

## **Analysis of phylogeny and genetic similarities of seven main species of Equidae (*Equus* genus) based on mitochondrial genome**

**Amir Hossein Sadeghi**

MSc Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail address: amir74jahad@gmail.com

**Farjad Rafeie** 

\*Corresponding author. Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail address: farjad.rafeie@guilan.ac.ir

**Ramin Abdoli** 

Assistant Professor, Iran Silk Research Centre, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Iran. E-mail address: ramin.abdoli.ramin.abdoli@gmail.com

**Navid Ghavi Hossein-Zadeh** 

Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail address: nhosseinzadeh@guilan.ac.ir

---

### ***Abstract***

#### **Objective**

Phylogeny as a science that study the evolutionary relationships between species and populations of organisms, as well as their evolutionary history, diversity and patterns of population changes, by integrating genomic data, has become a strong approach in the study of the systematic of species named phylogenomics. The aim of the present study were divergence study an percent genetic similarity along with phylogenetic analysis of the seven existence species of the Equidae family based on mitochondrial genome sequences.

#### **Materials and methods**

In order to investigate genetic divergence and similarity, the most up-to-date complete sequences of the mitochondrial genome along with the separate sequences of 13 protein coding genes per each genome from seven main Equidae species including *E. africanus*, *E. ferus*, *E. grevyi*, *E. hemionus*, *E. kiang*, *E. quagga* and *E. zebra* were extracted from NCBI database site and compared to each other.

#### **Results**

The results of sequence distance analysis based on the complete mitochondrial genome showed that the highest genetic similarity (99.9%) was observed between Asian wild donkey (*E.*

*hemionus*) and Tibetan donkey (*E. kiang*) and the lowest genetic similarity (92.3%) was observed between Asian wild donkey (*E. hemionus*) and Przewalski's horse (*E. przewalskii*). In terms of phylogenetic analysis, *E. przewalskii* species was placed in a separate cluster, and *E. africanus*, *E. grevyi*, *E. hemionus*, *E. kiang*, *E. quagga* and *E. zebra* were placed in a another cluster. The analysis of the nucleotide sequences of 13 protein encoding genes per each genome showed that in all these genes *E.kiang* and *E.hemionus* species had the most genetic similarity to each other and also the least genetic similarity was observed between *E.przewalskii* and *E.asinus* species. In terms of phylogenetic analysis, *E.przewalskii* species had the highest distance from other species and was not included in the main cluster, which results were similar to the analysis of complete mitochondrial genome sequences. Also, the results of the analysis for the amino acid sequences of 13 protein-coding genes showed that unlike the nucleotide sequences, the highest and least genetic similarity may be different in the species. Although, *E. kiang* and *E. hemionus* species had the most genetic similarities, and the lowest genetic similarity of the species was related to *E. przewalskii* and *E. zebra species*, and in terms of phylogenetic analysis, *E. przewalskii* had the highest distance from other species and was not included in the main cluster.

### Conclusions

This research showed that the examination of mitochondrial genomes and sequences of Equidae species can help to determine the evolution and biological processes in the past of these species, as well as to determine the distribution and relationship between different species of the *Equus* genus and the possibility of correct clustering of the species exists based on the mitochondrial genome.

**Keywords:** Horse, Phylogenetic tree, MT genome, Clustering

**Paper Type:** Research Paper.

**Citation:** Sadeghi A, Rafeie F, Abdoli R, Ghavi Hossein-Zadeh N (2024) Analysis of phylogeny and genetic similarities of seven main species of Equidae (*Equus* genus) based on mitochondrial genome. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (3), 43-60.

---

*Agricultural Biotechnology Journal* 16 (3), 43-60.

DOI: 10.22103/jab.2024.22991.1552

Received: June 23, 2024.

Received in revised form: August 04, 2024.

Accepted: August 05, 2024.

Published online: September 30, 2024.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.




© the authors

## تجزیه و تحلیل تبارشناختی و شباهت‌های ژنتیکی هفت گونه اصلی اسب سانان (جنس *Equus*) براساس ژنوم میتوکندریایی

امیرحسین صادقی


دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه:

amir74jahad@gmail.com

فرجاد رفیعی 

\*نویسنده مسئول: استادیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه:

farjad.rafeie@guilan.ac.ir

رامین عبدلی 

استادیار، مرکز تحقیقات ابریشم کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، گیلان، ایران. رایانامه:

ramin.abdoli.ramin.abdoli@gmail.com

نوید قوی حسین‌زاده 

استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: nhosseinzadeh@guilan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۳ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۰۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۵

### چکیده

**هدف:** تبارشناسی علمی است که به مطالعه روابط تکاملی بین گونه‌ها و جمعیت‌های جانداران و همچنین تاریخچه تکاملی آنها، تنوع و الگوهای تغییرات جمعیتی می‌پردازد و با ادغام داده‌های ژنومی تبدیل به یک رویکرد قوی در مطالعه سیستماتیک گونه‌ها تحت عنوان فیلوژنومیک شده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی واگرایی و درصد تشابه ژنتیکی همراه با تجزیه و تحلیل تبارشناختی هفت گونه موجود از خانواده اسب‌سانان براساس توالی‌های ژنوم میتوکندریایی بود.

**مواد و روش‌ها:** به منظور بررسی واگرایی و تشابه ژنتیکی، به‌روزترین توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی همراه با توالی‌های جداگانه نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین در هر ژنوم از هفت گونه اصلی اسب سانان شامل *E. africanus*، *E. zebra*، *E. quagga*، *E. kiang*، *E. hemionus*، *E. grevyi*، *E. ferus* از پایگاه داده‌ی NCBI استخراج و پس از هم‌ترازی توالی‌ها، براساس شباهت‌های ژنتیکی و روابط تبارشناختی با یکدیگر مقایسه شدند.

**نتایج:** نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل فاصله توالی‌ها براساس ژنوم کامل میتوکندریایی نشان‌دهنده بیشترین شباهت ژنتیکی (۹۹/۹ درصد) بین الاغ وحشی آسیایی (*E. hemionus*) و الاغ تبتی (*E. kiang*) و کمترین شباهت ژنتیکی (۹۲/۳ درصد) بین الاغ وحشی آسیایی (*E. hemionus*) و اسب پرژوالسکی (*E. przewalskii*) بود. از حیث تجزیه و تحلیل تبارشناختی گونه *E. przewalskii* در یک شاخه مجزا و گونه‌های *E. africanus*، *E. grevyi*، *E. hemionus*، *E. kiang*، *E. quagga* و *E. zebra* در خوشه دیگر قرار گرفتند. بررسی توالی‌های نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم نشان داد در تمامی این ژن‌ها گونه‌های *E. kiang* و *E. hemionus* بیشترین شباهت‌های ژنتیکی را با یکدیگر دارند. همچنین کمترین میزان شباهت ژنتیکی گونه‌ها مربوط به گونه‌های *E. przewalskii* و *E. asinus* بود. به لحاظ تبارشناختی گونه *E. przewalskii* بیشترین فاصله را از دیگر گونه‌ها داشت و در خوشه اصلی قرار نگرفت که نتایج حاصل مشابه با بررسی توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی بود. همچنین نتایج حاصل از بررسی توالی‌های آمینواسیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین نشان داد که برخلاف توالی‌های نوکلئوتیدی، ممکن است بیشترین و کمترین میزان شباهت ژنتیکی در گونه‌ها متفاوت باشد، اگرچه به طور مشابه گونه‌های *E. kiang* و *E. hemionus* بیشترین شباهت را داشتند و کمترین میزان شباهت مربوط به گونه‌های *E. zebra* و *E. przewalskii* بود. همچنین از حیث تجزیه و تحلیل تبارشناختی گونه *E. przewalskii* بیشترین فاصله را از دیگر گونه‌ها داشت.

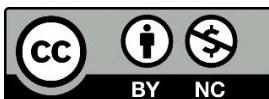
**نتیجه‌گیری:** این پژوهش نشان داد، بررسی توالی‌های ژنوم میتوکندریایی گونه‌های اسب سانان می‌تواند به تعیین نحوه تکامل و فرآیندهای زیستی در گذشته این گونه‌ها و همچنین، به تعیین نحوه پراکنش و ارتباط بین گونه‌های مختلف از جنس *Equus* کمک کند. علاوه بر این، امکان خوشه‌بندی صحیح گونه‌ها بر اساس ژنوم میتوکندریایی وجود دارد.

