

---

## GENETIC DIVERSITY IN THREE LOCAL GOAT BREEDS BY 10 MICROSATELLITE MARKERS STUDIMI I DIVERSITETIT GJENETIK TË TRE RACAVE AUTOKTONE TË DHIVE ME ANË TË 10 MARKERËVE MIKROSATELITË

GENTJAN HYKAJ, ANILA HODA

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

Email: gentianhyka@yahoo.com

AKTET IV, 1: 7 - 12, 2011

### PËRMBLEDHJE

Dhitë konsiderohen si një nga speciet e kafshëve bujqësore me shumë rëndësi në Shqipëri. Kampioni prej 93 individësh të tre racave lokale: “Capore”, “Muzhake” dhe “Liqenasi” është gjenotipizuar për 10 markerë mikrosatelitë. Numri i aleleve për 10 lokuset është 102. Pasuria alelike ka vlerën mesatare 8.623. Numri i aleleve private është 22. Ekziston një deficiet domethënës i heterozigotëve prej 7.1% ( $p < 0.001$ ) për secilën nga racat. Ky deficiet është në masën 8.9% ( $p < 0.001$ ) për të gjithë popullatën. Vlerat  $F_{ST}$  tregojnë se 2% e variacionit gjenetik total shpjegohet me diferencat midis racave dhe 98% nga ndryshimet midis individëve. Diversiteti gjenetik  $H_T$  rezultoi 0.8, ndërsa vlera  $G_{ST}$  0.008. Dallohet një distancë e vogël gjenetike midis racave dhe një fluks i madh i gjeneve, 12.18. Ky fluks mund të ketë luajtur një rol të rëndësishëm në uniformitetin gjenetik të popullatave. Drifti i gjeneve është faktor i rëndësishëm në diferencimin gjenetik midis racave.

**Fjalë kyçe:** diversitet gjenetik, distancë gjenetike, raca autoktone, dhi, mikrosatelit, fluks gjenes

### SUMMARY

Goats are an important livestock species in Albania. A total of 93 individuals, representative of three local goat breeds: “Capore”, “Muzhake” and “Liqenasi” were genotyped for 10 microsatellite markers. A total number of 102 alleles were identified. Allelic richness was 8.623 and a total of 22 private alleles were found. There is a significant deficit of heterozygote 7.1% ( $p < 0.001$ ), for the analyzed breeds. The data reveal a moderate level of genetic differentiation. Based on multiloci  $F_{ST}$  value, 2% of genetic variation is because of breed differences and 98% correspond to differences between individuals. Nei’s genetic diversity  $H_T$  was 0.8. Genetic distances between breeds were small. Gene flow was high, 12.18, and might have contributed in the uniformity between breeds. Genetic drift have contributed in genetic differentiation between breeds.

**Key words:** genetic diversity, genetic distances, autochthonous breeds, goat, microsatellite, gene flow.

---

### HYRJE

Dhitë janë një nga speciet më të rëndësishme të kafshëve të fermës në zonat malore dhe kodrinore të Shqipërisë. Ato janë përshtatur mirë në kushtet e klimës dhe të mjedisit të ashpër, kullotave të varfra natyrore dhe janë rezistente ndaj sëmundjeve (Dobi, 2006). Racat e dhive janë përckatuar kryesisht nga pozicioni geografik, karakteristikat morfologjike dhe prodhimtaria (Dobi et al., 2006). Vitet e fundit numri i dhive

është duke u pakësuar me shpejtësi, për shkak të lëvizjeve të popullsisë nga zonat rurale drejt zonave urbane, emigrimi i të rinjve jashtë vendit dhe për shkak të zhvillimit të ulët ekonomik të rajoneve që mbarështrajnë këtë specie. Mungojnë programet racore për këto kafshë dhe për pasojë karakterizimi gjenetik i tyre është mjaft i rëndësishëm për konservimin dhe përmirësimin e tyre. Për një kohë të gjatë, një numër mjaft i kufizuar studimesh janë kryer mbi

