



ПРОУЧВАНЕ НА ГЕНЕТИЧНОТО РАЗНООБРАЗИЕ ПРИ РИСИСТИТЕ
ПОРОДИ КОНЕ В БЪЛГАРИЯ
STUDY ON THE GENETIC DIVERSITY OF TROTTER HORSES POPULATIONS IN BULGARIA

Надежда Луканова*, Радка Влаева, Деяна Христова,

Светлана Георгиева, Георги Бързев

Nadejda Lukanova*, Radka Vlaeva, Deyana Hristova,

Svetlana Georgieva, Georgi Barzev

Национална асоциация по коневъдство

National Association of Horse Breeding

*E-mail: nik.nade@abv.bg

Резюме

Целта на настоящото проучване е да се изследва генетичното разнообразие на популацията от рисисти коне в България, поради факта че до този момент няма подобни изследвания.

В проучването са обхванати 55 броя животни от рисисти породи коне, включени в племенната книга и регистъра на породите. Използвани са 6 микросателитни локуса (AHT4, AHT5, ASB2, HMS1, HMS2 и HMS3). За изчисляване на основните параметри, характеризиращи разнообразието на алелите в изследваните микросателитни локуси, а именно брой алели (ефективен и среден) и техните честоти, очаквана (H_e) и наблюдавана (H_o) хетерозиготност, е използвана програмата POPGENE v.1.31. Резултатите показват, че най-високо полиморфни са локусите ASB2 и HMS2 с 8 броя алели, а с най-малък брой алели (5) е локус HMS1. От наблюдаваните алели с най-висока честота е алел P (0.4455) при локус HMS3. С най-ниска честота е алел I (0.0091) при локуси HMS2 и AHT5. Най-широко вариране се наблюдава при локус HMS3 – от 0.0182 до 0.4455.

Наблюдаваната хетерозиготност варира от 0.6727 при локус AHT4 до 0.8545 при ASB2. Най-ниската очаквана хетерозиготност е 0.7091 при локус HMS1, а най-високата – 0.8499 при ASB2.

Високото ниво на хетерозиготност при всички изследвани локуси е показател за високо ниво на генетичното разнообразие в популацията на рисистите коне в България.

Abstract

The main purpose of the study was to establish the genetic variety on the population of trotter horses in Bulgaria since there had been no such research.

The research involved 55 trotter horses included in the Stud book. We used 6 microsatellite markers (AHT4, AHT5, ASB2, HMS1, HMS2, HMS3). We used the POPGENE v.1.31 program for the estimation of the main parameters characterizing the allele varieties in the observed loci: number of alleles (effective and average) and their frequency, expected (H_e) and observed heterozygosity (H_o). The result obtained from the research showed that the highest polymorphism was shown by loci ASB2 and HMS2 with 8 alleles, and locus HMS1 had the lowest number of alleles (5). The P allele was of the highest frequency – 0.4455 in locus HMS3, the lowest allele was I (0.0091) in loci HMS2 and AHT5. The greatest variation was observed in locus HMS3 – from 0.0182 to 0.4455.

The observed heterozygosity varied from 0.6727 in locus AHT4 to 0.8545 in ASB2. The lowest expected heterozygosity was 0.7091 in locus HMS1, the highest – 0.8499 in locus ASB2. The high level of heterozygosity in all obtained loci indicated high genetic diversity in the population of trotter horses in Bulgaria.

Ключови думи: генетично разнообразие, микросателитен анализ, коне.

Key words: genetic diversity, microsatellite analysis, horses.

ВЪВЕДЕНИЕ

Микросателитните маркери се използват за оценка на генетичното разнообразие на породите селскостопански животни. Получените молекулярни данни служат за оценка на структурата на популациите, генетичните дистанции между поро-

дите и потенциалния риск от инбридинг (Bowling et al., 1997). Характерно за микросателитните маркери е, че те са равномерно разпределени в генома и може да бъдат идентифицирани в ДНК проби с помощта на полимеразна верижна реакция (PCR - Polymerase Chain Reaction) (Ballard, 2005).

През 1993 г. Организацията за прехрана и земеделие (FAO) предложи създаването на световна програма за поддържане на генетичните ресурси, използвайки микросателитни маркери за характеризирани на различни породи домашни животни. Това наложи всички лаборатории, използващи ДНК метода, да са сертифицирани от Международното дружество по генетика на животните (ISAG) (Jozsa, 2006).

