

# Микросателитен ДНК профил на Източнобългарската порода коне

**Илияна Събева**

*Земеделски Институт – Шумен*

E-mail: [iliana\\_sabeva@abv.bg](mailto:iliana_sabeva@abv.bg)

## Резюме

Проучен е микросателитният ДНК профил и генетичното разнообразие при коне от Източнобългарска порода. Обект на анализи бяха данните за нуклеотидния полиморфизъм (SSRs) в 15 локуса на 403 коня, родени след 2010 година и регистрирани в Асоциация Източнобългарски Кон.

Висок полиморфизъм е установен в локусите ASB23, ASB2, ASB17 и VHL20, а най-нисък при HMS1, HTG4 и HTG7. Приблизително два пъти по-нисък от наблюдавания е ефективният брой на алелите при всички локуси в условията на умерено генетичното разнообразие в популацията. Към категорията „редки“ алели могат да бъдат причислени алелът В за локуса ASB2, алелът U за ASB23, алелът F за ASB17, алелът S за ASB23 и HTG10, алелът T за ASB23 и HMS3. Всички локуси съдържат алелите M и N. Единствено в ASB23 и HMS1 липсва алелът O.

Повишено разнообразие по отношение на  $H_o$  и  $H_e$  се наблюдава в локусите HTG10, ASB17, ASB23, ASB2, HMS2, HMS3 и HMS7. Наблюдавано е напластяване на хетерозиготи вследствие на широкото прилагане на кръстосване през последните два генерационни интервала. Вътрешнопопулационният коефициент на инбридинг и средната интерлокусна корелация са ниски по стойност. Статистически доказани корелации на неравновесно свързване (LD) са установени за 93 алелни комбинации от проучваните локуси.

Микросателитният ДНК профил на Източнобългарската порода коне се доближава до този на предходните две генерации на развъжданата у нас популация от Чистокръвна Английска порода.

**Ключови думи:** генетично разнообразие, микросателитни маркери, Източнобългарска порода

## Microsatellite DNA profile in the East Bulgarian horse breed

**Iliyana Sabeva**

*Agricultural institute – Shumen, Bulgaria*

Corresponding author: [iliana\\_sabeva@abv.bg](mailto:iliana_sabeva@abv.bg)

**Citation:** Sabeva, I. (2021). Microsatellite DNA profile in the East Bulgarian horse breed. *Zhivotnovadni Nauki*, 58(4), 3-11 (Bg).

## Abstract

The microsatellite DNA markers and the genetic diversity in East Bulgarian horses was studied. Subject of the analyzes were data of nucleotide polymorphism (SSRs) in 15 loci of 403 horses born after 2010 and registered in the East Bulgarian Horse Association.

The highest polymorphism was established in ASB23, ASB2, ASB17 and VHL20 loci, while HMS1, HTG4 and HTG7 were with the lowest. The effective number of alleles at all loci in the conditions of moderate genetic diversity in the population was approximately two times lower than observed. To the “rare” allele category, the allele B in the ASB2 locus, allele U in ASB23, allele F in ASB17, allele S in ASB23 and HTG10, allele T in ASB23 and HMS3 can be included. All loci contained the M and N alleles. Only ASB23 and HMS1 lack the O allele.

Increased diversity was observed in the HTG10, ASB17, ASB23, ASB2, HMS2, HMS3, and HMS7 loci with respect to  $H_o$  and  $H_e$ . Excess of heterozygotes was observed due to the widespread use of crossbreeding during the last two generational intervals. The intra-population inbreeding coefficient and the average inter-locus correlation were low in values. Statistically proven interactions of linkage disequilibrium (LD) were found for 93 allelic combinations of the studied loci.

The microsatellite DNA profile of the East Bulgarian breed is close to those of the previous two generations of English Thoroughbreds developed in Bulgaria.

**Keywords:** genetic diversity, microsatellite markers, East Bulgarian riding horse.

## Въведение

Динамиката на изменение на генетичното разнообразие подлежи на специално наблюдение при малките по обем популации, подложени на дълготрайно редуциране на числеността, както е в случая с Източнобългарската порода коне. Изследванията на Luikart et al. (1998 a, b), Piry et al. (1999), Voou et al. (2000) показват, че “bottleneck” ефектът води до намаляване на генетичното разнообразие, фиксиране на вредни алели, увеличаване на инбридинга и намаляване на адаптационните способности. През последните десетилетия широко приложение в коневъдството придоби използването на полиморфни маркери (SSRs) за определяне на идентификационна принадлежност и вътрешнопородна диференциация. Мярка за генетичното разнообразие е вариансьт на сумата от генетичната информация от гените на всички индивиди в популацията, като варирането се измерва чрез честотата на алелите в даден локус (Pearce and Moran, 1994).

