

XÁC ĐỊNH KIỂU GEN VÀ TẦN SUẤT LEN ẢNH HƯỞNG TẦM VÓC NGỰA KAZAKHSTAN KUSHUM

Nguyễn Bá Trung^{1*}, Lê Nữ Anh Thu^{2,3} và Phạm Thị Kim Phượng¹

Tóm tắt

Ngựa Kazakhstan Kushum hình thành từ ngựa địa phương lai với giống nhập như Thoroughbred, Trotter, Russian Don... Tầm vóc ngựa cao lớn, cung cấp thịt, chăn gia súc và phục vụ quân đội. Mục đích nghiên cứu là tìm hiểu phân bố kiểu gen và tần suất alen của các gen có thể mang đột biến điểm, ảnh hưởng tầm vóc qua phương pháp PCR-RFLP ở gen *HMGA2* g.81481064 $C > T$ (ảnh hưởng chiều cao vai-high mobility group AT-hook 2), gen *LASPI* g.23259732 $G > A$ (liên quan tầm vóc cao lớn- *LIM* and *SH3* protein 1), và gen *ZFAT* g.75550059 $C > T$ (liên quan chiều cao vai-zinc finger and AT hook domain containing). Kết quả, phân bố kiểu gen *TT*, *TC* và *CC* ở gen *HMGA2* tương ứng 86,4%, 13,6% và 0%, tần suất alen lặn *C* gây giảm chiều cao vai là 0,07. Kiểu gen *GG*, *GA* và *AA* ở gen *LASPI* là 13,6%, 72,8% và 13,6%, tần suất alen lặn *A* gây tăng tầm vóc là 0,5. Gen *ZFAT* có kiểu gen *CC*, *TC* và *TT* tương ứng là 72,7%, 27,3% và 0%, tần suất alen lặn *T* gây tăng chiều cao vai là 0,14. Như vậy, alen lặn *C* ở gen *HMGA2* có tần suất rất thấp, cho thấy quần thể có thể đã trải qua áp lực chọn lọc kiểu hình có tầm vóc cao lớn, thể hiện rõ qua tần suất xuất hiện cao ở alen lặn *A*, gây tăng chiều cao vai, thuộc gen *LAST1*. Thêm vào đó, quần thể tiếp tục có dấu hiệu mang alen lặn thuộc gen *ZFAT*, giúp tăng chiều cao vai. Vậy ngựa kushum có tầm vóc cao lớn, có xu hướng thích hợp di chuyển đường dài.

Từ khóa: gen *HMGA2*, *LASPI* và *ZFAT*, ngựa *Kushum*, tầm vóc.

ALLELE AND GENOTYPIC FREQUENCIES OF GENES ASSOCIATED TO BODY CONFORMATION IN KAZAKHSTAN KUSHUM HORSES

Abstract

Kazakhstan Kushum horses were formed from local breeds with imported breeds like Thoroughbred, Trotter, Russian Don ... Horses are tall stature, providing meat, herding cattle, and serving the army. The aim of study was to investigate the genotype distribution and the allele frequency of the genes that can carry the point mutation, associated to body conformation by PCR-RFLP method in the *HMGA2* gene g.81481064 $C > T$ (related to withers height-high mobility group AT-hook 2), the *LASPI* gene g.23259732 $G > A$ (related to higher stature- *LIM* and *SH3* protein 1), and the *ZFAT* gene g.75550059 $C > T$ (associated to withers height- zinc finger and AT hook domain containing). As a result, the distribution of *TT*, *TC* and *CC* genotypes in the *HMGA2* gene were 86.4%, 13.6% and 0% respectively, the frequency of recessive *C* allele caused a decrease in withers height of 0.07. Genotypes of *GG*, *GA* and *AA* in *LASPI* gene were 13.6%, 72.8% and 13.6%, the frequency of recessive *A* allele causing stature increase was 0.5. The *ZFAT* gene has *CC*, *TC*, and *TT* genotypes, respectively, 72.7%, 27.3%, and 0%, frequency of recessive *T* allele, causing withers height increase is 0.14. Thus, the recessive *C* allele in the *HMGA2* gene has a very low frequency, indicating that this population may be under strong selection pressure for particular body conformation, expressed through the high frequency in recessive allele $A = 0.5$ belongs to *LAST* gene. In addition, this population continued to show signs of a recessive allele belonging to the *ZFAT* gene, increasing withers height. Therefore, the kushum horse has a large stature, and tends to be suitable for long-distance travel.

