

Εφαρμογή συστήματος γενετικής ιχνηλασιμότητας στο κρέας τοπικών φυλών προβάτων της Κρήτης

Παπαχρήστου¹ Δημήτριος, Κουτσούλη² Παναγιώτα, Γεωργάτου³ Σπυριδούλα, Λαλιώτης⁴ Γεώργιος, Medjugorac⁵ Ivica, Μπιζέλης⁶ Ιωσήφ

¹Διδάκτορας, Ερευνητής, Εργαστήριο Γενικής & Ειδικής Ζωοτεχνίας, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, e-mail: papachristoudim@aua.gr

²Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Εργαστήριο Γενικής & Ειδικής Ζωοτεχνίας, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά οδός 75, Αθήνα, e-mail: panagiota@aua.gr

³Υποψήφια διδάκτορας, Εργαστήριο Γενικής & Ειδικής Ζωοτεχνίας, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, e-mail: spyrid.geor@hotmail.com

⁴Επίκουρος Καθηγητής, Εργαστήριο Γενικής & Ειδικής Ζωοτεχνίας, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, e-mail: glaliotis@aua.gr

⁵Professor, Population Genomics Group, Department of Veterinary Sciences, Ludwig Maximilian's University of Munich, Germany, e-mail: Ivica.Medjugorac@gen.vetmed.uni-muenchen.de

⁶Ομότιμος Καθηγητής, Εργαστήριο Γενικής & Ειδικής Ζωοτεχνίας, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, e-mail: jmpiz@aua.gr

Περίληψη

Η γενετική ιχνηλασιμότητα ως μέθοδος επιτρέπει την επιβεβαίωση ή τον αποκλεισμό της παρουσίας γενετικού υλικού από συγκεκριμένη φυλή ή είδος σε ένα προϊόν. Ο προσδιορισμός της προέλευσης του ζωικού υλικού σε επίπεδο φυλής απέκτησε πρόσφατα ιδιαίτερη σημασία, εξαιτίας του αυξανόμενου καταναλωτικού ενδιαφέροντος για προϊόντα με σήμανση προέλευσης (κρέας και γαλακτοκομικά) από συγκεκριμένη φυλή. Έτσι, έχει δημιουργηθεί η ανάγκη προστασίας των καταναλωτών από τυχόν νοθείες σε τέτοιου είδους προϊόντα. Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης εξετάστηκε μέθοδος πιθανολογικής ιχνηλασιμότητας δύο δειγμάτων κρέατος (KLR_99 και SFK_99) από ζώα που φαινοτυπικά ανήκουν σε γνωστές φυλές προβάτων (Καλαρρύτικη και Σφακίων, αντίστοιχα). Για το σκοπό αυτό απομονώθηκε DNA από το κρέας των ζώων και αλληλουχίστηκε με το Ovine SNP50 BeadChip. Τα γενετικά δεδομένα συμπεριελήφθησαν σε βάση δεδομένων με άλλα 108 δείγματα από οκτώ φυλές προβάτων εκ των οποίων δύο ξένες κρεοπαραγωγές υψηλών αποδόσεων (Suffolk (n=10) και Texel (n=10)) και έξι ελληνικές αυτόχθονες (Ανωγείων (n=13), Αστερουσίων (n=12), Σφακίων (n=11), Σητείας (n=12), Καλαρρύτικο (n=9), Πηλίου (n=10), Χίου (n=10) και Λέσβου (n=11)). Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των ατόμων και με ανάλυση πρόσμιξης (ADMIXTURE) εκτιμήθηκαν οι πιθανοί κοινοί πρόγονοι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ζώα των ελληνικών

αυτόχθονων φυλών χωρίζονται σε δύο υποομάδες, με την ομάδα των φυλών της Κρήτης να διαφοροποιείται σε σχέση με τα άτομα των υπόλοιπων ελληνικών φυλών. Εντός της κάθε υποομάδας παρατηρείται χαμηλού βαθμού γενετική διαφοροποίηση με αποτέλεσμα τα δείγματα KLR_99 και SFK_99 αν και σε όλες τις αναλύσεις ακολουθούν την ίδια κατανομή τιμών με τα ζώα των φυλών που φαινοτυπικά ανήκουν (Καλαρρύτικο και Σφακίων), την ίδια στιγμή δεν είναι πάντα εμφανής η διάκρισή τους από τα υπόλοιπα άτομα εντός της υποομάδας στην οποία ανήκουν.