В наши дни International Society of Animal Genetics (ISAG) е потвърдила надежността на 20 микросателитни маркери за доказване на произход, като препоръчва едновременно използване на минимум от 9 до 12 от тях. Освен за идентификационни цели ДНК локу-

сите намират приложение за установяване на генетичното разнообразие, характеристика на генетичните ресурси, анализ на генетични дистанции (индиректен подход) и при картирането на гени (директен подход). Изследванията на микросателитния полиморфизъм при филогенетично отдалечени популации потвърждават класическата класификация на породите коне, основана на продуктивния тип – бегови и спортни (топлокръвни), впрегатни, примитивни и понита (Leroy et al., 2009; Gupta et al., 2014; Atiq et al., 2018 и др.)

Проучвания върху генетичния профил на различни породи коне са направени от Kourková et al. (2009), Barzev et al. (2010), Silva (2012), Georgescu and Costache (2012), Vlaeva (2014, 2015), Ząbek et al. (2012), Ustyantseva et al. (2017), Seyedabadi et al. (2017), Koseman et al. (2020), Benahamadi et al. (2020) и др. Принос за прецизирането на методите на селекция представляват и разработките, касаещи вътрепородната диференциация на ниво субпопулации или генеалогични линии и фамилии (Barzev and Vlaeva, 2010; Vostrý et al., 2011, Vlaeva, 2015; Vlaeva and Lukanova, 2015; Ustyantseva et al., 2017; Khrabrova et al., 2019) и др.

Източнобългарският кон е отечествена порода с ограничен генофонд, призната през 1951 година. При настъпили промени на потребителското търсене периодично са пред-

приемани изменения в методите на селекция. Независимо от това в по-голяма или по-малка степен е даван приоритет на усъвършенстването на спортните качества. До настоящия момент не са провеждани изследвания на микросателитния полиморфизъм, поради което целта на настоящето проучване е да установим генетичния профил на породата, оценявайки генетичното разнообразие по 15 локуса с кододоминантен тип на унаследяване.

### Материал и методи

Проучването обхваща данните от ДНК картите за определяне на идентичност на 403 коня, родени след 2010 година и регистрирани в Асоциация Източнобългарски кон. Геномната ДНК е извлечена от космени

луковици, взети от гривата и бе анализирана от лицензираната лаборатория Ген Контрол, Германия.

Обект на статистически анализи бе нуклеотидния полиморфизъм (SSRs) в 15 локуса, обозначени като: АНТ4, АНТ5, АСВ2, АСВ17, АСВ23, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, НТГ4, НТГ6, НТГ7, НТГ10 и VHL20. Генетичното разнообразие бе оценено чрез параметрите общ брой на алелните варианти ( $N_a$ ), ефективен брой на алелните варианти ( $N_e$ ) по локуси, индекса на Shannon ( $I$ ), наблюдавана хетерозитотност ( $H_o$ ), очаквана хетерозиготност ( $H_e$ ), хетерозиготност по Nei (1978), тест за Hardy-Weinberg равновесие (HWE), Likelihood ratio тест, интеракции на свързано неравновесие (LD) между алелите в локусите, средната интерлокусна корелация изчислена по Smouse et al. (1983)