За пръв път чрез микросателитен анализ са характеризирани шведските породи коне от Ellegren et al. (1992) и Marklund et al. (1994). Микросателитни маркери са използвани за оценка на генетичната структура при различни популации коне, както и за тестване на бащинство и изследване на филогенетични връзки между породите (Lee and Cho, 2006; Binns et al., 1995).

В България подобно проучване е направено при популацията от Чистокръвни английски коне (Vlaeva, 2014). Поради факта, че до този момент няма изследвания при популацията от рисисти коне в България, целта на настоящата работа е да се изследва генетичното разнообразие на популацията по 6 микросателитни локуса.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изследването обхваща 55 броя коне от рисисти породи коне, включени в племенната книга и регистъра на породите. От всяко животно е взета проба косми от гривата или опашката. Изолирането на ДНК и микросателитният анализ са извършени в лаборатория GeneControl GmbH в гр. Груб, близо до Мюнхен, Германия, под ръководството на проф. д-р И. Руб.

Използваните 6 микросателитни локуса са, както следва: AHT4, AHT5, ASB2, HMS1, HMS2 и HMS3. За изчисляване на основните параметри, характеризиращи разнообразието на алелите в изследваните микросателитни локуси, а именно брой алели (ефективен и среден) и техните честоти, очаквана (H_e) и наблюдавана (H_o) хетерозиготност, е използвана програмата POPGENE v.1.31 (Yeh and Yong, 1999). Генетичното разнообразие във всеки микросателитен локус, чиято стойност съвпада с очакваната хетерозиготност (H_e), е изчислена по формулата на Nei (1978).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При изследваните 6 микросателитни локуса в популацията от рисисти коне в България установихме общо 41 алела. Алелната честота по всеки от изследваните локуси е представена в следващите фигури.

Както е видно от фиг. 1, локус AHT4 е представен от 6 алела, като най-висока е алелната честота в алел О (0,4182), следван от алел I (0,2818). Най-ниска е честотата на алел К (0,0182).

Локус AHT5 е представен от 7 алела – I, J, K, L, M, N и О. С най-висока честота са алелите J (0,3091) и N (0,2909), а най-ниска алелна честота се наблюдава при алел I (0,0091) (фиг. 2).

Локус ASB2 е представен от 8 алела, като при алел О е наблюдавана най-висока честота (0,2182) и алел I с най-ниска алелна честота (0,0182) (фиг. 3).

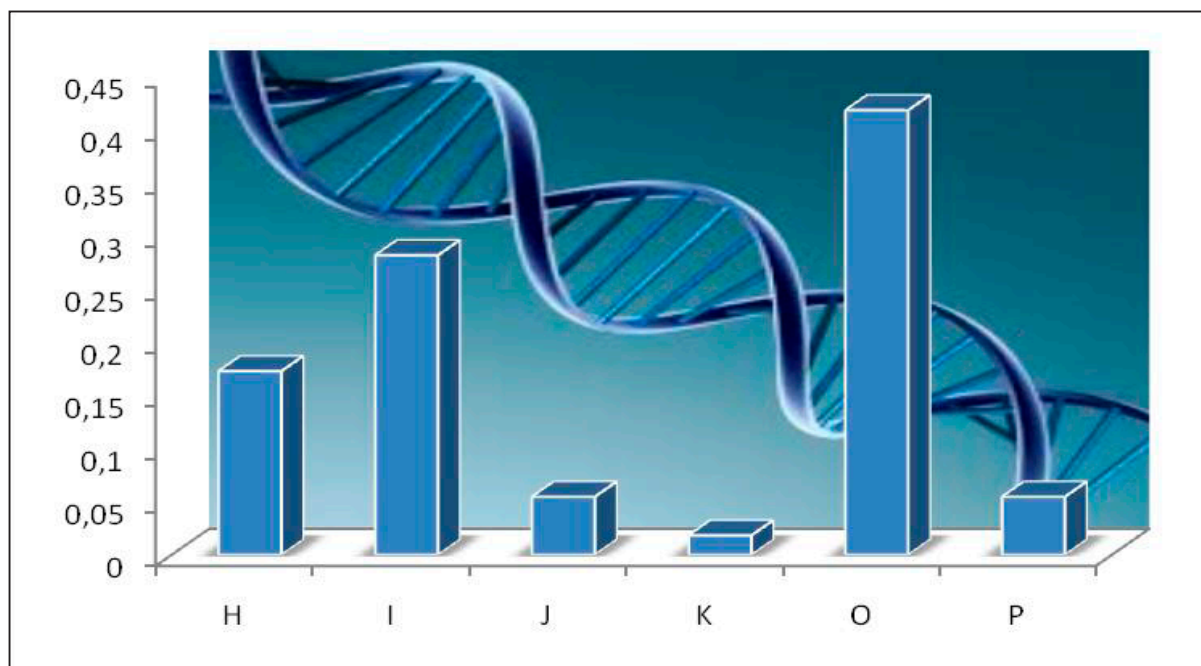
При локус HMS1 алелното разнообразие е представено от 5 алела – I, J, K, M и N. Преобладават алелите J и M, които са с честота 0,3818 и 0,3545. При алелите I и K се наблюдава дублиране на честотата (0,1091), с най-ниска честота е алел N (0,0455) (фиг. 4).