Keywords: *HMGA2*, *Kushum* horses, *LASPI* and *ZFAT* gene, *Kushum* horses, stature.

¹ Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Tp. HCM.

² Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế;

* Tác giả liên hệ: Nguyễn Bá Trung. Email: nbtrung@agu.edu.vn; ĐT: 0918139960

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngựa Kushum được gây tạo ở miền Tây nước Kazakhstan từ năm 1931 đến 1976 bằng cách lai giữa ngựa địa phương với các giống nhập như Trotter, Thoroughbred và Russian Don (Dmitriez và Ernst, 1989). Giống này có khối xác lớn, dẻo dai, thích nghi tốt với môi trường đồng cỏ nửa sa mạc, chúng có vai trò quan trọng trong cộng đồng địa phương như giúp chăn gia súc, dê cừu và phục vụ quân đội. Tuy nhiên, đặc điểm di truyền phân tử liên quan đến đa dạng ngoại hình, thể chất, ... chưa được nghiên cứu.

Ngựa phục vụ con người bởi hoạt động thể chất của chúng. Dưới áp lực chọn lọc mạnh mẽ trong thời gian tiến hóa ngắn của chúng, đã dẫn đến sự đồng nhất kiểu gen trong các cá thể, tuy nhiên, vẫn có sự khác biệt đáng kể giữa các giống ngựa (Petersen và cs., 2013). Chúng mang đặc điểm riêng biệt liên quan đến hoạt động thể chất như cấu tạo cơ thể và kiểu dáng vận động. Gần đây, có nhiều nghiên cứu đa dạng di truyền phân tử trên ngựa, bao gồm các nghiên cứu liên quan đến sự ảnh hưởng rộng lớn của bộ gen (Petersen và cs., 2013). Kết quả, đa hình gen có liên quan chặt chẽ đến thể chất, cấu trúc cơ thể và đặc điểm vận động ở các giống ngựa khác nhau (Andersson và cs., 2012; Makvandi-Nejad và cs., 2012; Signer-Hasler và cs., 2012; Albertsdóttir và cs., 2011). Tần suất alen của các gen khác nhau rõ rệt giữa các giống ngựa, như giống dê cưỡi, đua và kéo xe (Promerová và cs., 2014; Makvandi-Nejad và cs., 2012; Petersen và cs., 2013).

Cơ sở di truyền biến đổi kích thước cơ thể ngựa đã được nghiên cứu bởi Signer-Hasler và cs. (2012) và Makvandi-Nejad và cs. (2012), qua phân tích ảnh hưởng bốn locus *HMGA2*, *ZFAT* và *LASPI* và *LCORL* giải thích 83% sự biến đổi kích thước ở ngựa.

Chỉ tiêu dài, rộng và sâu ngực tăng đáng kể (13,2%). Kiểu gen *CC* của gen *HMGA2* g.81481064 *C > T* tăng kích thước ở kiểu hình trước và sau tương ứng là 29,4 và 21,9% khi so sánh với kiểu gen *TT*, trong khi kiểu gen *TT* tăng điểm chu vi dài thân 6,9% (Sevane

và cs., 2016). Đột biến điểm tại *HMGA2* có vai trò to lớn trong xác định chiều cao ở ngựa và nhiều loài động vật khác (Weedon và cs., 2008; Boyko và cs., 2010). Đa hình SNP g.81481064 *C > T* trong *HMGA2* có liên quan chặt chẽ với chiều cao vai ở các giống ngựa khác nhau, alen lặn *C* của SNP này gây giảm cao vai (Makvandi-Nejad và cs., 2012).

Gen *LASPI* và các protein *LIM* và *SH3* có liên quan sự phát triển của động vật có xương sống, và có thể ảnh hưởng đến tầm vóc động vật. Trong đó, biểu hiện gen *LASPI* có thể ảnh hưởng đến sự hình thành mô sụn và quá trình biệt hóa tạo xương (Joos và cs., 2008; Hermann-Kleiter và cs., 2009; Lin và cs., 2004). Đa hình SNP g.23259732G *> A* trong *LASPI* có liên quan chặt chẽ chiều cao vai ở các giống ngựa khác nhau (Junior và cs., 2018). Đột biến (*G > A*) ở gen *LASPI* thể hiện sự khác biệt về chiều cao của động vật, alen *A* cho thấy mối liên hệ với ngựa có tầm vóc cao, trong khi alen *G*, ngay cả trong bệnh dị hợp tử, gây giảm chiều cao ở ngựa Brazil. Jun và cs (2014) nghiên cứu trên ngựa Marwari và xác định *LASPI* là gen ứng cử viên cho tầm vóc.

