

# ANALIZA RODOSLOVLJA DINARSKE POPULACIJE RISA (*Lynx lynx*)

## KINSHIP ANALYSIS OF DINARIC LYNX (*Lynx lynx*) POPULATION

Magda SINDIČIĆ<sup>1</sup>, Tomislav GOMERČIĆ<sup>1</sup>, Primož POLANC<sup>2</sup>, Miha KROFEL<sup>3</sup>, Vedran SLIJEPČEVIĆ<sup>4</sup>,  
Nina GEMBAROVSKI<sup>1</sup>, Martina ĐURČEVIĆ<sup>1</sup>, Đuro HUBER<sup>1</sup>

### Sažetak:

Genetski markeri omogućuju nam uvid u srodstvene odnose divljih životinja kod kojih je takve podatke gotovo nemoguće prikupiti izravnim promatranjem. Podaci o srodstvenim odnosima neophodni su za analize reproduktivne uspješnosti, parenja u srodstvu, selekcije i protoka gena. Dinarska populacija euroazijskog risa (*Lynx lynx*) uključuje risove u Sloveniji, Hrvatskoj te Bosni i Hercegovini. Vrsta je zakonom zaštićena u sve tri zemlje, te populaciju ugrožavaju nedostatak genske raznolikosti i krivolov. Analizom srodnosti 91 genotipa, na 19 mikrosatelitskih lokusa, dinarske populacije risa dobili smo podatke o obiteljskim skupinama u kojima potomci dijele jednog ili oba roditelja. Ukupno 21 od 29 analiziranih potomaka (72%) čiji su uzorci prikupljeni u razdoblju od 2000 do 2010. g. međusobno su povezani srodstvenim odnosima, potvrđujući nisku brojnost populacije i prisutnost parenja u srodstvu.

**KLJUČNE RIJEČI:** mikrosateliti, rodoslovlje, euroazijski ris, *Lynx lynx*, Dinaridi

### Uvod Introduction

Razvojem analiza rodoslovnih odnosa na temelju DNK otvorena su nova područja istraživanja etologije, ekologije, evolucije i zaštite divljih životinja (Blouin 2003, Pemberton 2008, Van Horn i sur. 2008, Wang i Sature 2009, Jones i Wang 2010a). Podaci o srodnosti daju nam uvid u odnos jedinki u populaciji, objašnjavaju njihovo ponašanje i socijalnu strukturu te sustav razmnožavanja (Ralls i sur. 2001, Wang i Sature 2009). Međusobni odnosi životinja u srod-

stvu imaju velik utjecaj na teritorijalnost, migracije i rasprostranjenost populacije (Gompper i sur. 1998, Chapman i sur. 2003). Osim toga, podaci o srodstvenim odnosima neophodni su za analize reproduktivne uspješnosti, parenja u srodstvu, selekcije i protoka gena (Morgan i Conner 2001, Nielsen i sur. 2001, Wang i Sature 2009, Jones i Wang 2010a).

Genetski markeri omogućuju nam uvid u srodstvene odnose divljih životinja kod kojih je takve podatke gotovo nemoguće prikupiti izravnim promatranjem (Blouin 2003, Pemberton 2008, Jones i Wang 2010a). Mikrosatelitni lokusi

<sup>1</sup> Dr. sc. Magda Sindičić dr. med. vet., doc. dr. sc. Tomislav Gomerčić dr. med. vet., Nina Gembarovski, Martina Đurčević, prof. dr. sc. Đuro Huber dr. med. vet., Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10 000 Zagreb, magda.sindicic@vef.hr, tomislav.gomercic@vef.hr, ngembarovski@vef.hr, mdjurcevic@vef.hr, huber@vef.hr

<sup>2</sup> Dr. sc. Primož Polanc, Odjel za biologiju Biotehnološki fakultet Sveučilišta u Ljubljani, Večna pot 111, 1000 Ljubljana, Slovenija, primozpolanc@yahoo.com

<sup>3</sup> Dr. sc. Miha Krofel, Odjel za šumarstvo i obnovljive šumske izvore Biotehnološki fakultet Sveučilišta u Ljubljani, Večna pot 83, 1000 Ljubljana, Slovenija, miha.krofel@gmail.com

<sup>4</sup> Vedran Slijepčević dr. med. vet. Odjel lovstva i zaštite prirode Veleučilište u Karlovcu, J. J. Strossmayera 9, 47 000 Karlovac, vedran.slijepcevic@gmail.com

