

KARAKTERIZIMI I 36 SNP-VE NË TRE RRACA AUTOKTONE DELESH DHE VARIACIONI I TYRE, SI TREGUES TË SELEKSIONIMIT

Anila HODA^{a*}, Romina SHEHU dhe Econogene Consortium^b

^aDepartamenti i Prodhimit Shtazor, Universiteti Bujqësor i Tiranës,

SHQIPERI

^b<http://lasig.epfl.ch/projets/econogene>

E-mail: hodanila@yahoo.com

PËRMBLEDHJE

SNP janë markerë që përdoren për vlerësimin e biodiversitetit, analizat e lidhjes, testimet e paternitetit dhe seleksionimit për gjenotipe të caktuara. Numri i SNP-ve të disponueshme, përsa i përket specieve të kafshëve shtëpiake po rritet në mënyrë të konsiderueshme. Në këtë studim janë karakterizuar dhe gjenotipizuar 36 SNP, prej tre racave autoktone të deleve: Bardhoka, Ruda dhe Shkodrane. Të dhënat gjenotipike u përdorën për të treguar strukturën e popullatës, për të vlerësuar nivelet e diveritetit, si dhe për të përcaktuar individët në popullatat e tyre të origjinës. 7 nga 36 lokuset e analizuar ndodhen jashtë rajonit të konfidencës 95% të shpërndarjes së përbashkët të F_{ST} dhe heterozigotisë mesatare. Studimi u krye në kuadër të projektit Econogene dhe kontribuon në njohjen dhe karakterizimin gjenetik të racave autoktone të deleve.

Fjalët kyçe: SNP, dele, seleksionim, diversitet gjenetik.

SUMMARY

SNP are useful markers for biodiversity studies, linkage analysis, paternity test, and selection for suitable genotypes. SNP available number, for livestock is increasing enormously. There are char-

acterized 36 SNP on 3 autochthon sheep breeds: Bardhoka, Ruda and Shkodrane. The genotypic data are used to assess the genetic structure, level of diversity and to assign the individuals in their population of origin. Seven out of 36 loci fall outside the 95% confidence region of the joint distribution of F_{ST} and mean heterozygosity. The study is part of Econogene project and contributes to the knowledge of genetic characterization of autochthon sheep breed.

Keywords: SNP, sheep, selection, genetic diversity

HYRJE

Një marker gjenetik për studimin e popullatave dhe për studimet evolutive duhet të jetë i bollshëm, i përhapur gjerësisht në gjenomë dhe të dhënat duhet të jenë të krahasueshme midis laboratoreve që përdorin metoda ose teknologji të ndryshme për analizimin e gjenotipeve. Markerët që përdoren rutinë për ekologjinë molekulare dhe për biologjinë e konservimit përfshijnë ADN-fingerprinting, sekuencat e ADN-së mitokondriale (mtDNA), analizën e polimorfizmave të gjatësisë së fragmenteve të restriksionit (RFLP), polimorfizmat e gjatësisë së fragmenteve të amplifikuar (AFLP) dhe mikrosatelitët. Polimorfizmat e nukleotideve

të veçantë, *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) duket se kanë karakteristikat e një markeri gjenetik ideal, SNP hasen shpesh në gjenomën e gjitarëve [5, 15] dhe përdoren për gjenotipizimin e shpejtë, në shkallë të gjerë dhe me kosto efektive [13, 18, 20, 19] për studime ekologjike dhe të konservimit [19, 11, 14] si dhe për studime në fushën e popullatave dhe evolutive [8, 16, 7]. Megjithatë SNP-të janë ende të paktë në organizmat jo-model, për shkak të përpjekjeve të shumta që duhen bërë për të gjetur SNP në speciet ku të dhënat e disponueshme mbi sekuencën e ADN-së janë të pakta [1]. Gjenoma e çdo individi përmban një SNP unike dhe është e rëndësishme të vëmë në dukje se ka variacione të tyre midis popullatave të gjallesave. Kështu një alel SNP që është i shpeshtë në një rajon gjeografik ose në një grup etnik, mund të jetë shumë më i rrallë në një tjetër. Meqenëse ato kanë aftësinë të ruhen gjatë evolucionit, ndodhen vazhdimisht përgjatë gjenomës si dhe tentojnë të jenë relativisht të qëndrueshme, ato janë propozuar si *marker* të përdorshëm në analizën e lokuseve të tipareve sasiore, në studimet e biodiversitetit, në testet e paternitetit. Për herë të parë racat autoktone të deleve shqiptare, analizohen duke përdorur SNP si markerë molekularë.