Ngoài ra, gen *ZFAT* mã hóa protein liên kết với DNA và có chức năng như một cơ quan điều hòa phiên mã liên quan đến quá trình tồn tại và chết tự nhiên của tế bào (Tsunoda và cs., 2010). Trong vùng 74,795,013 đến 76,254,733 bp bao gồm gen *ZFAT* được xác định là vùng ứng cử viên cho nghiên cứu chiều cao vai ở ngựa. Gen *ZFAT* có liên quan đến chiều cao vai ở một số giống ngựa (Makvandi-Nejad và cs., 2012; Signer-Hasler và cs., 2012). Trong đó, đột biến điểm SNP g.75550059 *C > T* có liên quan chặt chẽ với chiều cao vai ở các giống ngựa khác nhau. Alen lặn *T* của SNP này gây tăng chiều cao của vai (Makvandi-Nejad và cs., 2012). Hơn nữa, Signer-Hasler và cs (2012) cho rằng đột biến điểm SNP ở ngựa Franches-Montagnes có liên quan chặt chẽ đến chiều cao vai và các thành phần cơ thể khác.

Trong nghiên cứu này, đa hình SNP thuộc ba gen *HMGA2* g.81481064 *C > T*, *LASPI*

g.23259732 $G > A$, và *ZFAT* g.75550059 $C > T$ liên quan đến tầm vóc được phân tích trên 22 cá thể ngựa Kushum.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

22 mẫu máu được thu thập ngẫu nhiên từ quần thể ngựa Kushum ở 2 vùng Zhanibek và Kaztalov, nước Kazakhstan. Máu được lấy từ tĩnh mạch cổ và trữ trong ống chân không chứa EDTA chống đông. Tách chiết DNA từ các tế bào bạch cầu được thực hiện theo phương pháp phenol - chloroform. Các gen chức năng như *HMGA2*, *LASPI* và *ZFAT* đã được khuếch đại qua PCR bằng các cặp mồi (Bảng 1) và nhận dạng kiểu gen bằng PCR

- RFLP (Bảng 3). Phản ứng PCR được thực hiện trong hỗn hợp 10 μ L, gồm 10 ng DNA, 0,2 μ M mỗi, 0,25 μ mol / L dNTPs, dung dịch đệm 2 $\times$ PCR GoTaq DNA, 1 U Go *Taq* DNA polymerase (Toyobo, Osaka, Nhật Bản). Chu trình nhiệt được trình bày trong Bảng 2. Sau khi khuếch đại, các sản phẩm PCR và các sản phẩm cắt bởi enzyme cắt giới hạn đã được điện di trong gel agarose 1,5%, đệm TAE (15 - 45 phút/ 75 - 135 V), nhuộm màu bằng Gelred và quan sát bằng UV transilluminator. Tần số alen và kiểu gen được tính theo nguyên lý cân bằng Hardy Weinberg (HWE), dựa trên sự khác biệt giữa các giá trị được dự đoán và phát hiện ($p = P + H/2$, $q = Q + H/2$, trong đó p và q là tần suất alen.

Bảng 1. Trình tự đoạn mồi, và enzyme cắt giới hạn

Gene	Mồi (5' - 3')	Kích thước sản phẩm PCR (bp) ^a	Nguồn
<i>HMGA2</i>	F: TGATTTCAGTGTGCTTCTCT R: TTTATGTTGTTATCTGCCTGTG	246	Sevane và cs. (2016)
<i>LASPI</i>	F: ACACCCCAACACATACAACCC R: CAGGGGCATGTGCAGCTA	177	Tự thiết kế
<i>ZFAT</i>	R: GCAGAGACCCTTTGAGACC R: GCACCATTATGTTTCCTTCA	389	Sevane và cs. (2016)

