

Genetikai diverzitás vizsgálatokhoz használt molekuláris markerek az *Equus caballus* faj esetén – Irodalmi áttekintés

Csizmár Nikolett – Kusza Szilvia

Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet, Debrecen
csizmar@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Dolgozatunkban alapvető célunk egy átfogó képet adni a ló (*Equus caballus*) genetikai diverzitás vizsgálati során jelenleg leggyakrabban alkalmazott módszerek, markerek köréről, és az általuk elérhető eredményekről. Áttekintést adunk a mitokondriális DNS és annak D-loop régiója, a mikroszatellitek valamint az egyponos nukleotid polimorfizmusok, azaz SNP markerek adatai eredményekéről. Számbavesszük az egyes módszerek előnyeit, illetve hátrányait.

Kulcsszavak: mitokondriális DNS, genetikai diverzitás, D-loop kontroll régió, mikroszatellit, SNP

SUMMARY

In this study our aim was to provide a comprehensive overview of the most commonly used methods in molecular genetic studies related to *Equus caballus*. Thus we are dealing with the D-loop region of mitochondrial DNA, with microsatellites and also with single nucleotide polymorphism as SNP. The advantages and drawbacks of each method were also explored.

Keywords: genetic diversity, mitochondrial DNA, D-loop control region, microsatellite, Single nucleotide polymorphism (SNP)

BEVEZETÉS

A ló (*Equus caballus*) teljes mitokondriális genom szekvenciája 1994 óta elérhető (Xu és Arnason 1994). Genomjának mérete 2,5–2,7 milliárd nukleotid, mely valamelyest nagyobb, mint a kutyáé (2,5 milliárd nukleotid), ugyanakkor kisebb, mint a humán genom (Lander et al. 2001, Lindblad et al. 2005). Mindez 32 kromoszómán helyezkedik el.

A lófajt világszerte több mint 58 millió egyeddel tartják számon (FAOSTAT 2010), ezen belül több mint 500 fajtát megkülönböztetve. Modernkori lovaink diverzifikálódása a domesztikációs folyamatokhoz vezethető vissza, mely 5000-6000 éve kezdődött az eurázsiai sztyeppe vidékén (Ludwig et al. 2009, Outram et al. 2009, Lippold et al. 2011). Továbbá a régészeti és genetikai bizonyítékok alapján valószínűsíthető, hogy Eurázsia területén sokszoros domesztikációs események történtek (Lira et al. 2010). Jelentős hányada a megfigyelt sokféleségnek a modernkori anyai vonalakban már a domesztikáció idején is megfigyelhető volt (Keyser-Tracqui et al. 2005). Ezen evolúciós folyamatoknak köszönhetően mai lófajtáink egymáshoz igen közel álló populációk, melyek egyedei egyedi vérvonalat és/vagy fenotípust hordoznak magukban (Petersen et al. 2013). Így a vizsgálatok során joggal várható, hogy az eltérő lófajták populációi közötti genetikai jellemzők különbözzenek, hiszen más és más a fajták standard leírása, igen sokszínű alapító állományuk, eltér alapításuk ideje és igen heterogén a tenyésztők által alkalmazott szelekciós nyomás a populációkon. A korán háziasított állatfajok közül kettő (*Canis lupus familiaris* és *Equus caballus*) jelentősen eltér a többi fajtól, amiatt, hogy alapvetően nem élelmiszer forrás céljából tenyésztették őket (Cieslak et al. 2010). Levine (2005) igen találóan így fogalmazott: „A lófegyverek kifejlesztése előtt a ló döntő szerepet játszott a

hadviselésben, a gőzgép feltalálását megelőzően ez a faj jelentette a szárazföldi szállítás legmegbízhatóbb és leggyorsabb formáját”. Házasított lovaink korábbi fő hasznosítási irányai, mint a mezőgazdaságban, szállításban, valamint hadviselésben betöltött szerepük mára új irányt vett, főként a sportban és a szabadidős tevékenységekben játszanak szerepet. Ugyanakkor elmondható, hogy használati módjuk – a mezőgazdaság gépiesítése – és a piaci igények változása révén létszámuk is csökkent. A legjelentősebb populáció csökkenések a könnyű és 'semilight' típusú lovakat érintették, mint pl. Cantabrian póni, ugyanakkor a hidegvérű fajták létszámukat a hústermelésnek köszönhetően fenntartották, esetenként növelték (Solis et al. 2005). A populáció visszaesése révén azonban a ritka, különleges genetikai anyag elvész, így csökken a genetikai diverzitás, továbbá, ha egy-egy fajta kihalt, a későbbi generációknak nincs lehetősége azok egyedülálló génállományának hasznosítására (Kerstin és Ottmar 2004).

A fajtán belüli genetikai variabilitás két szintjét különböztethetjük meg: különböző populációk genetikai diverzitása, valamint az egyedi genetikai variancia. Maga a genetikai diverzitás pedig az egyedek közötti rokonság függvénye is, melyeknek egy vagy több közös őse detektálható (Marletta et al. 2006). A genetikai diverzitás csökkenése eredményezheti a hosszú távú alkalmazkodóképesség és a túlélési valószínűség redukálódását. Az egyedi variancia visszaesése – többnyire a beltenyésztés okaként – változást eredményezhet az egyed fertilitásában és életképességében (Juras et al. 2003). A génáramlás mértéke ugyanakkor nem csak fajtán belül változik, de fajták között is, mely irányát és szintjét befolyásolja a fajta szabályozási rendszere/követelményei, és potenciálisan a földrajzi távolság is (Petersen et al. 2013). Az elmúlt években azonban a genetikai diverzitás megőrzésének kérdését nemzetközi szintre emelték és az egyik fő szempont a tudomá-

nyos kutatási tevékenységek ezen a területén, hogy megőrizték a helyi fajták biológiai sokféleségét (Georgescu és Costache 2012). Juras és Cothran (2005) szintén megfogalmazták, hogy génmegőrzés szempontjából kiemelten fontos a lópopulációk jelenlegi diverzitásának fenntartása. Minden génmegőrzési program alapvető célja megőrizni az evolúciós potenciált, mely szükségessé teszi a populációk evolúciós jelentősége alapján azok kategorizálását (Oankefull et al. 2000).

Genetikai markerek elemzésével értékes adatok kerülhetnek meghatározása a populáció genetikai státuszát tekintve, továbbá előnyös lehet, hogy nem csak a populációk közötti kapcsolatokat képes feltárni, hanem összehasonlító elemzés elvégzésére is adatokat szolgáltat a helyi fajták génmegőrzési programjának kidolgozásához (Thomson et al. 2010). MacHugh et al. (1998) már korábban definiálták, hogy egy populáció genetikai szerkezetének meghatározásához a genetikai távolságtérképek nagyszerűen alkalmazhatóak.