**کلیدواژه‌ها:** اسب، درخت فیلوژنتیکی، ژنوم میتوکندریایی، خوشه‌بندی

**نوع مقاله:** پژوهشی.

**استناد:** صادقی امیرحسین، رفیعی فرجاد، عبدلی رامین، قوی حسین‌زاده نوید (۱۴۰۳) تجزیه و تحلیل تبارشناختی و شباهت‌های ژنتیکی هفت گونه اصلی اسب سانان (جنس *Equus*) براساس ژنوم میتوکندریایی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۶(۳)، ۴۳-۶۰.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.



© the authors

#### مقدمه

اسب یکی از باهوش‌ترین و تربیت‌پذیرترین حیوانات اهلی است که با انسان انس گرفته و مورد انقیاد و تمکین او قرار می‌گیرد (Mostafavi et al. 2020). اسب دارای پراکنشی جهانی است ولی با توجه به شرایط جغرافیایی خاص هر منطقه و کشور،

نژادهای مختص به شرایط همان منطقه شکل گرفته و تکثیر شده‌اند. نژادهای بومی بعد از هزاران سال انتخاب طبیعی و گذر از موانع بسیار و غلبه بر ناملایمات و شرایط نامساعد محیطی همچنان به حیات خویش ادامه داده و به تکثیر و ازدیاد نسل پرداخته‌اند (Moazemi et al. 2020). *Equus* یک جنس از تیره (خانواده) Equidae است، که شامل اسبها (Horses)، الاغها (Donkeys) و گورخرها (Zebras) می‌باشد. درون خانواده Equidae، *Equus* تنها جنس شناخته شده موجود است که هفت گونه زنده *E. zebra*، *E. quagga*، *E. kiang*، *E. hemionus*، *E. grevyi*، *E. ferus*، *E. africanus* را شامل می‌شود (Bailey and Brooks 2020).

تکامل را می‌توان به عنوان توسعه یک شکل بیولوژیکی از سایر اشکال موجود یا منشا آن به شکل فعلی از طریق انتخاب طبیعی و تغییرات در طول نسل‌ها تعریف کرد (Roy et al. 2014). روش‌های تجزیه و تحلیل تبارشناختی (Phylogenetic) می‌توانند به عنوان یک ابزار بیوانفورماتیکی بسیار قابل اعتماد و مهم برای پرداختن به فرآیندهای بیولوژیکی مختلف در نظر گرفته شوند. به بیان دیگر، تاریخچه تکامل گونه‌های زنده معمولاً از طریق تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی اطلاعات مولکولی و ریخت‌شناسی با استفاده از مدل‌های مختلف ریاضی استنباط می‌شود. پیشرفت‌های کنونی در زمینه فناوری‌های توالی‌یابی پُربرونداد، تجزیه و تحلیل تبارشناختی را به هدف جدیدی تحت عنوان فیلوژنومیک (Phylogenomics) رسانده است. در حقیقت فیلوژنومیک ادغام تبارشناسی با داده‌های ژنومی بوده و به یک رویکرد قدرتمند برای مطالعه سیستماتیک و تکامل گونه‌ها تبدیل شده است (Behura 2015). تبارشناسی علمی است که به مطالعه روابط تکاملی بین چندین گروه از جانداران (نظیر گونه‌ها و جمعیت‌ها) می‌پردازد. رویکردهای مقایسه‌ای تبارشناختی امکان مطالعه تاریخچه تکاملی ارگانسیم‌ها، تنوع، ارتباطات بین گونه‌ها و الگوهای تغییرات جمعیتی را فراهم می‌سازند (Yang and Rannala 2012). رویکردهای اولیه تبارشناختی براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی موجودات زنده بوده ولی در رویکردهای نوین، تجزیه و تحلیل فاصله تبارشناختی و روش‌های مقایسه‌ای مرتبط با آن براساس تنوع ژنتیکی مشاهده شده در توالی‌های ژنتیکی مورد مطالعه برآورد می‌شوند (Abdoli et al. 2018). درخت تبارشناسی (تبارنما) (Phylogeny tree) که به آن درخت تکامل نیز گفته می‌شود، نموداری است که روابط تکاملی بین گروه‌های مختلف جاندارانی را که از انساب مشترکی برخوردار هستند، نشان می‌دهد (Mohamadipoor Saadatabadi et al. 2023).

در بیشتر موجودات از داده‌های به‌دست آمده از توالی‌های DNA برای تعیین روابط تکاملی استفاده می‌شود. با توجه به اینکه چنین داده‌هایی در مقایسه با داده‌های ریخت‌شناختی کمتر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند، لذا به‌نحو بهتری می‌توانند روابط تبارشناسی حقیقی را منعکس کنند (Hedrick 2005). توالی‌های ژنتیکی استفاده شده در مطالعات تبارشناختی می‌توانند از DNA هسته‌ای یا DNA سیتوپلاسمی نظیر ژنوم میتوکندری به دست آیند. مشابه ژنوم هسته‌ای، ژنوم میتوکندریایی از DNA دو رشته‌ای ساخته شده ولی ساختاری حلقوی دارد. این ژنوم دارای ژن‌هایی متفاوت با ژنوم هسته‌ای بوده و اندازه آن ۱۴ تا ۱۹ کیلوباز (معمولاً حدود ۱۶ کیلو باز به عنوان میانگین در حیوانات و اسب‌سانان) و دارای وراثت انحصاری مادری است (Chial and Craig 2008). از آنجایی که ژنوم میتوکندری از طریق مادر به ارث می‌رسد و ماهیتی هاپلوئید دارد، اندازه جمعیت موثر آن یک چهارم یک ژن

هسته‌ای اتوزومال است. بنابراین درخت تبارشناسی میتوکندریایی احتمال بسیار بالاتری برای ردیابی دقیق یک میان‌گره کوتاه نسبت به درخت تبارشناسی ژن هسته‌ای-اتوزومی دارد (Moore 1995).

تا کنون، ژنوم میتوکندریایی و توالی‌های ژنتیکی مرتبط با آن (شامل ژن‌های رمزگر پروتئین‌ها، نواحی کنترلی و D-Loop) به طور گسترده برای بررسی‌های تبارشناختی مرتبط با منشا نژادی در حیوانات اهلی (Lenstra et al. 2012; Ludwig et al. 2022; Pramod et al. 2018; Rabiei et al. 2022)، ماهیان (Jamshidi and Abdoli, 2023)، میگوها (Pasandideh and Abdoli, 2024) و حشرات (Abdoli et al. 2022) استفاده شده است. برای نخستین بار در سال ۱۹۹۴، توالی کامل DNA میتوکندریایی تعدادی از گونه‌های موجود در جنس *Equus* تعیین شد (Xu and Arnason 1994). در پژوهش‌های دیگر، توالی‌های ناحیه D-Loop ژنوم میتوکندریایی در برخی نژادهای ایرانی (Moridi et al. 2013)، نژادهای ایتالیایی (Bigi et al. 2014)، آلمانی (Aberle et al. 2007) و چینی (Lei et al. 2009) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین در پژوهش‌های متفاوتی اقدام به توالی‌یابی کامل ژنوم میتوکندریایی و بررسی روابط تبارشناختی نژادهای مختلف اسب از جمله نژاد Debao pony (Jiang et al. 2011) و Datong horse (Guo et al. 2019) و Caribbean colonial horse (Delsol et al. 2022) شده است. با این حال تاکنون مطالعه جامعی به منظور بررسی و مقایسه توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی و ۱۳ ژن رمزگر پروتئین در اسب‌سانان انجام نشده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی واگرایی و درصد تشابه ژنتیکی همراه با تجزیه و تحلیل تبارشناختی هفت گونه موجود از خانواده اسب‌سانان براساس توالی کامل ژنوم میتوکندریایی و توالی‌های جداگانه ژن‌های رمزگر میتوکندریایی به ازای هر ژنوم بود.

