Anim. Sci.* 89, 1719-1730.

DOI: 10.2527/jas.2010-3469

BRICKELL, J. S., G. E. POLLOT, A. M. CLEMPSON, N. OTTER, D. C. WATHES (2010): Polymorphisms in the bovine leptin gene associated with perinatal mortality in Holstein-Friesian heifers. *J. Dairy Sci.* 93, 340-347.

DOI: 10.3168/jds.2009-2457

BRZÁKOVÁ, M., J. ČÍTEK, A. SVITÁKOVÁ, Z. VESELÁ, L. VOSTRÝ (2020): Genetic parameters for age at first calving and first calving interval of beef cattle. *Animal*. 10, 2122.

DOI: 10.3390/ani10112122

BRZÁKOVÁ, M., L. ZAVADILOVÁ, J. PŘIBYL, P. PEŠEK, E. KAŠNÁ, A. KRANJČEVIČOVÁ (2019): Estimation of genetic parameters for female fertility traits in the Czech Holstein population. *Czech J. Anim. Sci.* 64, 199-206.

DOI: 10.17221/51/2018-CJAS

BUCHANAN, F. C., A. G. VAN KESSEL, C. WALDNER, D. CHIRSTENSEN, B. LAARVELD, S. M. SCHMUTZ (2003): An association between a leptin single nucleotide polymorphism and milk and protein yield. *J. Dairy Sci.* 86, 3164-3166.

DOI: 10.1016/j.anireprosci.2011.06.011

BUETTNER, C., A. POCAI, E. D. MUSE, A. M. ETGEN, M. G. MYRES JR., L. ROSSETTI (2006): Critical role of STAT3 in leptin's metabolic actions. *Cell Metab.* 4, 49-60.

DOI: 10.1016/j.cmet.2006.04.014

BUTLER, M. L., J. M. BORMANN, R. L. GRIEGER, M. M. ROLF (2019): Selection for bull fertility: a review. *Transl. Anim. Sci.* 4, 423-441.

DOI: 10.1093/tas/txz174

CABRERA, V. E. (2014): Economics of fertility in high-yielding dairy cows on confined TMR systems. *Animal.* 8, 211-221.

DOI: 10.1017/S1751731114000512

CAÑAS-ÁLVAREZ, J. J., A. GÓNZALEZ-RODRÍGUEZ, D. MARTÍN-COLLADO, C. AVILÉS, J. ALTARRIBA, J. A. BARO, L. F. DE LA FUENTE, C. DÍAZ, A. MOLINA, L. VARONA, J. PIEDRAFITA (2014): Monitoring changes in the demographic and genealogical structure of the main Spanish local beef breeds. *J. Anim. Sci.* 92, 4364-4374.

DOI: 10.2527/jas.2013-7420

CARDOSO, R. C., S. M. WEST, T. S. MAIA, B. R. C. ALVES, G. L. WILLIAMS (2020): Nutritional control of puberty in the bovine female: prenatal and early postnatal regulation of the neuroendocrine system. *Domest. Anim. Endocrinol.* 73, 106434.

DOI: 10.2527/jas.2014-7713

CAROLINO, N., L. T. GAMA (2008): Inbreeding depression on beef cattle traits: estimates, linearity of effects and heterogeneity among sire-families. *Genet. Sel. Evol.* 40, 511-527.

DOI: 10.1186/1297-9686-40-5-511

CAROLINO, N., A. VITTORINO, I. CAROLINO, J. PAIS, N. HENRIQUES, M. SILVEIRA, A. VICENTE (2020): Genetic diversity in the Portuguese Mertolenga cattle breed assessed by pedigree analysis. *Animals*. 10, 1990.

DOI: 10.3390/ani10111990

CARVAJAL, A. M., P. HUIRCAN, J. M. DEZAMOUR, I. SUBIABRE, B. KERR, E. M. UNGERFELD (2016): Milk fatty acid profile is modulated by DGAT1 and SCD1 genotypes in dairy cattle on pasture and strategic supplementation. *Genet. Mol. Res.* 15, gmr.15027057.

DOI: 10.4238/gmr.15027057

CASADO, M. E., R. COLLADO-PÉREZ, L. M. FRAGO, C. BARRIOS (2023): Recent advances in the knowledge of the mechanisms of leptin physiology and actions in neurological and metabolic pathologies. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 1422.

DOI: 10.3390/ijms24021422

CERDÁ-REVERTER, J. M., D. LARHAMMAR (2000): Neuropeptide Y family of peptides: Structure, anatomical expression, function, and molecular evolution. *Biochem. Cell Biol.* 78, 371-392.

DOI: 10.1139/bcb-78-3-371

CHARLESWORTH, D., J. H. WILLIS (2009): The genetics of inbreeding depression. *Nat. Rev. Genet.* 10, 783-796.

DOI: 10.1038/nrg2664

CHEBEL, R. C., F. SUSCA, J. E. SANTOS (2008): Leptin genotype is associated with lactation performance and health of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 91, 2893-2900.

DOI: 10.3168/jds.2007-0891

CHEBEL, R. C., J. E. SANTOS (2011): Association between leptin single nucleotide polymorphism and reproductive performance of lactating Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 127, 126-134.

DOI: 10.1016/j.anireprosci.2011.06.011

CHENOWETH, P. J. (2015): Bull health and breeding soundness. U: Cockcroft P. D., Bovine medicine. Wiley Blackwell, 246-261.

CHILDS, G. V., A. K. ODLE, M. C. MACNICOL (2021): The importance of leptin to Reproduction. *Endocrinology*. 162, bqaa204
DOI: 10.1210/endocr/bqaa204

CHUD, T. C. S., L. S. L. CAETANO, M. E. BUZANSKAS, D. A. GROSSI, D. G. F. GUIDOLIN, G. B. NASCIMENTO, J. O. ROSA, R. B. LÔBO, D. P. MUNARI (2014): Genetic analysis for gestation length, birth weight, weaning weight, and accumulated productivity in Nellore beef cattle. *Livest. Sci.* 170, 16-21.
DOI: 10.1016/j.livsci.2014.09.024

CHUNG, E. R., S. C. SHIN, K. H. SHIN, K. Y. CHUNG (2008): SNP discovery in the leptin promoter gene and association with meat quality and carcass traits in Korean cattle. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 21, 1689-1695.
DOI: 10.5713/ajas.2008.80112

CLAUS, L. A. M., C. K. JÚNIOR, V. M. ROSO, H. F. BORGES, J. O. J. BARCELLOS, E. L. A. RIBEIRO (2017): Genetic parameters of age at first calving, weight gain, and visual scores in Nelore heifers. *R. Bras. Zootec.* 46, 303-308.
DOI: 10.3390/ani10112122

CLEMPSON, A. M., G. E. POLLOTT, J. S. BRICKELL, N. E. BOURNE, N. MUNCE, D. C. WATHES (2011): Evidence that leptin genotype is associated with fertility, growth, and milk production in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 94, 3618-3628.
DOI: 10.3168/jds.2010-3626

COPLEY, J. P., B. N. ENGLE, S. SPEIGHT, G. FORDYCE, B. J. WOOD, K. P. VOSS-FELS, B. J. HAYES (2022): Environmental variation effects fertility in tropical beef cattle. *Transl. Anim. Sci.* 6, txac035.
DOI: 10.1093/tas/txac035

CORTÉS, O., N. SEVANE, J. A. BARO, J. CAÑÓN (2014): Pedigree analysis of a highly fragmented population, the Lidia cattle breed. *Livest. Sci.* 167, 1-8.

DOI: 10.1016/j.livsci.2014.05.011

CORLU, C. G., A AKCAY, W. XIE (2020): Stochastic simulation under input uncertainty: A Review. *Oper. Res. Perspect.* 7, 100163.

DOI: 10.1016/j.orp.2020.100162

CORVA, P. M., G. V. FERNÁNDEZ MACEDO, L. A. SORIA, J. PAPALEO MAZZUCCO, M. MOTTER, E. L. VILLARREAL, A. SCHOR, C. A. MEZZADRA, L. M. MELUCCI, M. C. MIQUEL (2009): Effect of leptin gene polymorphisms on growth, slaughter and meat quality traits of grazing Brangus steers. *Genet. Mol. Res.* 8, 105-116.

DOI:10.4238/vol8-1gmr556

CROWE, M. A., M. HOSTENS, G. OPSOMER (2018): Reproductive management in dairy cows - the future. *Ir. Vet. J.* 71, 1.

DOI: 10.1186/s13620-017-0112-y

CUNNINGHAM, M. J., D. K. CLIFTON, R. A. STEINER (1999): Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. *Biol. Reprod.* 60, 216–222.

DOI: 10.1095/biolreprod60.2.216

CUSHMAN, R. A., G. A. BRITT, J. H. BRITT (2018): Current understanding of factors influencing antral follicle count and applications to reproductive management in cattle. *J. Anim. Sci.* 96, 21-22.

DOI: 10.1093/jas/sky073.037

CUSHMAN, R. A., A. K. MCNEEL, H. C. FREETLY (2014): The impact of cow nutrient status during the second and third trimesters on age at puberty, antral follicle count, and fertility of daughters. *Livest. Sci.* 162, 252-258.

DOI: 10.1016/j.livsci.2014.01.033

CURONE, G., J. FELIPE, P. CREMONESI, E. TREVISI, M. AMADORI, C. POLLERA, B. CASTIGLIONI, L. TURIN, V. TEDDE, D. VIGO, P. MORONI, A. MINUTI, V. BRONZO, M. F. ADDIS, F. RIVA (2018): What we have lost: mastitis resistance in Holstein Friesians and in a local cattle breed. *Res. Vet. Sci.* 116, 88-98.

DOI:10.1016/j.rvsc.2017.11.020

CURONE, G., M. ZANINI, S. PANSERI, C. COLOMBANI, P. MORONI, F. RIVA, M. FAUSTINI (2016): Milk ketone bodies assessment in a local italian cow breed (Modenese) vs. Holstein and characterization of its physiological, reproductive and productive performances. *IJOEAR*. 2, 15-22.

DOI: 10.13130/2283-3927/7072

ČAČIĆ, M., M. ŠPEHAR, D. JANDA, V. BULIĆ, Z. IVKIĆ, A. KLJUJEV, R. JUREKOVIĆ, Z. BARAĆ (2012a): Breeding systematization of autochthonous cattle breed Busha. *Stočarstvo*. 66, 21-40.

ČAČIĆ, M., M. ŠPEHAR, D. JANDA, V. BULIĆ, Z. IVKIĆ, A. KLJUJEV, R. JUREKOVIĆ, Z. BARAĆ (2012b): Effective population size of autochthonous cattle breed Busha. *Stočarstvo*. 66, 123-125.

ČAČIĆ, M., M. ŠPEHAR, D. JANDA, V. BULIĆ, Z. IVKIĆ, A. KLJUJEV, R. JUREKOVIĆ, Z. BARAĆ (2012c): Inbreeding of autochthonous cattle breed Busha. *Stočarstvo*. 66, 107-122.

ČAČIĆ, M., M. ŠPEHAR, D. JANDA, V. BULIĆ, Z. IVKIĆ, R. JUREKOVIĆ, Z. BARAĆ (2012d): Estimation of genetic diversity using probabilities of gene origin of autochthonous cattle breed Busha. *Stočarstvo*. 66, 41-54.

ČAČIĆ, M., V. OREHOVAČKI, M. VUKOBRATOVIĆ, M. M. DRAZIĆ, A. SMETKO, T. PALEŠIĆ, V. ČUBRIĆ ČURIK, I. ČURIK (2015): Uloga banke gena u očuvanju izvornih pasmina domaćih životinja. *Stočarstvo*. 69, 85-92.

D'OCCHIO, M. J., P. S. BARUSELLI, G. CAMPANILE (2019): Influence of nutrition, body condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: a review. *Theriogenology*. 125, 277-284.

DOI: 10.1016/j.theriogenology.2018.11.010

DOVOLOU, E., T. GIANNOULIS, I. NANAS, G. S. AMIRIDIS (2023): Heat stress: a serious disruptor of the reproductive physiology of dairy Cows. *Animals*. 13, 1846.

DOI: 10.3390/ani13111846

DA SILVA, R. C., J. B. FERRAZ, F. V. MEIRELLES, J. P. ELER, J. C. C. BALIEIRO, D. C. CUCCO, E. C. MATTOS, F. M. REZENDE, S. L. SILVA (2012): Association of single nucleotide polymorphisms in the bovine leptin and leptin receptor genes with growth and ultrasound carcass traits in Nellore cattle. *Genet. Mol. Res.* 11, 3721-3728.

DOI: 10.4238/2012.August.17.10

DAHL, G. E., B. A. BUCHANAN, H. A. TUCKER (2002): Photoperiodic effects on dairy cattle: a review. *J. Dairy Sci.* 83, 885-893.

DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)74952-6

DAMIRAN, D., K. A. LARSON, L. T. PEARCE, N. E. ERICKSON, B. H. A. LARDNER (2018): Effect of calving period on beef cow longevity and lifetime productivity in western Canada. *Transl. Anim. Sci.* 2, 61-65.

DOI: 10.1093/tas/txy020

DANCHIN-BURGE, C., G. LEROY, M. BROCHARD, S. MOUREAUX, E. VERRIER (2012): Evolution of the genetic variability of eight French dairy cattle breeds assessed by pedigree analysis. *J. Anim. Breed. Genet.* 29, 206-217.