diversitetin gjenetik të racave lokale të dhive duke përdorur tiparet e dukshme (Hoda, 2005; Zoraqi, 1991). Përdorimi i markerëve molekularë është mjaft i rëndësishëm për vlerësimin e diversitetit gjenetik dhe mardhënieve gjenetike midis popullatave. Mikrosatelitiët po përdoren gjerësisht si markerë gjenetikë për analizën e variabilitetit gjenetik brenda dhe midis racave për shkak të numrit të lartë, shpërhapjes në gjenomë dhe efikasitetit në gjenotipizim. Ka mjaft punime mbi diversitetin gjenetik të dhive bazuar në markerët mikrosatelite, si në racat zviceriane (Saitbekova *et al.*, 1999), popullatat indigjene kineze (Li *et al.*, 2002, Li *et al.*, 2004), dhinë shtëpiake indiane (Rout *et al.*, 2008), dhinë europiane dhe të Lindjes së Mesme (Cañon *et al.*, 2006). Ky studim ka si qëllim *vlerësimin e diversitetit gjenetik, strukturës dhe raporteve gjenetike* që krijohen midis dhe brenda popullatave të tre ekotipeve të racave të dhive shqiptare “Capore”, “Muzhake” dhe “Liqenasi”.

## MATERIALI DHE METODA

### Mbledhja e kampioneve dhe markerët mikrosatelitë

Për realizimin e këtij studimi u zgjodhën individë të racave “Capore”, “Muzhake”, dhe “Liqenasi”, të përdorur disa herë në kryqëzim, me moshë mbi dy vjeç, të shëndetshëm dhe pa lidhje gjaku me njëri-tjetrin. Për këtë arsye u morën 2–3 kërë për çdo tufë, sipas informacionit të dhënë nga fermeri përkatës. Në çdo tufë u morën 2 individë të seksit femër dhe një individ i seksit mashkull. Gjaku u përdor për ekstraktimin e ADN-së sipas metodës standarte të ekstraktimit me fenolkloroform. ADN-ja e ekstraktuar u përdor për analizimin e lokuseve mikrosatelitë në disa laboratore Europiane, që janë partnerë të projektit Econogene “*Sustainable conservation of animal genetic resources in marginal rural areas: integrating molecular genetics, socio – economics and geostatistical approaches*” <http://www.econogene.eu>.

Të dhënat molekulare të përfuara u përdorën për karakterizimin e diversitetit gjenetik të racave dhe të strukturës së popullatave.

U analizuan 10 markerë mikrosatelitë të përzgjedhur nga lista e mikrosatelitëve të rekomanduar nga FAO për studimin e diversitetit gjenetik të dhinë: CSRD247, DRBP1, ILSTS011, ILSTS087, INRA023, INRA063, InraBern172, MAF65, McM527, OarAE54.

### Analiza statistikore

Studimet e diversitetit gjenetik përfshijnë analizën brenda racave dhe atë midis racave. Analiza brenda racave ka të bëjë me vlerësimin e heterozigotisë, të  $F_{ST}$ , numrin mesatar të aleleve, si dhe me ekuilibrin Hardy-Weinberg (HWE). Frekuencat e aleleve, indeksi  $F_{IS}$  dhe devijimet nga ekuilibri Hardy-Weinberg (HWE) u vlerësuan me programin GENEPOP V3.1. Prova e HWE u realizua me ndihmën e *Markov Chain Monte Carlo methode* (1000 përsëritje), duke përdorur testing ekzakt të Fisherit (Guo dhe Thompson, 1992). Vlerat  $p$  u konsideruan si sinjifikantë duke filluar prej vlerës  $<0,05$ . Vlera PIC (*Polymorphism Information Content*) (Botstein *et al.*, 1980) për çdo lokus mikrosatelit u vlerësua me programin Cervus 2.0 (Marshall *et al.*, 1998). Për të vlerësuar variacionin brenda popullatave u llogarit numri mesatar i aleleve (MNA) për çdo racë, vlerat e pritura dhe të vëzhguara të heterozigotisë, të mesatarizuara, si për të gjithë lokuset, ashtu edhe për të gjitha racat. Për këtë u përdor programi Genetix (Belkhir *et al.*, 2001). Llogaritja e parametrit “*allelic richness*” i cili paraqet numrin mesatar të korrigjuar të aleleve mbi bazën e madhësive të ndryshme të kampionit dhe diversiteti gjenetik ( $H_E$ ) u realizuan me programin FSTAT (Goudet 1995). Parametrat e statistikës  $F$ , sipas Weir dhe Cockerham (1984)  $F_{IS}$  (W&C) dhe  $F_{IT}$  (W&C) ose sipas Nei (1973b), u llogaritën me programin FSTAT (GOUDET 1995). Llogaritja e fluksit të gjeneve (*gene flow*) (Wright, 1931) u realizua në formën e numrit të migrantëve për gjeneracion ( $N_m$ ) me anën e programit GENALEX6. Për vlerësimin e distancave gjentike u supozua një model i pastër drifti, i cili parashikon praninë e mutacioneve dhe një madhësi populatë jokonstante. Mbi bazën e distancës gjentike standarte sipas Nei (Nei 1972) u krye analiza e komponentëve kryesorë (PCA).