## مواد و روش‌ها

**جمع‌آوری داده‌ها:** ابتدا به‌روزترین توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی هفت گونه اصلی اسب‌سانان شامل الاغ وحشی

آفریقایی (*E. africanus*)، اسب پرژوالسکی (*E. ferus przewalskii*)، گورخر گروی (*E. grevyi*)، خر وحشی آسیایی (*E. hemionus*)، خر تبتی (*E. kiang*)، گورخر دشتی (*E. quagga*) و گورخر کوهی (*E. zebra*) از پایگاه داده Nucleotide در سایت NCBI استخراج شدند. شماره دسترسی ژنوم‌ها همراه با طول کامل ژنوم هر یک از گونه‌ها برحسب جفت باز (bp) در جدول ۱ ارائه شده است. دسترسی به داده‌ها و سادگی نسبی آنالیزها در مقایسه با ژنوم هسته‌ای به دلیل کوچک‌تر بودن طول ژنوم میتوکندریایی از دلایل دیگر استفاده از این ژنوم در مطالعه‌ی حاضر است. همچنین از توالی‌های ژن‌های میتوکندریایی نیز تاکنون در بسیاری از مطالعات فیلوژنتیکی استفاده شده است.

جدول ۱. اسامی علمی گونه‌های مورد بررسی همراه با شماره دسترسی و طول ژنوم هر یک از آنها (bp)

Table 1. The scientific name of the studied species along with their accession numbers and genomes' length (bp)

Species name	نام گونه	Accession number	شماره دسترسی	Genome length (bp)	طول ژنوم
<i>E. africanus</i>		NC_001788.1		16670	
<i>E. ferus przewalskii</i>		HQ439484.1		16660	
<i>E. grevyi</i>		NC_020432.2		16403	
<i>E. hemionus</i>		NC_016061.1		16634	
<i>E. kiang</i>		NC_020433.1		16380	
<i>E. quagga bruchellii</i>		NC_044858.1		16606	
<i>E. zebra</i>		JX312718.1		16406	

در ادامه توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی کامل برخی از نواحی ژنوم میتوکندریایی شامل ۱۳ ژن رمزگر پروتئین (Protein Coding Genes (PCGs)) به نام‌های NADH یوبیکوئینون اکسیدوردوکتاز ۱ تا ۶ (ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6)، NADH دهیدروژناز ۴ (ND4L)، سیتوکروم C اکسیداز ۱ تا ۳ (COX1, COX2, COX3)، ATP سنتاز ۶ و ۸ (ATP6 و ATP8)، و سیتوکروم b (CYTB)، به تفکیک برای هر ژنوم در صفحه مربوط به توالی کامل ژنوم میتوکندریایی هر گونه یافت شده و به طور جداگانه ذخیره گردیدند (جدول ۲).

جدول ۲. اسامی گونه‌ها و ژن‌های مورد بررسی همراه با طول توالی نوکلئوتیدی آنها (bp)

Table 2. The scientific name of the studied species and the length of the 13 protein-coding genes (bp)

ژن‌ها Genes	ND1	ND2	ND3	ND4	ND5	ND6	ND4L	ATP6	ATP8	COX1	COX2	COX3	CYTB
نام گونه Species name													
<i>E. africanus</i>	956	1039	359	1378	1821	528	297	681	204	1545	684	784	1140
<i>E. ferus przewalskii</i>	956	1039	346	1378	1815	528	297	681	204	1545	684	784	1140
<i>E. grevyi</i>	956	1039	347	1378	1815	528	297	681	204	1545	684	784	1140
<i>E. hemionus</i>	956	1039	346	1378	1815	528	297	681	204	1545	684	784	1140
<i>E. kiang</i>	956	1039	346	1378	1815	528	297	681	204	1545	684	784	1140
<i>E. quagga bruchellii</i>	956	1039	346	1378	1815	528	297	681	204	1545	684	784	1140
<i>E. zebra</i>	956	1039	348	1378	1815	528	297	681	204	1545	684	784	1140

**همردیفی‌های چندگانه:** پس از ذخیره سازی توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی همراه با توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی تمامی ژن‌های رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم به طور جداگانه همراه با نام علمی و شماره دسترسی گونه مربوط، با استفاده از نرم‌افزار DNASTAR نسخه ۱/۷ زیر بخش MegAlign و ابزار Clustal W همردیفی‌های چندگانه انجام شد (Burland 1999).

**واگرایی و شباهت ژنتیکی:** با استفاده از بخش Sequence Distances در نرم افزار DNASTAR، واگرایی و درصد شباهت ژنتیکی ژنوم‌ها و توالی‌های نوکلئوتیدی محاسبه شده و جداول مربوط به هر مقایسه به طور جداگانه ارائه گردیدند.

رسم درخت تبارشناسی: برای تجزیه و تحلیل تبارشناختی، ژنوم‌های کامل میتوکندریایی و توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن‌ها با استفاده از نرم افزار MEGA11 (Tamura et al. 2021) هم‌ردیف شده و درخت‌های تبارشناسی با به کارگیری روش حداکثر درست‌نمایی (Maximum Likelihood) با درصد پشتیبانی یا بوت استرپ بر اساس ۱۰۰۰ تکرار ترسیم شدند.

## نتایج و بحث

مقایسه شباهت‌ها و درخت تبارشناسی براساس توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی: براساس نتایج حاصل از مقایسه توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی، درصد تشابه ژنتیکی بین هفت گونه مختلف از جنس *Equus* بین ۹۲/۳ درصد تا ۹۹/۹ درصد متغیر است (شکل ۱). بر اساس این نتایج می‌توان دریافت که تمام هفت گونه مورد مطالعه از جنس *Equus* بیش از ۹۰ درصد شباهت ژنتیکی به یکدیگر دارند. با این حال بیشترین شباهت ژنتیکی بین گونه‌ها مربوط به *E. hemionus* و *E. kiang* (۹۹/۹ درصد) و کمترین میزان شباهت ژنتیکی بین گونه‌های *E. hemionus* و *E. przewalskii* (۹۲/۳ درصد) بود.

		Percent Identity								
		1	2	3	4	5	6	7		
Divergence	1	█	95.0	95.3	95.5	95.4	93.9	94.7	1	<i>Equus asinus</i> (KT182635.1)
	2	5.2	█	96.4	93.7	95.0	93.1	95.0	2	<i>Equus burchellii</i> (NC_044858)
	3	5.0	3.7	█	95.2	95.2	93.4	95.1	3	<i>Equus grevyi</i> (NC_020432.2)
	4	4.8	5.4	5.0	█	99.9	92.3	94.8	4	<i>Equus hemionus</i> (HM118851.1)
	5	4.8	5.2	5.0	0.1	█	93.7	94.8	5	<i>Equus kiang</i> (MZ337617.1)
	6	6.4	7.2	7.0	6.8	6.7	█	92.8	6	<i>Equus przewalskii</i> (HQ439484.1)
	7	5.6	5.3	5.1	5.5	5.4	7.7	█	7	<i>Equus zebra</i> (JX312718.1)
		1	2	3	4	5	6	7		

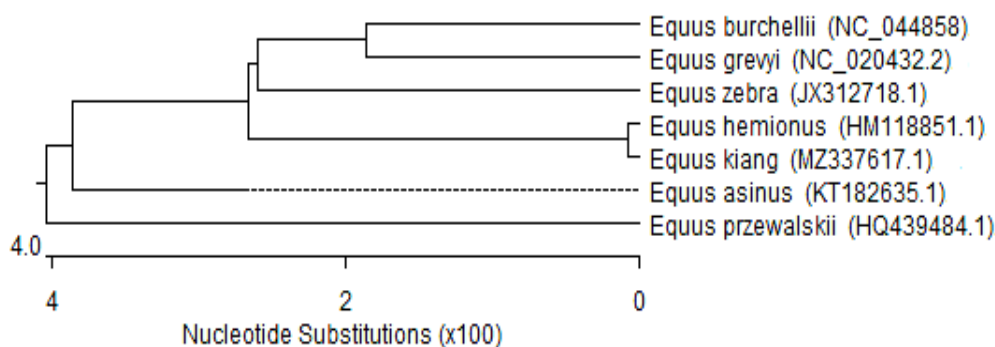
شکل ۱. شباهت‌های ژنتیکی و واگرایی گونه‌های مورد بررسی براساس ژنوم کامل میتوکندریایی