DOI: 10.1111/j.1439-0388.2011.00967.x

DAY, M. L., G. P. NOGUEIRA (2013): Management of age at puberty in beef heifers to optimize efficiency of beef production. *Anim. Front.* 3, 6-11.

DOI: 10.2527/af.2013-0027

DE MATTEIS, G., M. C. SCATÁ, F. GRANDONI, F. PETRERA, F. ABENI, G. CATILLO, F. NAPOLITANO, B. MOIOLI (2012): Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the leptin and leptin receptor genes on milk and morphological traits in Holstein cows. *Open. J. Anim. Sci.* 2, 174-182.

DOI: 10.4236/ojas.2012.23024

DE OLIVEIRA, J. A., C. M. D. CUNHA, B. D. A. CRISPIM, L. D. O SENO, A. R. M. FERNANDES, G. D. P. NOGUEIRA, A. B. GRISOLIA (2013): Association of the leptin gene with carcass characteristics in Nellore cattle. *Anim. Biotechnol.* 24, 229-242.

DOI: 10.1080/10495398.2013.770008

DE REZENDE, M. P. G., C. H. M. MALHADO, S. BIFFANI, P. L. S. CARNEIRO, J. A. CARRILLO, R. BOZZI (2020): Genotype-environment interaction for age at first calving in Limuzin and Charolais cattle raised in Italy, employing reaction norm model. *Livest. Sci.* 232, 103912.

DOI: 10.1016/j.livsci.2019.103912

DI YORIO, M. P., M. G. BILBAO, M. C. PUSTOVRH, J. P. PRESTIFILIPPO, A. G. FALETTI (2008): Leptin modulates the expression of its receptors in the hypothalamic-pituitary-ovarian axis in a differential way. *J. Endocrinol.* 198, 355-366.

DOI: 10.1677/JOE-07-0622

DISKIN, M. G., D. A. KENNY (2014): Optimising reproductive performance of beef cows and replacement heifers. *Animal.* 8, 27-39.

DOI:10.1017/S175173111400086X

DISKIN, M. G., D. A. KENNY (2016): Managing the reproductive performance of beef cows. *Theriogenology.* 86, 379-387.

DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.052

DOEKES, H. P., P. BIJMA, J. J. WINDIG (2021): How depressing is inbreeding? A meta-analysis of 30 years of research on the effects of inbreeding in livestock. *Genes.* 12, 926.

DOI:10.3390/genes12060926

DOEKES, H. P., P. BIJMA, R. F. C. VEERKAMP, G. DE JONG, Y. C. J. WIENTJES, J. J. WINDIG (2020): Inbreeding depression across the genome of Dutch Holstein Friesian dairy cattle. *Genet. Sel. Evol.* 52, 64.

DOI: 10.1186/s12711-020-00583-1

DOEKES, H. P., R. F. VEERKAMP, P. BIJMA, G. DE JONG, S. J. HIEMSTRA, J. J. WINDIG (2019): Inbreeding depression due to recent and ancient inbreeding in Dutch Holstein-Friesian dairy cattle. *Genet. Sel. Evol.* 51, 54.

DOI: 10.1186/s12711-019-0497-z

DOUBLET, A. C., P. CROISEAU, S. FRITZ, A. MICHENET, C. HOZÉ, C. DANCHIN-BURGE, D. LALOË, G. RESTOUX (2019): The impact of genomic selection on genetic diversity and genetic gain in three French dairy cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.* 51, 52.

DOI: 10.1186/s12711-019-0495

EASTHAM, N. T., A. COATES, P. CRIPPS, H. RICJARDSON, R. SMITH, G. OIKONOMOU (2018): Associations between age at first calving and subsequent lactation performance in UK Holstein and Holstein-Friesian dairy cows. *PLoS One.* 13, e0197764.

DOI:10.1371/journal.pone.0244825

ECHTERNKAMP, S. E., R. M. THALLMAN, R. A. CUSHMAN, M. F. ALLAN, K. E. GREGORY (2007): Increased calf production in cattle selected for twin ovulations. *J. Anim. Sci.*, 85, 3239-3248. DOI: 10.2527/jas.2007-0210

ETTEMA, J. F., J. E. P. SANTOS (2004): Impact of age at calving on lactation, reproduction, health, and income in first-parity Holsteins on commercial farms. *J. Dairy Sci.* 87, 2730-2742.

DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73400-1

FABBRI, M. C., M. P. G. DE REZENDE, C. DADOUSIS, S. BIFFANI, R. NEGRINI, P. L. SOUZA CARNEIRO, R. BOZZI (2019): Population structure and genetic diversity of Italian beef breeds as a tool for planning conservation and selection strategies. *Animals.* 9, 880.

DOI: 10.3390/ani9110880

FANG, L., J. JIANG, B. LI, Y. ZHOU, E. FREEBERN, P. M. VANRADEN, J. B. COLE, G. E. LIU, L. MA (2019): Genetic and epigenetic architecture of paternal origin contribute to gestation length in cattle. *Commun. Biol.* 2, 100.

DOI: 10.1038/s42003-019-0341-6

FAO (2015): The second report on the state of the world's Animal genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organisations, Rome, Italy. Food and Agriculture Organisations (FAO), Status and Trends of Animal Genetic Resources 2019. <http://www.fao.org/3/my867en/my867en.pdf>

FELIUS, M., M. L. BEERLING, D. S. BUCHANAN, B. THEUNISSEN, P. A. KOOLMEES, J. A. LENSTRA (2014): On the history of cattle genetic resources. *Diversity*. 4, 705-750. DOI:10.3390/d6040705

FERNÁNDEZ, J., T. H. E. MEUWISSEN, M. A. TORO, A. MÄKI-TANILA (2011): Management of genetic diversity in small farm animal populations. *Animal*. 5, 1684-1698. DOI:10.1017/S1751731111000930

FERREIRA, M. F. L., L. N. RENNÓ, I. I. RODRIGUES, E. DETMANN, M. F. PAULINO, S. DE CAMPOS VALADARES FILHO, H. C. MARTINS, S. S. MOREIRA, D. S. DE LANA (2021): Effects of parity order on performance, metabolic, and hormonal parameters of grazing beef cows during pre-calving and lactation periods. *BMC Vet. Res.* 17, 311. DOI: 10.1186/s12917-021-03019-0

FETISSOV, S. O., J. KOPP, T. HOKFELT (2004): Distribution of NPY receptors in the hypothalamus. *Neuropeptides*. 38, 175-188. DOI: 10.1016/j.npep.2004.05.009

FIORETTI, M., R. NEGRINI, S. BIFFANI, A. QUAGLIA, A. VALENTINI, A. NARDONE (2020): Demographic structure and population dynamics of Maremmana cattle local breed after 35 years of traditional selection. *Livest. Sci.* 232, 103903. DOI: 10.1016/j.livsci.2019.103903

FODOR, I., G. GÁBOR, Z. LANG, Z. ABONYI-TÓTH, L. ÓZSVÁRI (2019): Relationship between reproductive management practices and fertility in primiparous and multiparous dairy cows. *Can. J. Vet. Res.* 83, 218-227.

FONSECA, P. A. S., S. ID-LAHOUCINE, A. REVERTER, J. F. MEDRANO, M. S. FORTES, J. CASELLAS, F. MIGLIOR, L. BRITO, M. R. S. CARVALHO, F. S. SCHENKEL, L. T. NGUYEN, L. R. PORTO-NETO, M. G. THOMAS, A. CÁNOVAS (2018): Combining multi-OMICs information to identify key-regulator genes for pleiotropic effect on fertility and production traits in beef cattle. *PLoS One*. 13, e0205295.
DOI: 10.1371/journal.pone.0205295

FORTES, M. R., K. L. DEATLEY, S. A. LEHNERT, B. M. BURNS, A. REVERTER, R. J. HAWKEN, G. BOE-HANSEN, S. S. MOORE, M. G. THOMAS (2013): Genomic regions associated with fertility traits in male and female cattle: advances from microsatellites to high-density chips and beyond. *Anim. Reprod. Sci.* 141, 1-19.
DOI: 10.1016/j.anireprosci.2013.07.002

FOUZ, R., F. GANDOY, M. L. SANJUÁN, E. YUS, F. J. DIÉGUEZ (2013): The use of crossbreeding with beef bulls in dairy herds: effects on calving difficulty and gestation length. *Animal*. 7, 211-215.
DOI:10.1017/S1751731112001656

FRANGEŠ, O. (1895a): Podolska pasmina i buša. *Gospodarski list*. 20, 57-158.

FRANGEŠ, O. (1895b): Podolska pasmina i buša. *Gospodarski list*. 21, 163-164.

FRANGEŠ, O. (1903): Die Buša. PhD Thesis. Faculty of Social Sciences and Philosophy. University of Leipzig, Leipzig, Germany.

FRANKHAM, R. (1999): Quantitative genetics in conservation biology. *Genet. Res.* 74, 237-244.
DOI: 10.1017/s001667239900405x

FRANKHAM, R., C. J. A. BRADSHAW, B. W. BROOK (2014): Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, red list criteria and population viability analyses. *Biol. Conserv.* 170, 56-63.

DOI: 10.1016/j.biocon.2013.12.036

FRANKHAM, R., S. E. J. D. BALLOU, D. A. BRISCOE, J. D. BALLOU (2002): *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

GALLUZZO, F. G. VISENTIN, J. B. C. H. M. VAN KAAM, R. FINOCCHIARO, S. BIFFANI, A. COSTA, M. MARUSI, M. CASSANDRO (2024): Genetic evaluation of gestation length in Italian Holstein breed. *J. Anim. Breed. Genet.* 141, 113-123.

DOI: 10.1111/jbg.12828

GANDINI, G. C., E. VILLA (2003): Analysis of the cultural value of local livestock breeds: a methodology. *J. Anim. Breed. Genet.* 120, 1-11.

DOI: 10.1046/j.1439-0388.2003.00365.x

GARCÍA-ATANCE, M. A., C. CARLEOS, S. ANDRINO, J. R. JUSTO, C. J. RIVERO, M. FERNÁNDEZ, J. CAÑON, O. CORTES (2023): Genetic diversity of five Galician (Northwestern Spain) local primitive bovine breeds using pedigree records. *Diversity*. 15, 252.

DOI: 10.3390/d15020252

GAUTIER, M., K. MOAZAMI-GOUDARZI, H. LEVÉZIEL, H. PARINELLO, C. GROHS, S. RIALLE, R. KOWALCZYK, L. FLORI (2016): Deciphering the wisent demographic and adaptive histories from individual whole-genome sequences. *Mol. Biol. Evol.* 33, 2801-2814.

DOI: 10.1093/molbev/msw144

GEHLERT, D. R. (2004): Introduction to the reviews on neuropeptide Y. *Neuropeptides*. 38, 135-140.

DOI: 10.1016/j.npep.2004.07.002

GIBLIN, L., S. T. BUTLER, B. M. KEARNEY, S. M. WATERS, M. J. CALLANAN, D. P. BERRY (2010): Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires. BMC Genet. 11, 73.
DOI: 10.1186/1471-2156-11-73

GLANTZ, M., M. H. LINDMARK, H. STÅLHAMMER, M. PAULSSON (2011): Effect of polymorphisms in the leptin, leptin receptor, and acyl-coenzyme A: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) genes and genetic polymorphism of milk proteins on cheese characteristics. J. Dairy Sci. 94, 3295-3304.
DOI: 10.3168/jds.2011-4317

GONZALES, C., M. J. VOIROL, M. GIACOMINI, R. C. GAILLARD, T. PEDRAZZINI, F. P. PRALONG (2004): The neuropeptide Y Y1 receptor mediates NPY-induced inhibition of the gonadotrope axis under poor metabolic conditions. FASEB J. 18, 137-139.
DOI: 10.1096/fj.03-0189fje

GONZÁLEZ-CANO, R., A. GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, M. E. MUÑOZ-MEJÍAS, P. VALERA, E. RODERO (2022): Analyses of genetic diversity in the endangered "Berrenda" Spanish cattle breeds using pedigree data. Animals. 12, 249.
DOI: 10.3390/ani12030249

GONZÁLEZ-RECIO, O., M. A. PÉREZ-CABAL, R. ALENDA (2004): Economic value of female fertility and its relationship with profit in Spanish dairy cattle. J. Dairy Sci. 87, 3053-3061.
DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73438-4

GORSKA, E., K. POPKO, A. STELMASZCZYK-EMMEL, O. CIEPIELA, A. KUCHARSKA, M. WASIK (2010): Leptin receptors. Eur. J. Med. Res. 15, 50-54.
DOI: 10.1186/2047-783x-15-s2-50

GOYACHE, F., J. P. GUTIÉRREZ, I. FERNÁNDEZ, L. J. ROYO, I. ÁLVAREZ (2005): Genetic analysis of days open in beef cattle. Livest. Prod. Sci. 93, 283-289.
DOI: 10.1016/j.livprodsci.2004.10.002

GRANDIN, T. (2022): Grazing cattle, sheep, and goats are important parts of a sustainable agricultural future. *Animal*. 12, 2092.