Λέξεις κλειδιά: αυτόχθονες φυλές προβάτων, γενετική ιχνηλασιμότητα (πιθανολογική προσέγγιση), φυλογένεια

Implementation of a genetic traceability system for meat's local sheep breeds of Crete

Papachristou¹ Dimitrios, Koutsouli² Panagiota, Georgatou³ Spyridoula, Laliotis⁴ Georgios, Medugorac⁵ Ivica, Bizelis⁶ Iosif

¹Postdoc Researcher, Laboratory of Animal Breeding & Husbandry, Department of Animal Science, Agricultural University of Athens, e-mail: papachristoudim@aua.gr

²Associate Professor, Laboratory of Animal Breeding & Husbandry, Department of Animal Science, Agricultural University of Athens, e-mail: panagiota@aua.gr

³PhD Candidate, Laboratory of Animal Breeding & Husbandry, Department of Animal Science, Agricultural University of Athens, e-mail: spyrid.geor@hotmail.com

⁴Assistant Professor, Laboratory of Animal Breeding & Husbandry, Department of Animal Science, Agricultural University of Athens, e-mail: glaliotis@aua.gr

⁵Professor, Department of Veterinary Sciences, Ludwig Maximilian's University of Munich, Germany, e-mail: Ivica.Medjugorac@gen.vetmed.uni-muenchen.de

⁶Professor Emeritus, Laboratory of Animal Breeding & Husbandry, Department of Animal Science, Agricultural University of Athens, e-mail: jmpiz@aua.gr

Abstract

Genetic traceability as a method allows to confirm or exclude the presence of genetic material from a particular breed or species in a product. The determination of the breed origin of farm animals has recently gained particular importance, due to the increasing consumers' interest in products (meat as well as dairy products) labeled as originating from a single breed. Thus, this has created the need to protect consumers from any fraudulent use of such products. In the context of the present study, an attempt is made to apply a method of probabilistic traceability of two meat samples (KLR_99 and SFK_99) from animals that phenotypically belong to known breeds (Kalarytiki and Sfakion sheep breeds, respectively). For this purpose, DNA was isolated from the meat of the above animals and sequenced with the Ovine SNP50 BeadChip. The acquired genetic data were included in a database with 108 samples from eight breeds, two of which are foreign high-yielding (Suffolk (n=10) and Texel (n=10)) and six indigenous Greek sheep breeds

(Anogia (n=13), Asterousia (n=12), Sfakia (n=11), Sitia (n=12), Kalarrytiko (n=9), Pelion (n=10), Chios (n=10) and Lesvos (n=11)). Subsequently, we calculated genetic distances among animals as well as analyses to find possible common ancestors (ADMIXTURE). The results show that the animals of the Greek indigenous breeds are divided into two subgroups, on the one hand, the animals of the Cretan breeds form a distinct grouping in relation to the animals of the other Greek breeds. Within each subgroup, low genetic differentiation is observed. The samples KLR_99 and SFK_99, although in all analyses follow the same distribution of values as animals of the breeds to which they phenotypically belong (Kalarrytiko and Sfakia), at the same time their distinction from the remaining individuals of the subgroup is not always obvious.

Key words: Indigenous sheep breeds, genetic traceability (probabilistic approach), phylogeny

Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για προϊόντα κρέατος καθώς και γαλακτοκομικών προϊόντων με σήμανση προέλευσης μίας μόνο φυλής. Αυτή η διαδικασία γίνεται όλο και πιο σημαντική σήμερα καθώς πολλά προϊόντα προστατεύονται από τις ευρωπαϊκές ετικέτες ΠΟΠ (Προστατευμένη Ονομασία Προέλευσης ή ΠΓΕ (Προστατευμένη Γεωγραφική Ένδειξη) και παρασκευάζονται από μία μόνο φυλή ή απαγορεύεται η παραγωγή τους από ορισμένες άλλες (Dalvit et al., 2007). Γνωστά παραδείγματα είναι το ιταλικό τυρί ΠΟΠ Parmigiano Reggiano "Vacche Rosse" που παράγεται με γάλα που λαμβάνεται αποκλειστικά από τις αγελάδες γαλακτοπαραγωγής Reggiana ενώ για τη βιομηχανία κρέατος τόσο η Ιταλία όσο και η Ισπανία έλαβαν την ετικέτα ΠΓΕ για το βόειο κρέας για διάφορες γηγενείς φυλές: Chianina, Marchigiana, Romagnola, Podolica και Maremmana για την Ιταλία και Pirenaica για την Ισπανία (Fontanesi et al., 2010). Δεν είναι όμως μόνο οι φυλές βοοειδών που εμπλέκονται στην παραγωγή τέτοιων προϊόντων, το ισπανικό ΠΟΠ αλλαντικό Jamon Iberico που παρασκευάζεται από κρέας ιβηρικών χοίρων είναι επίσης ένα καλό παράδειγμα. Ο κατάλογος θα μπορούσε να είναι μακρύς και ουσιαστικά αποτελείται από τυπικά προϊόντα μεσογειακών χωρών όπως η Γαλλία, η Ιταλία και η Ισπανία. Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι τα προϊόντα αυτά είναι συνήθως με καταγωγή που χάνεται στα αρχαία χρόνια και η διατήρησή τους συνδέεται επίσης με την προστασία παλαιών παραδόσεων και την πολιτιστική ταυτότητα των περιοχών εκτροφής. Τα κοπάδια των χρησιμοποιούμενων φυλών είναι συχνά μικρά και απειλούμενα και η μόνη πιθανότητα επιβίωσής τους είναι η χρήση τους για την παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας. Στην Ελλάδα σήμερα, με εξαίρεση ελάχιστες φυλές (Μυτιλήνης, Χίου, Σφακίων και Άρτας) οι πληθυσμοί των περισσότερων αυτόχθονων φυλών υφίστανται δραματική μείωση τα τελευταία χρόνια (Bizelis & Koutsouli, 2021). Έτσι, η ιχνηλασιμότητα σε επίπεδο φυλής είναι ένα μέσο για