A többi fajtól eltérő módon a domesztikáció folyamata nem eredményezett kifejezett változást a lovak testméretében. A diagnosztikai anatómiai és biometriai kritériumok ilyenfajta hiánya révén, fauna elemzések során a kutatók szívesebben végeztek korábban archeozoológiai kutatásokat a fajt tekintve. Ezért a vizsgálatok során előszeretettel alkalmazzák a molekuláris vizsgálati módszerek nyújtotta lehetőségeket (Levine 2005). A modern lófajták esetében a mitokondriális DNS kontroll régióján belül lenyűgöző mértékű variabilitást, míg az Y-kromoszómán belül rendkívül alacsony nukleotid diverzitást mutattak (Vilá et al. 2001, Jansen et al. 2002, McGahern et al. 2006, Lei et al. 2009). Következésképpen elmondhatjuk, hogy az ivar okozhatja az eltérést a domesztikált ló esetében az alapítók tükrében. Wallner et al. (2004) azzal magyarázták ezt a jelenséget, hogy mindössze néhány mén, ugyanakkor igen sok nőivarú egyed vett részt a háziasítási folyamatban. Korábbi tanulmányokban előszeretettel alkalmaztak fehérje polimorfizmusokat, valamint vércsoport paramétereket a lófajták genetikai szerkezetének feltérképezésére, továbbá a filogenetikai kapcsolatok feltárására (Cothran és Kovač 1997, Nozawa et al. 1998), azonban az elmúlt években hihetetlen ütemben fejlődött a molekuláris markerek technológiája. Napjainkban a megfizethető áraknak köszönhetően már elérhető távolságba kerültek a genetikai diverzitás vizsgálatok során sikerrel alkalmazott mitokondriális DNS szakaszok, mikroszatellitok, valamint mint a legújabb technológia, az egyponos nukleotid polimorfizmusok, azaz SNP-k. Mivel a 2000-es éveket követően hasonló vizsgálatokban szinte kizárólag az említett markerek kerültek a középpontba, így jelen dolgozatban mi is ezen módszerekkel és az általuk elérhető eredményekkel foglalkoztunk.

LEGGYAKRABBAN HASZNÁLT MOLEKULÁRIS GENETIKAI MARKEREK A DIVERZITÁS VIZSGÁLATOK SORÁN

Mitokondriális DNS

Az *Equus caballus* mitokondriális DNS-e hozzávetőleg 16 660 bázispárt tartalmaz, mely egy 37 gént tartalmazó kódoló, és egy nem kódoló régióból áll, mely gyakran alkalmazott szakasza a D-loop régió. Ez a sza-

kaszk megközelítőleg 1192 bp hosszú (Wolstenholme 1992, Boore 1999, Bowling et al. 2000) és két hipervariábilis régiót: HVR1 – 15 469–15 834 bp és HVR2 – 16 351–16 660 bp, ezen túlmenően négy konzervált blokkot: CSB, és egy nyolc bázispáros variábilis ismétlődést tartalmaz (Ishida et al. 1994, Xu és Arnason 1994). A mitokondriális DNS esetében az egyszerű bázispár szubsztitúciók gyakorisága tízszer nagyobb, mint a nukleáris DNS-é (Brown et al. 1979). Az anyai öröklődés szigorú szabálya (Hutchison et al. 1974), valamint a rekombináció hiánya teszi lehetővé a szekvencia polimorfizmusok meghatározását és így a háziasított állataink körében való alkalmazhatóságát, melyek nukleáris génekkel nem kivitelezhetőek (Bowling et al. 2000). Továbbá használható a migráció nyomonkövetésére fajták esetében, valamint annak eloszlására, összehasonlítva a különböző populációk anyai vonalait (Kivisild et al. 2004, Matisoo-Smith és Robins 2009).

Az elmúlt években több mint 100 különböző lófajta mitokondriális DNS haplotípusait határozták meg különféle tanulmányokban, a domesztikációra fókuszálva, vagy az egyedi fajták eredetének meghatározásához (Bowling et al. 2000, Vila et al. 2001, Jansen et al. 2002, Kavar et al. 2002, Kavar és Dovč 2008, Gomez et al. 2012). Kapcsolódó tanulmányok azt mutatják, hogy a lovak mtDNS hálózat ábrája egy tipikus csillagszerű elágazás szerkezetet mutat, tartalmaz azonban filogenetikai négyzögeket is, amelyek paralell mutációkat jelölnek (Jansen et al. 2002, Kavar és Dovč 2008). A D-loop régió belüli mutációk azonosítására Marklund et al. (1995) az SSCP „egyszálú konformációs polimorfizmus” módszert alkalmazták. Ennek köszönhetően a mtDNS diverzitás vizsgálatok során az SSCP és DNS szekvencia analízis együttesen is sikeresen alkalmazható.

A mitokondriális DNS szekvencia polimorfizmusait számos tanulmány használta a genetikai kapcsolatok feltárására fajtákon belül (Hill et al. 2002, Luis et al. 2002), fajták között (Kim et al. 1999, Mirol et al. 2002), domesztikált és vadló populációk között (Oakfull és Ryder 1998), valamint domesztikációs kérdések megválaszolására (Lister et al. 1998, Vila et al. 2001). Mindezen tanulmányok a mitokondriális DNS D-loop régiójában, általában valamely hipervariábilis szakasz szekvenálásával foglalkoztak, melyek döntően 350–650 bázispár hosszú szakaszok voltak. Néhány kutató szerint a teljes mitokondriális DNS régió használata genetikai diverzitás vizsgálatok esetében megbízhatóbb eredményt ad, mint egyetlen hipervariábilis régió használata (Kang et al. 2011). Egy másik tanulmány (Vilá et al. 2001) így azt mutatta, hogy míg a rövidebb hipervariábilis régiók használatával nem volt elegendő a kapott filogenetikai fák statisztikai támogatottsága, addig a teljes mtDNS szekvenálása fajon belül és fajok között javítja a filogenetikai eredményeket (Cummings et al. 1995, Rohland et al. 2007, Achilli et al. 2008, Gilbert et al. 2008, Stiller et al. 2009, Morin et al. 2010). Jansen et al. (2002) tanulmányukban a hipervariábilis régió 247 bp szakaszát vizsgálták 652 egyeddel, majd 17 haplocsoportot definiáltak egy filogenetikai fán elkülönítve azokat. Royo et al. (2005) az Ibériai lovak származásával és anyai filogeográfiájával foglalkoztak mtDNS alapon. Hill et al. (2002) három egymástól geográfialilag távol eső régióból

(Európa, Távol-kelet, Közép-Kelet) származó ló populációk haplotípusai alapján öt különböző kládot határoztak meg, mely azonos volt Vilá et al. (2001) eredményeivel. 43 – összesen három fajtát érintő (ningqiang póni, guizhou és kazakh) – továbbá 81 génbanki szekvencia 600 bp-os D-loop régió szakaszának vizsgálata során Zang et al. (2012) 33 haplotípust határoztak meg és korábbi tanulmányokkal egyetemben (McGaren et al. 2006) hét darab fő genetikai vonalat definiáltak.

Alapvetően a mtDNS előnye a mikroszatellitokkal szemben, hogy a mitokondriális genom kizárólag anyai ágon öröklődik, haploid és nem rekombinálódik. Ennek köszönhetően az egy anyai vonalból származó egyedek egy mtDNS haplotípuson osztoznak. Hátránya a mtDNS elemzéseknek, hogy nem tudják felismerni a gén immigrációt a hímek esetében és a teljes genomias sokféleséget, hiszen a mtDNS úgy viselkedik, mint egy nukleáris DNS-en kívüli egyszerű haplotípus (Kerstin és Ottmar 2004).