**Таблица 1.** Ефективен брой на алелите и индекс на Shannon

**Table 1.** Effective number of alleles and Shannon's index

*Обем на извадката / Sample size: 806*

Локус Locus	Алели / Alleles			Shannon's information index
	Наблюдаван брой	Обозначение	Ефективен брой	
	$N_a$	Signed as	$N_e$	
АНТ4	8	G, H, J, K, L, M, N, O	2,7744	1,2426
АНТ5	7	I, J, K, L, M, N, O	4,2349	1,5608
АСВ2	10	B, I, J, K, M, N, O, P, Q, R	5,9698	1,9223
АСВ17	10	F, G, H, K, M, N, O, P, Q, R	4,8462	1,8314
АСВ23	11	I, J, K, L, M, N, P, R, S, T, U	5,4704	1,8351
HMS1	6	I, J, K, L, M, N	2,5064	1,0955
HMS2	9	H, I, J, K, M, L, N, P, R	3,8041	1,5140
HMS3	8	I, M, N, O, P, Q, R, T	4,6744	1,6501
HMS6	6	K, L, M, N, O, P	3,8803	1,4860
HMS7	8	I, J, K, L, M, N, O, P	5,0478	1,6883
НТГ4	6	K, L, M, N, O, P	2,3898	1,1090
НТГ6	7	G, I, J, M, N, O, R	3,8803	1,4860
НТГ7	5	K, M, N, O, P	2,6052	1,1707
НТГ10	8	I, K, L, M, N, O, R, S	4,9230	1,7118
VHL20	10	I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R	4,7787	1,7240
общо	18			
средно	7,9333		4,0734	1,5188
s.d.	1,7915		1,1562	0,2818

и вътрепопулационен коефициент на инбридинг (Fis). Изчислителните процедури бяха извършени чрез софтуерния пакет от програми POPGENE v.1.31(1999).

### Резултати и обсъждане

Генотипното разнообразие в проучваните микросателитни маркери е формирано от общо 18 алела, като броят им е различен в отделните локуси (таблица 1). По-висок полиморфизъм е установен при локусите: ASB23 с 11 алела; ASB2, ASB17, VHL20 с по 10 алела; HMS2 с 9 алела; АНТ4, HMS3 и НТГ10 – с по 8. Най-малък е броят на алелите в локуса HMS7 – 5. В останалите локуси броят на алелите варира от 6 до 7. Средният наблюдаван брой е  $7,933 \pm 1,7915$ .

Приблизително два пъти по-нисък от наблюдавания е ефективният брой на алелите при всички локуси в т.ч. и средният ефективен, който е  $4,0734 \pm 1,1562$  (таблица 1). Сравнено с публикуваните от Ustyantseva et al. (2017), Atiq et al. (2018) и Venahamadi et al. (2020) обобщени данни за породи с различно направление на използване, профилът на Източнобългарската порода се доближава в по-голяма степен до породите за беговите дисциплини отколкото до тези със спортна ориентация. Информационният индекс на Shannon ( $I^*$ ) е в диапазона от 1,0955 до 1,9223, с най-високи стойности при ASB2, ASB17, ASB23 и най-ниски при HMS1, НТГ4 и НТГ7. Средната стойност на  $I^*$  за всички локуси е  $1,5188 \pm 0,2818$ , което предполага наличие на умерено генетичното разнообразие в популацията (таблица 1).

Данните показани на таблица 2 свидетелстват за наличие на големи разлики между честотите на алелите, участващи в конфигурацията на всеки един маркер. Два алела формират от 0,65 до 0,89 от общата честота в АНТ4 (0,76), HMS1 (0,89), HMS3 (0,73), HMS6 (0,73), НТГ 4 (0,87) и НТГ 7 (0,80). При останалите локуси 3 алела формират обща честота в от 0,66 при HMS7 до 0,89 при HMS1. Някои от алелите с ниска

честота се наблюдават само в определени локуси. Алелът В се среща само в локуса ASB2, алелът U само в ASB23, а алелът F само в ASB17. Алелът S се среща в локусите ASB23 и НТГ10. Алелът T се среща само в ASB23 и HMS3. Всички локуси съдържат алелите M и N. Единствено в ASB23 и HMS1 липсва алелът O. Честота с най-висока стойност в рамките на съответния локус на алела J е установена в НТГ 6 (0,3350); на алела K в АНТ5 (0,3350) и ASB23 (0,2779); на алела L в HMS2 (0,3499); на алела M в НТГ 4 (0,5658), HMS1 (0,4615), VHL20 (0,2779); на алела N в ASB17 (0,3422) и ASB2 (0,2481) и на алела O в НТГ 7 (0,5471) и АНТ4 (0,5298).

Средната честота на хетерозиготните генотипи в проучвания масив от данни е  $0,7325 \pm 0,0852$  (таблица 3). Стойностите на тестовете за HWE показват, че анализираният масив от данни се отнася за популация под селекционен режим на развъждане. Повишено разнообразие по отношение на наблюдаваната хетерозиготност е установена в локусите НТГ10, ASB17, ASB23, ASB2, HMS2, HMS3, HMS7 и НТГ10. Това са локуси, при които броят на алелите е над 8 и наблюдаваната хетерозиготност, макар и слабо, превишава очакваната. При останалите маркери очакваната хетерозиготност в неголяма степен превишава реализираната. Всички стойности на  $H_o$  и  $H_e$  надвишават 0,5, което е индикатор за много добра информативност на включените в изследването локуси.

