

DIVERSITETI GJENETIK I DHISË SË LIQENASIT NË SHQIPËRI, ANALIZUAR ME ANË TË 30 MARKERËVE MIKROSATELITË

GENTIAN HYKA DHE ANILA HODA*

Departamenti i Prodhimit Shtazor, Universiteti Bujqësor i Tiranës (UBT), Shqipëri

*Email: hodanila@yahoo.com

PËRMBLEDHJE

Dhia e Liqenasit është një racë lokale me rëndësi, e lokalizuar në Juglindje të Shqipërisë. Për herë të parë analizohet diversiteti gjenetik i kësaj race, duke përdorur 30 markerë mikrosatelitë. Janë vlerësuar heterozigotia dhe diversiteti gjenetik. Në total u hasën 236 alele për 30 markerët mikrosatelitë. Vlerat mesatare të heterozigotisë së vëzhguar dhe të pritur ishin 0.68 dhe 0.75 respektivisht. Koeficienti i inbreedingut brenda popullatës ($F_{IS}=9.3$), tregon një nivel të moderuar të inbridingut. Tetë nga 30 lokuset mikrosatelitë shfaqin devijim nga ekuilibri Hardy-Weinberg. Kjo mund të shpjegohet me masën e vogël të popullatës, me shpërndarjen e kufizuar gjeografike, dhe me numrin e vogël të meshkujve riprodhues. Të dhënat tregojnë se raca e Liqenasit nuk ka hasur fenomenin “grykë shishe”. Niveli i lartë i variabilitetit gjenetik tregon se kjo race është një rezervuar i diversitetit gjenetik.

Fjalë kyçe: variabilitet gjenetik, raca locale të dhive, mikrosatelitë, inbreeding, efekt grykë shishe.

ABSTRACT

Liqenasi goat, is an important local goat breed in South East of Albania. For the first time, we report the genetic diversity of this breed, using 30 microsatellite markers. Heterozygosity and gene diversity were estimated. A total of 236 alleles were distinguished for 30 microsatellite markers. The average observed and expected heterozygosity values were 0.68 and 0.75 respectively. Within population inbreeding estimate ($F_{IS}=9.3$), showed a moderate level of inbreeding. Eight from 30 microsatellite loci displayed deviation from Hardy-Weinberg equilibrium. This can be explained with the small population size, with the limited

geographical location of the breed and with the small number of the breeding males. The data suggests that Liqenasi breed has not encountered a recent genetic bottleneck. The high level of genetic variability indicates that this breed is a reservoir of genetic diversity.

Key words: genetic variability, local goat breed, microsatellite, inbreeding, genetic bottleneck.

INTRODUCTION

Dhia e domestikuar është një nga speciet më të rëndësishme të kafshëve të fermës në zonat malore të Shqipërisë. Populacioni i dhisë së Liqenasit është i lokalizuar në fshatrat e zonës së Liqenasit si: Liqenas, Djellas, Goricë e Madhe dhe Gorricë e Vogël etj. Te kjo racë vihet re një tendencë për të ruajtur numrin e krereve në të njëjtat nivele, por paksimi i fermave për shkak të lëvizjeve të popullsisë ka prekur edhe këtë racë. Populacioni i kësaj race llogaritet në rreth 5000 krerë. Megjithëse numri i krerëve është relativisht i vogël, mungesa e kryqezimeve me raca dhe ekotipe të tjera ben që dhia e Liqenasit të mos konsiderohet e “rrezikuar”. Produkti kryesor i kësaj race konsiderohet qumështi dhe mbas tij mishi. Megjithëse e vogël, dhia e Liqenasit, është një dhi qumështore. Dhia e Liqenasit mbarështrahet kryesisht në sisteme ekstensive dhe gjysmë ekstensive. Ajo ushqehet kryesisht me kullotat lokale në periferi të fshatrave që ndodhen në rreze të Malit të Thatë. Tek fermerët që mbarështrahen këtë racë vihet re fenomeni i mbajtjes së remontit të cjepëve nga vetë ferma gjë që sjell një rrezik të lartë të bashkëgjakësisë.

Mikrosatelitët përdoren gjerësisht si markerë gjenetikë për analizën e variabilitetit gjenetik brenda dhe midis racave për shkak të numrit të lartë, shpërndarjes në

gjenomën eukaryote, si dhe efikasitetit të gjenotipizimit. Ka mjaft punime që përdorin mikrosatelitët si markerë për studimin e variabilitetit gjenetik midis racave të ndryshme të dhive si p.sh. midis racave zvicerane (10), popullatave indigjene kineze (6), dhinë nga Europa (përfshirë edhe dhinë e Liqenasit) dhe Lindja e Mesme (3), dhia Mehsana (1), dhinë indiane (8), dhinë Barbari (7). Aktualisht, kjo racë studjohet për herë të parë në nivelin molekular duke përdorur 30 markerë mikrosatelitë.

