جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره سوم، مرداد – شهریور ۱۳۸۶
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

بررسی کاریوتیپ گاو سرابی با الگوی نواربندی GTG

ام‌البنین پیراهری[۱]، *مصطفی معماریان[۲]، جلیل شجاع[۳] و طاهر هرکی نژاد[۴]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم دامی دانشگاه زنجان، [۲]استادیار گروه علوم دامی دانشگاه زنجان،
[۳]استادیار گروه علوم دامی دانشگاه تبریز، [۴]مربی گروه علوم دامی دانشگاه زنجان

تاریخ دریافت: ۸۴/۴/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۲/۲۱

چکیده

بررسی کاریوتیپ دام‌های اهلی بخصوص گاوهای بومی از نظر مطالعه سیتوژنتیکی امروزه اهمیت فوق‌العاده‌ای دارد. به‌عنوان مثال در بعضی از ناباروری‌ها، مرگ جنین و رویان، نمو غیرطبیعی جسمی و جنسی، دورگ عقیمی، در تعیین جنسیت قبل از تولد و ناهنجاری‌های کروموزومی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این تحقیق در شرایط کاملاً استریل خون کامل از ورید و داجی ۳۰ رأس گاو سرابی گرفته شد. حدود ٦–۵ قطره از خون کامل در ۵ میلی‌لیتر محیط کشت $RPMI_{1640}$ با ۲۰درصد سرم جنین گاوی (F.C.S)، یک درصد آنتی بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین، ۲ درصد فیتوهماگلوتینین نوع M و ۱ درصد هپارین لئو کشت داده شد. نمونه‌ها به‌مدت ۷۱–٦۹ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور کشت داده شدند. به‌منظور انجام رنگ‌آمیزی نواری GTG لام‌ها با محلول ۰/۲۵درصد تریپسین تیمار شده و با محلول ٤ درصد گیمسا رنگ‌آمیزی و خشک شدند و در نهایت معلوم شد که گاو سرابی نیز همانند دیگر گونه‌های متعلق به جنس BOS دارای ٦۰ عدد کروموزوم است که از این تعداد ۲۹ جفت اتوزوم و یک جفت کروموزوم جنسی می‌باشد. تمام کروموزوم‌های اتوزوم آکروسانتریک بوده و کروموزوم‌های جنسی ساب متاسانتریک می‌باشند که کروموزوم جنسی X نسبت به Y بزرگتر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سیتوژنتیک، کروموزوم، کاریوتیپ، نواربندی GTG، گاو سرابی

مقدمه

قبل از پیشرفت‌های اخیر در تکنیک‌های مورد استفاده برای ایجاد الگوهای نواربندی قابل تشخیص در طول بازوهای کروموزومی، مرتب کردن کروموزوم‌ها به‌صورت جفت کروموزوم‌های همولوگ براساس اندازه، محل سانترومر و مرفولوژی مطابق یک‌سری اصول اختیاری‌بود و در اختلافات ساختمانی جزئی مورد توجه قرار نمی‌گرفت. با این وجود، پیشرفت تکنیک‌های نواربندی که الگوهای رنگ‌آمیزی مشخصی را برای هر جفت کروموزوم ایجاد می‌کند، مشکل شناسایی کروموزوم‌ها برطرف شده است (هر و سینگ، ۱۹۷۹). در طی این رنگ‌آمیزی نواری ٤ نوع مختلف از باندهای کروموزومی در کروموزوم‌ها یافت شده

*– مسئول مکاتبه: memarian@mail.znu.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

