

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/275034359>

Markör sistemleri ve genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanımları

Article · December 2012

CITATIONS

6

READS

4,366

2 authors:



Yusuf Ozsensoy

Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine

73 PUBLICATIONS 162 CITATIONS

SEE PROFILE



E. Kurar

Necmettin Erbakan Üniversitesi

118 PUBLICATIONS 427 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Paternity testing of some sheep breeds in Turkey [View project](#)



Sivas Bölgesinde Yetiştirilen Mandalarda Et Verimi ile İlgili Gen Polimorfizmlerinin PZR-RFLP Yöntemiyle Araştırılması [View project](#)

Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları

Marker Systems and Applications in Genetic Characterization Studies

Yusuf ÖZŞENSOY*^{1,2}, Ercan KURAR²

¹Bitlis Eren Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, 13000, Bitlis

²Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, 42031, Konya

(* author for correspondence; yusufozsensoy@yahoo.com)

Received: 18 September 2012; Accepted: 20 December 2012

Abstract

Nowadays, owing to the developments in molecular biology, genetic markers are generally used to describe specific regions of the genome. Three different marker systems, namely, protein and DNA markers, are used in genome analyses and in various genetic studies. Following the discovery of polymerase chain reaction (PCR), PCR-based marker systems are widely preferred in genetic studies. Genetic characterization studies are critically important to determine the level of genetic diversity between and within populations, origin of domestication and migration and development of conservation programs. Different biochemical marker systems, alloenzymes, mitochondrial DNA and Y chromosome are used for genetic characterization studies. DNA markers, especially the polymorphic microsatellite markers, are the most preferable marker systems in PCR applications. Recent progresses in molecular biology techniques allow rapid and economical identification of single nucleotide polymorphisms analyses and their applications along with microsatellites.

Keywords: Genetic Characterization; Marker systems, Microsatellite, SNP, RFLP

Özet

Moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler sonucunda günümüzde markörler genel olarak genomun özgün bir bölgesini tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır. Genom analizleri ve genetik çalışmalarda morfolojik, protein ve DNA markörleri olmak üzere üç tip markör kullanılmaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonunun (PZR) keşfinden sonra genetik çalışmalarda PZR-temelli markörler daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır. Genetik karakterizasyon çalışmaları, popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitlilik seviyesinin belirlenmesi, koruma programlarının geliştirilmesi, evcilleştirilme ve göç yollarının tespiti gibi çalışmalar için oldukça önemlidir. Genetik karakterizasyon çalışmalarında farklı biyokimyasal markör sistemleri, alloenzimler, mitokondriyal DNA ve Y kromozomuna özgün markörler kullanılmaktadır. DNA markörleri, özellikle polimorfik mikrosatellit markörleri, PZR uygulamalarında en çok tercih edilen markör sistemini oluşturmaktadır. Son zamanlarda geliştirilen yeni moleküler biyoloji teknikleri tek nükleotid polimorfizmleri analizinin daha hızlı ve ekonomik olarak yapılabilmesine ve mikrosatellitler ile birlikte kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Genetik karakterizasyon, Markör Sistemleri, Mikrosatellit, SNP, RFLP

GİRİŞ

Genomun özgün bir bölgesini tanımlamak amacıyla birçok markör sistemi kullanılmaktadır. Genom

analizleri ve genetik çalışmalar başta olmak üzere moleküler çalışmalarda morfolojik,

protein ve DNA markörleri olmak üzere 3 tip markör kullanılmaktadır (Liu, 1998).

Morfolojik Markörler

Çok sayıdaki morfolojik markör insan, hayvan ve bitki genetik çalışmalarında kullanılmaktadır. Genler ve kromozomlar hakkındaki bilgi eksikliğinden dolayı ilk çalışmalar, göz rengi, kanat yapısı, boynuzluluk, deri rengi gibi basit Mendel kalıtımı gösteren özellikler üzerinde yapılmıştır. Bu gibi morfolojik karakterler, özgün genler için güvenilir indikatörler olarak kullanılabilirler ve bu özellikleri kodlayan genlerin kromozom üzerinde yerlerinin tanımlanmasında faydalı olmaktadır. Morfolojik markörlerin gözlenmesi kolay olmasına rağmen alel sayılarının nispeten az olmasından dolayı kullanımı kısıtlı kalmaktadır (Liu, 1998).