Bảng 2. Chu trình nhiệt phản ứng PCR

Gene	Bước 1	Bước 2	Bước 3	Kết thúc
<i>HMGA2</i>	95°C, 10 phút 1 chu kỳ	95°C - 45 giây; 58°C - 60 giây; 72°C - 30 giây; 35 chu kỳ	72°C - 10 phút 1 cycle	8°C - ∞ 1 chu kỳ
<i>LASPI</i>	95°C, 10 phút 1 chu kỳ	95°C - 45 giây; 55°C - 30 giây; 72°C - 30 giây; 35 chu kỳ	72°C - 10 phút 1 chu kỳ	8°C - ∞ 1 chu kỳ
<i>ZFAT</i>	94°C, 30 giây 1 chu kỳ	95°C - 30 giây; 53°C - 60 giây; 72°C - 30 giây; 35 chu kỳ	72°C - 10 phút 1 chu kỳ	8°C - ∞ 1 chu kỳ

Bảng 3. Enzyme cắt giới hạn và xác định kiểu gen

Gene	Trình tự điểm cắt	Enzyme giới hạn	Nhiệt độ ủ (°C)	Thời gian ủ	Xác định kiểu gene
<i>HMGA2</i> g.81481064 $C > T$	5...AC/ GT..3	HpyCH4III	37	1 giờ	T = 247bp; C = 137, 110 bp
<i>LASPI</i> g.23259732 $G > A$	5...C/ CGC...3	AciI	37	1 giờ	G = 48, 129bp; A = 177bp
<i>ZFAT</i> g.75550059 $C > T$	5...TG/ CA...3	HpyCH4V	37	1 giờ	T = 267, 122bp; C = 389bp

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đa hình gen *HMGA2*

Đa dạng kiểu gen ảnh hưởng tầm vóc, kích thước cơ thể ngựa từ gen *HMGA2* g.81481064 $C > T$ đã được phân tích trên 22 cá thể ngựa Kushum. Kết quả cho thấy alen lặn C , gây giảm chiều cao vai, có tần suất rất thấp (0,07). Như vậy, quần thể này có thể đã trải qua áp lực lựa chọn kiểu hình cao lớn trong công tác sãn lọc ngựa giống.

Gen *HMGA2* giữ vai trò to lớn trong xác định chiều cao ở ngựa (Weedon và cs., 2008; Boyko và cs., 2010). Đột biến điểm SNP g.81481064 $C > T$ trong *HMGA2* có liên quan chặt chẽ với chiều cao vai ở các giống ngựa khác nhau, alen lặn C của SNP này gây

giảm chiều cao vai (Makvandi-Nejad và cs., 2012). Sau đó, Frischknecht và cs. (2015) mô tả SNP c.83 $G > A$ (p.G28E) trong *HMGA2* có liên quan chặt chẽ với chiều cao vai ở ngựa Shetland và alen C của SNP này có liên quan đến giảm chiều cao vai.

Từ Bảng 4, ta thấy có 19/22 con ngựa Kushum có kiểu gen TT , 3 con mang kiểu gen TC , không có cá thể nào mang kiểu gen đồng hợp tử lặn CC . Phân bố kiểu gen TT , TC và CC ở gen *HMGA2* tương ứng 86,4%, 13,6% và 0%, tần suất alen lặn C gây giảm chiều cao vai 0,07. Như vậy, quần thể ngựa Kushum này mang kiểu gen trội khá đồng nhất, có thể do kết quả quá trình gây tạo giống đã sàng lọc các tính trạng lặn gây giảm chiều cao vai trên ngựa.

Bảng 4. Phân bố kiểu gen và tần suất các alen

Gen	Phân bố kiểu gen (n)			Tần suất alen		HWE*
<i>HMGA2</i> g.81481064 $C > T$	TT	TC	CC	T	C	0.12
	19	3	0	0.93	0.07	
<i>LASPI</i> g.23259732 $G > A$	GG	GA	AA	G	A	NA
	3	16	3	0.5	0.5	
<i>ZFAT</i> g.75550059 $C > T$	CC	TC	TT	C	T	0.55
	16	6	0	0.86	0.14	

* HWE: Giá trị Chi-square trong Hardy Weinberg Equilibrium

3.2. Đa hình gen *LASPI*

Kết quả phân tích gen *LASPI* Bảng 4 cho thấy, sự hiện diện của ba kiểu gen: GG , GA và AA . Trong đó, tần suất xuất hiện cao nhất là kiểu gen GA (16 con ngựa, 72,8 %) và thấp nhất là GG và AA (3 ngựa, 13,6 %). Kiểu gen GG , GA và AA ở gen *LASPI* tương ứng là 13,6%, 72,8% và 13,6%, tần suất alen lặn A gây tăng tầm vóc ngựa là 0,5. Vậy, quần thể ngựa nghiên cứu mang năm mươi phần trăm gen lặn A có tiềm năng tăng tầm vóc cơ thể.