DOI: 10.3390/ani12162092

GRIMARD, B. S. FRERET, A. CHEVALLIER, A. PINTO, C. PONSART, P. HUMBLLOT (2006): Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds. *Anim. Reprod. Sci.* 91, 31-44.

DOI: 10.1016/j.anireprosci.2005.03.003

GROENEVELD, L. F, J. A. LENSTRA, H. EDING, M. A. TORO, B. SCHERF, D. PILLING, R. NEGRINI, E. K. FINLAY, H. JIANLIN, E. GROENEVELD, S. WEIGEND (2010): Genetic diversity in farm animals - a review. *Anim. Genet.* 41, 6-31.

DOI: 10.1111/j.1365-2052.2010.02038.x

GROSSI, D. A., M. P. BERTON, M. E. BUZANSSKAS, T. C. S. CHUD, N. V. GRUPIONI, C. C. PARO DE PAZ, R. B. LÔBO, D. P. MUNARI (2016): Genetic analysis on accumulated productivity and calving intervals in Nelore cattle. *Trop. Anim. Health Prod.* 48, 207-210.

DOI: 10.1007/s11250-015-0915-3

GUO, Y., H. CHEN, X. LAN, B. ZHANG, C. PAN, L. ZHANG, C. ZHANG, M. ZHAO (2008): Novel SNPs of the bovine LEPR gene and their association with growth traits. *Biochem. Genet.* 46, 828-834.

DOI: 10.1007/s10528-008-9197-z

GUTIÉRREZ, J. P., F. GOYACHE (2005): A note on ENDOG: a computer program for analyzing pedigree information. *J. Anim. Breed. Genet.* 122, 172-176.

DOI: 10.1111/j.1439-0388.2005.00512.x

GUTIÉRREZ, J. P., I. ÁLVAREZ, I. FERNÁNDEZ, L. J. ROYO, J. DÍEZ, F. GOYACHE (2002): Genetic relationships between calving date, calving interval, age at first calving and type traits in beef cattle. *Livest. Prod. Sci.* 78, 215-222.

DOI: 10.1016/S0301-6226(02)00100-8

GUTIÉRREZ, J. P., J. ALTARRIBA, C. DÍAZ, R. QUINTANILLA, J. CAÑON, J. PIEDRAFITA (2003): Pedigree analysis of eight Spanish beef cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.* 35, 43-63.

DOI: 10.1186/1297-9686-35-1-43

GUTIÉRREZ-REINOSO, M. A., P. M. APONTE, M. GARCÍA-HERREROS (2022): A review of inbreeding depression in dairy cattle: current status, emerging control strategies, and future prospects. *J. Dairy Res.* 89, 3-12.

DOI: 10.1017/S0022029922000188

HAEGEMAN, A., A. VAN ZEVEEREN, L. J. PEELMAN (2000): New mutation in exon 2 of the bovine leptin gene. *Anim. Genet.* 31, 79.

DOI: 10.1111/j.1365-2052.2000.579-14.x

HANSEN, P., L. KAMWANJA, E. HANSEN (1983): Photoperiod influences age at puberty of heifers. *J. Anim. Sci.* 57, 985-992.

DOI: 10.2527/jas1983.574985x

HINRICHS, D., J. BENNEWITZ, R. WELLMANN, G. THALLER (2015): Estimation of ancestral inbreeding effects on stillbirth, calving ease and birthweight in German Holstein dairy cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* 132, 59-67.

DOI: 10.1111/jbg.12114

HOUSEKNECHT, K. L., C. A. BAILE, R. L. MATTERI, M. E. SPURLOCK (1998): The biology of leptin: a review. *J. Anim. Sci.* 76, 1405-1420.

DOI: 10.2527/1998.7651405x

HOWARD, J. T., J. E. PRYCE, C. BAES, C. MALTECCA (2017): Invited review: Inbreeding in the genomics era: inbreeding, inbreeding depression, and management of genomic variability. *J. Dairy Sci.* 100, 6009-6024.

DOI: 10.3168/jds.2017-12787

HRISTOV, P., D. SIRAKOVA, I. MITKOV, N. SPASSOV, G. RADOSLAVOV (2016): Balkan brachicerous cattle-the first domesticated cattle in Europe, Mitochondrial DNA Part A Mapp. Seq. Anal. 29, 56-61.

DOI: 10.1080/24701394.2016.1238901

HRISTOV, P., D. TEOFANOVA, B. NEOV, G. RADOSLAVOV (2015): Haplotype diversity in autochthonous Balkan cattle breeds. Anim. Genet. 46, 92-94.

DOI: 10.1111/age.12253

HRISTOV, P., N. SPASSOV, N. ILIEV, G. RADOSLAVOV (2017): An independent event of Neolithic cattle domestication on the South-eastern Balkans: evidence from prehistoric aurochs and cattle populations. Mitochondrial DNA A DNA Mapp. Seq. Anal. 28, 383-391.

DOI: 10.3109/19401736.2015.1127361

HUISMAN, J., L. E. KRUUK, P. A. ELLIS, T. CLUTTON-BROCK, J. M. PEMBERTON (2016): Inbreeding depression across the lifespan in a wild mammal population. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 113, 3585-3590.

DOI: 10.1073/pnas.1518046113

HUNTER, M. E., S. M. HOBAN, M. W. BRUFORD, G. SEGELBACHER, L. BERNATCHEZ (2018): Next-generation conservation genetics and biodiversity monitoring. Evol. Appl. 11, 1029-1034.

DOI: 10.1111/eva.12661

IVANKOVIĆ, A., J. RAMLJAK, G. ŠUBARA, M. PEĆINA, E. ŠURAN, Z. IVKIĆ, M. KONJAČIĆ (2022): Evaluation of the Istrian cattle population structure by pedigree analysis. Proceedings of 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP). 3. - 9. lipnja, Rotterdam, Netherlands. 919-922.

IVANKOVIĆ, A., M. KONJAČIĆ, D. STRUČIĆ, J. RAMLJAK (2016): Odlike mliječnosti i kemijskog sastava mlijeka buše. Zbornik sažetaka 42. hrvatskog simpozija mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem, 9. - 12. studenoga, Lovran, Hrvatska, 25-26.

JACQUES, A., G. LEROY, X. ROGNON, E. VERRIER, M. TIXIER-BOICHARD, G. RESTOUX (2023): Reintroducing genetic diversity in populations from cryopreserved material: the case of Abondance, a French local dairy cattle breed. *Genet. Sel. Evol.* 55, 28.
DOI: 10.1186/s12711-023-00801-6

JAMES, J. W. (1972): Computation of genetic contributions from pedigrees. *Theor. Appl. Genet.* 42, 272-273.
DOI: 10.1007/BF00277555

JAMES, J. W. (1977): A note on selection differentials and generation length when generations overlap. *Anim. Prod.* 24, 109-112.
DOI:10.1017/S0003356100039271

JARNECKA, O., E. A. BAUER, W. JAGUSIAK (2021): Pedigree analysis in the Polish Red cattle population. *Animal.* 15, 100238.
DOI: 10.1016/j.animal.2021.100238

JECMINKOVA, K., U. MÜLLER, J. KYSELOVA, Z. SZTANKOOVA, L. ZAVADILOVA, M. STIPKOVA, I. MAJZLIK (2018): Association of leptin, toll-like receptor 4, and chemokine receptor of interleukin 8 C-X-C motif single nucleotide polymorphisms with fertility traits in Czech Fleckvieh cattle. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 31, 1721-1728.
DOI: 10.5713/ajas.17.0900

JENKINS, G. M., P. AMER, K. STACHOWICZ, S. MEIER (2016): Phenotypic associations between gestation length and production, fertility, survival, and calf traits. *J. Dairy Sci.* 99, 418-26.
DOI: 10.3168/jds.2015-9934

JOHNSSON, M. (2023): Genomics in animal breeding from the perspectives of matrices and molecules. *Hereditas.* 160, 20.
DOI:10.1186/s41065-023-00285-w

KADLEČÍK, O., E. HAZUCHOVÁ, I. PAVLÍK, R. KASARDA (2013): Diversity of cattle breeds in Slovakia. *Slovak J. Anim. Sci.* 46, 145-150.

DOI:

KADLEČÍK, O., I. PAVLIK, N. MORAVČÍKOVÁ, R. KASARDA (2016): Inbreeding and genetic diversity loss of four cattle beef breeds in Slovakia. *Acta fytotechn. Zootechn.* 19, 59-63.

DOI: 10.15414/afz.2016.19.02.59-63

KALRA, S. P., P. S. KALRA (2004): NPY and cohorts in regulating appetite, obesity and metabolic syndrome: beneficial effects of gene therapy. *Neuropeptides.* 38, 201-211.

DOI: 10.1016/j.npep.2004.06.003

KANTANEN, J., C. J. EDWARDS, D. G. BRADLEY, H. VIINALASS, S. THESSLER, Z. IVANOVA, T. KISELYOVA, M. CINKULOV, R. POPOV, S. STOJANOVIĆ, I. AMMOSOV, J. VILKKI (2009): Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (*Bos taurus*). *Heredity.* 103, 404-415.

DOI: 10.1038/hdy.2009.68

KAWAGUCHI, F., K. OKURA, K. OYAMA, H. MANNEN, S. SASAZAKI (2017): Identification of leptin gene polymorphisms associated with carcass traits and fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Anim. Sci. J.* 88, 433-438.

DOI: 10.1111/asj.12672

KENNY, D. A., J. HESLIN, C. J. BRYNE (2017): Early onset of puberty in cattle: implications for gamete quality and embryo survival. *Reprod. Fertil. Dev.* 30, 101-117.

DOI: 10.1071/RD17376

KING, E. H. (2015): Management of breeding bull batteries. U: *Bovine reproduction.* (Hopper, R. M., ur.), Ames, IA: Wiley Blackwell, 92-96.

KLEMENČIĆ, M. (1993): Croatia - past and present location, position, territory, borders, regions. *Acta Geogr. Croat.* 28, 23-28.

KLINGENBERG, C. P. (2019): Phenotypic plasticity, developmental instability, and robustness: The concepts and how they are connected. *Front. Ecol. Evol.* 7, 56.

DOI: 10.3389/fevo.2019.00056

KOMISAREK, J. (2010): Impact of LEP and LEPR gene polymorphisms on functional traits in Polish Holstein-Friesian cattle. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 28, 133-141.

KOMISAREK, J., I. ANTKOWIAK (2007): The relationship between leptin gene polymorphisms and reproductive traits in Jersey cows. *Pol. J. Vet. Sci.* 10, 193-197.

KOMISAREK, J., Z. DORYNEK (2006): The relationship between the T945M single nucleotide polymorphism in the leptin receptor gene (LEPR) and milk production traits in Jersey cows. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 24, 271-277.

KONFORTOV, B. A., V. E. LICENCE, J. R. MILLER (1999): Re-sequencing of DNA from a diverse panel of cattle reveals a high level of polymorphism in both intron and exon. *Mamm. Genome.* 10, 1142-1145.

DOI: 10.1007/s003359901180

KONONOFF, P. J., P. J. DEFOOR, M. J. ENGLER, R. S. SWINGLE, J. F. GLEGHORN, S. T. JAMES, F. L. MARQUESS (2017): Impacts of a leptin SNP on growth performance and carcass characters in finishing steers studied over time. *J. Anim. Sci.* 95, 194-200.

DOI: 10.2527/jas.2016.0926

KONJAČIĆ, M., A. IVANKOVIĆ, P. CAPUT, P. MIJIĆ, D. PRANIĆ (2004): Buša u Hrvatskoj. *Stočarstvo.* 58, 163-177.

KRISTENSEN, T. N., A. A. HOFFMANN, C. PERTOLDI, A. V. STRONEN (2015): What can livestock breeders learn from conservation genetics and vice versa? *Front. Genet.* 6, 38.

DOI: 10.3389/fgene.2015.00038

KRISTENSEN, T. N., A. C. SØRENSEN (2005): Inbreeding - lessons from animal breeding, evolutionary biology and conservation genetics. *Animal*. 80, 121-123.

DOI:10.1079/ASC41960121

KRPÁLKOVÁ, L., V. E. CABRERA, J. KVAPILÍK, J. BURDYCH, P. CRUMP (2014): Associations between age at first calving, rearing average daily weight gain, herd milk yield and dairy herd production, reproduction, and profitability. *J. Dairy Sci.* 97, 6573-6582.

DOI: 10.3168/jds.2013-7497

KULIG, H., M. KMIEĆ (2009): Association between leptin gene polymorphisms and growth traits in Limousin cattle. *Russ. J. Genet.* 45, 738-741.

KULIG, H., M. KMIEĆ, I. KOWALEWSKA-LUCZAK, G. ANDZIAK (2009): Effect of leptin gene polymorphisms on milk production traits of Jersey cows. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 33, 143-146.

DOI: 10.3906/vet-0710-10

KUNKLE, W. E., R. S. SAND, D. O. RAE (2021): Effect of body condition on productivity in beef cattle. In: *Factors affecting calf crop*. CRC Press, pp. 167-178.

LACERDA, V. V., G. S. CAMPOS, V. M. ROSO, F. R. P. SOUZA, C. C. BRAUNER, A. A. BOLIGON (2018): Effect of mature size and body condition of Nelore females on the reproductive performance. *Theriogenology*. 118, 27-33.