smatraju se najpouzdanijim genetskim markerima za analizu srodnosti, no analize se mogu raditi pomoću svih ko-dominantnih markera (Jones i Ardren 2003). Osnova analize srodnosti su podaci o frekvencijama alela, koji se statistički obrađuju na temelju Mendelovih zakona o nasljeđivanju. Jedinke svrstavamo u kategorije srodnosti, poput braće i sestara koji dijele jednog ili oba roditelja, tako da na temelju frekvencije alela unutar populacije računamo vjerojatnost pripadnosti određenoj kategoriji (Blouin 2003). Vjerojatnost se računa na temelju toga da li istraživane jedinke dijele 0, 1 ili 2 alela koji imaju istovjetno podrijetlo (Blouin 2003). Razvijeno je više statističkih metoda za analize rodoslovlja na temelju DNK, te je izbor odgovarajuće metode i kompjuterskog programa jedan od ključnih koraka u istraživanju (Blouin 2003). Prilikom izbora metode i programa moramo uzeti u obzir sve parametre koji utječu na pouzdanost i preciznost metode – broj i međusoban odnos uzorkovanih jedinki, sustav razmnožavanja istraživane vrste, obilježja markera, broj lokusa i raznolikosti alela (Jones i Ardren 2003, Van Horn i sur. 2008). Za analize na temelju mikrosatelita važno je koristiti program čija metoda u obzir uzima mutacije te pogreške prilikom genotipiziranja (poput nul alela). Nul aleli znatno utječu na pouzdanost analiza, te su najpouzdaniji modeli koji prilikom analiza u obzir uzimaju grešku genotipiziranja za svaki lokus pojedinačno (Jones i Ardren 2003, Wang 2004, Dakin i Avise 2004, Wagner i sur. 2006).

Euroazijski ris (*Lynx lynx*) je zbog pretjeranog lova, gubitka staništa i nedostatka plijena nestao s područja Dinarida krajem 19. i početku 20. stoljeća (Kos 1928, Kos i sur. 2004, Schmidt i sur. 2011). Godine 1973. naseljeno je šest jedinki risa iz slovačkih Karpata u Sloveniju, odakle se populacija proširila na Hrvatsku te Bosnu i Hercegovinu (Čop 1987, Frković 2001). Danas dinarska populacija uključuje risove u Sloveniji, južno od autoceste Ljubljana – Trst, risove u Hrvatskoj te Bosni i Hercegovini. Ne postoje pouzdani podaci o brojnosti dinarske populacije, no veličina se procjenjuje na oko 130 jedinki (Sindičić i sur. 2010a). Vrsta je zakonom zaštićena u sve tri zemlje, te se smatra da populaciju ugrožavaju nedostatak genske raznolikosti i krivolov (Sindičić i sur. 2010a, Sindičić i sur. 2010b). Istraživanjem genetskih markera potvrđen je pad brojnosti populacije u posljednjih deset godina, niska heterozigotnost, niska efektivna veličina populacije te prisutnost parenja u srodstvu (Sindičić 2011, Polanc 2012, Sindičić i sur. 2012).

Budući parenje u srodstvu utječe na sposobnost preživljavanja, podaci o rodoslovnim odnosima izuzetno su važni za bolje poznavanje socijalne strukture i dinamike populacije te zaštitu. Euroazijski ris je teritorijalna vrsta, živi na velikom prostoru (Breitenmoser i sur. 2000), te je podatke o srodstvenim odnosima gotovo nemoguće dobiti izravnim promatranjem. Središnji dijelovi teritorija jedinki istoga spola u pravilu se isključuju, no dolazi do preklapanja teri-

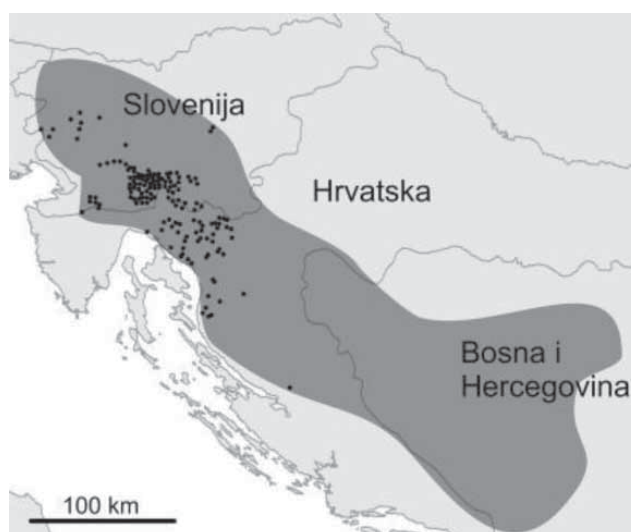
torija mužjaka s jednom ili više ženki (Breitenmoser i sur. 1993, Schmidt i sur. 1997). Ženke risa su spolno zrele s 10 do 20 mjeseci, a mužjaci s 30 mjeseci života, te su oba spola poligamna (Kvam 1991). Parenje se odvija od veljače do travnja, a nakon 69 dana gravidnosti ženka okoti od jedan do četiri slijepa mladunca (Kvam 1991). Mladunci prvu godinu života provode s majkom na njenom teritoriju, te se na taj način mogu dobiti podaci o majčinstvu, no genetičke metode su jedini izvor podataka o reproduktivnom uspjehu mužjaka. Cilj ovoga rada bio je istražiti rodoslovne odnose unutar sjevernog dijela dinarske populacije euroazijskog risa uporabom mikrosatelitskih lokusa, te utvrditi učinkovitost korištenih lokusa za takve analize.

## Materijali i metode

### Materials and methods

U istraživanju smo koristili genotipove 19 mikrosatelitskih lokusa 91 jedinke euroazijskog risa iz dinarske populacije. Jedinke su genotipizirane iz uzoraka trofejnih krzna i lubanja (58), krvi prikupljene od životinja obilježenih radiotelemetrijskim ogrlicama (10), tkiva stradali životinja (17) te uzoraka izmeta i dlaka prikupljenih neinvazivnim metodama (6). Uzorci su prikupljeni u Hrvatskoj i Sloveniji (Slika 1).