την υπεράσπιση και την αξιοποίηση συγκεκριμένων προϊόντων και διαδικασιών διατροφής (Nicoloso et al., 2010).

Σε μοριακό επίπεδο, η ανάλυση του DNA σε ζωικά προϊόντα (συμπεριλαμβανομένων των γαλακτοκομικών προϊόντων καθώς και των κρεατοσκευασμάτων, τα οποία περιέχουν σωματικά κύτταρα του ζώου) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εντοπιστεί η φυλή από την οποία προέρχονται. Η γενετική ιχνηλασιμότητα, βασίζεται στην ταυτοποίηση τόσο των ζώων όσο και των προϊόντων τους μέσω της μελέτης του DNA. Η αντιστοίχιση ενός ατόμου ή προϊόντος σε μια φυλή είναι δυνατή μέσω δύο προσεγγίσεων (Ajmone-Marsan et al., 2004): Α) *ντετερμινιστική προσέγγιση*: η οποία συνίσταται στην εύρεση μοριακών δεικτών με διαφορετικά σταθεροποιημένα αλληλόμορφα σε κάθε φυλή και την ανάπτυξη απλών πρωτοκόλλων ανάλυσης χωρίς την ανάγκη στατιστικών αναλύσεων. Β) *πιθανολογική προσέγγιση*: συνίσταται στη χρήση ενός συνόλου δεικτών με διαφορετικές συχνότητες αλληλομόρφων σε διαφορετικές φυλές. Η αντιστοίχιση της φυλής λαμβάνεται με ισχυρές στατιστικές μεθόδους.

Η παρούσα μελέτη στοχεύει, μέσω της πιθανολογικής προσέγγισης, να επιβεβαιώσει ή να απορρίψει τον προσδιορισμό δύο δειγμάτων κρέατος, τα οποία προέρχονται από πρόβατα που φαινοτυπικά ανήκουν στις φυλές Καλαρρύτικο και Σφακίων. Η μελέτη αποτελεί μέρος συνολικότερης έρευνας που αποσκοπεί στην ανάπτυξη ενός ολοκληρωμένου συστήματος ιχνηλασιμότητας των κτηνοτροφικών προϊόντων

Υλικά και Μέθοδοι

Ζωικό υλικό. Χρησιμοποιήθηκε δείγμα κρέατος δύο ζώων τα οποία φαινοτυπικά ανήκουν στην Καλαρρύτικη και στη Σφακιανή φυλή προβάτων (εικόνα 1 και εικόνα 2) με κωδικούς KLR_99 και SFK_99, αντίστοιχα. Οι γονότυποι των παραπάνω δειγμάτων εντάχθηκαν σε βάση γενετικών δεδομένων από 108 πρόβατα προερχόμενα από 8 εγχώριες φυλές (Ανωγείων (n=13), Αστερουσίων (n=12), Σφακίων (n=11), Σητείας (n=12), Καλαρρύτικο (n=9), Πηλίου (n=10), Χίου (n=10) και Λέσβου (n=11)) και από δύο ξένες υψηλών αποδόσεων (Suffolk (n=10) και Texel (n=10)).

Απομόνωση DNA, Γονοτύπηση SNPs και ποιοτικός έλεγχος δεδομένων. Το γονιδιωματικό DNA απομονώθηκε από τα δείγματα αίματος και κρέατος σύμφωνα με τις τυπικές διαδικασίες (QIAamp DNA MiniKit, QIAGEN). Η γονοτύπηση των μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών SNPs έγινε με το εμπορικό προϊόν Ovine SNP50 BeadChip (Illumina). Στα αποτελέσματα της αλληλούχισης εφαρμόστηκε ο παρακάτω ποιοτικός έλεγχος για να εξασφαλιστεί υψηλότερη ποιότητα στα τελικά

δεδομένα: (α) συμπεριλήφθηκαν άτομα που παρουσίαζαν υψηλό ποσοστό ταυτοποίησης SNPs (υψηλό *call rate*) και συγκεκριμένα το ποσοστό ταυτοποίησης έπρεπε να είναι $>0,95$, β) αφαιρέθηκαν από την περαιτέρω ανάλυση τα SNPs εκείνα που χαρτογραφούνται σε άγνωστα ή σε φυλετικά χρωμοσώματα, γ) αφαιρέθηκαν τα SNPs που γονοτυπήθηκαν σε ποσοστό $<90\%$ στο σύνολο των δειγμάτων και δ) αφαιρέθηκαν τα SNPs με ελάχιστη συχνότητα αλληλομόρφου (MAF, Minor Allele Frequency) $<0,025$ και με αποκλίσεις από την ισορροπία Hardy–Weinberg εντός της φυλής ($P \leq 0,01$). Μετά τον παραπάνω ποιοτικό έλεγχο χρησιμοποιήθηκαν 46.152 γενετικοί τόποι SNPs για 110 ζώα.