**REZULTATET DHE DISKUTIMI****Markerët mikrosatelitë**

Frekuenat alelike u llogaritën për 10 markerët mikrosatelitë të studiuar (të dhënat nuk janë paraqitur). Në total numri i aleleve për 10 markerët mikrosatelitë ishte 98. Të gjithë lokuset janë polimorfikë (Tabela 1) ku numri i aleleve varion nga 5 (INRA063) deri 15 (MAF65) me një mesatare globale për 10 markerët prej 10.2 alele për lokus. Numri efektiv i aleleve për lokus varionte nga 2.997 (Inra063) deri në 9.999 (MAF65) me një mesatare prej 5.347 për të gjithë lokuset.

Për markerët e ndryshëm, numri mesatar i aleleve për lokus-racë varionte 4.667 (Inra063) deri në 11.333 (MAF65) dhe me një mesatare prej 8.2. Vlera më e madhe e PIC haset në lokusin MAF65 (0.891) dhe më e vogla në lokusin Inra053 (0.607). Heterozigotia e pritur për të gjithë lokuset ishte 0.799. Heterozigotia e pritur në të

gjithë lokuset ishte më e madhe se 0.65. Në lidhje me ekuilibrin Hardy-Weinberg u vu re që për të tre racat shfaqeshin devijime në lokusin DRBP1, kurse lokusi CSR247 shmangej nga HWE vetëm në popullatën Capore.

Divergjenca midis heterozigotisë së pritur dhe të vëzhguar për të gjithë individët, e reflektuar në vlerën  $F_{IT}$ , kishte një mesatare prej 0.089 për të gjithë lokuset dhe varionte për markerët e ndryshëm midis -0.028 (Inra063) deri në 0.492 (DRBP1).

Diferencimi gjenetik midis racave, i vlerësuar me anë të  $F_{ST}$ , i korespondon nivelit prej 0.02 kur merren të gjithë lokuset në konsideratë dhe vlerat për çdo lokus variojnë nga 0.007 (Inra023) deri në 0.038 (McM527). Defiçiti i heterozigoteve brenda racave, i vlerësuar si parametri  $F_{IS}$  ka një mesatare prej 0.071, dhe varion nga -0.06 (McM527) deri në 0.481 (DRBP1).

Lokusi	Na	MNA	Ne	PIC	$H_O$	$H_E$	$F_{IS}$	$F_{ST}$	$F_{IT}$	Nm	AR
CSR247	9	7.333	4.583	0.757	0.707	0.786	0.064	0.033	0.095	7.240	8.127
DRBP1	13	8.333	3.949	0.723	0.380	0.751	0.481	0.020	0.492	12.107	9.439
ILSTS011	9	6.667	4.001	0.712	0.728	0.754	0.018	0.013	0.031	18.556	6.77
ILSTS087	11	9.333	5.278	0.787	0.659	0.815	0.169	0.022	0.188	10.937	9.167
INRA023	10	9.333	5.302	0.792	0.772	0.816	0.042	0.007	0.049	36.867	9.107
INRA063	5	4.667	2.997	0.607	0.685	0.670	-0.038	0.009	-0.028	26.288	4.974
InraBern172	9	8.000	5.752	0.804	0.793	0.831	0.029	0.011	0.040	22.877	7.959
MAF65	15	11.333	9.999	0.891	0.891	0.905	-0.015	0.025	0.010	9.771	12.588
McM527	8	7.333	5.576	0.797	0.837	0.825	-0.060	0.038	-0.020	6.349	7.283
OarAE54	13	9.667	6.035	0.814	0.804	0.839	0.015	0.022	0.032	11.130	10.816
Mesatarja	10.2	8.200	5.347	0.768	0.726	0.799	0.071	0.020	0.089	12.187	8.623