Локус HMS2 е представен от 8 алела. С най-висока алелна честота е алел L (0,3818), следван от алелите H и O, а с най-ниска е алел I (0,0091). Алелите P и R са с алелни честоти 0,0545 и 0,0636 (фиг. 5).

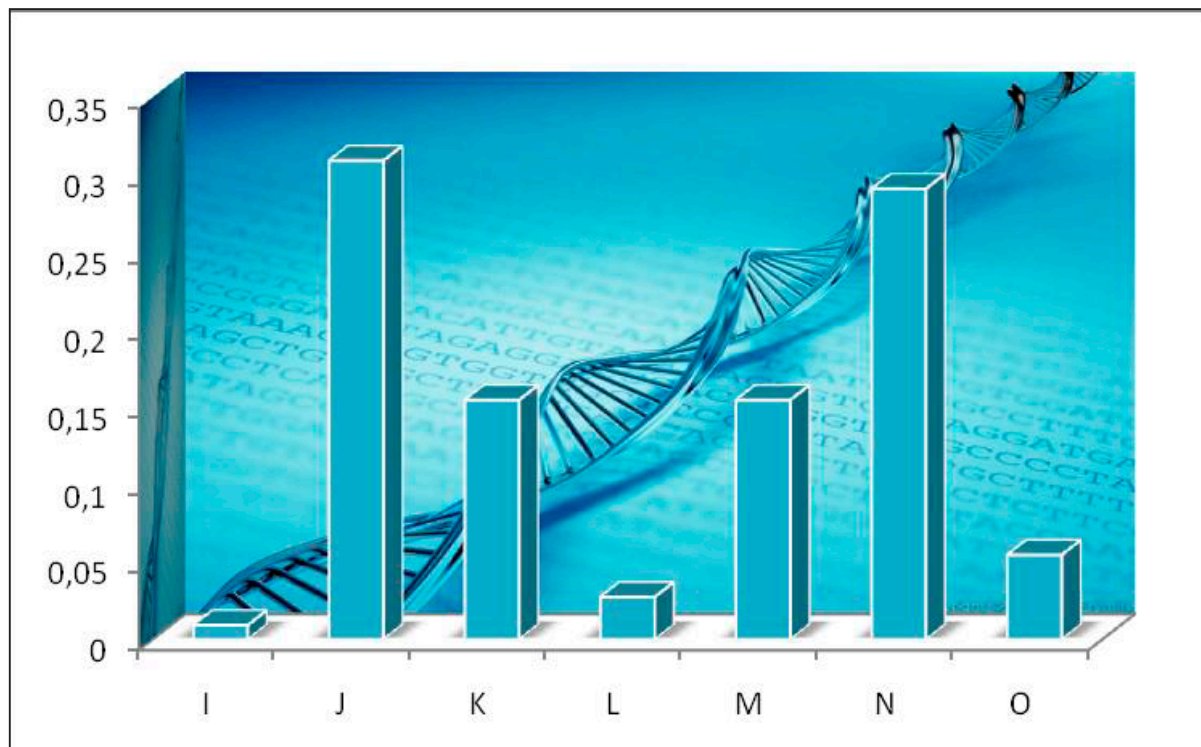
Локус HMS3 е представен от 7 алела – I, M, N, O, P, Q и R. С най-висока честота се отличава алел P (0,4455). Алелите Q и R са с равна алелна честота (0,0727), с най-ниска алелна честота е алел O (0,0182) (фиг. 6).