Figure 1. Genetic similarity and divergence of the studied species based on complete mitochondrial genome

همچنین، ترسیم درخت تبارنما برای هفت گونه جنس *Equus* بر اساس توالی کامل ژنوم میتوکندریایی نشان داد که گونه‌های *E. hemionus* با *E. kiang* و همچنین گونه‌های *E. grevyi* و *E. quagga bruchellii* در یک گروه مشترک قرار گرفتند و تفاوت ژنتیکی کمتری با یکدیگر داشتند و احتمال دارد در گذشته یک جمعیت مشترک را تشکیل داده باشند (شکل ۲). تحلیل



توالی‌های میتوکندریایی نشان داد که این گونه‌ها با یکدیگر بسیار نزدیک هستند و در ابتدای تکامل جنس *Equus* از هم جدا شده‌اند. گونه *E. przewalskii* جدا از سایر گونه‌ها قرار گرفته و تفاوت ژنتیکی زیادی با سایر گونه‌ها دارد. به طور کلی، نتایج حاصل از مقایسه توالی‌های کامل ژنوم میتوکندریایی نشان داد که گونه‌های مورد بررسی با یکدیگر تشابه ژنتیکی بالای ۹۰ درصد داشتند که این موضوع نشان دهنده نزدیکی تبارشناختی آن‌ها است. اما از حیث تجزیه و تحلیل تبارشناختی به جز گونه *E. przewalskii* که با گونه‌های دیگر متفاوت بوده و در جایگاهی جداگانه در درخت قرار گرفت (شکل ۲)، سایر گونه‌ها در خوشه اصلی قرار گرفتند و خود به زیرشاخه‌های دیگری تقسیم شدند.



شکل ۲- درخت تبارشناسی گونه‌های مورد بررسی براساس ژنوم کامل میتوکندریایی

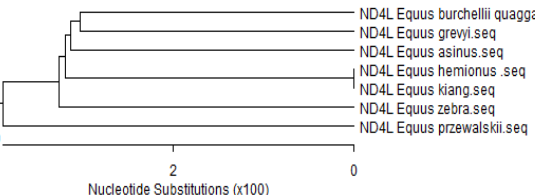
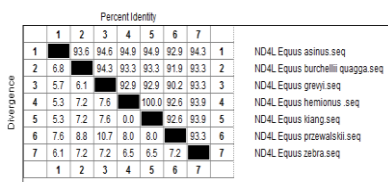
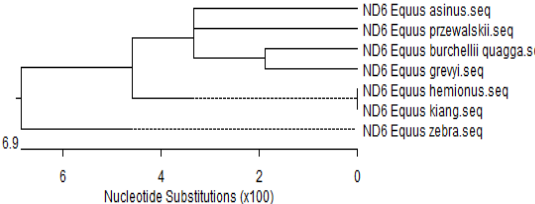
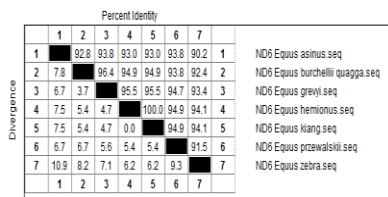
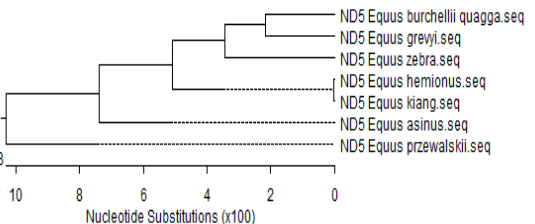
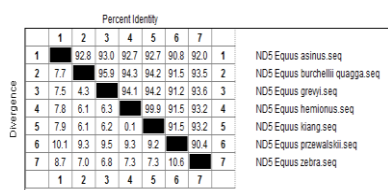
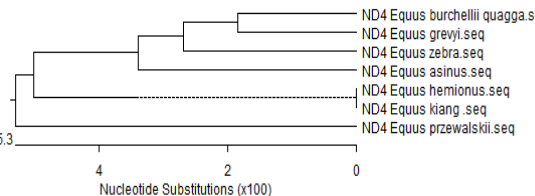
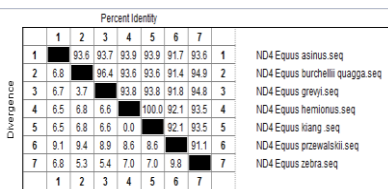
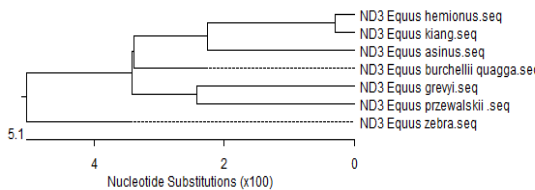
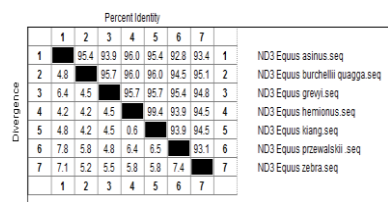
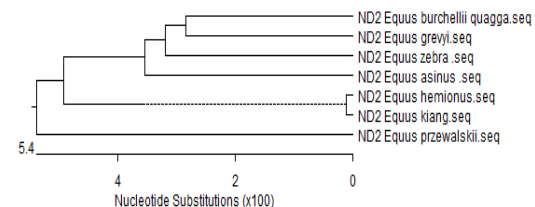
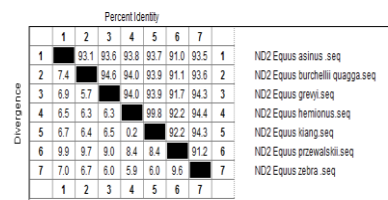
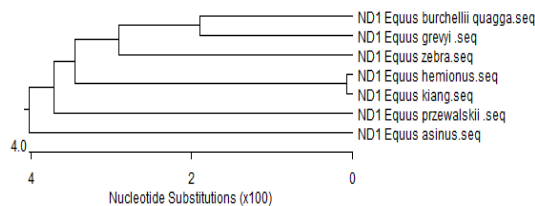
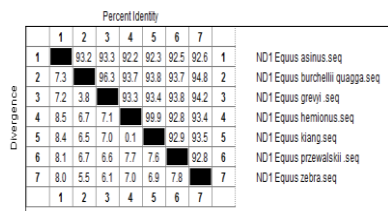
Figure 2. Phylogenetic tree of the of the studied species based on complete mitochondrial genome