Shenjat e seleksionimit natyror mund të zbulohen duke vlerësuar nga pikpamja sasiore variacionin e frekuencave alelike midis popullatave, duke përdorur statistikën F_{ST} [6, 3]. Në kushte neutrale, F_{ST} ndikohet nga drifti i gjeneve, i cili do të ndikojë në të njëjtën mënyrë në të gjithë lokuset përgjatë gjenomës. Në të kundërt, seleksionimi është një forcë specifike sipas lokusit që ndryshon F_{ST} për një gjen të selektuar dhe markerët gjenetikë të lidhur ngushtë me të.

Një listë gjenesh të përfshirë në rrugët kyçe të metabolizmit, të cilët ndikojnë në prodhimtarinë, rezistencën ndaj sëmundjeve si dhe tiparet morfologjike u përzgjedhën për zbulimin e SNP-ve në kuadër të projektit Econogene. Këto gjene mund të kenë vlera të larta adaptive dhe mund të jenë nën ndikimin e seleksionimit natyral ose artificial. Në këtë punim analizohen lokuse që sillen ndryshe nga modelet natyrore: dhe sugjerojmë që këto lokuse janë nën ndikimin e seleksionimit natyror ose artificial. Qëllimi i studimit është që duke u bazuar në të dhënat gjenotipike të tregohet struktura

e popullatës, të vlerësohen nivelet e diversitetit, si dhe të përcaktohen individët në popullatat e tyre të origjinës.

MATERIALI DHE METODA

ADN-ja gjenomike u ekstraktua nga kampione gjaku prej 93 individëve delesh që i përka-sin tre racave autoktone: Bardhoka, Ruda dhe Shkodrane. Për çdo fermë u përzgjedhën tre individë, dy femra dhe një mashkull pa lidhje gjaku me njeri tjetrin. Kampjonimi u krye në mesatarisht 11 ferma për çdo racë, në zonën e Shkodrës dhe Malësisë së Madhe për racën Shkodrane, në zonën e Tropijës për racën Bardhoka dhe në zonën e Kuksit dhe Peshkopisë për racën Ruda. Kampionet e gjakut u përdorën për të ekstraktuar ADN-në sipas metodës standarte të ekstraktimit me fenol dhe kloroform. ADN-ja u përdor për analizën dhe karakterizimin e e SNP-ve në disa laboratore referençe, pjesmarrës në projektin Econogene.

Të dhënat molekulare të përfutuara u përdorën për analizat e mëtejshme biometrike. Programi kompjuterik Powermarker u përdor për të llogaritur heterozigotinë e pritur (H_E), heterozigotinë e vëzhguar (H_O) [22], vlerën PIC (*Polymorphism Information Content*) (Botstein) dhe statistikën F të diferencimit gjenetik [21]. Programi GeneClass2 u përdor për të llogaritur proporcionet e heterozigotëve dhe diversitetin gjenetik sipas Nei për çdo racë.

Heterozigotia dhe F_{ST} u llogaritën me anë të softuerit FDist. Kompleti i të dhënave të popullatave u krye nëpërmjet bootstrapping të 200.000 replikave të të dhënave reale, duke përdorur modelin kovaleshent. U simuluan intervalet e konfidencës më të larta dhe më të ulta të se 95% për të krahasuar shpërndarjen e F_{ST} kundrejt heterozigotisë mesatare. Ndryshimet në frekuencat alelike u vlerësuan në bazë të testit-*t* të studentit.