است. بعضی از انواع آنها که در همه کروموزوم‌ها وجود ندارد عبارتند از: اولین نوع، مطابق با هتروکروماتین ساختاری (ثابت) است. دومین نوع، شامل باندهایی است که در طول کروموزوم‌ها وجود دارد. سومین و چهارمین نوع باندها، شامل نواحی سازمانده هستکی و کینه توکورها[1] می‌باشد (سامر، ۱۹۹۰). در بررسی اجزای تشکیل‌دهنده کروموزوم‌ها و در ساختمان کروماتین دو گروه از پروتئین‌ها وجود دارد. یک گروه از پروتئین‌ها که بسیار همگن هستند و تنها در ۵ تیپ مولکولی در ساختمان مولکولی در ساختمان کروماتین سلول‌های یوکارتی وجود دارند. این گروه هیستون‌ها هستند که از پروتئین‌های بازی بوده و غنی از لیزین و آرژنین می‌باشند و عبارتند از: H_1، H_2A، H_2B، H_3 و H_4 (هیل، ۲۰۰۱). گروه دوم پروتئین‌هایی هستند که از نظر شیمیایی و فیزیولوژی بسیار متنوع هستند و دارای نقش‌های آنزیمی، ساختمانی، تنظیم‌کنندگی و مانند آن هستند. این پروتئین‌ها را پروتئین‌های غیرهیستونی می‌نامند (جرجل و هنسن، ۲۰۰۱).

در بعضی موجودات به‌طور عمده در مهره‌داران عالی نظیر خزندگان، پرندگان و پستانداران الگوی نواربندی می‌تواند در طول کروموزوم‌ها آشکار شود، که نواربندی G[2] از جهات مختلف حائز اهمیت می‌باشد (ادریان و دیر، ۱۹۷۹) از جمله شناسایی کروموزوم‌های گونه‌ها، تشخیص ناهنجاری‌های کروموزومی، تهیه نقشه ژنی، نواربندی کروموزوم و تشخیص سرطان، مقایسه کاریوتیپ گونه‌ها، تعیین موقعیت مارکرها (نشانگرها) برروی کروموزوم و بررسی سیر تکاملی گونه‌ها. اهداف این تحقیق: بررسی تکنیک نواربندی GTG، تهیه کاریوتیپ گاو سرابی و مقایسه آن با کاریوتیپ استاندارد ISCNDA[3] (۱۹۹۰)، پیاده کردن تکنیک‌های سیتوژنتیکی در بررسی خصوصیات ژنتیکی این حیوان و ایجاد زمینه‌ای برای توسعه این تکنیک‌ها در بررسی خصوصیات ژنتیکی دیگر دام‌های بومی کشور، تهیه آیدیوگرام گاو سرابی براساس الگوی نواربندی GTG و بررسی کروموزومی این حیوان که می‌تواند پایه‌ای برای تحقیقات سیتوژنتیکی و ژنتیکی آن در آینده باشد.

گاو بومی سرابی به‌عنوان یکی از گاوهای شیری ایران و منطقه شناخته شده است و امروزه تحقیقات کمّی زیادی برای اصلاح آن صورت گرفته است و بعد از بررسی‌های زیاد این نتیجه حاصل شده که در مورد کاریوتیپ این گاو نیز تحقیقاتی صورت گیرد تا زمینه‌ساز سایر تحقیق‌های سیتوژنتیکی گردد.

در بررسی منشاء گاو سرابی گروهی نظر دارند که این توده توسط یکی از سران ایل شاهسون از منطقه قره‌باغ کشور آذربایجان به منطقه سراب آورده شده و با گاوهای بومی منطقه آمیزش یافته و گاو سرابی از آنها به‌وجود آمده است (پیرانی، ۱۹۹۵؛ قره باغی، ۲۰۰۱).

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقاتی گاو سرابی واقع در منطقه شبستر آذربایجان شرقی اجرا شده است و برای نمونه‌برداری ۳۰ رأس گاو سرابی در نظر گرفته شد.

شهرستان شبستر بین ۴۲َ و ۳۷° تا ۲۴َ و ۳۸° عرض شمالی و ۵َ و ۲۵° تا ۱۹َ و ۴۶° طول شرقی از نصف‌النهار مبدأ قرار گرفته است (پیرانی، ۱۹۹۵؛ قره باغی، ۲۰۰۱).

