

Микросателитен ДНК профил на генеалогичните линии при Източнобългарската порода коне

Илияна Събева

*Земеделски Институт, Шумен,
Селскостопанска академия, София*

Автор за кореспонденция: iliana_sabeva@abv.bg

Резюме

Проучването обхваща данните от ДНК картите за определяне на идентичност на 90 коня, родени след 2010 година, принадлежащи към 6 генеалогични линии на породата Източнобългарски кон. Обект на анализи бяха данните за нуклеотидния полиморфизъм (SSRs) в 15 локуса.

Високо генетично разнообразие в локусите ASB23 и ASB2 е установено за линиите с основоположници жребци от чистокръвна Английска порода. Над средните за съответната линия е полиморфизмът в HTG10 и HMS3 при линията на Тихани, ASB17 при линиите на Вустершир, Да Капо, Айстанцер и Лейдикилър. При линиите на Да Капо и Айстанцер, произхождащи от хановерски жребци, разнообразието в локусите HMS2, HMS7 и HMS3 също е добре изразено. Налице е специфика по отношение на степените на фиксация на определени алели по локуси и на вида и честотата на алелите, спадащи към категорията „редки“, за всяка една от проучваните генеалогични единици. По-късно заложените линии се отличават с по-висок полиморфизъм в условията на средно ниво на диференциация между линиите. Близки дистанции са установени между линиите на Тихани и Зенгер, следвани от Да Капо и Айстанцер, и между линията Да Капо и линиите на Зенгер и Вустершир. Най-голям брой на мигриралите алели за поколение при представителите на генеалогичните линии се наблюдава в локусите HMS2 (6,954), АНТ4 (5,565) и HMS1 (4,080).

Проучването на евентуален мониторинг върху изменението на микросателитния ДНК профил на формираните линии би дал на развъдчиците информация при какво отклонение от популационните средни на гореспоменатите параметри и на какъв етап от тяхното развитие следва да бъде предприемано внасяне на нови компоненти на наследственост.

Ключови думи: генетично разнообразие, микросателитни маркери, междулинейна диференциация, Източнобългарска порода

Microsatellite DNA profile of genealogical lines in the East Bulgarian horse breed

Iliyana Sabeva

*Agricultural institute – Shumen,
Agricultural Academy, Sofia*

Corresponding author: iliana_sabeva@abv.bg

Citation: Sabeva, I. (2022). Microsatellite DNA profile of genealogical lines in the East Bulgarian horse breed. *Zhivotnovadni Nauki*, 59(4), 25-35 (Bg).

Abstract

The study covers data from the DNA-card for determining the identity of 90 horses born after 2010, belonging to 6 genealogical lines of the East Bulgarian Horse breed. Nucleotide polymorphism (SSRs) data in 15 loci were analyzed.

High genetic diversity in the ASB23 and ASB2 loci has been established for lines found by Thoroughbred stallions. Above average for the respective line was the polymorphism in HTG10 and HMS3 in the Tihany line, and ASB17 in the lines of Vusterhir, Da Kapo, Eistanzer and Ladykiller. The diversity in the HMS2, HMS7 and HMS3 loci was also noticeable in the Da Kapo and Eistanzer lines, descended from Hanoverian stallions. There were specifics regarding to degrees of certain alleles fixation by loci and the type and frequency of alleles belonging to the “rare” category for each of the studied genealogical units.

Later set lines were characterized by higher polymorphism in the conditions of medium level of differentiation between the lines. Close distances have been established between the Tihany and Zenger lines, followed by Da Kapo and Eistanzer, and between the Da Kapo line and the Zenger and Vusterhir lines. The highest number of migrated alleles per generation in the genealogical lines was observed in the loci HMS2 (6.954), АНТ4 (5.565) and HMS1 (4.080).

Carrying out possible monitoring of the change of the microsatellite DNA profile of the formed lines would give the breeders information on the deviation from the population averages of the above mentioned parameters and at what stage of their development a new components of heredity should be introduced.

Key words: genetic diversity, microsatellite markers, inter-lines differentiation, East Bulgarian Horse breed

Въведение

Развъждането по линии е класически метод в коневъдството, използван за поддържане на генетичното разнообразие в популациите и за затвърждаване на наследствеността по отношение на стопански ценните признаци. При малките по обем популации, попадащи в категорията „застрашени от изчезване“, се прилага дългосрочен мониторинг върху развитието на генеалогичната структура и нивото на продуктивните признаци. Към тази категория може да бъде причислена и Източнобългарската порода коне. Усъвършенстването на технологиите в областта на молекулярната генетика позволява извършването на по-задълбочени изследвания върху генетичния профил на породите, междулинейното и вътрелинейното разнообразие, идентичността на индивидите и тяхната породна принадлежност. Към полиморфните системи с висока информативност се

причисляват микросателитните ДНК маркери (SSRs), които в практиката се използват и за доказване на произход.