Броят на наблюдаваните алели е важен компонент на алелното разнообразие и се счита за основен индикатор при оценката на генетичната изменчивост в даден локус. Съгласно с препоръките на FAO за проучване на генетичното разнообразие е необходимо да бъдат използвани микросателитни маркери, които продуцират повече от 4 алела (FAO, 1998). В настоящото изследване броят на установените алели в съответните локуси варира от 5 (HMS1) до 8 (HMS2, ASB2), което ни дава основание да считаме, че селектираният набор от микросателитни маркери е подходящ за анализ на генетичното разнообразие при конете.

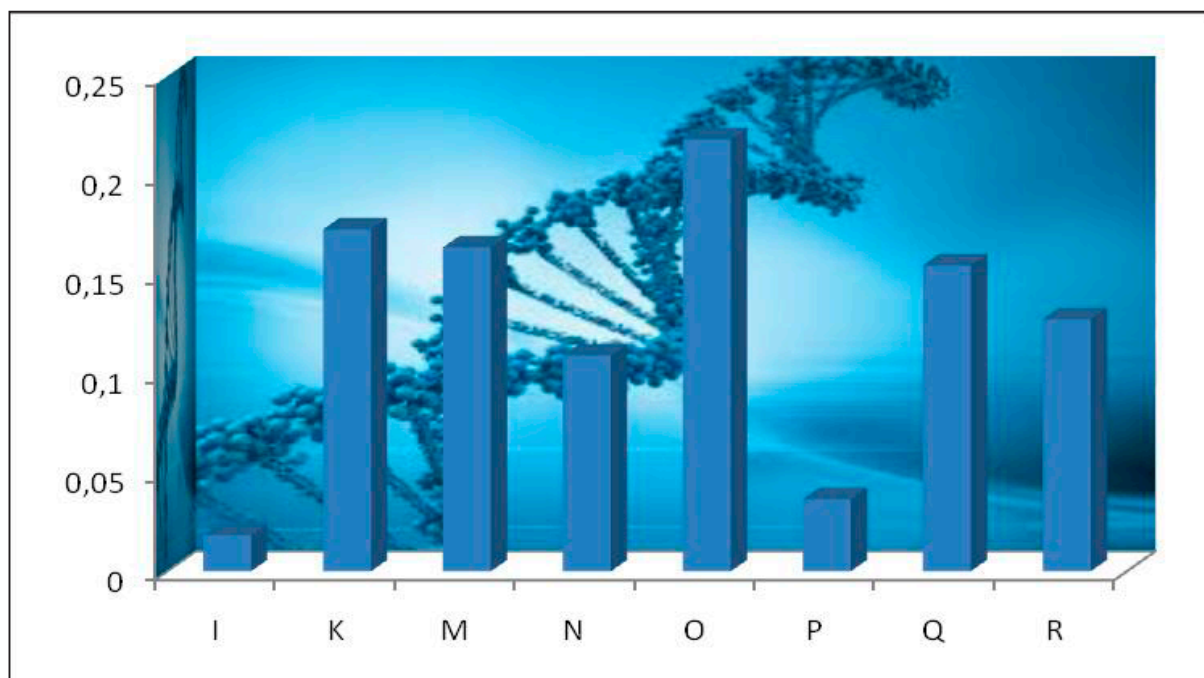
В подобно проучване при рисистите коне, отглеждани в Испания, Azor et al. (2007) са установили общо 38 алела по същите локуси. В нашето изследване по локус **AHT4** са констатирани 6 алела, а при рисистите коне, отглеждани в Испания, по същия локус са регистрирани 5 алела. По локус **AHT5** при двете проучвания са установени 7 алела, а при локус **ASB2** броят на алелите е 8. По-малък е броят на алелите при локус **HMS1** (5 в нашето проучване) в сравне-