Gen *LASPI* có thể hoạt động như một phân tử thích nghi liên quan đến tín hiệu tế bào hoặc tổ chức cấu trúc tế bào xương. Gen *LASPI* và các protein *LIM* và *SH3* của nó có liên quan đến sự phát triển xương ở động vật có xương sống, và có thể ảnh hưởng đến tầm vóc động vật. Trong đó, sự biểu hiện của *LASPI* có thể ảnh hưởng đến sự hình thành

mô sụn và quá trình biệt hóa xương. (Joos và cs., 2008; Hermann-Kleiter và cs., 2009; Lin và cs., 2004).

Đa hình SNP g.23259732 $G > A$ trong *LASPI* có liên quan chặt chẽ với chiều cao vai ở các giống ngựa khác nhau. Alen lặn A của SNP này giúp tăng chiều cao vai ngựa (Makvandi-Nejad và cs., 2012). Sau đó, kết quả được xác nhận lại bởi Junior và cs., (2018)^[8], tác giả cho rằng trong gen *LASPI*, các alen của đột biến ($G > A$) biểu hiện sự khác biệt về chiều cao ở động vật. Alen A cho thấy mối liên hệ với ngựa có tầm vóc cao lớn, alen G có liên quan đến giảm chiều cao vai ở ngựa Brazil và tác giả đề xuất SNP này như một chỉ thị phân tử nhằm đánh giá chiều cao ở ngựa. Jun và cs. (2014) cũng đã đánh giá tầm vóc ngựa Marwari và xác định *LASPI* là gen ứng cử viên giám định tầm vóc ngựa. Vậy

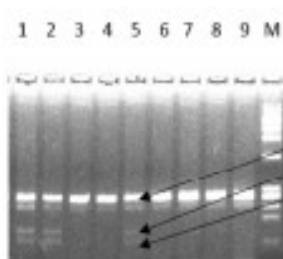
alen lặn $A = 0,5$ của gen *LASPI* g.23259732 $G > A$ phản ánh tiềm năng tăng kích thước, vóc dáng của giống ngựa Kushum này.

3.3. Đa hình gen ZFAT

Phân tích đa hình gen ZFAT Bảng 4 cho thấy sự hiện diện của ba kiểu gen: CC, TC, và TT lần lượt là 72,7%, 27,3%, và 0%, tần suất alen lặn T gây tăng chiều cao vai là 0,14.

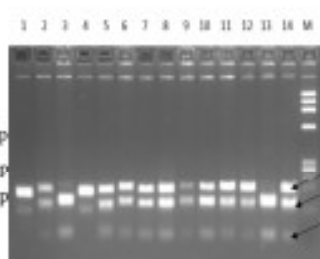
Gen ZFAT có liên quan đến chiều cao cơ thể ở một số giống ngựa. Trong đó, đa hình SNP g.75550059 $C > T$ liên quan chặt chẽ với

chiều cao vai ở các giống ngựa khác nhau. Alen lặn T của SNP này có liên quan đến tăng chiều cao vai (Makvandi-Nejad và cs., 2012). Hơn nữa, Signer-Hasler và cs (2012) cho rằng đa hình vùng SNP g.74798143 $A > G$ thuộc gen ZFAT ở ngựa Franches-Montagnes có liên quan chặt chẽ đến chiều cao vai và các thành phần cơ thể khác, alen lặn liên quan đến tăng chiều cao vai. Như vậy, quần thể ngựa Kushum này có dấu hiệu mang alen lặn ở gen ZFAT giúp tăng chiều cao vai.



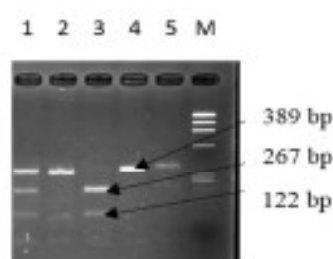
Hình 1. Kiểu gen *HMGA2*:
1,2,5(TC); 3,4,6,7,8,9(TT)

Giếng M: Thang DNA chuẩn (1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 271, 234, 194, 118, 72 bp). Giếng số 1-9 lần lượt là sản phẩm do enzyme HpyCH4III cắt đoạn *HMGA2* 247bp khuếch đại từ DNA tổng số của ngựa thứ 1 - 9.



