# برآورد پارامترهای ژنتیکی و فنوتیپی برای قد در جمعیت اسب کاسپین ایران

شماره صفحات
۱۹-۳۱

محمود امیری‌رودبار[۱]، حمیدرضا سیدآبادی[۲]، علی جوانروح*[۳] و سیده فاطمه موسوی[۴]

۱) استادیار، بخش علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد-دزفول، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، دزفول، ایران.

۲) دانشیار، بخش بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۳) استادیار، بخش ژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۴) دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.

نویسنده مسئول*: **mahmood.amiri225@gmail.com**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۰۶

## چکیده

**اسب کاسپین یکی از مهمترین نژادهای بومی ایران بوده که مهمترین شاخصه ظاهری این نژاد قد کوتاه آن می باشد که آن را از سایر نژادهای بومی متمایز نموده است. با وجود اهمیت قد این نژاد، اما اطلاعات دقیقی ازپارامترهای فنوتیپی و ژنتیکی این صفت در این نژاد گزارش نشده است. بنابراین هدف اصلی این مطالعه بررسی ساختار ژنتیکی و فنوتیپی قد اسب کاسپین جهت درک بهتر خصوصیت قد در این نژاد بود. در این مطالعه از اطلاعات جمع آوری شده از ۱۲ استان مختلف توسط انجمن حفاظت از اسب کاسپین ( Caspian Conservation Society) که شامل اطلاعات ۱۰۳۲ راس اسب (۶۰۵ نر و ۴۲۷ ماده) موجود در شجره بود که تعداد ۳۶۰ راس دارای اطلاعات قد بودند، برای برآورد پارامترهای ژنتیکی و فنوتیپی قد استفاده گردید. برای برآورد وراثت‌پذیری از مدل رگرسیون خطی با اثر تصادفی ژنتیک افزایشی و روش بیز استفاده گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که به طور متوسط نرها (۴/۷۴ ± ۱۱۶/۸۸ cm) به طور متوسط بلندتر از ماده‌ها (۵/۴۲ ± ۱۱۶/۵۵ cm) بودند، اما این اختلاف معنی دار نشده بود. همچنین روند افزایش قد براساس سن نشان داده که به دلیل توقف رشد قد در حدود ۴ سالگی، بهترین زمان اندازه‌گیری قد اسب‌های کاسپین بعد از این سن برآورد گردید. میزان وراثت‌پذیری برآورد شده برای صفت قد کاسپین بالا و معادل ۴۴,۲ درصد (± ۹,۸٪) بود. در نهایت مطالعه اخیر نشان داد که بین همخونی و ارزش‌های ژنتیکی قد اسب کاسپین همبستگی منفی وجود داشته به طوری که به ازای هر ۱ درصد افزایش در میزان همخونی ۰,۲۲ cm از ارزش اصلاحی تخمین زده شده قد کاهش یافت. نتایج ارایه شده در این مطالعه می تواند باعث درک بهتری از خصوصیات قد اسب کاسپین شده و برای برنامه‌های اصلاح نژادی مورد استفاده قرار گیرد.**

**کلمات کلیدی** : اسب کاسپین، روند ژنتیکی، وراثت‌پذیری قد و همخونی.

**مقدمه**

اسب کاسپین یکی از نژادهای اسب در معرض خطر انقراض بوده که در سال ۱۹۶۵ توسط یک فرد آمریکایی تبار به نام Louise Firouz در شمال کشور (سواحل جنوبی دریاچه خزر در شهر آمل) شناسایی و مجدداً مورد اکتشاف قرار گرفت. این نژاد با جمعیت حدود ۱۰۰۰ راس و اندازه موثر ۹۸ راس (Mousavi *et al.* 2023) در خطر انقراض بوده و به دلیل کمیاب بودنش مطالعات اندکی روی آن انجام شده است (Daneshvar Amoli *et al.* 2017). اسب کاسپین یکی از قدیمی‌ترین نژادهای اسب در جهان است که قدمت آن به بیش از ۳۰۰۰ سال پیش بر می‌گردد و احتمالاً اولین اسب اهلی شرقی است. این نژاد جد اولیه همه اسب‌های خون‌گرم دنیا است و با اسب‌های عرب تشابهات زیادی دارد (Firouz 1969). اسب‌های کاسپین به غیر از ارتفاع بدن، همانند دیگر اسب‌ها بوده و تفاوت‌های ظاهری ناچیزی با دیگر اسب‌ها دارند. این نژاد به علت کوتاهی قد با عنوان کوچک جثه[1] نیز شناخته می‌شود ولی در مقایسه با دیگر نژادهای پونی در جهان که اسبانی با بدنی چاق و کوتاه بوده و دارای اندام‌های حرکتی قوی و بدون تناسب هستند، متمایز شده و به اسب مینیاتوری معروف شده است (Firouz 1978). به دلیل اندازه کوچک بدن، از آن به منظور سوارکاری و آموزش به کودکان استفاده می‌شود (Hosseini *et al.* 2016). اسب همانند سایر حیوانات اهلی، شدیداً تحت تاثیر انتخاب مصنوعی بوده که موجب تشکیل نژادهای همخون متعددی در سطح دنیا شده است. این انتخاب شدید که طی فرآیند اهلی سازی صورت گرفته، صفات خاصی مانند ابعاد بدنی که یکی از مشخصه های اهلی سازی می‌باشد، را تحت تاثیر قرار داده است (Clutton-Brock 1990). در اسب این تنوع در ابعاد بسیار بارز بوده به طوری که اسب‌های مینیاتوری آمریکایی (American Miniature) دارای قدی کمتر از یک متر بوده، اما نژادهایی مانند شایر (Shire) و پرچرون (Percheron) دارای قدی بیش از ۲ متر هستند (Brooks *et al.* 2010). عوامل ژنتیکی ایجاد کننده این تنوع به طور کامل مشخص نشده اند، اما ساختار ژنتیکی جمعیت‌های نژادی می‌تواند برای درک بهتر این تنوع مورد استفاده قرار گیرد. برای مثال، در بین نژادهای بومی ایران تنوع بسیار خوبی در بروز صفت قد قابل مشاهده می‌باشد. این تنوع مشاهده شده می تواند منبع بسیار ارزشمندی برای مطالعه عوامل ایجاد کننده این تنوع باشد. برآورد میزان سهم ژنتیکی قابل انتقال به نسل‌های بعد یا همان وراثت‌پذیری خاص ($h^2$) برای ایجاد برنامه‌های بهبود ژنتیکی، پیش بینی افزایش ارزش ژنتیکی و برآورد ارزش اصلاحی هر فرد در جمعیت بسیار با اهمیت می باشد. برای این هدف، انتخاب روش آماری مناسب که به بهترین شکل رفتار بیولوژیکی صفت مورد مطالعه را نشان دهد ضروری می باشد. انتخاب روش آماری مناسب نیازمند اطلاعات اولیه از ساختار فنوتیپی و ژنتیکی صفت مورد نظر مانند میزان وراثت پذیری، تعداد جایگاه‌های موثر در بروز صفت، توزیع اثر جایگاه‌های ژنتیکی و غیره می باشد. ابعاد بدنی اسب (مانند قد) به عنوان یکی از شاخص‌های مهم در عملکرد ورزشی بوده، که