Положителни стойности на Fis са установени само за АНТ4 (01,0417), АНТ5 (0,0125), ASB2 (0,0134), НТГ6 (0,0320) и VHL20 (0,0209). Отрицателните стойности на Fis при Източнобългарската порода конек показват ексцес на хетерозиготи, дължащ се на широкото прилагане през последните два генерационни интервала на кръстосване с цел промяна на конституционалнопродуктивния тип – от бегови към по-масивен, подходящ за класическите дисциплини на конния спорт. Стойностите на Fis около нулата в случая не следва да се разглеждат като индикатор за случайно съешаване, а като следствие на голямата разпокъсаност

**Таблица 2.** Честота на алелите (N = 18)

**Table 2.** Allele frequency (N = 18)

*Обем на извадката / Sample size: 806*

Апел / locus / Allele / locus	AHT4	AHT5	ASB2	ASB17	ASB23	HMS1	HMS2	HMS3	HMS6	HMS7	HTG4	HTG6	HTG7	HTG10	VHL20
Allele B			0,0484												
Allele D															
Allele F				0,0174								0,3077			
Allele G	0,0012			0,0943											
Allele H	0,1290			0,0149			0,2829								
Allele I		0,0025	0,0087		0,0931	0,062	0,0385	0,2543		0,0012		0,0174		0,2221	0,2506
Allele J	0,2345	0,2655	0,0013		0,1935	0,4256	0,0174			0,1737		0,3350		0,1166	0,0212
Allele K	0,0893	0,3350	0,1898	0,0447	0,2779	0,0074	0,2357		0,1650	0,0223	0,3052		0,1328	0,1166	0,0012
Allele L	0,0025	0,0112			0,1923	0,0199	0,3499		0,1104	0,2581	0,0322			0,0360	0,1935
Allele M	0,0124	0,1203	0,1824	0,1117	0,0087	0,4615	0,0509	0,1712	0,2854	0,1340	0,5658	0,0099	0,0347	0,1885	0,2779
Allele N	0,0013	0,1749	0,2481	0,3422	0,0012	0,0236	0,0012	0,1638	0,0075	0,2196	0,0087	0,0012	0,2544	0,0112	0,1700
Allele O	0,5298	0,0906	0,031	0,1055				0,0918	0,0682	0,1861	0,0546	0,3251	0,5471	0,2953	0,0310
Allele P			0,0385	0,0261	0,0025		0,0012	0,2903	0,3635	0,0050	0,0335		0,0310		0,0050
Allele Q			0,1203	0,0124				0,0112							0,0149
Allele R			0,1315	0,2308	0,0012		0,0223	0,0162				0,0037		0,1266	0,0347
Allele S					0,1055										0,0037
Allele T					0,0199			0,0012							
Allele U					0,1042			0,0012							

**Таблица 3.** Сумарна хетерозиготност по локуси**Table 3.** Summary of heterozygosity for all loci

Локус / Locus	Генотипи / Genotypes	Chi-square test HWE	Likelihood ratio test	Хетерозиготност / Heterozygosity				Fixation index
				Наблюдавана H <sub>o</sub>	Очаквана H <sub>e</sub>	по Nei Nei's	Средна Ave_Het	
АНТ4	17	0,000	0,484	0,6129	0,6404	0,6396	0,6396	0,0417
АНТ5	20	0,735	0,647	0,7543	0,7648	0,7639	0,7639	0,0125
ASB2	38	0,502	0,481	0,8213	0,8335	0,8325	0,8325	0,0134
ASB17	40	0,007	0,046	0,8238	0,7946	0,7937	0,7937	-0,0380
ASB23	33	0,000	0,749	0,8238	0,8182	0,8172	0,8172	-0,0081
HMS1	12	0,290	0,165	0,6328	0,6018	0,6010	0,6010	-0,0528
HMS2	24	0,299	0,432	0,8065	0,7380	0,7371	0,7371	-0,0940
HMS3	23	0,553	0,359	0,8089	0,7870	0,7861	0,7861	-0,0417
HMS6	18	0,822	0,727	0,7543	0,7432	0,7423	0,7423	-0,0162
HMS7	24	0,927	0,936	0,8065	0,8029	0,8019	0,8019	-0,0057
HTG4	14	0,960	0,869	0,5955	0,5823	0,5815	0,5815	-0,0241
HTG6	14	0,596	0,380	0,6650	0,6879	0,6870	0,6870	0,0320
HTG7	13	0,235	0,176	0,6427	0,6169	0,6161	0,6161	-0,0431
HTG10	27	0,589	0,475	0,8337	0,7979	0,7969	0,7969	-0,0463
VHL20	32	0,811	0,790	0,7742	0,7917	0,7907	0,7907	0,0209
mean				0,7444	0,7334	0,7325	0,7325	-0,0163
s.d.				0,0884	0,0853	0,0852	0,0852	