Висок полиморфизъм в локусите ASB2, ASB17, ASB23, HTG10 и VHL20 установяват Kwon and Cho (2009), Mahrous et al. (2011), Atiq et al., 2018, Dorji, J. et al. (2018), Benahamadi et al. (2020), Seleuova et al. (2018) и др. при различни полукръвни породи. Mahrous et al. (2011), Vlaeva (2014, 2015), Rukavina (2016) съобщават за значително разнообразие в локусите ASB2, HTG10, ASB23 при популации коне от Чистокръвна английска порода. Характерна особеност на генетичната структура на Ахалтекинската порода е повишеният брой на алелите в локусите от сериите HMS и HTG, сравнено с данните за другите културни породи (Ustyantseva et al., 2017). Изследванията върху микросателитния профил на генеалогични линии при различни популации са фокусирани върху алелната честота, нивата на полиморфизъм и степените на

хетерозиготност и инбридинг (Vostrý et al., 2011; Silva et al., 2012; Vlaeva, R., & Lukanova, N., 2015; Ustyantseva et al., 2017; Khrabrova et al., 2019 и др.). Получените данни са уникални за всяка отделна порода и за всяка нейна структурна единица. Информацията за вътрешнопородната диференциация и генетично разнообразие на ниво микросателитни маркери се използва при разработването на дългосрочни развъдни прогнози и консервационни програми.

Целта на настоящото проучване е да направим генетичен SSRs профил на генеалогичните линии и да определим генетичните дистанции между тях.

Материал и методи

Проучването обхваща данните от ДНК картите за определяне на идентичност на 90 коня, родени след 2010 година, принадлежащи към 6 генеалогични линии, регистрирани в Асоциация Източнобългарски Кон. Геномната ДНК е извлечена от космени луковници 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, ASB2, ASB17, ASB23, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, НТГ4, НТГ6, НТГ7, НТГ10 и VHL20. Тяхната надежност за статистически цели е потвърдена от International Society of Animal Genetics (IASAG).

Генетичното разнообразие бе оценено чрез параметрите общ брой на алелните варианти (N_a), ефективен брой на алелните варианти (N_e), индекс на Shannon (I), наблюдавана хетерозиготност (H_o), очаквана хетерозиготност (H_e), вътрелинеен коефициент на инбридинг (F_{is}), междулинеен коефициент на инбридинг (F_{it}), коефициент на генетична диференциация между линиите (F_{st}) и брой на мигриралите алели за поколение (N_m). Направените предварителни проучвания относно наличие на Hardy-Weinberg равновесие

(HWE) показаха, че анализираният масив от данни се отнася за популация под селекционен контрол. Изчислителните процедури бяха извършени чрез софтуерния пакет от програми POPGENE v.1.31(1999).

Резултати и обсъждане

През последното десетилетие настъпиха съществени промени в развъдната работа с породата. Заводският тип на поддържане и усъвършенстване на заложените линии практически бе преустановен. Премина се към екстензивен тип на развитие на генеалогичните линии при ограничен обем на активните развъдни единици. Три от включените в проучването линии са заложили преди признаването на породата през 1951 г., две през 90-те години на миналия век и една нова, развиваща се във втора генерация.

Линия на чистокръвния жребец Вустершир

Вустершир е роден през 1901 година. Той е основоположник на линия, която към настоящия момент се развива в 7-ма и 8-ма генерация. Нейните представители се отличават с благородни телесни форми, хармонични движения и много добри достижения в дисциплината „шампионат”.

Средният наблюдаван брой на алелите е 4,20 при очакван 2,72 (таблица 1 а). Високо полиморфни и съответно с най-високи стойности на индекса на Shannon са локусите ASB23, ASB17 и ASB2, следвани от HMS7, НТГ10 и VHL20. HMS1, НТГ4 и НТГ7 са маркерите с най-ниско генетично разнообразие. Честота над 0,45 са имали алелите **O** в АНТ4, НТГ6 и НТГ7; **M** в ASB2 и НТГ4; **J** в ASB23 и HMS1; **I** в HMS3, НТГ10 и VHL20. Към категорията редки за линията може да бъдат причислени алелите **B, F, Q, S, T, U**. Реализираната хетерозиготност превишава очакваната при всички локуси с изключение на ASB2 и НТГ6 (таблица 2). По-силно изразен е средният ексцес на хетерозиготи в HMS1 ($F_{is} = -0,733$), АНТ4 ($F_{is} = -0,361$), HMS7 ($F_{is} = -0,331$), HMS2 (F_{is}

Таблица 1 а. Наблюдаван и ефективен брой на алелите, честота и индекс на Shannon
Table 1 а. Observed and effective number of alleles, frequency and Shannon's index