Način prikupljanja uzoraka, genotipizirani lokusi, laboratorijski postupci i analize opisani su u Polanc i sur. (2012). Na temelju podataka dobivenih praćenjem jedinki pomoću radio-telemetrijskih ogrlica bile su nam poznate četiri obiteljske skupine. Jedinke nazvane Ivan i Ana brat i sestra, uhvaćeni su živi 2005. godine, no roditelji nisu bili poznati (Štrbenac i sur. 2007). Jedinica Luna obilježena je 2007. go-



**Slika 1.** Sivom bojom označeno je područje rasprostranjenosti dinarske populacije euroazijskog risa (prema Linnell i sur. 2007), a crnim točkama su označene lokacije podrijetla uzoraka korištenih u istraživanju.

**Figure 1.** The shaded area indicates the Dinaric lynx population range (according to Linnell et al. 2007). Dots represent sample locations.

dine kao mladunče, dok je bila uz majku nazvanu Tisa, koja je također uhvaćena i obilježena 2008. godine (Slijepčević i sur. 2009). Ženka Dina, obilježena 2006. godine (Krofel i Kos. 2007), majka je dvoje mladunaca (Puh i Burja), dok je jedinka Snežka obilježena 2008. godine majka jedinkama Copko i Točka (Krofel i sur. 2008).

Za analizu rodoslovnih odnosa korišten je program Colony (Jones i Wang 2010b), u kojemu su implementirani metoda vjerojatnosti za cijeli pedigree (Wang 2004, Wang i Sature 2009) te algoritam simuliranog prekaljivanja (Kirkpatrick i sur. 1983). Programski algoritam istovremeno analizira vjerojatnost za cjelokupni pedigree te svrstava jedinke u obiteljske skupine. Međusobni odnosi jedinki unutar obiteljske skupine definirani su kao roditelj–potomak, braća i sestre kojima su oba roditelja zajednički, te braća i sestre koji imaju jednog zajedničkog roditelja. Izračun vjerojatnosti odnosa jedinki na temelju cjelokupnog pedigrea je precizniji od vjerojatnosti na temelju odnosa samo te dvije jedinke kojega koristi većina ostalih programa, te je ova metoda prikladnija za uporabu kod poligamnih vrsta (Wang i Santure 2009).

Kao ulazne podatke smo koristili genotipove jedinki podijeljene u tri skupine – potencijalni potomci (29 životinja čiji su uzorci prikupljeni u razdoblju od 2000. do 2010. godine), potencijalne majke (33 jedinke) te potencijalni očevi (58 jedinki). Ista jedinka se može nalaziti u skupini potencijalnih potomaka i potencijalnih roditelja, te smo s obzirom na veličinu istraživane populacije, sustav razmnožavanja i broj prikupljenih uzoraka, naveli 10% mogućnost da se traženi roditelj nalazi u skupini potencijalnih roditelja. Kao programske postavke izabrali smo poligamni sustav parenja za oba spola, s prisutnim parenjem u srodstvu. Za svaki mikrosatelitni lokus naveli smo učestalost nul alela. U programske postavke unijeli smo podatke o poznatim parovima roditelj – potomak, brat – sestra, te za svakog potomka popis jedinki koje na temelju podataka o godini rođenja i/ili smrti isključujemo kao potencijalne roditelje. Za daljnju analizu u obzir smo uzeli samo obiteljske skupine s vjerojatnošću iznad 0,95.

## Rezultati

### Results

Analiza srodnosti 91 genotipa dinarske populacije risa pomoću programa Colony (Jones i Wang 2010b) je s vjerojatnošću >0,95 potvrdila srodstvene odnose koji su bili poznati na temelju radio-telemetrijskih istraživanja, te smo dobili podatke o obiteljskim skupinama u kojima potomci dijele jednog ili oba roditelja (Tablica 1 i 2, Slika 2).

Analiza je potvrdila srodnost risova Ivana i Ane, koji su uzorkovani 25. 10. 2005. g. u Gorskom kotaru kada su pronađeni kao mladunci koji su došli u naselje Mrkopalj