на малки по обем развъдни единици и отпадане на заводския тип на селекция. Средната интерлокусна корелация изчислена по Smouse et al. (1983) е 0,111 при степен на вероятност  $P < 0,5$  за HWE. Статистически доказани интеракции на неравновесно свързване (LD) са установени за 93 алелни комбинации от проучваните локуси. Корелациите са в диапазона от 0,006 до 0,288, като в 48% от случаите те са над 0,1. Над 0,200 са LD корелациите между алелите: L от АНТ4 и К от HMS1 (0,287); J от ASB2 и S от HTG10 (0,288); H от ASB17 и L от HMS1(0,281); N от HTG10 и N от HMS1 (0,221); R от HTG6 и I от АНТ5 (0,202) и между P от HMS7 и N от HMS6 (0,201). Най-висока честота на гаметично LD е установена при VHL20 (24,7%), ASB2 (21,51%), ASB17 (18,28%) и ASB23 (18,28%), следвани от HMS2 (9,68%), АНТ5 (8,60%) и HTG6 (8,60%).

#### *Обобщена характеристика на локусите.*

Локуси от серията АНТ и ASB.

- АНТ4 – От общо 17 генотипа 5 са формирали 79,40% от разнообразието (ОО – 30,52%, JO – 23,57%, HO – 11,41%, КО – 8,69%, КJ – 5,21%), а от 8 алела 4 (50%) са формирали 98,26% от алелното разнообразие в локуса (О – 52,98%, J – 23,57%, H – 12,90%, К – 8,93%). Към категорията на т.н. редки алели могат да бъдат причислени G, L, M и N (таблица 2).

- АНТ 5 – От общо 20 генотипа 5 са формирали 55,09% от разнообразието (KJ – 18,11%, NK – 12,16%, JJ – 8,93%, МК – 8,68%, КО – 7,20%), а от 7 алела 4 (71,43%) са формирали 98,63% от алелното разнообразие в локуса (К – 33,50%, J – 26,55%, N – 17,49%, M – 12,03%, О – 9,06%).

- ASB2 – От общо 38 генотипа 8 (NK, NM, RN, МК, NN, QM, QN и QK) са формирали 56,08% от разнообразието, като честотата им е

в диапазона от 5,21% до 8,19%. От 10 алела 6 (N – 24,81%, K – 18,98%, M – 18,24%, R – 13,50%, Q – 12,03% и B – 4,84%) са формирали 92,05% от алелното разнообразие в локуса. С най-ниска честота са алелите I и J (таблица 2).

- ASB17 – От общо 40 генотипа 8 са формирали 67,25% от разнообразието (RN – 17,62%, NN – 9,93%, NM – 8,68%, NG и NO с по 6,95%, RG и RO с по 6,20% и RR – 4,71%). От 9 алела 6 (66,67%) са формирали 92,92% от алелното разнообразие в локуса (N – 34,22%, R – 23,08%, M – 11,17%, O – 0,55%, G – 9,43% и K – 4,47%).

- ASB23 – От общо 33 генотипа 11 са формирали 66,50% от разнообразието, а от 11 алела 6 (K – 27,79%, J – 19,35%, L – 19,23%, S – 10,55%, U – 10,42% и I – 9,31%) са формирали 96,65% от алелното разнообразие в локуса. С най-висока честота са генотипите LK (11,66%), KJ (10,92%), KK (7,44%) и LI (6,20%). По-рядко срещани са алелите M, N, P и R.

