

مطالعه‌ی کاربوتایپ و خصوصیات کروموزومی گاومیش‌های مازنی و آذری

- مصطفی پورنورعلی (نویسنده مسئول)

کارشناس ارشد زیست‌شناسی علوم جانوری، گرایش سلولی تکوینی، دانشگاه گیلان.

- علیرضا ترنگ

استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور.

- فرهاد مشایخی

استاد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گیلان.

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۴

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۱۸۲۰۹۶۸۰

Email: mostafapournourali@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش، کاربوتایپ جمعیت گاومیش‌های مازنی در مقایسه با جمعیت گاومیش‌های آذری مورد مطالعه قرار گرفت. مطالعات کاربوتایپی یک ابزار قدرتمند برای تعیین کاربوتایپ احشام است و موجب شناسایی پایه‌ای ناهنجاری‌های کروموزومی می‌گردد. نمونه‌های خونی از ده (۵ نر و ۵ ماده) گاومیش مازنی و سی (۱۵ نر و ۱۵ ماده) گاومیش آذری جمع‌آوری شدند. گاومیش‌های مازنی متعلق به استان مازندران و گاومیش‌های آذری متعلق به استان‌های آذربایجان غربی و شرقی و اردبیل هستند. نمونه‌های خونی در دمای ۳۷ درجه به مدت ۷۲ ساعت و در حضور فیتوهماگلوآگوتینین کشت داده شدند و گستره‌های متافازی بر روی لام تهیه گردید. از گیمسا برای رنگ آمیزی کروموزوم‌ها استفاده شد. گاومیش مازنی و آذری کاربوتایپ مشابه با عدد دیپلوئید $2n = 50$ را نشان دادند. تعداد بازوان (NF) در جنس نر و ماده، ۶۰ بدست آمد. دسته‌بندی استیپینز نشان داد که گاومیش‌های مازنی و آذری هر دو به گروه 3B تعلق دارند. هر دو جمعیت از گاومیش‌های رودخانه‌ای بودند ولی از لحاظ تقارن کاربوتایپی، گاومیش‌های مازنی تقارن بیشتری را نسبت به گاومیش‌های آذری نشان دادند. شواهد کروموزومی و سایر جزئیات آنالیز کاربوتایپ گونه‌ها می‌تواند در تعیین روابط خویشاوندی گونه‌ها از نظر صفات کروموزومی، سازماندهی جمعیت‌های مختلف و کشف ارتباط میان آن‌ها به ما کمک کند.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 107 pp: 13-24

Karyotyping studies and Chromosome morphology in Mazani and Azeri buffaloes

Mostafa Pournourali^{*1}, Alireza Tarang², Farhad Mashayekhi³

1: MSc of cell development biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan. Rasht, Iran. E-mail: Mostafapournourali@yahoo.com. TEL: 09114295980.

2: Assistant Professor of Medical genetic, Department of Genomics and Animal, Branches of north region of Iran, Agriculture Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Rasht, Iran.

3: Professor of Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

Received: May 2014

Accepted: April 2015

In the present study karyotype of Mazani buffalo was studied in comparison with those of Azeri buffalo populations from Iran. Karyotyping analysis is a powerful instrument to determine the karyotype of farm animal and to turn up more about fundamental basis for chromosomal abnormalities. Blood samples were taken from ten (5 males and 5 females) Mazani buffaloes and thirty (15 males and 15 females) Azeri buffaloes. The Mazani buffaloes belong to state of Mazandaran and Azeri buffaloes belong to states of west and east Azerbaijan and Ardebil. Blood lymphocytes cultured at 37°C for 72 hours in the presence of phytohemagglutinin and the metaphase spreads were performed on microscopic slide. Giemsa was used to stain chromosomes. The Mazani and Azeri Buffalo exhibited the same karyotype with diploid number of $2n = 50$. The fundamental numbers (NF) were 60 in male and female. Stebbins classifications show both Mazani and Azeri buffaloes belong to 3B group. Both of Mazani and Azeri buffaloes are riverine. Based on the karyotype symmetry parameters, Mazani buffalo populations showed more symmetry than Azeri buffalo populations. The chromosomal evidences and other detailed karyotype analysis allows us to detect interrelationships of species from a chromosomal point of view, to group the different populations and postulate relationships among them.