مواد لازم برای کشت، محیط کشت و مکمل‌های محیط کشت بود. در این طرح از محیط کشت $RPMI_{1640}$ استفاده شده است. مکمل‌های محیط کشت میتوژن فیتوهماگلوتینین M (PHA-M) آنتی بیوتیک پنی‌سیلین ـ استرپتوماسین، هپارین لئو[4]، سرم جنین گاوی (F.C.S) و $NaHCO_3$ (بی کربنات سدیم) بود.

1- Kine to chore
2- G. banding
3- International system for cytogenetic Nomenclature of Domestic Animals

4- Heparin-Leo

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کارهای اجرایی این تحقیق در مجتمع آزمایشگاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز واقع در شهرک کرکج انجام گرفت.

جهت خون‌گیری ابتدا محل خون‌گیری تراشیده و ضدعفونی و در کنار شعله در حدود ٦-٥ قطره خون گرفته شده به ونوجکت‌های حاوی ٥ میلی‌لیتر محیط کشت کامل اضافه شد که این نمونه کاملاً مخلوط شده و به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد (ارزانی، ۱۹۹٥؛ کلیو و هنلان، ۱۹۸۹) و به‌مدت ۷۲ ساعت در حالت مورب در این دما لنفوسیت‌های خون کشت داده شد. برای اینکه مواد غذایی پیوسته در دسترس سلول‌ها قرار گیرد، نمونه‌ها روزانه دو بار به آرامی بهم زده شد. حدود ۱/٥-۱ ساعت قبل از برداشت با استفاده از سمپلر مقدار ۲۰۰ میکرولیتر کلشی‌سین به محیط کشت اضافه شد و دوباره لوله‌های کشت به مدت ۱/٥-۱ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. مدت زمان تیمار کلشی‌سین نباید زیاد باشد چون باعث کوتاه شدن طول کروموزوم‌ها می‌گردد (کلیو و هنلان، ۱۹۸۹).

بعد از مدت زمان تأثیر کلشی‌سین، نمونه‌های خون از انکوباتور برداشته و به لوله‌های سانتریفوژ منتقل شدند. لوله‌ها در دور ۷٥۰ به‌مدت ٦ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس مایع بالایی دور ریخته شد و حدود ۱-۰/٥ میلی‌لیتر محلول نگهداشته شد. این محلول بهم‌زده شده و ٥ میلی‌لیتر از محلول هیپوتون به هر یک از نمونه‌ها اضافه و به‌مدت ۱٥ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در این مرحله مایع بالایی بعد از عمل سانتریفوژ به خاطر پاره شدن گلبول‌های سرخ، قرمز رنگ بود. این مرحله یکی از حساس‌ترین مراحل تهیه کروموزوم می‌باشد. بعد از گذشت ۱٥ دقیقه سوسپانسیون‌ها از انکوباتور بیرون آورده شد و در دور ۷٥۰ به‌مدت ٦ دقیقه سانتریفوژ گردید. به غیر از ۱-۰/٥ میلی‌لیتر توسط سمپلر بیرون ریخته و محلول باقی مانده خوب بهم‌زده شد (کلیو و هنلان، ۱۹۸۹).

مرحله بعدی، مرحله تثبیت سلول‌ها بود. بعد از اضافه کردن ٥ سی‌سی فیکساتور، به‌مدت ٦ دقیقه در دور ۷٥۰ سانتریفوژ شدند. بعد از سانتریفوژ مایع بالایی به غیر از ۱-۰/٥ میلی‌لیتر دور ریخته شده و بهم‌زده می‌شود. این کار تا مرحله شفاف شدن محلول چندین بار تکرار شد تا در نهایت رسوبی کاملاً سفید به‌دست آمد. در مرحله آخر نیز به غیر ۰/٥ میلی‌لیتر، مایع بالایی دور ریخته شد و محلول‌ها تا زمان تهیه گسترش در یخچال ٤ درجه سانتی‌گراد محافظت شد. در هنگام برداشت سلول و تهیه لام دمای آزمایشگاه باید ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ٦۰-٥۰ درصد باشد، زیرا که این شرایط اثر مستقیمی بر نواربندی G داشته و رعایت آنها ضروری می‌باشد (کلیو و هنلان، ۱۹۸۹؛ سامبامورتی، ۱۹۹۰).