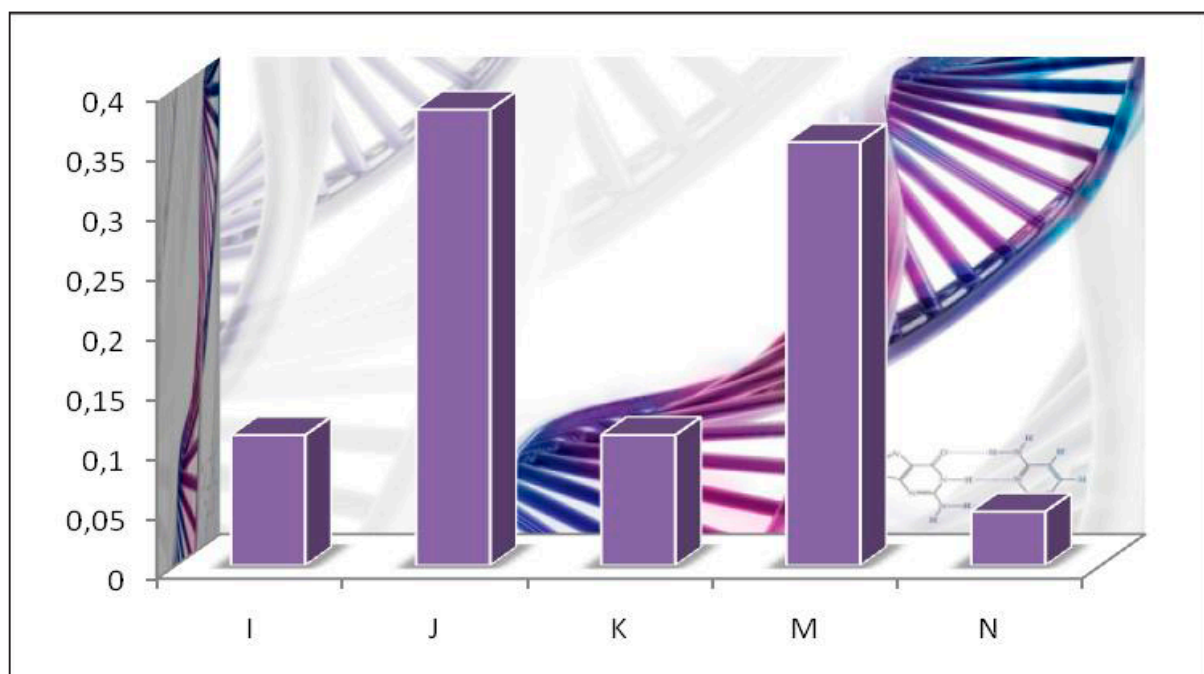
Фиг. 1. Алелна честота на локус AHT4
Fig. 1. Allele frequency on the loci AHT4



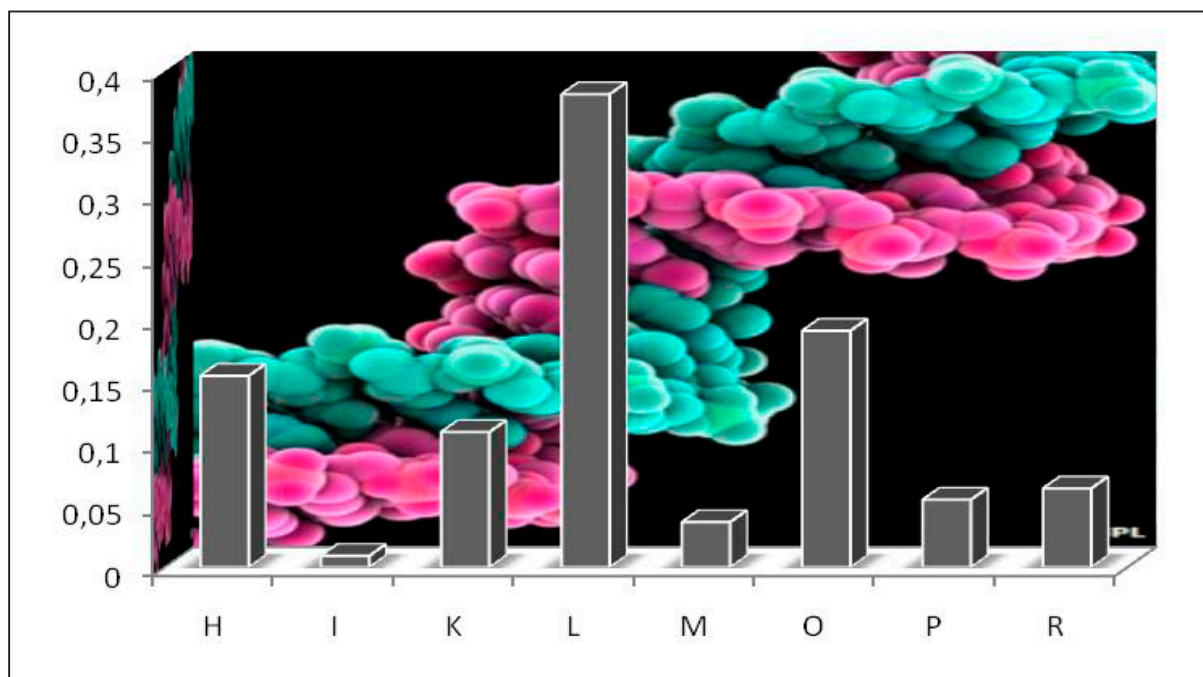
Фиг. 2. Алелна честота на локус AHT5
Fig. 2. Allele frequency on the loci AHT5