	
Εικόνα 1. Καλαρρύτεκο πρόβατο με κωδικό KLR_99	Εικόνα 2. Σφακιανό πρόβατο με κωδικό SFK_99

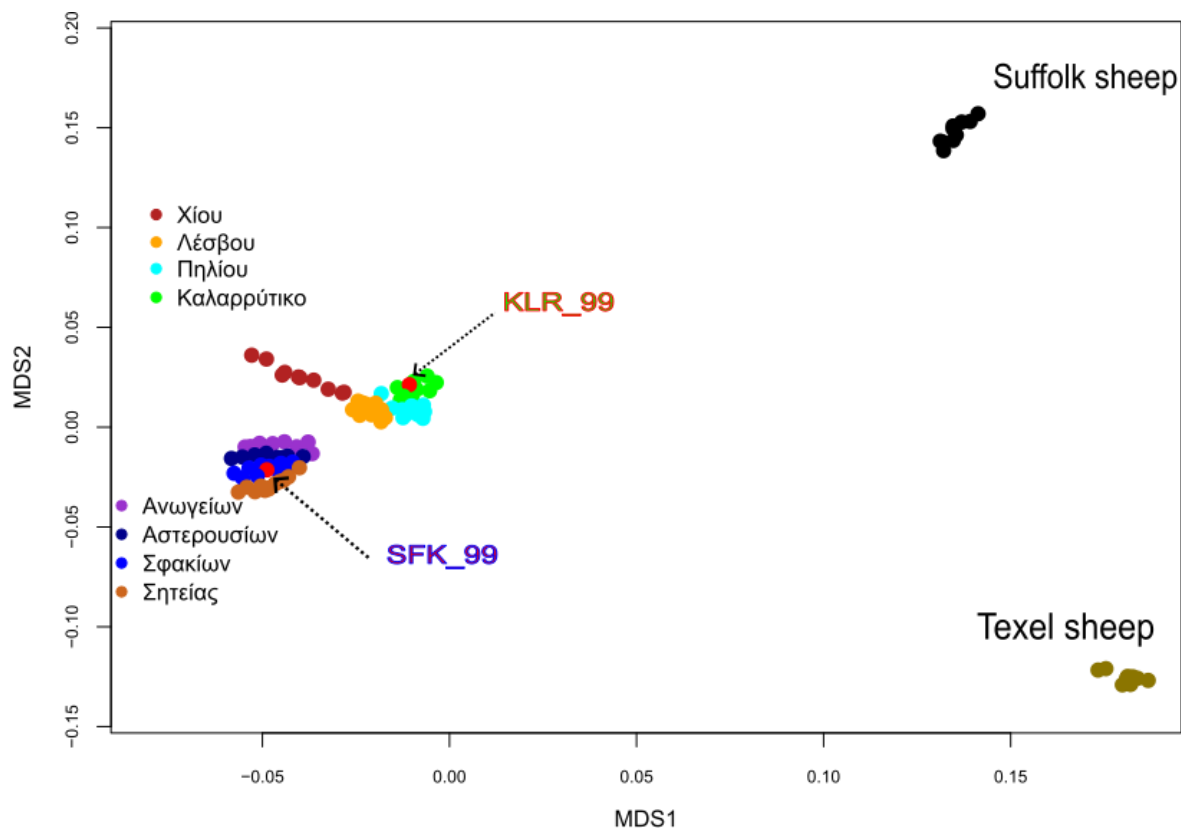
Γενετικές αναλύσεις. Για την ιχνηλάτηση των “άγνωστων” ατόμων KLR_99 και SFK_99, εφαρμόστηκαν μη εποπτευόμενες αναλύσεις ομαδοποίησης των ατόμων. Υπολογίστηκε με τη βοήθεια του προγράμματος *Adegenet* της *R* (Jombart & Ahmed, 2011), το ποσοστό κοινών αλληλομόρφων (*proportion of shared allele, PS*) ανάμεσα στα 110 άτομα του συνόλου δεδομένων χρησιμοποιώντας τον τύπο των Bowcock et al (1994). Στη συνέχεια κατασκευάστηκε ο πίνακας γενετικών αποστάσεων D_{PS} σύμφωνα με τον τύπο: $D_{PS} = -\log(PS)$. Με βάση τον πίνακα D_{PS} , τα άτομα απεικονίστηκαν σε φυλογενετικό δένδρο με τη χρήση του αλγορίθμου *Neighbor-Net* (Huson & Bryant, 2006) καθώς και σε δισδιάστατη εικόνα με τη χρήση της ανάλυσης MDS (*Multidimensional scaling analysis*). Τέλος, πραγματοποιήθηκε ανάλυση πρόσμιξης με τη βοήθεια του προγράμματος *Admixture 1.3* (Alexander & Lange, 2011), για την εύρεση των πιθανών προγόνων των 110 ατόμων ή 10 φυλών για $K=1$ έως $K=11$ (αριθμός φυλών +1). Η διαδικασία ελέγχου διασταυρούμενης επικύρωσης (*cross validation error, cv error*) έδειξε ότι ο πιθανότερος