Mikroszatellit markerek

A mikroszatellit markerek mindössze néhány, egyes szerzők szerint 11–60 bp, mások szerint 20–40 bp hosszú bázispárból álló ismétlődések, melyeket egyedi határoló szekvenciák fognak össze. Megtalálhatóak a prokarióta és az eukarióta szervezetek genomjában, a kódoló és nem kódoló régiókban egyaránt. Sokallékos rendszerek, nagyfokú polimorfizmussal jellemezhetők, ami az ismétlődő motívumok változó hosszából és bázisösszetételéből adódik (Tautz és Renz 1984, Tautz et al. 1986, Litt és Luty 1989).

A mikroszatellit lokuszok igen széleskörű információt szolgáltatnak a populációk történeti háttéréről, valamint evolúciós folyamatokban való részvételükről, ugyanis kimutatásuk egyszerű, pontos és gyors detektálást tesz lehetővé, magas szintű polimorfizmussal kombinálva, valamint széleskörűen megtalálhatók a genomban (Pérez-Gutiérrez et al. 2008). Ugyan a mtDNS bizonyítottan sikeresen alkalmazható genetikai távolságok feltérképezésére egymáshoz közel eső populációk körében, hasonló eredményeket mikroszatellitokkal is elértek Takezaki és Nei (1996). Ezek a markerek olyan előnyöket kínálnak, amelyek különösen alkalmasak génmegőrzési célú projektek megvalósításában (Petersen et al. 2013). Mivel igen nagyfokú polimorfizmussal rendelkeznek, különösen alkalmasak a biodiverzitás értékelésére kodomináns öröklésű markereknek, magas heterozigotitásuknak, a genomban való könnyű detektálhatóságának, valamint egyszerű és megbízható kimutathatóságuknak köszönhetően (Rukavina et al. 2015).

A mikroszatellit analízis ma már egy hagyományos technika lovak apai rokonsági vizsgálatainál valamint genotipizálásuknál (Luis et al. 2002, Dimsoski 2003, Langlois 2005). Említett tulajdonságaiból kifolyólag, ma már egyre több vizsgálat során alkalmaznak mikroszatelliteket, különböző Equus populációk feltérképezése és evolúciós kapcsolataik értékelése során (Vega-Pla és Rodríguez Gallardo, 1998, Tozaki et al. 2003, Aberle et al. 2004, Achmann et al. 2004, Glowatzki-Mullis et al. 2005, Iamartino et al. 2005, Solis et al. 2005, Szontagh et al. 2005, Vega-Pla et al. 2005, 2006; Zabeck et al. 2005, Lee és Cho 2006, Moodley et al. 2006). Az eddig nem megvalósult standardizált mikroszatellit panelek használata érdekében, hogy tisztázzák

a fajták közötti kapcsolatokat, három, jól reprezentált klasztert alkalmazott Aberle et al. (2004), két háts típusú-arabian és hannoveri, két primitív-exmoor és sorraria, valamint hat német hidegvérű fajtát. Bigi et al. (2007) mindössze 12 mikroszatellit markert alkalmazva szignifikáns értékek révén csoportosították a throughbred, anglo-arab, a haflingi és olasz hidegvérű valamint a bodaglino fajtákat. Luis et al. (2007) 17 fehérje és 12 mikroszatellit markert alapul véve nyolc csoportot határozott meg 33 fajtát vizsgálva, melyek közül négy jelentősen reprezentált volt. Kakoï et al. (2007) bizonyítékot talált a japán fajták mongol eredetére, 318 tizenegy populációból származó egyed 27 SSR markere alapján. Bjornstad et al. (2003) hasonló bizonyítékot talált 26 SSR markerrel a mongol, valamint norvég fajták esetében.

Számos előnyük ellenére azonban meg kell említenünk, hogy mivel mindössze néhány SSR (simple sequence repeats-egyszerű szekvencia ismétlődés) lokuszt használnak csupán több különböző fajta esetében – vizsgálat során – így szinte lehetetlen összehasonlító elemzéseket végezni fajtákon belül, abban az esetben is, ha korábban publikált adatok elérhetőek az adatbázisban. Checa et al. (1998) valamint Bjornstad et al. (2003) egymástól függetlenül jutottak ugyanezen megállapításra, miszerint akkor válhatnak a tanulmányok összehasonlíthatóvá, ha azonos mikroszatellit markereket alkalmaznak. Más fajok esetében – szarvasmarha, tyúk, juh, sertés – a FAO SSR marker ajánlásainak köszönhetően már standardizált eredményeket kaphatunk, így idősebb lehet egy-több mikroszatellit panel meghatározása lovak esetében, tekintve, hogy ezen markerek igen nagyszámú genetikai diverzitás vizsgálat alapjait képezik.

Egypontos nukleotid polimorfizmus (SNP)

Az SNP mindössze egyetlen bázis változása egy DNS-szekvenciát tekintve, egy adott pozícióban a két nukleotid bázis egyik alternatívája (Vignal et al. 2002). A szekvencia bármely szakaszán, a négy lehetséges nukleotid bázis közül bármelyik jelen lehet, ugyanis a gyakorlatban az SNP-k általában biallelikusak. Az egyik oka ennek, az alacsony frekvenciájú egyetlen nukleotid szubsztitúció eredete, mely várható értéke nukleotidként 1×10^{-9} és 5×10^{-9} között változik emlősök esetében (Li et al. 1981, Martínez-Arias et al. 2001). Az elmúlt évtizedben rohamosan bővült az érintett állatfajok listája SNP marker tekintetében, 2002-ben Vignal et al. még nem említik a ló fajt, mint gazdasági állatot az SNP markerek fejlesztésénél. 2009-ben a National Human Genome Research Institute (NHGRI) projektjének köszönhetően a páratlan ujjú patások teljes genom szekvenálása megtörtént, melyből adódóan elkészült az EquCab2.0 teljes genom analízise 2,43 milliárd nukleotid, 96%-a kromoszómához rendelve, valamint az előre jelzett genom mérete 2,67 milliárd nukleotidnak bizonyult. A szekvenált fajtánál ~750 000 SNP-t míg másik hét fajtánál ~400 000 SNP-t azonosítottak lehetővé téve a becslést az SNP-k gyakoriságára a lovak teljes genomjában (1/1500 bp), és hozzájárulva megfelelő markerek alkalmazásához a teljes genomot átfogó SNP panel használatával, mind házasított lovak, mind rokon fajok esetében (Wade et al. 2009). Ez a genetikai forrás versenyképes nagyállat modellé tette