Линия / Lines			Вустершир / Vusterishir (n = 13)			Тихани / Tihany (n = 18)			Зенгер / Zenger (n = 11)			
Локус / Loci	Na	Allele's frequency*	Ne	I	Na	Allele's frequency*	Ne	I	Na	Allele's frequency*	Ne	I
AHT4	4	J ³ , K ⁵ , H ⁵ , O ¹	2,299	1,002	4	H ⁵ , J ⁵ , K ⁴ , O ¹	2,960	1,229	3	J ⁴ , K ⁵ , O ¹	1,936	0,8428
AHT5	4	J ⁵ , K ³ , M ⁵ , N ⁴	2,965	1,205	5	J ⁵ , K ² , M ³ , N ⁵ , O ⁵	3,393	1,351	4	J ³ , K ⁵ , M ¹ , N ⁵	2,847	1,196
ASB2	6	B ⁵ , K ⁴ , M ¹ , N ⁵ , Q ⁵ , R ⁵	2,397	1,232	5	K ⁵ , M ⁵ , N ² , Q ⁴ , R ⁵	3,465	1,392	7	B ⁵ , K ⁴ , M ⁴ , N ⁵ , O ⁵ , Q ² , R ⁵	4,321	1,654
ASB17	6	M ⁴ , N ⁴ , R ⁴ , F ⁵ , G ² , O ⁵	4,225	1,561	4	G ⁵ , M ⁴ , N ³ , R ⁴	3,393	1,292	4	M ⁵ , N ² , O ⁵ , R ³	3,270	1,273
ASB23	7	I ⁵ , J ¹ , U ⁵ , L ⁵ , S ⁵ , T ⁵ , U ⁴	3,282	1,509	6	I ⁴ , J ⁵ , K ⁴ , L ⁴ , S ⁵ , T ⁴	5,311	1,719	7	I ³ , J ⁵ , U ⁵ , L ³ , S ⁵ , T ⁵ , U ⁵	4,321	1,663
HMS1	2	J ¹ , M ²	1,953	0,681	3	I ³ , J ² , M ¹	2,097	0,797	2	J ³ , M ¹	1,657	0,586
HMS2	4	H ³ , I ⁴ , K ⁵ , L ²	3,282	1,271	4	H ¹ , K ⁵ , L ² , M ⁵	2,445	1,020	3	H ¹ , K ⁵ , L ²	2,495	0,986
HMS3	4	I ¹ , N ⁵ , O ⁵ , P ²	2,840	1,171	6	I ³ , M ⁵ , N ⁵ , P ¹ , T ⁵	2,541	1,203	6	I ⁵ , M ⁵ , N ² , O ⁵ , P ³ , R ⁵	4,033	1,546
HMS6	4	K ⁵ , L ² , M ³ , P ⁴	3,219	1,253	4	J ³ , K ³ , L ⁴ , M ² , P ⁵	3,410	1,304	5	K ¹ , L ⁵ , M ¹ , O ⁵ , P ⁵	2,016	1,032
HMS7	5	J ⁵ , L ³ , M ⁵ , N ²	4,024	1,484	5	J ⁵ , L ⁵ , M ⁵ , N ¹ , O ⁵	2,893	1,268	4	L ⁴ , M ⁴ , N ¹ , O ⁵	2,688	1,168
HTG4	2	K ³ , M ¹	1,742	0,617	3	K ² , M ¹ , O ⁵	2,323	0,918	4	K ¹ , L ⁵ , M ² , O ⁵	2,372	0,993
HTG6	3	G ⁵ , J ² , O ¹	2,126	0,823	3	G ⁵ , O ¹	2,656	1,036	4	G ⁵ , I ⁵ , J ⁵ , O ¹	1,624	0,775
HTG7	2	N ⁵ , O ¹	1,256	0,357	3	K ⁵ , N ³ , O ¹	2,031	0,849	4	M ⁵ , N ⁵ , O ¹ , P ⁵	1,613	0,751
HTG10	5	I ¹ , K ⁵ , L ⁵ , O ⁴ , R ⁵	2,153	1,086	6	I ⁴ , K ³ , L ⁵ , M ⁵ , O ³	4,438	1,849	5	I ³ , K ⁵ , L ⁵ , O ¹ , R ⁵	2,602	1,184
VHL20	5	I ² , L ⁴ , M ² , N ⁵ , R ⁵	3,101	1,273	5	I ¹ , J ⁵ , L ⁵ , M ² , R ⁵	2,746	1,189	5	I ² , J ⁵ , L ⁵ , M ⁵ , R ⁵	2,881	1,230
Mean	4,20		2,724	1,102	4,40		3,073	1,211	4,46		2,712	1,125
St. Dev.	1,52		0,832	0,374	1,12		0,884	0,258	1,40		0,323	0,324

n – observed number of horses; *Na* – observed numbers of alleles; *Ne* – effective numbers of alleles;

I – Shannon's index;

* Allele's frequency ¹⁻⁵: $I \geq 0,45$; $0,35 \geq 2 \leq 0,44$; $0,25 \geq 3 \leq 0,35$; $0,15 \geq 4 \leq 0,24$; $0,00 \geq 5 \leq 0,14$

Таблица 1 б. Наблюдаван и ефективен брой на алелите, честота и индекс на Shannon
Table 1 b. Observed and effective number of alleles, frequency and Shannon's index