За локусите от серията АНТ и ASB може да бъде отбелязано, че независимо от тяхната полиморфност от 4 до 6 алела са формирали над 92% от генетичното разнообразие в популацията за всеки един от тях. Средната хетерозиготност е била от 0,63 до 0,83, като ексцес на хетерозиготи е устоновен само при ASB17 и ASB23. Структурата на АНТ4, АНТ5 и ASB2 е близка до тази, докладвана от Barzev et al. (2010) и Vlaeva (2015) при коне от чистокръвна английска популация, отглеждана у нас. В АНТ4 авторите установили висока честота на алела O (0419), следвана от тази на алелите K, J и H и на генотиповете ОК, ОО и ОJ. Преобладаваща е била честотата на алелите K и J и на генотипите KJ, МК и НК в АНТ5 и на алелите K и Q в ASB2. Източнобългарската порода е създадена и до скоро усъвършенствана чрез по-широко използване на разплоден материал от Чистокръвна Английска порода, което обяснява наличието на сходства в алелната и генотипна структура на локусите (таблица 3).

Локуси от серията HMS:

- HMS1 – От общо 23 генотипа 5 са формирали 90,07% от разнообразието (MJ – 41,19%,

MM – 19,85%, JJ – 16,87%, MI – 6,45% и JI – 5,71%), а от 6 алела 3 (50,00%) са формирали 94,91% от алелното разнообразие в локуса (M – 46,15%, J – 42,56% и I – 6,2%).

- HMS2 – От общо 24 генотипа 5 са формирали 71,77% от варирането (LH – 23,08%, LK – 17,12%, KH – 16,38%, LL – 10,17% и HH – 4,96%), а от 9 алела 4 са формирали 91,94% от алелното разнообразие в локуса (L – 34,99%, H – 28,29%, K – 23,57% и M – 5,09%).

- HMS3 – От общо 23 генотипа 9 са формирали 77,17% от разнообразието, като дела на генотипа PI е 16,38%, на PM 12,41%, на PN 9,68% и в границите от 4,71% до 6,95% на MI, PP, IO, NI, II и NM. От 8 алела 5 са формирали 97,14% от алелното разнообразие в локуса (P – 29,03%, I – 25,43%, M – 17,12%, N – 16,38% и O – 9,18%).

- HMS6 – От общо 18 генотипа 8 са формирали 83,37% от разнообразието. С по-висока репрезентативност са генотипите PM – 22,08%, PP – 11,91%, PK – 11,41%, MK – 9,43%, PL – 8,93% и MM – 7,20%. От 6 алела 5 са формирали 99,25% от алелното разнообразие в локуса (P – 36,35%, M – 28,54%, K – 16,50%, L – 11,04% и O – 6,82%).

- HMS7 – Установени са общо 24 генотипа. 11 от тях са формирали 83,37% от разнообразието. Разпределението им по низходящ ред на както следва: NL – 11,41%, LO и NO с по 8,93%, LJ – 8,44%, ML – 7,94% и LL, NM, NJ, NN, MJ от 6,70% до 5,21%. Пет от общо осем алела са формирали 97,15% от варирането в локуса (L – 25,81%, N – 21,96%, O – 18,61%, J – 17,38% и M – 13,40%).

Средната хетерозиготност на маркерите от серията HMS е в диапазона от 0,60 до 0,80, като при всеки от тях е установено напластяване (ексцес) на хетерозиготи (таблица 3). В сравнение с повечето от локусите от серията АНТ и ASB локусите от серията HMS са пониско полиморфни, а генотипите с честота над 5% описват по-висок дял от общото разнообразие за всеки един от тях. Сходствата с коне от Чистокръвна английска порода касаят предимно типичните за всеки локус честоти на алелите и генотипите: HMS1 – алели J, M, I и генотипи MJ, MM, MI; HMS2 – алели

L, K и генотипи LL, LK, LH; HMS3 – алели I, P, M, O; HMS6 – алели P, M, K и генотипи MP, PP; HMS7 – алели N, O, L, M и генотипи NL, ON, NN.

Локуси от серията HTG и VHL20.

- HTG4 – От общо 14 генотипа 5 са формирали 85,86% от разнообразието (МК – 34,74%, ММ – 31,51%, КК – 8,68%, МО – 6,20%, РМ – 4,71%), а от 6 алела 3 (50,00%) са формирали 92,56% от алелното разнообразие в локуса (М – 56,58%, К – 30,52% и О – 5,46%).