REZULTATET DHE DISKUTIMI

Vlerat e H_E variojnë nga 0 për lokusin FABP4 deri në 0.497 për lokusin IL2-1. Vlerat e H_O variojnë nga 0 për lokusin FABP deri në 0.598 për lokusin IL2-2, me një vlerë mesatare 0.234 (Tabela 1), e cila nuk konsiderohet shumë e ulët për këtë tip markeri [10, 11]. Autorë të tjerë [12] kanë analizuar 57 raca delesh (përfshirë dhe racat e përmendura në këtë

KARAKTERIZIMI I 36 SNP-VE NË TRE RACA AUTOKTONE DELESH

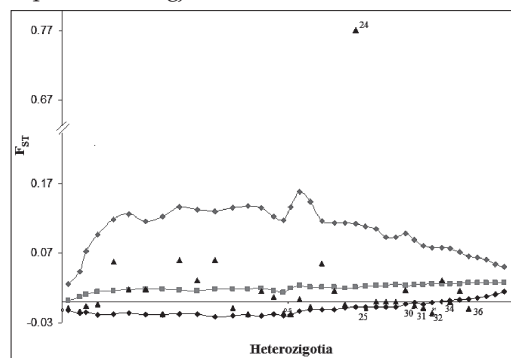
No.	Lokusi	Emri	Primer-at 3'-5' (forward/reverse)	Metoda gjenotipizimit	e SNP	Detaje	N	H(O)	H(E)	PIC
1.	ACVR2B_1	Activin receptor IIB	ttcgtgtgtctgcgaagccg/gctttgacacaggttctgct	Primer extension	U57707:g.826b13C.T	Intron 4	88	0.148	0.138	0.127
2.	ACVR2B_2	Activin receptor IIB	ttcgtgtgtctgcgaagccg/gctttgacacaggttctgct	Primer extension	U57707:g.826b124G.A	Intron 4	83	0.253	0.274	0.235
3.	BMPR_1	Booroola	cagagcaaaaagatgtccagcag/ctcagagagatgtggacaaaatgaa	Primer extension	AF357007:g.1797A.C	3'-UTR	83	0.482	0.477	0.362
4.	BMPR_2	Booroola	cagagcaaaaagatgtccagcag/ctcagagagatgtggacaaaatgaa	Primer extension	AF357007:g.2256A.G	3'-UTR	84	0.155	0.164	0.149
5.	CAST_1	Calpastatin	ctattctagtgtgcgatgtg/atcagaagtgtgctccac	Primer extension	U66320:g.1022b200G.A	Intron 14	85	0.212	0.209	0.186
6.	CAST_2	Calpastatin	ctattctagtgtgcgatgtg/atcagaagtgtgctccac	Primer extension	U66320:g.1022b288C/T	Intron 14	89	0.022	0.022	0.022
7.	CSNIS1_1	aS1-Casein	taaacaaaatagcttgg/aaatggaatgccattgtctta	PCR-RFLP	AY534901:g.881A.G	5'-UTR	90	0.022	0.022	0.022
8.	CSNIS1_2	aS1-Casein	ctctctagctttcagacaa/aagcattatgtgtctgct	PCR-SSCP	AY444506:g.137C.T	Exon 17	87	0.402	0.451	0.348
9.	CSN3	k-Casein	ccaacatataaccaggaatc/gtctctctttgatctctcttagag	PCR-RFLP	X51822:c.168T.C	Exon 4	91	0.187	0.188	0.170
10.	CTSB	Cathepsin B	ctctctgctgctctgag/aggaaagtcgagtcacacagag	Taqman	AY787747:g.275A.Gd	Intron 6	87	0.287	0.323	0.270
11.	DES_1	Desmin	gatgaatgccaccagcag/tccacataagctcattga	Primer extension	AB011673:g.707b8A.G	Intron 3	88	0.159	0.237	0.208
12.	DES_2	Desmin	gatgaatgccaccagcag/tccacataagctcattga	Primer extension	AB011673:g.994b211G.T	T Intron 5	90	0.144	0.135	0.125
13.	FABP4	Fatty acid binding protein 4	tgttagctctcccaatgc/tcctctcagcattgaagg	Primer extension	X89244:g.409b165C.T	Intron 3	71	0.000	0.000	0.000
14.	GDF8	Myostatin	ccctcccttaactgcatcc/atcaagcccaaaatctctcc	Taqman	AY032689:g.2156C.Td	Exon 3	72	0.236	0.231	0.203
15.	GHR	Growth hormone receptor	tatgccaggtgaagcagcat/attgagtagcagggccctgtg	Taqman	AY292283:g.122A.G	Exon 10	85	0.459	0.402	0.320
