

بررسی جهانی ساختار ژنتیکی اسب‌های نژاد کاسپین با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

شماره صفحات

۵۱-۳۷

محمد عبدلی^۱، محمد باقر زندی^۲، حمیدرضا سیدآبادی^۳، معین تاند^۴ و ویکتوریا تالمن^۵

۱، ۲ و ۴) گروه پژوهش اسب، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۳) دانشیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، البرز، ایران.

۵) مسئول ثبت نژادی انجمن جهانی اسب کاسپین، لوگپ، کارولینا شمالی، ایالات متحده آمریکا.

نویسنده مسئول: mbzandi@znu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۶

چکیده

هدف این مطالعه ارزیابی ساختار و قرابت ژنتیکی جمعیت مقیاس بزرگی از اسب‌های نژاد کاسپین با استفاده از اطلاعات داده‌های ریزماهواره بود. بدین منظور از اطلاعات ریزماهواره تعداد ۱۱۷ (۶۰ راس ماده و ۵۷ راس نر) راس اسب نژاد کاسپین از بانک اطلاعاتی فدراسیون سوارکاری ایران، ۴۰۱ راس (۲۳۸ راس ماده، ۱۶۳ راس نر) از موسسه تحقیقات علوم دامی کشور و تعداد ۳۶۱ راس (۲۱۰ راس ماده و ۱۵۱ راس نر) اسب از مسئولان ثبت نژادی اسب کاسپین کشورهای سوئد، نروژ، انگلستان و آمریکا استفاده شد. از بین یازده نشانگر، تعداد ال‌های مشاهده‌شده برای هر جایگاه از شش تا ۱۶ ال با میانگین ۹/۲۷ ال بود که جایگاه ASB17 با ۱۶ ال و جایگاه‌های ASB23 و HMS6 با شش ال به ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد ال بودند. نتایج حاصل از اطلاعات ژنوتیپ SSR نشان داد که علیرغم سابقه اسب کاسپین هر دو جمعیت ایرانی ($H_e=0/80$) و کشورهای خارجی ($H_e=0/76$) دارای تنوع ژنتیکی مناسبی بودند. میانگین مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده در جمعیت کاسپین ایران ($0/03 \pm 0/79$) و جمعیت کاسپین کشورهای خارجی ($0/09 \pm 0/77$) بود. بیش‌ترین مقدار چند شکلی نیز به ترتیب در جمعیت کاسپین ایران ($0/06 \pm 0/78$) و جمعیت کاسپین کشورهای خارجی ($0/09 \pm 0/73$) مشاهده شد. براساس نتایج آنالیز ساختار جمعیتی و آمیختگی اسب‌های نژاد کاسپین ایران و کاسپین کشورهای خارجی در گروه‌های جداگانه قرار گرفتند. یکی از دلایل کاهش تنوع ژنتیکی و مقدار هم‌خونی مشاهده‌شده در اسب‌های کاسپین کشورهای خارجی، جامعه آماری کم، جمعیت بسته، تلاقی بین نژادی کاسپین در جهت کاهش نرخ هم‌خونی و اصلاح نژاد پونی‌های نژادهای دیگر می‌باشد. به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد میزان تنوع ژنتیکی اسب کاسپین از حالت تعادل هاردی واینبرگ تبعیت میکند، شرایط متعادلی می‌باشد هرچند حفاظت و گسترش این نژاد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

کلمات کلیدی: اسب کاسپین، تنوع ژنتیکی، حفاظت، ساختار ژنتیکی و نشان‌گرهای ریزماهواره.

مقدمه

نظارت بر حفظ و کنترل جمعیت‌های حیوانات بومی برای حفظ حداکثری میزان تنوع ژنتیکی و توان بالقوه سازگاری آنها در آینده، یکی از مسائل مدیریتی متداول در امر فعالیتهای حفاظتی در گونه‌های جانوری است (Hendricks, 2007; Winton *et al.*, 2015). در جمعیت‌های محدود و در معرض خطر مخصوصاً زمانی که تعداد افراد با توانایی تولید مثل کم باشد، به علت حذف افراد موثر در ایجاد و ثبات جریان ژنی احتمال رانش ژنتیکی افزایش می‌یابد (Vonholdt *et al.*, 2010).

با این وجود، شناخت ساختار و روابط موجود میان جمعیت‌ها گامی مؤثر در حفظ منابع ژنتیکی خواهد بود. اقدامات حفاظتی باید براساس درک عمیقی از منابع ژنتیکی موجود در نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی بسیار مهم است (Shojaei *et al.*, 2010). بدین سبب، مدیریت مطلوب جمعیت‌ها به منظور جلوگیری از کاهش تنوع ضروری به نظر می‌رسد. به طور کلی به منظور حفظ بقاء گونه‌ها، باید جنبه‌های ژنتیکی نیز در نظر گرفته شوند. تنوع ژنتیکی تحت تأثیر عوامل متعددی مانند: رانش ژنتیکی، انتخاب طبیعی و روش‌های تولیدمثلی می‌باشد. نظارت بر تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها یکی از مهم‌ترین وظایف در جهت حفاظت و تولیدمثل نژادهای مختلف اهلی از قبیل اسب‌ها است (Barcaccia *et al.*, 2013). بدون شک نژادهای اسب بخش مهمی از سرمایه‌های ملی، منطقه‌ای و منابع ژنتیکی جهانی می‌باشند. با این حال، خوشبختانه امروزه عموم مردم به لطف فعالیت‌های جهانی و ملی در جهت حفاظت از تنوع زیستی و منابع ژنتیکی و غیره از نیاز به حفظ نژادهای بومی آگاه هستند (Ivankovic *et al.*, 2021). مطالعه اهلی‌سازی حیوانات یکی از پیچیده‌ترین مسائل است و راه حل آن در استفاده از طیف وسیعی از روش‌ها و رشته‌های مختلف نهفته است (Kosintsev and Kuznetsov, 2013). شواهد باستان‌شناسی حاکی از آن است که اسب برای اولین بار در حدود ۵۰۰۰ تا ۶۰۰۰ سال پیش در استپ‌های امروزی اوکراین، جنوب غرب روسیه و قزاقستان اهلی شده است (Olsen, 2006; Outram *et al.*, 2009 and Warmuth *et al.*, 2011). اسب‌ها نسبت به حیوانات دیگر دیرتر اهلی شدند اما به دلیل توان تطبیق‌پذیری بالا به سرعت در سراسر جهان گسترش پیدا کردند (Warmuth *et al.*, 2012). به گونه‌ای که همواره در دوره‌های مختلف تاریخ در کنار انسان بوده و نقش مهمی در سبک زندگی و پیشرفت تمدن بشری داشته است (Olsen, 2006). نژادهای اسب ایرانی را با توجه به منشأ و محل پرورش آنها می‌توان به چهار گروه اصلی اسب‌های دشت‌های آبرفتی شمال (مانند نژاد کاسپین)، اسب‌های منطقه شمال شرق (مانند نژاد ترکمن)، اسب‌های مناطق کوهستانی غرب (مانند نژاد کرد) و اسب‌های جنوب غرب و فلات مرکزی (مانند نژاد عرب) تقسیم کرد (Rafeie *et al.*, 2011). تحقیقات نشان می‌دهند که اسب کاسپین به عنوان یکی از قدیمی‌ترین اسب‌های موجود در خاورمیانه می‌باشد که قدمت آن حدوداً به ۳۰۰۰ سال قبل از میلاد برمی‌گردد. اگرچه این نژاد ظاهری مشابه پونی‌ها دارد اما به دلیل ویژگی‌های فیزیکی و تاریخی آن در دسته پونی‌ها طبقه‌بندی نمی‌شود. خاستگاه اصلی و پراکنش طبیعی اسب کاسپین بین سواحل جنوبی دریای خزر (استان‌های گیلان، مازندران و گلستان) و نواحی شمال رشته کوه‌های البرز می‌باشد (Shahsavaran and Rahimi-Mianji, 2010). بر