MATERIALI DHE METODA

Mbledhja e kampjoneve dhe markerët mikrosatelitë

Në total u analizuan 31 individë, të dhisë së Liqenasit, të kampjonuar rastësisht. Individët u selektuan pa lidhje gjaku me njeri tjetrin (dy femra dhe një mashkull) për çdo tufë, bazuar në informacionin e marrë nga fermeri. Kampjonimi u krye mesatarisht në 11 tufa nga vëndorigjina e racës. U përdorën 30 markerë mikrosatelitë.

Vlerësimet e heterozigotisë së vëzhguar dhe të pritur, numri i vëzhguar i aleleve, numri efektiv i aleleve, shmangiet nga ekuilibri Hardy-Weinberg u realizuan duke përdorur software POPGENE (13). Vlerat PIC (*Polymorphic Information Content*) për çdo marker u llogarit sipas Botstein *et al.* (2). Programi FSTAT (5) u përdor për të llogaritur deficiencën e heterozigotëve (F_{IS}), Programi Bottleneck (4) u përdor për të testuar efektet e kohëve të fundit grykëshishe.

REZULTATET DHE DISKUTIMI

Në dhinë e Liqenasit u përcaktuan frekuencat alelike dhe gjenotipike për 30 markerët mikrosatelitë. Numri total i aleleve për lokus (TNA) dhe heterozigotia e vëzhguar dhe e pritur për çdo lokus paraqitet në tabelën 1.

Në total u identifikuan 236 alele për 30 lokuset mikrosatelitë dhe numri i aleleve për lokus varionte nga 3 (SRCRSP15) deri 15 (BM6444). Numri efektiv i aleleve varionte nga 1.56 (INRABERN185) në 8.66 (SRCRSP23). Meqenëse shumica e markerëve (gjithsej 26) kishin më tepër se katër allele, atëherë ata janë të përshtatshëm për të analizuar diversitetin gjenetik të dhisë së racës Liqenasi. Heterozigotia e vëzhguar varionte nga 0.148 (ILSTS029) në 1 (SRCRSP23) me një mesatare prej of 0.683. Diversiteti gjenik varionte nga 0.358 (INRABERN185) në 0.884 (SRCRSP23), me një mesatare prej of 0.739. Një marker konsiderohet i vlefshëm për matjen e variacionit gjenetik nëse ai ka një heterozigoti mesatare që varion nga 0.3 në 0.8 në një popullatë (12). Analiza konfirmon përsëri se markerët e përdorur në këtë studim janë të përshtatshëm për matjen e variacionit gjenetik.

Vlerat PIC (*Polymorphism Information Content*) për të 30 lokuset varionin nga 0.299 (MAF 209) to 0.907 (BM6444). PIC është një parametër indikativ i nivelit të informacionit të një markeri. Me përjashtim të MAF209, të gjithë markerët e tjerë kishin vlera PIC më të mëdha se 0.5, për pasojë këta markerë duken informativë (2).

Tetë lokuse shfaqnin deficiet sinjifikant të heterozigotëve (tabela 1). Brenda popullatës vlerësimi i inbreedingut (F_{IS}) për lokuset e investiguara ishte relativisht i lartë, 0.083. Vlerat për secilin lokus paraqiten në tabelën 1. Vlerat varionin nga -0.154 (InraBern185) në 0.691 (ILSTS029). Njëmbëdhjetë lokuse shfaqnin vlera negative të F_{IS} . Deficieti i heterozigotëve mund të jetë rrjedhojë e inbreedingut. Kjo racë është e lokalizuar në një rajon të kufizuar gjeografik. Karakterizohet nga një masë e vogël e popullatës dhe nga një numër i vogël i meshkujve riprodhues. Një arsye tjetër mund të jetë efekti Wahlund, pasi kampjonimi është kryer në 11 tufa dhish.