16.	GHRHR	hormone releasing hormone receptor	gaaactgagccaactcag/acagcggatgaggagaagc	Taqman	AY292289:g.339G.Td	Intron 10	85	0.376	0.362	0.295
17.	IGF1	Insulin-like growth factor 1	cacacaccttggctcactc/agagcatccccaactcagc	Taqman	AY737509:g.211C.Td	Exon 3	90	0.433	0.464	0.355
18.	IL2_1	Interleukin 2	aagatctcatcagaagaagaa/aacctggcagctagaagt	PCR-SSCP	AF287479:g.318A.G	Exon 1	83	0.506	0.497	0.372
19.	IL2_2	Interleukin 2	ggtgacaaatgtgcatctgg/gagagatcagcacaatgaca	PCR-SSCP	AF287479:g.3605C.T	Intron 3	92	0.598	0.489	0.368
20.	IL4	Interleukin 4	agagatcatcaaacctgaa/gtctctacagcagctc	Taqman	DQ384928:g.160C.T	Intron 4	91	0.451	0.424	0.333
21.	ITGB1	Integrin B1	ggagacactggaatgtagc/cggtgtgattgaggttgcact	Taqman	AY787745:g.203C.T	Intron 8	79	0.266	0.285	0.243
22.	KRT1	Keratin-1	agagactccctggagaacacc/agtgcctccaagtcacaaagc	Taqman	M23912:g.5279G.C	Exon 6	84	0.083	0.080	0.077
23.	KRTAP6	Keratin-associated protein-6	ccaatggcatgaaggtgt/aaaaggggaaggggttggtg	Taqman	M95719:g.1305A.G	3#-UTR	90	0.444	0.403	0.321
24.	LEP_1	Leptin	ccctctctgagtttgc/gcctatgtggggcatccttta	Primer extension	U43943:g.314A.G	Exon 3	89	0.157	0.201	0.180
25.	LEP_2	Leptin	ccctctctgagtttgc/gcctatgtggggcatccttta	Primer extension	U43943:g.476A.G	Exon 3	90	0.022	0.022	0.022
26.	MC1R_1	Melanocortin receptor 1	caagaaccgcaactgcact/ggccaggaagaggttgaag	PCR-RFLPa	Y13965:g.361G.A	Exon	92	0.011	0.011	0.011
27.	MC1R_2	Melanocortin receptor 1	catgcctgcgccacattgt/aagcagaggtctgacacat	PCR-RFLPa	Y13965:g.218T.A	Exon	87	0.011	0.011	0.011
28.	MEG3	Callipyge	tcgagctccaataatctt/cccttgacacgtaagcatgg	Taqman	AY017222:g.379G.Td	3'-UTR	86	0.035	0.034	0.034
29.	MYH1	Myosin 1	cagaccagaaatgctctgt/tagatcatccagctgcaata	Taqman	AY737517:g.295A.Gd	Intron 1	84	0.048	0.047	0.045
30.	PRNP_1	Prion protein	gcagagctctgctcagct/cacaaagtgtctggttactatc	PCR-RFLPh	U67922:g.2268A.C.T	Exon 3	87	0.080	0.078	0.074
31.	PRNP_2	Prion protein	atgatctcagcactcactgt/ataagaggctctgcatggca	PCR-RFLP	U67922:22226C.T	Intron 2	79	0.152	0.141	0.131
32.	SERPINA3	Alpha-1 anti-chymotrypsin	gttcaactcacaagacc/gcaccagtaagatcattgaaga	Taqman	DQ383805:g.134A.Gd	Exon 2	87	0.414	0.422	0.331
33.	SFN	Stratifin	agccagctgatccaagaag/gcagatctatgtggaagaagc	Taqman	AF071008:g.408G.A	Exon	86	0.430	0.429	0.335
34.	TNF_2	Tumor necrosis factor a	ggagactgtatccaat/ctaaaccaagaagggtgata	Taqman	AY513771:g.244T.Cc	Exon	87	0.207	0.187	0.168
35.	TYRP1	Tyrosinase-related protein 1	gctccagcagaaatgaaatctgttgagaacctctgtcac	Taqman	AY737511:g.216C.T	Exon 2	90	0.211	0.241	0.211
36.	ZP2	Zona pellucida glycoprotein 2	ccatctctacatgtgctctct/tgttttggagagagtttctct	Taqman	DQ383806:g.105C.T	Exon 8	90	0.300	0.287	0.244