a lovat a genetikai kutatásokhoz. McCue et al. (2012) összesen 18 fajtából származó 53 egyed 54 602 SNP-je szolgált a vizsgálat alapjául, azonban arra következtetésre jutottak, hogy bármely két fajta között vizsgált SNP-k megbízhatósága nagyobb mint egyetlen fajtán belül; továbbá, hogy hasonló tanulmányok sikerességét befolyásolhatja a feltérképezni kívánt populációk LD (linkage disequilibrium= kapcsolódási egyenlőtlenség) értéke, a populáció strukturáltsága és a lókusztulajdonságai egyaránt. Petersen et al. (2013) 1060 egyedet vizsgált összesen 38 populációból, mellyel átfogó képet adtak a nukleáris genetikai diverzitást illetően, mind a különböző fajtákon belül, mind azok között, figyelembe véve földrajzi elhelyezkedésüket egyaránt. Olyan lehetőség azonban ez a kutatók számára, mely fontos információval szolgál a szelekciót és a populáció történetét illetően, valamint megkönnyíti a kapcsolati térképek tanulmányozását, hisz nem csak az értékes tulajdonságokkal összefüggésben lévő génszakaszok elérhetőek, hanem a negatív tulajdonságok lókusztulajdonságai is (McCue et al. 2012). Ez az SNP genotípus-eszköz megkönnyíti sok genetikai marker használatát az *Equus* faj esetében, beleértve az egészséggel, teljesítménnyel kapcsolatos tulajdonságokat, segíti eredetvizsgálatát domesztikált fajtáinknak, támogatja a diverzitás vizsgálatokat fajtákon belül és az evolúciós kapcsolatok tisztázását rokon fajokkal. Talán egyetlen hátránya még a különböző méretű SNP chip-eknek, hogy ár-frekvenciájából adódóan nem minden esetben elérhetőek. Ugyanakkor összehasonlíthatóságuk, átfogó karakterizálásuk révén a technológia fejlődésével, a módszer elterjedésével – mint a korábbi markerek esetében is – árak valószínűsíthetően csökkenni fog.

KÖVETKEZTETÉSEK

Gazdasági állataink karakterizálása tradicionálisan azok típusának jellemzésével történt korábban. Mivel morfológiai felépítésük nagyban függ a szelekciós programoktól, így ennek következtében ma már markereket alkalmazunk a populációk jellemzése során. Ugyanakkor Ruane (1999) megállapította, hogy a genetikai távolság vizsgálatok relatív értéke adott faj tekintetében igen korlátozott, így más lehetőségeket, mint a morfológiai leírásokat is szükségszerű figyelembe venni. A bemutatott módszerek alkalmazhatóságának feltételei akár a fajták földrajzi elkülönülése okán, vagy egy-egy fajta kis egyedlétszáma révén akadályokba ütközhet, ugyanakkor a NCBI génbanki szekvenciák ma már bárki által elérhető adatok, mely révén egyre átfogóbb tanulmányokat prezentálhatunk. Összességében elmondható, hogy mint minden faj esetén, a ló populációk jellemzése során is bármely molekuláris genetikai markereket alkalmazzuk is, elengedhetetlen a további ismertetőjegyek figyelembe vétele, mint pl. fenotípusos megjelenés vagy a földrajzi elhelyezkedés. Az mtDNS nagyfokú diverzitása révén, valamint mivel a domesztikációban kis egyedlétszámú hímivar vett részt, a nukleáris genetikai diverzitás vizsgálatok kiterjedt alkalmazása segítheti a genomialis régiók azonosítását, továbbá a különböző fajták eredetének levezetését; mely a tenyésztők számára 'kézzel fogható' ismereteket biztosít az eltérő tenyésztési programok, génmegőrzési tervek kifejlesztéséhez, akár új fajták standard leírásához és az ősök meghatározásához. Jelen tanulmányok nem csupán fajta tiszta populációk egymáshoz viszonyított helyzetét, genetikai szerkezetét képes azonban definiálni, így a későbbiekben irányadó szerepük lehet majd a tenyésztés számára fontos keresztezett fajták genomjának felderítésére irányuló projektekben.

IRODALOM

- Aberle, K. S.–Hamann, H.–Drogemüller, C.–Distl, O. (2004): Genetic diversity in German draught horse breeds compared with a group of primitive, riding and wild horses by means of microsatellite DNA markers. *Animal Genetics*. 35. 4: 270–277.
- Achilli, A.–Olivieri, A.–Pellecchia, M.–Uboldi, C.–Colli, L.–Al-Zahery, N.–Accetturo, M.–Pala, M.–Kashani, B. H.–Perego, U. A. (2008): Mitochondrial genomes of extinct aurochs survive in domestic cattle. *Current Biology*. 18: R157–R158.
- Achmann, R.–Curik, I.–Dove, P.–Kavar, T.–Bodo, I.–Habe, F.–Martí, E.–Solkner, J.–Brem, G. (2004): Microsatellite diversity, population subdivision and gene flow in the Lipizzan Horse. *Animal Genetics*. 35. 4: 285–292.
- Bigi, D.–Zambonelli, P.–Perrotta, G.–Blasi, M. (2007): The Ventasso Horse: genetic characterization by microsatellites markers. *Italian Journal of Animal Science*. 6: 50–52.
- Bjørnstad, G.–Nilsen, Ø.–Røed, K. H. (2003): Genetic relationship between Mongolian and Norwegian horses? *Anim. Genet.* 34: 55–58.
- Boore, J. L. (1999): Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research*. 27: 1767–1780.
- Bowling, A.T.–Del Valle, A.–Bowling, M. (2000): A pedigree-based study of mitochondrial D-loop DNA sequence variation among Arabian horses. *Animal Genetics*. 31. 1: 1–7.
- Brown, W. M.–George, M.–Wilson, A. C. (1979): Rapid Evolution of Animal Mitochondrial-DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979. 76. 4: 1967–1971.
- Checa, M. L.–Dunner, S.–Martin, J. P.–Vega, J. L.–Cañon, J. (1998): A note on the characterization of a small Celtic pony breed. *Journal of Animal Breeding Genetics*. 115: 157–163.
- Cieslak, M.–Cieslak, M.–Pruvost, M.–Benecke, N.–Hofreiter, M.–Morales, A.–Reissmann, M.–Ludwig, A. (2010): Origin and history of mitochondrial DNA lineages in domestic horses. *PLoS One*. 5: e15311.
- Cothran, E. G.–Kovač, M. (1997): Genetic analysis of the Croatian Trakehner and Posavina horse breeds. *Z ivotna ' V y ' roba*. 42: 207–212.
- Cummings, M. P.–Otto, S. P.–Wakeley, J. (1995): Sampling Properties of DNA Sequence Data in Phylogenetic Analysis. *Molecular Biology and Evolution*. 12: 814–822.
- Dimoski, P. (2003): Development of a 17-plex microsatellite polymerase chain reaction kit for genotyping horses. *Croatian Medical Journal*. 44. 3: 332–335.
- FAOSTAT (2010): <http://www.faostat.fao.org>. Accessed 2012. June 5.
- Georgescu, S. E.–Costache, M. (2012): Genetic characterization of Romanian local breeds using microsatellite markers. [In: Caliskan, M. (ed.) *Analysis of Genetic Variation in Animals*. Rijeka. Croatia. InTech. 27–42.