[1] Pony

نقش بسیار زیادی در تصمیمات اصلاح نژادی دارد (Sánchez-Guerrero *et al.* 2016). مطالعات متعدد نشان دادند که قد اسب یک صفت با توارث پیچیده بوده که تحت تاثیر عوامل ژنتیکی موجود در سطح ژنوم و عوامل محیطی می باشد ( Çilek 2012, Dawson 2011, Ghezelsoflou, Hamidi and Gharahveysi 2018). اسب کاسپین به عنوان یک نژاد باستانی بومی که از شمال ایران منشا گرفته است، شناخته میشود. این اسب به عنوان اسبی کوتاه شناخته شده که اطلاعات دقیقی از قد آن گزارش نشده است (Shahsavarani and Rahimi-Mianji 2010). ا توجه به اینکه قد اسب کاسپین یکی از مهمترین مشخصه های فنوتیپی آن در میان نژادهای بومی ایران است، مطالعه جنبه های فنوتیپی و ژنتیکی آن میتواند درک بهتری از خصوصیات فیزیکی و پتانسیل ورزشی این نژاد را در اختیار محققان قرار دهد. بنابراین، هدف اصلی این مطالعه بررسی خصوصیات ژنتیکی و فنوتیپی قد اسب کاسپین می‌باشد تا در صورت امکان از این نتایج در برنامه‌های اصلاحی این نژاد مورد استفاده قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

### اطلاعات مورد استفاده

اطلاعات مورد استفاده در این تحقیق از طریق انجمن حفاظت از اسب کاسپین (Caspian Conservation Society) جمع آوری گردید. در کل از اطلاعات تعداد ۱۰۳۲ راس اسب که بین سال‌های ۱۳۴۰ تا ۱۴۰۲ در شجره ثبت شده بود، استفاده گردید. شجره ثبت شده در انجمن حفاظت از اسب کاسپین پس از انجام آزمون انساب با کمک اطلاعات ریزماهواره[۲] و یا توالی‌های تکرارشونده کوتاه[۳] (STR) برای ثبت در کتاب کاسپین بین المللی[۴] به انجمن جهانی کاسپین[۵] ارسال می گردد. در حال حاظر حدود نیمی از این اطلاعات شجره در کتاب کاسپین بین المللی به ثبت رسیده است. از این تعداد ۶۰۵ راس ماده و ۴۲۷ راس نر بودند. تعداد ۲ راس اسب به دلیل نداشتن اطلاعات صحیح برای اسم از شجره حذف گردید. همچنین وجود خطاهایی مانند: ثبت اشتباهی اسب نر به عنوان مادر و بالعکس، عدم تطابق سن پدر (۱۵ مورد خطا) و مادر (۸ مورد خطا) با در نظر گرفتن حداقل و حداکثر سن ۳ و ۳۰ سال در زمان تولد کره‌ها و فواصل زایش مادر حداقل ۱۱ ماه (۲۹ مورد خطا) مورد بررسی قرار گرفته شد. در ادامه برای اسب‌هایی که اطلاعات STR موجود بودند (تعداد ۵۱۴ اسب)، روابط والدین در آنها با کمک انجام آزمون انساب[۶] و تخصیص والدین[۷] بررسی و در صورت بروز خطا تصحیح گردید. جایگاه‌های STR مورد استفاده (و تعداد نمونه ژنوتایپ شده برای آن جایگاه) شامل: (512) AHT4، (499) AHT5، (371) ASB17، (502) ASB2، (379) ASB23، (260) CA425، (279) HMS2، (508) HMS3، (513) HMS6، (514) HMS7، (487) HTG10،

---

۲ Microsatellite
۳ Short tandem repeats
۴ The international Caspian stud book
۵ International caspian society
۶ Paternity test
۷ Parent assignment

HTG4 (513)، HTG6 (282)، HTG7 (282)، LEX3 (382)، LEX33 (۲۹۶) و VHL20 (۵۱۳) بودند. برای انجام ژنوتایپینگ STR نمونه ها به آزمایشگاه بیولوژی مولکولی و ژنتیک در دانشگاه مادرید که مورد تایید انجمن بین المللی ژنتیک حیوانات[۸] نیز می باشند، ارسال شدند. برای انجام این دو آزمون از الگوریتم ارائه شده بر پایه درستنمایی[۹] استفاده گردید (Kalinowski, Taper and Marshall 2007, Marshall *et al.* 1998). برای انجام آنالیز آزمون انساب و تخصیص والدین از نرم افزار CERVUS استفاده شده و تعداد ۱۰۰۰۰ شبیه سازی برای یافتن توزیع $\Delta$ که معادل اختلاف بین حداکثر درستنمایی محاسبه شده برای فرد غیر والد با بالاترین مقدار با حداکثر درستنمایی محاسبه شده برای والد اصلی می‌باشد، مورد استفاده قرار گرفت (Kalinowski *et al.* 2007). همچنین پدر و مادرهای کاندید بر اساس سن (حداقل ۳ و حداکثر ۳۰ سال) معرفی شده تا احتمال یافتن درست والدین و انجام درست آزمون انساب افزایش یابد. خطای تعیین ژنوتیپ برای تمام جایگاه های مورد استفاده ثابت و برابر یک درصد در نظر گرفته شد. سایر پارامترهای مورد استفاده برای شبیه سازی از طریق بررسی اطلاعات شجره و STR استخراج گردید. بنابر ساختار شجره و STR تعداد اسب‌های نر و ماده شبیه سازی برابر ۴۲۷ و ۶۰۵ راس و تعداد نر و ماده نمونه گیری ۹۳ و ۱۳۲ راس بودند. تعداد نر و ماده نمونه گیری از طریق میانگین گیری تعداد نر و ماده کاندید برای هر اسب محاسبه گردید. برای این منظور یک فرآیند دو مرحله‌ای با کمک نرم افزار CERVUS طی گردید. در مرحله اول، برای نمونه‌هایی که حداقل یکی از والدین مشخص بودند آزمون انساب انجام شده و در صورت درست بودن والد (والدین) در شجره باقی مانده، و در غیر این صورت حذف شدند. در این مرحله تعداد ۸۸ مورد خطا شجره‌ای (۳۰ مورد مادر و ۵۸ مورد پدر اشتباه) براساس اطلاعات STR فرزندان و والدین شناسایی و تصحیح گردید. در مرحله دوم، آزمون تخصیص والدین انجام شده که محتمل ترین والدین برای فرزندان فاقد اطلاعات والدینی بر اساس ژنوتایپ STR شناسایی و اضافه شدند. در این مرحله تعداد ۱۳۸ والدین محتمل (۷۰ مادر و ۶۸ پدر) شناسایی و به شجره اضافه گردید. پس از تصحیح شجره، از بسته نرم‌افزاری AGHmatrix ارائه شده توسط R جهت محاسبه میزان هم خونی در بین افراد استفاده گردید (Amadeu *et al.* 2023).