Key words: Chromosome number, Idiogram, Karyotype symmetry, Buffalo.

مقدمه

مازندران زندگی می‌کنند و دسته سوم، گاو میش‌های خوزستانی هستند که فقط در استان خوزستان به سر می‌برند (Naserian and Saremi, ۲۰۰۷). امروزه اجداد گاو میش‌های ایرانی به خوبی شناسایی نشده‌اند، اما گمان می‌رود که گاو میش‌های هندی، خصوصاً نژاد مورا اجداد گاو میش‌های ایران باشند، زیرا به لحاظ ظاهری شباهت زیادی به هم دارند.

همچنین گاو میش‌های ایران شباهت بسیاری به گاو میش‌های عراقی دارند. بر همین اساس گمان می‌رود که از یک نژاد باشند (Hassanzadeh and Orojee, ۲۰۰۳). گاو میش‌ها در ایران نقش مهمی در اقتصاد روستایی دارند (Mirhosienie و همکاران، ۲۰۰۵). در ایران بهره‌ی اقتصادی گاو میش با گاو- هولشتاین برابری می‌کند (Hasanzadeh and Monazzah, ۲۰۱۰). امروزه، دانشمندان با توجه به مزیت‌های گاو میش در تولید شیر با درصد چربی (Hassanzadeh and Orojee,

گاو میش (*Bubalus bubalis*) از خانواده‌ی گاوین، سرشار از منابع غذایی مفید می‌باشد (۲۶) که از فراموش شده‌ترین دام‌ها در بین حیوانات اهلی است، و اگر چه از زمان‌های قدیم اهلی شده، اما ویژگی‌های آن خیلی کمتر از حیوانات اهلی دیگر مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (Kenthao و همکاران، ۲۰۱۲).

گاو میش‌ها بر اساس زیستگاه خود به دو دسته تقسیم می‌شوند، نخست گاو میش‌های باتلاقی که تعداد کروموزوم در این دسته ۴۸ عدد می‌باشد (Harisah و همکاران، ۱۹۸۹) و دوم گاو میش‌های رودخانه‌ای که دارای ۵۰ عدد کروموزوم می‌باشند (Ali و همکاران، ۲۰۱۰؛ Murali و همکاران، ۲۰۰۹).

گاو میش‌های ایرانی بر اساس شرایط اقلیمی به سه دسته عمده تقسیم می‌شوند. دسته اول، گاو میش‌های آذری هستند که در سه استان آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل پرورش می‌یابند. دسته دوم، گاو میش‌های شمالی هستند که در استان‌های گیلان و

ساب متاسانتریک/ متاسانتریک و ۱۹ جفت بعدی تلوسانتریک گزارش شد. همچنین، کروموزوم جنسی X بزرگترین کروموزوم تلوسانتریک و کروموزوم جنسی Y یکی از کوچکترین کروموزوم‌های تلوسانتریک گزارش شده (تقوایی، ۱۳۹۱).

در سال ۲۰۱۲، کنتاو و همکاران طی بررسی که روی گاو میش‌های رودخانه‌ای در کشور تایلند داشتند، اعلام کردند که از میان ۲۴ جفت کروموزوم اتوزومی، ۵ جفت اول ساب متاسانتریک/ متاسانتریک و ۱۹ جفت بعدی تلوسانتریک هستند. کروموزوم جنسی X بزرگترین کروموزوم تلوسانتریک و کروموزوم جنسی Y یکی از کوچکترین کروموزوم‌های تلوسانتریک است (Kenthao و همکاران، ۲۰۱۲).

هدف از انجام این پژوهش، بررسی خصوصیات کروموزومی گاو میش‌های جمعیت مازنی و آذری و همچنین بررسی تقارن کاربوتایی بین این دو جمعیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جهت مطالعات سیتوژنتیکی، تعداد ده (۵ نر و ۵ ماده) راس از گاو میش‌های مازنی و ۳۰ (۱۵ نر و ۱۵ ماده) رأس از گاو میش‌های آذری انتخاب شدند. گاو میش‌های مازنی متعلق به استان مازندران و گاو میش‌های آذری متعلق به استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل بودند.