در هنگام تهیه گسترش لام‌ها روی یک سطح قرار داده شد و از فاصله‌ای که معمولاً ۷۰-٦۰ سانتی‌متر می‌باشد با استفاده از یک سمپلر ۲۰۰ میکرولیتری قطرات سوسپانسیون روی لام‌های سرد و یخزده انداخته شدند. در ضمن، دام‌ها با توجه به مشخصات حیوان موردنظر کدگذاری شدند (هرکی نژاد، ۱۹۹۸).

بعد از خشک شدن لام‌ها در هوای آزاد، آنها برای بررسی رنگ‌آمیزی شدند. برای رنگ‌آمیزی معمولی از محلول ۱۰درصد رنگ گیمسا استفاده گردید. با استفاده از قطره چکان لام‌ها رنگ‌آمیزی و به‌مدت ۱۰-۸ دقیقه در این محلول نگه‌داشته شد. سپس لام‌ها با آب مقطر شستشو داده شده و سپس خشک شدند.

برای نواربندی G با تریپسین با استفاده از گیمسا در این نواربندی از روش سیبرایت با جزئی اختلاف استفاده شد. لام‌های تهیه شده به‌مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی یا ۱٦ ساعت در آون با حرارت ٦۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از خشک شدن لام‌ها برای مشاهده کروموزوم‌های نواربندی شده با محلول ٤ درصد رنگ گیمسا به‌مدت ۱۰-۸ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. بعد از این مدت از ناحیه پشت با آب مقطر شسته و جهت بررسی‌های میکروسکوپی در هوای آزاد خشک شدند.

لام‌هایی که دارای باندهای واضح بودند، با چسباندن لامل دائمی گردیدند (جورجل و هنسن، ۲۰۰۱؛ سامبامورتی، ۱۹۹۰). بعد از دائمی کردن کد مربوط به دام موردنظر در طرف راست لام برچسب زده شد که در این کد شماره مربوط به لام، شماره گوش دام مورد نظر، جنس دام و نوع رنگ‌آمیزی یادداشت گردید (هرکی نژاد، ۱۹۹۸).

برای مطالعه گسترش‌های کروموزومی از میکروسکوپ نوری الیمپوس[1] استفاده شد. بررسی‌ها ابتدا با بزرگ نمایی ۱۰× آغاز شد. پس از پیدا کردن پلیت‌های متافازی از بزرگ نمایی ۴۰× برای مشاهده بهتر شکل کروموزوم‌ها و کیفیت پلیت‌ها استفاده شد. پلیت‌هایی که روی هم افتادگی نداشتند و دارای طول مناسب بودند با بزرگ نمایی ۱۰۰× و با استفاده از روغن ایمرسیون[2] مورد مطالعه قرار گرفتند. برای پی بردن به مقدار کروموزوم‌های یک نژاد، در هر لام چندین پلیت شمارش شد و پس از مطالعه چندین لام تعداد دقیق کروموزوم‌ها مشخص گردید. در مرحله بعد پلیت‌هایی که با رنگ‌آمیزی نواری GTG نواربندی شده بودند مشخص و برای عکسبرداری علامت‌گذاری شدند.