**بررسی خصوصیات قد اسب‌های کاسپین**

از کل اسب‌های موجود در شجره، تعداد ۳۶۰ اسب دارای رکورد قد بودند. از این تعداد ۲۴۰ رکورد مربوط به مادیان‌ها و ۱۲۰ رکورد مربوط به نرها بودند. ابتدا اثرات جنسیت و سن بر قد اسب ها مورد بررسی و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی تاثیر جنسیت و سن بر قد اسب‌های بالغ از ۲۶۸ اسب که دارای هر دو اطلاعات سن و قد بودند، استفاده شد. تعداد ۸ معادله رگرسیون مختلف شامل رگرسیون های درجه یک تا چهار برای سن و همچنین با حضور و بدون حضور اثر ثابت جنست توسط

[۸] The International Society of Animal Genetics
[۹] Likelihood

آماره معیار اطلاعات بیزی[۱۰] (BIC) مورد مقایسه قرار گرفته و بهترین مدل جهت تصحیح اثرات ثابت مورد استفاده قرار گرفت. مدل کامل که تمامی اثرات در آن برآزش شده است به صورت زیر می باشد:

رابطه ۱: $y_{ij} = \alpha_0 + \alpha_1 S_j + \alpha_2 A_i + \alpha_3 A_i^2 + \alpha_4 A_i^3 + \varepsilon_i$ .

که در اینجا، $y_{ij}$ قد ثبت شـده برای iامین اسـب با jامین جنسـیت می باشد. $S_j$، $A_i$، $\alpha_k$ و $\varepsilon_i$ به ترتیب جنسیت (نر یا ماده)، سن (سال)، ضرایب رگرسیونی ($k = 0,1, \dots, 4$) و خطای مدل می باشند.

تعداد ۶۲ اسـب به دلیل داشـتن سن کمتر از ۴ سال و تکمیل نشدن فرآیند رشد قد آنها، از آنالیز بعدی حذف گردید. از ۲۰۶ اسـب باقی مانده ۱۳۲ اسب ماده و ۷۴ اسب نر بودند. در ادامه تعداد ۶۹ راس اسب دیگر که سن دقیق آنها مشخص نبوده (تنها بر اسـاس سـال تولد) اما دارای سن بالای ۴ سال بودند نیز برای آنالیز مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت رکوردهای قد اسب‌ها از نظر پرت بودن بر اسـاس ۳ برابر فاصـله محدوده بین چارکی[۱۱] (IQR) در درون هر جنسـیت مورد بررسـی قرار گرفته تا در صـورت مشـاهده رکورد پرت از داده‌ها حذف گردد. فاصله 3×IQR که به آن فاصله خارج نرده های بیرونی[۱۲] نیز گفته می‌شود، به عنوان معیار خوبی جهت شـناسـایی و حذف داده‌های پرت شـناخته می شوند (Dawson 2011). با بررسی داده پرت با این روش، هیچ کدام از رکوردهای ثبت شـده در هر دو جنس به عنوان داده پرت شـناسایی نشدند. از این داده‌ها برای بررسی روند تغییرات فنوتیپی و ژنتیکی قد اسـب طی سال‌های مختلف و همچنین بررسی اختلاف قد اسب‌های کاسپین بالغ نر و ماده مورد استفاده قرار گرفت.

### وراثت‌پذیری قد ($h^2$)

برای برآورد وراثت‌پذیری ($h^2$) قد اسب کاسپین، از تعداد ۲۷۵ راس اسب با سن بالای ۴ سال و همچنین دارای اطلاعات قد، مورد اسـتفاده قرار گرفت. برای برآورد اجزای واریانس ژنتیک افزایشـی قد اسب کاسپین از مدل رگرسیون خطی با اثر تصادفی ژنتیک افزایشـی استفاده گردید. برای این منظور ابتدا ساختار کوواریانس روابط ژنتیکی بین افراد (ماتریس $\mathbf{A}$ یا همان ماتریس روابط خویشـاوندی) محاسبه و صفت قد به عنوان یک پاسخ پیوسته (کمی) با کمک دو مدل رگرسیونی شامل: حضور و یا عدم حضور اثر ثابت جنسیت استفاده قرار گرفت. مدل رگرسیون کامل با اثر ثابت جنسیت برابر با:

رابطه ۲: $\mathbf{y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Z\alpha} + \mathbf{e}$.