Фиг. 3. Алелна честота на локус ASB2
Fig. 3. Allele frequency on the loci ASB2

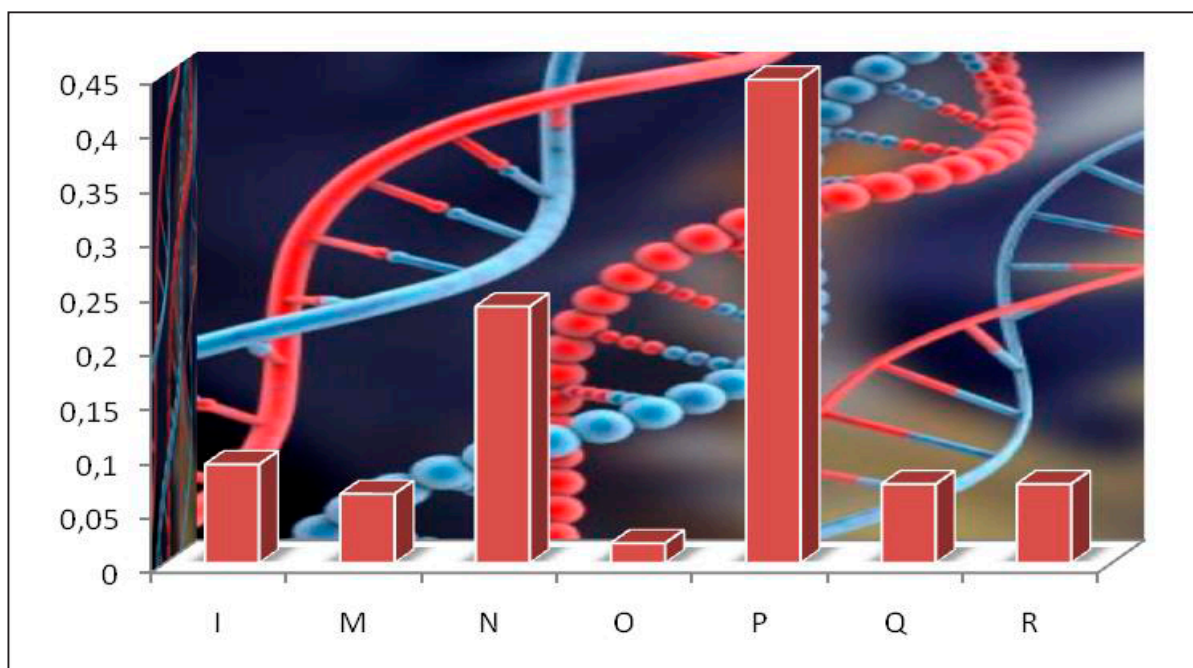


Фиг. 4. Алелна честота на локус HMS1
Fig. 4. Allele frequency on the loci HMS1



Фиг. 5. Алелна честота на локус HMS2

Fig. 5. Allele frequency on the lociHMS2



Фиг. 6. Алелна честота на локус HMS3

Fig. 6. Allele frequency on the lociHMS3

ние с рисистата популация в Испания, където са наблюдавани 6 алела. При локуси **HMS2** и **HMS3** наблюдаваните алели при рисистите коне в България превишават установените при рисистите коне в Испания.

В таблица 1 са представени стойностите на наблюдаваната и очакваната хетерозиготност по изследваните локуси.

Хетерозиготността е основен показател за нивото на генетичното разнообразие в дадена популация (Sergiu et al., 2005). В популацията на рисистите коне в България нивото на *Ho* варира от 0.672 в **АНТ4** до 0.854 в **ASB2**, като средната стойност за всички изследвани маркери е 0.748. Нивото на *He* варира от 0.709 в **HMS1** до 0.849 в **ASB2**, като средната стойност за всички локуси е 0.760.