DOI: 10.1016/j.theriogenology.2018.05.036

LACY, R. C. (1989): Analysis of founder representations in pedigrees: Founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biol.* 8, 111-123.

DOI: 10.1002/zoo.1430080203

LAGONIGRO, R., P. WIENER, F. PILLA, J. A. WOOLLIAMS, J. L. WILLIAMS (2003): A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. *Anim. Genet.* 34, 371-374.

DOI: 10.1046/j.1365-2052.2003.01028.x

LAMB, G. C. (2013): Criteria for selecting replacements at weaning, before breeding, and after breeding. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 29, 567-578.

DOI: 10.1016/j.cvfa.2013.07.003

LASAGNA, E., S. CECCOBELLI, P. DI LORENZO, A. ALBERA, F. FILIPPINI, F. M. SARTI, F. PANELLA, L. DI STASIO (2020): Comparison of four Italian beef cattle breeds by means of functional genes. *Ital. J. Anim. Sci.*, 14, 3465.

DOI: 10.4081/ijas.2015.3465

LASECA, N., C. ZIADI, D. I. PERDOMO-GONZALEZ, M. VALERA, S. DEMYDA-PEYRAS, A. MOLINA (2024): Reproductive traits in Pura Raza Española mares manifest inbreeding depression from low levels of homozygosity. *J. Anim. Breed. Genet.* 141, 453-464.

DOI: 10.1111/jbg.12856

LEAN, I. J., M. C. LUCY, J. P. MCNAMARA, B. J. BRADFORD, E. BLOCK, J. M. THOMSON, J. M. MORTON, P. CELI, A. R. RABIEE, J. E. SANTOS, W. W. THATCHER, S. J. LEBLANC (2016): Invited review: Recommendations for reporting intervention studies on reproductive performance in dairy cattle: Improving design, analysis, and interpretation of research on reproduction. *J. Dairy Sci.* 99, 1-17.

DOI: 10.3168/jds.2015-9445

LE DUC, C. A., A. A. SKOWRONSKI, M. ROSENBAUM (2021): The role of leptin in the development of energy homeostatic systems and the maintenance of body weight. *Front. Physiol.* 12, 789519.

DOI: 10.3389/fphys.2021.789519

LENSTRA, J. A., D. G. BRADLEY (1999): Systematics and phylogeny of cattle. U: *The Genetics of Cattle*. (Fries, R., A. Ruvinsky, ur.), CAB International, Wallingford, 1-14.

LENSTRA, J. A., L. F. GROENEVELD, H. EDING, J. KANTANEN, J. L. WILLIAMS, P. TABERLET, E. L. NICOLAZZI, J. SÖLKNER, H. SIMIANER, E. CIANI, J. F. GARCIA, M. F. BRUFORD, P. AJMONE-MARSAN, S. WEIGEND (2012): Molecular tools and analytical

approaches for the characterization of farm animal genetic diversity. *Anim. Genet.* 43:483-502.
DOI: 10.1111/j.1365-2052.2011.02309.x

LEROY, G. (2014): Inbreeding depression in livestock species: review and meta-analysis. *Anim. Genet.* 45, 618-628.
DOI: 10.1111/age.12178

LEROY, G., R. BAUMUNG, P. BOETTCHER, B. BESBES, T. FROM., I. HOFFMAN (2018): Animal genetic resources diversity and ecosystem services. *Glob. Food Secur.* 17, 84-91.
DOI:10.1016/j.gfs.2018.04.003.

LEROY, G., R. BAUMUNG, P. BOETTCHER, B. SCHERF, I. HOFFMAN (2016b): Sustainability of crossbreeding in developing countries; definitely not like crossing a meadow... *Animal.* 10, 262-273.
DOI:10.1017/S175173111500213X

LEROY, G., B. BESBES, P. BOETTCHER, I. HOFFMAN, D. PILLING, R. BAUMUNG, B. SCHERF (2016a): Factors and determinants of animal genetic resources management activities across the world. *Livest. Sci.* 189, 70-77.
DOI: 10.1016/j.livsci.2016.05.006

LEROY, G., E. CAROLL, M. W. BRUFORD, J. A. DEWOODY, A. STRAND, L. WAITS, J. WANG (2017): Next-generation metrics for monitoring genetic erosion within populations of conservation concern. *Evol. Appl.* 11, 1066-1083.
DOI:10.1111/eva.12564

LEROY, G., T. MARY-HUARD, E. VERRIER, S. DANVY, E. CHARVOLIN, C. DANCHIN-BURGE (2013): Methods to estimate effective population size using pedigree data: Examples in dog, sheep, cattle and horse. *Genet. Sel. Evol.* 45, 1.
DOI: 10.1186/1297-9686-45-1

LIEFERS, S. C., M. F. TE PAS, R. F. VEERKAMP, Y. CHILLIARD, C. DELAVAL, R. GERRITSEN, T. VAN DER LENDE (2003): Association of leptin gene polymorphisms with serum leptin concentration in dairy cows. *Mamm. Genome*. 14, 657-663.

DOI: 10.1007/s00335-003-2275-y

LIEFERS, S. C., M. F. W. TE PAS, R. F. VEERKAMP, T. VAN DER LENDE (2002): Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 85, 1633-1638.

DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74235-5

LIEFERS, S. C., R. F. VEERKAMP, M. F. TE PAS, Y. CHILLIARD, T. VAN DER LENDE (2005): Genetics and physiology of leptin in periparturient dairy cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 29, 227-238.

DOI: 10.1016/j.domaniend.2005.02.009

LIEFERS, S. C., R. F. VEERKAMP, M. F. W. TE PAS, C. DELAVAL, Y. CHILLIARD, T. VAN DER LENDE (2004.): A missense mutation in the bovine leptin receptor gene is associated with leptin concentrations during late pregnancy. *Anim. Genet.* 35, 138-141.

DOI: 10.1111/j.1365-2052.2004.01115.x

LIN, Y., H. YANG, M. J. AHMAD, Y. YANG, W. YANG, H. RIAZ, A. AUBULAITI, S. ZHANG, L. YANG, G. HUA (2021): Postpartum uterine involution and embryonic development pattern in Chinese Holstein dairy cows. *Front. Vet. Sci.* 7, 604729.

DOI: 10.3389/fvets.2020.604729

LISA, C., A. ALBERA, P. CARNIER, L. D. STASIO (2013): Variability in candidate genes revealed associations with meat traits in the Piemontese cattle breed. *Ital. J. Anim. Sci.* 12, e46.

DOI: 10.4081/ijas.2013.e46

LÓPEZ-PAREDES, J., M. A. PÉREZ-CABAL, J. A. JIMÉNEZ-MONTERI, R. ALENDA (2018): Influence of age at first calving in a continuous calving season on productive, functional, and economic performance in a Blonde d'Aquitaine beef population. *J. Anim. Sci.* 96, 4015-4027.

DOI: 10.1093/jas/sky271

LOZADA-SOTO, E. A., C. MALTECCA, D. LU, S. MILLER, J. B. COLE, F. TIEZZI (2021): Trends in genetic diversity and the effect of inbreeding in American Angus cattle under genomic selection. *Genet. Sel. Evol.* 53, 50.

DOI: 10.1186/s12711-021-00644

LUSK, J. L. (2007): Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with bodyweight and backfat growth curve parameters for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 1865-1872.

DOI: 10.2527/jas.2006-665

MADEJA, Z., T. ADAMOWICZ, A. CHMURZYNSKA, T. JANKOWSKI, J. MELONEK, M. SWITONSKI, T. STRABEL (2004): Short communication: Effect of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits. *J. Dairy Sci.* 87, 3925-3927.

DOI:10.3168/jds.S0022-0302(04)73531-6

MAGNI, P., R. VETTOR, C. PAGANO, A. CALCAGNO, E. BERETTA, E. MESSI, M. ZANISI, L. MARTINI, M. MOTTA (1999): Expression of a leptin receptor in immortalized gonadotropin-releasing hormone-secreting neurons. *Endocrinol.* 140, 1581-1585.

DOI: 10.1210/endo.140.4.6622

MAGNI, P., M. MOTTA, L. MARTINI (2000): Leptin: a possible link between food intake, energy expenditure, and reproductive function. *Regul. Pept.* 92, 51-56.

DOI:10.1016/S0167-0115(00)00149-X.

MAIGNEL, L., D. BOICHARD, E. VERRIER (1996): Genetic variability of French dairy breeds estimated from pedigree information. *Interbull Bull.* 14, 49-53.

MALETIĆ, M., N. PAPRIKIĆ, M. LAZAREVIĆ, A. HODŽIĆ, V. DAVIDOVIĆ, LJ. STANIŠIĆ, Z. STANIMIROVIĆ (2019): Insight in leptin gene polymorphism and impact on milk traits in autochthonous Busha cattle. *Acta Vet.-Beogr.* 69,153-163.

DOI: 10.2478/acve-2019-0012

MALTECCA, C., F. TIEZZI, J. B. COLE, C. BAES (2020): Exploiting homozygosity in the era of genomics-Selection, inbreeding, and mating programs. *J. Dairy Sci.* 103, 5302-5313.
DOI: 10.3168/jds.2019-17846.

MANCIN, E., G. GOMEZ PROTO, B. TULIOZI, G. SCHIAVO, S. BOVO, L. FONTANESI, C. SARTORI, R. MANTOVANI (2024): Uncovering genetic parameters and environmental influences on fertility, milk production, and quality in autochthonous Reggiana cattle. *J. Dairy Sci.* 107, 956-977.
DOI: 10.3168/jds.2022-23035

MANCIN, E., C. SARTORI, N. GUZZO, R. MANTOVANI (2020): Non-genetic effects affecting fertility traits in local Reggiana cattle. *Acta fytotechn. Zootechn.* 23, 341-349.
DOI: 10.15414/afz.2020.23.mi-fpap.338-346

MARTIKAINEN, K., A. SIRONEN, P. UIMARI (2018): Estimation of intrachromosomal inbreeding depression on female fertility using runs of homozygosity in Finnish Ayrshire cattle. *J. Dairy Sci.* 101, 11097-11107.
DOI: 10.3168/jds.2018-14805

MARTINS, K. R., C. S., HAAS, M. T. ROVANI, F. MOREIRA, A. L. F. GOETTEN, J. G. FERST, V. M. PORTELA, R. DUGGAVATHI, V. BORDIGNON, P. B. D. GONÇALVES, B. G. GASPERIN, T. LUCIA JR (2021): Regulation and function of leptin during ovarian follicular development in cows. *Anim. Reprod. Sci.* 227, 106689.
DOI: 10.1016/j.anireprosci.2021

MCNEEL, A. K., R. A. CUSHMAN (2015): Influence of puberty and antral follicle count on calving day in crossbred beef heifers. *Theriogenology.* 84, 1061-1066.
DOI: 10.1016/j.theriogenology.2015.06.010

MC PARLAND, S., J. F. KEARNEY, M. RATH, D. P. BERRY (2007): Inbreeding trends and pedigree analysis of Irish dairy and beef cattle populations. *J. Anim. Sci.* 85, 322-331.
DOI: 10.2527/jas.2006-367

MEDUGORAC, I., A. MEDUGORAC, I. RUSS, C. E. VEIT-KENSCH, P. TABERLET, B. LUNTZ, H. M. MIX, M. FORSTER (2009): Genetic diversity of European cattle breeds highlights the conservation value of traditional unselected breeds with high effective population size. *Mol. Ecol.* 18, 3394-3410.

DOI: 10.1111/j.1365-294X.2009.04286.x

MEDUGORAC, I., W. KUSTERMANN, P. LAZAR, I. RUSS, F. PIRCHNER (1995): Marker-derived phylogeny of European cattle supports demix expansion of agriculture. *Anim. Genet.* 25, 19-27.

DOI: 10.1111/j.1365-2052.1994.tb00399.x

MEUWISSEN, T., Z. LUO (1992): Computing inbreeding coefficients in large populations. *Genet. Sel. Evol.* 24, 305-313.

DOI: 10.1186/1297-9686-24-4-305

MIGLIOR, F., B. SZKOTNICKI, E. B. BURNSIDE (1992): Analysis of levels of inbreeding and inbreeding depression in Jersey Cattle. *J. Dairy Sci.* 75, 1112-1118.

DOI:10.3168/jds.S0022-0302(92)77856-4

MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE (2023): Govedarstvo. Godišnje izvješće za 2022. godinu. Osijek, Hrvatska.

MORAVČIKOVÁ, N., R. KASARDA, V. KUKUČKOVÁ, O. KADLEČIK (2017): Effective population size and genomic inbreeding in Slovak Pinzgau cattle. *Agric. Conspec. Sci.* 82, 97-100.

MOTA, R. R., S. E. F. GUIMARÃES, M. R. S. FORTES, B. HAYES, F. F. SILVA, L. L. VERARDO, M. J. KELLY, C. F. DE CAMPOS, J. D. GUIMARÃES, R. R. WENCESLAU, J. M. PENITENTE-FILHO, J. F. GARCIA, S. MOORE (2017): Genome-wide association study and annotating candidate gene networks affecting age at first calving in Nellore cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* 134, 284-492.

DOI: 10.1111/jbg.12299

NANAEI, A., S. ANSARI MAHYARI, M. A. EDRISS (2014): Effect of LEPR, ABCG2 and SCD1 gene polymorphisms on reproductive traits in the Iranian Holstein cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 49, 769-774.