Protein Markörleri

Amino asit bileşimi, moleküler ağırlıkları ve antikor-antijen ilişkilerindeki farklılıklar nedeniyle proteinler için farklı aleller bulunabilmektedir. Moleküler büyüklük ve amino asit bileşimi farklılıklardan dolayı proteinler, jel elektroforez yöntemi kullanılarak kolaylıkla ortaya çıkarılabilir ve genetik markör olarak kullanılabilirler. Genetik çalışmalarda ilk zamanlarda protein polimorfizmlerinin araştırılması amacıyla kan antijenleri ve izoenzim markörleri yaygın olarak kullanılmıştır. İzoenzimler, bir enzimin alternatif bir formudur ve aynı enzim aktivitesine sahip olmalarına rağmen elektroforetik hareketleri farklılık göstermektedir (Liu, 1998). Genetik çalışmalarda kan ve doku proteinleri markör olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat özellikle kan grubu ve protein markör sistemlerinin genomun bazı bölgelerinde toplanmış bulunmaları, polimorfizm değerlerinin nispeten düşük olması, özgün olarak kan örneklerine gereksinim duyulması, iş yükünün ağır olması ve analizlerin uzun zaman alması nedeniyle ve moleküler biyolojideki gelişmelere bağlı olarak yerini DNA temelli markörlere bırakmıştır (Kurur, 2001).

DNA Temelli Markörler

DNA markörleri, bir tür içerisindeki farklı bireylerde dizi polimorfizmi gösteren DNA bölgeleridir ve varyasyonun belirlenmesinde günümüzde en sık kullanılan yöntemdir (Liu, 1998). Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR) keşfinden sonra genetik çalışmalarda PZR temelli

markörler daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Karry Mullis tarafından 1985 yılında ilk kez ortaya konulan bu teknoloji sayesinde genomun özgün bölgelerinin *in vitro* şartlarda çoğaltılabilmesi ve elektroforez teknikleri ile görüntülenmesi mümkün hale gelmiştir. DNA teknolojisi ve moleküler biyolojideki hızlı gelişmeye paralel olarak daha ekonomik, kolay ve polimorfik olmalarından dolayı özellikle PZR temelli DNA markör sistemleri (RFLP, RAPD, EST, STS, SSCP, AFLP, STR ve SNP) genetik çalışmalarda daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Weber and May, 1989; Liu, 1998).

Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri

Restriksiyon endonükleaz (RE) enzim kesimleri ile oluşturulan farklı DNA parça uzunlukları restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri (RFLP-“Restriction fragment length polymorphism”) olarak adlandırılmaktadır. RE’leri, DNA diziliminde belirli sırayla bulunan nükleotidlerden kendisine özgü özel tanıma dizilimi bölgelerini tanıyarak bu dizilimin belli bir noktasından keserek DNA’yı ikiye ayırmaktadır. Her bir RE’nin kendisine özel kesim bölgeleri bulunmaktadır.

RFLP teknolojisi ile DNA dizisinde bulunan dizilim farklılıkları kolayca tespit edilebilmektedir. RFLP’lerin belirlenmesinde DNA öncelikle bir RE enzimi ile kesilerek DNA parçacıkları agaroz jel elektroforezinde ayrıştırılır. DNA dizilim farklılıklarına göre genom bölgesinde farklı RE kesim alanları ve dolayısıyla bireyler arasında farklı DNA fragman profilleri oluşacaktır. Alkali jelde denatüre olmuş DNA fragmanları Southern blot yöntemi ile nitrosetülöz kâğıdı üzerine alınır. Radyoaktif işaretli bir DNA probu kullanılarak özgün DNA fragmanları ve profili tespit edilebilir (Botstein *et al.*, 1980).

RFLP markörlerin en önemli avantajı özgün dizi bilgisine ihtiyaç bulunmamasıdır. RFLP yöntemi, türler, cinsler hatta büyük popülasyonların analizinde kullanılabilmektedir. Polimorfizm oranı çok

yüksek olmasından dolayı aile ağacı ve haritalama analizlerinde tercih edilen markör sistemi olmuştur. RFLP markör sisteminin dezavantajları ise; analizin yapılabilmesi için yeterli miktarda DNA'ya ihtiyaç duyulması ile birlikte teknolojik olarak pahalı, uzun ve yorucu bir yöntem olmasıdır (Botstein *et al.*, 1980).

Tek zincir konformasyon polimorfizmleri

Tek zincir konformasyon polimorfizmi (SSCP-“Single-strand conformational polymorphism”) markörleri, bir DNA dizilim bölgesindeki (1000 baz çiftinden daha kısa) dizi varyantları ve mutasyonları (özellikle nokta mutasyonları) belirlemede kullanılan bir markör sistemidir (Orita *et al.*, 1989). PZR ile çoğaltılan bir genom bölgesi, uygun ısıda denatürasyona tabi tutularak mutasyon bölgesinde II. ve III. DNA konformasyonlarının oluşturulması esasına dayanmaktadır. Varyasyona bağlı olarak oluşan II. ve III. konformasyondaki DNA molekülleri jel elektroforezinde farklı bant profilleri oluşturarak varyantların tespitine olanak sağlamaktadır. Teknoloji olarak basit olmasına rağmen, her bir mutasyon için farklı ortamların oluşturulması gerekliliği, bu tekniğin uygulamasını kısıtlayan en önemli etkindir (Liu, 1998).

Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA

Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD-“Randomly amplified polymorphic DNA”) markörleri, PZR tabanlı olup ilk kez Williams *et al.*, (1990) tarafından geliştirilmiştir. Rastgele nükleotid dizilimine sahip olan tek bir primerin kullanılmasıyla DNA parçaları çoğaltılmakta ve oluşan farklı bant profiline göre DNA polimorfizmi tespit edilebilmektedir. Bu markör kullanılarak yapılan çalışmalarda, aynı lokustaki iki farklı alel belirli büyüklükteki bantların varlığıyla ya da yokluğuyla ayırt edilebilmektedir (Liu, 1998).

RAPD markörlerinin avantajları, DNA dizi bilgisine ihtiyacın olmaması, diğer markörlere göre ucuz ve daha az miktarda DNA ile kısa sürede sonuçlar alınabilmesi olması rağmen en önemli dezavantajı diğer markörlere göre özellikle RFLP'ye göre güvenilirliğinin düşük olmasıdır. Bundan dolayı genellikle RFLP ile birlikte değerlendirmeye alınırlar (Williams *et al.*, 1990).

Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi

Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP-“Amplified fragment length polymorphism”)

tekniği, RE enzimleri ile kesilmiş genomik DNA parçalarının seçici PZR ile çoğaltılması temeline dayanmaktadır. Bu teknik, DNA'nın enzimlerle kesilmesi ve oligonükleotid adaptörlerin bağlanması, kesilen bölgelerin seçici PZR yöntemiyle çoğaltılması ve çoğalan bölgenin poliakrilamid jelde analiz edilmesi olmak üzere 3 temel aşamadan meydana gelmektedir. RE ile kesilen parça bölgeleri nükleotid dizilimi bilinmeden jel elektroforez yöntemi ile görüntülenebilmektedir. Parmak izi analizlerinde ağırlıklı olarak kullanılan AFLP markör sistemi, RFLP markörüne benzer özelliklere sahip olmakla birlikte RFLP'ye göre analizi daha kolaydır ve daha az miktarda DNA'ya gereksinim duymaktadır (Vos *et al.*, 1995).

Tek nükleotid polimorfizmleri

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP-“Single nucleotide polymorphism”) genomun herhangi bir bölgesindeki tek nükleotid dizilim farklılıklarıdır. Genomda oldukça yaygın bulunan bu markörlere intron ve ekzon bölgelerinde, 500–1000 bç sıklıkta rastlanılabilir (Wang *et al.*, 1998). Genellikle iki alele sahip olan SNP markörlerinin polimorfizmleri daha düşük kalmakta, veri tabanı katalog bilgisine ve polimorfizm dizi bilgisine ihtiyaç duyulmaktadır (Smigielski *et al.*, 2000). SNP'ler araştırmacıların ihtiyaçlarına göre çalışmaları kolaylaştırmak için dizi konumu, fonksiyonu, türler arası homoloji ve heterozigotluk derecesi olmak üzere 4 büyük bilgi ekseni tek veya daha fazlası bir arada olmak üzere düzenlenebilmektedir (Smigielski *et al.*, 2000). Genomda bilinen 1.42 milyon SNP'nin her 1.91 Kbç başına 1 SNP yoğunlukta bulunduğu bilinmekle birlikte ekson gen bölgelerinde 60 000 SNP bulunduğu ve eksonun %85'inin SNP'nin 5 Kbç yakınında yer aldığı belirlenmiştir (The International SNP Map Working Group, 2001). SNP bilgilerine ulaşmak için; GenBank, PubMed, LocusLink ve Genome Sequence gibi kaynak bilgiler ile NCBI veri tabanındaki bilgiler kullanılmaktadır (Smigielski *et al.*, 2000). Geliştirilen yeni

moleküler biyoloji teknikleri (mikrodizin, gerçek zamanlı PCR) ile çok sayıda SNP'nin analizi daha hızlı ve ekonomik olarak yapılabilmektedir. SNP'ler genetik çeşitlilik, popülasyon yapısı, kantitatif özellik lokusları (QTL), markör destekli seleksiyon (MAS) çalışmalarında ve ailesel ilişkilerin araştırılmasında yaygın kullanılmaktadır.