Tabela 1. Gjenotipizimi i SNP-ve dhe paramtrat e diversitetit në gjenet e deleve

studim) dhe hasur vlerën mesatare të heterozigotisë 0.28. Vlerat e F_{ST} (Tabela 2) variojnë nga -0.0178 për lokusin DESMIN_Oa98_SNP deri në 0.77 për lokusin KAP6-445.

Siç shihet nga Grafiku 1, lokuset KAP6-445 (24), Leptin2-Oa169-SNP1 (25), MYH1-S-1(30), PRP_EX3(31), PRP_IN2 (32), TNF_SNP1 (34) dhe ZP2 (36) janë jashtë rajonit të konfidencës 95% të shpërndarjes së përbashkët të F_{ST} dhe heterozigotisë mesatare, ndoshta për shkak të seleksionimit. Këto gjene lidhen me prodhimtarinë dhe ndryshimet në frekuencat gjenike ndoshta mund të jenë si rrjedhojë e modifikimeve morfologjike. Në lokusin PRP_IN2 vihet re që frekuenca e aleleve midis tre racave varion nga 0.685 deri në 0.724, ndërsa frekuencat alelike për të gjithë lokuset e tjera, midis

të tre racave janë më të larta se 0.86. Kjo mund të shpjegohet me ndonjë ndikim të seleksionimit që vepron në këto gjene, në vendin tonë.