αριθμός κοινών προγόνων είναι $K=3$. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρόσμιξης για $K=3$ απεικονίστηκαν με τη χρήση του προγράμματος *Pophelper* στην R (Francis, 2017).

Αποτελέσματα και Σχολιασμός

Σύμφωνα με την MDS ανάλυση (εικόνα 3), τα 110 άτομα στον άξονα MDS1, χωρίζονται σε δύο διακριτές ομάδες. Στην αριστερή πλευρά ομαδοποιούνται τα άτομα από ελληνικές αυτόχθονες φυλές και στην δεξιά πλευρά τα ζώα των κρεοπαραγωγικών φυλών Suffolk και Texel. Ως προς τον άξονα MDS2, φαίνεται ότι οι φυλές Suffolk και Texel καταλαμβάνουν διακριτά διαφορετικές θέσεις η μία προς την άλλη. Εντός των ελληνικών ατόμων ή/και φυλών φαίνεται ότι σχηματίζονται δύο διαφορετικές υποομάδες, ενώ εντός της κάθε μίας παρατηρείται χαμηλή γενετική διαφοροποίηση. Η μία υποομάδα αφορά τα άτομα/φυλές από την Κρήτη τα οποία διαμοιράζονται σε σημαντικό βαθμό κοινές θέσεις. Η άλλη υποομάδα αφορά τα υπόλοιπα ελληνικά δείγματα, όπου τα ζώα των φυλών Καλαρρύτικο, Πηλίου διαμοιράζονται σε σημαντικό βαθμό κοινές θέσεις, τα Χιώτικα πρόβατα φαίνεται να σχηματίζουν μια πιο διακριτή ομάδα και τα πρόβατα της φυλής Λέσβου να τοποθετούνται ενδιάμεσα. Τα δείγματα KLR_99 και SFK_99 τοποθετούνται μαζί με τα υπόλοιπα πρόβατα της φυλής στην οποία φαινοτυπικά ανήκουν. Το δείγμα KLR_99, τοποθετείται εντός της συστάδας που σχηματίζουν τα άτομα της Καλαρρύτικης φυλής, αρκετά κοντά με ορισμένα άτομα της φυλής Πηλίου, δείχνοντας την μικρή διαφοροποίηση μεταξύ των δύο φυλών.

Το δείγμα SFK_99, τοποθετείται εντός του χώρου που σχηματίζουν τα ζώα της φυλής Σφακίων σε έναν επικαλυπτόμενο χώρο που σχηματίζεται από όλα τα Κρητικά ζώα (κυρίως αυτά των Σφακίων, Αστερουσίων και Σητείας). Τα παραπάνω δείχνουν την χαμηλή γενετική διαφοροποίηση ανάμεσα στις Κρητικές φυλές, λόγω και της γνωστής επιρροής του Σφακιανού προβάτου στην διαμόρφωση της προβατοτροφίας του νησιού.