نمونه‌های خونی بلافاصله پس از استحصال، به ونوجکت‌های حاوی هپارین سدیم منتقل شدند. از تکنیک GTG banding برای رنگ‌آمیزی کروموزوم‌ها استفاده گردید. بدین منظور، ابتدا لمفوسیت‌ها در محیط کشت RPMI 1640 و تحت تیمار فیتوهاگلوئینین به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور CO₂ دار (Binder, Germany) کشت داده شدند. دو ساعت مانده به پایان گرمخانه‌گذاری، از کلسیم برای توقف تقسیم سلولی استفاده گردید.

بعد از آن سلول‌ها تحت محلول هیپوتونیک (0.075 KCl) به مدت ۳۵ دقیقه قرار گرفتند. محلول هیپوتونیک توسط فیکساتیو ۳) متانول : ۱ اسید استیک گلاسیال) شسته شد. بعد از آن فیکساتیو شسته شد و سلول‌ها از فاصله معین بر روی لام پرتاب شدند تا پاره

و پروتئین (Huang و همکاران، ۱۹۸۷) بالا نسبت به گاو، گوسفند و بز و همچنین تغذیه‌ی گاو میش از علوفه‌ی خشبی که نسبت به سایر علوفه‌ها ارزاتر است (Hasanzadeh and Monazzah، ۲۰۱۰) و نیز با توجه به سازش‌پذیری بهتر این جانور با محیط اطراف، گاو میش را دام هزاره‌ی سوم معرفی کرده و آینده‌ی اقتصادی بسیاری از کشورها را در گرو آن می‌دانند (Mirhosienie و همکاران، ۲۰۰۵). از این رو به بررسی و شناخت هرچه بیشتر گاو میش‌ها اهتمام می‌ورزند.

مطالعات سیتوژنتیکی و بررسی خصوصیات کروموزومی، اولین گام در بررسی‌های ژنتیکی می‌باشد (مرزبان، ۱۳۹۱). این گونه مطالعات بر روی حیوانات مزرعه در شناخت هرچه بیشتر ناهنجاری‌های کروموزومی و همچنین در فرآیند اصلاح نژاد اهمیت بسزایی دارند (تقوایی، ۱۳۹۱). تولید دام‌های با قابلیت تولید شیر و ظرفیت تولیدمثلی بالا از اهداف اصلی این مطالعات است (Khavary، ۱۹۷۸). از تقارن کاربوتایی در مطالعات سیتوژنتیکی برای بدست آوردن ارتباط تکاملی میان جمعیت‌ها، زیرگونه‌ها و گونه‌ها استفاده می‌شود. تقارن کاربوتایی از طریق تعیین صفات کاربوتایی در ترسیم درخت فیلوژنتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Paszko، ۲۰۰۶).

در سال ۱۳۹۱، مطالعه‌ای توسط مرزبان و همکاران روی گاو میش آذری انجام گرفت که در این تحقیق تعداد کروموزوم‌های گاو میش آذری ۵۰ عدد به دست آمد. در این پژوهش، از میان ۲۴ جفت کروموزوم اتوزوم، ۵ جفت اول ساب متاسانتریک/ متاسانتریک و ۱۹ جفت بعدی تلوسانتریک گزارش شد. همچنین کروموزوم جنسی X بزرگترین کروموزوم تلوسانتریک و کروموزوم جنسی Y یکی از کوچکترین کروموزوم‌های تلوسانتریک گزارش گردید (مرزبان، ۱۳۹۱).

همچنین در سال ۱۳۹۱، مطالعه‌ای بر روی گاو میش‌های مازنی توسط تقوایی و همکاران صورت گرفت که در این مطالعه تعداد کروموزوم‌های گاو میش مازنی همانند گاو میش‌های آذری ۵۰ عدد به دست آمد.