**Tablica 1.** Obiteljske skupine s potomcima koji imaju bar jednog poznatog roditelja ili dijele oba roditelja.

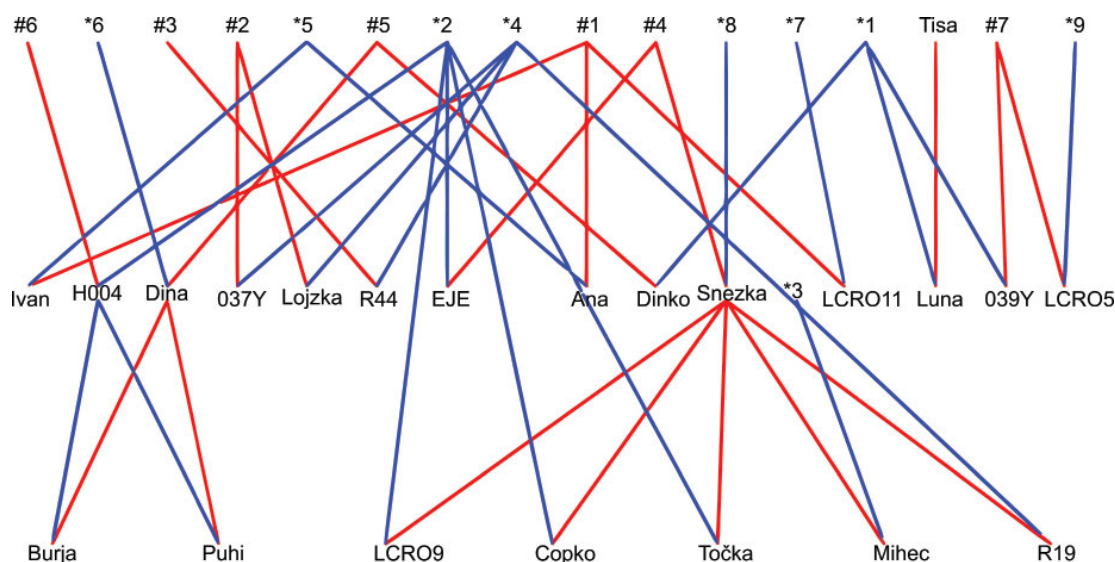
**Table 1.** Family groups with descendants sharing at least one identified parent or both parents.

| Obiteljska skupina | Potomci |                | Vjerojatnost majčinstva |               | Vjerojatnost očinstva |
|--------------------|---------|----------------|-------------------------|---------------|-----------------------|
|                    | Potomci | Majka          | Otac                    |               |                       |
| 1                  | Luna    | Tisa           | 1.000                   | Nepoznat (*1) |                       |
| 2                  | Burja   | Dina           | 1.000                   | H004          | 0.976                 |
|                    | Puhi    |                | 1.000                   |               | 0.976                 |
| 3                  | LCR09   | Snežka         | 1.000                   | Nepoznat (*2) |                       |
|                    | Copko   |                | 1.000                   |               |                       |
|                    | Točka   |                | 1.000                   |               |                       |
|                    | Mihec   |                | 1.000                   |               | Nepoznat (*3)         |
| 4                  | R19     | Nepoznata (#1) | 1.000                   | Nepoznat (*5) | Nepoznat (*4)         |
|                    | Ivan    |                |                         |               |                       |
| 5                  | Ana     | Nepoznata (#2) |                         | Nepoznat (*6) |                       |
|                    | 037Y    |                |                         |               |                       |
|                    | Lojzka  |                |                         |               |                       |

**Tablica 2.** Potomci koji dijele jednog roditelja.

**Table 2.** Descendants that share one parent.

|    | Potomci |        | Vjerojatnost |
|----|---------|--------|--------------|
| 1  | R44     | R19    | 1.000        |
| 2  | R44     | 037Y   | 1.000        |
| 3  | R44     | Lojzka | 1.000        |
| 4  | R19     | LCR09  | 1.000        |
| 5  | R19     | Mihec  | 1.000        |
| 6  | R19     | Copko  | 1.000        |
| 7  | R19     | Točka  | 1.000        |
| 8  | EJE     | Copko  | 1.000        |
| 9  | EJE     | Točka  | 1.000        |
| 10 | Dina    | Dinko  | 1.000        |
| 11 | Luna    | Dinko  | 1.000        |
| 12 | LCR09   | Mihec  | 1.000        |
| 13 | Mihec   | Copko  | 1.000        |
| 14 | Mihec   | Točka  | 1.000        |
| 15 | EJE     | LCR09  | 0.999        |
| 16 | EJE     | H004   | 0.984        |
| 17 | R19     | 037Y   | 0.981        |
| 18 | R19     | Lojzka | 0.981        |
| 19 | Ana     | LCR011 | 0.981        |
| 20 | Ivan    | LCR011 | 0.981        |
| 21 | 039Y    | Luna   | 0.968        |
| 22 | 039Y    | Dinko  | 0.968        |
| 23 | H004    | Copko  | 0.963        |
| 24 | H004    | Točka  | 0.963        |
| 25 | H004    | LCR09  | 0.962        |
| 26 | EJE     | Snežka | 0.958        |
| 27 | 039Y    | LCR05  | 0.951        |



**Slika 2.** Obiteljske skupine i potomci koji dijele jednog ili oba roditelja. Nepoznati očevi označeni su \* i brojkom, a nepoznate majke # i brojkom. Plavom bojom označene su očinske linije, a crvenom majčinske.

**Figure 2.** Family groups and descendants that share one or both parents. Unidentified fathers are marked with asterisk (\*) and number, while unidentified mothers are marked with number sign (#) and number. Paternal lines are marked with blue and maternal with red color.

(Štrbenac i sur. 2007). Ivan i Ana dijele oba roditelja, te je utvrđeno da imaju istu majku kao i ženka LCRO11, čija je lešina pronađena 17.6.2009. godine u Gorskom kotaru.