**Tabela 1.** Numri mesatar i aleleve për racë (MNA), Numri mesatar efektiv i alelev për racë (Ne), përmbajtja e informacionit polimorfik (PIC), heterozigotia e vëzhguar ( $H_O$ ) dhe e pritur ( $H_E$ ), statistika e Wright ( $F_{IT}$ ,  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$ ) për çdo lokus dhe të gjithë lokuset bashkarish, numri i migrantëve (Nm) si dhe pasuria alelike (AR)

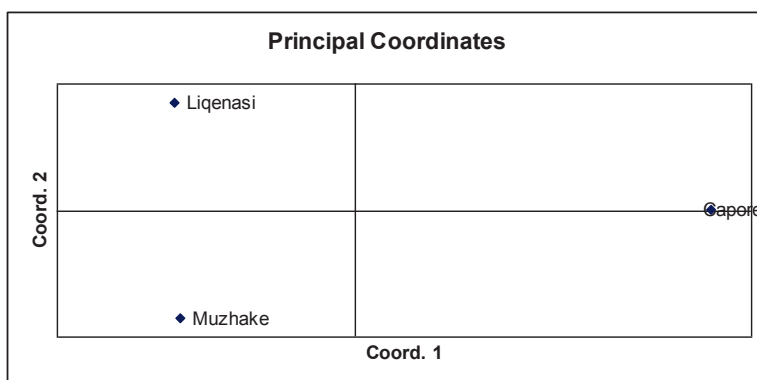
**Diversiteti i racave**

Analiza brenda racave (Tabela 2), tregon se numrin mesatar të aleleve më të lartë për lokus e ka raca Liqenasi (8.5). Liqenasi dhe Muzhake kanë numër efektiv alelesh pothuajse të njëjtë. Heterozigotia e pritur ka vlerën më të lartë në

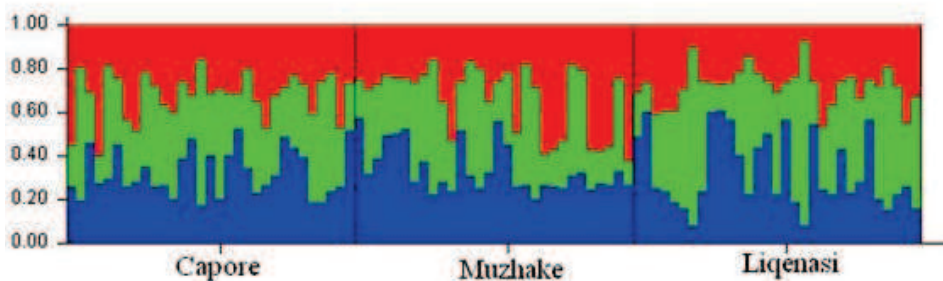
racën Muzhake prej 0.792. Të gjitha racat kanë një deficit heterozigotësh ( $F_{IS}$ ) që varion nga 0.054 (Liqenasi) deri në 0.133 (Muzhake). Vlerën më të lartë të pasurisë alelike e ka raca Liqenasi prej 0.8454.