DOI: 10.1111/rda.12365

NICOLINI, P., R. AMORÍN, Y. HAN, F. PEÑAGARICANO (2018): Whole-genome scan reveals significant non-additive effects for sire conception rate in Holstein cattle. *BMC Genet.* 19, 14.

DOI: 10.1186/s12863-018-0600-4

NIENARTOWICZ-ZDROJEWSKA, A., Z. SOBEK, J. RÓŻAŃSKA-ZAWIEJA (2018): Evaluation of gestation length and birth weight of offspring of Polish native cattle breeds in context of estimating genetic parameters. *Czech J. Anim. Sci.* 63, 323-330.

DOI: 10.17221/65/2017-CJAS

NISHIO, M., K. INOUE, S. OGAWA, K. ICHINOSEKI, A. ARAKAWA, Y. FUKUZAWA, T. OKAMURA, E. KOBAYASHI, M. TANIGUCHI, M. OE, K. ISHII (2023): Comparing pedigree and genomic inbreeding coefficients, and inbreeding depression of reproductive traits in Japanese Black cattle. *BMC Genomics.* 24, 376.

DOI: 10.1186/s12864-023-09480-5

NKRUMAH, J. D., C. LI, J. YU, C. HANSEN, D. H. KEISLER, S. S. MOORE (2005): Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. *J. Anim. Sci.* 83, 20-28.

DOI: 10.2527/2005.83120x

NORMAN, H. D., J. R. WRIGHT, M. T. KUHN, S. M. HUBBARD, J. B. COLE, P. M. VANRADEN (2009): Genetic and environmental factors that affect gestation length in dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 92, 2259-2269.

DOI: 10.3168/ jds.2007-0982

NYMAN, S., A. M. JOHANSSON, V. PALUCCI, A. A. SCHÖNHERZ, B. GULDBRANDTSEN, D. HINRICHS, D. J. DE KONING (2022): Inbreeding and pedigree analysis of the European red dairy cattle. *Genet. Sel. Evol.* 54, 70.

DOI: 10.1186/s12711-022-00761-3

O'CALLAGHAN, J. M. SÁNCHEZ, M. MCDONALD, A. K. KELLY, M. HAMDI, C. MAICAS, S. FAIR, D. A. KENNY, P. LONERGAN (2021): Sire contribution to fertilization failure and early embryo survival in cattle. *J. Dairy Sci.* 104, 7262-7271.

DOI: 10.3168/jds.2020-19900

OGAWA, S., M. SATOH (2021): Random regression analysis of calving interval of Japanese Black cows. *Animal*. 11, 202.

DOI: 10.3390/ani11010202

ORRÚ, L. G., F. CIFUNI, E. OIASENTIERA, M. CORAZZIN, S. BOVOLENTA, B. MOIOLI (2011): Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the LEP and SCD1 genes on the fatty acid profile of muscle fat in Simmental bulls. *Meat Sci.* 87, 344-348.

DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.11.009

OYAMA, K., T. TATSUTA, K. ANADA, F. MUKAI (2002): Heritability and repeatability estimates for reproductive traits of Japanese Black cattle. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 15, 1680-1685.

DOI: 10.5713/ajas.2002.1680

ÖZTABAK, K. Ö., N. Y. TOKER, C. ÜN, I. AKIS, A. MENGI, O. KARADOĞ, D. SOYSAL (2010): Leptin gene polymorphisms in native Turkish cattle breeds. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 16, 921-924.

PAL, P., A. AGGARWAL, E. DEB (2022): Effects of photoperiod on reproduction of cattle: a review. *Biol. Rhythm Res.* 53, 1950-1960.

DOI: 10.1080/09291016.2022.2102707

PAPACHRISTOU, D., P. KOUTSOULI, G. P. LALLOTIS, E. KUNZ, M. UPADHYAY, D. SEICHTER, I. RUSS, B. GJOKO, N. KOSTARAS, I BIZELIS, I. MEDUGORAC (2020): Genomic diversity and population structure of the indigenous Greek and Cypriot cattle populations. *Genet. Sel. Evol.* 52, 43.

DOI: 10.1186/s12711-020-00560-8

PERDOMO-GONZÁLEZ, D. I., N. LASECA, S. DEMYDA-PEYRÁS, M. VALERA, I. ERVANTES, A. MOLINA (2022): Fine-tuning genomic and pedigree inbreeding rates in equine population with a deep and reliable stud book: the case of the Pura Raza Española horse. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 13, 127.

DOI: 10.1186/s40104-022-00781-5

PÉREZ-MARÍN, C. C., L. A. QUINTELA (2023): Current insights in the repeat breeder cow syndrome. *Animals.* 13, 2187.

DOI: 10.3390/ani13132187

PERRY, G. A. (2016): Factors affecting puberty in replacement beef heifers. *Theriogenology* 86, 373-378.

DOI: 10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2016.04.051

PETHERICK, J. C. (2005): A review of some factors affecting the expression of libido in beef cattle, and individual bull and herd fertility.

Petherick, J. C. (2005). A review of some factors affecting the expression of libido in beef cattle, and individual bull and herd fertility. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 90, 185-205.

DOI: 10.1016/j.applanim.2004.08.021

PFISTER-GENSKOW, M., H. HAYES, A. EGGEN, M. D. BISHOP (1996): Chromosomal localization of the bovine obesity (OBS) gene. *Mamm. Genome.* 7, 398-399.

DOI: 10.1007/s003359900118

PITT, O., N. SEVANE, E. L. NICOLAZZI, D. E. MACHUGH, S. D. E. PARK, L. COLLI, R. MARTINEZ, M. W. BRUFORD, P. OROZCO-TERWENGEL (2018): Domestication of cattle: Two or three events? *Evol. Appl.* 12, 123-136.

DOI: 10.1111/eva.12674

POLO, C., T. GARCÍA-SECO, A. DÍEZ-GUERRIER, V. BRIONES, L. DOMÍNGUEZ, M. PÉREZ-SANCHO (2023): What about the bull? A systematic review about the role of males in bovine infectious infertility within cattle herds. *Vet. Anim. Sci.* 19, 100284.

DOI: 10.1016/j.vas.2023

RAKO, A. (1943): Prilog poznavanju buše u neretvanskoj krajini. *Vet. Arh.* 13, 89-114.

RAKO, A. (1947): Utjecaj oberintalskog goveda na popravak buše u okolici Sinja. *Vet. Arh.* 17, 264–305.

RAKO, A., F. DUMANOVSKI (1957): Rezultati rada na oplemenjivanju i perspektiva sivog domaćeg goveda u okolici Knina. *Stočarstvo.* 1-2, 67-76.

RAMLJAK, J., A. IVANKOVIĆ, C. E. VEIT-KENSCH, M. FÖRSTER, I. MEDUGORAC (2011): Analysis of genetic and cultural conservation value of three indigenous Croatian cattle breeds in a local and global context. *J. Anim. Breed. Genet.* 128, 73-84.

DOI: 10.1111/j.1439-0388.2010.00905.x

RAMLJAK, J., G. BUNEVSKI, H. BYTYQI, B. MARKOVIĆ, M. BRKA, A. IVANKOVIĆ, K. KUME, S. STOJANOVIĆ, V. NIKOLOV, M. SIMČIČ, J. SÖLKNER, E. KUNZ, S. ROTHAMMER, D. SEICHTER, H. P. GRÜNENFELDER, E. T. BROXHAM, W. KUGLER, I. MEDUGORAC (2018): Conservation of a domestic metapopulation structured into related and partly admixed strains. *Mol. Ecol.* 27, 1633-1650.

DOI: 10.1111/mec.14555

REZENDE, F. M., G. O. DIETSCH, F. PENAGARICANO (2018): Genetic dissection of bull fertility in US Jersey dairy cattle. *Anim. Genet.* 49, 393-402.

DOI: 10.1111/age.12710

ROBINSON, J., C. C. KYRIAZIS, S. C. YUAN, K. E. LOHNMUELLER (2023): Deleterious variation in natural populations and implications for conservation genetics. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 11, 93-114.

DOI: 10.1146/annurev-animal-080522-093311

ROCHE, J. R., D. P. BERRY, A. M. BRYANT, C. R. BURKE, S. T. BUTLER, P. G. DILLON, D. J. DONAGHY, B. HORAN, K. A. MACDONALD, K. C. MACMILLAN (2017): A 100-year review: a century of change in temperate grazing dairy systems. *J. Dairy. Sci.* 100, 10189-10233.

DOI: 10.3168/jds.2017-13182

ROJAS-DOWNING, M. M., A. P. NEJADHASHEMI, T. HARRIGAN, S. A. WOZNICKI (2017): Climate change and livestock: Impacts, adaptation, and mitigation. *Clim. Risk Manag.* 16, 145-163.

DOI: 10.1016/j.crm.2017.02.001

ROKOSZ, M. (1995): History of the aurochs (*Bos taurus primigenius*) in Poland. *Anim. Genet. Resour. Inf.* 16, 5-12.

DOI:10.1017/S1014233900004582

ROODENBERG, J. (2014): Yabalkovo's radiocarbon dates and the spread of agriculture. U: Yabalkovo vol 1. (Roodenberg, J., K. Leshtakov, V. Petrova, Ur.), ATE - Ars et Technica Explicatus, Sofia University "St Kliment Ohridski", 447-452.

SANTANA, M. H., Y. T. UTSUNOMIYA, H. H. NEVES, R. C. GOMES, J. F. GARCIA, H. FUKUMASU, S. L. SILVA, G. A. OLIVEIRA JR., P. A. ALEXANDRE, P. R. LEME, R. A. BRASSALOTI, L. L. COUTINHO, T. G. LOPES, F. V. MEIRELLES, J. P. ELER, J. B. FERRAZ (2014): Genome-wide association analysis of feed intake and residual feed intake in Nellore cattle. *BMC Genet.* 15, 21.

DOI: 10.1186/1471-2156-15-21

SANTANA, M. L., R. J. PEREIRA, A. B. BIGNARDI, D. R. AYERES, G. D. O. MENEZES, L. O. C. SILVA, G. LEROY, C. H. C. MACHADO, L. A. JOSAHKIAN, L. G. ALBUQUERQUE (2016): Structure and genetic diversity of Brazilian Zebu cattle breeds assessed by pedigree analysis. *Livest. Sci.* 187, 6-15.

DOI: 10.1016/j.livsci.2016.02.002

SAURA, M., A. FERNÁNDEZ, L. VARONA, A. I. FERNÁNDEZ, M. Á. R. DE CARA, C. BARRAGÁN, B. VILLANUEVA (2015): Detecting inbreeding depression for reproductive traits in Iberian pigs using genome-wide data. *Genet. Sel. Evol.* 47, 1.

DOI: 10.1186/s12711-014-0081-5

SCARAMUZZI, R. J., H. M. BROWN, J. DUPONT (2010): Nutritional and metabolic mechanisms in the ovary and their role in mediating the effects of diet on folliculogenesis: a perspective. *Reprod. Domest. Anim.* 45, 32-41.

DOI: 10.1111/j.1439-0531.2010.01662.x

SCHENKEL, F. S., S. P. MILLER, X. YE, S. S. MOORE, J. D. HKRUMAH, C. LI, I. B. MANDELL, J. W. WILTON, J. L. WILLIAMS (2005): Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 83, 2009-2020.

DOI: 10.2527/2005.8392009x

SCHEU, A., A. POWELL, R. BOLLONGINO, J. D. VIGNE, A. TRESSET, C. ÇAKIRLAR, N. BENECKE, J. BURGER (2015): The genetic prehistory of domesticated cattle from their origin to the spread across Europe. *BMC Genet.* 16, 54.

DOI:10.1186/s12863-015-0203-2

SCHILLO, K., J. HALL, S. HILEMAN (1992): Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *J. Anim. Sci.* 70, 3994-4005.

DOI: 10.2527/1992.70123994x

SCHMIDTMANN, C., A. SCHÖNHERZ, B. GULDBRANDTSEN, J. MARJANOCIĆ, M. CALUS, D. HINRICHS, G. TJALLER (2021): Assessing the genetic background and genomic

relatedness of red cattle populations originating from Northern Europe. *Genet. Sel. Evol.* 53, 23.

DOI: 10.1186/s12711-021-00613-6

SENCZUK, G. A. CRISCIONE, S. MASTRANGELO, F. BISCARINI, D. MARLETTA, F. PILLA, D. LALOË, R. CIAMPOLINI (2022): How geography and climate shaped the genomic diversity of Italian local cattle and sheep breeds. *Animal*. 12, 2198.

DOI: 10.3390/ani12172198

SENCZUK, G., S. MASTRANGELO, E. CIANI, L. BATTAGLINI, R. CIAMPOLINI, P. CREPALDI, R. MANTOVANI, G. BONGIONI, G. PAGNACCO, B. PORTOLANO, A. ROSSONI, F. PILLA, M. CASSANDRO (2020): The genetic heritage of Alpine local cattle breeds using genomic SNP data. *Genet. Sel.* 52, 40.

DOI: 10.1186/s12711-020-00559-1

SHAO, B., H. SUN, M. J. AHMAD, N. GHANEM, H. ABDEL-SHAFY, C. DU, T. DENG, S. MANSOOR, Y. ZHOU, Y. YANG, S. ZHANG, L. YANG, G. HUA (2021): Genetic features of reproductive traits in Bovine and Buffalo: Lessons from Bovine to Buffalo. *Front. Genet.* 12, 617128.