اساس یافته‌های جدید باستان‌شناسی از محوطه باستانی تپه گوهر استان مازندران مشخص گردید که قدمت این نژاد به ۳۴۰۰ سال قبل باز می‌گردد (Caspian Horse Society, 2018). بنابراین، ممکن است چنین بیان کرد که اولین اسب‌های اهلی شده در خاورمیانه مستقیماً اجداد اسب‌های کاسپین بوده‌اند. از این رو، فرض بر این است که اسب کاسپین در تاریخچه پرورش اسب و شکل‌گیری برخی نژادها از جمله اسب عرب جایگاه بسزایی داشته و همچنین یکی از نژادهای مهم دنیا محسوب می‌شود (Hendricks, 2007; Hosseini *et al.*, 2016). اگرچه تا قرن‌ها اعتقاد بر این بود که اسب کاسپین منقرض شده است اما در دهه ۱۹۵۰ اسب کاسپین توسط لویئز فیروز در مناطقی بین سواحل جنوبی دریای خزر و شمال رشته کوه‌های البرز دوباره یافت شد (Firouz and Dalton, 2013). کاسپین مهم‌ترین نژاد اسب ایرانی است که علاوه بر دارا بودن قدرت، سرعت، ظرافت، تطبیق‌پذیری و هوش بالا، برای اهداف مختلفی مانند سوارکاری و آموزش به کودکان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hosseini *et al.*, 2016). خوشبختانه با صادرات اسب کاسپین به نقاط دیگر نظیر کشورهای اروپایی، آمریکای شمالی و استرالیا، جمعیت این نژاد افزایش پیدا کرده و در حال حاضر با تعداد تقریبی ۱۵۰۰ راس در مراکز خصوصی پرورش داده می‌شود (Rousseau, 2018; Caspian Horse Society, 2017). مطالعات پیرامون تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی، پیشینه آماری و اهلی‌سازی جمعیت‌های حیوانات همچنین برنامه‌های اصلاح نژادی و مطالعات گسترده کل ژنوم جانوران و گیاهان برای درک نحوه تکامل بسیار ضروری است. مطالعه بر روی تنوع ژنتیکی جمعیت حیوانات نه تنها برای یک گروه یا گونه‌های جانوری مفید است، بلکه نتایج حاصل از این تحقیقات می‌تواند به دیگر گونه‌ها و همچنین برای دستیابی به پیشرفت‌های ژنتیکی و بسیاری از اهداف دیگر تعمیم داده شود (Peffers *et al.*, 2010). امروزه از نشانگرهای ریزماهوره برای تعیین ساختار جمعیت، تخمین مقدار هم‌خونی، هموزیگوسیتی، فواصل ژنتیکی بین جمعیت‌ها، برنامه‌های حفاظت نژادی (Fornal *et al.*, 2013) و کشف منشأ و روابط بسیاری از نژادهای اسب (Van de Goor *et al.* 2011; Prystupa *et al.* 2012) و همچنین برای روشن شدن نحوه فرآیند اهلی‌سازی اسب، استفاده می‌شود (Vila *et al.*, 2001). طبق قوانین انجمن بین‌المللی ژنتیک حیوانات^۱ (ISAG)، از نشانگرهای ریزماهوره پیشنهادی برای بررسی تنوع ژنتیکی، آزمون والدین و انتساب نژادهای مختلف اسب استفاده می‌شود (Winton *et al.*, 2015). همچنین نتایج حاصل از مطالعات قبلی مشخص کرد که استفاده از نشانگرهای ریزماهوره در تحقیقات مرتبط با تنوع ژنتیکی و حفظ نژادهای در معرض خطر انقراض، اطلاعات خوبی در اختیار محققان قرار می‌دهد (Mahrous *et al.*, 2011; Mackowski *et al.*, 2021 and Abdoli *et al.*, 2015). تاکنون مطالعات متعددی جهت بررسی میزان تنوع ژنتیکی (Rafeie *et al.*, 2021; Banaabadi *et al.*, 2017 and Abdoli *et al.*, 2013; Khanshour *et al.*, 2013)، تخمین میزان هم‌خونی (Shahsavaran and Rahimi-Mianji, 2010)، نشانه‌های انتخاب (Zandi *et al.*, 2014)، رانش ژنی (Amirinia *et al.*, 2018; Seyedabadi and Savarsofla, 2007)، آزمون والدین (Seyedabadi *et al.*, 2006)، ساختار و روابط فیلوژنی (Luis *et al.*, 2018)

Moazemi *et al.*, 2020 and (*et al.*, 2007; Seyedsharifi *et al.*, 2019)، چندشکلی و ژن‌های مرتبط با اندازه بدن (Moazemi *et al.*, 2020) در اسب کاسپین صورت گرفته است. خوشبختانه طبق گزارشات محققان پیشین که با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی^۲ (SNP) صورت گرفت، جمعیت اسب کاسپین از لحاظ میزان هم‌خونی و اندازه موثر جمعیت در سطح قابل قبولی قرار دارد (Abdoli *et al.*, 2021).

از آنجایی که اسب کاسپین یکی از قدیمی و اصلی‌ترین نژادهای مورد استفاده در اصلاح نژاد، شکل‌گیری و تشکیل نژادهای اسب امروزی است، تحقیق و بررسی گسترده‌تری توان ژنتیکی آن به ندرت مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به اینکه تاکنون مطالعات ژنتیکی صورت گرفته در نژاد کاسپین محدود به تعداد اندکی نمونه و تعداد کم نشانگر ریزماهواره بوده است، مقادیر برآورد شده پارامترهای ژنتیکی جمعیتی مانند مقادیر هم‌خونی، تنوع و ساختار ژنتیکی حقیقی نبوده است. مهم‌تر از موارد ذکر شده این است که نتایج اغلب بروی جمعیت‌های اسب نژاد کاسپین در داخل کشور متمرکز شده اند و نتایج حاصل با دیگر جمعیت‌های اسب کاسپین در کشورهای دیگر مقایسه نمی‌شود، در نتیجه پتانسیل و ماهیت حقیقی ژنتیکی اسب کاسپین را نمایان نمی‌کند. از آنجایی که نژاد کاسپین یکی از نژادهای در معرض خطر انقراض و مهم دنیا می‌باشد، توجه به اهمیت این تحقیق لزوم انجام آن را دو چندان کرده است. بنابراین، تحقیق پیش‌رو اولین تحقیق با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی، خزانه ژنی و شناسایی رانش ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف اسب نژاد کاسپین موجود در کشورهای ایران، سوئد، نروژ، انگلستان و آمریکا با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق مجموعاً از اطلاعات ریزماهواره تعداد ۸۷۹ نمونه اسب نژاد کاسپین شامل: ۱۱۷ نمونه از بانک اطلاعات فدراسیون سوارکاری ایران، ۴۰۱ نمونه از موسسه تحقیقات علوم دامی کشور و ۳۶۱ نمونه اسب کاسپین از کشورهای سوئد، نروژ، انگلستان و آمریکا که مربوط به مناطق و پرورش‌دهندگان مختلف بودند، استفاده شد. اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره نمونه‌های اسب شامل شامل اسب‌های متولد شده در بین سال‌های ۱۹۹۱ تا ۲۰۲۱ بود. نمونه‌های فولیکول مو اسب‌های کاسپین ایران از بانک اطلاعات فدراسیون سوارکاری و موسسه تحقیقات علوم دامی کشور اخذ شد. و نمونه‌های اسب کاسپین مربوط به کشورهای خارجی نیز از پرورش‌دهندگان و مسئولان ثبت نژادی آن نژاد، اخذ شد. تمامی نمونه‌های اسب از قبل در آزمایشگاه‌های دانشگاه کنتاکی، تگزاس و دیویس^۳ آمریکا که مورد تایید انجمن (ISAG) هستند، تعیین ژنوتایپ شده بودند. برای انجام این مطالعه از ۱۱ نشانگر ریزماهواره پیشنهادی انجمن (ISAG) مشترک در بین همه نمونه‌ها شامل AHT4، AHT5، ASB2، ASB17، HMS3، HMS6، HMS7، HTG4، HTG10 و VHL20 استفاده شد (Cothran *et al.*, 2005).