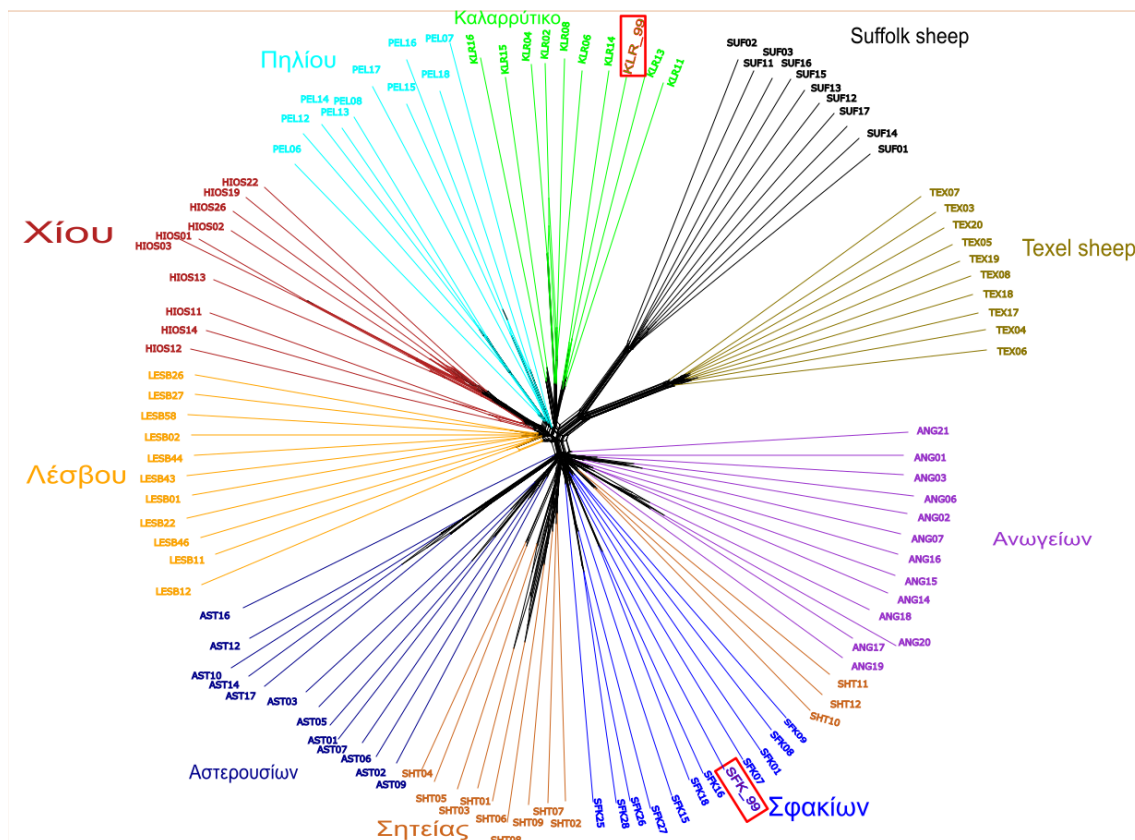


Εικόνα 3. MDS ανάλυση για την απεικόνιση των γενετικών αποστάσεων D_{PS} , των 110 ατόμων. Τα υπό μελέτη δείγματα κρέατος από το Καλαρρύτεκο πρόβατο KLR_99 και το πρόβατο Σφακίων SFK_99 έχουν σημειωθεί με κόκκινο χρώμα και με βέλος που δείχνει την θέση τους σε σχέση με τα υπόλοιπα.

Στην εικόνα 4, παρουσιάζεται το φυλογενετικό δενδρόγραμμα 110 ατόμων με βάση τον αλγόριθμο *Neighbor-Net*. Σε αυτή την ανάλυση τα άτομα των ξένων φυλών Suffolk και Texel ομαδοποιούνται διακριτά ως δύο σταθεροποιημένες ξεχωριστές φυλές.

Όσον αφορά τα ζώα των ελληνικών φυλών βλέπουμε τα άτομα από τις φυλές Πηλίου και Καλαρρύτεκη να ομαδοποιούνται ξεχωριστά αλλά με χαμηλού βαθμού διαφοροποίηση μεταξύ τους, ενώ το ίδιο παρατηρείται και στα άτομα από τις φυλές Χίου και Λέσβου. Τέλος, τα άτομα από τις κρητικές φυλές ομαδοποιούνται όλα μαζί στην κάτω πλευρά του δενδρογράμματος, όπου με εξαίρεση την φυλή Σητείας τα υπόλοιπα ζώα σχηματίζουν ξεχωριστές συστάδες ανά φυλή. Τα δείγματα KLR_99 και SFK_99 και σε αυτή την ανάλυση τοποθετούνται μαζί με τα υπόλοιπα ζώα της φυλής στην οποία ανήκουν με βάση το φαινότυπό τους. Το δείγμα KLR_99, τοποθετείται μαζί

με τα υπόλοιπα άτομα της Καλαρρύτερης φυλής και το δείγμα SFK_99, τοποθετείται μαζί με τα υπόλοιπα άτομα της Σφακιανής φυλής