Analizom srodnosti potvrdili smo da je ženka Dina koja je obilježena radiotelemetrijskom ogrlicom 28.12.2006. godine na Snežniku u Sloveniji (Krofel i Kos 2007, Krofel i sur. 2008), majka dva risa (Puhi i Burja) čiji su uzorci dlake prikupljeni iz njenog legla 30.6.2007. godine u Gorskom kotaru u Hrvatskoj. Mužjak Puhi je zatim 14.3.2008. uhvaćen i obilježen ogrlicom na Snežniku u Sloveniji (Krofel i sur. 2009). Mužjak koji je genotipiziran iz uzorka dlake oznake H004, prikupljene 14.12.2006. g. na Snežniku, otac je risova Puhi i Burja. Utvrdili smo da risovica Dina ima istu majku kao i mužjak Dinko, koji je 12.2.2008. g. uhvaćen i obilježen ogrlicom u Gorskom kotaru. Dok Dinko ima istog oca kao i Luna (za koju smo potvrdili da je kćer od Tise), te ženka pod oznakom 039Y, koja je obilježena radio-telemetrijskom ogrlicom na jugozapadu Slovenije 10.3.2000. g. Ženka 039Y ima istu majku kao i mužjak LCRO5 odstrijeljen 19. 5. 2004. g. kod Senja.

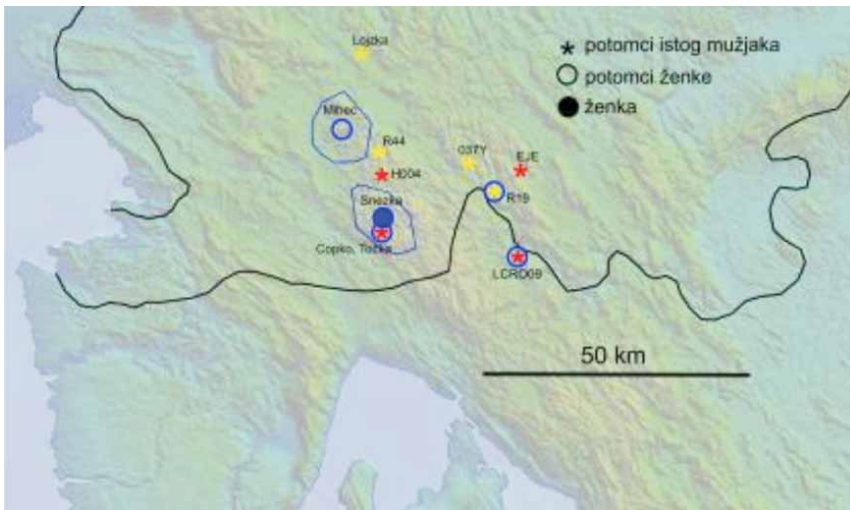
Risovica Snežka, obilježena 9.2.2008. g. na Snežniku (Krofel i sur. 2009) majka je petero potomaka (Slika 3). Od toga tri potomka ima s istim mužjakom, no iz dva različita legla. Tijekom radio-telemetrijskog praćenja ove ženke utvrđena je lokacija njenog legla na Snežniku, te su 14.5.2008. g. prikupljeni uzorci dlake mladunaca nazvanih Copko i Točka. Utvrđeno je da ti mladunci imaju zajedničke roditelje s ženkom LCRO9, koja je 1.2.2009. g. godine pronađena mrtva u Gorskom kotaru u Hrvatskoj. Dakle isti nepoznati mužjak (označen \*2) je otac risovima označenim LCRO9, Copko i Točka, mužjaku H004 (za kojega je utvrđeno da je s riso-

vicom Dinom roditelj potomcima Puhi i Burja), te jedinki koja je genotipizirana iz uzorka izmeta označen EJE, koji je prikupljen 16.2.2004. g. u Sloveniji na Kočevju. Risovica Snežka je također majka mužjaku Mihecu, koji je obilježen radiotelemetrijskom ogrlicom 23.12.2012. g. na Gumancu na hrvatsko-slovenskoj granici (Krofel i sur. 2011), te mužjaku R19 koji je u jugozapadnoj Sloveniji odstrijeljen 18.9.2001. g. Dakle mužjak R19 dijeli istu majku s LCRO9, Copkom, Točkom i Mihecom, dok dijeli istog oca s jedinkama 037Y, Lojzkom i R44. Jedinka 037Y pronađena je mrtva 1.12.2002. g. godine u Loškom Potoku u Sloveniji. Ženka Lojzka uhvaćena je i obilježena radiotelemetrijskom ogrlicom na Ljubljanskom vrhu 7.3.2005. godine (Krofel i sur. 2006). Jedinka označena kao R44 genotipizirana je iz uzorka mekušića, prikupljenog s trofejnog krzna mužjaka risa koji je odstrijeljen u studenome 2001. g. u Notranjsko-kraškoj regiji u Sloveniji. Zanimljivo je da jedinka EJE i Snežka imaju istu majku, dok je nepoznati mužjak označen kao \*2 otac EJE, te je zajedno sa Snežkom roditelj LCRO9, Copku i Točki.