- HTG6 – От общо 14 генотипа 6 са формирали 93,55% от разнообразието (JO – 24,81%, GO – 18,11%, JG – 17,12%, JJ – 12,16%, GG – 11,66% и OO – 9,68%), а от 7 алела 3 са формирали 96,78% от алелното разнообразие в локуса (J – 33,50%, O – 32,51% и G – 30,77%).

- HTG7 – От общо 13 генотипа 6 са формирали 89,08% от разнообразието (NO – 31,27%, OO – 28,04%, KO – 12,90%, NK – 7,20%, NN – 4,96% и PO – 4,71%), а от 5 алела 3 са формирали 93,43% от алелното разнообразие в локуса (O – 54,71%, N – 25,44% и K – 13,28%).

- HTG10 – От общо 27 генотипа 7 са формирали 65,76% от разнообразието (MO – 13,40%, IO – 13,15%, MI – 10,42%, KO – 7,69%, OO – 7,44%, RO – 7,20% и RI – 6,45%), а от 8 алела 5 са формирали 94,91% от алелното разнообразие в локуса (O – 29,53%, I – 22,21%, M – 18,85%, R – 12,66% и K 11,66%).

- VHL20 – От общо 32 генотипа 8 са формирали 72,46% от разнообразието (MI – 14,89%, ML и NI – 9,43%, MM – 9,18%, LI – 7,94%, NM – 7,69%, NL – 7,44% и II – 6,45%), а от 10 алела 4 са формирали 89,20% от алелното разнообразие в локуса (M – 27,79%, I – 25,26%, L – 19,35% и N – 17,00%).

При локусите от серията HTG от 3 до 5 алела са формирали от 89% до 96,78% от генетичното разнообразие в популацията за всеки един от тях. Средната хетерозиготност е най-ниска в HTG4 и средновисока в останалите локуси (таблица 3). Сравнявайки настоящите резултати с данните от проучванията на Barzev et al. (2010) и Vlaeva (2015) устано-

вихме следните сходства в преобладаващите честоти на алелите и генотиповете за: HTG4, алели M, K и генотипи МК, ММ, КК; HTG6, алели J, O, G и генотипи JG, JJ, OG, OJ, GG; HTG7, алели O, N, K и генотипи ON, OO, OK, NK; HTG10, алели I, M, O; VHL20, алели M, N, I и генотипи NM, MI, MM, ML.

Родословната книга на Източнобългарската порода е затворена по майчина линия и реципрочното обозначение на сходните генотипи не оказва влияние върху алелната честота при сравнение.

### Заклучение

Най-висок полиморфизъм е установен в локусите ASB23, ASB2, ASB17 и VHL20, а най-нисък при HMS1, HTG4 и HTG7. Приблизително два пъти по-нисък от наблюдавания е ефективният брой на алелите при всички локуси в условията на умерено генетичното разнообразие в популацията. Към категорията „редки“ алели могат да бъдат причислени алелът В за локуса ASB2, алелът U за ASB23, алелът F за ASB17, алелът S за ASB23 и HTG10, алелът T за ASB23 и HMS3. Всички локуси съдържат алелите M и N. Единствено в ASB23 и HMS1 липсва алелът O.

Повишено разнообразие по отношение на  $H_o$  и  $H_e$  се наблюдава в локусите HTG10, ASB17, ASB23, ASB2, HMS2, HMS3 и HMS7. Наблюдавано е напластяване на хетерозиготи, следствие на широкото прилагане на кръстосване през последните два генерационни интервала. Вътрешнопопулационният коефициент на инбридинг и средната интерлокусна корелация са ниски по стойност. Статистически доказани интеракции на неравновесно свързване (LD) са установени за 93 алелни комбинации от проучваните локуси.

Микросателитният ДНК профил на Източнобългарската порода коне се доближава до този на предходните две генерации на развъжданата у нас популация от Чистокръвна Английска порода.