Grafiku 1. Paraqitja grafike e F_{ST} kundrejt heterozigotisë për 36 SNP

Nr.	Lokusi	Aleli 1	Aleli 2	Homozigotë, aleli 1 (%)	Homozigotë, aleli 2 (%)	Heterozigotë (%)	Heterozigotia e kampionit	F _{ST} e kampionit	Test statistikor	P F _{ST} e Simuluar < F _S e kampionit
1	AACT-S-3	A	G	0	100	0	0.13714	0.00527	-1.083	0.16016
2	ACVR2_Oa189_SNP2	T	C	2.884615	56.73077	40.38462	0.27529	0.00573	-1.5009	0.07921
3	ACVR2_Oa78_SNP1	T	C	9.756098	25.20325	65.04065	0.47573	0.0057	-0.9415	0.19635
4	BOOROLA_Oa1796_SNP1	A	C	72.16495	1.030928	26.80412	0.16518	0.00527	-0.898	0.20832
5	BOOROLA_Oa2255_SNP2	A	G	0.970874	64.07767	34.95146	0.21663	0.00354	1.01143	0.82207
6	CALPA_Oa145_SNP1	T	C	0	95.6044	4.395604	0.02381	0.00504	1.25804	0.87848
7	CALPA_Oa57_SNP1	T	C	0	95.65217	4.347826	0.02381	0.00504	1.25804	0.87848
8	CLLPG_S-1	G	T	32.78689	9.836066	57.37705	0.44803	0.00642	-1.8673	0.03758
9	CSNIS1_Sp	A	G	67.59259	0.925926	31.48148	0.19319	0.00374	1.06784	0.83617
10	CSNIS1EX17	T	C	4.464286	50.89286	44.64286	0.32415	0.0041	0.34131	0.6134
11	CSN3_EX4	T	C	67.64706	4.901961	27.45098	0.23688	0.00363	0.95041	0.80605
12	CTSBS-4	A	G	0	74.75728	25.24272	0.13385	0.00528	-1.1157	0.15242
14	DESMIN_Oa98_SNP	A	G	60.67416	1.123596	38.20225	0.21323	0.0057	-2.1217	0.02083
15	FABP4_Oa261_SNP1	A	G	33.87097	3.225806	62.90323	0.39646	0.00459	-0.0539	0.48292
16	GHRHR-S-5	G	T	3.418803	41.88034	54.70085	0.36331	0.00499	-0.3977	0.36731
17	GHR-S-1	A	G	10.07752	29.45736	60.46512	0.46144	0.00641	-1.8432	0.03961
18	IGF1-S-1	T	C	20.3252	13.00813	66.66667	0.49431	0.00645	-1.7643	0.04692
19	IL2_EX1	A	G	7.482993	17.68707	74.82993	0.49029	0.00493	-0.4223	0.35893
20	IL2_IN3	T	C	5.30303	32.57576	62.12121	0.42285	0.00564	-0.9998	0.18093
21	IL4_SNP1	T	C	3	55	42	0.29579	0.00323	0.8577	0.78024
22	ITGB-S-1	T	C	0	84.61538	15.38462	0.08476	0.00492	0.00444	0.50139
23	K1E-5138	G	C	34.61538	3.846154	61.53846	0.40397	0.00544	-0.8562	0.2202
24	KAP6-445	A	G	2.912621	69.90291	27.18447	0.65594	0.00553	5	1
25	LEPTIN2_Oa169_SNP1	T	C	0	95.65217	4.347826	0.02247	0.00511	-1.08	0.16089
26	LEPTIN2_Oa331_SNP1	A	G	0	97.84946	2.150538	0.01075	0.00509	-0.1351	0.45639
27	MC1-R:Mscl	A	G	0	97.72727	2.272727	0.01282	0.00508	-0.1351	0.45639
28	MC1-R:NlailII	A	T	0	93.25843	6.741573	0.03262	0.00511	-0.0867	0.4723
29	MSTN-S-3	T	C	0	90.90909	9.090909	0.04719	0.00502	0.23555	0.57732
30	MYH1-S-1	A	G	0	85.10638	14.89362	0.07879	0.00517	-0.9527	0.19333
31	PRP_EX3	T	C	0	73.62637	26.37363	0.13583	0.00531	-1.1312	0.14883
32	PRP_IN2	T	C	6.504065	34.95935	58.53659	0.41951	0.00619	-1.6571	0.05851
33	STR-342	A	G	6.504065	33.33333	60.1626	0.43421	0.00366	0.34244	0.61379
34	TNF_SNP1	T	C	0	65.71429	34.28571	0.18386	0.00518	-0.7761	0.24384
35	TYRP1-S-2	T	C	62.38532	2.752294	34.86239	0.24008	0.0048	-0.0177	0.49443
36	ZP2-S-2	T	C	1.709402	52.13675	46.15385	0.28521	0.00559	-1.2282	0.12761

Tabela 2. Lokusi, frekuencat alelike, heterozigotia dhe FST për çdo SNP të gjenotipizuar

Zbulimi i të dhënave për seleksionimin është sfi-
duese, pasi efektet e seleksionimit në shpërndarjen
e variacionit gjenetik mund të imitohen nga historia
demografike e popullatës [2]. Përdorimi i SNP-ve si
markerë gjenetikë siguron mundësinë për të iden-
tifikuar shenjat e seleksionimit përgjatë gjenomës,
ashtu siç është treguar te njeriu [6, 17]. Duke për-
dorur F_{ST} dhe heterozigotinë mesatare si një masë
të diferencimit gjenetik për secilin lokus, ne kemi
identifikuar 7 gjene në tre raca delesh autoktone, të
cilat mund të jenë objektivi i seleksionimit.