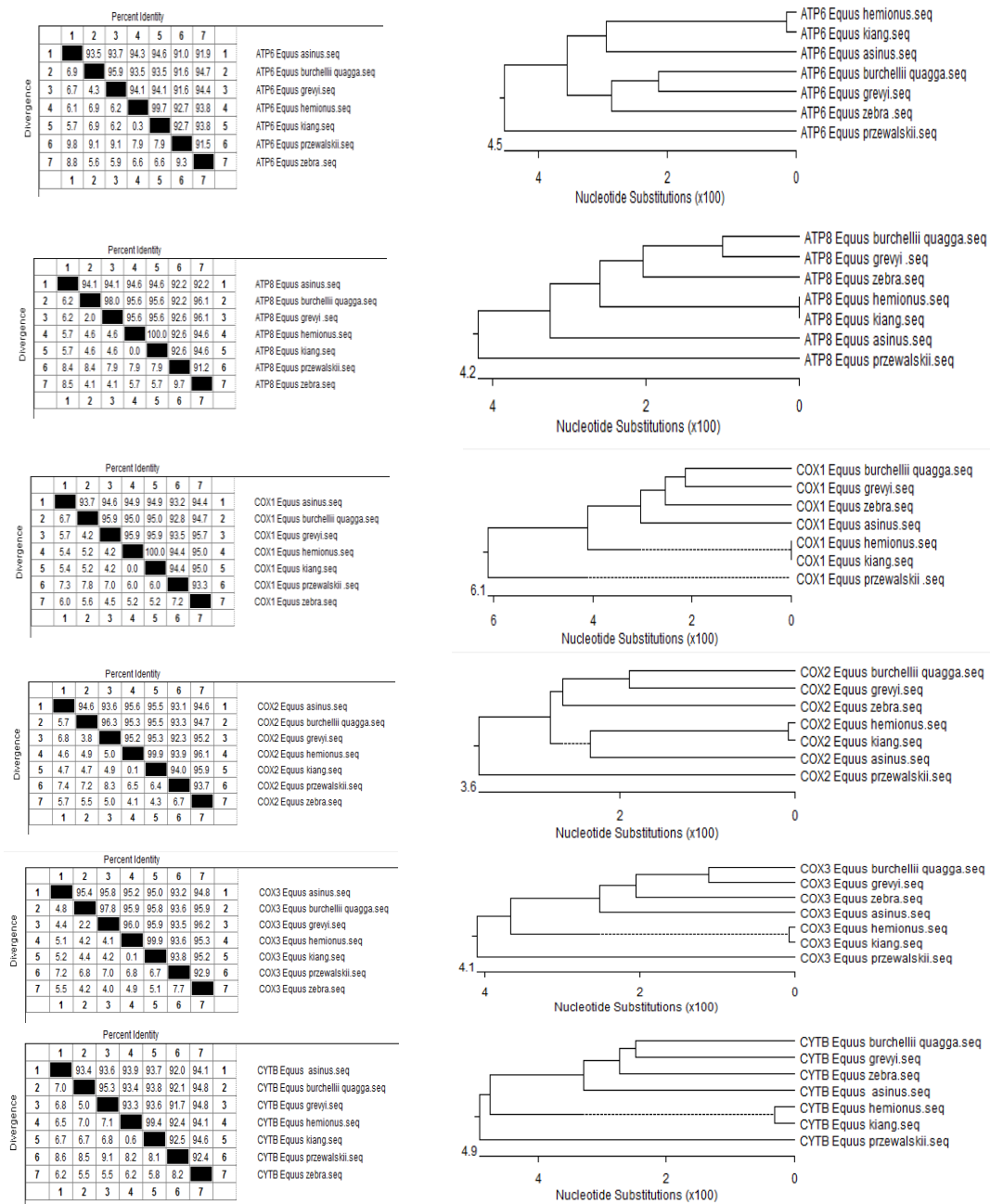
مقایسه شباهت‌ها و درخت تبارنما براساس توالی‌های نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین: نتایج حاصل از

بررسی جداول و ترسیم درخت‌های تبارنمای توالی‌های نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین نشان داد که بدون استثناء در تمامی این ژن‌ها، گونه‌های *E. hemionus* و *E. kiang* بیشترین شباهت‌های ژنتیکی را با یکدیگر داشتند (شکل ۳). همچنین کمترین میزان شباهت ژنتیکی گونه‌ها علی‌رغم وجود تفاوت در برخی ژن‌ها، مربوط به گونه‌های *E. africanus* و *E. przewalskii* بوده و از حیث تجزیه و تحلیل تبارشناختی گونه *E. przewalskii* بیشترین فاصله را برای ژن‌های *ATP6*، *ND4L*، *ND5*، *ND4*، *ND2*، *ATP8*، *COX1*، *COX2*، *COX3* و *CYTb* از دیگر گونه‌ها داشته و در خوشه اصلی قرار نگرفته است.

مقایسه شباهت‌ها و درخت تبارنما براساس توالی‌های آمینواسیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین میتوکندریایی:

نتایج حاصل از مقایسه شباهت‌های ژنتیکی و درخت تبارنمای گونه‌های مورد بررسی براساس توالی‌های آمینواسیدی ژن‌های رمزگر پروتئین به ازای هر ژنوم در شکل ۴ گزارش شده‌اند. به دلیل ماهیت چند کدونی آمینواسیدها (یک اسید آمینه می‌تواند توسط کدون‌های متعدد رمزگذاری شود)، شباهت‌های ژنتیکی مشاهده شده بین گونه‌های مورد بررسی بسیار بالا است و در برخی از گونه‌ها و برخی از ژن‌ها علی‌رغم تفاوت در توالی‌های نوکلئوتیدی، میزان شباهت براساس توالی‌های آمینواسیدی به ۱۰۰ درصد می‌رسد (به عنوان نمونه نتایج حاصل از مقایسه گونه‌ها برای توالی‌های آمینواسیدی ژن‌های *COX1* و *ND3*) (شکل ۴).





شکل ۳. شباهت ژنتیکی و درخت تبارشناسی گونه‌های مورد بررسی براساس توالی‌های نوکلئوتیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین‌های میتوکندریایی

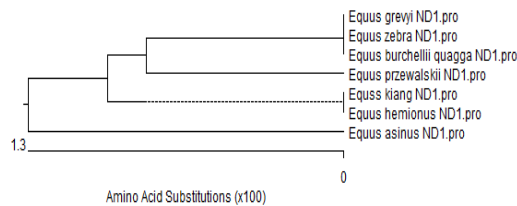
Figure 3. Genetic similarity and phylogenetic tree of the of the studied species based on nucleotide sequences of the 13 protein coding genes

به همین جهت، بیشترین و کمترین تفاوت‌های ژنتیکی براساس توالی‌های آمینواسیدی ژن‌ها مشابه نیست و در خوشه‌بندی

گونه‌های مورد بررسی نیز تفاوت‌هایی مشاهده می‌شود (شکل ۴).

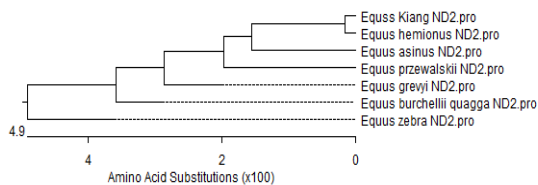
		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6	7	
Divergence	1	■	98.1	99.1	99.1	100.0	98.7	99.1	1
	2	1.9	■	97.8	97.8	98.1	97.5	97.8	2
	3	0.9	2.2	■	100.0	99.1	98.4	100.0	3
	4	0.9	2.2	0.0	■	99.1	98.4	100.0	4
	5	0.0	1.9	0.9	0.9	■	98.7	99.1	5
	6	1.3	2.6	1.6	1.6	1.3	■	98.4	6
	7	0.9	2.2	0.0	0.0	0.9	1.6	■	7
		1	2	3	4	5	6	7	

Equus kiang ND1.pro  
Equus asinus ND1.pro  
Equus burchellii quagga ND1.pro  
Equus grevii ND1.pro  
Equus hemionus ND1.pro  
Equus przewalskii ND1.pro  
Equus zebra ND1.pro



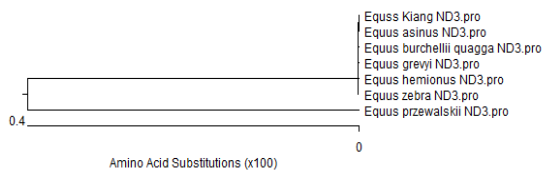
		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6	7	
Divergence	1	■	97.1	96.5	96.5	99.7	96.2	94.5	1
	2	2.9	■	96.8	96.0	96.8	96.2	95.1	2
	3	3.6	3.3	■	96.8	96.2	96.5	96.2	3
	4	3.6	4.2	3.3	■	96.2	96.5	96.0	4
	5	0.3	3.3	3.9	3.9	■	96.0	94.2	5
	6	3.9	3.9	3.6	3.6	4.2	■	95.1	6
	7	5.7	5.1	3.9	4.2	6.0	5.1	■	7
		1	2	3	4	5	6	7	

Equus Kiang ND2.pro  
Equus asinus ND2.pro  
Equus burchellii quagga ND2.pro  
Equus grevii ND2.pro  
Equus hemionus ND2.pro  
Equus przewalskii ND2.pro  
Equus zebra ND2.pro



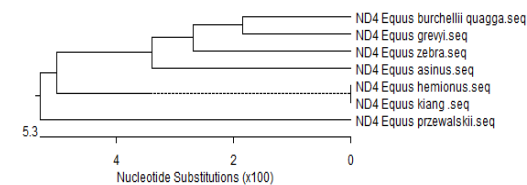
		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6	7	
Divergence	1	■	100.0	100.0	100.0	100.0	99.1	100.0	1
	2	0.0	■	100.0	100.0	100.0	99.1	100.0	2
	3	0.0	0.0	■	100.0	100.0	99.1	100.0	3
	4	0.0	0.0	0.0	■	100.0	99.1	100.0	4
	5	0.0	0.0	0.0	0.0	■	99.1	100.0	5
	6	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	■	99.1	6
	7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9	■	7
		1	2	3	4	5	6	7	