بود. در این معادله $\mathbf{y}$ بردار مشاهدات بوده، $\mathbf{b}$ به عنوان بردار اثرات ثابت (عرض از مبدا و جنسیت) به همراه ماتریس ضرایب $\mathbf{X}$، و $\boldsymbol{\alpha}$ به عنوان بردار اثرات ژنتیک افزایشـی به همراه ماتریس ضـرایب $\mathbf{Z}$ در نظر گرفته می شوند. در اینجا $\boldsymbol{\alpha}$ و $\mathbf{e}$ به عنوان اثرات تصـادفی با توزیع $\boldsymbol{\alpha} \sim N(0, \boldsymbol{A}^{-1}\sigma_a^2)$ و $\boldsymbol{e} \sim N(0, \boldsymbol{I}\sigma_e^2)$ در نظر گرفته شـده که $\sigma_a^2$ و $\sigma_e^2$ به ترتیب واریانس ژنتیکی و خطا

[۱۰] Bayesian information criterion
[۱۱] Interquartile range
[۱۲] Outer fences

مدل می باشند. برای برآورد اجزا واریانس از روش بیز[۱۳] ارائه شده در بسته نرم افزاری BGLR در زبان برنامه نویسی R به روش زنجیره مارکوف مونت کارلو[۱۴] (MCMC) استفاده گردید (Pérez and de los Campos 2014). برای هر دو مدل رگرسیونی تعداد ۲۰۰۰۰۰ تکرار نمونه گیری MCMC استفاده شده که ۵۰۰۰۰ نمونه اول به عنوان قلق گیری[۱۵] مورد استفاده قرار گرفت. فاصله نمونه گیری[۱۶] ۱۰ تکراری در نظر گرفته شده که موجب جمع آوری ۱۵۰۰۰ نمونه پسین جهت برآورد توزیع پسین پارامترها استفاده گردید.

از ارزش‌های اصلاحی برآورد شده (EBV) برای قد اسب‌های مورد مطالعه جهت بررسی روند تغییرات ارزش اصلاحی قد طی سال‌های ۱۳۶۹ تا ۱۳۹۸ و تاثیر میزان همخونی بر این صفت مورد استفاده قرار گرفت. چهار معادله رگرسیونی مورد استفاده با و یا بدون اثرات زمان و همچنین میزان همخونی بر روی ارزش اصلاحی برآورد شده برآزش مورد بررسی قرار گرفت. مدل کامل مورد استفاده با هر دو اثر زمان و میزان همخونی به صورت زیر بود:

رابطه ۳: $$EBV_i = \beta_0 + \beta_1 T_i + \beta_2 I_i + \varepsilon_i$$

در اینجا، $T_i$ برابر زمان تولد برای اسب iام بر اساس اختلاف سال تولد با کمترین سال ثبت شده دارای EBV که مربوط به ابتدای سال ۱۳۷۲ می باشد، $I_i$ میزان همخونی برآورد شده ، و $\varepsilon_i$ خطا مدل می باشد. $\beta_0$، $\beta_1$ و $\beta_2$ به ترتیب ضرایب رگرسیونی برای عرض از مبدا، زمان تولد و میزان همخونی برآورد شده می باشند. در نهایت بهترین مدل بر اساس آماره BIC انتخاب گردید.

## نتایج و بحث

### تاثیر عوامل ثابت بر قد اسب‌های کاسپین

میانگین کلی قد اسب‌های بالغ (بالای ۴ سال) برابر با ۱۱۶/۷ سانتیمتر (cm) با انحراف معیار ۵/۱۹ cm برآورد گردید. قد نرها و ماده‌ها برای سنین بالای ۴ سال در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که در شکل مشاهده می شود، نرها (۴/۷۴ ± ۱۱۶/۸۸ cm) به طور میانگین حدود ۰/۳۴ cm بلندتر از ماده‌ها (۵/۴۲ ± ۱۱۶/۵۵ cm) هستند، اما این اختلاف معنی دار نبوده است. معنی دار نشدن این اختلاف به احتمال زیاد به دلیل تعداد کم رکورد بوده و با افزایش تعداد نمونه انتظار می رود تا این اختلاف معنی دار باشد. دو اثر ثابت سن و جنسیت با استفاده از ۸ مدل رگرسیونی برآزش گردید (جدول ۱). بر اساس آماره BIC بهترین مدل شامل اثر سن با درجه سوم و بدون در نظر گرفتن اثر جنسیت بود. در تمام مدل‌های رگرسیون برآزش شده با اثر جنسیت، مقدار p محاسبه شده برای این اثر معنی دار نبود ($p.value < 0.05$)، ولی در تمامی مدل‌های دارای اثر

[۱۳] Baysian
[۱۴] Markov chain Monte Carlo
[۱۵] Burn-in
[۱۶] Thinning interval

جنسیت، نرها به طور متوسط بین 0.61 تا 0.79 سانتیمتر بلندتر بودند.

**شکل ۱:** قد و انحراف استاندارد محاسبه شده برای اسب‌های نر و ماده بالای ۴ سال. بر اساس آزمون t.test اختلاف میانگین قد مشاهده شده بین نرها و ماده‌ها معنی دار نبودند (p.value > 0.05).

**Figure 2**: Calculated height and standard deviation for male and female horses with age more than 4 years. According to the t-test, the difference in average height observed between males and females was not significant (p.value < 0.05).

به نظر می رسد که اثر جنسیت با افزایش اندازه نمونه معنی دار شده و بتوان در مدل‌های رگرسیونی جهت پیش بینی قد استفاده گردد. با توجه به اینکه تعداد رکوردهای موجود برای سنین پایین کم بوده، عرض از مبدا بدست آمده (قد دز زمان تولد) به احتمال زیاد از مقدار واقعی بلندتر محاسبه شده است. بنابراین برای بدست آوردن منحنی قد با دقت بالاتر می بایست تعداد نمونه بیشتر و همچنین اطلاعات بیشتری از قد در سنین پایین تر جهت برازش وجود داشته باشد. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، مدل پیشنهادی به خوبی برای قد اسب برآزش شده و می تواند برای بررسی وضعیت قد اسب‌ها مورد استفاده قرار گیرد. همانطور که در شکل مشخص می باشد، سرعت روند افزایش قد تا حدود ۴ سالگی به صورت نمایی کاهش یافته و سپس تقریبا ثابت می‌ماند. بر اساس این مدل، بهترین زمان اندازه‌گیری قد اسب‌های کاسپین بعد از ۴ سالگی می‌باشد. روند تغییرات فنوتیپی قد اسب برای ۲۸ سال و در طول سال‌های ۱۳۶۹ تا ۱۳۹۷ مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۳). همانطور که در شکل مشاهده می‌گردد، روند قد اسب کاسپین طی سال‌های مختلف افزایشی بوده و به ازای هر سال حدود ۰/۰۶ (± ۰/۰۳۶) سانتیمتر افزایش یافته است، اما این افزایش از نظر آماری معنی دار نبوده است (p.value ≤ 0.05). به نظر می رسد برای بررسی دقیق تر روند تغییرات قد نیاز به تعداد نمونه بیشتری می‌باشد.