## Литература

- Atiq, I., Zahoor, I., Basheer, A., & Khan, W. (2018). Genetic diversity, population structure and phylogenetic relationship of race, sports, draft and wild type horses. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 55(1), 155-158.
- Barzev, G., & Vlaeva, R. (2010). History and dynamics in the development of families in the Thoroughbred horse population in Bulgaria. Effect of mares imported from Romania. *Trakia Journal of Sciences*, 8(2), 525-529.
- Benhamadi, M. E. A., Berber, N., Benyarou, M., Ameer, A. A., Haddam, H. Y., Piro, M., & Gaouar, S. B. S. (2020). Molecular characterization of eight horse breeds in Algeria using microsatellite markers. *Biodiversity Journal of Biological Diversity*, 21(9), 4107-4115.
- Booy, G., Hendriks, R. J. J., Smulders, M. J. M., Van Groenendael, J. M., & Vosman, B. (2000). Genetic diversity and the survival of populations. *Plant biology*, 2(04), 379-395.
- Georgescu S., E., & Costache, M. (2012) - Genetic characterization of Romanian local breeds using microsatellite markers.- Analysis of Genetic Variation in Animals, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0093-5, InTech, DOI:10.5772/32960.
- Gupta, A. K., Chauhan, M., Bhardwaj, A., Gupta, N., Gupta, S. C., Pal, Y., ... & Vijh, R. K. (2014). Comparative genetic diversity analysis among six Indian breeds and English Thoroughbred horses. *Livestock Science*, 163, 1-11.
- Khrabrova, L. A., Blohina, N. V., Suleymanov, O. I., Rozhdestvenskaya, G. A., & Pustovoy, V. F. (2019). Assessment of line differentiation in the Thoroughbred horse breed using DNA microsatellite loci. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 23(5), 569-574.
- Koseman, A., Ozsensoy, Y., Erdogan, M., Yarali, C., Toprak, B., Zengin, K., & Seker, I. (2020). Investigation of Genetic Variations using Microsatellite Markers in Colored Horses in Turkey. *Russian Journal of Genetics*, 56, 592-602.
- Leroy, G., Callède, L., Verrier, E., Mériaux, J. C., Ricard, A., Danchin-Burge, C., & Rognon, X. (2009). Genetic diversity of a large set of horse breeds raised in France assessed by microsatellite polymorphism. *Genetics Selection Evolution*, 41(1), 1-12.
- Luikart, G., Allendorf, F. W., Cornuet, J. M., & Sherwin, W. B. (1998). Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of heredity*, 89(3), 238-247.
- Luikart, G., Sherwin, W. B., Steele, B. M., & Allendorf, F. W. (1998). Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks via monitoring genetic change. *Molecular ecology*, 7(8), 963-974.
- Piry, S., Luikart, G., & Cornuet, J. M. (1999). Computer note. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *Journal of heredity*, 90(4), 502-503.
- Syedabadi, H. R., & Sofla, S. S. (2017). Microsatellite analysis for parentage verification and genetic characterization of the Turkmen horse population. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23(3), 467-471.
- Silva, A. C. M., Paiva, S. R., Albuquerque, M. S. M., Egito, A. A., Santos, S. A., Lima, F. C., Castro, S. T., Mariante, A. S., Correa, P. S., & McManus, C. M. (2012) - Genetic variability in local Brazilian horse lines using microsatellite markers.- *Genet. Mol. Res.* 11 (2), 881-890.
- Smouse, P. E., Neel, J. V., & Liu, W. (1983). Multiple-locus departures from panmictic equilibrium within and between village gene pools of Amerindian tribes at different stages of agglomeration. *Genetics*, 104(1), 133-153.
- Ustyantseva, A. V., Khrabrova, L. A., Abramova, N. V., & Ryabova, T. N. (2019, October). Genetic characterization of Akhal-Teke horse subpopulations using 17 microsatellite loci. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 341, No. 1, p. 012070). IOP Publishing.
- Vlaeva R. (2014). DNA-microsatellite analysis of the Thoroughbred horse population in Bulgaria. Determining the number of alleles and allele frequency in studied loci. *Bulgarian Journal of Animal Husbandry*, LI (3):14-21. (Bg)
- Vlaeva R. (2015). Dynamic in development of Thoroughbred horses population – genealogical structure and genetic diversity. PhD Dissertation, Trakia University, Stara Zagora 160 pp. (Bg)
- Vlaeva, R., & Lukanova, N. (2015). DNA microsatellite analysis of the Thoroughbred horse population in Bulgaria. Genetic relationships between the studied sirelines. *Trakia Journal of Sciences*, 13(1), 83-87.
- Vostrý, L., Kracíková, O., Hofmanová, B., Czerneková, V., Kott, T., & Přibyl, J. (2011). Intra-line and inter-line genetic diversity in sire lines of the Old Kladruber horse based on microsatellite analysis of DNA. *Czech Journal of Animal Science*, 56(4), 163-175.