در این مطالعه، از میان ۲۴ جفت کروموزوم اتوزوم، ۵ جفت اول

برابر ۳۳۲/۱۷ میکرومتر بوده و اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها برابر ۴/۳۴ است. شاخص سانترومیری نسبت بازوی کوتاه کروموزوم به طول کل کروموزوم است و برای تعیین مکان استقرار سانترومر استفاده و تعیین می‌شود. در گاومیش‌های مازنی شاخص سانترومیری برای ۵ جفت کروموزوم اول به ترتیب ۳۲، ۲۸، ۳۶، ۴۳ و ۴۱ درصد گزارش شد و نیز برای گاومیش‌های آذری این مقدار به ترتیب برابر با ۴۳، ۳۶، ۳۰ و ۴۶ بود.

لمفوسیت‌ها، وقتی که در معرض تیمار با کلسمید قرار می‌گیرند بسته به اینکه در کدام مرحله از تقسیم سلولی باشند، طول آن‌ها متغیر است و از سلول به سلول بسته به شرایط متفاوتند، لذا طول نسبی کروموزوم که همواره ثابت است مورد مطالعه قرار می‌گیرد. طول نسبی کروموزوم در گاومیش مازنی بین ۲/۱۷ تا ۷/۲۰ و در گاومیش آذری بین ۲/۲۱ تا ۶/۵۵ متغیر بود. در گاومیش مازنی طول نسبی کروموزوم X و Y به ترتیب برابر ۶/۱۶ و ۲/۷۱ و نیز در گاومیش آذری طول نسبی کروموزوم X برابر ۵/۵۲ و طول نسبی کروموزوم Y برابر ۲/۶۷ به دست آمد. این بدان معنی است که در گاومیش مازنی، کروموزوم جنسی X تقریباً ۶/۱۶ درصد ژنوم و در گاومیش آذری ۵/۵۲ درصد از کل ژنوم را به خود اختصاص داده است.

در گاومیش‌های مازنی، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم ۳۰/۲۴ بوده و درصد شکل کلی کاربوتایپ ۱۱/۰۹ می‌باشد و همچنین مقادیر A_1 و A_2 به ترتیب برابر ۰/۸۸۶ و ۰/۳۷۴ است.

بر اساس جدول تقارن دوطرفه‌ی استینز این جمعیت در گروه 3B قرار می‌گیرد. این در حالی است که در گاومیش‌های آذری، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم ۳۳/۷۴ می‌باشد. در این جمعیت درصد شکل کلی کاربوتایپ ۱۱/۰۹ بوده و مقادیر A_1 و A_2 به ترتیب برابر ۰/۸۷۴ و ۰/۳۱۶ است.

بر اساس جدول تقارن دوطرفه‌ی استینز این جمعیت نیز مانند جمعیت قبلی در گروه 3B قرار می‌گیرد. شکل مربوط به هر جمعیت و نیز گستره‌ی متافازی مربوط به گاومیش‌های مازنی و آذری در جنس‌های نر و ماده در جدول شماره ۲ آورده شده است.

نمونه‌ها پس از این مرحله به انکوباتور ۳۷ درجه به مدت پنج روز منتقل شدند تا پیر شوند. بعد از آن، سلول‌ها در معرض تریسین قرار گرفتند و با گیمسا رنگ آمیزی شدند. از هر نمونه خونی بر روی ۱۵ لام گسترش تهیه گردید. سپس، نمونه‌ها زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی $\times 1000$ مشاهده شدند و از نمونه‌های با کیفیت مناسب عکس تهیه شد و توسط نرم افزار Micro Measure 3.3 آنالیز گردید. همچنین با استفاده از Microsoft excel 2013 ایدیوگرام مربوط به هر کدام رسم شد. مهمترین پارامترهایی که در این بررسی مورد آنالیز قرار گرفت، عبارتند از:

$$100 \times \frac{\text{مجموع طول کل بازوهای کوتاه}}{\text{مجموع طول کل کروموزوم‌ها}} = \text{درصد شکل کلی کروموزوم (TF\%)}$$

$$\frac{\text{طول بازوی کوتاه کروموزوم}}{\text{طول کل کروموزوم}} = \text{شاخص سانترومیری (CI)}$$

$$100 \times \frac{\text{طول هر کروموزوم}}{\text{طول کل کروموزوم}} = \text{طول نسبی کروموزوم (RL)}$$

$$\text{طول نسبی حداقل} - \text{طول نسبی حداکثر} = \text{اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها (DRL)}$$

$$\frac{\text{طول کوتاهترین کروموزوم}}{\text{طول بلندترین کروموزوم}} = \text{طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (RLS)}$$

$$\frac{\text{مجموع کل بازوی کوتاه به بلند کروموزوم‌ها}}{N} = A_1 - 1$$

$$A_2 = \frac{\text{انحراف معیار طول کروموزوم‌ها}}{\text{میانگین طول کروموزوم‌ها}}$$