### برآورد وراثت‌پذیری ($h^2$) قد اسب کاسپین

برای برآورد اجزا واریانس (کواریانس) قد اسب از تعداد ۱۵۰۰۰ نمونه شبیه سازی شده از توزیع پسین استفاده شد (شکل ۴). بررسی نمودار اثر[۱۷] نمونه گیری پسین برای $\sigma_a^2$ و $h^2$ نشان داد که نمونه گیری پسین به درستی صورت گرفته و ارتباط هر نمونه با نمونه قبلی به خوبی با فواصل نمونه گیری ۱۰ تایی کنترل شده است.

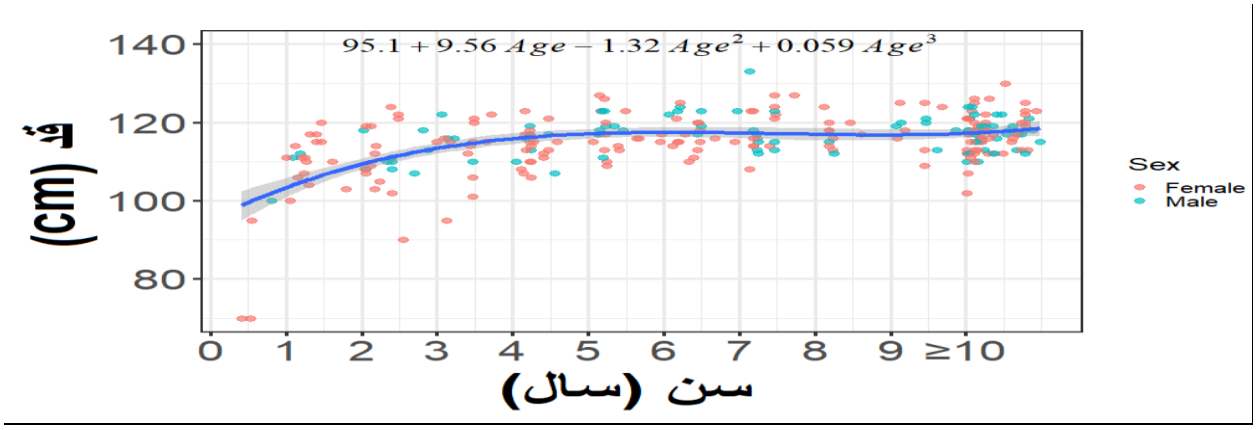
**جدول ۱: ضرایب رگرسیونی (± استاندارد خطا) بدست آمده برای ۸ مدل رگرسیونی برآزش شده برای قد اسب‌های کاسپین بر روی اثرات سن (Age) و جنسیت (Gender). بهترین مدل بر اساس آماره BIC به صورت قلم ضخیم نشان داده شده است.**

**Table 1.** Regression coefficients (± standard error) obtained from 8 fitted regression models for the height of Caspian horses on the effects of age and gender. The best model based on the BIC statistic is shown in bold font.

| BIC[1] | سن به توان۳ | سن به توان ۳ | سن به توان ۲ | سن (سال) | جنسیت (اثر نر) | عرض از مبدا | مدل |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1783.1 | - | - | - | 0.92 (±0.124) | - | 109.34 (±0.922) | Age |
| 1787.8 | - | - | - | 0.9 (±0.125) | 0.79 (±0.855) | 109.17 (±0.94) | Age + Gender |
| 1754 | - | - | -0.27 (±0.045) | 4.37 (±0.583) | - | 101.37 (±1.576) | Poly[2] (Age, 2) |
| 1758.7 | - | - | -0.27 (±0.045) | 4.35 (±0.583) | 0.77 (±0.803) | 101.21 (±1.585) | Poly (Age, 2) + Gender |
| **1749.5** | - | **0.06 (±0.019)** | **-1.32 (±0.334)** | **9.56 (±1.732)** | - | **95.06 (±2.519)** | **Poly (Age, 3)** |
| 1754.5 | - | 0.06 (±0.019) | -1.31 (±0.335) | 9.47 (±1.738) | 0.61 (±0.792) | 95.04 (±2.521) | Poly (Age, 3) + Gender |
| 1751.1 | -0.01 (±0.007) | 0.37 (±0.157) | -3.73 (±1.255) | 16.5 (±3.893) | - | 89.41 (±3.789) | Poly (Age, 4) |
| 1756.1 | -0.01 (±0.007) | 0.37 (±0.157) | -3.72 (±1.256) | 16.42 (±3.898) | 0.61 (±0.787) | 89.38 (±3.792) | Poly (Age, 4) + Gender |

[1] آماره معیار اطلاعات بیزی (Bayesian information criterion (BIC))

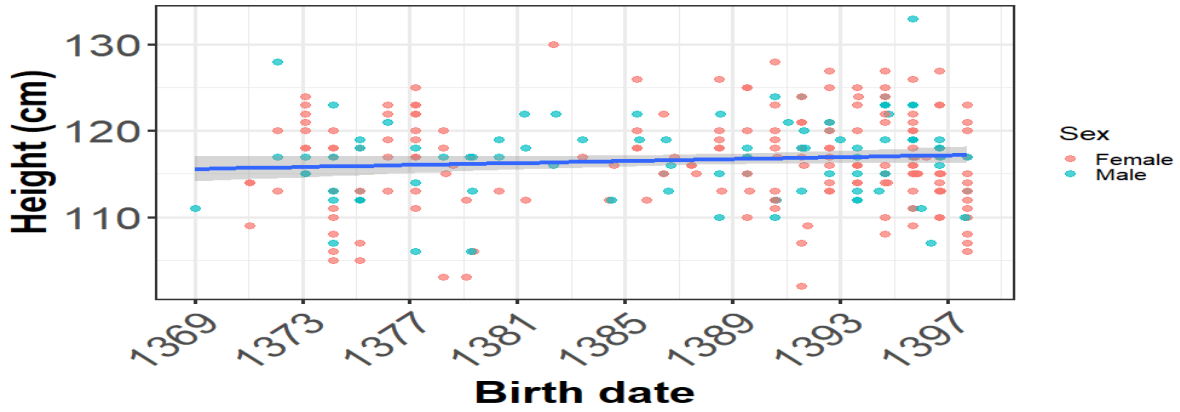
[2] رگرسیون چندجمله‌ای (Polynomial regression)




**شکل ۲: نمودار رشد قد اسب کاسپین برای سنین مختلف مقدار براساس رگرسیون چند جمله ای درجه سوم. قد نر و ماده به ترتیب با رنگ‌های آبی و قرمز نشان داده شده است.**