Mitokondriyal DNA

Maternal kalıtım gösteren mitokondrial DNA (mtDNA), çift zincirli, halkasal yapıda ve aerobik solunumu destekleyen genleri içermektedir. mtDNA toplam genetik materyalin %0.3'ünü oluşturmaktadır (Rokas *et al.*, 2003; Başaran, 2004). Tipik bir somatik hücre 500-1000 mitokondri içermektedir (Rokas *et al.*, 2003). mtDNA'da gözlenen mutasyon oranı nükleer DNA'ya (nDNA) göre daha hızlıdır. Bu durumun sebebi olarak, mtDNA'da meydana gelen mutasyonların nDNA'da meydana gelen mutasyonlardan yaklaşık 10-20 kat daha fazla olması ve mtDNA'nın tamir mekanizmasının bulunmaması olduğu gösterilmektedir. Sonuçta oluşan mutasyon oranı, mtDNA'nın baz diziliminde çok farklı varyasyonların oluşmasına yol açmaktadır (Başaran, 2004). mtDNA, canlıların orjinleri, göç haritalarının çıkarılması, adli tıp, dejeneratif hastalıkların sebebinin araştırılmasında ve kanser çalışmalarında kullanılmaktadır. mtDNA, rekombinasyon eksikliğinin tespiti ve genetik olarak klonlanan canlıların kalıtımının tespit edilmesinde yaygın kullanılmaktadır (Rokas *et al.*, 2003). mtDNA'nın kodlanan bölgesindeki varyasyonun iyi anlaşılması popülasyonların genetik sonucunun (filogenetik geçmişinin) belirlenmesinde yararlı olacaktır (Finnilä *et al.*, 2001).

Mikrosatellitler

Genomda bir lokusta arka arkaya gelen rastgele tekrar dizilerine kısa ardışık tekrarlar (STR-“Short Tandem Repeat”) denilmektedir. STR'lerin 1-6 bç tekrarlarından oluşmuş markörlere mikrosatellit markörler veya basit dizi tekrarları (SSR-“Simple Sequence Repeat”) olarak isimlendirilmektedir (Weber and May, 1989; Liu, 1998). Genomda 9-100 bç arasında değişen rastgele dizi tekrarları ise minisatellit markörler veya değişken ardışık nükleotid tekrarlar (VNTR-“Variable Number of Tandem Repeats”) olarak tanımlanmaktadır. Mikrosatellitlerin tekrar sayısı genelde 100'den,

minisatellitlerin tekrar sayısı ise 1000'den daha azdır (Liu, 1998). Mikrosatellitler prokaryot ve ökaryot genomun herhangi bir bölgesinde bulunabilmektedir. Prokaryotlarda birçok biyolojik fonksiyona sahip olduğu halde ökaryot hücrelerde rolü tam olarak bilinmemektedir (Bennett, 2000). Mikrosatellit markörler, yaygın olarak 2 nükleotidli tekrarlardan [(CA)_n] oluşmakla birlikte farklı formlarda da (AC, AT, AAC, AAT, CCG vb) bulunabilmektedir (Ellegren *et al.*, 1997; Orti *et al.*, 1997; Bruford *et al.*, 2003).

STR markörleri, PZR teknolojisinin yardımıyla genetik çalışmalarda en çok tercih edilen markör sistemini oluşturmaktadır (Weber and May, 1989; Liu, 1998). Mikrosatellitlerde tekrar bölgelerini kuşatan DNA dizileri bir türün bireylerinde aynı olmasına rağmen tekrar dizilim sayıları bireyler hatta bireyin homolog kromozomları arasında dahi farklılık gösterebilmektedir. Üç nükleotid tekrarlı mikrosatellit bölgelerinin %60 oranında polimorfik olduğu, 2 bç tekrarlı mikrosatellitlerin ise %100 polimorfik özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Metta *et al.*, 2004). Mikrosatellitler, genomda yaygın olarak bulunmaları, polimorfizm oranının yüksek olması ve kullanımının kolay olması nedeniyle birçok moleküler biyoloji çalışmasında rahatlıkla kullanımı tercih edilmektedir.

GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE GENETİK KARAKTERİZASYON

Hayvansal üretimde genetik çeşitlilik, ıslah programlarının temelini oluşturmaktadır. Genetik çeşitlilik, belli bir coğrafik bölgeye uyum sağlamış, ilgili bölgede yaygın olarak yetiştirilen canlı türlerinin, bu türlere ait ırkların genetik niteliklerini (kalıtsal bilginin zenginliğini) ve içinde yaşadıkları ekosistemde birbirleri ile ilişkilerinin niteliğini ifade eder. Evcil hayvanlarda genetik çeşitlilik, ırk içi ve ırklar arası olmak üzere iki çeşittir.