Във всички изследвани локуси стойностите на *Ho* и *He* са много близки, което показва липса на хетерозиготен дефицит.

ИЗВОДИ

1. Броят на наблюдаваните алели по изследваните 6 локуса варират от 5 до 8, като най-високополиморфни са локусите **ASB2** и **HMS2** с 8 броя алели и с най-нисък брой алели – 5, е локус **HMS1**.

2. От наблюдаваните алели с най-висока честота е алел Р (0.4455) при локус **HMS3**. С най-ниска е алел I (0.0091) при локуси **HMS2** и **АНТ5**. Най-широко вариране се наблюдава при локус **HMS3** – от 0.0182 до 0.4455.

3. Най-ниската наблюдавана хетерозиготност е 0.6727 при локус **АНТ4**, а най-високата – **ASB2** 0.8545. Най-ниската очаквана хетерозиготност е 0.7091 при локус **HMS1**, най-високата е 0.8499 – отново при **ASB2**.

4. Високото ниво на хетерозиготност при всички изследвани локуси е показател за високо ниво на генетичното разнообразие в популацията на рисистите коне в България.

Таблица 1. Стойности на наблюдаваната и очакваната хетерозиготност по локуси
Table 1. Values of observed and expected heterozygosity at loci

локус	набл. хом. (Obs_Hom)	набл. хет. (Obs_Het)	очак. хом. Exp_Hom*	очакв. хет. Exp_Het*	Nei**
АНТ4	0.3273	0.6727	0.2839	0.7161	0.7096
АНТ5	0.2000	0.8000	0.2247	0.7753	0.7683
ASB2	0.1455	0.8545	0.1501	0.8499	0.8421
HMS1	0.2909	0.7091	0.2909	0.7091	0.7026
HMS2	0.2727	0.7273	0.2193	0.7807	0.7736
HMS3	0.2727	0.7273	0.2709	0.7291	0.7225
Mean	0.2515	0.7485	0.2400	0.7600	0.7531



LITERATURE

- Vlaeva, P., 2014. ДНК-микросателитен анализ на популацията Чистокръвна английска порода коне в България. Определяне на броя на честотата на алелите по изследваните локуси.
- Azor, P.J., Valera M, Gómez MD, Goyache F, Molina A., 2007. Genetic characterization of the Spanish Trotter horse breed using microsatellite markers. *Genet. Mol. Biol.*
- Ballard, J.W.O., 2005. The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications /Ballard, J.W.O., Rand, D.M.//Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, Vol. 36.
- Binns, M, Uolmes N, Holliman A, 1995. The identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in thoroughbred parentage testing. *Brit Vet J.* 151: 9-15.
- Bowling, AT, Eggleston-Stott ML, Byrns G, Clark RS, Dileanis S, Wictum E., 1997. Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing. *Anim. Genet.*
- Ellegren, H.; Johansson, M.; Sandberg, K.; Andersson, I., 1992. Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse. *Anim. Genet.* 23, 133-142.
- FAO, 1998. Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. Measurements of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Original Working Group Report.
- Jozsa, C.; Husveth, F.; Ban, B.; Takacs, E., 2006. DNA microsatellite test of Thoroughbred and Trotter horses in Hungary. *Allattenyesztes es Takarmanyozas* 55.
- Lee, SY, Cho GJ, 2006. Parentage testing of Thoroughbred horse in Korea using microsatellite DNA typing. *J Vet Sci.* 7: 63-67.
- Marklund, L.; Ellegren, H.; Eriksson, S.; Sandberg, K.; Andersson, I., 1994. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic horse microsatellites. *Anim. Genet.* 25, 19-23.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.
- Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. *Animal Genetics* 25: 19-23.
- Sergiu Emil Georgescu, Eduard Condac, Mariana Rebedea, Calin Dumitru Tesio, Anca Dinischiotu, Marieta Costache, 2005. Arabian horses genotyping using seventeen microsatellites. *Archiva Zootechnica*, vol. 8.
- Yeh, F., Yong R., 1999. POPGENE version 1.31 (02.04.2011). Microsoft based Freeware for Population Genetic Analysis. University of Alberta, Edmonton, Canada. (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/fyeh>)

Статията е приета на 17.02.2015 г.
Рецензент – проф. д-р Васил Николов
E-mail: vsn3480@abv.bg