^۲ - Single Nucleotide Polymorphism (SNP)
^۳ - Davis

بررسی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها

بررسی محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)، تعداد الل مشاهده‌شده (Na)، میانگین هتروزیگوسیتی (Ave-Het) و تنوع جایگاه‌ها با استفاده از نرم‌افزار Cervus v 3.0.7 (Kalinowski *et al.*, 2007) برآورد شد. تعداد الل موثر (Ne)، شاخص شانون (I) و فاصله ژنتیکی بین دو جمعیت اسب‌های کاسپین ایران و کشورهای خارجی براساس رابطه (Nei, 1978) Nei با استفاده از آزمون مربع کای (χ^2) و نرخ درست‌نمایی (G^2)، بررسی وجود تعادل هاردی-واینبرگ (HWE) برای هر جایگاه‌های ریزماهواره با تخمین ارزش‌های P به روش زنجیره مارکف مونت کارلو^۴ (MCMC)، و برای جمعیت‌ها به روش فیشر با استفاده از نرم‌افزار POPGENE v 1.32 (Yeh *et al.*, 1999) محاسبه گردید. روابط خویشاوندی ژنی یکی از استانداردهای میزان تشابه بین افراد است. بدین منظور، روابط فیلوژنی جمعیت‌های مورد بررسی نیز با استفاده از نرم‌افزار (MEGA v 7.0.14 Kumar *et al.*, 2016) و به روش جفت گروهی غیروزی با کمک میانگین حسابی^۵ (UPGMA) و درخت پیوند هم‌جواری^۶ (NJ) با ۱۰۰۰ بار نمونه‌گیری مجدد ترسیم شد.

بررسی ساختار ژنتیکی بین جمعیت‌ها

جهت بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (H_0) و مورد انتظار (H_e)، ضریب همخونی (Fis)، تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها و مشخص کردن تفاوت‌های بین و داخل جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار Arlequin v 3.5.2.2 (Excoffier and Lischer, 2010) بدست آمد. ماتریس فواصل ژنتیکی برای معیار فاصله ژنتیکی مورد استفاده، یعنی فاصله ژنتیکی استاندارد Nei (DS و DA) با ۱۰۰۰ بار تکرار تشکیل گردید.

آنالیزهای تمایز ژنتیکی

جهت بررسی تمایز بین دو جمعیت مورد بررسی آنالیز تشخیص نژادی انجام شد. آنالیزهای تمایز نژادی با استفاده از بسته‌های نرم‌افزاری (R Development Core Team, 2022) R v 4.2.2 با هدف تجزیه و تحلیل شناسایی و توصیف خوشه‌های ژنتیکی استفاده شد. با استفاده از پکیج adegent (Jombart, 2014) نیز بررسی روش تحلیل افتراقی مؤلفه‌های اصلی^۷ (DAPC) بدون در نظر گرفتن اطلاعات قبلی درباره افراد و زیر جمعیت‌ها برای تعیین گروه‌ها مورد بررسی قرار گرفت (Jombart and Collins, 2017). محور X در خروجی‌های DAPC معمولاً نشان‌دهنده ترکیب خطی از نشانگرهای ژنتیکی است که با استفاده از تحلیل‌های چندمتغیره مانند PCA و LDA به دست می‌آید. هدف این ترکیب خطی نمایش تفاوت‌های بین جمعیت‌ها و واریانس بین جمعیت‌هاست تا بتوان مرزهای تفکیک ژنتیکی را بهتر دید. به طور دقیق: در DAPC، ابتدا PCA روی داده‌های

^۴ - Markov chain Monte Carlo

^۵ - unweighted pair group method with arithmetic mean algorithm

^۶ - Neighbor-joining tree

^۷ - Discriminant Analysis of Principal Components

ژنتیکی انجام می‌شود تا ابعاد داده کاهش یابد، سپس LDA⁸ روی داده‌ها PCA انجام می‌گیرد تا حداکثر تفکیک بین جمعیت‌ها حاصل شود. نتیجه آن یک ترکیب خطی از نشانگرها است که در محور X نمایش داده می‌شود و نشان‌دهنده ترکیبی از واریانس بین-جمعیتی و ساختار داده است. با وجود اینکه محور Y معمولاً چگالی یا فراوانی داده‌ها را نشان می‌دهد، محور X همان ترکیبی از نشانگرها است که به تفکیک گروه‌ها و وجود تفرق یا هم‌پوشانی بین جمعیت‌ها کمک می‌کند. دو قله روی محور X ممکن است نشان‌دهنده دو گروه می‌باشد، در حالی که فاصله بین قله‌ها نشان‌دهنده میزان تفکیک ژنتیکی بین گروه‌هاست (Jombart and Collins, 2017). نرم‌افزار Structure v 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2010) به روش خوشه‌بندی جایگزینی بر اساس فرضیات مدل متفاوت جهت بررسی آمیختگی بین جمعیت‌ها، آنالیز اختلاط نژادی، تعداد خوشه‌ها براساس اطلاعات ریزماهواره برای اختصاص افراد به جمعیت‌ها، یا نژاد و خوشه‌بندی جمعیت‌ها به گروه‌های ژنتیکی مورد استفاده و مقایسه قرار گرفت. بررسی ساختار ژنتیکی و آمیختگی در مجموعه داده‌های اسب‌های کاسپین مورد مطالعه جهت آنالیز ساختار داده‌ها به کار گرفته شد. با افزودن تعداد جمعیت‌های فرضی از $K=2$ تا $K=6$ ، بررسی ساختار جمعیتی اسب‌های حاضر در این تحقیق مورد، استفاده قرار گرفت. با استفاده از اطلاعات ژنوتایپ داده‌ها از جایگاه‌های چندشکل، تعداد خوشه‌ها (نژادها یا جمعیت‌ها) در نمونه‌ها و افراد اختصاصی به صورت هم‌زمان مشخص می‌شود. K (تعداد جمعیت‌های فرض شده) با مدل مخلوط، ۵۰.۰۰۰ دور در مرحله قلق‌گیری و ۱۰۰.۰۰۰ تکرار زنجیره MCMC انجام گرفت. این روش با استفاده از مدل‌های آماری بیزی، احتمال تعلق هر فرد را به جمعیت‌های مبنا (K جمعیت) محاسبه می‌کند و سهم ژنتیکی هر جمعیت مبدأ را در هر فرد (آمیختگی) برآورد می‌نماید. این نرم‌افزار با تحلیل جایگاه‌های ریزماهواره، دو خروجی اصلی عبارت است از: ماتریس Q (نسب آمیختگی) سهم هر جمعیت مبدأ (K) در ژنوم هر فرد و احتمال تعلق آلی جمعیت‌ها را ارائه می‌دهد. یکی از مزیت‌های کلیدی این روش به این صورت است که نیازی به اطلاع از جمعیت مبدأ افراد ندارد و حتی در حضور آمیختگی، جمعیت‌ها را به‌خوبی تشخیص می‌دهد (Pritchard *et al.*, 2010).