Hình 2. Kiểu gen *LASPI*:
1,2,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13 (GA); 3, 13(GG)

Giếng M: Thang DNA chuẩn (1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 271, 234, 194, 118, 72 bp). Giếng số 1-14 lần lượt là sản phẩm do enzyme AciI cắt đoạn *LASPI* 177bp khuếch đại từ DNA tổng số của ngựa thứ 1-14.



Hình 3. Kiểu gen
ZFAT: 2,4,5(CC); 1(TC); 3(TT)

Giếng M: Thang DNA chuẩn (1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 271, 234, 194, 118, 72 bp). Giếng số 1-5 lần lượt là sản phẩm do enzyme HpyCH4V cắt đoạn *ZFAT* 389bp khuếch đại từ DNA tổng số của ngựa thứ 1 - 5. Giếng 3, 5: đối chứng kiểu gen lần lượt là TT và CC

4. KẾT LUẬN

Quần thể ngựa Kushum trong nghiên cứu này mang alen lặn C, gây giảm chiều cao vai, thuộc gen *HMGA2*, có tần suất rất thấp, cho thấy quần thể ngựa có thể đã trải qua áp lực lựa chọn tầm vóc cao lớn trong quá trình gây tạo giống mới, thể hiện rõ qua tần suất xuất hiện cao ở alen lặn A, gây tăng chiều cao vai ngựa, thuộc gen *LASPI*. Thêm vào đó, quần thể tiếp tục có dấu hiệu mang alen lặn thuộc gen *ZFAT*, giúp tăng chiều cao vai ngựa. Như vậy, ngựa kushum có tầm vóc cao lớn, có xu hướng thích hợp di chuyển đường

dài và phù hợp với thực tế khảo sát ngoài thực địa.

LỜI CẢM ƠN

Trân trọng cảm ơn các thành viên trong Hội các Nhà nghiên Cứu về Vật nuôi Bản địa đã tham gia vào nghiên cứu thực địa ở các nước Trung Á. Nghiên cứu này được tài trợ bởi Hiệp hội Phát triển Khoa học Nhật Bản (KAKENHI), đặc biệt là Giáo sư Tetsuo Kunieda, Đại học Khoa học Okayama, Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Andersson, L.S., Larhammar, M., Memic, F., Wootz, H., Schwochow, D., Rubin,