Testimi *sign test* zbuloi ndryshime midis numrit të pritur dhe të vëzhguar të lokuseve me tepricë heterozigotie sipas modelit IAM. Njëzet e tetë lokuse kishin tepricë heterozigotie dhe vetëm dy lokuse kishin deficiencë sinjifikante të heterozigotëve ($p < 0.01$). Kompleti i të dhënave tregonte ekuilibër mutacion – drift sipas modelit TPM. Gjithashtu njëmbëdhjetë lokuse shfaqnin tepricë heterozigotës ($p < 0.05$) sipas modelit SMM. Një testim tjetër, *standardized difference test* tregoi tepricë sinjifikante të heterozigotëve sipas IAM, ekuilibër mutacion-drift sipas TPM dhe deficiencë sinjifikante të heterozigotëve sipas SMM ($T_2 = -2.986$, $p < 0.01$). Testi Wilcoxon tregoi se popullata ka pësuar një efekt grykëshishe të kohëve të fundit duke supozuar modelet IAM dhe TPM. Të tre testimet zbuluan deficiet sinjifikant të heterozigotëve sipas SMM. Gjithashtu u krye një testim tjetër *mode shift test*. Spektri i frekuencave alelike tregohet në figurën 1. Alelet mikrosatelitë u organizuan në 10 klasa frekuencash. Shpërndarja ka një formë normale L (*L-shaped form*). Alelet me frekuencë të ulët (0.01-0.1) janë më të shpeshtë. Shpërndarja e vëzhguar tregon se raca nuk ka pësuar ndonjë efekt grykëshishe të kohëve të fundit.

Rezultatet e këtij studimi sugjerojnë se të gjithë markerët janë shumë polimorfikë dhe të vlefshëm për karakterizimin molekular të dhisë së Liqenasit. Megjithë masën e vogël të popullatës, raca Liqenasi shfaq një nivel të lartë të variabilitetit. Kjo do të thotë se kjo racë është një rezervuar i diversitetit gjenetik që duhet konservuar. Ka një nivel të moderuar të inbreedingut. Për pasojë duhet të merren masa për të shmangur inbreedingun në popullatë.

<i>Lokusi</i>	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>I</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>F_{IS}</i>	<i>PIC</i>	<i>p-value</i>
CSRD247	8	5.445	1.815	0.774	0.816	0.052	0.779	0.124
DRBP1	8	3.302	1.490	0.323	0.697	0.537	0.788	0.000***
ILSTS011	7	4.439	1.621	0.871	0.775	-0.124	0.689	0.564
ILSTS087	10	4.665	1.819	0.742	0.786	0.056	0.750	0.893
INRA023	9	5.414	1.922	0.806	0.815	0.011	0.816	0.131
INRA063	5	2.943	1.246	0.645	0.660	0.023	0.649	0.825
InraBern172	9	5.237	1.872	0.742	0.809	0.083	0.778	0.916
MAF65	11	8.504	2.238	0.935	0.882	-0.060	0.843	0.394
McM527	7	4.281	1.683	0.871	0.766	-0.136	0.809	0.671
OarAE54	11	6.261	2.090	0.839	0.840	0.002	0.746	0.186
OarFCB20	6	4.309	1.593	0.774	0.768	-0.008	0.667	0.721
OarFCB48	9	3.971	1.746	0.774	0.748	-0.035	0.816	0.010*
SPS113	11	5.476	1.948	0.806	0.817	0.013	0.781	0.910
SRCRSP09	9	5.896	1.916	0.839	0.830	-0.010	0.734	0.066
SRCRSP23	14	8.658	2.345	1.000	0.884	-0.131	0.879	0.679
SRCRSP3	5	3.579	1.410	0.700	0.721	0.029	0.587	0.740
MAF70	8	3.782	1.541	0.767	0.736	-0.042	0.652	0.948
SRCRSP5	10	3.920	1.694	0.786	0.745	-0.055	0.735	0.268
ILSTS005	5	3.117	1.297	0.536	0.679	0.211	0.572	0.014*
ETH10	4	2.966	1.216	0.655	0.663	0.012	0.595	0.455
TGLA53	7	3.557	1.481	0.600	0.719	0.165	0.714	0.878
SRCRSP8	8	4.511	1.697	0.767	0.778	0.015	0.804	0.019*
BM6444	15	8.096	2.395	0.769	0.876	0.122	0.907	0.917
P19	9	4.826	1.822	0.433	0.793	0.453	0.830	0.012*
MAF209	4	2.687	1.080	0.633	0.628	-0.009	0.299	0.929
SRCRSP7	6	3.061	1.343	0.367	0.673	0.455	0.619	0.000***
ILSTS029	4	1.923	0.877	0.148	0.480	0.691	0.584	0.000***
SRCRSP15	3	2.789	1.060	0.621	0.641	0.032	0.619	0.820
TCRVB6	9	4.634	1.839	0.552	0.784	0.296	0.821	0.029*
INRABERN185	5	1.559	0.781	0.414	0.359	-0.154	0.574	0.997
Mean	236			0.683	0.739	0.083	0.700	

Na = Numri i aleleve të vëzhguar, *Ne* = Numri efektiv i aleleve, *I* = Indeksi informative i Shannon, *Ho* = Heterozigotia e vëzhguar, *He* = Heterozigotia e pritur sipas Nei (1973), *PIC* = polymorphism information content, *F_{IS}* = koeficienti i inbreedingut.