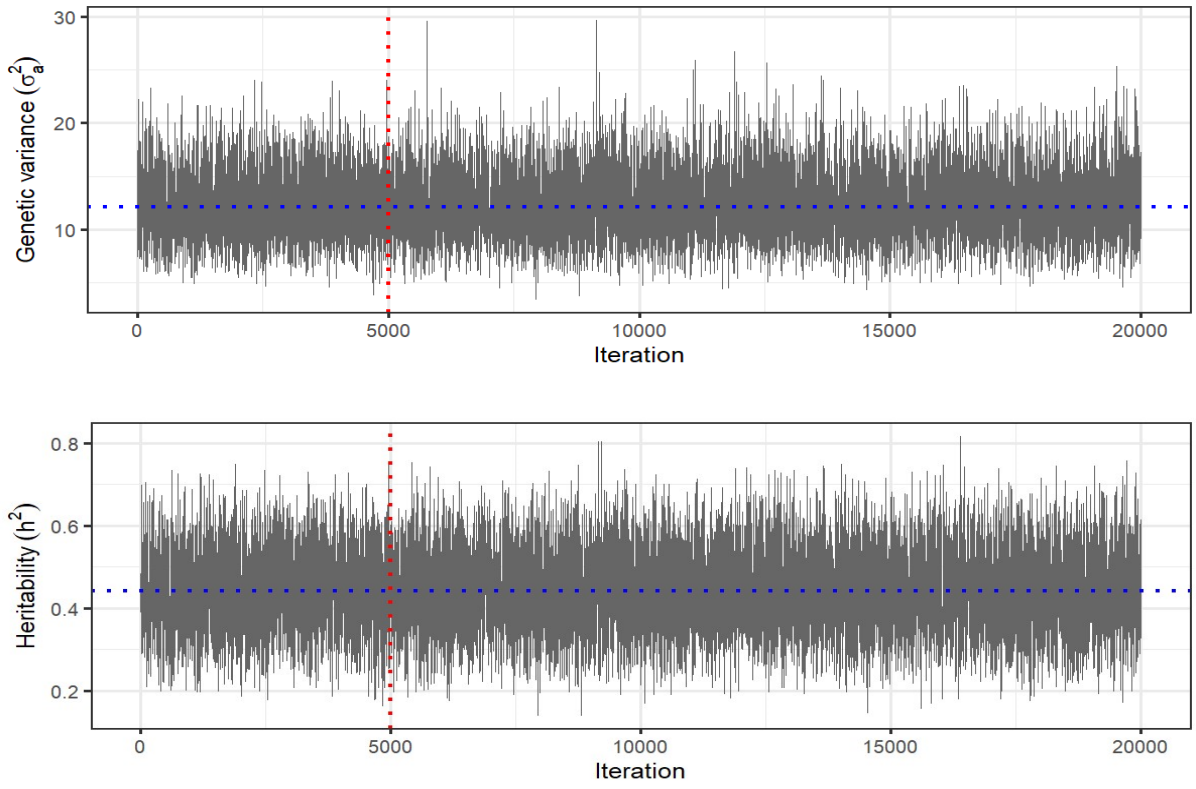
**Figure 1. Plot of Caspian horse height over different ages based on the third-degree polynomial regression. Male and female height are shown in blue and red colors, respectively.**

[۱۷] Trace plot




**شکل ۳: نمودار تغییرات فنوتیپی قد اسب‌های کاسپین برای سال‌های مورد مطالعه. مقدار قد نر و ماده به ترتیب با رنگ‌های آبی و قرمز نشان داده شده است.**

**Figure 3. Plot of phenotypic changes in the height of Caspian horses over the studied years. Male and female height values are shown in blue** and red colors, respectively.




**شکل ۴: نمودار اثر نمونه‌های گرفته شده با فواصل ۱۰ تایی از ۲۰۰۰۰۰ تکرار نمونه‌گیری MCMC برای برآورد توزیع پسین برای مدل رگرسیون بدون در نظر گرفتن اثر جنسیت. خط نقطه چین افقی آبی نشان دهنده میانگین پارامترهای محاسبه شده و خط نقطه چین قرمز نشان دهنده شروع نمونه گیری پس از قلق گیری (۵۰۰۰ نمونه اول با فواصل نمونه گیری ۱۰ تایی) می باشد.**

**Figure 4. Plot of samples taken with thinning intervals of 10 from 200,000 MCMC iterations to estimate the posterior distribution for the regression model without gender effect. The blue horizontal dotted line indicates the average of the calculated parameters, and the red dotted line indicates the start of sampling after burn-in (first 5000 samples with thining interval of 10).**

برآورد پارامترهای ژنتیکی برای دو مدل رگرسیون و شاخص‌های برازش مدل در جدول ۲ نشان داده شده است. براساس شاخص‌های برازش مدل بدون اثر ثابت جنسیت بهترین برازش را نشان داده و به عنوان مدل مناسب برای برآورد میزان $h^2$ مورد استفاده قرار گرفت. میزان $h^2$ برآورد شده برای صفت قد کاسپین بالا و معادل 44.2 درصد (± 9.8٪) برآورد گردید. مطالعات قبلی انجام شده برای اسب های نژاد مختلف برآورد های متفاوت اما نسبتا بالایی از میزان وراثت‌پذیری قد را گزارش نموده اند. برای مثال، میزان وراثت‌پذیری قد اسب‌های نژاد برزیلی تا ۷۰٪ گزارش شده است (Tamioso *et al.* 2012). در یک مطالعه دیگر وراثت‌پذیری ۵۸٪ برای قد در اسب‌های نژاد عرب ترکیه گزارش گردید (Çilek 2012). در یک مطالعه بر روی اسب ترکمن ایران میزان وراثت‌پذیری این صفت برابر ۲۶٪ بود (Ghezelsoflou *et al.* 2018). تاکنون در خصوص میزان وراثت‌پذیری قد اسب کاسپین مطالعه‌ای انجام نشده و این نتایج به عنوان اولین گزارش در خصوص وراثت‌پذیری قد اسب کاسپین می باشد. مطالعه اخیر در خصوص تنوع ژنتیکی و نشانه‌های انتخاب در چهار نژاد اسب بومی ایرانی شامل نژادهای کاسپین، ترکمن، کُرد و اصیل ایرانی با استفاده از داده‌های ژنوتیپ شده، وجود نواحی تحت انتخاب شدید در ژن‌های شناخته شده موثر بر قد اسب (HMGA2 و LLPH) بین نژاد کاسپین و سایر نژادهای ایرانی را نشان داد (Mousavi *et al.* 2023). با وجود مشاهده تنوع در این ژن‌ها بین نژادهای ایرانی مورد مطالعه، اما همین مطالعه وجود تنوع آللی در این جایگاه‌های تحت انتخاب را برای اسب کاسپین نیز نشان داد. از آنجایی که مطالعات قبلی نشان دادند که تعداد کمی جایگاه می توانند درصد قابل توجهی (بالای ۸۰٪) از تنوع مشاهده شده در قد اسب را توجیه نمایند (Makvandi-Nejad *et al.* 2012)، وجود جایگاه‌های ژنومی با اثر بزرگ برای تنوع قد اسب کاسپین دور از انتظار نخواهد بود. به عبارت دیگر وجود وراثت‌پذیری بالا و همچنین تنوع ژنتیکی در ژن‌های شناخته شده از نظر تاثیر بر قد در اسب، این فرضیه را مطرح خواهد کرد که آیا جایگاه‌های با اثرات بزرگ در اسب کاسپین با کمک مطالعات پویش کل ژنومی ((genome-wide association scans (GWAS) قابل شناسایی خواهد بود؟ استفاده از اطلاعات ژنومی از طریق مطالعات GWAS می‌توانند جهت شناسایی این نواحی در اسب کاسپین بسیار مفید باشند.