Equus Kiang ND3.pro  
Equus asinus ND3.pro  
Equus burchellii quagga ND3.pro  
Equus grevii ND3.pro  
Equus hemionus ND3.pro  
Equus przewalskii ND3.pro  
Equus zebra ND3.pro



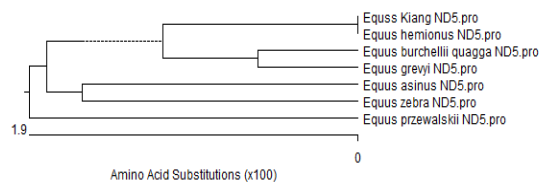
		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6	7	
Divergence	1	■	93.6	93.7	93.9	93.9	91.7	93.6	1
	2	6.8	■	96.4	93.6	93.6	91.4	94.9	2
	3	6.7	3.7	■	93.8	93.8	91.8	94.8	3
	4	6.5	6.8	6.6	■	100.0	92.1	93.5	4
	5	6.5	6.8	6.6	0.0	■	92.1	93.5	5
	6	9.1	9.4	8.9	8.6	8.6	■	91.1	6
	7	6.8	5.3	5.4	7.0	7.0	9.8	■	7
		1	2	3	4	5	6	7	

ND4 Equus asinus.seq  
ND4 Equus burchellii quagga.seq  
ND4 Equus grevii.seq  
ND4 Equus hemionus.seq  
ND4 Equus kiang.seq  
ND4 Equus przewalskii.seq  
ND4 Equus zebra.seq



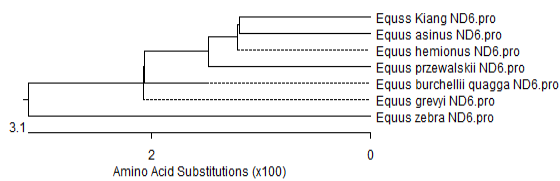
		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6	7	
Divergence	1	■	96.4	97.7	97.8	100.0	96.5	96.4	1
	2	3.7	■	97.8	97.5	96.4	96.5	96.9	2
	3	2.4	2.2	■	98.8	97.7	97.2	97.0	3
	4	2.2	2.5	1.2	■	97.8	97.0	97.2	4
	5	0.0	3.7	2.4	2.2	■	96.5	96.4	5
	6	3.6	3.6	2.9	3.0	3.6	■	95.9	6
	7	3.7	3.2	3.0	2.9	3.7	4.3	■	7
		1	2	3	4	5	6	7	

Equus Kiang ND5.pro  
Equus asinus ND5.pro  
Equus burchellii quagga ND5.pro  
Equus grevii ND5.pro  
Equus hemionus ND5.pro  
Equus przewalskii ND5.pro  
Equus zebra ND5.pro



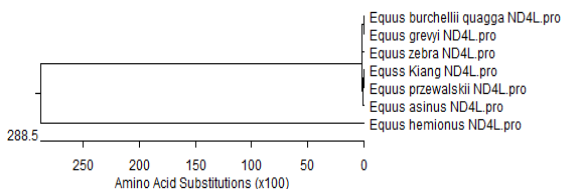
		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6	7	
Divergence	1	■	97.7	98.3	99.4	100.0	99.3	95.4	1
	2	2.3	■	96.0	97.1	97.7	96.0	93.1	2
	3	1.7	4.1	■	98.9	98.3	97.7	94.9	3
	4	0.6	2.9	1.2	■	99.4	98.9	96.0	4
	5	0.0	2.3	1.7	0.6	■	98.3	95.4	5
	6	1.7	4.1	2.3	1.2	1.7	■	94.9	6
	7	4.7	7.2	5.3	4.1	4.7	5.3	■	7
		1	2	3	4	5	6	7	

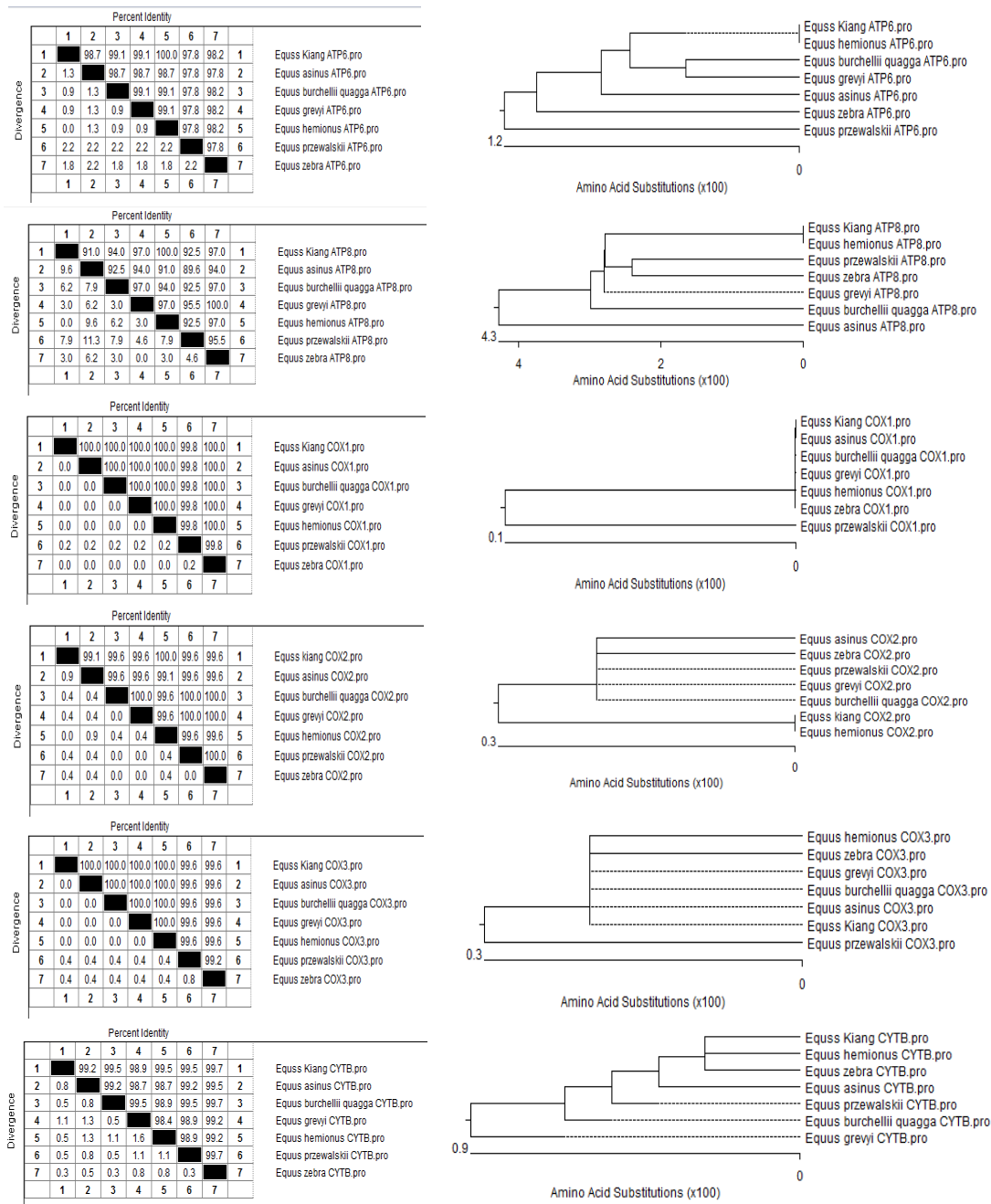
Equus Kiang ND6.pro  
Equus asinus ND6.pro  
Equus burchellii quagga ND6.pro  
Equus grevii ND6.pro  
Equus hemionus ND6.pro  
Equus przewalskii ND6.pro  
Equus zebra ND6.pro