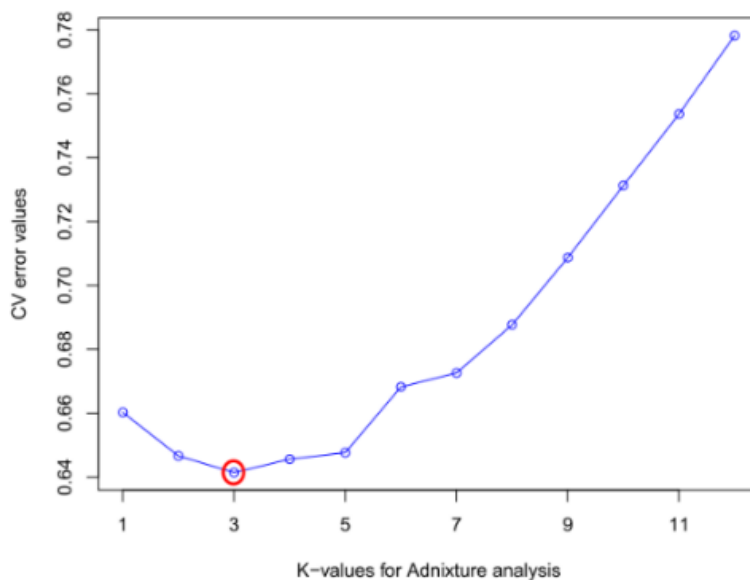


Εικόνα 4. Φυλογενετικό δενδρόγραμμα απεικόνισης των γενετικών αποστάσεων D_{PS} με βάση τον αλγόριθμο *Neighbor-Net*. Σε κόκκινο πλαίσιο έχουν σημειωθεί τα δείγματα κρέατος από το Καλαρρύτες KLR_99 και το Σφακίων SFK_99.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η επίσης μη εποπτευόμενη ανάλυση πρόσμιξης *Admixture*. Όπως προκύπτει από την εικόνα 5, η κοινή καταγωγή των ατόμων μπορεί να εξηγηθεί καλύτερα για $K=3$ όπου η τιμή *cv error* είναι χαμηλότερη.

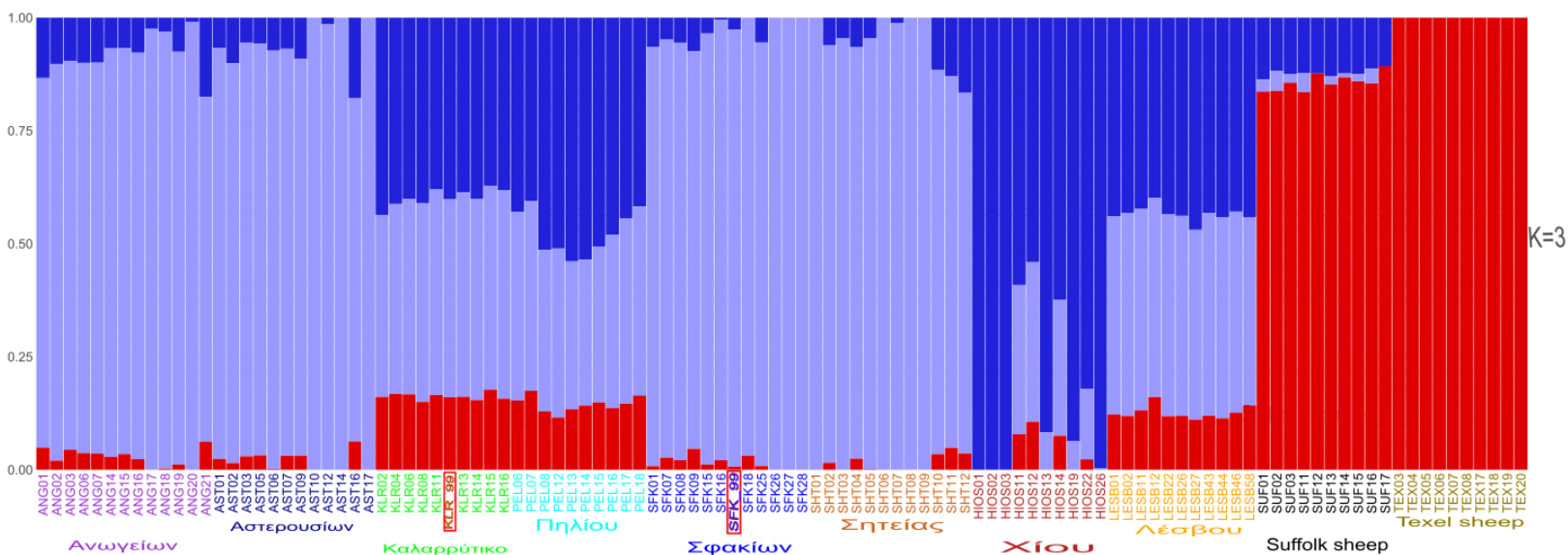
Στο γράφημα πρόσμιξης (εικόνα 6) παρουσιάζεται το μοτίβο καταγωγής για τους πιθανότερους 3 κοινούς προγόνους των 110 ατόμων. Όπως φαίνεται τα άτομα των φυλών Suffolk και Texel εμφανίζουν σε πολύ σημαντικό βαθμό κοινό μοτίβο καταγωγής μεταξύ τους. Το ίδιο μπορούμε να συμπεράνουμε για τα άτομα των ελληνικών φυλών Λέσβου, Πηλίου, Καλαρρύτες καθώς και για

τα άτομα των Κρητικών φυλών (Ανωγείων, Αστερουσίων, Σφακίων, Σητείας. Μόνο τα άτομα της φυλής Χίου φαίνεται να διαφοροποιούνται σε σημαντικό βαθμό από όλα τα υπόλοιπα.