Линия / Lines		Да Капо / Da Capo (n = 20)				Айстанцер / Eistanzer (n = 17)				Лейдикилър / Ladykiller 1 (n = 11)			
Локус / Loci	Na	Allele's frequency*	Ne	I	Na	Allele's frequency*	Ne	I	Na	Allele's frequency*	Ne	I	
AHT4	4	J ⁴ , K ⁵ , H ⁴ , O ¹	2,974	1,233	5	H ⁵ , J ² , K ⁵ , M ⁵ , O ¹	2,276	1,004	4	H ⁵ , J ² , K ⁴ , O ²	2,988	1,184	
AHT5	5	J ⁵ , K ¹ , M ⁵ , N ⁴ , O ⁵	2,711	1,233	5	J ³ , K ² , M ⁵ , N ⁴ , O ⁵	3,658	1,400	4	J ⁵ , K ¹ , L ⁵ , O ³	2,547	1,097	
ASB2	8	B ² , K ⁴ , M ⁵ , N ⁵ , O ¹ , Q ⁵ , R ⁵ , P ⁵	4,848	1,782	6	B ⁴ , K ⁴ , N ⁵ , P ⁵ , Q ⁵ , R ¹	3,247	1,399	6	I ⁵ , K ³ , M ⁵ , N ³ , Q ⁴ , R ⁵	4,172	1,554	
ASB17	7	F ⁵ , G ⁵ , K ⁵ , M ⁵ , N ² , O ⁵ , R ³	3,478	1,469	9	F ⁵ , G ⁵ , H ⁵ , K ⁵ , M ⁵ , N ¹ , O ⁵ , P ⁵ , R ⁵	2,664	1,463	6	G ⁵ , K ⁴ , M ⁵ , N ³ , O ⁵ , R ⁴	5,042	1,685	
ASB23	6	I ⁵ , J ² , K ⁵ , L ⁴ , S ⁴ , U ⁵	4,124	1,561	6	I ⁵ , J ² , K ⁵ , L ² , R ⁵ , S ⁵	3,400	1,408	6	I ⁵ , J ⁵ , K ¹ , L ⁴ , S ⁵ , U ⁵	3,612	1,516	
HMS1	3	I ⁵ , J ¹ , M ¹	2,099	0,792	4	I ⁵ , J ² , L ⁵ , M ¹	2,267	0,963	5	I ⁵ , J ¹ , L ⁴ , M ³ , N ⁵	3,227	1,343	
HMS2	7	H ³ , I ⁴ , J ⁵ , K ⁴ , L ³ , M ⁵ , R ⁵	4,520	1,619	7	H ³ , I ⁵ , J ⁵ , K ⁴ , L ² , M ⁵ , R ⁵	4,014	1,572	3	H ³ , K ⁴ , L ¹	2,659	1,038	
HMS3	5	I ³ , M ⁵ , N ⁴ , O ⁴ , P ³	4,278	1,517	6	I ⁴ , M ⁵ , N ² , O ⁵ , P ⁴ , Q ⁵	3,658	1,505	5	I ¹ , M ⁴ , N ⁵ , O ⁵ , P ⁴	3,315	1,363	
HMS6	5	K ⁵ , L ⁴ , M ² , N ⁵ , P ²	3,265	1,299	6	K ⁴ , L ⁵ , M ¹ , N ⁴ , O ⁵ , P ³	3,074	1,324	5	K ⁵ , L ⁴ , M ³ , O ⁵ , P ¹	3,226	1,343	
HMS7	7	J ³ , L ⁵ , M ⁵ , N ³ , O ⁴ , P ⁵	4,878	1,698	6	J ⁴ , L ⁵ , M ⁴ , N ⁴ , O ⁴ , P ⁵	5,026	1,668	5	K ⁵ , L ¹ , M ³ , N ⁵	2,916	1,277	
HTG4	4	K ⁴ , M ¹ , O ⁵ , P ⁴	2,204	0,992	3	K ³ , M ¹ , P ⁵	1,907	0,750	4	K ³ , L ³ , M ² , O ⁵	3,227	1,227	
HTG6	3	G ¹ , J ⁴ , O ⁴	2,658	1,037	3	G ³ , J ⁵ , O ¹	1,883	0,783	3	G ³ , J ¹ , O ⁴	2,659	1,038	
HTG7	4	K ⁵ , M ⁵ , N ⁵ , O ¹	1,596	0,724	3	K ⁵ , N ⁴ , O ¹	1,705	0,718	4	K ³ , M ⁵ , N ⁵ , O ¹	2,547	1,097	
HTG10	6	I ³ , K ⁵ , M ⁵ , O ² , R ⁴ , S ⁵	3,604	1,441	6	I ⁵ , K ⁵ , L ⁵ , M ⁵ , O ¹ , R ⁵	3,265	1,465	4	I ³ , M ⁴ , O ³ , R ⁴	3,841	1,365	
VHL20	6	I ⁴ , L ⁴ , M ⁴ , N ⁵ , O ³	4,188	1,526	4	I ⁴ , L ⁴ , M ¹ , O ⁵	2,117	0,973	6	I ⁵ , L ³ , M ³ , N ⁵ , P ⁵ , R ⁵	4,172	1,577	
Mean	5,33		3,428	1,328	5,27		2,944	1,226	4,67		3,343	1,314	
St. Dev.	1,54		1,038	0,322	1,67		0,938	0,324	1,05		0,714	0,204	

n – observed number of horses; *Na* – observed numbers of alleles; *Ne* – effective numbers of alleles; *I* – Shannon's index;

* Allele's frequency ¹⁻⁵: *I* ≥ 0,45; 0,35 ≥ *I* ≥ 0,44; 0,25 ≥ *I* ≥ 0,35; 0,15 ≥ *I* ≥ 0,24; 0,00 ≥ *I* ≥ 0,14

= -0,327), HMS3 (Fis = -0,306) и HTG10 (Fis = -0,293). Положителни са стойностите на Fis по отношение на алелите **M** (0,257) и **R** (0,133) в ASB17, на **P** (0,133) в HMS6 и на **I** (0,025) в VHL20. Характерни особености, които отличават линията на Вустершир от останалите са относително високата честота на алела **G** (0,346) в ASB17 при средно за популацията 0,094 и най-нисък полиморфизъм в локусите HMS1, HTG4 и HTG7.

Линия на чистокръвния жребец Тихани

Жребецът Тихани е роден през 1928 г. и е представител на линията на Дарк Роналд. Той е син на известния Son-in-Low, от когото води началото си световно известната в спортното коневъдство линия на Cottage Son. В миналото конете от тази линия са имали изключително високи достижения в стипълчейз, а в наши дни се изявяват добре в дисциплините конкурипик и дресаж.