عکسبرداری با استفاده از میکروسکوپ نوری الیمپوس انجام گرفت که مجهز به دوربین عکسبرداری بود که آن نیز در نهایت جهت مشاهده پلیت‌ها به مانیتور رایانه وصل شد و تصاویر تهیه شده توسط این دستگاه جهت کاریوتایپینگ با نرم افزار Micro Measure 3.3 مورد آنالیز قرار گرفتند.

برای تهیه کاریوتیپ از پارامترهای شاخص سانترومتر، نسبت بازو و طول نسبی کروموزوم‌ها استفاده شد.

شاخص سانترومر از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{شاخص سانترومر} = \frac{\text{طول بازوی کوتاه کروموزوم}}{\text{طول کل کروموزوم}} \times ۱۰۰$$

این پارامتر به‌صورت درصد بیان می‌شود، یعنی درصدی از کل کروموزوم که به‌صورت بازوی کوتاه نشان داده می‌شود. نسبت بازو همیشه بزرگتر از یک می‌باشد و به‌صورت زیر تعریف می‌گردد :

$$\text{نسبت بازو} = \frac{\text{طول بازوی بلند کروموزوم}}{\text{طول بازوی کوتاه کروموزوم}} \times ۱۰۰$$

طول نسبی کروموزوم نیز به‌صورت درصد تعریف می‌شود و تا اندازه‌ای بیانگر نسبتی از کل ژنوم موجود زنده است که توسط یک کروموزوم خاص نشان داده شده است و عبارتست از:

$$\text{طول نسبی کروموزوم} = \frac{\text{طول کروموزوم}}{\text{طول کل کروموزوم‌ها در یک دست هاپلوئید}} \times ۱۰۰$$

حال با توجه به این پارامترها و مورفولوژی کروموزوم‌ها آنها به‌ترتیب از چپ به راست در کنار یکدیگر قرار داده شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی پلیت‌های کروموزومی نشان می‌دهد که هر دو جنس نر و ماده این نژاد دارای عدد دیپلوئید ۶۰ = ۲n می‌باشند که ۲۹ جفت آن کروموزوم اتوزوم آکروسانتریک و یک جفت کروموزوم جنسی ساب متاسانتریک می‌باشد که کروموزوم جنسی X نسبت به y بزرگتر است.

کاریوتیپ هر دو جنس نر و ماده این نژاد با استفاده از نرم افزار Micro measure 3.3 تهیه شد. بعد از عکسبرداری از پلیت‌های کروموزومی طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، شاخص سانترومر و نسبت بازوی تک تک کروموزوم‌ها توسط این نرم افزار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

کاریوتیپ جنس نر گاو سرابی دارای ۳۰ جفت کروموزوم شامل ۲۹ جفت کروموزوم اتوزوم و یک جفت کروموزوم جنسی بود. تمام کروموزوم‌های اتوزوم اکروسانتریک و کروموزوم‌های جنسی ساب متاسانتریک می‌باشند. در میان کروموزوم‌های جنسی، کروموزوم جنسی y کوچک‌تر از کروموزوم جنسی x می‌باشد. شکل ۱، جدول ۱ و شکل ۲ به‌ترتیب گسترهٔ کروموزومی جنس گاو نر سرابی مورد تجزیه و تحلیل با نرم افزار کاریوتایپینگ، پارامترهای قابل اندازه‌گیری کروموزوم‌های جنسی نر گاو سرابی و کاریوتیپ جنس گاو نر سرابی را نشان می‌دهند.

1- Olympus-B×50
2- Immersion oil

شکل ۱- گستره کروموزومی جنس نر گاو سرابی (XY؛ ٦٠) مورد تجزیه و تحلیل با نرم افزار کاریوتایپینگ.

شکل ۲- کاریوتیپ جنس نر گاو سرابی (XY ؛ ٦٠).

کاریوتیپ جنس ماده گاو سرابی دارای عدد دیپلوئید ۲n=۶۰ بود که ۲۹ جفت آنها کروموزوم‌های اتوزوم و یک جفت کروموزوم جنسی بود. تمام کروموزوم‌های اتوزوم اکروسانتریک و یک جفت کروموزوم جنسی ساب متاسانتریک بودند.