**جدول ۲: وراثت‌پذیری (± استاندارد خطا) و سایر شاخص‌های برازش مدل بدست آمده برای دو مدل رگرسیونی برآزش شده برای قد اسب‌های کاسپین با و بدون اثر جنسیت نشان داده شده است.**

**Table 2.** Heritability (± standard error) and other estimated posterior means obtained for the two regression models estimated for the height of Caspian horses with and without the gender effect are shown.

| مدل | لگاریتم درستنمایی در میانگین پسین | میانگین پسین برای درستنمایی | اندازه موثر پارامتر | DIC[1] | وراثت‌پذیری (sd) |
|---|---|---|---|---|---|
| بدون اثر جنسیت | -706.79 | -761.38 | 109.17 | 1631.93 | 0.442 (0.0975) |
| با اثر جنسیت | -724.57 | -772.45 | 95.76 | 1640.66 | 0.385 (0.1069) |

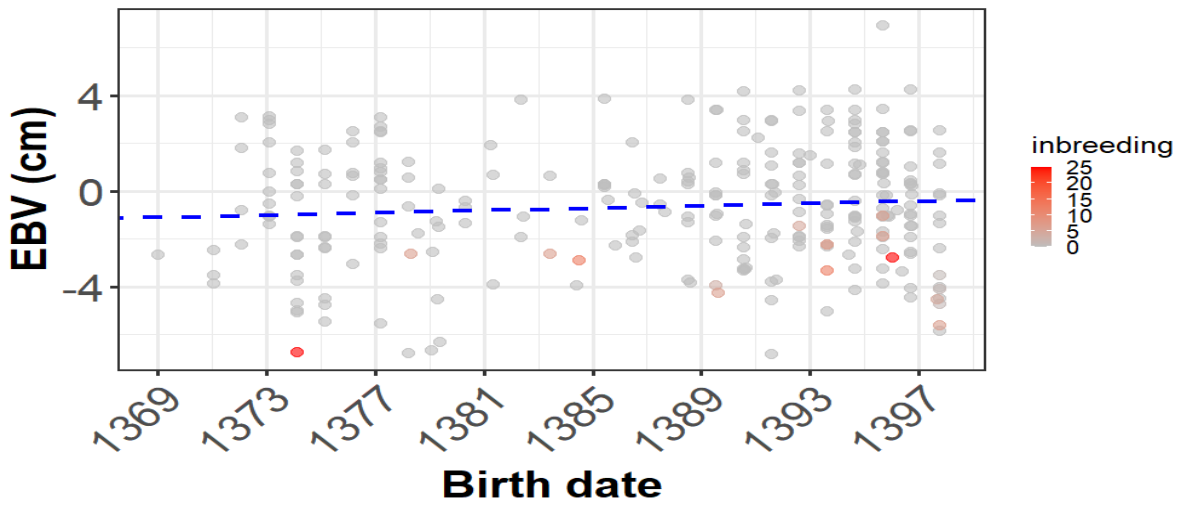
[1] آماره معیار اطلاعات انحراف ((Deviance Information Criteria (DIC)

نتایج چهار مدل مختلف رگرسیونی برای بررسی تاثیر سال تولد (در طول سال‌های ۱۳۶۹ تا ۱۳۹۷) و میزان همخونی در ارزش‌های اصلاحی برآورد شده در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که نتایج نشان می دهند، تغییرات ارزش اصلاحی قد طی زمان (روند تغییرات EBV در طی زمان)تقریبا صفر بوده است (شکل ۵). بهترین مدل بدست آماده بر اساس آماره BIC نشان می دهند که همخونی تاثیر معنی داری بر برآورد ارزش‌های اصلاحی قد اسب داشته و بر اساس ضرایب بدست آمده به ازای هر ۱٪ افزایش در میزان همخونی به میزان 0.22 سانتیمتر از EBV قد کاهش یافته است. این امر می تواند نشان دهنده وجود اثر هتروزیس (heterosis) در بروز صفت قد اسب باشد که می تواند برای مطالعات آینده مورد توجه قرار گیرد. به نظر می‌رسد که در صورت عدم توجه به افزایش میزان همخونی روند کاهش قد به دلیل کاهش اثر هتروزیس دور از انتظار نباشد.

**جدول ۳: ضرایب رگرسیونی و آماره‌های برآزش مدل برای بررسی روند تغییرات EBV و تاثیر همخونی بر روی EBV.**

**Table 3. Regression coefficients and model fitting statistics to investigate the trend of EBV changes and the effect of inbreeding on EBV.**

| BIC | همخونی (٪) | زمان تولد (سال) | عرض از مبدا | مدل |
|---|---|---|---|---|
| 1287.5 | - | - | -0.66 (±0.149) | Intercept |
| 1291.1 | - | 0.02 (±0.017) | -1.12 (±0.354) | Intercept + Date |
| **1277.5** | **-0.22 (±0.056)** | - | **-0.55 (±0.148)** | **Intercept + Inbreeding** |
| 1280.7 | -0.23 (±0.056) | 0.03 (±0.017) | -1.04 (±0.345) | Intercept + Date + Inbreeding |




**شکل ۵: نمودار روند تغییرات ارزش اصلاحی برآورد شده (EBV) برای اسب‌های متولد شد در سال‌های مختلف. خط آبی نقطه چین روند EBV را در سال‌های مختلف نشان می دهد، اما این روند معنی دار نبود. میزان همخونی برآورد شده با استفاده از شدت رنگ قرمز نشان داده شده است.**

**Figure 5.** Plot of trend of estimated breeding value (EBV) changes for horses born in different years. The dotted blue line shows the fitted line of EBV in different years, but the slope was not significant. The estimated level of inbreeding is shown using red color intensity.