نتایج

نتایج شمارش کروموزومی نشان می‌دهد که در گاومیش‌های مازنی و آذری $2n = 50$ می‌باشد و تعداد بازوان یا NF در هر دو جمعیت برابر ۶۰ شد.

در هر دو جمعیت، فرمول کاربوتایپ بصورت $4M + 6SM + 38T + \text{Sex Chromosome}$ می‌باشد. همان‌طور که در جدول شماره ۱ آمده است، در گاومیش‌های مازنی، طول کل کروموزوم برابر ۲۳۵/۸۳ میکرومتر بوده و اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها برابر ۵/۰۳ می‌باشد.

درحالی‌که در گاومیش‌های آذری، طول کل کروموزوم





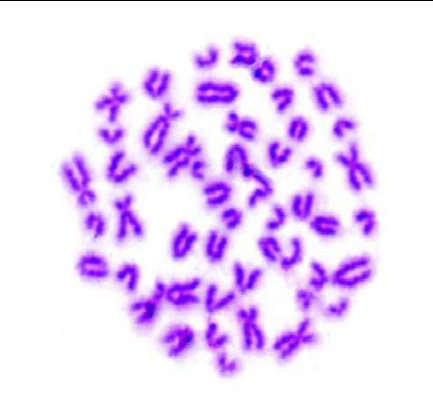

جدول ۱- مشخصات کاربوتایپ گاو میش‌های مازنی و آذری

جمعیت	فرمول کاربوتایپی	2n	طول کل کروموزوم*	TF%	DRL	RLS	A ₁	A ₂	**SC
گاو میش مازنی	4M + 6SM + 38T + Sex Chromosome	۵۰	۲۳۵/۸۳	۱۱/۰۹	۵/۰۳	۳۰/۲۴	۰/۸۸۶	۰/۳۷۴	3B
گاو میش آذری	4M + 6SM + 38T + Sex Chromosome	۵۰	۳۳۲/۱۷	۱۱/۰۹	۴/۳۴	۳۳/۷۴	۰/۸۷۴	۰/۳۱۶	3B

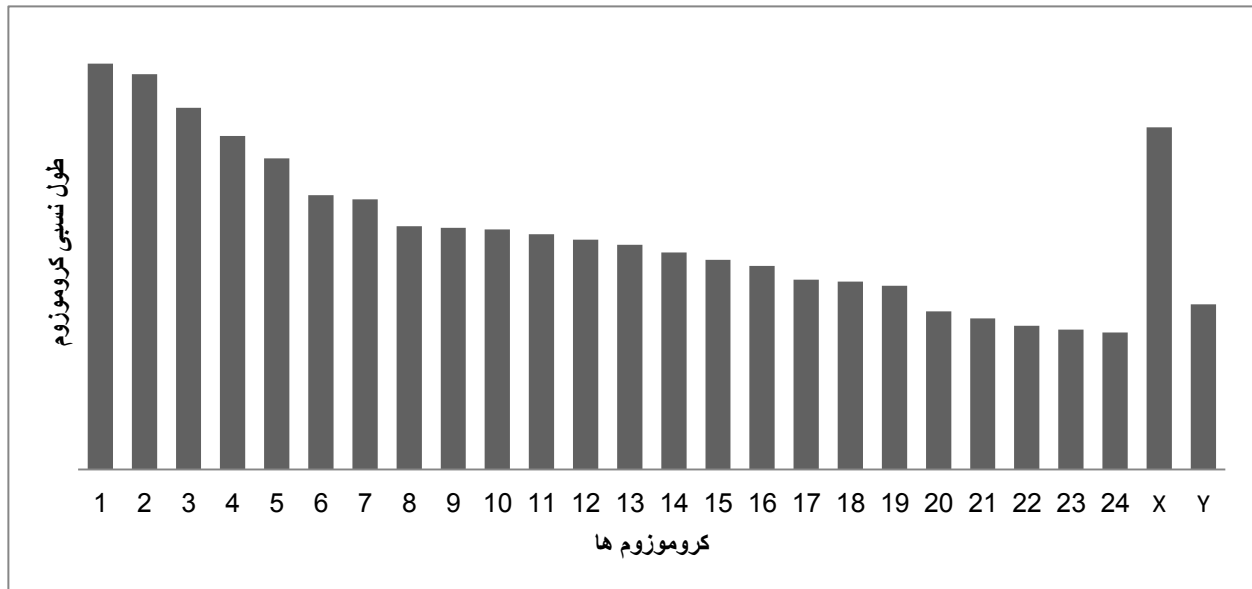
*طول کروموزوم‌ها بر حسب میکرومتر محاسبه گردید.