Tabela 1: Matja e variabilitetit gjenetik në dhinë e Liqenasit

Test	IAM		TPM		SMM	
	Expected	Observed	Expected	Observed	Expected	Observed
Sign test (Numri i lokuseve me tepricë heterozigotie)	17.84	28**	17.90	20	17.77	10*
Standardized differences test (vlerat T_2)	3.907**		1.206		-3.559**	
Wiloxon test (Probabiliteti i tepricës së heterozigotëve)	0.00000**		0.02613*		0.99317	

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$

IAM, Infinite allele model; TPM, Two phase mutation model; SMM, Strict one step mutation model

Tabela 2: Testimi për ekuilibrin mutacion – drift në 30 markerët mikrosatelitë, sipas tre modeleve të mutacionit në dhinë e Liqenasit.

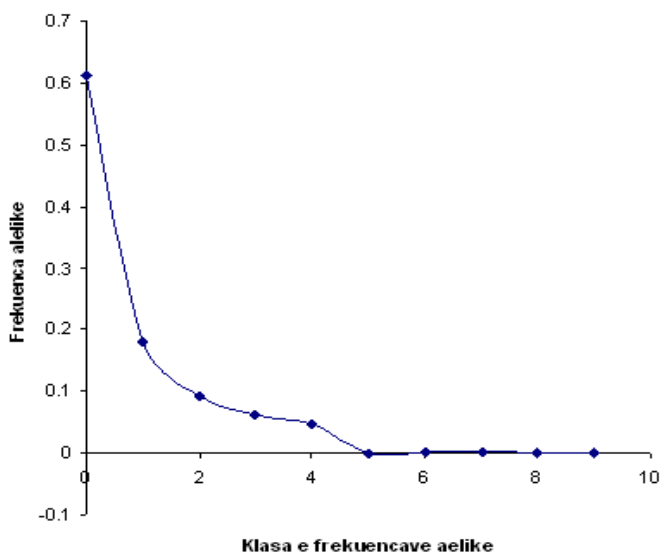


Figura 1: Grafiku i tipit *L-shaped mode shift*.

BIBLIOGRAFIA

1. Aggarwal R A K., S. P. Dixit., N. K. Verma., S. P. S Ahlawat., Y. Kumar., S. Kumar., R. Chander., and K. P. Singh (2007) Population genetic analysis of Mehsana goat based on microsatellite markers, *Current science*, 92.8 (1133-1137).

2. Botstein D., R. L. White M, Skolnick and R W Davis (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *A., J. Hum. Genet.*, 32: 314-331.

3. Cañon J, Garcia D, Garcia-Atance, M A, Obexer-Ruff G, Lenstra J A, Ajmone-Marsan P, Dunner S, and ECONOGENE Consortium (2006) Geographical partitioning of goat diversity in Europe and the Middle East. *Anim. Genet.*, 37, 327–34.

4. Cornuet J M and Luikart G, (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001-2014.

5. Goudet J (1995) FSTAT V 2.9.3 a computer programme to calculate F-statistics

- <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. *J. Hered.* 8, 485-486.
6. Li S-L, Valenti A (2004) Genetic diversity of Chinese indigenous goat breeds based on microsatellite markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **121**,350-55.
7. Ramamoorthi J, Thilagam K, Sivaselvam S N, Karthickeyan A M K (2009) Genetic characterization of Barbari goats using microsatellite markers, *Journal of veterinary Science* 10.1, 72-76.
8. Rout P K, Joshi M B, Mandal A, Laloe D, Singh L and Thangaraj K (2008) Microsatellite based phylogeny of Indian domestic goats. *BMC Genetics* 9:11.
9. Saitbekova N, Gaillard C, Obexer-Ruff G, Dolf G. (1999) Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis, *Animal Genetics* **30**, 36-41.
10. Saitbekova N, Gaillard C, Obexer-Ruff G, Dolf G. (1999) Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis, *Anim. Genet.*, **30**, 36-41.
11. Shannon C E, Weaver W (1949) The mathematical theory of communication. Univ. of Illinois Press, Urbana.
12. Takezaki N, Nei M, (1996): Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* 144: 389 – 3999.
13. Yeh Francis C, Yang R C, Boyle Timothy B J, YeH and Mao Judy X (1999) POPGENE version 1.32. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta Canada (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/>)