نتایج و بحث

تمام ۱۱ نشانگر زیرماهواره مورد بررسی در این پژوهش در هر دو جمعیت مورد مطالعه شاخصه‌های تنوع را نشان دادند. مقادیر تعداد الل مشاهده‌شده (N_a)، تعداد الل موثر (N_e)، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (H_o) و مورد انتظار (H_e)، پلی‌مورفیسم (PIC)، هم‌خونی (F_{is})، شاخص شانون (I) و میانگین هتروزیگوسیتی (Ave-Het) در جمعیت اسب‌های مورد بررسی در (جدول ۱ و ۲) گزارش شده است. در این پژوهش، بیش‌ترین تعداد الل در جایگاه ASB17 (۱۶ برای اسب‌های کاسپین ایران و ۱۱ برای اسب‌های کاسپین کشورهای خارجی) و کم‌ترین تعداد الل در جایگاه HMS6 (شش الل برای جمعیت کاسپین ایران) و

جایگاه‌های HMS6 و ASB23 (شش ال برای جمعیت کاسپین کشورهای خارجی) مشاهده شد. شاید بتوان دلیل کم بودن مقدار تعیین ژنوتایپ جایگاه HMS6 را در تعداد آل‌های اختصاصی کمی که این نشانگر برای آزمون‌های انساب و انتساب کاربرد دارد، تفسیر کرد. در بین جمعیت‌های مورد مطالعه تعداد کل ال‌های مشاهده‌شده برای دو جمعیت ۲۰۳ ال و میانگین تعداد ال مشاهده‌شده برای تمام جایگاه‌ها، ۹/۲۷ ال بود. میانگین چند شکلی مشاهده‌شده در بین تمام جایگاه‌ها ۰/۷۵ برآورد شد که نشان از تنوع الی بالایی در بین جمعیت‌های مورد بررسی است. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای تمامی نشانگرها ۰/۷۸ بود. بیش‌ترین و کم‌ترین مقادیر هموزیگوسیتی مشاهده‌شده، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، میانگین هتروزیگوسیتی، شاخص شانون، پلی‌مورفیسم، جریان ژنی و تعداد ال موثر نیز به ترتیب متعلق به جایگاه‌های ASB2 و HMS7 بود. تعداد ال موثر در این تحقیق در دامنه‌ای بین ۲/۷۰ تا ۶/۸۲ به ترتیب متعلق به جایگاه‌های HMS7 و ASB2 بود. بالا بودن مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در این تحقیق نشان‌دهنده کارآمد بودن نشانگرهای مورد استفاده در مطالعات ژنتیکی اسب می‌باشد. با توجه نتایج بدست آمده در این پژوهش هیچ از جایگاه‌ها در جمعیت اسب‌های کاسپین کشورهای خارجی از تعادل هاردی-واینبرگ (HWE) انحراف معناداری نشان ندادند، اما اسب‌های کاسپین ایران در جایگاه‌های ASB17 و HTG10 انحراف معناداری داشتند. آمده در این پژوهش هیچ یک از جایگاه‌ها و جمعیت‌ها از تعادل هاردی-واینبرگ (HWE) انحراف معنی‌داری نشان ندادند. پایین بودن میزان شاخص تثبیت رایت در کل جایگاه‌های مورد بررسی این تحقیق، نشان دهنده پایین بودن سطح هم‌خونی در بین نژادهای مورد بررسی است. بررسی نتایج حاصل از آنالیزهای ژنتیکی و مقایسه نتایج جمعیت‌های مورد بررسی با یکدیگر نشان داد که میزان تنوع معیارهای ژنتیکی در بین جمعیت اسب‌های کاسپین ایران نسبت به جمعیت اسب‌های کشورهای سوئد، نروژ، انگلستان و آمریکا بیشتر بهتر و در وضعیت پایدارتری وجود دارد. بنابراین، با توجه به گزارشات مطالعات پیشین در مورد سنجش پارامترهای ژنتیکی اسب کاسپین در داخل و خارج از ایران آشکار است که شرایط کنونی این نژاد دارای بیشترین مقدار تنوع ژنتیکی وضعیت بهتری نسبت به سال‌های گذشته قرار دارد. به طوری که شاخص‌های سنجش تنوع ژنتیکی مانند (N_a)، (N_e)، (He)، (I) و (PIC) در اسب کاسپین ایران بیشتر از جمعیت‌های اسب‌های کاسپین سوئد، نروژ، انگلستان و آمریکا گزارش شد. آخرین صادرات قانونی اسب کاسپین به خارج از کشور که توسط مراجع ذیربط صورت گرفت مربوط به سال ۱۹۹۱ می‌باشد. بنابراین، شاید یکی از دلایل اصلی پایین بودن سطح تنوع ژنتیکی اسب‌های کاسپین خارج از ایران افزایش تلاقی‌های خویشاوندی و هم‌خونی و کاهش پارامترهای ژنتیکی مانند (N_e)، (PIC) و (I) بخاطر تعداد کم اسب صادر شده می‌باشد که هر سه پارامتر ذکر شده در اسب‌های کاسپین خارجی نسبت به جمعیت کاسپین ایران پایین تر بود (جدول ۳). در مطالعه سیدآبادی و ساورسقلی (۱۳۹۷) که با استفاده از ۱۷ نشانگر ریزماهواره بر روی ۱۲۰ راس اسب کاسپین انجام گرفت، تعداد کل ال مشاهده‌شده برای تمامی جایگاه‌ها ۷/۴۱ بود و دامنه تعداد ال مشاهده‌شده بین پنج (HMS1 و HTG7) تا نه (HTG7) گزارش شد.

جدول ۱. خلاصه پارامترهای ژنتیک جمعیت به تفکیک هر نشانگر ریزماهواره برای جمعیت کاسپین‌های ایران

Locus	N _a	N _e	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}	Ho	He	PIC	I
AHT4	10	5.34	0.00	0.00	0.01	0.81	0.81	0.78	1.86
AHT5	9	4.74	-0.02	-0.02	0.00	0.81	0.79	0.75	1.68
ASB2	14	6.68	0.02	0.00	0.00	0.83	0.85	0.83	2.08
ASB17	16	4.77	0.00	0.02	0.01	0.79	0.79	0.77	2.00
ASB23	12	5.56	-0.02	0.00	0.01	0.84	0.82	0.79	1.92
HMS3	10	5.15	0.03	-0.02	0.00	0.78	0.80	0.77	1.79
HMS6	6	4.67	0.00	0.03	0.02	0.79	0.78	0.75	1.63
HMS7	8	5.63	-0.01	0.04	0.06	0.83	0.82	0.80	1.87
HTG4	7	3.94	0.00	0.02	0.04	0.75	0.74	0.71	1.57
HTG10	10	5.68	0.01	0.01	0.00	0.72	0.82	0.80	1.95
VHL20	11	6.34	0.03	0.04	0.02	0.81	0.84	0.82	2.00
Mean	10.36	5.32	0.003	0.01	0.01	0.79	0.80	0.78	1.85
St.Dev	2.97	0.78	0.01	0.02	0.01	0.03	0.02	0.06	0.16

تعداد ال مشاهده شده (N_a)، تعداد ال موثر (N_e)، ضریب هم‌خونی (F_{IS})، ضریب هم‌خونی کلی (F_{IT})، ضریب تمایز جمعیتی (F_{ST})، (Fit)، (Fst)، (I) هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، پلی‌مورفیسم (PIC) و شاخص شانون (I).