Genetik karakterizasyon çalışmaları, ırklar arası ve ırk içi genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve ırkların tanımlanması amacıyla önemli bir yere sahiptir. Dünyada

ve Türkiye’de 1980’li yıllarda yerli ırkların genetik yapıları ve bazı verim özellikleri ile olan ilişkileri kan ve süt protein polimorfizmi (Ceriotti *et al.*, 2003; Ibeagha-Awemu and Erhardt, 2005) kullanılarak incelenirken en son gelişmelerle birlikte mikrosatellit markörler ve SNP’ler (Cañón *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2006; McKay *et al.*, 2008; Kang *et al.*, 2009; Molaei *et al.*, 2009) daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

İrkların kökeni ve evcilleştirilme bölgelerinin tespit edilmesi amacıyla genetik karakterizasyon ve arkeolojik çalışmalar yapılmaktadır. Avrupa ırklarının göç yollarının Tuna Nehri boyunca Kuzeyden Merkezi Avrupa’ya ve Akdeniz kıyısı boyunca olmak üzere iki farklı göç yolu izlediği, sığır, koyun, keçi, domuz ve mandanın iki farklı Asya Bölgesi’nde ilk evcilleştirilmeye başlandığı bildirilmektedir (Bruford *et al.*, 2003). Bu merkezlerden en eski olanı Doğu-Güneydoğu Anadolu bölgesini kapsamaktadır ve ırkların bu bölgeden tüm Dünya’ya özellikle Anadolu’dan Avrupa’ya yayıldığı belirtilmektedir (Loftus *et al.*, 1994; 1999; Luikart *et al.*, 2001; Troy *et al.*, 2001; Hiendleder *et al.*, 2002; Cymbron *et al.*, 2005).

Genetik karakterizasyon çalışmalarında mikrosatellitler, insan (Bowcock *et al.*, 1994; Deka *et al.*, 1995), sığır (MacHugh *et al.*, 1997; Loftus *et al.*, 1999; Edwards *et al.*, 2000; Cañón *et al.*, 2001), keçi (Luikart *et al.*, 2001; Maudet *et al.*, 2002), koyun (Mukesh *et al.*, 2006; Lawson Handley *et al.*, 2007; Molaei *et al.*, 2009), köpek (Boyko *et al.*, 2009; Kang *et al.*, 2009), at (Luis *et al.*, 2007), eşek (Aranguren-Méndez *et al.*, 2002), domuz (Behl *et al.*, 2006; Sollera *et al.*, 2009), manda (Flamand *et al.*, 2003) ve diğer birçok hayvan türlerinde (Cosse *et al.*, 2007; Vijh *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2009) kullanılmaktadır.

Genetik karakterizasyon çalışmalarında mikrosatellitler dışında farklı biyokimyasal markör sistemleri de (Moazami-Goudarzi *et al.*, 1997; Kantanen *et al.*, 1999; 2000; Ceriotti *et al.*, 2003; Ibeagha-Awemu and Erhardt, 2005) kullanılmıştır. AFLP (Negrini *et al.*, 2007), mtDNA (Loftus *et al.*, 1994; Bradley *et al.*, 1996; Finnillä *et al.*, 2001; Mannen *et al.*, 2004), Y kromozomuna özgün mikrosatellitler (Edwards *et al.*, 2000; Cai *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007; Kantanen *et al.*, 2009) ağırlıklı olarak kullanılmakla birlikte SNP (Li *et al.*, 2006; McKay *et al.*, 2008) markörleri de kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca genetik karakterizasyon çalışmalarında markör sistemleri

dışında aile ağacı kayıtlarından da yararlanılmaktadır (Trinderup *et al.*, 1999; Honda *et al.*, 2006).

Sığır ırkları üzerinde yapılan mikrosatellit markörler ile yapılan analizlerinde Taurin ve Zebu karışımı bulunmamışken diğer markör sistemlerinden olan Y kromozomu ve mtDNA ile yapılan çalışmalar birlikte değerlendirildiği zaman Y kromozomu markörü verilerinde bu ırklarda Zebu karışımının olduğu belirlenmiştir (Lirón *et al.*, 2006).

SNP’ler ise bitkiler, deniz ürünleri ve birçok hayvan türünde moleküler çalışmalarda aynı anda sayıca fazla miktarda kullanılmaktadır (Muir *et al.*, 2008; Matukumalli *et al.*, 2009; Yan *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2012).