کاریوتیپ این جنس نیز براساس پارامترهای قابل اندازه‌گیری با نرم افزار مزبور تهیه شده است. جدول ۲ و شکل ۳ به‌ترتیب پارامترهای قابل اندازه‌گیری کروموزوم‌های جنس ماده گاو سرابی و کاریوتیپ جنس ماده گاو سرابی را نشان می‌دهند، ولی همانطوری‌که قبلاً اشاره شد تهیه کاریوتیپ براساس این پارامترها ممکن است باعث ایجاد مشکلاتی در همولوگ‌بندی کروموزوم‌ها شود. به همین منظور تهیه کاریوتیپ براساس نواربندی کروموزوم‌ها صورت گرفت.

در رنگ‌آمیزی نواری GTG، اکثر سانترومرهای کروموزوم گاو رنگ نگرفته و به رنگ روشن می‌باشند. به همین دلیل تشخیص ناحیه سانترومری در این نواربندی به سادگی امکان‌پذیر می‌باشد. در اکثر کروموزوم‌های گاو وجود یک نوار کاملاً تیره در زیر ناحیه سانترومری، آن را کاملاً از بقیه قسمت‌های کروموزوم آکروسانتریک مجزا کرده است. کروموزوم y در نواربندی G تقریباً به‌طور کامل رنگ می‌گیرد.

شکل‌های ٤، ٥، ٦ و ٧ به‌ترتیب گستره کروموزومی جنس نر گاو سرابی با استفاده از نواربندی GTG، گستره کروموزومی جنس ماده گاو سرابی با استفاده از نواربندی GTG، کاریوتیپ جنس نر گاو سرابی با استفاده از نواربندی GTG و کاریوتیپ جنس ماده گاو سرابی با استفاده از نواربندی GTG را نشان می‌دهند.

شکل ۳- کاریوتیپ جنس ماده گاو سرابی (XX ؛ ٦٠).

شکل ٤- گستره کروموزومی جنس نر گاو سرابی (XY : ٦٠) با استفاده از نواربندی GTG.

شکل ٥- گستره کروموزومی جنس ماده گاو سرابی (XX : ٦٠) با استفاده از نواربندی GTG.

شکل ٦- کاریوتیپ جنس نر گاو سرابی (XY : ٦٠) با استفاده از نواربندی GTG.

شکل ٧- کاریوتیپ جنس ماده گاو سرابی (XX : ٦٠) با استفاده از نواربندی GTG.

در شکل ۸ آیدیوگرام پیشنهادی گاو سرابی نشان داده شده است. در آیدیوگرام این نژاد سه نوع نوار قابل رؤیت است. این نوارها عبارتند از: نوارهای کاملاً تیره (بیشتر از همه رنگ گرفته‌اند)، نوارهای مایل به روشن (کمتر رنگ گرفته‌اند) و نوارهای کاملاً روشن (رنگ نگرفته‌اند).

در این آیدیوگرام پیشنهادی هر کروموزوم گامتی دارای تعدادی باندهای مشخص است که با توجه به این باندها همولوگ‌بندی می‌شوند.