		Percent Identity							
		1	2	3	4	5	6	7	
Divergence	1	■	99.0	98.0	98.0	92	100.0	98.0	1
	2	1.0	■	96.9	96.9	92	99.0	96.9	2
	3	2.1	3.1	■	100.0	92	98.0	98.0	3
	4	2.1	3.1	0.0	■	92	98.0	98.0	4
	5	577.0	577.0	577.0	577.0	■	92	92	5
	6	0.0	1.0	2.1	2.1	577.0	■	98.0	6
	7	2.1	3.1	2.1	2.1	577.0	2.1	■	7
		1	2	3	4	5	6	7	

Equus Kiang ND4L.pro  
Equus asinus ND4L.pro  
Equus burchellii quagga ND4L.pro  
Equus grevii ND4L.pro  
Equus hemionus ND4L.pro  
Equus przewalskii ND4L.pro  
Equus zebra ND4L.pro





شکل ۴. شباهت ژنتیکی و درخت تبارنمای گونه‌های مورد بررسی براساس توالی‌های آمینواسیدی ۱۳ ژن رمزگر پروتئین میتوکندریایی

Figure 4. Genetic similarity and phylogenetic tree of the of the studied species based on amino acid sequences of the 13 protein coding genes

توالی‌های DNA میتوکندریایی (mtDNA) به طور گسترده برای مطالعه طبقه‌بندی، تبارشناسی و ساختار ژنتیکی جمعیت مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از این رو mtDNA ابزار مهمی برای مطالعه تنوع، روابط تبارشناختی و منشاء اسب‌سانان است. درختان تبارنما مسیرهای تکاملی را نشان می‌دهند و می‌توان از آنها برای درک روابط تکاملی استفاده نمود (Kefena et al. 2014). طول

ژنوم میتوکندریایی اسب‌سانان نزدیک به ۱۶۶۶۰ جفت باز است و از مناطق رمزگر شامل ۳۷ ژن و منطقه نارمزگر یا همان ناحیه کنترلی (D-Loop) که حدود ۱۱۹ جفت باز است تشکیل شده است. مطالعات روی ژنوم میتوکندریایی اسب‌سانان نشان می‌دهد که این ژنوم به ویژه با در نظر گرفتن اطلاعات تاریخی، یک ابزار قدرتمند برای شناسایی روابط خویشاوندی بین نژادی و درون نژادی می‌باشد (Kefena et al. 2014).

در گذشته، کل داده‌های ژنوم میتوکندری برای اسب‌های اهلی (*Equus caballus*) تنها به چند نمونه محدود می‌شد و تنها بخش‌های کوتاهی از ژنوم mtDNA برای مجموعه نمونه‌های بزرگ‌تر مورد بررسی قرار می‌گرفت. اما اخیراً غنی‌سازی توالی‌های DNA با استفاده از ریزآرایه‌ها، همراه با فن‌آوری‌های توالی‌یابی پُربروندا، امکان به دست آوردن مقادیر زیادی از داده‌های توالی‌یابی مانند ژنوم کامل میتوکندریایی از موجودات مختلف از جمله اسب‌سانان را با هزینه‌های نسبتاً کم فراهم کرده است. به عنوان مثال در مطالعه‌ای ژنوم کامل میتوکندری ۵۹ اسب اهلی از ۴۴ نژاد مختلف همراه با یک اسب *Przewalskii* با استفاده از رویکرد ریزآرایه چندگانه مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش ۴۷۳ جایگاه چندشکل در اسب‌های اهلی پیدا شد که ۲۹۲ مورد از آنها در درخت تبارنما به کار گرفته شدند. بررسی واگرایی نشان داد که ژنوم میتوکندری نژادهای اسب مدرن در حدود ۹۳۰۰۰ سال پیش اجداد مشترکی داشته‌اند. به طور کلی این مطالعه آثاری از منشا مشترک مادری اسب‌های اهلی موجود ارائه کرده و تأیید نمود که نژادهای اهلی مدرن نمونه‌ای وسیع از تنوع DNA میتوکندریایی موجود در جمعیت اجداد اسب‌های وحشی که اکنون منقرض شده‌اند را ارائه می‌دهند (Lippold et al. 2011). با این حال شواهد باستان‌شناسی و ژنتیکی در مورد زمان و نحوه اهلی شدن اسب وحشی (*Equus ferus*) هنوز مورد بحث است. سطوح بالایی از تنوع ژنتیکی در DNA میتوکندریایی اسب در هنگام تجزیه و تحلیل منطقه کنترلی شناسایی شده است که وقوع جهش‌های مکرر ساختار درخت تبارنمای آن را برهم می‌زند. در مطالعه‌ای مشابه، بخشی از ژنوم میتوکندریایی برای نشان دادن تفاوت‌های ژنتیکی و روابط تبارشناختی بین گونه‌ها و نژادهای متفاوت از اسب‌های مدرن در سراسر آسیا، اروپا، خاورمیانه و آمریکا مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از این مطالعه باعث شناسایی ۱۸ گروه هاپلوتایپی (A-R) در اسب‌های اهلی شد که عمدتاً به دوره‌های نوسنگی و بعد از آن محدود می‌شوند. *Przewalskii* تنها اسب وحشی باقی مانده بود که در شاخه F درخت تبارنما قرار گرفت. بنابراین طیف گسترده‌ای از دودمان مادری از گونه *E. ferus* منقرض شده در اوراسیا، در دوره انثولیتیک اهلی شده و به نژادهای *E. caballus* مدرن منتقل گردیدند (Achilli et al. 2012).

به طور کلی تنوع هاپلوتایپی در اسب نشان دهنده این است که اسب‌های نمونه‌گیری شده با یکدیگر مرتبط نیستند و در نواحی خاصی از ژنوم میتوکندریایی نرخ بالایی از جهش رخ داده است. به عنوان مثال تنوع هاپلوتایپی بالایی در اسب‌های ایتالیایی (Bigi et al. 2014) و اسب‌های چینی (Cardinali et al. 2016) گزارش شده است. گستره تنوع هاپلوتایپی احتمالاً منعکس کننده واردات نژادهای اسب از مناطق دیگر است (Lister et al. 1998). استخراج توالی ژنوم میتوکندریایی ناحیه D-loop یکی از روش‌های رایج برای بررسی تکاملی اسب‌سانان و شناسایی نژادهای مختلف است. در همین راستا در مطالعه‌ای به منظور بررسی

تنوع ژنتیکی و ارتباط تبارشناختی اسب‌های کرد با سایر نژادهای اسب با استفاده از ناحیه D-Loop ژنوم میتوکندری نشان داده شد که تنوع هاپلوتایپی در این نژاد زیاد و تنوع نوکلئوتیدی نسبتاً کم است. همچنین براساس توالی ناحیه HVR1، ۱۴ هاپلوتایپ مختلف با ۲۲ جایگاه چندشکلی شناسایی شد. در این مطالعه با توجه به تجزیه و تحلیل تبارشناختی، اسب‌های کرد در مقایسه با سایر نژادهای اسب آسیایی از نظر ژنتیکی به نژادهای اسب بومی تبتی، چینی، بلغاری و ایرانی نزدیک‌تر بودند ولی ردپایی از نژادهای اسب اروپایی نیز در خطوط مادری آن‌ها مشاهده می‌شد (Nikbakhsh et al. 2023). مانند بسیاری از پستانداران دیگر، ناحیه D-loop نژاد اسب کرد غنی از A-T است که با DNA میتوکندریایی سایر نژادهای اسب سازگار می‌باشد (Liu et al. 2014). همچنین پژوهشگران گزارش داده‌اند که اسب کرد کمترین تنوع نوکلئوتیدی را در بین نژادهای اسب بومی ایران (عرب، ترکمن، کاسپین و سیستانی) دارد (Moridi et al. 2013).

در پژوهشی مشابه که با استفاده از اطلاعات مولکولی در قالب توالی‌های DNA میتوکندریایی جهت مطالعه روابط تکاملی بین گونه‌های اسب عرب و حفظ تنوع ژنتیکی مطلوب در جمعیت اسب‌های منطقه عربستان صورت گرفت، ژنوم میتوکندری دو تیره اسب عرب به نام‌های حمدانی و کهیلان برای بررسی تغییرات در سطح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی مورد ارزیابی قرار گرفتند و ارتباط تبارشناختی بین آنها بررسی شد. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که تیره‌های اسب عرب دارای تنوع گسترده‌ای بوده و هیچ خوشه‌بندی روشنی در درخت تبارنمای تیره‌های اسب عرب وجود ندارد. این موضوع نشان می‌دهد که جمعیت نژاد اسب عرب در عربستان حاصل مهاجرت بسیاری از نژادهای اسب از خاورمیانه به این کشور بوده است (Sheikh 2023). همچنین در پژوهشی روی روابط تکاملی اسب‌ها در چین نشان داده شده است که سه اسب بومی غرب چین دارای تنوع DNA میتوکندریایی فراوانی هستند و منشأ مادری متعددی را نشان می‌دهند (Zhang et al. 2012).