## Rasprava

### Discussion

U ovom istraživanju utvrdili smo da se analizom mikrosatelitskih lokusa pomoću programa Colony (Jones i Wang 2010b) može dobiti uvid u rodoslovne odnose unutar dinarske populacije euroazijskog risa. Pritom smo koristili genotipove 19 mikrosatelitskih lokusa, te smo dobili podatke s vjerojatnošću >0,95. Učinkovitost ovih 19 lokusa za razlučivanje bliskih srodnika je visoka, te već kod uporabe šest lokusa vjerojatnost identifikacije jedinke iznosi 99,9%



**Slika 3.** Prikaz lokacija prikupljenih uzoraka, ženke Sneške (puni plavi krug), njenih petero potomaka (plava kružnica), te njihove polubrača i poluses-tara s kojima imaju zajedničkog oca (žuto/crvenom zvjezdicom su označeni potomci istog oca). Plavim linijama su označeni teritoriji Sneške i Miheca.

**Figure 3.** Sampling locations for female Sneška (blue circle), her five descendants (blue circular), and their half siblings (yellow/blue asterisk indicates offspring of the same father). Territories of Mihec and Sneška are marked with blue lines.

(Polanc i sur. 2012). Uporabom velikog broja lokusa, visoke učinkovitosti razlučivanja, osigurali smo pouzdanost analize srodstvenih odnosa kod populacije koja se pari u srodstvu. Slična istraživanja na crvenom risu (*Lynx rufus*) koristila su manji broj lokusa – osam (Janečka i sur. 2006) i 12 (Janečka i sur. 2007). U preliminarnom istraživanju (Đurčević i Gembarovski 2012) program Colony (Jones i Wang 2010b) pokazao se kao najpouzdaniji program za analizu rodoslovnih odnosa kod dinarske populacije risa. Zbog niske raznolikosti alela u populaciji za pouzdanost analize ključnim se pokazalo korištenje dodatnih parametara poput demografskih podataka, godina rođenja i smrti jedinki, spol jedinke te uključivanje podataka o postotku greške pri genotipizaciji (Gembarovski i Đurčević 2012).

Uzorci uključeni u analizu srodstnosti su prikupljeni u Hrvatskoj i Sloveniji. Ris je u Hrvatskoj prisutan na oko 11300 km<sup>2</sup> (Sindičić i sur. 2010b), a u Sloveniji na 6300 km<sup>2</sup> (Koren i sur. 2006), a prikupljeni uzorci većinom potječu iz središnjeg dijela rasprostranjenosti populacije. U Europi se raspon životnih prostora mužjaka risa kreće od 180 do 2780 km<sup>2</sup>, a ženki od 98 do 759 km<sup>2</sup> (Breitenmoser i sur. 2000). Huber i sur. (1995) su u Sloveniji istraživali životni prostor četiri risa, pri čemu su vrijednosti za mužjake bile 156 i 200 km<sup>2</sup>, te 132 i 222 km<sup>2</sup> za ženke. Područje kretanja ženke risa praćene u Sloveniji 2005. godine iznosilo je 109 km<sup>2</sup> (Krofel i sur. 2006). Odrasli mužjak risa čije je kretanje praćeno u Gorskom kotaru pomoću radio-telemetrijske ogrlice, u 83 dana praćenja kretanjem je pokrio površinu od 116 km<sup>2</sup>, dok je odrasla ženka u 54 dana praćenja svojim kretanjem pokrila površinu od 62 km<sup>2</sup> (Slijepčević i sur. 2009). Genetska istraživanja pokazala su da unutar dinarske populacije nije došlo do podjele na subpopulacije, tj. da fragmentiranost staništa ne utječe na kretanje životinja i potragu za partnerima (Sindičić 2011, Polanc 2012). S obzirom na veličinu područja s kojeg su prikupljeni uzorci te područje kretanja jedinki risa, u populacijama kod kojih se ne javlja

parenje u srodstvu i nema zapreka kretanju jedinki, kod ovakve analize srodstnosti očekuje se srodstvena povezanost malog broja životinja. Ovim istraživanjem utvrdili smo da od 29 životinja čiji uzorci su prikupljeni u razdoblju 2000–2010. godine, njih 72 % je međusobno povezano srodstvenim odnosima. S obzirom na površinu s koje su prikupljeni uzorci, podatak da fragmentacija staništa ne utječe na protok gena na istraživanom području, te površinu kretanja jedinki euroazijskog risa u Sloveniji i Hrvatskoj, rodoslovna povezanost tako velikog broja životinja nije očekivana i smatramo da je posljedica parenja u srodstvu.

Istraživanja mikrosatelitskih lokusa pokazala su da je zbog niske brojnosti kod risova iz dinarske populacije prisutno parenje u srodstvu, te da se javlja parenje između polubrača i poluses-tara, baka i djedova s potomcima, te srodnika u prvom koljenu (Sindičić 2011, Polanc 2012). Među životinjama čije smo genotipove analizirali u ovom istraživanju nismo pronašli primjere tako bliskog parenja u srodstvu, no čak 21 od 29 analiziranih potomaka (72 %) čiji su uzorci prikupljeni u razdoblju od 2000. do 2010. g. međusobno su povezani srodstvenim odnosima. Smatramo da bi analizom većeg broja uzoraka prikupljenih u kraćem razdoblju utvrdili prisutnost parenja među srodstnicima u prvom ili drugom koljenu. U svakom slučaju rezultati ovog istraživanja su dodatna potvrda potrebe za unosom novih jedinki u populaciju.