از میان این کروموزوم‌ها، بازوی کوتاه کروموزوم جنسی Y دارای سه باند، بازوی کوتاه کروموزوم جنسی X دارای چهار باند، بازوی بلند کروموزوم جنسی Y دارای هفت باند، کروموزوم شماره ۲۸ دارای هشت باند، کروموزوم‌های شماره ۲، ۳، ٤، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲٤، ۲۵، ۲۷ و ۲۹ و بازوی بلند کروموزوم جنسی X دارای نه باند، کروموزوم شماره ۱ دارای ۱۰ باند، کروموزوم‌های شماره ۵، ٦، ۷، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱٤، ۱۵، ۱٦، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰ و ۲٦ دارای ۱۱ باند، کروموزوم شماره ۸ دارای ۱۲ باند و کروموزوم شماره ۱۲ دارای ۱۳ باند می‌باشند. سانترومر در تمام کروموزوم‌های این نژاد به رنگ روشن دیده می‌شود و یک نوار کاملاً تیره در زیر ناحیه سانترومری به استثناء کروموزوم‌های شماره ۸ و ۲۸، آن را کاملاً از بقیه قسمت‌های کروموزوم آکروسانتریک مجزا می‌کند.

مطابق با نتایج حاصل از منابع (بلیزاک و الدریج، ۱۹۷۷)، (مانز و همکاران، ۱۹۹۵) و (نل و همکاران، ۱۹۸۵) تعداد بازوهای کروموزومی و بازوهای اتوزومی نیز در این نژاد به‌ترتیب ٦۲ و ۵۸ می‌باشد.

۱- در تعیین آیدیوگرام پیشنهادی هر یک از گونه‌ها بهتر است در کنار الگوی نواربندی G، دیگر تکنیک‌های نواربندی از جمله R نیز صورت گیرد تا اینکه نتایج بهتری حاصل شود.

۲- در کشت سلول‌های خون کامل علاوه‌بر محیط کشت $RPMI_{1640}$ از محیط‌های کشت دیگر نیز استفاده شود.

شکل ۸- آیدیوگرام پیشنهادی گاو سرابی.

۳- با بررسی اختلالات کروموزومی می‌توان ارتباط مابین این ناهنجاری‌ها و نارسایی‌های ایجاد شده در باروری و تولید شیر را نشان داد.

٤- تهیه نقشه ژنی و مقایسه مارکرهای ژنی این حیوان با دیگر نژادهای گاو می‌تواند موضوعی برای تحقیقات آینده باشد.

۵- می‌توان بررسی ژن‌ها و قطعات خاص DNA موجود برروی کروموزوم‌های این نژاد را با استفاده از تکنیک FISH[1] انجام داد.

٦- بررسی تنوع کاریوتیپی مابین نژادهای خالص و ناخالص این دام از دیگر موضوعات تحقیقی می‌باشد که می‌توان در آینده انجام داد.