Наблюдаваният брой на алелите е в диапазона от 3 до 6, средно 4,40 (таблица 1 а). Ефективният брой варира от 2,031 при HTG7 до 5,311 при ASB23 (средно 3,073), а индексът на Shannon от 0,797 при HMS1 до 1,849 при HTG10 (средно 1,211). Генетично разнообразие над средното за породата е установено за локусите HTG10 и ASB23. Честота над 0,45 са имали алелите **I** в VHL20, **O** в АНТ4, HTG6 и HTG7; **M** в HMS1 и HTG4; **N** в HMS7 и **P** в HMS3. В линията не се срещат алелите **B**, **F** и **U**, а алелите **G**, **Q** и **S** имат много ниски честоти. Наблюдаваната хетерезиготност е с най-високи стойности в локусите ASB23, АНТ5, ASB2, HMS6 и HTG10 (таблица 2). Фиксация на алели при $Fis \geq 0,3$ е установено за **H** при АНТ4 и за **N** при HMS7. В диапазон от 0,15 до 0,3 на Fis са алелите **I** при HMS3, **M** при HMS7, **J** при HTG6, **O** при HTG7, **I** при HTG10 и **M** при VHL20. По-значителни изменения на честотите на алелите вследствие на повишената хетерезиготност се наблюдава при: ASB17 за **N** (Fis = -0,403); HMS2 за **L** (Fis = -0,403) и **G** (Fis = -0,333); HMS1 за **J** (Fis = -0,350); ASB23 за **K** (Fis = -0,286) и **T** (Fis = -0,286); АНТ4 за **K** (Fis = -0,286); HTG6 за **G** (Fis = -0,286); ASB2 за **Q** (Fis = -0,250).

Линия на чистокръвния жребец Зенгер

Зенгер е роден в Полша през 1946 от майка Sigma III и баща Jumar, син на Harlekin. Неговите потомци притежават пропорционално телосложение, здрава плътна конституция и много добри спортни качества. Средният Na е 4,446 (таблица 1 а). Най-добре изразено е разнообразието в локусите ASB23 ($F^* = 1,663$) и ASB2 ($F^* = 1,654$), при които броят на наблюдаваните алели е 7. Характерни особености на линията са високата честота на алела **Q** в ASB2 и относително високото разнообразие в локуса HMS3 ($F^* = 1,546$), с преобладаваща честота на алела **N**. Алелът **F** не се среща, а алелите **B** и **G** са с много ниска честота. Високи стойности на Fis са установени при локусите АНТ5 за алела **K** (0,614), HMS3 за **I** (0,614), ASB2 за **K** (0,389), АНТ4 за **J** (0,389) и HMS7 за **M** (0,389). Степента на фиксация на алела **O** в HTG6, HTG7 и HTG10 е от 0,222 до 0,267. Повишени нива на хетерезиготност се наблюдават в локусите ASB23, ASB2, HMS3, HMS6 (таблица 2). По-съществени промени на честотата на някои алели предимно от хетерозиготни генотипи са настъпили в: ASB23 за алелите **I** (Fis = -0,467) и **L** (Fis = -0,467), ASB2 за алела **Q** (Fis = -0,571), HMS3 за алелите **N** (Fis = -0,571) и **P** (Fis = -0,375), HMS2 за алела **H** (Fis = -0,636).

Линия на ханOVERSKIA жребец Да Капо (GER) – Devils Own

Да Капо₁₉₇₇ (Direx1966 и Heidschnucke) е внесен от бившата Източна Германия. Той произхождал от линията на чистокръвния жребец Devils Own₁₈₈₇ чрез разклонението на Duel II₁₉₅₉, дало коне с изключително добри спортни качества. Линията се развива във втора и трета генерация след основоположника.

Висок полиморфизъм е установен в локусите ASB2 с 8 алела, ASB17, HMS7 и HMS2 с по 7 алела (таблица 1 б). Със стойност под единица са индексите на Shannon за маркерите HMS1 и HTG7. При конете от тази линия не се среща алелът **T**, а към категорията редки могат да бъдат причислени **Q** и **U**. Алелът

В се среща само в ASB2 (No = 0,350), а **F** – само в ASB17. Алелът **G** се среща в ASB17 с ниска честота и в HTG6 с честота 0,510 (Fis = -0,379). Значителна е степента на фиксация на алелите **O** (Fis = 0,400) в АНТ4, **R** (Fis = 0,430) в ASB17 и **J** (Fis = 0,467) в ASB23. Наблюдаваната и очаквана хетерозиготност превишават средната за линията в локусите АНТ5, ASB2, HMS2, HMS3, HMS7 и VHL20 (таблица 2).

Линия на ханOVERския жребец Айстанцер (GER) – Adeptus

Айстанцер₁₉₈₅ е внесен от Германия и произхожда от Айсвогел от майка Пера, дъщеря на изестния в миналото жребец Адепт. Той е бил един от най-широко използваните разплодници у нас през периода 1988–2002 година. Линията се развива във втора, трета и четвърта генерация след основоположника.

Средният Na е 5,267 ± 1,667 (таблица 1 б). Алелите **F**, **G**, и **S** са с ниска честота. Не е установено наличие на алелите **T** и **U**. Разноо-

бразие над средното за линията е установено в локусите ASB17 – 9 алела ($I^* = 1,463$), HMS2 – 7 алела ($I^* = 1,572$), HMS7 – 6 алела ($I^* = 1,668$) и HMS3 също с 6 алела ($I^* = 1,505$) (таблица 1 б). По-значителна вътрелинейна алелна фиксация е установена за **B** (Fis = 0,297) и **R** (Fis = 0,292) в ASB2, **G** (Fis = 0,547) и **O** (Fis = 0,328) в HTG6, **I** (Fis = 0,296) във VHL20 и **J** (Fis = 0,244) в АНТ5.