- Gilbert, M. T. P.–Drautz, D. I.–Lesk, A. M.–Ho, S. Y. W.–Qi, J.–Ratan, A.–Hsu, C. H.–Sher, A.–Dalen, L.–Gotherstrom, A. (2008): Intraspecific phylogenetic analysis of Siberian woolly mammoths using complete mitochondrial genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105. 24: 8327–8332.
- Glowatzki-Mullis, M. L.–Muntwyler, J.–Pflister, W.–Marti, E.–Rieder, S.–Poncet, P. A.–Gaillard, C. (2005): Genetic diversity among horse populations with a special focus on the Franches-Montagnes breed. *Animal Genetics*. 37. 1: 33–39.
- Gómez, M. D.–Azor, P. J.–Alonso, M. E.–Jordana, J.–Valera, M. (2012): Morphological and genetic characterization of Spanish heavy horse breeds: Implications for their conservation. *Livestock Science*. 144: 57–66.
- Hill, E. W.–Bradley, D. G.–Al-Barody, M.–Ertugrul, O.–Splan, R. K.–Zakharov, I.–Cunningham, E. P. (2002): History and integrity of thoroughbred dam lines revealed in equine mtDNA variation. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*. 33: 287–294.
- Hutchison, C. A. third–Newbold, J. E.–Potter, S. S.–Edgell, M. H. (1974): Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. *Nature*. 251. 5475: 536–538.
- Iamartino, D.–Fidotti, M.–Miraglia, N.–Pilla, F. (2005): Genetic characterization of Petro young horses by microsatellite markers. [In: Bodo, I. et al. (eds.) *Conservation Genetics of Endangered Horse Breeds*.] Wageningen Academic Publishers. Wageningen. The Netherlands. 163–166.
- Ishida, N.–Hasegawa, T.–Takeda, K.–Sakagami, M.–Onishi, A.–Inumaru, S. (1994): Polymorphic sequence in the D-loop region of the equine mitochondrial DNA. *Animal Genetics*. 25. 4: 215–221.
- Jansen, T.–Forster, P.–Marsha, A. L.–Hardy, O.–Hurles, M.–Renfrew, C.–Weber, J.–Olek, K. (2002): Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 99: 10905–10910.
- Juras, R.–Cothran, E. G.–Klimas, R. (2003): Genetic analysis of three Lithuanian native horse breeds. *Acta Agriculturae Scandinavica. Section A*. 53: 180–185.
- Juras, R.–Cothran, E. G. (2005): Genetic diversity of the Zemaitukai Horse. [In: Bodo, I. et al. (eds.) *Conservation Genetics of Endangered Horse Breeds*.] Wageningen Academic Publishers. Wageningen. The Netherlands. 177–184.
- Kakoi, H.–Tozaki, T.–Gawahara, H. (2007): Molecular analysis using mitochondrial DNA and microsatellites to infer the formation process of Japanese native horse populations. *Biochemical Genetics*. 45. 3–4: 375–395.
- Kang, J.–Li, X.–Zhou, R.–Li, L.–Zheng, G.–Zhao, H. (2011): Genetic diversity and differentiation of four goat lineages based on analysis of complete mtDNA d-loop. *Front Agric China*. 5. 1: 87–93.
- Kavar, T.–Brem, G.–Habe, F.–Solkner, J.–Dovč, P. (2002): History of Lipizzan horse maternal lines as revealed by mtDNA analysis. *Genetics Selection Evolution*. 34. 5: 635–648.
- Kavar, T.–Dovč, P. (2008): Domestication of the horse: genetic relationships between domestic and wild horses. *Livestock Science*. 116. 1: 1–14.
- Kerstin, S. A.–Ottmar, D. (2004): Domestication of the horse: results based on microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Institute for Animal Breeding and Genetics, University of Veterinary Medicine Hannover. Archiv für Tierzucht*. 47. 6: 517–535.
- Keyser-Tracqui, C.–Blandin-Frappin, P.–Francfort, H. P.–Ricaud, F. X.–Lepetz, S. (2005): Mitochondrial DNA analysis of horses recovered from a frozen tomb (Berel site, Kazakhstan, 3rd Century BC). *Animal Genetics*. 36. 3: 203–209.