** stebbins classification یا دسته بندی استینز

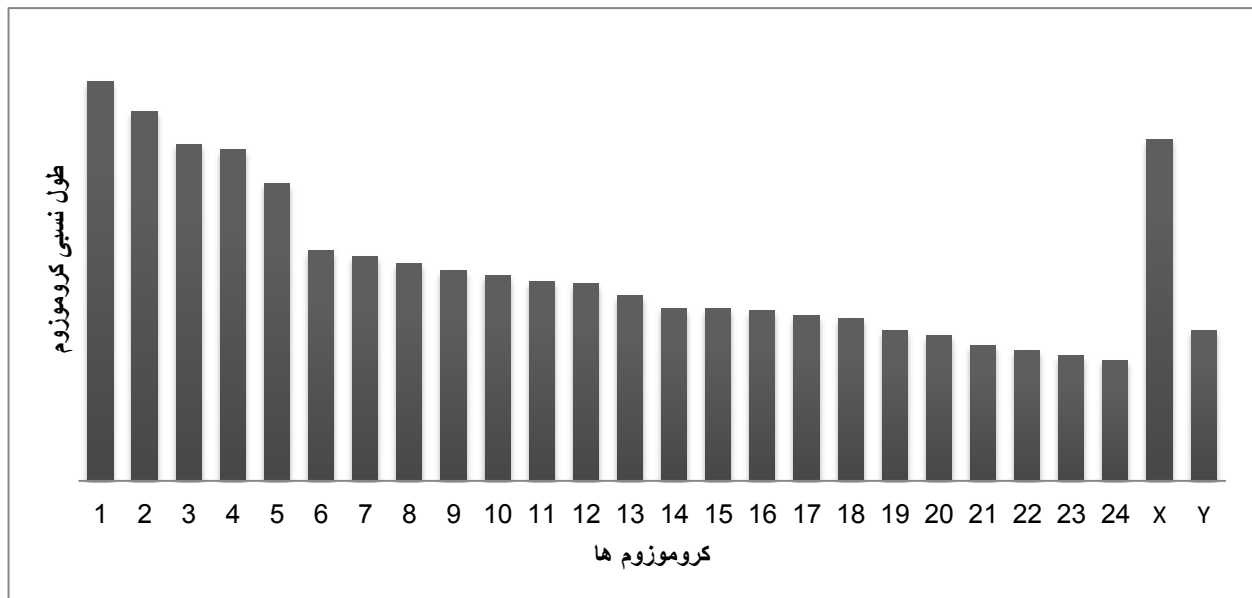
جدول ۲- شکل جانور و گستره‌ی متافازی مربوط به گاو میش آذری (بالا) و گاو میش مازنی (پایین)

تصویر نمونه	گستره متافازی جنس ماده	گستره متافازی جنس نر
		
		

همچنین، ایدیوگرام مربوط به گاومیش‌های آذری و مازنی در شکل ۱ و ۲ آورده شده است.



شکل ۱- ایدیوگرام گاومیش آذری با استفاده از طول نسبی



شکل ۲- ایدیوگرام گاومیش مازنی با استفاده از طول نسبی

Obeidah ، ۱۹۷۸؛ De Hondt and Ghanam ، ۱۹۷۱)، نتیجه‌ی به دست آمده از این بررسی را تأیید می‌کنند.