Хетерозиготност превишаваща средната за линията (0,678 ± 0,179) се наблюдава в локусите HMS7, HMS3, HMS6 и HTG10 (таблица 2). Сравнена с останалите линии, тази на Айстанцер е с най-ниска честота на хетерозиготните генотипи в локуса HTG6 (0,294).

Генеалогична група на жребеца Ladykiller(GB)

Ladykiller₁₉₆₁ (GB) е роден в Англия от майка Lone Beech и баща Sailing Light от линията на Fairway. Импортиран е в Германия, където става един от водещите производители в Холщайнерската порода коне. Не по-ма-

Таблица 2. Наблюдавана (Ho) и очаквана (He) хетерозиготност по линии
Table 2. Observed (Ho) and expected (He) heterozygosity of lines

Линия / Lines	Вустершир / Vustershir (n = 13)		Тихани / Tihany (n = 18)		Зенгер / Zenger (n = 11)		Да Капо / Da Капо (n = 20)		Айстанцер / Eistanzer (n = 17)		Лейдикилър / Ladykiller (n = 11)	
	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He
АНТ4	0,769	0,565	0,667	0,662	0,455	0,484	0,500	0,664	0,588	0,561	0,818	0,665
АНТ5	0,769	0,663	0,833	0,705	0,546	0,649	0,800	0,631	0,765	0,727	0,727	0,607
ASB2	0,308	0,583	0,778	0,711	0,909	0,769	0,850	0,705	0,586	0,692	0,909	0,760
ASB17	0,846	0,763	0,889	0,705	0,818	0,694	0,700	0,713	0,706	0,625	1,000	0,802
ASB23	0,769	0,695	1,000	0,812	1,000	0,769	0,750	0,758	0,647	0,706	0,727	0,723
HMS1	0,846	0,488	0,667	0,523	0,546	0,397	0,400	0,524	0,647	0,559	0,727	0,690
HMS2	0,923	0,695	0,778	0,591	0,818	0,599	1,000	0,779	0,765	0,751	0,546	0,624
HMS3	0,846	0,648	0,611	0,607	0,909	0,752	0,800	0,766	0,882	0,727	0,818	0,698
HMS6	0,769	0,689	0,778	0,707	0,546	0,504	0,700	0,694	0,882	0,675	0,818	0,690
HMS7	1,000	0,752	0,556	0,654	0,636	0,628	0,850	0,706	0,941	0,801	0,909	0,657
HTG4	0,462	0,426	0,556	0,569	0,546	0,606	0,700	0,546	0,529	0,476	0,909	0,690
HTG6	0,385	0,530	0,611	0,624	0,364	0,384	0,750	0,624	0,294	0,469	0,636	0,624
HTG7	0,231	0,204	0,500	0,508	0,364	0,380	0,450	0,374	0,471	0,414	0,636	0,607
HTG10	0,692	0,536	0,778	0,775	0,546	0,616	0,750	0,723	0,882	0,694	0,909	0,740

n – observed number of horses

лък принос за формирането на съвременния тип холщайнерски кон са имали синовете му Landgraf I₁₉₆₆ и Lord₁₉₆₇.

Изследваните локуси съдържат от 3 до 6 алела средно ($4,667 \pm 1,06$). Не се срещат алелите **V** и **T**, а към категорията редки може да бъдат причислени **Q**, **S**, **U**. Получените стойности на индексите на Shannon показват наличие на средно високо генетично разнообразие в ASB17, VHL20, ASB2 и ASB23 (таблица 1 б). Положителни Fis на ниво линия са установени за алела **L** (0,454) в HMS2, **M** (0,389) в HMS3 и **J** (0,266) в HMS1. Средно 80% от генотипите са били в хетерозиготна конфигурация. По-голям процент на хомозиготни генотипи е установен в локусите HMS2, HTG6 и HTG7 (таблица 2).

Източнобългарската порода коне е получена в резултат на сложно възпроизводително кръстосване и разликите между линиите по отношение на редките алели могат да служат за потвърждение на по-далечните филогенетични връзки. По данни на Winton et al. (2019), алелът **V**, локализиран в ASB2, се среща с ниски честоти при някои съвременни породи с ареал на разпространение Европа, Средния Изток и Азия. Алелът **F** (в ASB2, ASB17) се среща само при коне от Азия и древни азиатски фосилни находки. Алелите **G** и **Q** са с най-голяма честота при коне от азиатския континент и азиатски и европейски фосилни находки. По-висока честота на алелите **H** и **R** авторите са установили при коне от азиатски фосилни находки. Резултатите от проучванията на Kwon and Gil-Jho Cho (2009), Barzev et al. (2010), Vlaeva R. (2015) и др. показват, че алелът **V** може да бъде причислен към категорията „редки“ при конете от Чистокръвна английска порода отглеждани в средния и далечен Изток. Според изследванията на Ustyantseva et al. (2019) обхващащи генетичен материал от Европа и САЩ, алелите **V** и **Q** локализирани в ASB2, **G** в HTG6, **H** в АНТ4 и HMS2 и **R** в HTG10 и VHL20 следва да бъдат считани за типични при Арабската порода коне. Алелите **G**, **H**, **Q** и **R** в горепосочените локации и **U** в ASB23 са причислени към категорията „типични“