- C. J., Patra, K., Arnason, T., Wellbring, L., Hjälms, G., Imsland, F., Petersen, J.L., McCue, M.E., Mickelson, J.R., Cothran, G., Ahituv, N., Roepstorff, L., Mikko, S., Vallstedt, A. and Kullander, K. (2012). Mutations in DMRT3 affect locomotion in horses and spinal circuit function in mice. *Nature*. 488: 642-646.
- Albertsdóttir, E., Eriksson, S., Sigurdsson, Á. and Árnason, T. (2011). Genetic analysis of <breeding field test status> in Icelandic horses. *Journal of animal breeding and genetics*. 128(2): 124-132.
- Boyko, A.R., Quignon, P., Li, L., Schoenebeck, J. J., Degenhardt, J.D., Lohmueller, K.E., Zhao, K., Brisbin, A., Parker, H.G., VonHoldt, B. M., Cargill, M., Auton, A., Reynolds, A., Elkhouloun, A.G., Castelhana, M., Mosher, D. S., Sutter, N.B., Johnson, G.S., Novembre, J., Hubisz, M.J. and Ostrander, E. A. (2010). A simple genetic architecture underlies morphological variation in dogs. *PLoS biology*. 8(8): e1000451.
- Dmitriev, N. and Ernst, L. (1989). Kushum (Kushumskaya). In: *Animal genetics resources of the USSR*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma. 330-331.
- Frischknecht, M., Jagannathan, V., Plattet, P., Neuditschko, M., Signer-Hasler, H., Bachmann, I., Pacholewska, A., Drögemüller, C., Dietschi, E., Flury, C., Rieder, S. and Leeb, T. (2015). A Non-Synonymous HMGA2 Variant Decreases Height in Shetland Ponies and Other Small Horses. *PloS one*. 10(10): e0140749.
- Hermann-Kleiter, N., Ghaffari-Tabrizi, N., Blumer, M.J., Schwarzer, C., Mazur, M.A. and Artner, I. (2009). Lasp1 misexpression influences chondrocyte differentiation in the vertebral column. *The International journal of developmental biology*. 53(7): 983-991.
- Joos, H., Albrecht, W., Laufer, Reichel H. and Brenner R.E. (2008). IL-1 β Regulates FHL2 and Other Cytoskeleton-Related Genes in Human Chondrocytes. *Mol Med*. 14: 150-159.
- Junior, A.B., Quirino, C.R., Vega, W.H.O., Rua, M.A.S., David, C.M.G. and Jardim, J.G. (2018). Polymorphisms in the LASP1 gene allow selection for smaller stature in ponies. *Livestock Science*. 216: 160-164.
- Jun, J., Cho, Y.S., Hu, H., Kim, H.M., Jho, S., Gadhvi, P., Park, K.M., Lim, J., Paek, W.K., Han, K., Manica, A., Edwards, J.S. and Bhak, J. (2014). Whole genome sequence and analysis of the Marwari horse breed and its genetic origin. *BMC genomics*. 15 Suppl 9(Suppl 9), S4.
- Lin, Y.H., Park, Z.Y., Lin, D., Brahmabhatt, A.A., Rio, M.C., Yates, J.R. and Klemke, R.L. (2004). Regulation of cell migration and survival by focal adhesion targeting of Lasp-1. *The Journal of cell biology*. 165(3): 421-432.
- Makvandi-Nejad, S., Hoffman, G.E., Allen, J.J., Chu, E., Gu, E., Chandler, A.M., Loreda, A. I., Bellone, R.R., Mezey, J.G., Brooks, S.A. and Sutter, N.B. (2012). Four loci explain 83% of size variation in the horse. *PloS one*. 7(7): e39929.
- Petersen, J.L., Mickelson, J.R., Rendahl, A.K., Valberg, S.J., Andersson, L.S., Axelsson, J., Bailey, E., Bannasch, D., Binns, M.M., Borges, A.S., Brama, P., da Câmara Machado, A., Capomaccio, S., Cappelli, K., Cothran, E.G., Distl, O., Fox-Clipsham, L., Graves, K.T., Guérin, G., Haase, B. and McCue, M.E. (2013). Genome-wide analysis reveals selection for important traits in domestic horse breeds. *PLoS genetics*. 9(1): e1003211.
- Promerová, M., Andersson, L.S., Juras, R., Penedo, M.C., Reissmann, M., Tozaki, T., Bellone, R., Dunner, S., Hořín, P., Imsland, F., Imsland, P., Mikko, S., Modrý, D., Roed, K.H., Schwochow, D., Vega-Pla, J.L., Mehrabani-Yeganeh, H., Yousefi-Mashouf, N., Cothran, E.G., Lindgren, G. and Andersson, L. (2014).

- Worldwide frequency distribution of the 'Gait Keeper' mutation in the DMRT3. Gene. Anim. Genet. 45:274-282.
- Sevane, N., Dunner, S., Boado, A. and Cañon, J. (2017). Polymorphisms in ten candidate genes are associated with conformational and locomotive traits in Spanish Purebred horses. Journal of applied genetics. 58(3): 355-361.
- Signer-Hasler, H., Flury, C., Haase, B., Burger, D., Simianer, H., Leeb, T. and Rieder, S. (2012). A genome-wide association study reveals loci influencing height and other conformation traits in horses. PLoS One. 7: e37282.
- Tsunoda T, Takashima Y, Tanaka Y, Fujimoto T, Doi K, Hirose Y, Koyanagi M, Yoshida Y, Okamura T, Kuroki M, Sasazuki T, and Shirasawa S. (2010). Immune-related zinc finger gene ZFAT is an essential transcriptional regulator for hematopoietic differentiation in blood islands. Proceedings of National Academy of Science, USA. 107: 14199-14204.
- Weedon, M.N., Lango, H., Lindgren, C.M., Wallace, C., Evans, D.M., Mangino, M., Freathy, R.M., Perry, J.R., Stevens, S., Hall, A.S., Samani, N.J., Shields, B., Prokopenko, I., Farrall, M., Dominiczak, A., Diabetes Genetics Initiative, Wellcome Trust Case Control Consortium, Johnson, T., Bergmann, S., Beckmann, J.S. and Frayling, T.M. (2008). Genome-wide association analysis identifies 20 loci that influence adult height. Nature genetics. 40(5): 575-583.