Sonuç olarak markör sistemlerinde PZR teknolojisi öncesi birçok markör sistemi kullanılırken, PZR teknolojisi ile birlikte mikrosatellitler ağırlıklı kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda ise SNP markörleri üzerinde çalışmalar artmış ve SNP çipleri oluşturulmaya başlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Aranguren-Méndez J, Jordana J, Gomez M. Genetic conservation of five endangered Spanish donkey breeds. *J Anim Breed Genet.* 119(4): 256–263, 2002.
- Başaran A. Tıbbi biyoloji ders kitabı. Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri, 7. Baskı. Bursa. 2004.
- Behl R, Sheoran N, Behl J, Vijh RK. Genetic analysis of Ankamali pigs of India using microsatellite markers and their comparison with other domesticated Indian pig types. *J Anim Breed Genet.* 123(2): 131–135, 2006.
- Bennett P. Demystified... Microsatellites. *Journal of Clinical Pathology. Mol Pathol.* 53: 177–183, 2000.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment

- length polymorphisms. *Am J Hum Genet.* 32: 314–331, 1980.
- Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature.* 368(6470): 455–457, 1994.
- Boyko AR, Boyko RH, Boyko CM, Parker HG, Castelhamo M, Corey L, Degenhardt JD, Auton A, Hedimbi M, Kityo R, Ostrander EA, Schoenebeck J, Todhunter RJ, Jones P, Bustamante CD. Complex population structure in African village dogs and its implications for inferring dog domestication history. *Proc Natl Acad Sci USA.* 106(33): 13903–13908, 2009.
- Bradley DG, MacHugh DE, Cunningham P, Loftus RT. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 93(10): 5131–5135, 1996.
- Bruford MW, Bradley DG, Luikart G. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nat Rev Genet.* 4(11): 900–910, 2003.
- Cai X, Chen H, Wang S, Xue K, Lei C. Polymorphisms of two Y chromosome microsatellites in Chinese cattle. *Genet Sel Evol.* 38: 525–534, 2006.
- Cañón J, Alexandrino P, Bessa I, Carleos C, Carretero Y, Dunner S, Ferran N, Garcia D, Jordana J, Laloë D, Pereira A, Sanchez A, Moazami-Goudarzi K. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genet Sel Evol.* 33(3): 311–332, 2001.
- Cerioti G, Caroli A, Rizzi R, Crimella C. Genetic relationships among taurine (*Bos taurus*) and zebu (*Bos indicus*) populations as revealed by blood groups and blood proteins. *J Anim Breed Genet.* 120: 57–67, 2003.
- Cosse M, González S, Maldonado JE. Cross-amplification tests of ungulate primers in the endangered Neotropical pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Genet Mol Res.* 6(4): 1118–1122, 2007.
- Cymbron T, Freeman AR, Isabel Malheiro M, Vigne JD, Bradley DG. Microsatellite diversity suggests different histories for Mediterranean and Northern European cattle populations. *Proc Biol Sci.* 272(1574): 1837–1843, 2005.
- Deka R, Jin L, Shriver MD, Yu LM, DeCoo S, Hundrieser J, Bunker CH, Ferrell RE, Chakraborty R. Population genetics of dinucleotide (dC-dA)_n.(dG-dT)_n polymorphisms in world populations. *Am J Hum Genet.* 56(2): 461–474, 1995.
- Edwards CJ, Gaillard C, Bradley DG, MacHugh DE. Y-specific microsatellite polymorphisms in a range of bovid species. *Anim Genet.* 31: 127–130, 2000.
- Ellegren H, Moore S, Robinson N, Byrne K, Ward W, Sheldon BC. Microsatellite evolution-a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Mol Biol Evol.* 14(8): 854–860, 1997.
- Finnilä S, Lehtonen MS, Majamaa K. Phylogenetic Network for European mtDNA. *Am J Hum Genet.* 68: 1475–1484, 2001.
- Flamand JRB, Vankan D, Gairhe KP, Duong H, Barker JSF. Genetic identification of wild Asian water Buffalo in Nepal. *Anim Cons.* 6: 265–270, 2003.
- Hiendleder S, Kaupe B, Wassmuth R, Janke A. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proc Biol Sci.* 269(1494): 893–904, 2002.