جدول ۲. خلاصه پارامترهای ژنتیک جمعیت به تفکیک هر نشانگر ریزماهواره برای جمعیت کاسپین کشورهای خارجی

Locus	N _a	N _e	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}	Ho	He	PIC	I
AHT4	10	6.26	-0.01	0.00	0.01	0.85	0.84	0.82	1.96
AHT5	7	4.30	0.00	-0.02	0.00	0.75	0.76	0.72	1.57
ASB2	10	6.82	-0.01	0.00	0.00	0.86	0.85	0.83	2.03
ASB17	11	5.55	0.03	0.02	0.01	0.79	0.82	0.79	1.93
ASB23	6	4.84	-0.01	0.00	0.01	0.78	0.77	0.73	1.56
HMS3	8	4.17	-0.02	-0.02	0.00	0.77	0.75	0.72	1.62
HMS6	6	5.06	0.02	0.03	0.02	0.77	0.79	0.75	1.61
HMS7	8	2.70	-0.01	0.04	0.06	0.52	0.52	0.49	1.14
HTG4	7	3.56	-0.03	0.02	0.04	0.70	0.68	0.62	1.30
HTG10	8	5.24	-0.07	0.01	0.00	0.85	0.80	0.77	1.79
VHL20	9	5.40	0.00	0.04	0.02	0.78	0.78	0.76	1.80
Mean	8.18	4.90	-0.01	0.01	0.01	0.77	0.76	0.73	1.66
St.Dev	1.66	1.12	0.02	0.02	0.01	0.09	0.09	0.06	0.27

جدول ۳. خلاصه پارامترهای ژنتیکی جایگاه‌های ریزماهواره به تفکیک دو نژاد مورد مطالعه

pop		N _a	N _e	Ho	He	PIC	F _{IS}	I	Ave-Het
Iranian Caspian	Mean	10/36	5/32	0/79	0/80	0/78	0/003	1/85	0/80
	(St. Dev)	(2/97)	(0/7)	(0/03)	(0/02)	(0/06)	(0/01)	(0/16)	(0/02)
Foreign Caspian	Mean	8/18	4/90	0/77	0/76	0/73	-0/012	1/66	0/76
	(St. Dev)	(1/66)	(1/12)	(0/09)	(0/09)	(0/06)	(0/02)	(0/27)	(0/09)

تعداد ال‌های مشاهده شده (N_a)، تعداد ال موثر (N_e)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، چندشکلی (I)، شاخص شانون (I) و میانگین هتروزیگوسیتی (Ave-Het).

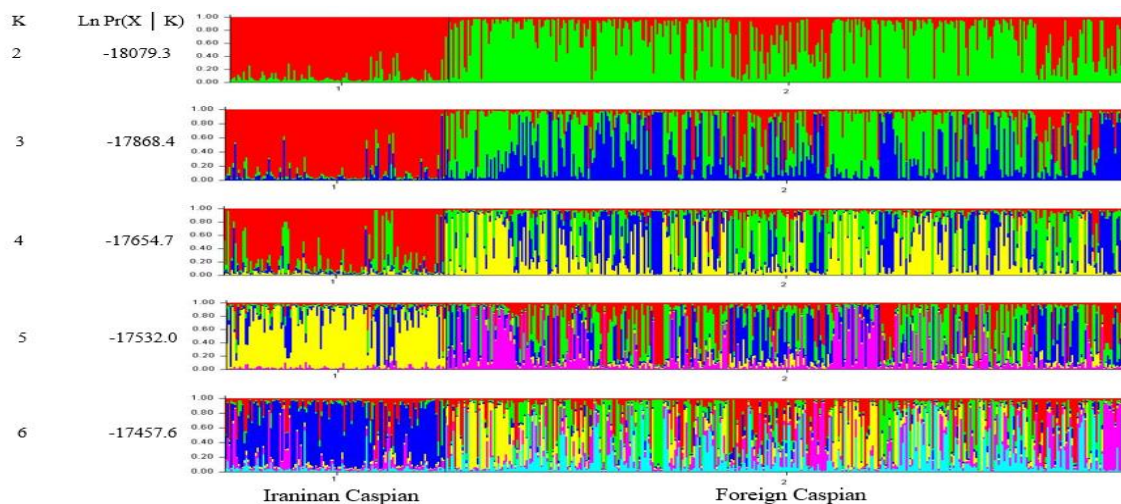
در مطالعه مذکور مقادیر تعداد ال (N_a)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) و هم‌خونی (F_{IS}) به ترتیب ۷/۴۱، ۰/۶۸، ۰/۷۴، ۰/۷۸ و ۰/۰۸ برآورد شد که با مطالعه حاضر شباهت دارد. در مطالعه سیدشریفی و همکاران (۱۳۹۸) نیز که با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهواره بر روی ۱۳۶ راس اسب کاسپین، عرب و تالشی صورت گرفت، مقادیر (N_a)، (N_e)، (I)، (Ho) و (He) به ترتیب برابر ۸/۹۲، ۴/۵۴، ۱/۷۲، ۰/۷۵ و ۰/۷۸ برآورد شد که کمتر از مقادیر بدست آمده برای همین شاخص‌ها در مطالعه حاضر است. اما در تحقیق ذکر شده بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد ال مشاهده شده متعلق به جایگاه‌های ASB17 (۱۲ ال) و HMS6 (شش ال) بود که با نتیجه این تحقیق در همین نشانگرها مطابقت دارد. در مطالعات امیری‌نیا و همکاران (۱۳۸۶) میانگین تعداد ال مشاهده شده به ازای هر نشانگر بین سه تا پنج ال

بود. مقادیر (Na)، (Ne)، (PIC)، (Ho) و (He) به ترتیب ۴/۱۲، ۳/۱۸، ۶/۶۰، ۰/۹۴ و ۰/۶۹ برآورد شد که تفاوت معنی‌داری با نتایج تحقیق حاضر دارد. احتمالاً اختلاف پارامترهای ژنتیکی برآورد شده مطالعه مذکور در مقایسه با پژوهش حاضر در اندازه کم جمعیت مورد بررسی (۴۵ راس) و تعداد نشانگرهای مورد استفاده (۸ نشانگر) باشد. در تحقیق شهسوارانی و رحیمی‌میانجی (۱۳۸۸) مقادیر (Na)، (Ne)، (PIC) و (F_{IS}) بیشتر و مقدار (Na) و (Ho) کمتر از مطالعه حاضر بود. در مطالعه سیدآبادی و همکاران (۱۳۸۵) نیز شاخص‌های (Na)، (Ho)، (He) و (PIC) به ترتیب ۳/۸۶، ۰/۹۴، ۰/۶۷ و ۰/۶۰ گزارش شد. در تحقیق عبدلی و همکاران (۱۴۰۰) نیز مقادیر (Na)، (Ne)، (PIC)، (I)، (Ho) و (He) بدست آمده برای اسب کاسپین به ترتیب ۹/۱۸، ۵/۱۴، ۰/۷۷، ۱/۸۲، ۰/۶۷ و ۰/۶۹ برآورد شد که مشابه مطالعه حاضر بود. در پژوهشی که تنوع ژنتیکی اسب‌های نژادهای مختلف را با استفاده از نشانگرهای پروتئینی و ریزماهواره بررسی کردند میانگین تعداد الل مشاهده‌شده، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در اسب کاسپین به ترتیب ۷/۷۵، ۰/۷۴ و ۰/۷۵ بدست آمد که کمتر از تحقیق حاضر بود. اما آنها نشان دادند که نژاد کاسپین بالاترین مقدار میانگین تعداد الل مشاهده‌شده را در بین تمام نژادها داشت و انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی-واینبرگ (HWE) نشان داد (Luis *et al.*, 2007).