منابع

1.Adrian, F., and Dyer, D. 1979. Investigating chromosomes. University of Edinburgh. 12-45.
2.Arzani, A. 1995. Laboratory manual of genetics and cytogenetics. Press Erkan Esfahan. pp: 1-292.
3.Blazak, W.F., and Eldrige, F.E. 1977. A Robertsonian translocation and its effect upon fertility in Brown Swiss cattle. J. Dairy. Sci. 60:1133-1142.
4.Clive, R., and Hanlan, E., 1989. Cytogenetics of animals. U.K. CAB International. pp: 56-102.
5.Dnyansagar, V.R. 1990. Cytology and genetics. TATA McGraw-Hill publishing company limited. pp:30-56.
6.Gallagher, D.S., and Womack, J.E. 1992. Chromosome conservation in the Bovidae. Journal of Heredity. 83: 287-298.
7.Gareh Baghi, H. 2001. The estimation of genetic and phenotypic parameter of type traits in Sarab Cattles. University of Tabriz. pp: 40-70.
8.Georgel, Ph.T., and Hansen, J.C., 2001. Linker histone function in chromotin: Dual mechanism of action. Biochem. Cell Biol. 79:313-316.
9.Hare, W.C.D., and Singh, E.L. 1979. Cytogenetics in animal reproduction. CAB. Canada.
10.Harky Nezhad, M.T. 1998. Cytogenetic investigation on Ghezel, Moghani and Arkharmerino sheep (G-band pattern analysis of karyotype) University of Tabriz. pp: 1-94.
11.Henriques, G.N., Parker, J.S., and Puertas, M.J.(eds). 1997. Chromosomes today. Volume 12. First ed. Chapman and Hall.
12.Hill, D.A. 2001. Influence of linker histone H_1 on chromatin remodeling. Biochem. Cell Biol. 79: 317-324.
13.Hossein pour Feyzi, M.A., and Piraiesh Islamian, J. 1996. Human cytogenetics, Aractical approach. Press Amidi Tabriz. pp: 32-106.
14.Iannuzzi, L. 1990. An improved characterization of cattle chromosomes by means of high-resolution G- and R-band comparison. Journal of Heredity. 81(1): 80-83.
15.Kaftanovskaya, H.M., and Serov, O.L. 1994. High-resolution GTG-banded chromosomes of cattle. Sheep, and goat: A comparative study. Journal of Heredity. 85: 395-400.
16.Lin, C.C., Newton, D.R., and Church, R.B. 1977. Identification and nomenclature for G-banded bovine chromosomes. Can. J. Genet. 19: 271-282.
17.Munoz, M.G., Ocanto, D., Medina, R., and Duraes, M.I. 1995. Incidence of 1/29 translocation in Venezuelan creole pure and cross breed cows used in reproductive programs. Theriogenology. 43: 1055-1060.
18.Nel, N.B., Harris, E.J., Welermans, J.E., Meyer, E.H., and Brix, K. 1985. A 1/29 chromosome translocation in southern African Nguni Cattle. The Identification. Occurrence and Origin of the translocation. Genet. sel. Evol. 17(3): 293-302.
19.Pirani, N. 1995. Genetic and environmental factors influencing brith weight and gestation length of Sarabian Cows and study of conformation traits at different ages. University of Tabriz. pp: 50-75.
20.Sambamurty, A.V. S.S. 1990. Genetics. New Dehli. 47-104.
21.Summer, A.T. 1990. Chromosome banding. Cambridge university press. London. 45-52.
22.Wurster, D.H. and Benirschke, K., 1968. Chromosome studies in the superfamily Bovoidea. Chromosoma. 25:152-171.

1- Fluorescence in situ hybridization

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(3), July-Aug 2007

www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

The study of Sarabi cattle karyotype investigation by GTG - Banding

O.B. Pirahari[1], M. Memarian[2], J. Shoja[3] and T. Harky nejad[4]

[1]Former M.Sc. student Dept. of Animals Sciences, Zanjan University, Iran, [2]Assistant Prof., Dept. of Animals Sciences, Zanjan University, Iran, [3]Assistant Prof. Dept. of Animal Sciences, Tarbriz University, [4]Instructor of Dept. of Animal Science Zanjan University, Iran

Abstract

A cytogenetic study was conducted on 30 Sarabi cattles in Sarabi Cattle Research Center in Shabestar. Under completely sterile conditions, whole blood samples were collected from jugular vein using sterile syringes. About 5-6 drops of whole blood were cultured in 5 ml of $RPMI_{1640}$ which was supplemented with 20% F.C.S. 1% antibiotics (penicillin, streptomycin), 2% phytohemagglutinin M (PHA-M), and 1% heparin. F.C.S. and phytohemagglutinin M were used as growth parameter factor and mitotic activity stimulator, respectively. Samples were cultured in the incubator to accomplish for 69-71 hours at 37°C. For normal staining, 10% Giemsa solution was used. But for GTG – banding staining, the slides were first treated by 0.25% trypsin and then with 4% Giemsa solution, and finally the slides were dried. The analysis revealed that Sarabi cattle like many species belongine to genus BOS had 60 chromosomes which consisted of 29 pairs of autosomes and one pair of sex chromosems. All autosomes were acrocentric and all the sex chromosomes were submetacentric. X chromosomes were greater than Y chromosomes.

***Keywords*:** Cytogenetic; Chromosome; Karyotype; GTG-banding; Sarabi cattle