DOI:10.3389/fgene.2021.617128

SHERF, B. (2000): *World Watch List for Domestic Animal Diversity*, 3rd ed. FAO, Rome. pp, 22-26.

SHERMAN, E. L., J. D. NKRUMAH, B. M. MURDOCH, C. LI, Z. WANG, A. FU, S. S. MOORE (2008): Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86, 1-16.

DOI: 10.2527/jas.2006-799

SHIN, S. C., E. R. CHUNG (2007): Association of SNP marker in the leptin gene with carcass and meat quality traits in Korean cattle. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 20, 1-6.

DOI: 10.5713/ajas.2007.1

SHIN, S., J. LEE, C. DO (2021): Genetic relationship of age at first calving with conformation traits and calving interval in Hanwoo cows. *J. Anim. Sci. Technol.* 63, 740-750.

DOI: 10.5187/jast.2021.e73

SILVA, D. B. S., B. A. CRISPIM, L. E. SILVA, J. A. OLIVEIRA, F. SIQUEIRA, L. O. SENO, A. B. GRISOLIA (2014): Genetic variations in the leptin gene associated with growth and carcass traits in Nellore cattle. *Genet. Mol. Res.* 13, 3002-3012.

DOI: 10.4238/2014.April.16.9

SOBEL, J. M., G. F. CHEN (2014): Unification of methods for estimating the strength of reproductive isolation. *Evolution.* 68, 1511-1522.

DOI: 10.1111/evo.12362

STAR, B., H. G. SPENCER (2013): Effects of genetic drift and gene flow on the selective maintenance of genetic variation. *Genetics.* 194, 235-244.

DOI: 10.1534/genetics.113.149781

STATISTICA (2020): Data Science Workbench. TIBCO Software Inc., version 14.0.25, Palo Alto, CA, USA.

STEFFEN, W., K. RICHARDSON, J. ROCKSTRÖM, S. E. CORNELL, I. FETZER, E. M. BENNETT, R. BIGGS, S. R. CARPENTER, W. DE VRIES, C. A. DE WIT, C. FOLKE, D. GERTEN, J. HEINKE, G. M. MACE, L. M. PERSSON, V. RAMANATHAN, B. REYERS (2015): Planetary boundaries: guiding human development on a changing planet. *Science.* 347, 6223.

DOI: 10.1126/science.1259855

SUMREDDEE, P., S. TOGHIANI, E. L. HAMIDI HAY, A. ROVERTS, S. E. AGGREY, R. REKAYA (2020): Runs of homozygosity and analysis of inbreeding depression. *J. Anim. Sci.* 98, 1-11.

DOI: 10.1093/jas/skaa361

SWEET, H., P. A. S. FONSECA, A. SUÁREZ-VEGA, A. LIVERNOIS, F. MIGLIOR, A. CÁNOVAS (2020): Genome-wide association study to identify genomic regions and positional candidate genes associated with male fertility in beef cattle. *Sci. Rep.* 10, 20102.

DOI: 10.1038/s41598-020-75758-3

SZENCI, O. (2023): Importance of monitoring fetal and neonatal vitality in bovine practices. *Animal*. 13, 1081.

DOI: 10.3390/ani13061081

SZYDA, J., M. MOREK-KOPEĆ, J. KOMISAREK, A. ZARNECKI (2011): Evaluating markers in selected genes for association with functional longevity of dairy cattle. *BMC Genet.* 12, 30.

DOI: 10.1186/1471-2156-12-30

ŠIC, R., P. BOŽIĆ, K. MIHATOVIĆ (1994): Oplemenjivanje hrvatske buše sivom tirolskom pasminom goveda tijekom 95 godina. *Stočarstvo*. 48, 183-192.

ŠMALCELJ, I., A. RAKO (1955): Pasmine goveda: buša (domarac). *Govedarstvo*. Poljoprivredni nakladni zavod, Zagreb. 131-149.

ŠUPE, D. (1965): Ekspozicija genoma sivog tiroloskog goveda domaćem govedu Kninske okolice. *Stočarstvo*. 3-4, 154-162.

TARTAGLIA, L. A. (1997): The leptin receptor. *J. Biol. Chem.* 272, 6093-6096.

DOI: 10.1074/jbc.272.10.6093

TATEMOTO, K., M. CARLQUIST, V. MUTT (1982): Neuropeptide Y-a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature*. 296, 659-660.

DOI: 10.1038/296659a0

TEMESGEN, M.Y., A. A. ASSEN, T. T. GIZAW, B. A. MINALU, A. Y. MERSHA (2022): Factors affecting calving to conception interval (days open) in dairy cows located at Dessie and Kombolcha towns, Ethiopia. PLoS One. 17, e0264029.

DOI: 10.1371/journal.pone.0264029

THORN, S. R., M. J. MEYER, M. E. VAN AMBURGH, Y. R. BOISCLAIR (2007): Effect of estrogen on leptin and expression of leptin receptor transcripts in prepubertal dairy heifers. J. Dairy Sci. 90, 3742-3750.

DOI: 10.3168/jds.2007-0009

THUE, T. D., F. C. BUCHANAN (2004): Linkage mapping of NPY to bovine chromosome 4. Anim. Genet. 35, 245-246.

DOI: 10.1111/j.1365-2052.2004.01116.x

TIMLIN, C. L., N. W. DIAS, L. HUNGERFORD, T. REDIFER, J. F. CURRIN, V. R. G. MERCADANTE (2021): A retrospective analysis of bull:cow ratio effects on pregnancy rates of beef cows previously enrolled in fixed-time artificial insemination protocols, Transl. Anim. Sci. 5, txab129.

DOI:10.1093/tas/txab129

TITTERINGTON, F. M., F. O. LIVELY, S. DAWSON, A. W. GORDON, S. J. MORRISON (2017): The effects of breed, month of parturition and sex of progeny on beef cow fertility using calving interval as a measure. Advances in Animal Biosciences. 8, 67-71.

DOI:10.1017/S2040470017001741

TOMASEK, R., P. REZAC, Z. HAVLICEK (2017): Environmental and animal factors associated with gestation length in Holstein cows and heifers in two herds in the Czech Republic. Theriogenology. 87, 100-107.

DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.08.009

TORTONESE, D., E. INSKEEP (1992): Effects of melatonin treatment on the attainment of puberty in heifers. J. Anim. Sci. 70, 2822-2827.

DOI: .2527/1992.7092822x

TRAKOVICKÁ, A., N. MORAVČIKOVÁ, R. NÁDASKÝ, R. KASARDA (2015): Impact of SNPs in candidate genes on economically important traits in Pinzgau cattle. *Poljoprivreda*. 21, 150-154.

DOI: 10.18047/poljo.21.1.sup.35

TRUJILLO, A. I., F. PEÑAGARICANO, M. P. GRIGNOLA, P. NICOLINI, A. CASAL, A. C. ESPASANDÍN, H. NAYA, M. CARRIQUIRY, P. CHILIBROSTE (2012): Using high resolution melting analysis to identify variation of NPY, LEP and IGF-1 genes in Angus cattle. *Livest. Sci.* 146, 193-198.

DOI: 10.1016/J.LIVSCI.2012.03.004

TRUJILLO, A. I., A. CASAL, F. PEÑAGARICANO, M. CARRIQUIRY, P. CHILIBROSTE (2013): Association of SNP of neuropeptide Y, leptin, and IGF-1 genes with residual feed intake in confinement and under grazing condition in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* 91, 4235-4244.

DOI: 10.2527/jas.2013-6254

TWOMEY, A. J., A. R. CROMIE (2023): Impact of age at first calving on performance traits in Irish beef herds. *J. Anim. Sci.* 101, skad008.

DOI: 10.1093/jas/skad008

UEMOTO, Y., K. SUZUKI, J. YASUDA, S. ROH, M. SATOH (2021): Evaluation of inbreeding and genetic diversity in Japanese Shorthorn cattle by pedigree analysis. *Anim. Sci. J.* 92, e13643.

DOI: 10.1111/asj.13643

VAICIUNAS, A., L. L. COUTINHO, F. V. MEIRELLES, A. V. PIRES, L. F. P. SILVA (2008): Leptin and hypothalamic gene expression in early- and late-maturing *Bos indicus* Nellore heifers. *Genet. Mol. Biol.* 31, 657-664.

DOI: 10.1590/s1415-47572008000400010

VIEIRA-NETO, A., K. GALVÃO, W. THATCHER, J. SANTOS (2017): Association among gestation length and health, production, and reproduction in Holstein cows and implications for their offspring. *J. Dairy Sci.* 100, 3166-3181.

DOI: 10.3168/jds.2016-11867

VIGNE, J. D. (2015): Early domestication and farming: What should we know or do for a better understanding. *Anthropozoologica.* 50, 123-150.

DOI: 10.1016/j.crv.2010.12.009

VILLANUEVA, B., A. FERNÁNDEZ, M. SAURA, A. CABALLERO, J. FERNÁNDEZ, E. MORALES-GONZÁLEZ, M. A. TORO, R. PONG-WONG (2021): The value of genomic relationship matrices to estimate levels of inbreeding. *Genet. Sel. Evol.* 53, 42.

DOI: 10.1186/s12711-021-00635-0

WALSH, S. W., E. J. WILLIAMS, A. C. EVANS (2011): A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 123, 127-138.

DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.12.001

WANG, J., E. SANTIAGO, A. CABALLERO (2016): Prediction and estimation of effective population size. *Heredity.* 117, 193-206.

DOI: 10.1038/hdy.2016.43

WANG, K., M. LI, H. HAKONARSON (2010): ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 38, e164.

DOI: 10.1093/nar/gkq603

WANJALA, G., P. KUSUMA ASTUTI, Z. BAGI, N. KICHAMU, P. STRAUZ, S. KUSZA (2023): A review on the potential effects of environmental and economic factors on sheep genetic diversity: consequences of climate change. *Saudi. J. Biol. Sci.* 30, 103505.

DOI: 10.1016/j.sjbs.2022.103505

WAUMAN, J., J. TAVERNIER (2011): Leptin receptor signaling: pathways to leptin resistance. *Front. Biosci.* 16, 2771-2793.

DOI:10.2741/3885

WELLMANN, R., N. GENGLER, J. BENNEWITZ, J. TETENS (2023): Defining valid breeding goals for animal breeds. *Genet. Sel. Evol.* 55, 80.

DOI: 10.1186/s12711-023-00855-6

WILES, J. R., R. A. KATCHO, E. A. BENAVIDES, C. W. O'GORMAN, J. M. ESCUDERO, D. H. KEISLER, R. L. STANKO, M. R. GARCIA (2014): The effect of leptin on luteal angiogenic factors during the luteal phase of the estrous cycle in goats. *Anim. Reprod. Sci.* 148, 121-129.

DOI: 0.1016/j.anireprosci.2014.05.002

WILLIAMS, G. L. , M. AMSTALDEN, M. R. GARCIA, R. L. STANKO, S. E. NIZIELSKI, C. D. MORISSON, D. H. KEISLER (2002): Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 23, 339-349.

DOI: 10.1016/s0739-7240(02)00169-8

WOLFENSON, D., Z. ROTH, R. MEIDAN (2000): Impaired reproduction in heatstressed cattle: basic and applied aspects. *Anim. Rep. Sci.* 60, 535-547.

DOI: 10.1016/s0378-4320(00)00102-0

WRIGHT, S. (1922): Coefficients of inbreeding and relationship. *Ame. Natura.* 56, 330-338.

YANG, D., H. CHEN, X. WANG, Z. TIAN, L. TANG, Z. ZHANG, C. LEI, Y. WANG (2007): Association of polymorphisms of leptin gene with body weight and body sizes indexes in Chinese indigenous cattle. *J. Genet. Genomics.* 34, 400-405.

DOI: 10.1016/S1673-8527(07)60043-5

ZHANG, F., M. B. BASINSKI, J. M. BEALS, S. L. BRIGGS, L. M. CHURGAY, D. K. CLAWSON, R. D. DIMARCHI, T. C. FURMAN, J. E. HALE, H. M. HSIUNG, B. E. SCHONER, D. P. SMITH, X. Y. ZHANG, J. P. WERY, R. W. SCHEVITZ (1997): Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature.* 387, 206-209.

DOI: 10.1038/387206a0

ZHANG, K., J. A. LENSTRA, S. ZHANG, W. LIU, J. LIU (2020): Evolution and domestication of the Bovini species. *Anim. Genet.*, 51, 637-657.

DOI: 10.1111/age.12974

ZHANG, L., A. L. ZHANG, L. Z. ZHANG, Q. ZHANG, C. L. ZHANG, X. Y. LAN, H. CHEN (2011): Association analysis between variants in bovine NPY gene and growth traits in Nanyang cattle (*Bos Taurus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 170, 189-92.

DOI: 10.1016/j.ygcen.2010.10.004

ZHANG, P., X. QIU, L. WANG, F. ZHAO (2022a): Progress in genomic mating in domestic animals. *Animal.* 12, 2306.

DOI: 10.3390/ani12182306

ZHANG, Y., Y. ZHUO, C. NING, L. ZHOU, J. F. LIU (2022b): Estimate of inbreeding depression on growth and reproductive traits in a Large White pig population. *G3.* 12, jkac118.