## نتیجه‌گیری

تاکنون مطالعه‌ای در خصوص قد اسب کاسپین صورت نگرفته بود، و این مطالعه می تواند اولین بررسی در این زمینه باشد. این مطالعه برای اولین بار منحنی رشد در اسب کاسپین را مورد تجزیه و تحلیل قرار داده، و این منحنی نشان داد که قد اسب کاسپین تا سن ۴ سالگی در حال رشد بوده و لذا بهترین سن برای اندازه گیری قد اسب بالغ سالگی می باشد. بررسی خصوصیات فنوتیپی قد اسب کاسپین نشان داد برای بررسی دقیق‌تر این اختلاف قد بین اسب‌های نرها و ماده‌ها به تعداد نمونه زیادی نیاز می باشد. برآورد وراثت‌پذیری قد اسب کاسپین نشان داد که این صفت دارای وراثت‌پذیری نسبتا بالایی بوده و نسبت به انتخاب می‌تواند پاسخ قوی داده و برای اهداف اصلاحی (در صورت اهمیت قد اسب کاسپین به عنوان یک معیار مهم انتخابی) مورد استفاده قرار گیرد. همچنین بررسی روند تغییرات قد اسب کاسپین طی سال‌های مختلف نشان داد که هم از نظر فنوتیپی و هم از نظر ژنتیکی (ارزش‌های اصلاحی) تغییرات معنی داری در قد وجود نداشت. با این وجود اثر همخونی در کاهش قد اسب بر اساس ارزش‌های اصلاحی مشاهده شد که می تواند نشان دهنده وجود اثر هتروزیس در بروز صفت قد اسب کاسپین باشد. نتایج ارائه شده در این مطالعه می تواند به درک بهتر صفت قد اسب کاسپین کمک نموده و برای برنامه‌های اصلاح نژادی مورد استفاده قرار گیرد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از انجمن حفاظت از اسب کاسپین (Caspian Conservation Society) برای در اختیار قرار دادن اطلاعات جمعیت اسب کاسپین ایران تشکر و قدردانی می نماید.

## منابع

**Amadeu, R. R., A. A. F. Garcia, P. R. Munoz & L. F. V. Ferrão (2023).** AGHmatrix: genetic relationship matrices in R. *Bioinformatics,* 39, btad445.

**Brooks, S., S. Makvandi-Nejad, E. Chu, J. Allen, C. Streeter, E. Gu, B. McCleery, B. Murphy, R. Bellone & N. Sutter (2010)**. Morphological variation in the horse: defining complex traits of body size and shape. *Animal genetics*, 41, 159-165.

**Çilek, S. (2012)**. Heritability parameters for some body measurements in Turkish Arabian foals.

**Clutton-Brock, J. (1990).** A natural history of domesticated mammals. *Praehistorische Zeitschrift,* 65, 73-76.

**Daneshvar Amoli, A., N. Mohebali, P. Farzaneh, S. A. Shahzadeh Fazeli, L. Nikfarjam, S. Ashouri Movasagh, Z. Moradmand, M. Ganjibakhsh, A. Nasimian, M. Izadpanah, F. Vakhshiteh, N .S. Gohari, N. S. Masoudi, M. Farghadan, S. Mohamadi Moghanjoghi, M. Khalili & K. J. Khaledi (2017)** .Establishment and characterization of Caspian horse fibroblast cell bank in Iran. *In Vitro Cell Dev Biol Anim,* 53, 337-343.

**Dawson, R. (2011)**. How significant is a boxplot outlier? *Journal of Statistics Education,* 19.

**Firouz, L. (1969)**. Conservation of a domestic breed. *Biological Conservation,* 2, 53-54.

**Firouz, L. (1978)**. The Caspian miniature horse, *International Caspian stud book*.

**Ghezelsoflou, H., P. Hamidi & S. Gharahveysi (2018).** Study of factors affecting the body conformation traits of Iranian Turkoman horses. *J Equine Sci*, 29, 91-96.

**Hosseini, M., H. M. Shahrbabak, M. Zandi & M. Fallahi (2016).** A morphometric survey among three Iranian horse breeds with multivariate analysis. *Media Peternakan*, 39, 155-160.

**Kalinowski, S. T., M. L. Taper & T. C. Marshall (2007).** Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol Ecol*, 16, 1099-106.

**Makvandi-Nejad, S., G. E. Hoffman, J. J. Allen ,E. Chu, E. Gu, A. M. Chandler, A. I. Loredo, R. R. Bellone, J. G. Mezey & S. A. Brooks (2012).** Four loci explain 83% of size variation in the horse. *PLoS One*, 7, e39929.

**Marshall, T. C., J. Slate, L. E. Kruuk & J. M. Pemberton (1998).** Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol Ecol*, 7, 639-55.

**Mousavi, S. F., M. Razmkabir, J. Rostamzadeh, H.-R. Seyedabadi, R. Naboulsi, J. L. Petersen & G. Lindgren (2023).** Genetic diversity and signatures of selection in four indigenous horse breeds of Iran. *Heredity*, 131, 96-108.

**Pérez, P. & G. de los Campos (2014).** Genome-Wide Regression and Prediction with the BGLR Statistical Package. *Genetics*, 198, 483-495.

**Sánchez-Guerrero, M. J., A. Molina, M. D. Gómez, F. Peña & M. Valera (2016).** Relationship between morphology and performance: Signature of mass-selection in Pura Raza Español horse. *Livestock Science*, 185, 148-155.

**Shahsavarani, H. & G. Rahimi-Mianji (2010).** Analysis of genetic diversity and estimation of inbreeding coefficient within Caspian horse population using microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, 9.

**Tamioso, P. R., T. R. Cosmo, C. M. M. Pimentel, L. T. Dias & R. d. A. Teixeira (2012).** Heritability estimates for body weight and height at withers in Brazilian army horses. *Ciência Rural*, 42, 2246-2251.