- Honda T, Fujii T, Nomura T, Mukai F. Evaluation of genetic diversity in Japanese Brown cattle population by pedigree analysis. *J Anim Breed Genet.* 123: 172–179, 2006.
- Ibeagha-Awemu EM, Erhardt G. Genetic structure and differentiation of 12 African *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds, inferred from protein and microsatellite polymorphisms. *J Anim Breed Genet.* 122(1): 12–20, 2005.
- Kang BT, Kim KS, Min MS, Chae YJ, Kang JW, Yoon J, Choi J, Seong JK, Park HC, An J, Lee MH, Park HM, Lee H. Microsatellite loci analysis for the genetic variability and the parentage test of five dog breeds in South Korea. *Genes Genet Syst.* 84(3): 245–251, 2009.
- Kantanen J, Olsaker I, Adalsteinsson S, Sandberg K, Eythorsdottir E, Pirhonen K, Holm LE. Temporal changes in genetic variation of north European cattle breeds. *Anim Genet.* 30(1): 16–27, 1999.
- Kantanen J, Olsaker I, Holm LE, Lien S, Vilkkilä J, Brusgaard K, Eythorsdottir E, Danell B, Adalsteinsson S. Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. *J Hered.* 91(6): 446–457, 2000.
- Kantanen J, Edwards CJ, Bradley DG, Viinalass H, Thessler S, Ivanova Z, Kiselyova T, Cinkulov M, Popov R, Stojanović S, Ammosov I, Vilkkilä J. Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (*Bos taurus*). *Heredity.* 103(5): 404–415, 2009.
- Kurar E. Comparative physical and linkage mapping of bovine chromosome 24 with human chromosome 18. *Doktora Tezi (PhD Thesis)*. University of Wisconsin-Madison, 2001.
- Lawson Handley L-J, Byrne K, Santucci F, Townsend S, Taylor M, Bruford MW, Hewitt GM. Genetic structure of European sheep breeds. *Heredity.* 99: 620–631, 2007.
- Li J, Wang G, Bai Z. Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chinese freshwater pearl mussel (*Hyriopsis cumingii*) estimated by microsatellite DNA markers. *Aquaculture.* 287: 286–291, 2009.
- Li MH, Adamowicz T, Switonski M, Ammosov I, Ivanova Z, Kiselyova T, Popov R, Kantanen J. Analysis of population differentiation in North Eurasian cattle (*Bos taurus*) using single nucleotide polymorphisms in three genes associated with production traits. *Anim Genet.* 37(4): 390–392, 2006.
- Li MH, Zerabruk M, Vangen O, Olsaker I, Kantanen J. Reduced genetic structure of north Ethiopian cattle revealed by Y-chromosome analysis. *Heredity.* 98: 214–221, 2007.
- Lirón JP, Peral-García P, Giovambattista G. Genetic characterization of Argentine and Bolivian Creole cattle breeds assessed through microsatellites. *J Hered.* 97(4): 331–339, 2006.
- Liu BH. Statistical genomics: Linkage, mapping, and QTL analysis. CRC Press LLC, Boca Raton New York. 1998.
- Loftus RT, MacHugh DE, Bradley DG, Sharp PM, Cunningham P. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 91(7): 2757–2761, 1994.
- Loftus RT, Ertuğrul O, Harba MH, El-Barody AA, MacHugh DE, Park SDE, Bradley DG. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: The Near East. *Mol Ecol.* 8: 2015–2022, 1999.
- Luikart G, Gielly L, Excoffier L, Vigne JD, Bouvet J, Taberlet P. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proc Natl Acad Sci USA.* 98(10): 5927–5932, 2001.