**نتیجه‌گیری:** تجزیه و تحلیل تبارشناختی از روش‌های مهم در بیوانفورماتیک است و به پژوهشگران کمک می‌کند تا درک بهتری از روابط تبارشناختی بین گونه‌های مختلف گونه‌های جنس Equus و ارتباطات ژنتیکی بین آن‌ها پیدا نمایند. در این مطالعه، به بررسی واگرایی و درصد شباهت ژنتیکی بین ژنوم‌های میتوکندریایی از گونه‌های مختلف Equus پرداخته شد. این پژوهش نشان داد، بررسی توالی‌های ژنوم میتوکندریایی گونه‌های اسب سانان می‌تواند به تعیین نحوه تکامل و فرآیندهای زیستی در گذشته این گونه‌ها و همچنین، به تعیین نحوه پراکنش و ارتباط بین گونه‌های مختلف از جنس Equus کمک کند. علاوه بر این امکان خوشه‌بندی صحیح گونه‌ها بر اساس ژنوم میتوکندریایی وجود دارد.

**سپاسگزاری:** از داوران محترم به خاطر ارائه نظرات ساختاری و علمی در جهت غنای هرچه بیشتر مقاله سپاسگزاری

می‌شود.

## References

- Abdoli R, Mazumder TH, Nematollahian S, et al. (2022) Gaining insights into the compositional constraints and molecular phylogeny of five silkworms mitochondrial genome. *Int J Biol Macromol* 206, 543-552.
- Abdoli R, Zamani P, Ghasemi M (2018) Genetic similarities and phylogenetic analysis of human and farm animal species based on mitogenomic nucleotide sequences. *Meta Gene* 15, 23-26.
- Aberle KS, Hamann H, Drögemüller C, et al. (2007) Phylogenetic relationships of German heavy draught horse breeds inferred from mitochondrial DNA D-loop variation. *J Anim Breed Genet* 124, 94-100.
- Achilli A, Olivieri A, Soares P, et al. (2012) Mitochondrial genomes from modern horses reveal the major haplogroups that underwent domestication. *Proc Natl Acad Sci* 109, 2449-2454.
- Bailey E, Brooks SA (2020) "Horse Genetics: 3d edition," Cabi.
- Behura SK (2015) Insect phylogenomics. *Insect Mol Biol* 24, 403-411.
- Bigi D, Perrotta G, Zambonelli P (2014) Genetic analysis of seven Italian horse breeds based on mitochondrial DNA D-loop variation. *Anim Genet* 45, 593-595.
- Burland TG (1999) DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. *Bioinform Methods Protoc* 71-91
- Cardinali I, Lancioni H, Giontella A, et al. (2016) An overview of ten Italian horse breeds through mitochondrial DNA. *PLoS One* 11, e0153004.
- Chial H, Craig J (2008) mtDNA and mitochondrial diseases. *Nat Educ* 1 (1), 217.
- Delsol N, Stucky BJ, Oswald JA, et al. (2022) Analysis of the earliest complete mtDNA genome of a Caribbean colonial horse (*Equus caballus*) from 16th-century Haiti. *PloS One* 17, e0270600.
- Guo X, Pei J, Bao P, et al. (2019) Complete mitochondrial genome of *Equus caballus* (Datong horse). *Mitochondrial DNA Part B* 4, 1223-1224.
- Hedrick PW (2005) Genetics of populations. In "Genetics of populations", 737-737.
- Jamshidi S, Abdoli R (2023) Percent identity and phylogenetic relationships of Caspian Sea sturgeon species based on mitochondrial genome sequences. *J Fish* 76 (3), 341-355.
- Jiang Q, Wei Y, Huang Y, et al. (2011) The complete mitochondrial genome and phylogenetic analysis of the Debao pony (*Equus caballus*). *Mol Biol Rep* 38, 593-599.



- Kefena E, Dessie T, Tegegne A, et al. (2014) Genetic diversity and matrilineal genetic signature of native Ethiopian donkeys (*Equus asinus*) inferred from mitochondrial DNA sequence polymorphism. *Livest Sci* 167, 73-79.
- Lei C, Su R, Bower M, et al. (2009) Multiple maternal origins of native modern and ancient horse populations in China. *Anim Genet* 40, 933-944.
- Lenstra J, Groeneveld LF, Eding H, et al. (2012) Molecular tools and analytical approaches for the characterization of farm animal genetic diversity. *Anim Genet* 43, 483-502.
- Lippold S, Matzke NJ, Reissmann M, et al. (2011) Whole mitochondrial genome sequencing of domestic horses reveals incorporation of extensive wild horse diversity during domestication. *BMC Evol Biol* 11, 1-10.
- Lister A, Kadwell M, Kaagen L, et al. (1998) Ancient and modern DNA in a study of horse domestication. *Anc Biomol* 2, 267-280.
- Liu G, Xu CQ, Cao Q, et al. (2014) Mitochondrial and pedigree analysis in Przewalski's horse populations: Implications for genetic management and reintroductions. *Mitochondrial DNA* 25, 313-318.
- Ludwig A, Alderson L, Fandrey E, et al. (2013). Tracing the genetic roots of the indigenous White Park Cattle. *Anim Genet* 44, 383-386.
- Moazemi I, Mohammadabadi MR, Mostafavia A, et al. (2020) Polymorphism of DMRT3 Gene and Its Association with Body Measurements in Horse Breeds. *Russ J Genet* 56(10), 1232–1240.
- Mohamadipoor Saadatabadi L, Mohammadabadi M, Nanaei HA, et al. (2023). Unraveling candidate genes related to heat tolerance and immune response traits in some native sheep using whole genome sequencing data. *Small Rumin Res* 225, e107018.
- Moridi M, Masoudi A, Vaez Torshizi R, et al. (2013) Mitochondrial DNA D-loop sequence variation in maternal lineages of Iranian native horses. *Anim Genet* 44, 209-213.
- Mostafavi A, Asadi Fozi M, Esmailzadeh AK, et al. (2020) Effect of LCORL gene polymorphism on body size traits in horse populations. *Acta Scientiarum Anim Sci* 42, e47483.
- Nikbakhsh M, Varkoohi S, Seyedabadi HR (2023) Mitochondrial DNA D-loop hyper-variable region 1 variability in Kurdish horse breed. *Vet Med Sci* 9, 721-728.
- Pasandideh R, Abdoli R (2024) Study of genetic similarities and phylogenetic relationships of 10 Penaeidae shrimp species based on the sequences of the mitochondrial genome. *Aquatic Physiology and Biotechnology* 11(4), 49-81.
- Pramod RK, Velayutham D, PK S, et al. (2018) The complete mitochondrial genome of Indian cattle (*Bos indicus*). *Mitochondrial DNA Part B* 3, 207-208.

- Rabiei F, Abdoli R, Rafeie F, et al. (2022) Genetic similarities and phylogenetic analysis of wild and domesticated species of sheep based on mitochondrial genome. *Anim Prod Res* 11(3), 1-13.
- Roy SS, Dasgupta R, Bagchi A (2014) A review on phylogenetic analysis: a journey through modern era. *Comput Mol Biosci* 4, 39.
- Sheikh A (2023) Mitochondrial DNA sequencing of Kehilan and Hamdani horses from Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci*, 30 (9), 103741.
- Tamura K, Stecher G, Kumar S (2021) MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol Biol Evol* 38, 3022-3027.
- Xu X, Arnason U (1994) The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of the control region. *Gene* 148, 357-62.
- Yang Z, Rannala B (2012) Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nat Rev Genet* 13, 303-314.
- Zhang T, Lu H, Chen C, et al. (2012) Genetic diversity of mtDNA D-loop and maternal origin of three Chinese native horse breeds. *Asian-Australas J Anim Sci* 25, 921.