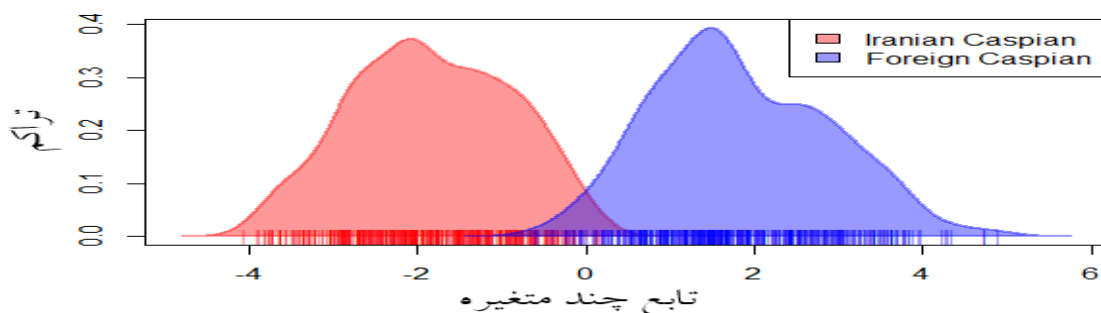
در مطالعه‌ای که بر روی اسب‌های اروپایی صورت گرفت مقدار هم‌خونی ($F_{IS} = -0.02$) اسب کاسپین مشابه با مقدار بدست آمده برای نژاد کاسپین کشورهای خارجی در مطالعه حاضر بود (Warmuth *et al.* 2011). در بررسی که اسب‌های عرب با دیگر نژادها مقایسه شد دامنه تعداد الل مشاهده‌شده بین سه تا ۸/۴۷ و تعداد الل موثر بین ۲/۱۲ تا ۴/۷۰ اعلام شد. همچنین در مطالعه مذکور تعداد الل مشاهده‌شده، الل موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار اسب نژاد کاسپین نیز کمتر از مقادیر بدست آمده در این مطالعه بود (Khanshour *et al.*, 2013). در مطالعه پریستوپا و همکاران (۲۰۱۱) مقادیر تعداد الل مشاهده‌شده، تعداد الل موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار اسب کاسپین به ترتیب برابر ۵/۸۴، ۳/۶۱، ۰/۶۹ و ۰/۶۹ گزارش شد. مقدار هم‌خونی (F_{IS}) بدست آمده در مطالعه آنان کمتر از مقدار بدست آمده در مطالعه حاضر بود. در مطالعه اوچینیکو و همکاران (۲۰۱۸) نیز مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده، مورد انتظار و هم‌خونی (F_{IS})، ۰/۷۱، ۰/۷۲ و ۰/۱۲ برآورد شد. با بررسی نتایج حاصل از مطالعه حاضر با تحقیقات پیشین این‌طور به نظر می‌رسد که جمعیت اسب‌های کاسپین مورد بررسی در این مطالعه از نظر ساختار جمعیتی و پتانسیل ژنتیکی در سطح خوبی قرار دارند.

. نتایج حاصل از اولین سطح خوشه‌بندی در $K=2$ منعکس‌کننده تمایز آشکار ژنتیکی بین اسب‌های کاسپین ایران و اسب‌های کاسپین کشورهای خارجی بود. در $K=3$ تفاوت دو جمعیت کاسپین مورد بررسی بیشتر شد و هریک به صورت یک جمعیت مجزا در گروهی جداگانه قرار گرفتند. از $K=3$ تا $K=6$ تفاوت واضح و بدون تغییری بین جمعیت‌ها باقی ماند. با توجه به شکل ۱، نکته قابل توجه و جالبی که در آنالیز ساختار جمعیتی مشاهده شد، یگانگی اسب‌های کاسپین ایران از نظر تشابه ساختاری بود که نشان‌دهنده بالا بودن میزان هموزیگوسیتی در این نژاد است. احتمالاً یکی از عوامل اصلی آمیختگی و تفاوت

ساختار ژنی در اسب‌های کاسپین کشورهای خارجی تلاقی این نژاد با پونی‌های بومی آن کشورهاست که از آن به جهت کاهش هم‌خونی در نژاد کاسپین و در عین حال اصلاح نژاد اسب‌های دیگر استفاده می‌شود. در مطالعه پریستوپا و همکاران (۲۰۱۲) نژاد کاسپین به‌طور قابل‌توجهی با نژادهای دارتمور^۹ و هافلینگر^{۱۰} دارای اجداد مشترکی بودند که شاید به دلیل تاثیر شناخته‌شده‌ای است که در گذشته اسب نژاد عرب بر روی این نژادها داشته است.



شکل ۱. میزان انتساب به خوشه‌های مختلف در نمودارهای مربوط به برآوردهای مقادیر Q توسط نرم‌افزار Structure هر فرد با یک خط عمودی نشان داده شده که طول آن نشانگر سهم هر کدام از K خوشه استنتاجی است.



شکل ۲. تابع چندمتغیره پراکندگی و شباهت جمعیت‌های مورد بررسی، اسب‌های کاسپین ایران (قرمز) و کشورهای خارجی (آبی)

به منظور تشخیص تمایز و تنوع ژنتیکی در بین و داخل جمعیت‌ها آنالیز مشخص کننده مولفه‌های اصلی که یک روش غیر مبتنی بر مدل می‌باشد، اجرا شد. همان‌گونه که از شکل ۲ مشخص است، نژادهای کاسپین ایران و کشورهای خارجی به لحاظ ساختار ژنتیکی کاملاً با یکدیگر متفاوت بوده و هر جمعیت یک گروه جداگانه تشکیل داده و درصد هم‌پوشانی جزئی دارند. پراکندگی موجود در بین جمعیت اسب‌های کاسپین مورد مطالعه که دارای خصوصیات مشترک فنوتیپی هستند قابل توجه است اما وجه تمایز ژنوتیپی مشاهده شده در بین جمعیت‌های مورد بررسی جای تامل و بررسی دارد.

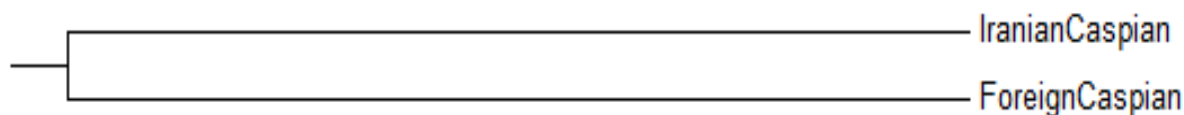
در تحقیق حاضر، فواصل ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از روش‌های مبتنی فاصله ژنتیکی (استاندارد و نآریب Nei، Slatkin's و Edwaed's) برآورد شد و در جدول ۳ ارائه گردید.