за Ахалтекинската порода коне, а алелът **V** – към категорията „редки“. По време на началните етапи на формиране на източнобългарските генеалогични комплекси е използвана генетична плазма от Чистокръвна английска и Арабска породи и полукръвни кръстоски внесени от Русия и някои страни от средна Европа. Само при линиите с основоположници внесените от Германия Тихани и Айстанцер не е установено наличие на алела **U**. Алелите **F** и **U** се срещат и в някои други източни полукръвни породи (Yeon Kwon and Gil-Jho Cho, 2009). Алелът **F** е установен единствено в ASB17 при представителите от линиите на хановерските жребци Да Капо и Айстанцер и чистокръвния Вустершир. Специфична особеност на генетичния профил на линиите на Вустершир, Тихани и Зенгер е присъствието на алела **T** в ASB23 и пълното му отсъствие в ASB17 и HTG10. Vdovina, N. V. and Yuryeva, I. V. (2021) съобщават за наличието на алел **T** в локусите ASB17 и HTG10 при коне от местната Мезенска порода с ареал на разпространение Архангелска област на Русия.

Изчислените стойности на Fst при всички локуси са ниски, което показва средно ниво на генетичната диференциация между линиите (таблица 3). Най-голям брой на мигриралите алели за поколение при представителите на генеалогичните линии се наблюдава в локусите HMS2 (6,954), АНТ4 (5,565) и HMS1 (4,080).

Генетичните дистанции, изчислени въз основа на коефициента на генетична диференциация между линиите (Fst), са показани на таблица 4. Най-малки дистанции респ. по-големи сходства са установени между линиите на Тихани и Зенгер, следвани от Да Капо и Айстанцер, и между линията Да Капо и линиите на Зенгер и Вустершир. Получените стойности по отношение на генетичната идентичност и генетични дистанции са резултат от прилаганите методи на селекция в условията на междулинеен крос, внасяне на нови компоненти на наследственост чрез облагородително кръстосване и смесването на две относително самостоятелно развъждани стада след за-

Таблица 3. F-статистика и поток на гени по локуси (Na = 180)**Table 3.** F-statistics and gene flow for all loci (Na = 180)

Локус / Locus	Fis	Fit	Fst	Nm*
АНТ4	-0,055	-0,009	0,043	5,565
АНТ5	-0,115	0,003	0,106	2,111
ASB2	-0,0969	0,059	0,143	1,500
ASB17	-0,153	-0,071	0,071	3,292
ASB23	-0,097	0,007	0,094	2,401
HMS1	-0,205	-0,135	0,058	4,080
HMS2	-0,019	-0,154	0,035	6,954
HMS3	-0,159	-0,066	0,081	2,839
HMS6	-0,135	-0,045	0,079	2,909
HMS7	-0,141	-0,037	0,091	2,493
HTG4	-0,126	-0,044	0,073	3,187
HTG6	-0,005	0,135	0,134	1,563
HTG7	-0,066	0,006	0,068	3,435
HTG10	-0,116	-0,014	0,092	2,465
VHL20	-0,087	0,028	0,106	2,10
Mean	-0,119	-0,022	0,087	2,624

*Nm** брой на мигриралите алели за поколение, изчислен по $Fst = 0,25(1-Fst)/Fst$.

Таблица 4. Генетична идентичност и генетични дистанции между линиите**Table 4.** Genetic identity and genetic distances between lines

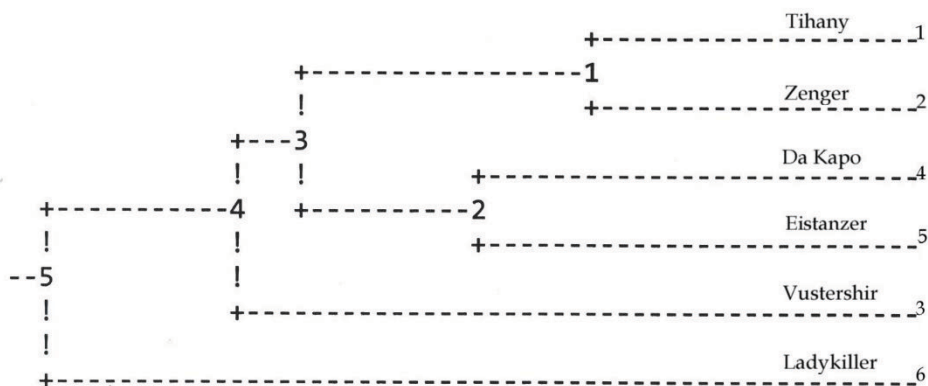
Линия / Line	Тихани / Tihany	Зенгер / Zenger	Вустершир / Vustershir	Да Капо / Da Капо	Айстанцер / Eistanzer	Леди Килър / Ladykiller
	1	2	3	4	5	6
1	****	0,8826	0,8224	0,8255	0,8269	0,7709
2	1,1261	****	0,7799	0,7828	0,8386	0,6884
3	0,1955	0,2486	****	0,8348	0,7824	0,7612
4	0,1918	0,2449	0,1805	****	0,8610	0,8066
5	0,1901	0,1761	0,2454	0,1496	****	0,7451
6	0,2603	0,3735	0,2729	0,2149	0,2943	****

криването на конезавода Стефан Караджа през 2006 година.

От дендрограмата предоставена на фигура 1 се вижда, че не е налице клъстерна диференциация. Развъждането по линии и фамилии е класически метод за поддържане на вътрепородното разнообразие и при продължителната селекция е довело до формиране-

то на уникален за всяка от линиите екстериорно-продуктивен и генетичен профил.