DOI: 10.1093/g3journal/jkac118

ZIEBA, D. A., M. AMSTALDEN, G. L. WILLAMS (2005): Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domest. Anim. Endocrinol.* 29, 166-185.

DOI: 10.1016/j.domaniend.2005.02.019

ZIEBA, D. A., M. AMSTALDEN, S. MORTON, J. L. GALLINO, J. F. EDWARDS, P. G. HARMS, G. L. WILLIAMS (2003): Effects of leptin on basal and GHRH-stimulated GH secretion from the bovine adenohypophysis are dependent upon nutritional status. *J. Endocrinol.* 178, 83-89.

DOI: 10.1677/joe.0.1780083

9. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA

9.1. Životopis

Aneta Piplica, rođena je 1. svibnja 1990. godine u Zadru, Hrvatska. Osnovnu školu pohađala je u Donjem Lapcu, dok je srednju Medicinsku školu završila u Zadru, s usmjerenjem farmaceutski tehničar. Tijekom osnovnoškolskog obrazovanja, također je pohađala Osnovnu glazbenu školu u Biogradu na Moru, gdje je svirala flautu. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2012. godine, gdje je diplomirala 2018. godine.

Doktorica veterinarske medicine Aneta Piplica pridružila se Zavodu za uzgoj životinja i stočarsku proizvodnju na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu kao asistentica u ožujku 2019. godine. Poslijediplomski doktorski studij iz veterinarskih znanosti upisala je 2020. godine.

Nastavno iskustvo Anete Piplice, dr. med. vet. obuhvaća sudjelovanje u izvođenju nastave na kolegijima „Osnove statistike u veterinarskoj medicini“, „Pasmenska svojstva životinja“, „Uzgoj i proizvodnja životinja“ te na studiju na engleskom jeziku na kolegijima „Basic Statistics in Veterinary Medicine“, „Animal Breeds Characteristics“, „Animal Breeding and Production“, kao i izbornog kolegija „Uzgoj i proizvodnja kunića i krznaša“ te „Breeding and Production of Rabbits and Furbearers“.

Znanstveno i stručno područje interesa Anete Piplice, dr. med. vet. usmjereno je na biotehnologiju životinja s naglaskom na uzgoj, zdravlje i proizvodnju domaćih životinja. Kontinuirano se usavršavala pohađajući edukacije, radionice i ljetne škole, posebno usmjerene na primjenu molekularne genetike i genomike te statističkih metoda za analizu i interpretaciju podataka genetskih i genomskih istraživanja.

Kao dio svojih usavršavanja, boravila je u Banci gena domaćih životinja Republike Hrvatske te kroz Erasmus+ program mobilnosti na Institutu za animalne znanosti u Pragu, Češka Republika i Fakultetu agronomskih i prehrambenih znanosti u Bologni, Italija. Pohađala je razne radionice i tečajeve. U organizaciji Physalia Courses pohađala je radionice „Introduction in R for biologist and ecologists“ te „Introduction to genome-wide association studies (GWAS)“. Na Fakultetu veterinarskih znanosti u Parmi, Italija pohađala je radionicu „Analisi dei dati e riproducibilità della ricerca in R“. Sudjelovala je na radionicama u organizaciji COST

zaklade i to na radionici „Breeding Program Modeling with AlphaSimR and estimation of effective population size“ u suradnji s Roslin institutom Sveučilišta u Edinburghu te „2nd FAANG – Europe Workshop on Functional Annotation of Animal Genomes“ u Pragu, Češka Republika. Pohađala je ljetnu školu „Gene mapping“ u organizaciji Sveučilišta Aarhus, Danska.

Do sada je kao autorica ili koautorica objavila 39 znanstvenih i stručnih članaka. Sudjelovala je na nekoliko međunarodnih kongresa i simpozija, između ostalog na Međunarodnom kongresu Veterinarska znanost i struka, „International Symposium Animal Science Days“, „Annual Meeting of the European Federation of Animal Science“ i „International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals“.

Aneta Piplica, dr. med. vet. aktivno je sudjelovala u nastavnom, znanstvenom i stručnom radu Zavoda za uzgoj životinja i stočarsku proizvodnju. Sudjelovala je pri izradi diplomskih radova studenata integriranog prediplomskog i diplomskog studija veterinarske medicine te pri izradi studentskog znanstvenog rada koji je nagrađen Rektorovom nagradom. Pohađala je radionicu za unaprjeđenje nastavnih vještina „Aktivno učenje i kritičko razmišljanje u visokoškolskoj nastavi“ u organizaciji Forum za slobodu odgoja. U popularizaciji znanosti sudjelovala je kroz organizaciju Noći muzeja u Zavodu za uzgoj životinja i stočarsku proizvodnju te sudjelovanje u serijalu "Glup kao kokoš, tvrdoglav kao magarac" u produkciji Roberta Knjaza u suradnji s Hrvatskom radiotelevizijom.

9.2. Popis objavljenih radova

ASTI, V., A. SABBIONI, S. MENČIK, A. PIPLICA, M. ABLONDI (2022): Combining novel motion technology and genotype data in an Italian horse native breed. Book of Abstracts of the 73rd Annual Meeting of the European Federation of Animal Science. 5 – 9. rujna, Porto, Portugal, str. 585-585.

DOI: 10.3920/978-90-8686-937-4

BAJO, P., M. BRIŠKI, A. BENUTIĆ, A. PIPLICA, B. MARCIUŠ, I. PALATINUŠ, V. BRČIĆ, A. STROJ (2024): Seasonality in cave air and drip water properties – implications for speleothem palaeoclimate studies, Nova Grgosova cave (Croatia). 31st International Karstological School "Classical Karst", Data acquisition and analysis in karst systems, Abstracts & guide book, Postojna, Slovenija, 17. – 21. lipnja, str. 33-33.

ČARAPOVIĆ, M., M. OSTOVIĆ, S. MENČIK, I. SABOLEK, A. PIPLICA, Ž. MESIĆ (2020): Mišljenja studenata veterinarske medicine o dobrobiti minijaturnih svinja kao kućnih ljubimaca. Veterinar, 58, 2-8.

KOLENC, M., A. PIPLICA, M. ČELHAR, T. TRBOJEVIĆ VUKIČEVIĆ, M. ĐURAS, Z. VRBANAC, K. KORPES (2024): Bird exploitation and chicken size in the late medieval and early modern periods in continental Croatia. Quaternary. 7, 30.

DOI: 10.3390/quat7030030

KORPES, K., A. PIPLICA, M. ĐURAS, T. TRBOJEVIĆ VUKIČEVIĆ, M. KOLENC (2024): Exploitation of pigs during late medieval and early modern period in Croatia. Heritage. 7, 1015-1027.

DOI: 10.3390/heritage7020049

KUSANOVIĆ, J., M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, A. PIPLICA, V. SUŠIĆ, A. EKERT KABALIN, S. MENČIK, I. VLAHEK (2023): Birth weight, weaning weight and average daily gain in Dalmatian pramenka sheep from the island Brač – a preliminary study. Book of Abstracts of 10th International Congress Veterinary Science and Profession, 5. – 7. listopada, Zagreb, Hrvatska, str. 136.

MACAN, I., A. PIPLICA, M. ĐURAS (2021): Procjena općeg mišljenja i informiranosti ribara u Hrvatskoj o dupinima i morskim kornjačama. Veterinar. 59, 11-21.

MAURIĆ MALJKOVIĆ, M., I. VLAHEK, A. PIPLICA, A. EKERT KABALIN, V. SUŠIĆ, V. STEVANOVIĆ (2023): Prospects of toll-like receptors in dairy cattle breeding. Anim. Genet. 00, 1-10.

DOI: 10.1111/age.13325

MAURIĆ MALJKOVIĆ, M., I. VLAHEK, A. PIPLICA, V. SUŠIĆ, A. EKERT KABALIN (2022): Toll-like receptors as a potential genetic marker in dairy cattle. Book of Abstracts of the 44th International Dairy Experts Symposium, 12. – 15. listopada, Rovinj, Hrvatska, str. 24-24.

MENČIK, S., A. PIPLICA, M. OSTOVIĆ, A. EKERT KABALIN, V. SUŠIĆ, M. ČAČIĆ, A. IVANKOVIĆ (2022): Management of breeding bulls of Busha cattle in Croatia – a bull:cow ratio trends. Book of Abstracts of the 30th International Symposium Animal Science Days, 21. – 23. rujna, Zadar, Hrvatska, str. 39-39.

MILOŠEVIĆ, K., S. MENČIK, A. PIPLICA, Ž. PAVIČIĆ, T. TRBOJEVIĆ VUKIČEVIĆ, M. OSTOVIĆ (2020): Procjena tjelesne kondicije domaćih preživača. Hrvatski veterinarski vjesnik, 28, 34-41.

OSTOVIĆ, M. I. SABOLEK, A. PIPLICA, I. ŽURA ŽAJA, S. MENČIK, S. NEJEDLI, Ž. MESIĆ (2021): A survey study of veterinary student opinions and knowledge about pet reptiles and their welfare. Animals. 11, 3185.

DOI: 10.3390/ani11113185

OSTOVIĆ, M., I. SABOLEK, A. PIPLICA, I. ŽURA ŽAJA, S. MENČIK, S. NEJEDLI, Ž. MESIĆ (2021): A survey study on opinions and knowledge of veterinary students in Croatia about pet reptile species and their welfare. Proceedings of the 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals "Reptilia", 21. svibnja, Zagreb, Hrvatska, str. 20-26.

OSTOVIĆ, M., I. SABOLEK, A. PIPLICA, I. ŽURA ŽAJA, T. MIKUŠ, S. MENČIK, K. MATKOVIĆ, Ž. PAVIČIĆ, Ž. MESIĆ (2022): Opinions and knowledge of veterinary students relating to exotic non-mammal pet animals and their welfare. *Vet. Arh.* 92, 349-358.

DOI: 10.24099/vet.arhiv.1018

OSTOVIĆ, M., I. SABOLEK, A. PIPLICA, I. ŽURA ŽAJA, T. MIKUŠ, S. MENČIK, K. MATKOVIĆ, Ž. PAVIČIĆ, Ž. MESIĆ (2020): Veterinary student attitudes towards and knowledge about exotic non-mammal pet animals and their welfare. *Proceedings of the 1st Regional Animal Welfare (RAWC) Scientific Conference "Better Science for Better Animal Welfare"*, 24. – 25. lipnja, Zagreb, Hrvatska, str. 23-25.

PIPLICA, A., I. C. ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN, A. EKERT KABALIN, V. SUŠIĆ, I. VLAHEK, I. SABOLEK, M. OSTOVIĆ, S. MENČIK (2021): Nedostatak adhezije leukocita - nasljedni poremećaj kod goveda. *Stočarstvo.* 75, 63-73.

PIPLICA, A., I. VLAHEK, I. SABOLEK, M. ŠPEHAR, S. MENČIK (2019): Influence of season and herd size on the age at first calving in Busha cattle breed. *Book of Abstracts of 8th International Congress "Veterinary Science and Profession"*, 10. – 12. listopada, Zagreb, Hrvatska, str. 63.

PIPLICA, A., I. VLAHEK, I. SABOLEK, V. SUŠIĆ, A. EKERT KABALIN (2021): Leopard gecko morphs – the genetic background. *Proceedings of the 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals "Reptilia"*, 21. svibnja, Zagreb, Hrvatska, str. 157.

PIPLICA, A., S. MENČIK, A. GUDAN KURILJ, B. ARTUKOVIĆ, L. MEDVEN ZAGRADIŠNIK, M. HOŠTETER (2020): Razlikovanje alimentarnog limfoma od upalne bolesti crijeva te utjecaj pasmine i dobi na pojavnost patoloških promjena u probavnom sustavu pasa. *Vet. Stanica.* 51, 293-304.

DOI: 10.46419/vs.51.3.6

PIPLICA, A., V. ASTI, A. EKERT KABALIN, V. SUŠIĆ, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, I. VLAHEK, M. OSTOVIĆ, M. ČAČIĆ, S. MENČIK (2024): Population structure and genetic diversity in males of the autochthonous Busha cattle in Croatia. *Vet. Arh.* 94, 425-440.

DOI: 10.2409/vet.arhiv.2632

PIPLICA, A., V. ASTI, M. ABLONDI, I. VLAHEK, I. SABOLEK, M. OSTOVIĆ, S. MENČIK (2023): Analysis of longevity performance in the different bull lines of Busha cattle in Croatia. *Book of Abstract of the 25th Congress of the Animal Science and Production Association (ASPA)*, 13. – 16. lipnja, Monopoli, Italija, str. 41-41.

SABOLEK, I., I. TLAK GAJGER, Ž. PAVIČIĆ, K. MATKOVIĆ, S. MENČIK, A. PIPLICA, M. OSTOVIĆ (2021): Possibilities of using effective microorganisms in environmental protection. *Book of Abstracts of the 9th International Congress Veterinary Science and Profession*, 9. listopada, Zagreb, Hrvatska, str. 50-50.

SABOLEK, I., K. MATKOVIĆ Ž. PAVIČIĆ, S. NEJEDLI, A. PIPLICA, M. OSTOVIĆ (2021): Risks to environment and native animals posed by exotic alien species. *Proceedings of the 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals "Reptilia"*, 21. svibnja, Zagreb, Hrvatska, str. 189-189.