## Literatura References

- Blouin, M. S., 2003: DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural populations. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 503–511.
- Breitenmoser, U., C. Breitenmoser-Würsten, H. Okarma, T. Kaphegyi, U. Kaphegyi-Wallmann, U. M. Müller, 2000: Action plan for the conservation of the Eurasian lynx in Europe (*Lynx lynx*), Council of Europe Publishing, 69 str., Strasbourg.

- Breitenmoser, U., P. Kaczensky, M. Dötterer, C. Breitenmoser-Würsten, S. Capt, F. Bernhart, M. Liberek, 1993: Spatial organization and recruitment of lynx (*Lynx lynx*) in a re-introduced population in the Swiss Jura Mountains. *Journal of Zoology*, 231: 449–464.
- Chapman, R. E., J. Wang, A. F. G. Bourke, 2003: Genetic analysis of spatial foraging patterns and resource sharing in bumble bee pollinators. *Molecular Ecology* 12: 2801–2808.
- Čop, J., 1987: Propagation pattern of re-introduced population of lynx (*Lynx lynx* L.) in Yugoslavia (1973. Slovenia – Kocevsko) and its impact on the ungulate community. U *Atti del convegno Reintroduzione dei predatori nelle aree protette*, 83–91, Torino.
- Dakin E. E., J. C. Avise, 2004: Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93: 504–509.
- Đurčević, M., N. Gembarovski, 2012: Analiza srodnosti dinarske populacije euroazijskog risa (*Lynx lynx*) pomoću mikrosatelitskih markera. Studentski znanstveni rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Frković, A., 2001: Ris (*Lynx lynx* L.) u Hrvatskoj – naseljavanje, odlov i brojnost (1974–2000). *Šumarski list* 11–12: 625–634.
- Gompper, M. E., J. L. Gittleman, R. K. Wayne, 1998: Dispersal, philopatry, and genetic relatedness in a social carnivore: comparing males and females. *Molecular Ecology* 7: 157–163.
- Huber, T., P. Kaczensky, C. Staniša, J. Čop, H. Gossow, 1995: Abschlussbericht der Luchs-Telemetrieprojektes Kočevska/Slovenien (1994–1995). Institut für Wildbiologie und Jagdwirtschaft, Universität für Bodenkultur, 23 str., Dunaj.
- Janečka, J. E., T. L. Blankenship, D. H. Hirth, C. W. Kilpatrick, M. E. Tewes, L. I. Grassman Jr., 2007: Evidence for male-biased dispersal in bobcats *Lynx rufus* using relatedness analysis. *Wildlife Biology* 13: 38–47.
- Janečka, J. E., T. L. Blankenship, D. H. Hirth, M. E. Tewes, C. W. Kilpatrick, L. I. Grassman Jr., 2006: Kinship and social structure of bobcats (*Lynx rufus*) inferred from microsatellite and radio-telemetry data. *Journal of Zoology* 269: 494–501.
- Jones, A. G., W. R. Ardren, 2003: Methods of parentage analysis in natural populations. *Molecular Ecology* 12: 2511–2523.
- Jones, O. R., J. Wang, 2010a: Molecular marker-based pedigrees for animal conservation biologists. *Animal Conservation* 13:26–34.
- Jones, O. R., J. Wang, 2010b: COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources* 10: 551–555.
- Kirkpatrick, S., C. D. Gellatt, M. P. Vecchi, 1983: Optimization by simulated annealing. *Science* 220: 671–680.
- Koren, I., M. Jonozović, I. Kos, 2006: Status and distribution of the Eurasian lynx (*Lynx lynx* L.) in Slovenia in 2000–2004 and comparison with the year 1995–1999. *Acta Biologica Slovenia* 49(1): 27–41.
- Kos, F., 1928: Ris (*Lynx lynx*) na ozemlju etnografske Slovenije. *Glasnik muzejskega društva za Slovenijo* 1(1–4): 57–72.
- Kos, I., H. Potočnik, T. Skrbinšek, A. Skrbinšek Majić, M. Jonzović, M. Krofel, 2004: Ris v Sloveniji: strokovna izhodišča za varstvo in upravljanje (The Lynx in Slovenia: background documents for protection and management), Biotehniška fakulteta Oddelek za biologijo, 239 str., Ljubljana.
- Krofel, M., I. Kos, 2007: Female lynx radio-collared on Snežnik plateau in Slovenia. *SCALP News* 2007: 1–2.
- Krofel, M., A. Majić Skrbinšek, A. Marinčič, I. Kos, 2009: Novi podatki o risih iz dinarskih gozdov: rezultati raziskav 2008. *Lovec* 92(6): 304–305.
- Krofel, M., A. Skrbinšek Majić, I. Kos, 2008: Two new lynx radio-collared in Slovenia. *SCALP News* 2008: 1.
- Krofel, M., H. Potočnik, T. Skrbinšek, I. Kos, 2006: Spremljanje gibanja in predacije risa (*Lynx lynx*) na območju Menišije in Logaške planote. *Veterinarske novice* 32: 11–17.
- Krofel, M., I. Kos, H. Potočnik, N. Ražen, T. Skrbinšek, 2011: Novi ris opremljen s telemetrično ovratnico. *Lovec* 94(2): 104.
- Kvam, T., 1991: Reproduction in the European lynx, *Lynx lynx*. *Z. Säugetierkunde* 56: 146–158.
- Linnell, J., V. Salvatori, L. Boitani, 2007: Guidelines for population level management plans for large carnivores in Europe. A Large Carnivore Initiative for Europe report prepared for the European Commission.
- Morgan, M. T., J. K. Conner, 2001: Using genetic markers to directly estimate male selection gradients. *Evolution* 55: 272–281.
- Nielsen, R., D. K. Mattila, P. J. Clapham, P. J. Palsbøll, 2001: Statistical Approaches to Paternity Analysis in Natural Populations and Applications to the North Atlantic Humpback Whale. *Genetics* 157: 1673–1682.
- Pemberton, J. M., 2008: Wild pedigrees: the way forward. *Proceedings of the Royal Society – Biological Sciences* 275: 613–621.
- Polanc, P., M. Sindičić, M. Jelenčič, T. Gomerčič, I. Kos, Đ. Huber, 2012: Genotyping success of historical Eurasian lynx (*Lynx lynx* L.) samples. *Molecular Ecology Resources* 12: 293–298.
- Polanc, P., 2012: Populacijska genetika evrazijskega risa (*Lynx lynx* L.) v Sloveniji. Disertacija. Biotehnološki fakultet Sveučilišta u Ljubljani, Ljubljana.
- Ralls, K., K. L. Pilgrim, P. J. White, E. E. Paxinos, M. K. Schwartz, R. C. Fleischer, 2001: Kinship, social relations, and den sharing in kit foxes. *Journal of Mammalogy* 82: 858–866.
- Schmidt, K., M. Ratkiewicz, M. K. Konopinski, 2011: The importance of genetic variability and population differentiation in the Eurasian lynx *Lynx lynx* for conservation, in the context of habitat and climate change. *Mammal Review* 41(2):112–124.
- Schmidt, K., W. Jedrzejewski, H. Okarma, 1997: Spatial organization and social relations in the Eurasian lynx population in Bialowieza Primeval Forest, Poland. *Acta Theriologica* 42: 289–312.
- Sindičić, M., N. Sinanović, A. Majić Skrbinšek, Đ. Huber, S. Kunovac, I. Kos, 2010a: Legal status and management of the Dinaric lynx population. *Veterinaria* 58(3–4): 229–238.
- Sindičić, M., A. Štrbenac, P. Oković, Đ. Huber, J. Kusak, T. Gomerčič, V. Slijepčević, I. Vukšić, A. Majić-Skrbinšek, Ž. Štahan, 2010b: Plan upravljanja risom u Republici Hrvatskoj, za razdoblje od 2010. do 2015, Ministarstvo kulture, 80 str., Zagreb.
- Sindičić, M., 2011: Genska raznolikost populacije risa (*Lynx lynx*) iz Hrvatske. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
- Sindičić, M., T. Gomerčič, A. Galov, P. Polanc, Đ. Huber, A. Slavica, 2012: Repetitive sequences in Eurasian lynx (*Lynx lynx* L.) mitochondrial DNA control region. *Mitochondrial DNA* 23 (3): 201–207.