- Luís C, Juras R, Oom MM, Cothran EG. Genetic diversity and relationships of Portuguese and other horse breeds based on protein and microsatellite loci variation. *Anim Genet.* 38(1): 20–27, 2007.
- MacHugh DE, Shriver MD, Loftus RT, Cunningham P, Bradley DG. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics.* 146(3): 1071–1086, 1997.
- Mannen H, Kohno M, Nagata Y, Tsuji S, Bradley DG, Yeo JS, Nyamsamba D, Zagdsuren Y, Yokohama M, Nomura K, Amano T. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle. *Mol Phylogenet Evol.* 32(2): 539–544, 2004.
- Matukumalli LK, Lawley CT, Schnabel RD, Taylor JF, Allan MF, Heaton MP, O'Connell J, Moore SS, Smith TPL, Sonstegard TS, Van Tassell CP. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PLoS One.* 4(4): e5350, 2009.
- Maudet C, Miller C, Bassano B, Breitenmoser-Würsten C, Gauthier D, Obexer-Ruff G, Michallet J, Taberlet P, Luikart G. Microsatellite DNA and recent statistical methods in wildlife conservation management: Applications in Alpine ibex [*Capra ibex(ibex)*]. *Mol Ecol.* 11(3): 421–436, 2002.
- McKay SD, Schnabel RD, Murdoch BM, Matukumalli LK, Aerts J, Coppieters W, Crews D, Dias Neto E, Gill CA, Gao C, Mannen H, Wang Z, Van Tassell CP, Williams JL, Taylor JF, Moore SS. An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel. *BMC Genetics.* 9: 37. 2008 from <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/9/37>
- Metta M, Kanginakudru S, Gudiseva N, Nagaraju J. Genetic characterization of the Indian cattle breeds, Ongole and Deoni (*Bos indicus*), using microsatellite markers – a preliminary study. *BMC Genetics.* 5(16): 2004 from <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/5/16>
- Moazami-Goudarzi K, Laloë D, Furet JP, Grosclaude F. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Anim Genet.* 28(5): 338–345, 1997.
- Molaei V, Osfoori R, Eskandari Nasab MP, Qanbari S. Genetic relationships among six Iranian indigenous sheep populations based on microsatellite analysis. *Small Rum Res.* 84: 121–124, 2009.
- Muir WM, Wong GKS, Zhang Y, Wang J, Groenen MAM, Crooijmans RPMA, Megens HJ, Zhang H, Okimoto R, Vereijken A, Jungerius A, Albers GAA, Lawley CT, Delany ME, MacEachern S, Cheng HH. Genome-wide assessment of worldwide chicken SNP genetic diversity indicates significant absence of rare alleles in commercial breeds. *Proc Natl Acad Sci USA.* 105(45): 17312–17317, 2008.
- Mukesh M, Sodhi M, Bhatia S. Microsatellite-based diversity analysis and genetic relationships of three Indian sheep breeds. *J Anim Breed Genet.* 123(4): 258–264, 2006.
- Negrini R, Nijman IJ, Milanese E, Moazami-Goudarzi K, Williams JL, Erhardt G, Dunner S, Rodellar C, Valentini A, Bradley DG, Olsaker I, Kantanen J, Ajmone-Marsan P, Lenstra JA, European Cattle Genetic Diversity Consortium. Differentiation of European cattle by AFLP fingerprinting. *Anim Genet.* 38(1): 60–66, 2007.
- Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci USA.* 86: 2766–2770, 1989.

- Orti G, Pearse DE, Avise JC. Phylogenetic assessment of length variation at a microsatellite locus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 94(20): 10745–10749, 1997.
- Rokas A, Ladoukakis E, Zouros E. Animal mitochondrial DNA recombination revisited. *Trends Ecol Evol*. 18(8): 411–417, 2003.
- Smigielski EM, Sirotkin K, Ward M, Sherry ST. dbSNP: a database of single nucleotide polymorphisms. *Nucl Acids Res*. 28(1): 352–355, 2000.
- Sollera BP, Paiva SR, Faria DA, Guimarães SEF, Castro STR, Egito AA, Albuquerque MSM, Piovezan U, Bertani GR, Mariante AD. Genetic diversity of Brazilian pig breeds evidenced by microsatellite markers. *Livest Sci*. 123: 8–15, 2009.
- The International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*. 409: 928–933, 2001.
- Trinderup M, Jørgensen JN, Hansen M. Conservation considerations on Danish Shorthorn Cattle using pedigree analysis. *AGRI*. 26: 27–33, 1999.
- Troy CS, MacHugh DE, Bailey JF, Magee DA, Loftus RT, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature*. 410(6832): 1088–1091, 2001.
- Vijh RK, Tania MS, Mishra B, Kumar ST. Genetic diversity and differentiation of dromedarian camel of India. *Anim Biotechnol*. 18(2): 81–90, 2007.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucl Acids Res*. 23(21): 4407–4414, 1995.
- Wang DG, Fan JB, Siao CJ, Berno A, Young P, Sapolsky R, Ghandour G, Perkins N, Winchester E, Spencer J, Kruglyak L, Stein L, Hsie L, Topaloglou T, Hubbell E, Robinson E, Mittmann M, Morris MS, Shen N, Kilburn D, Rioux J, Nusbaum C, Rozen S, Hudson TJ, Lipshutz R, Chee M, Lander ES. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*. 280(5366): 1077–1082, 1998.
- Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet*. 44: 388–396, 1989.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl Acids Res*. 18(22): 6531–6535, 1990.
- Yan J, Shah T, Warburton ML, Buckler ES, McMullen MD, Crouch J. Genetic characterization and linkage disequilibrium estimation of a global maize collection using SNP markers. *PLoS One*. 4(12): e8451, 2009.
- Zhu C, Cheng L, Tong J, Yu X. Development and Characterization of New Single Nucleotide Polymorphism Markers from Expressed Sequence Tags in Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Int J Mol Sci*. 13(6): 7343–7353, 2012.