SABOLEK, I., K. MATKOVIĆ, Ž. PAVIČIĆ, S. MENČIK, A. PIPLICA, A. TRSTENJAK, M. OSTOVIĆ (2023): Implikacije sustava držanja s pristupom vanjskom prostoru za dobrobit tovnih pilića. *Zbornik sažetaka 28. međunarodnog savjetovanja Krmiva, Opatija, Hrvatska*, 31. svibnja – 2. lipnja, str. 53-54.

SABOLEK, I., K. MATKOVIĆ, Ž. PAVIČIĆ, S. MENČIK, A. PIPLICA, S. MATKOVIĆ, M. OSTOVIĆ (2022): Ekološko govedarstvo – standardi dobrobiti i stanje u Republici Hrvatskoj. *Zbornik sažetaka 44. međunarodnog simpozija mljekarskih stručnjaka*, 12. – 15. listopada, Rovinj, Hrvatska, str. 19-19.

SABOLEK, I., M. OSOTVIĆ, I. VLAHEK, A. PIPLICA, K. MATKOVIĆ, Ž. PAVIČIĆ, S. NEJEDLI (2019): Effect of litter depth on breast blister occurrence and morphological

characteristics of m. pectoralis major in broilers. Book of Abstracts of 8th International Congress "Veterinary Science and Profession", 10. – 12. listopada, Zagreb, Hrvatska, str. 117-117.

SABOLEK, I., S. NEJEDLI, I. VLAHEK, K. MATKOVIĆ, S. MENČIK, A. PIPLICA, Ž. PAVIČIĆ, M. OSTOVIĆ (2019): Utjecaj visine stelje na jačinu kontaktnog dermatitisa na jastučićima nogu i tarzalnim zglobovima tovnih pilića. Zbornik peradarskih dana, 8. – 11. svibnja, Poreč, Hrvatska, str. 130-134.

SUŠIĆ, V., I. VLAHEK, H. KABALIN, S. MENČIK, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, A. PIPLICA (2022): Proizvodna dugovječnost ovaca i koza kao čimbenik rentabilne proizvodnje. Zbornik predavanja 24. savjetovanja uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj i 23. izložba hrvatskih ovčjih i kozjih sireva, 24. – 25. listopada, Seget Donji, Hrvatska, str. 120-123.

SUŠIĆ, V., I. VLAHEK, S. MENČIK, M. MAURIĆ, A. PIPLICA (2019): Dva janjenja po ovci godišnje – mogućnosti, uvjeti, izazovi. Zbornik predavanja 21. savjetovanja uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj i 20. izložba hrvatskih ovčjih i kozjih sireva, Sveti Martin na Muri, Hrvatska, str. 35-39.

SUŠIĆ, V., J. GRIZELJ, A. EKERT KABALIN, S. MENČIK, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, A. PIPLICA, H. KABALIN (2023): Kratko ili dugo janjenje/jarenje stada kao mjerilo upravljanja reprodukcijom ovaca i koza. Zbornik predavanja 1. dana hrvatskog stočarstva, 7. – 9. listopada, Osijek, Hrvatska, str. 126-132.

VLAHEK, I., A. EKERT KABALIN, S. MENČIK, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, A. PIPLICA, H. KABALIN, J. ŠAVORIĆ, V. SUŠIĆ (2021): The effect of non-genetic factors on the birth weight of Romanov sheep. Vet. Arh. 91, 615-624.

DOI: 10.24099/vet.arhiv.1487

VLAHEK, I., A. EKERT KABALIN, S. MENČIK, M. MAURIĆ, A. PIPLICA, V. SUŠIĆ (2019): Analysis of IGF1 gene polymorphism and differences in litter size after first parity in Romanov sheep: preliminary results. Book of Abstracts of 8th International Congress "Veterinary Science and Profession", 10. – 12. listopada, Zagreb, Hrvatska, str. 69-69.

VLAHEK, I., M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, A. PIPLICA, A. EKERT KABALIN, S. MENČIK, V. SUŠIĆ (2023): Opinions of veterinary students towards the err framework system in the teaching of horse breeding. Proceedings of the 3rd International Congress of Education in Animal Sciences (ICEAS), 15. – 16. lipnja, Zagreb, Hrvatska, str. 48-48.

VLAHEK, I., N. MAKSIMOVIĆ, A. PIPLICA, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, N. DELIĆ, M. LAZAREVIĆ, V. SUŠIĆ (2023): Population trends of goats in Serbia and Croatia from 2012 to 2021. Proceedings of the 14th International Symposium Modern Trends in Livestock Production, 4. – 6. listopada, Beograd, Srbija, str. 493-507.

VLAHEK, I., V. SUŠIĆ, A. EKERT KABALIN, S. MENČIK, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, A. PIPLICA, J. ŠAVORIĆ, S. FARAGUNA (2023): Prediction of reproductive performance of ewes based on the early production data, ewe birth rank, dam age and dam birth rank. Arch. Anim. Breed. 66, 145-151.

DOI: 10.5194/aab-66-145-2023

VLAHEK, I., V. SUŠIĆ, A. EKERT KABALIN, S. MENČIK, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, A. PIPLICA, J. ŠAVORIĆ, S. FARAGUNA (2023): Funkcionalna svojstva u mliječnim goveda. Hrvatski veterinarski vjesnik, 31, 48-58.

VLAHEK, I., V. SUŠIĆ, A. PIPLICA, A. EKERT KABALIN, S. MENČIK, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ (2024): Osnovna načela određivanja veličine uzoraka u veterinarskim istraživanjima. Vet. Stanica. 55, 329-340.

DOI: 10.46419/vs.55.3.5

VLAHEK, I., V. SUŠIĆ, M. MAURIĆ MALJKOVIĆ, A. PIPLICA, J. ŠAVORIĆ, S. FARAGUNA, H. KABALIN (2023): Non-genetic factors affecting litter size, age at first lambing and lambing interval of Romanov sheep in Croatia. Vet. Stanica. 54, 311-320.

DOI: 10.46419/vs.54.3.6

VLAHEK, I., V. SUŠIĆ, S. MENČIK, A. IVANKOVIĆ, A. PIPLICA, G. ŠUBARA, E. ŠURAN (2023): Current status and future strategy for Istrian goat protection, conservation and promotion. Danubian animal genetic resources, 8, 59-63.

DOI: 10.59913/dagr.2023.12357

10. PRILOZI

U ovom istraživanju, otkriveni su mogući novi SNP-ovi u analiziranim genima za leptin (LEP), leptinski receptor (LEPR) te neuropeptid Y (NPY) u izvornoj pasmini goveda buša. S obzirom na povezanost ovih gena s važnim proizvodnim i funkcionalnim svojstvima kao što su regulacija metabolizma, energetske ravnoteže i plodnosti, otkriveni SNP-ove smatraju se potencijalno korisnim markerima za selekciju u uzgoju pasmine. Iako su ovi mogući SNP-ovi u LEP, LEPR i NPY genima korisni za daljnja istraživanja, potrebno je provesti dodatne analize kako bi se potvrdilo postojanje tih genetskih varijacija. Daljnje potvrđivanje može uključivati Sangerovo sekvenciranje, genotipizaciju veće populacije i analize prema podacima iz rodovnika kako bi se utvrdilo je li određeni SNP povezan s naslijeđem nekog od svojstava unutar različitih rodova ili linija u populaciji. Moguća povezanost tih SNP-ova s fenotipskim svojstvima poput rasta, zdravlja i plodnosti u pasmine buša otvara nove smjerove za selektivni uzgoj, poboljšanje proizvodnosti i očuvanje genetske varijabilnosti ove pasmine.

10.1. Mogući novootkriveni jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptin (LEP)

Prilog 1. Mogući jednonukleotidni polimorfizmi zabilježeni u genu za leptin (LEP)

Jednonukleotidni polimorfizam	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Vrsta mutacije	SIFT
LEP02	4:92448883-92448883	intron 1	intronska	-
LEP04	4:92448906-92448906	intron 1	intronska	-
LEP05	4:92449032-92449032	egzon 2	nesinonimna	tolerirana (0,45)
LEP06	4:92449085-92449085	egzon 2	nesinonimna	tolerirana (0,6)
LEP11	4:92450765-92450765	intron 2	intronska varijanta	-
LEP15	4:92451008-92451008	egzon 3	nesinonimna	tolerirana (0,14)
LEP16	4:92451165-92451165	egzon 3	sinonimna	-
LEP17	4:92451168-92451168	egzon 3	sinonimna	-
LEP18	4:92451180-92451180	egzon 3	sinonimna	-
LEP19	4:92451198-92451198	egzon 3	nesinonimna	štetna (0,02)
LEP20	4:92451264-92451264	egzon 3	sinonimna	-
LEP22	4:92451376-92451376	3'UTR** egzon 3	3 UTR varijanta	-

...nastavak priloga 1.

Jednonukleotidni polimorfizam	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Vrsta mutacije	SIFT
LEP23	4:92451392-92451392	3'UTR egzon 3	3 UTR varijanta	-
LEP24	4:92451404-92451404	3'UTR egzon 3	3 UTR varijanta	-
LEP25	4:92451429-92451429	3'UTR egzon 3	3 UTR varijanta	-
LEP26	4:92451474-92451474	3'UTR egzon 3	3 UTR varijanta	-

* ENSBTAT00000019853.6 – transkript LEP gena; **3'UTR – engl. *3'prime untranslated region* – 3 primarna neprevedena regija

10.2. Mogući novootkriveni jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptinski receptor (LEPR)

Prilog 2. Mogući novootkriveni jednonukleotidni polimorfizmi zabilježeni u genu za leptinski receptor (LEPR)

Jednonukleotidni polimorfizam	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Vrsta mutacije	SIFT
LEPR02	3:79742256-79742256	egzon 19	sinonimna	-
LEPR03	3:79742331-79742331	egzon 19	nesinonimna	štetna (0)
LEPR07	3:79742694-79742694	egzon 19	nesinonimna	-
LEPR08	3:79742704-79742704	egzon 19	nesinonimna	tolerirana (1,00)
LEPR09	3:79790051-79790051	intron 5	intronska varijanta	-
LEPR10	3:79790053-79790053	intron 5	intronska varijanta	-
LEPR16	3:79790528-79790528	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR17	3:79790597-79790597	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR18	3:79790605-79790605	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR19	3:79790606-79790606	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR20	3:79790607-79790607	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR21	3:79790623-79790623	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR22	3:79790629-79790629	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR23	3:79790630-79790630	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR24	3:79790653-79790653	intron 4	intronska varijanta	-

...nastavak priloga 2.

Jednonukleotidni polimorfizam	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Vrsta mutacije	SIFT
LEPR25	3:79790657-79790657	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR26	3:79790666-79790666	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR27	3:79790667-79790667	intron 4	intronska varijanta	-
LEPR28	3:79790672-79790672	intron 4	intronska varijanta	-

* ENSBTAT00000007764.6 – transkript varijanti zabilježenih u LEPR genu

10.3. Mogući novootkriveni jednonukleotidni polimorfizmi gena za leptinski receptor (LEPR)

Prilog 3. Mogući novootkriveni jednonukleotidni polimorfizmi zabilježeni u genu za neuropeptid Y (NPY)

Jednonukleotidni polimorfizam	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Vrsta mutacije	SIFT
NPY01	4:71616893-71616893	3'UTR** egzon 4	3 UTR varijanta	-
NPY04	4:71617183-71617183	intron 3	intronska varijanta	-
NPY05	4:71617133-71617133	intron 3	intronska varijanta	-
NPY07	4:71618791-71618791	intron 3	intronska varijanta	-
NPY08	4:71618792-71618792	intron 3	intronska varijanta	-
NPY09	4:71618797-71618797	intron 3	intronska varijanta	-
NPY10	4:71618800-71618800	intron 3	intronska varijanta	-
NPY11	4:71618824-71618824	intron 3	intronska varijanta	-
NPY13	4:71618806-71618806	intron 3	intronska varijanta	-
NPY14	4:71618919-71618919	egzon 3	nesinonimna	štetna (0)
NPY15	4:71618967-71618967	intron 2	intronska varijanta	-
NPY16	4:71618991-71618991	intron 2	intronska varijanta	-
NPY17	4:71618992-71618992	intron 2	intronska varijanta	-
NPY18	4:71619002-71619002	intron 2	intronska varijanta	-
NPY19	4:71619013-71619013	intron 2	intronska varijanta	-

...nastavak priloga 3.

Jednonukleotidni polimorfizam	Položaj u kromosomu*	Položaj u genu	Vrsta mutacije	SIFT
NPY20	4:71619014-71619014	intron 2	intronska varijanta	-
NPY21	4:71619088-71619088	intron 2	intronska varijanta	-
NPY22	4:71619097-71619097	intron 2	intronska varijanta	-
NPY23	4:71619117-71619117	intron 2	intronska varijanta	-
NPY24	4:71622562-71622562	SD*** intron 2	intronska varijanta	-

*ENSBTAT00000005903.4 – transkript NPY gena; 3'UTR** – engl. *3'prime untranslated region* – 3 primarna neprevedena regija; SD*** – engl. *splice donor* – donorsko mjesto izrezivanja;