- Kim, K. I.–Yang, Y. H.–Lee, S. S.–Park, C.–Ma, R.–Bouzat, J. L.–Lewin, H. A. (1999): Phylogenetic relationship of Cheju horses to other horse breeds as determined by mtDNA D-loop sequence polymorphism. *Animal Genetics*. 30. 2: 102–108.
- Kivisild, T.–Reidla, M.–Metspalu, E.–Rosa, A.–Brehm, A.–Pennarun, E.–Parik, J.–Geberhiwot, T.–Usanga, E.–Villemers, R. (2004): Ethiopian mitochondrial DNA heritage: tracking gene flow across and around the gate of tears. *Animal Journal of Human Genetics*. 75. 5: 752–770.
- Lander, E. S.–Linton, L. M.–Birren, B.–Nusbaum, C.–Zody, M. C.–Baldwin, J.–Devon, K.–Dewar, K.–Doyle, M.–FitzHugh, W.–Funke, R.–Gage, D.–Harris, K.–Heaford, A.–Howland, J.–Kann, L.–Lehoczy, J.–LeVine, R.–McEwan, P.–McKernan, K.–Meldrim, J.–Mesirov, J. P.–Miranda, C.–Morris, W.–Naylor, J.–Raymond, C.–Rosetti, M.–Santos, R.–Sheridan, A.–Sougnez, C.–Stange-Thomann, N.–Stojanovic, N.–Subramanian, A.–Wyman, D.–Rogers, J.–Sulston, J.–Ainscough, R.–Beck, S.–Bentley, D.–Burton, J.–Clee, C.–Carter, N.–Coulson, A.–Deadman, R.–Deloukas, P.–Dunham, A.–Dunham, I.–Durbin, R.–French, L.–Grafham, D.–Gregory, S.–Hubbard, T.–Humphray, S.–Hunt, A.–Jones, M.–Lloyd, C.–McMurray, A.–Matthews, L.–Mercer, S.–Milne, S.–Mullikin, J. C.–Mungall, A.–Plumb, R.–Ross, M.–Shownkeen, R.–Sims, S.–Waterston, R. H.–Wilson, R. K.–Hillier, L. W.–McPherson, J. D.–Marra, M. A.–Mardis, E. R.–Fulton, L. A.–Chinwalla, A. T.–Pepin, K. H.–Gish, W. R.–Chissole, S. L.–Wendl, M. C.–Delehaanty, K. D.–Miner, T. L.–Delehaanty, A.–Kramer, J. B.–Cook, L. L.–Fulton, R. S.–Johnson, D. L.–Minx, P. J.–Clifton, S. W.–Hawkins, T.–Branscomb, E.–Predki, P.–Richardson, P.–Wenning, S.–Slezak, T.–Doggett, N.–Cheng, J. F.–Olsen, A.–Lucas, S.–Elkin, C.–Uberbacher, E.–Frazier, M.–Gibbs, R. A.–Muzny, D. M.–Scherer, S. E.–Bouck, J. B.–Sodergren, E. J.–Worley, K. C.–Rives, C. M.–Gorrell, J. H.–Metzker, M. L.–Naylor, S. L.–Kucherlapati, R. S.–Nelson, D. L.–Weinstock, G. M.–Sakaki, Y.–Fujiyama, A.–Hattori, M.–Yada, T.–Toyoda, A.–Itoh, T.–Kawagoe, C.–Watanabe, H.–Totoki, Y.–Taylor, T.–Weissenbach, J.–Heilig, R.–Saurin, W.–Artiguenave, F.–Brottier, P.–Bruls, T.–Pelletier, E.–Robert, C.–Wincker, P.–Rosenthal, A.–Platzer, M.–Nyakatura, G.–Taudien, S.–Rump, A.–Yang, H. M.–Yu, J.–Wang, J.–Huang, G. Y.–Gu, J.–Hood, L.–Rowen, L.–Madan, A.–Qin, S. Z.–Davis, R. W.–Federspiel, N. A.–Abola, A. P.–Proctor, M. J.–Myers, R. M.–Schmutz, J.–Dickson, M.–Grimwood, J.–Cox, D. R.–Olson, M. V.–Kaul, R.–Shimizu, N.–Kawasaki, K.–Minoshima, S.–Evans, G. A.–Athanasios, M.–Schultz, R.–Roe, B. A.–Chen, F.–Pan, H. Q.–Ramser, J.–Lehrach, H.–Reinhardt, R.–McCombie, W. R.–de la Bastide, M.–Dedhia, N.–Blocker, H.–Hornischer, K.–Nordsiek, G.–Agarwala, R.–Aravind, L.–Bailey, J. A.–Bateman, A.–Batzoglou, S.–Birney, E.–Bork, P.–Brown, D. G.–Burge, C. B.–Cerutti, L.–Chen, H. C.–Church, D.–Clamp, M.–Copley, R. R.–Doerks, T.–Eddy, S. R.–Eichler, E. E.–Furey, T. S.–Galagan, J.–Gilbert, J. G. R.–Harmon, C.–Hayashizaki, Y.–Haussler, D.–Hermjakob, H.–Hokamp, K.–Jang, W. H.–Johnson, L. S.–Jones, T. A.–Kasif, S.–Kasprzyk, A.–Kennedy, S.–Kent, W. J.–Kitts, P.–Koonin, E. V.–Korf, I.–Kulp, D.–Lancet, D.–Lowe, T. M.–McLysaght, A.–Mikkelsen, T.–Moran, J. V.–Mulder, N.–Pollara, V. J.–Ponting, C. P.–Schuler, G.–Schultz, J. R.–Slater, G.–Smit, A. F. A.–Stupka, E.–Szustakowki, J.–Thierry-Mieg, D.–Thierry-Mieg, J.–Wagner, L.–Wallis, J.–Wheeler, R.–Williams, A.–Wolf, Y. I.–Wolfe, K. H.–Yang, S. P.–Yeh, R. F.–Collins, F.–Guyer, M. S.–Peterson, J.–Felsenfeld, A.–Wetterstrand, K. A.–Patrinos, A.–Morgan, M. J. (2001): Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 409: 860–921.