Raca	MNA	Ne	H <sub>E</sub>	H <sub>O</sub>	F <sub>IS</sub>	AR
Capore	8	4.752	0.758	0.722	0.066	7.974
Muzhake	8.1	5.045	0.792	0.700	0.133	8.100
Liqenasi	8.5	5.049	0.785	0.755	0.054	8.454

**Tabela 2.** Numri mesatar i aleleve për lokus (MNA), Numri efektiv i aleleve për lokus (Ne), heterozigotia e pritur (HE) dhe e vëzhguar (HO), deficieti i heterozigotëve brenda racës (FIS)



**Figura 1:** Analiza e komponentëve kryesorë (PCA) bazuar në distancën gjenetike sipas Nei.



**Figura 2:** Paraqitje grafike e koeficientit të vlerësuar të pjesëmarrjes (Q) për secilin individ në secilin grupim për K= 3 për tre racat e dhive

### Marrëdhëniet midis racave

Distancat gjenetike standarte sipas Nei (1972) dhe sipas Rogers midis racave janë treguar në tabelën 3. Bazuar në distancën gjenetike sipas Nei (1972) është kryer analiza e komponentëve kryesorë (PCA) (Figura 1).

PCA tregon qartë se komponenti i parë veçon qartazi racën Capore dhe komponenti i dytë Muzhaken dhe Liqenasin.

	Capore	Muzhake	Liqenasi
Capore	0.000	0.158	0.153
Muzhake	0.125	0.000	0.128
Liqenasi	0.126	0.092	0.000

**Tabela 3:** Distanca gjenetike standarde sipas Nei (1972) (poshtë diagonales) dhe sipas Rogers (Sipër diagonales)

## Struktura e popullatës

Programi Structure u përdor për të treguar numrin e mundshëm të popullatave të origjinës (Pritchard et al., 2007). Analiza e kryer tregoi se numri i mundshëm i popullatave është  $K = 3$ . Kontributi i tre popullatave të supozuara origjinale është paraqitur në figurën 2. Rezultatët tregojnë qartë një përzjerje të racave.

Njohja e strukturës së popullatave për kafshët e fermës në lidhje me variabilitetin midis dhe brenda racave është esenciale për të stabilizuar prioritetët dhe strategjitë e konservimit (Caballero and Toro, 2002), ku objektivi afatgjatë është ruajtja e diversitetit gjenetik për gjeneracionet e ardhshme (Notter, 1999). Në kushtet kur racat autoktone pothuajse po zhduken, kur ekziston një nivel i lartë përzjerje sidomos me racat ekzotike, i duhet kushtuar një vëmendje e veçantë vlerësimit të diversitetit të tyre gjenetik dhe mardhënieve të mundshme me racat e tjera. Markerët mikrosatëlitë janë mjaft të përshtatshëm për studimin e diversitetit gjenetik, për shkak të shpërndarjes në gjenomë, nivelit të lartë të polimorfizmit dhe mënyrës së lehtë të analizimit (Cañón et al., 2001). Në studimin tonë, kompleti i mikrosatëlitëve u përdor për të karakterizuar diversitetin gjenetik brenda dhe midis racave. Numri mesatar i aleleve për lokus (8.2) dhe numri i aleleve për lokus (10.2) tregojnë një nivel të lartë të variabilitetit gjenetik në popullatat e studjuara. Numri efektiv i aleleve ishte më i madh se 5, dhe vlerat PIC ishin mbi 0.6 në markerët e studjuar, duke treguar një nivel të lartë të polimorfizmit për këto lokuse në racat e dhive të studjuara.

Niveli i diferencimit midis racave është i ulët. Kjo reflektohet në vlerën e vogël të  $F_{ST}$  (2%), si dhe në analizën e strukturës e cila tregon një nivel të lartë të përzjerjes së racave. Diferencimi gjenetik ( $F_{ST}$ ) midis racave lokale të dhive në këtë studim është 2%, që është mjaft i ulët krahasuar me vlerat prej 6.9% të treguar nga Cañón *et al.*, me vlerën 14% për dhitë aziatike (Barker et al., 2001), 17% për dhitë zviceriane (Saitbekova et al., 1999), 10.5% për dhitë kineze (Li et al., 2002), 5.4% për dhinë West African Dwarf (Mujibi, 2005), ose madje krahasuar me vlerën 5% të

hasur në racat indigjene të Afrikës Sub-sahariane (Muema et al., 2009). Mungesa e librave gjenealogjikë, madje deri në ditët e sotme, ndoshta e ka lehtësuar përzjerjen e racave duke kontribuar në një nivel të lartë të fluksit të gjeneve midis racave, duke reduktuar për pasojë, nivelin e diferencimit gjenetik. Rezultatët e fituara në këtë studim tregojnë se racat autoktone të dhive janë një rezervuar i diversitetit gjenetik që duhet mbrojtur. Këto rezultatë mund të merren në konsideratë për hartimin e strategjive të konservimit.