- Slijepčević, V., T. Gomerčić, M. Sindičić, J. Kusak, Đ. Huber, 2009: Telemetry study of Eurasian lynx (*Lynx lynx*) in Croatia. U 10. Hrvatski biološki kongres, 188–189, Osijek.
- Štrbenac, A., S. Desnica, Đ. Huber, J. Kusak, J. Jeremić, M. Sindičić, P. Štrbenac, T. Gomerčić, D. Šarić, N. Skoza, 2007: Bilten Očuvanje velikih zvijeri u Hrvatskoj, Državni zavod za zaštitu prirode, 48 str., Zagreb.
- Van Horn, R. C., J. Altmann, S. C. Alberts, 2008: Can't get there from here: inferring kinship from pairwise genetic relatedness. *Animal behaviour* 75: 1173–1180.
- Wagner, A. P., S. Creel, S. T. Kalinowski, 2006: Maximum likelihood estimation of relatedness and relationship using microsatellite loci with null alleles. *Heredity* 97: 336–345.
- Wang, J., 2004: Sibship reconstruction from genetic data with typing errors. *Genetics* 166: 1963–1979.
- Wang, J., A. Santure, 2009: Parentage and sibship inference from multilocus genotype data under polygamy. *Genetics* 181: 1–16.

### Summary:

Genetically identified kinship relationships enable us valuable insight into wild animal pedigrees, which are almost impossible to reconstruct by direct observations. Data on pedigrees are of fundamental importance for analysis of reproductive success, inbreeding, selection and gene flow. Dinaric Eurasian lynx (*Lynx lynx*) includes animals from Slovenia, Croatia and Bosnia and Herzegovina. The species is strictly protected in all three countries, being threatened by loss of genetic diversity and poaching. Kinship analysis of 91 genotypes, on 19 microsatellite loci, using program Colony provided data about family groups with offspring sharing one or both parents. A total of 21 (72 %) out of 29 analyzed offspring, whose samples were collected in the 2000–2010 period, were related to each other, confirming low population number and presence of inbreeding.

---

**KEY WORDS:** microsatellites, pedigree, Eurasian lynx, *Lynx lynx*, Dinaric Mountains