Εικόνα 5. Διαδικασία ελέγχου διασταυρούμενης επικύρωσης (*cross validation error*), για τον προσδιορισμό του κατάλληλου αριθμού κοινών προγόνων του συνόλου δεδομένων. Σε κόκκινο κύκλο έχει σημειωθεί η χαμηλότερη τιμή ($K=3$).

Τα δείγματα KLR_99 και SFK_99 και σε αυτή την ανάλυση έχουν κοινό μοτίβο καταγωγής με τα υπόλοιπα ζώα της φυλής στην οποία ανήκουν φαινοτυπικά. Η διαφορά όμως σε αυτή την ανάλυση είναι ότι το δείγμα KLR_99 εμφανίζει κοινό μοτίβο καταγωγής με σχεδόν οποιοδήποτε άλλο ζώο των πληθυσμών Λέσβου και Πηλίου. Το ίδιο συμβαίνει και με το δείγμα SFK_99 το οποίο εμφανίζει κοινό μοτίβο καταγωγής με σχεδόν οποιοδήποτε άλλο ζώο των πληθυσμών Ανωγείων, Αστερουσίων και Σητείας.



Εικόνα 6. Γράφημα ανάλυσης πρόσμιξης *Admixture* για τρεις πιθανούς κοινούς προγόνους ($K=3$).

Σε κόκκινο πλαίσιο έχουν σημανθεί τα δείγματα κρέατος από το Καλαρρύτικο KLR_99 και το Σφακίων SFK_99.

Συμπεράσματα: Από τις γενετικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν προκύπτει ότι ο συνδυασμός μη εποπτευόμενων φυλογενετικών αναλύσεων μπορεί να κατατάξει ένα τυχαίο δείγμα προϊόντος (παραγόμενο από ένα άτομο) σε κάποια γνωστή φυλή. Όπως προκύπτει από τις παραπάνω αναλύσεις η διαδικασία γενετικής ιχνηλασιμότητας, με σκοπό την εύρεση της φυλής από την οποία προέρχεται ένα προϊόν, εμφανίζει κάποιες ιδιαίτερες προκλήσεις στην περίπτωση των ελληνικών πληθυσμών/προϊόντων. Το γεγονός αυτό οφείλεται αφενός στην έλλειψη γενετικών δεδομένων για το σύνολο των ελληνικών φυλών και αφετέρου στη χαμηλού βαθμού γενετική διαφοροποίηση που εμφανίζουν μερικοί ελληνικοί πληθυσμοί μεταξύ τους.

Βιβλιογραφία

- Ajmone-Marsan, P., Milanesi, E., & Negrini, R. (2004). Breed traceability using molecular methods. In Proceedings of the seventh world conference of the Brown Swiss cattle breeders (pp. 101–104).
- Alexander, D.H. & Lange, K. (2011). Enhancements to the ADMIXTURE algorithm for individual ancestry estimation. BMC Bioinformatics. 2011; 12:246.

- Bizelis, I. & Koutsouli, P. (2021). Greek sheep breeds in “Greek Domestic Sheep Breeds, A Hidden Treasure”. AMALTHIA -Network for the protection of Greek indigenous farm animals. Athens, Greece.
- Bowcock, A.M., Ruiz-Linares, A., Tomfohrde, J., Minch, E., Kidd, J.R., Cavalli-Sforza, L. L. (1994). High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*. 1994; 368:455–7.
- Dalvit, C., De Marchi, M., Cassandro, M. (2007). Genetic traceability of livestock products: A review. *Meat Sci.* 2007 Dec;77(4):437-49. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.05.027. Epub 2007 Jun 22. PMID: 22061927.
- Fontanesi, L., Scotti, E., & Russo, V. (2010). Analysis of SNPs in the KIT Gene of Cattle with Different Coat Colour Patterns and Perspectives to Use These Markers for Breed Traceability and Authentication of Beef and Dairy Products. *Italian Journal of Animal Science*, 9(2). <https://doi.org/10.4081/ijas.2010.e42>
- Francis, R. M. (2017). POPHELPER: an R package and web app to analyze and visualize population structure. *Molecular Ecology Resources*, 17(1), 27-32. DOI: 10.1111/1755-0998.12509.
- Huson, D. H. & Bryant, D. (2006). Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies, *Mol. Biol. Evol.*, 23(2):254-267, 2006.
- Jombart, T. & Ahmed, I. (2011). “adeget 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data.” *Bioinformatics*. doi:10.1093/bioinformatics/btr521.
- Nicoloso, L., Milanesi, E., Passerotti, S., Malavolta, M., Gilmozzi, I., & Crepaldi, P. (2009). Assessing SNPs in coat colour genes for cattle breed traceability. *Italian Journal of Animal Science*, 8(sup2), 120–122. <https://doi.org/10.4081/ijas.2009.s2.120>

❖ Η μελέτη χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα M16ΣYN2-00239.