جدول ۳. فواصل ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه بر مبنای روش نآریب Nei

pop	Iranian Caspian	Foreign Caspian
Iranian Caspian	***	0.868
Foreign Caspian	0.140	***

شباهت ژنتیکی (عدد بالای قطر) و فواصل ژنتیکی (عدد زیر قطر) با استفاده از روش نآریب Nei

در این مطالعه، از ماتریس فاصله ژنتیکی تغییر یافته Nei جهت ترسیم درخت فیلوژنتیک میان جمعیت‌های مورد بررسی استفاده گردید. در این پژوهش با استفاده از روش جفت گروهی غیروزی با کمک میانگین حسابی (UPGMA) و پیوند هم‌جواری (NJ) فواصل ژنتیکی بین نژادی برآورد شد که جمعیت‌های کاسپین ایران و کشورهای خارجی هر یک در گروه متمایزی قرار گرفتند (شکل ۳). در یک مطالعه گسترده، جمعیت اسب‌های نژاد کرد و عرب در یک گروه، ترکمن و کاسپین نیز هر کدام در یک گروه جداگانه و دورتر از دو نژاد مذکور جای گرفتند (Ovchinnikov *et al.*, 2018). در مطالعه لویئز^{۱۱} و همکاران (۲۰۰۷) به غیر از اسب نژاد لیپیتزان بقیه اسب‌های نژاد کاسپین، عرب و آخال تکه بر اساس موقعیت جغرافیایی نژادهای در یک گروه ژنتیکی قرار گرفتند. در مطالعه‌ای دیگر نیز اسب کاسپین با فاصله‌ای اندکی از نژادهای ترکمن، کرد، لیپیتزان و اسبهای عرب شاقیا، ایران و سوریه در گروهی جداگانه قرار گرفت (Pires *et al.*, 2016).



شکل ۳. درخت پیوند هم‌جواری بدست آمده برای جمعیت‌های اسب کاسپین

با توجه به آنالیزهای آماری و تفسیر نتایج به دست آمده مشخص شد که نژاد اسب کاسپین از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار است. علی‌رغم خزانه ژنی^{۱۲} کوچک، اسب‌های کاسپین از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار است و می‌توان اظهار کرد که به استثنای اثرات رانش ژنتیکی^{۱۳}، تمامی نژادهای مشتق شده از مناطق اولیه اهلی‌سازی دارای بالاترین ضریب هتروزیگوسیتی در بین نژادهای حیوانی هستند (Warmuth *et al.* 2011). از آنجایی که تعداد ۲۵ راس اسب به ازای هر نژاد برای ارزیابی ساختار ژنتیکی جمعیت مناسب می‌باشد (Cothran *et al.*, 2005)، تعداد زیاد نمونه‌های اسب مورد استفاده در تحقیق حاضر به خوبی ساختار ژنتیکی اسب‌های نژاد کاسپین را نمایان ساخت. با اشاره به سابقه دیرینه اسب کاسپین در ادوار مختلف تاریخی ایران و استعداد ذاتی این نژاد در زمینه پرش و آموزش سوارکاری به کودکان و از همه مهم‌تر قدرت بالای سازگاری و تطابق با محیط، اگر بیش

^{۱۱} - Luís

^{۱۲} - Gene pool

^{۱۳} - Bottleneck effect

از پیش به توان بالقوه این نژاد توجه نشود در آینده با خطر کاهش تنوع ژنتیکی و انقراض مواجه خواهد شد. در ایران به رغم حساسیت بالای استراتژیکی و اقتصادی نژاد کاسپین در صنعت اسب، متأسفانه آنچنان که باید توسط اصناف و انجمن‌های اسب ایران در جهت پیش‌برد ارتقای ژنتیکی و توان ورزشی آن امری صورت نگرفته است. در صورتی که در کشورهای اروپایی و آمریکایی انجمن‌های حفاظت نژادی اسب کاسپین با برگزاری رویدادهای ورزشی و انجام تحقیقات آزمایشگاهی در اسب کاسپین به افزایش جمعیت و اصلاح نژاد آن اقدام ورزیده‌اند. مطالعه حاضر نشان‌دهنده تجزیه و تحلیل ساختار ژنتیکی اسب‌های کاسپین کشورهای ایران، سوئد، نروژ، انگلستان و آمریکا می‌باشد، که به طور کلی تصویری جامع از روابط بین اسب‌های کاسپین فراهم می‌کند. در این پژوهش، هدف بررسی تفاوت ژنتیکی در بین جمعیت‌ها و همچنین ارزیابی ساختار ژنتیکی جهت بررسی قرابت ژنتیکی آنها با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای SSR بود. علیرغم جمعیت محدود اسب کاسپین در سراسر دنیا، این نژاد دارای پتانسیل بالایی ژنتیکی بوده و محافظت آن از اهمیت بالایی برخوردار است. از آنجایی که این نژاد دارای ویژگی‌های بارز و منحصر بفرد ژنتیکی می‌باشد می‌توان جهت افزایش تنوع ژنتیکی، کاهش خطرات مرتبط با رانش ژنتیکی و هم‌خونی از آنها در جهت اصلاح نژاد اسب‌های کاسپین و دیگر نژادهای پونی بهره برد. این تحقیق به واسطه بازه زمانی طولانی مدت بین اسب‌ها و تعداد زیاد نمونه‌های مورد بررسی یکی از جامع‌ترین مطالعات اسب کاسپین صورت گرفته تا به حال بوده است. بنابراین از لحاظ بیان میزان واقعی مقادیر ساختار ژنتیکی و تنوع درون نژادی آشکار کرد که شرایط کنونی اسب کاسپین نیازمند توجه بیشتر به منظور جلوگیری از اثرات رانش ژنتیکی است تا در آینده شاهد ذخایر ژنتیکی با درصد خلوص نژادی بالا در کشور باشیم. اسب نژاد کاسپین یکی از قدیمی‌ترین نژادهای آسیا و جهان بوده که در شکل‌گیری بسیاری از نژادهای مختلف اسب تاثیر بسزایی داشته است، لذا حفظ و ترویج پرورش این نژاد باستانی یکی از ضرورت‌های برنامه‌های اصلاح نژادی است. لذا امید است نتایج بدست آمده از اسب‌های کاسپین در این تحقیق باعث افزایش توجه مسئولان به حفاظت نژادی و صادرات آن به کشورهای مختلف شود تا شاهد پالایش جمعیت، رونق پرورش و اصلاح نژاد اسب کاسپین باشیم.

منابع

- Abdoli, M., Zandi, M.B., Harkinezhad, T. and Kahlili, M., (2021). Genetic structure survey of Iranian native horse breeds by microsatellite markers. *Animal Production*, 23(2), pp.155-163.
- Amirinia, C., Seyedabadi, H., Banabazi, M.H. and Kamali, M.A., (2007). Bottleneck study and genetic structure of Iranian Caspian horse population using microsatellites. *Pakistan Journal of Biological Science*, 10, pp.1540-1543.
- Banaabadi, H., Mashayekhi, M.R., Hassanpour, A. and Ayubi, M.R., (2017). The study of genetic variability of Arabian and Caspian horses using microsatellite. *Journal of Animal Science Research*, 27(3).
- Barcaccia, G., Felicetti, M., Galla, G., Capomaccio, S., Cappelli, K., Albertini, E., Buttazzoni, L., Pieramati, C., Silvestrelli, M. and Supplizi, A.V., (2013). Molecular analysis of genetic diversity,

population structure and inbreeding level of the Italian Lipizzan horse. *Livestock Science*, 151(2-3), pp.124-133.

Caspian Horse Society. (2018). Caspian Horse Society. www.caspianhorsesociety.org.uk [access 15 May 2018].

Cothran, E.G., Luis, C., Bodo, I., Alderson, L. and Langolis, B., (2005). Conservation genetics of endangered horse breeds. Conservation genetics of endangered horse breeds. Wageningen, The Netherlands: Academic Publishers.

Excoffier, L. and Lischer, H.E.L. (2010). ARLEQUIN suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetic analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour*, 10: 564–567.

Firouz, L., Dalton, B. (2013). Riding Through Revolution. Advanced Global Publishing, United States of America.

Fornal, A., Radko, A. and Piestrzyńska-Kajtoch, A., (2013). Genetic polymorphism of Hucul horse population based on 17 microsatellite loci. *Acta Biochimica Polonica*, 60(4).