- Langlois, B. (2005): A review on the methods of parentage and inbreeding analysis with molecular markers. [In: Bodo, I. et al. (eds.) Conservation Genetics of Endangered Horse Breeds.] Wageningen Academic Publishers. Wageningen. The Netherlands. 35–54.
- Lee, S.–Cho, G. (2006): Parentage testing of thoroughbred horse in Korea using microsatellite DNA typing. *Journal of Veterinary Science*. 7. 1: 63–67.
- Lei, C. Z.–Su, R.–Bower, M. A.–Edwards, C. J.–Wang, X. B. (2009): Multiple maternal origins of native modern and ancient horse populations in China. *Animal Genetics*. 40. 6: 933–944.
- Levine, M. A. (2005): Domestication and early history of the horse. [In: Mills, D. S.–McDonnell, S. M. (eds.) The Domestication of horse: the origins, development and management of its behaviour.] Cambridge. Cambridge University Press. 5–22.
- Li, W. H.–Gojobori, T.–Nei, M. (1981): Pseudogenes as a paradigm of neutral evolution. *Nature*. 292: 237–239.
- Lindblad-Toh, K.–Wade, C. M.–Mikkelsen, T. S.–Karlsson, E. K.–Jaffe, D. B.–Kamal, M.–Clamp, M.–Chang, J. L.–Kulbokas, E. J. third–Zody, M. C.–Mauceli, E.–Xie, X.–Breen, M.–Wayne, R. K.–Ostrander, E. A.–Ponting, C. P.–Galibert, F.–Smith, D. R.–DeJong, P. J.–Kirkness, E.–Alvarez, P.–Biagi, T.–Brockman, W.–Butler, J.–Chin, C. W.–Cook, A.–Cuff, J.–Daly, M. J.–DeCaprio, D.–Gnerre, S.–Grabherr, M.–Kellis, M.–Kleber, M.–Bardeleben, C.–Goodstadt, L.–Heger, A.–Hitte, C.–Kim, L.–Koepfli, K. P.–Parker, H. G.–Pollinger, J. P.–Searle, S. M.–Sutter, N. B.–Thomas, R.–Webber, C.–Baldwin, J.–Abebe, A.–Abouelleil, A.–Aftuck, L.–Ait-Zahra, M.–Aldredge, T.–Allen, N.–An, P.–Anderson, S.–Antoine, C.–Arachchi, H.–Aslam, A.–Ayotte, L.–Bachantsang, P.–Barry, A.–Bayul, T.–Benamara, M.–Berlin, A.–Bessette, D.–Blitshsteyn, B.–Bloom, T.–Blye, J.–Boguslavskiy, L.–Bonnet, C.–Boukhgalter, B.–Brown, A.–Cahill, P.–Calixte, N.–Camarata, J.–Cheshatsang, Y.–Chu, J.–Citroen, M.–Collymore, A.–Cooke, P.–Dawoe, T.–Daza, R.–Decktor, K.–DeGray, S.–Dhargay, N.–Dooley, K.–Dooley, K.–Dorje, P.–Dorjee, K.–Dorris, L.–Duffey, N.–Dupes, A.–Egbiremolen, O.–Elong, R.–Falk, J.–Farina, A.–Faro, S.–Ferguson, D.–Ferreira, P.–Fisher, S.–FitzGerald, M.–Foley, K.–Foley, C.–Franke, A.–Friedrich, D.–Gage, D.–Garber, M.–Gearin, G.–Giannoukos, G.–Goode, T.–Goyette, A.–Graham, J.–Grandbois, E.–Gyaltsen, K.–Hafez, N.–Hagopian, D.–Hagos, B.–Hall, J.–Healy, C.–Hegarty, R.–Honan, T.–Horn, A.–Houde, N.–Hughes, L.–Hunnicut, L.–Husby, M.–Jester, B.–Jones, C.–Kamat, A.–Kanga, B.–Kells, C.–Khazanovich, D.–Kieu, A. C.–Kisner, P.–Kumar, M.–Lance, K.–Landers, T.–Lara, M.–Lee, W.–Leger, J. P.–Lennon, N.–Leuper, L.–LeVine, S.–Liu, J.–Liu, X.–Lokyitsang, Y.–Lokyitsang, T.–Lui, A.–Macdonald, J.–Major, J.–Marabella, R.–Maru, K.–Matthews, C.–McDonough, S.–Mehta, T.–Meldrim, J.–Melnikov, A.–Meneus, L.–Mihalev, A.–Mihova, T.–Miller, K.–Mittelman, R.–Mlenga, V.–Mulrain, L.–Munson, G.–Navidi, A.–Naylor, J.–Nguyen, T.–Nguyen, N.–Nguyen, C.–Nguyen, T.–Nicol, R.–Norbu, N.–Norbu, C.–Novod, N.–Nyima, T.–Olandt, P.–O'Neill, B.–O'Neill, K.–Osman, S.–Oyono, L.–Patti, C.–Perrin, D.–Phunkhang, P.–Pierre, F.–Priest, M.–Rachupka, A.–Raghuraman, S.–Rameau, R.–Ray, V.–Raymond, C.–Rege, F.–Rise, C.–Rogers, J.–Rogov, P.–Sahalie, J.–Settipalli, S.–Sharpe, T.–Shea, T.–Sheehan, M.–Sherpa, N.–Shi, J.–Shih, D.–Sloan, J.–Smith, C.–Sparrow, T.–Stalker, J.–Stange-Thomann, N.–Stavropoulos, S.–Stone, C.–Stone, S.–Sykes, S.–Tchuinga, P.–Tenzing, P.–Tefaye, S.–Thoulutsang, D.–Thoulutsang, Y.–Topham, K.–Topping, I.–Tsamla, T.–Vassiliev, H.–Venkataraman, V.–Vo, A.–Wangchuk, T.–Wangdi, T.–Weiland, M.–Wilkinson, J.–Wilson, A.–Yadav, S.–Yang, S.–Yang, X.–Young, G.–Yu, Q.–Zainoun, J.–Zembek, L.–Zimmer, A.–Lander, E. S. (2005): Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*. 438. 7069: 803–819.
- Lippold, S.–Matzke, N. J.–Reissmann, M.–Hofreiter, M. (2011): Whole mitochondrial genome sequencing of domestic horses reveals incorporation of extensive wild horse diversity during domestication. *BMC Evolutionary Biology*. 11: 328.
- Lira, J.–Linderholm, A.–Olaría, C.–Brandstrom-Durling, M.–Gilbert, M. T. (2010): Ancient DNA reveals traces of Iberian Neolithic and Bronze Age lineages in modern Iberian horses. *Molecular Ecology*. 19. 1: 64–78.
- Lister, A. M.–Kadwell, M.–Kaagan, L. M.–Jordan, W. C.–Richards, M. B.–Stanley, H. F. (1998): Ancient and modern DNA in study of horse domestication. *Ancient Biomolecules*. 2: 267–280.
- Litt, M.–Luty, J. A. (1989): A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *The American Journal of Human Genetics*. 44. 3: 397–401.
- Ludwig, A.–Pruvost, M.–Reissmann, M.–Benecke, N.–Brockmann, G. A. (2009): Coat color variation at the beginning of horse domestication. *Science*. 324. 5926: 485.
- Luis, C.–Bastos-Silveira, C.–Cothran, E. G.–Oom, M. M. (2002): Variation in the control region sequence between the two maternal lines of the Sorraia horse breed. *Genetics and Molecular Biology*. 25: 309–311.
- Luis, C.–Juras, R.–Oom, M. M.–Cothran, E. G. (2007): Genetic diversity and relationships of Portuguese and other horse breeds based on protein and microsatellite loci variation. *Animal Genetics*. 38. 1: 20–27.
- Marklund, S.–Chaudhary, R.–Marklund, L.–Sandberg, K.–Anderson, L. (1995): Extensive mtDNA diversity in horses revealed by PCR-SSCP analysis. *Animal Genetics*. 26. 3: 193–196.
- Marletta, D.–Tupac-Yupanqui, I.–Bordonaro, S.–García, D.–Guastella, A. M.–Criscione, A.–Canon, J.–Dunner, S. (2006): Analysis of genetic diversity and the determination of relationships among western Mediterranean horse breeds using microsatellite markers. *Journal Animal Breeding Genetics*. 123. 5: 315–325.
- Martinez-Arias, R.–Calafell, F.–Mateu, E.–Comas, D.–Andres, A.–Bertranpetit, J. (2001): Sequence variability of a human pseudogene. *Genome Res*. 11. 6: 1071–1085.
- Matisoo-Smith, E.–Robins, J. (2009): Mitochondrial DNA evidence for the spread of Pacific rats through Oceania. *Biol Invasions*. 11. 7: 1521–1527.
- MacHugh, D. E.–Loftus, R. T.–Cunningham, P.–Bradley, D. G. (1998): Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. *Animal Genetics*. 29. 5: 333–340.
- McCue, M. E.–Bannasch, D. L.–Petersen, J. L.–Gurr, J.–Bailey, E.–Binns, M. M.–Distl, O.–Guérin, G.–Hasegawa, T.–Hill, E. W.–Leeb, T.–Lindgren, G.–Penedo, M. C. T.–Røed, K. H.–Ryder, O. A.–Swinburne, J. E.–Tozaki, T.–Valberg, S. J.–Vaudin, M.–Lindblad-Toh, K.–Wade, C. M.–Mickelson, J. R. (2012): A High Density SNP Array for the Domestic Horse and Extant Perissodactyla: Utility for Association Mapping, Genetic Diversity, and Phylogeny Studies. *PLoS Genet* 8. 1: e1002451.
- McGahern, A.–Bower, M. A.–Edwards, C. J.–Brophy, P. O.–Sulimova, G.–Zakharov, I.–Vizuete-Forster, M.–Levine, M.–Li, S.–MacHugh, D. E.–Hill, E. W. (2006): Evidence for biogeographic patterning of mitochondrial DNA sequences in Eastern horse populations. *Animal Genetics*. 37. 5: 494–497.