BIBLIOGRAFIA

AITKEN N., SMITH S., SCHWARZ C., MORIN P.A. (2004). Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery in mammals: a targeted-gene approach. *Mol. Ecol.* 13:1423-1431.
 AKEY J.M., ZHANG G., ZHANG K., JIN L. & SHRIVER M.D. (2002) Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection. *Genome Research* 12, 1805-14.
 BEAUMONT M.A. & NICHOLS R.A. (1996) Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 263, 1619-26.
 BOTSTEIN D., WHITE R.L., SKOLNICK M. and DAVIS, R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymor-

phisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32, 314-331.
 BROUILLETTE J.A., ANDREW J.R., VENTA P.J. (2000). Estimate of nucleotide diversity in dogs with a pool-and-sequence method. *Mamm. Gen.* 11:1079-1086.
 FAY J.C., WYCKOFF G.J. & WU C.I. (2001) Positive and negative selection on the human genome. *Genetics* 158, 1227-34.
 GLAUBITZ J.C., RHODES O.E. Jr, DEWOODY J.A. (2003). Prospects for inferring pairwise relationships with single nucleotide polymorphisms. *Mol. Ecol.* 12: 1039-1047.
 KUHNER M.K., BEERLI P., YAMATO J., FELSENSTEIN J. (2000). Usefulness of single nucleotide polymorphism data for estimating population parameters. *Genet.* 156:439-447.
 LEWONTIN R.C. & KRAKAUER J. (1973) Distribution of gene frequency as a test of the theory of the selective neutrality of polymorphisms. *Genetics* 74, 175-95.
 MATSUZAKI H., DONG S., LOI H. et al. (2004) Genotyping over 100,000 SNPs on a pair of oligonucleotide arrays. *Nature Methods.* 1, 109-11.
 MORIN P.A., LUIKART G., WAYNE R.K. (2004). SNP workshop Group SNPs in ecology, evolution and conservation. *TREE* 19:208-216.
 PARISET L., CAPPUCIO L., JOOST S., D'ANDREA M.S., MARLETTA D., AJMONE-MARSAN P., VALENTINI A. ECONOGENE Consortium (2006) Characterization of single nucleotide polymorphisms in sheep and their variation as an evidence of selection. *Animal Genetics*, in press.

- SCHLOTTERER C. (2004). The evolution of molecular markers – just a matter of fashion? *Nat Rev Genet* 5:63–69.
- SEDDON J.M., PARKER H.G., OSTRANDER E.A., ELLEGREN H. (2005). SNPs in ecological and conservation studies, a test in the Scandinavian wolf population. *Mol Ecol* 14:503–511.
- SHUBITOWSKI D.M., VENTA P.J., DOUGLASS C.L., ZHOU R.X., EWART S.L. (2001). Polymorphism identification within 50 equine gene-specific sequence tagged sites. *Anim Genet* 32:78–88.
- SUNNUCKS P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *TREE* 15:199–206.
- SUNYAEV S.R., LATHE W.C., RAMENSKY V.E., BORK P. (2000) SNP frequencies in human genes: An excess of rare alleles and differing modes of selection. *Trends in Genetics* 16, 335–7.
- SYVANEN A.C. (2001). Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nat Rev Genet* 2:930–942.
- VIGNAL A., MILAN D., SAN CRISTOBAL M., EGGEN A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Gen Sel Evol* 34:275–305.
- VITALIS R., DAWSON K., BOURSOT P. (2001). Interpretation of variation across marker loci as evidence of selection. *Genetics* 158:1811–1823.
- WEIR B.S. & COCKERHAM C. (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358–69.
- WEIR, B.S. (1996) *Genetic data analysis II*, Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.