На базата на получените среднестатистически стойности на наблюдаван и ефективен брой на алелите, индекса на Shannon, наблюдавана и очаквана хетерозиготност по генеалогични единици следва да отбележим, че по-късно заложените линии се отличават с



Фиг. 1. Дендрограма на изследваните линии (метод UPGMA)

Fig. 1. Dendrogram of studied lines (method UPGMA)

*между: 1-2 дължина 4,78; 2-4 дължина 6,17; 3-4 дължина 9,44; 5-6 дължина 12,12

*between: 1-2 length 4.78; 2-4 length 6.17; 3-4 length 9.44; 5-6 length 12.12;

по-висок полиморфизъм. Продължителната селекция в условията на междулинеен крос при популации с ограничен генофонд води от една страна до намаляване на генетичното разнообразие, а от друга до затвърждаване на наследствеността по отношение на определени продуктивни качества. Провеждането на евентуален мониторинг върху изменението на микросателитния ДНК профил на линиите би дал на развъдчиците информация при какво отклонение от популационните средни на гореспоменатите параметри и на какъв етап от тяхното развитие следва да бъде предприемано внасяне на нови компоненти на наследственост.

Заклучение

Високо генетично разнообразие в локусите ASB23 и ASB2 е установено за линиите с основоположници жребци от чистокръвна Английска порода. Над средния за съответната линия е полиморфизмът в HTG10 и HMS3 при линията на Тихани ASB17, при линиите на Вустершир, Да Капо, Айстанцер и Лейдикилър. При линиите на Да Капо и Айстанцер, произхождащи от хановерски жребци, разнообразието в локусите HMS2, HMS7 и HMS3 също

е добре изразено. Налице е специфика по отношение на степените на фиксация на определени алели по локуси и на вида и честотата на алелите, спадащи към категорията „редки“, за всяка една от проучваните генеалогични единици. По-късно заложените линии се отличават с по-висок полиморфизъм в условията на средно ниво на диференциация между линиите. Близки дистанции са установени между линиите на Тихани и Зенгер, следвани от Да Капо и Айстанцер, и между линията Да Капо и линиите на Зенгер и Вустершир. Най-голям брой на мигриралите алели за поколение при представителите на генеалогичните линии се наблюдава в локусите HMS2, АНТ4 и HMS1. Провеждането на евентуален мониторинг върху изменението на микросателитния ДНК профил на линиите би дал на развъдчиците информация при какво отклонение от популационните средни на гореспоменатите параметри и на какъв етап от тяхното развитие следва да бъде предприемано внасяне на нови компоненти на наследственост.

Литература

Atiq, I., Zahoor, I., Basheer, A., & Khan, W. (2018). Genetic diversity, population structure and phy-

logenetic relationship of race, sports, draft and wild type horses. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 55(1), 155-158.

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. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(9), 4107-4115.

Barzev, G., Zhelyazkov, E., Barzeva, V., Hristova, D., & Sabev, Z. (2010). Genetic diversity in Bulgarian Thoroughbred using microsatellite DNA markers. *Agricultural science and technology*, 2(3), 116-120.

Dorji, J., Tamang, S., Tshewang, T., Dorji, T., & Dorji, T. Y. (2018). Genetic diversity and population structure of three traditional horse breeds of Bhutan based on 29 DNA microsatellite markers. *PLoS one*, 13(6), e0199376.

Mahrous, K. F., Hassanane, M., Mordy, M. A., Shafey, H. I., & Hassan, N. (2011). Genetic variations in horse using microsatellite markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 9(2), 103-109.

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.

Kwon, D. Y., & Cho, G. J. (2009). Standardization and usefulness of ISAG microsatellite markers for individual identification and parentage verification in horse breeds. *Journal of Veterinary Clinics*, 26(3), 220-225.

Vdovina, N. V., & Yuryeva, I. B. (2021). Monitoring for the genetic structure of Mezen breed of horses in terms of DNA microsatellites. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 25(2), 202.

Rukavina, D., Hasanbašić, D., Ramić, J., Zahirović, A., Ajanović, A., Beganović, K., ... & Pojskić, N. (2016). Genetic diversity of Thoroughbred horse population from Bosnia and Herzegovina based on 17 microsatellite markers. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 64(3), 215-220.

Seleuova, L. A., Naimanov, D. K., Jaworski, Z., Aubakirov, M. Z. H., Mustafin, M. K., Mustafin, B. M., ... & Domatski, V. N. (2018). Population genetic characteristic of horses of mugalzhar breed by STR-markers. *Biomedical Research (India)*, 29(18), 3508-3511.

Silva, A. C. M., Paiva, S. R., Albuquerque, M. S. M., do EGITO, A. A., Santos, S. A., Lima, F. C., ... & McManus, C. M. (2012). Genetic variability in local Brazilian horse lines using microsatellite markers. *Genet. Mol. Res.* 11 (2), 881-890.

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. doi:10.1088/1755-1315/341/1/012070.

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*, 11, 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., & Příbyl, 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.

Winton, C. L., McMahon, R., Hegarty, M. J., McEwan, N. R., Davies-Morel, M. C., Morgan, C., & Nash, D. M. (2020). Genetic diversity within and between British and Irish breeds: The maternal and paternal history of native ponies. *Ecology and evolution*, 10(3), 1352-1367. DOI: 10.1002/ece3.5989.

International Society of Animal Genetics (IASAG). Available from: <http://www.iasag.us/>.