- Mirol, P. M.–Peral Garcia, P.–Vega-Pla, J. L.–Dulout, F. N. (2002): Phylogenetic relationship of Argentinean Creole horses and other South American and Spanish breeds inferred from mitochondrial DNA sequences. *Animal Genetics*. 33. 5: 356–363.
- Moodley, Y.–Baumgarten, I.–Harley, E. H. (2006): Horse microsatellites and their amenability to comparative equid genetics. *Animal Genetics*. 37. 3: 258–261.
- Morin, P. A.–Archer, F. I.–Foote, A. D.–Vilstrup, J.–Allen, E. E.–Wade, P.–Durban, J.–Parsons, K.–Pitman, R.–Li, L. (2010): Complete mitochondrial genome phylogeographic analysis of killer whales (*Orcinus orca*) indicates multiple species. *Genome Research*. 20. 7: 908–916.
- Nozawa, K.–Shotake, T.–Ito, S.–Kawamoto, Y. (1998): Phylogenetic relationships among Japanese native and alien horses estimated by protein polymorphisms. *Journal of Equine Veterinary Science*. 9: 53–69.
- Oakenfull, E. A.–Ryder, O. A. (1998) Mitochondrial control region and 12S rRNR variation in Przewalski horse (*Equus przewalskij*). *Animal Genetics*. 29: 456–459.
- Oakenfull, E. A.–Han, N. L.–Ryder, O. A. (2000): A survey of equid mitochondrial DNA: Implications for the evolution, genetic diversity and conservation of *Equus*. *Conservation Genetics*. 1. 4: 341–355.
- Outram, A. K.–Stear, N. A.–Bendrey, R.–Olsen, S.–Kasparov, A. (2009): The earliest horse harnessing and milking. *Science*. 323. 5919: 1332–1335.
- Pérez-Gutiérrez, L. M.–De la Peña, A.–Arana, P. (2008): Genetic analysis of the Hispano-Breton heavy horse. *Animal Genetics*. 39. 5: 506–514.
- Petersen, J. L.–Mickelson, J. R.–Cothran, E. G.–Andersson, L. S.–Axelsson, J.–Bailey, E.–Bannasch, D.–Binns, M. M.–Borges, A. S.–Brama, P.–da Câmara Machado, A.–Distl, O.–Felicetti, M.–Fox-Clipsham, L.–Graves, K. T.–Guérin, G.–Haase, B.–Hasegawa, T.–Hemmann, K.–Hill, E. W.–Leeb, T.–Lindgren, G.–Lohi, H.–Lopes, M. S.–McGivney, B. A.–Mikko, S.–Orr, N.–Penedo, M. C.–Piercy, R. J.–Raekallio, M.–Rieder, S.–Røed, K. H.–Silvestrelli, M.–Swinburne, J.–Tozaki, T.–Vaudin, M.–Wade, C.–McCue, M. E. (2013): Genetic diversity in the modern horse illustrated from genome-wide SNP data. *PLoS One*. 8: e54997.
- Rohland, N.–Malaspinas, A. S.–Pollack, J. L.–Slatkin, M.–Matheus, P.–Hofreiter, M. (2007): Proboscidean mitogenomics: Chronology and mode of elephant evolution using mastodon as outgroup. *Plos Biology*. 5. 8: 1663–1671.
- Royo, L. J.–A'lvarez, I.–Beja-Pereira, A.–Molina, A.–Fernández, I.–Jordana, J.–Gomez, E.–Gutiérrez, J. P.–Goyache, F. (2005): The origins of Iberian horses assessed via mitochondrial DNA. *Journal of Heredity*. 96. 6: 663.
- Ruane, J. (1999): Selecting breeds for conservation. [In: Oldenbroek, K. (ed.) *Genebanks and the Management of Farm Animal Genetic Resources*. Idodl Press. The Netherlands. 59–73.
- Rukavina, D.–Hasanbašić, D.–Pojskić, N.–Ramić, J.–Zahirović, A.–Ajanović, A.–Beganović, K.–Durmić-Pašić, A. (2015) Analysis of genetic diversity among certain horse breeds from Bosnia and Herzegovina. *Veterinaria*. 64. 1: 25–29.
- Solis, A.–Jugo, B. M.–Me' Riaux, J. C.–Iriondo, M.–Mazo, N. L. I.–Aguirre, A. I.–Vicario, A.–Estomba, A. (2005): Genetic Diversity Within and Among Four South European Native Horse Breeds Based on Microsatellite DNA Analysis: Implications for Conservation. *Journal of Heredity*. 96. 6: 670–678.
- Stiller, M.–Knapp, M.–Stenzel, U.–Hofreiter, M.–Meyer, M. (2009): Direct multiplex sequencing (DMPS)-a novel method for targeted high-throughput sequencing of ancient and highly degraded DNA. *Genome Research*. 19: 1843–1848.
- Szontagh, A.–Ban, B.–Bodo, I.–Cothran, E. G.–Hecker, W.–Jozsa, Cs.–Major, A. (2005): Genetic diversity of the Akhal-Teke horse breed in Turkmenistan based on microsatellite analysis. [In: Bodo, I. et al. (eds.) *Conservation Genetics of Endangered Horse Breeds*.] Wageningen Academic Publishers. Wageningen. The Netherlands. 123–128.
- Takezaki, N.–Nei, M. (1996): Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*. 144. 1: 389–399.
- Tautz, D.–Renz, M. (1984): Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acid Research*. 12. 10: 4127–4138.
- Tautz, D.–Trick, M.–Dover, G. A. (1986): Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. *Nature*. 322. 6080: 652–656.
- Thomson, R. C.–Wang, I. J.–Johnson, J. R. (2010): Genome-enabled development of DNA markers for ecology, evolution and conservation. *Molecular Ecology*. 19: 2184–2195.
- Tozaki, T.–Takezaki, N.–Hasegawa, T.–Ishida, N.–Kurosawa, M.–Tomita, M.–Saitou, N.–Mukoyama, H. (2003): Microsatellite variation in Japanese and Asian horses and their phylogenetic relationship using a European horse outgroup. *Journal of Heredity*. 94. 5: 374–380.
- Vega-Pla, J. L.–Calderon, J.–Rodriguez-Gallardo, P. P.–Alcaide, B.–Sereno, F. T. P. S.–Costa, M. R.–Perez-Pineda, E.–Martinez, A. M.–Delgado, J. V.–Rico, C. (2005): The „missing link” in the Iberoamerican horse breeds origin? [In: Bodo, I. et al. (eds.) *Conservation Genetics of Endangered Horse Breeds*.] Wageningen Academic Publishers. Wageningen. The Netherlands. 167–76.
- Vega-Pla, J. L.–Calderon, J.–Rodriguez-Gallardo, P. P.–Martinez, A. M.–Rico, C. (2006) Saving feral horse populations: does it really matter? A case study of wild horses from Doñana National Park in southern Spain. *Animal Genetics*. 37. 6: 571–578.
- Vega-Pla, J. L.–Rodriguez Gallardo, P. P. (1998): Investigacion biologica de la paternidad en caballos con secuencias microsatelites de ADN. *Medicina Militar*. 54: 143–147.
- Vilá, C.–Leonard, J. A.–Götherström, A.–Marklund, S.–Sandberg, K.–Lidén, K.–Wayne, R. K.–Ellegren, H. (2001): Widespread origins of domestic horse lineages. *Science*. 291. 5503: 474–477.
- Vignal, A.–Milan, D.–SanCristobal, M. (2002): A review of SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*. 34. 3: 275–305.
- Wade, C. M.–Giulotto, E.–Sigurdsson, S.–Zoli, M.–Gnerre, S. (2009): Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. *Science*. 326. 5954: 865–867.
- Wallner, B.–Piumi, F.–Brem, G.–Muller, M.–Achmann, R. (2004): Isolation of Y chromosome-specific microsatellites in the horse and cross-species amplification in the genus *Equus*. *Journal of Heredity*. 95: 158–164.
- Wolstenholme, D. R. (1992): Genetic novelties in mitochondrial genomes of multicellular animals. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2. 6: 918–925.
- Xu, X.–Arnason, U. (1994): The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: Extensive heteroplasmy of the control region. *Genetics*. 148. 2: 357–362.

Zabeck, T.–Nogag, A.–Radko, A.–Nogag, J.–Slota, E. (2005): Genetic variation of Polish endangered Bilgoraj horses and two common horse breeds in microsatellite loci. *Journal of Applied Genetics*. 46. 3: 299–305.

Zhang, T.–Lu, H.–Chen, C.–Jiang, H.–Wu, S. (2012): Genetic Diversity of mtDNA D-loop and Maternal Origin of Three Chinese Native Horse Breeds. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 25. 7: 921–926.