Hendricks, B.L. (2007). International Encyclopedia of Horse Breeds. University of Oklahoma Press, United States of America.

Hosseini, M., Shahrababak, H.M., Zandi, M.B. and Fallahi, M., (2016). A morphometric survey among three Iranian horse breeds with multivariate analysis. *Media Peternakan*, 39(3), pp.155-160.

Ivanković, A., Bittante, G., Konjačić, M., Kelava Ugarković, N., Pećina, M. and Ramljak, J., (2021). Evaluation of the Conservation Status of the Croatian Posavina Horse Breed Based on Pedigree and Microsatellite Data. *Animals*, 11(7), p.2130.

Jombart, T., Collins, C., Solymos, P., Ahmed, I., Calboli, F and Cori, A. (2014). Package ‘adegenet’. <http://mint.c3sl.ufpr.br/CRAN/web/packages/adegenet/adegenet.pdf>. Accessed June 7.

Jombart, T. and Collins, C., (2017). A tutorial for Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) using adegenet 2.1. 0. Imperial College, London, United Kingdom.

Kalinowski, S.T., Taper, M.L. and Marshall, T.C., (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular ecology*, 16(5), pp.1099-1106.

Khanshour, A., Conant, E., Juras, R. and Cothran, E.G., (2013). Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. *Journal of Heredity*, 104(3), pp.386-398.

Kosintsev, P. and Kuznetsov, P., (2013). Comment on “The earliest horse harnessing and milking”. *Tyragetia. Serie nouă*, 22(1), pp.405-408.

Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K., (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), pp.1870-1874.

Luis, C., Juras, R., Oom, M.M. and Cothran, E.G., (2007). Genetic diversity and relationships of Portuguese and other horse breeds based on protein and microsatellite loci variation. *Animal Genetics*, 38(1), pp.20-27.

Mackowski, M., Mucha, S., Cholewinski, G. and Cieslak, J., (2015). Genetic diversity in Hucul and Polish primitive horse breeds. *Archives Animal Breeding*, 58(1), pp.23-31.

Mahrous, K.F., Hassanane, M., Mordy, M.A., Shafey, H.I. and Hassan, N., (2011). Genetic variations in horse using microsatellite markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 9(2), pp.103-109.

Nei, M., (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), pp.583-590.

Olsen, S.L., (2006). Early horse domestication on the Eurasian steppe. Documenting domestication: new genetic and archaeological paradigms, pp.245-269.

Outram, A.K., Stear, N.A., Bendrey, R., Olsen, S., Kasparov, A., Zaibert, V., Thorpe, N. and Evershed, R.P., (2009). The earliest horse harnessing and milking. *Science*, 323(5919), pp.1332-1335.

Ovchinnikov, I.V., Dahms, T., Herauf, B., McCann, B., Juras, R., Castaneda, C and Cothran, E.G. (2018). Genetic diversity and origin of the feral horses in Theodore Roosevelt National Park. *PLoS ONE*. 13 (8): e0200795.

Peffer, M.J., Milner, P.I., Tew, S.R. and Clegg, P.D., (2010). Regulation of SOX9 in normal and osteoarthritic equine articular chondrocytes by hyperosmotic loading. *Osteoarthritis and cartilage*, 18(11), pp.1502-1508.

Pires, D.A.F., Coelho, E.G.A., Melo, J.B., Oliverira, D.A.A., Ribeiro, M.N., Cothran, E.G. and Juras, R., (2016). Genetic relationship between the Nordestino horse and national and international horse breeds. *Genet Mol Res*, 15, pp.1-8.

Pritchard, J.K., Wen, X. and Falush, D., (2010). Documentation for structure software: Version 2.3. University of Chicago, Chicago, IL, pp.1-37.

Prystupa, J.M., Juras, R., Cothran, E.G., Buchanan, F.C. and Plante, Y., (2012). Genetic diversity and admixture among Canadian, Mountain and Moorland and Nordic pony populations. *Animal*, 6(1), pp.19-30.

R Core Team. (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, reference index version 4.2.2 Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Rafeie, F., Amirinia, C., Javaremi, A.N., Mirhoseini, S.Z. and Amirmozafari, N., (2011). A study of patrilineal genetic diversity in Iranian indigenous horse breeds. *African Journal of Biotechnology*, 10(75), pp.17347-17352.

Rousseau, É., (2017). *Horses of the World*. Princeton University Press.

Seyedabadi, H.R., Amirnia, C., Banabazi, M. H., Emrani, H., (2006). Parentage verification of Iranian Caspian horse using microsatellite markers. *Iranian J. Biotechnol.*, 4 (4): 260-264.

Seyedabadi, H.R. and Savarsofla, S., (2018.) Genetic Characterization and Bottleneck Demographic Assessment of Caspian Horse Population. *Jurnal Veteriner* September, 19(3), pp.305-312.

Seyedsharifi, R., Badbarin, S., Hedayat, N., Savarsofla, S., Seifdavati, J. and Khamisabadi, H., (2019). Investigation of the genetic structure and phylogenetic relationships of Caspian, Arabic and Taleshi horses. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 11(2).

Shahsavarani, H. and Rahimi-Mianji, G., (2010). Analysis of genetic diversity and estimation of inbreeding coefficient within Caspian horse population using microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, 9(3).

Shojaei, M., Mohammad Abadi, M., Asadi Fozi, M., Dayani, O., Khezri, A. and Akhondi, M., (2010). Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. *Journal of Cell and Molecular Research*, 2(2), pp.67-73.

Van de Goor, L.H.P., Van Haeringen, W.A. and Lenstra, J.A., (2011). Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetic analysis. *Animal genetics*, 42(6), pp.627-633.

Vilà, C., Leonard, J.A., Gotherstrom, A., Marklund, S., Sandberg, K., Lidén, K., Wayne, R.K. and Ellegren, H., (2001). Widespread origins of domestic horse lineages. *Science*, 291(5503), pp.474-477.

Vonholdt, B.M., Pollinger, J.P., Lohmueller, K.E., Han, E., Parker, H.G., Quignon, P., Degenhardt, J.D., Boyko, A.R., Earl, D.A., Auton, A. and Reynolds, A., (2010). Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication. *Nature*, 464(7290), pp.898-902.

Warmuth, V., Eriksson, A., Bower, M.A., Cañon, J., Cothran, G., Distl, O., Glowatzki-Mullis, M.L., Hunt, H., Luís, C., do Mar Oom, M. and Yupanqui, I.T., (2011). European domestic horses originated in two Holocene refugia. *PloS one*, 6(3), p.e18194.

Warmuth, V., Eriksson, A., Bower, M.A., Barker, G., Barrett, E., Hanks, B.K., Li, S., Lomitashvili, D., Ochir-Goryaeva, M., Sizonov, G.V. and Soyonov, V., (2012). Reconstructing the

origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(21), pp.8202-8206.

Winton, C.L., Plante, Y., Hind, P., McMahon, R., Hegarty, M.J., McEwan, N.R., Davies-Morel, M.C., Morgan, C.M., Powell, W. and Nash, D.M., (2015). Comparative genetic diversity in a sample of pony breeds from the UK and North America: a case study in the conservation of global genetic resources. *Ecology and Evolution*, 5(16), pp.3507-3522.

Yeh, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T., (1999). POPGENE version 1.32: Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis, quick user guide. Center for International Forestry Research, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada, pp.1-29.

Zandi, A., Nejati-Javaremi, A. and Pakdel, A., (2014). Detecting selective sweeps using Equine 70k SNP array in two native Iranian horse breeds. In *Proceedings of the 34th International Society for Animal Genetics Conference* (pp.1-27).