## BIBLIOGRAFIA

1. Barker, J.S.F.; Tan, S.G.; Moore, S.S., Mukherjee, T.K.; Matherson, J.L.; Selvaraj, O.S. 2001. Genetic variation within and relationship among populations of Asian goats (*Capra hircus*). *J. Anim. Breed. Genet.*, 118: 213-233.
2. Belkhir, K.; Borsa, P.; Chikhi, L.; Raufasté, N. and Bonhomme, F. 2001. Genetix, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations, Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UPR 9060, Université de Montpellier II, Montpellier (France). <http://www.univmontp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm>.
3. Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. and Davis, R.W. (1980): Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32, 314-331.
4. Caballero, A., and M. A. Toro. 2002. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conserv. Genet.* 3:289-299.
5. Cañón, J., P. Alexandrino, I. Bessa, C. Carleos, Y. Carretéro, S. Dunner, N. Ferran, D. Garcia, J. Jordana, D. Laloe, A. Pereira, A.
6. Cañón, 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.
7. Dobi, P.; Hoda, A.; Sallaku, E. and Kolaneci, V. 2006. Racat autoktone të bagëtime të imta., 1st ed.; Tirana, Albania. p 125.

8. Felsenstein, J. 2000. Phylip (Phylogeny Inference Package), Department of Genome Science, University of Washington, Seattle.
9. Goudet, J. 2001. Fstat, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html/>
10. Hoda, A., Bozgo, V. (2005): Profili fenotipik i dhisë së Hasit dhe distancat gjenetike midis saj dhe katër popullatave lokale të dhisë së vendit tonë. *Albanian Journal of Agricultural Sciences* 5, 178-181.
11. Li, M-H.; Zhao, S-H.; Bian C.; Wang, H-S.; Wei, H.; Liu B.; Yu, M.; Fan, B.; Chen, S-L.; Zhu, M-J.; Li, S.J.; Xiong, T-A. and Li K. 2002. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis. *Genet. Sel. Evol.*, 34: 729-44.
12. Li, S-L. and Valenti, A. 2004. Genetic diversity of Chinese indigenous goat breeds based on microsatellite markers. *J. Anim. Breed. Genet.*, 121: 350-55.
13. Marshall, T.C., Slatè, J., Kruuk, L.E.B. and Pemberton, J.M. (1998): Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 7, 639-655.
14. Muema, E.K.; Wakhungu, J.W.; Hanottè, O. and Jianlin H. 2009. Genetic diversity and relationship of indigenous goats of Subsaharan Africa using microsatellite DNA markers. *Livestock research for rural development.*, 21, (2)
15. Mujibi, N.F. 2005. Genetic characterization of West African Dwarf (WAD) goats using microsatellite markers. Msc thesis submitted to Department of Biochemistry and Biotechnology, Kenyatta University, Nairobi, Kenya.
16. Nei, M. (1973): Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70, 3321-3323.
17. Nei, M. 1972. Genetic distances between populations. *American Naturalist.*, 106: 283-92.
18. Nottèr, D. R. 1999. The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. *J. Anim. Sci.* 77:61-69.
19. Pritchard, J. K., X. Wen, and D. Falush. 2007. Documentation for Structure software: Version 2.2. <http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure/e22/readme.pdf> Accessed June 13, 2007.
20. 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.
21. 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
22. Sanchez, and K. Moazarmi-Goudarzi. 2001. Genetic diversity of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genet. Sel. Evol.* 33:311-332.
23. Wright, S. (1931): Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16, 97-159.
24. Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution.*, 19: 395-420.