همچنین، نتایج به دست آمده از آنالیز کروموزومی بر روی گاو میش‌های ساکن در کشورهای ژاپن (Harisah و همکاران، ۱۹۸۹)، استرالیا (Guerra، ۱۹۸۶؛ Sharra و همکاران، ۱۹۸۹)، چین (Huang و همکاران، ۱۹۸۹)، ویتنام (Balakrishnan و همکاران، ۱۹۸۸) و تایلند (Romelt-Vasters و همکاران، ۱۹۷۸) عدد دیپلوئید را $2n = 48$ نشان می‌دهند.

یعنی این جانوران متعلق به زیرگونه‌ی *Bubalus bubalis carabanesis* هستند (گاو میش باتالقی).

در این بررسی مشخص شد که طول نسبی کروموزوم در گاو میش مازنی بین ۲/۱۷ تا ۷/۲۰ و در گاو میش آذری بین ۲/۲۱ تا ۶/۵۵ متغیر است. در گاو میش مازنی طول نسبی کروموزوم X و Y به ترتیب برابر ۶/۱۶ و ۲/۷۱ و نیز در گاو میش آذری طول نسبی کروموزوم X برابر ۵/۵۲ و طول نسبی کروموزوم Y برابر ۲/۶۷ به دست آمد.

اولین گزارش در مورد طول نسبی کروموزوم در گاو میش رودخانه‌ای مربوط به سال ۱۹۷۸ است که در گاو میش نژاد مورا مشخص شد که طول نسبی کروموزوم‌های اتوزوم بین ۵/۵۱ در بزرگترین کروموزوم تا ۱/۹۶ در کوچکترین آن‌ها متغیر است. طول نسبی در کروموزوم جنسی X برابر ۶/۵۲ و در کروموزوم جنسی Y برابر ۱/۸۹ گزارش شد (Khavary، ۱۹۷۸).

در سال ۱۹۸۴ گزارش داده شد که طول نسبی کروموزوم جنسی X در نژاد مورا برابر شش درصد است.

یعنی کروموزوم X حدود شش درصد کل ژنوم را دارا می‌باشد (Yadav و همکاران، ۱۹۸۴). در تحقیقی که روی گاو میش‌های رودخانه‌ای اریسا صورت گرفت مشخص شد که طول نسبی کروموزوم‌ها در این گاو میش از ۵/۷۰ تا ۰/۸۶ متغیر است (Bidhar و همکاران، ۱۹۸۶).

همچنین در سال ۱۹۸۹، شرر و همکاران در مطالعه‌ای که روی گاو میش مورا انجام دادند، پی بردند که طول نسبی کروموزوم‌ها بین ۱/۸۶ تا ۸/۷۵ می‌باشد و کروموزوم جنسی X حدوداً ۴/۷۲ در

لازم به ذکر است که همه‌ی نمونه‌های بررسی شده سالم بودند و هیچ گونه پلی پلوئیدی، مونوزومی و تریزومی در آن‌ها مشاهده نشد. به این دلیل که در رابطه با دام‌ها و حیوانات مزرعه باید سال‌ها وقت گذاشت و کاربوتایپ همه افراد جمعیت را محاسبه کرد و نیز افرادی که تازه به دنیا می‌آیند نیز باید مورد بررسی قرار گیرند. زیرا در محل‌های پرورش گاو میش، حیوانات مریض و ناهنجار بلافاصله از بین می‌روند تا خسارات بعدی به بار نیاورند (Khavary، ۱۹۷۸).

بحث

در این تحقیق، عدد دیپلوئید در گاو میش‌های مازنی و آذری هر دو با هم برابر و $2n = 50$ بود. این نشان می‌دهد که هر دو از جمعیت‌های گاو میش‌های رودخانه‌ای‌اند (*Bubalus bubalis bubalis*). خاوری در سال ۱۹۷۸، در مطالعه‌ای بر روی گاو میش‌های آذری عدد دیپلوئید را ۵۰ به دست آورد (Khavary، ۱۹۷۸). مرزبان در سال ۱۳۹۱ در مطالعه‌ای که بر روی گاو میش‌های آذری انجام دادند، تعداد کروموزوم‌ها را ۵۰ عدد گزارش نمودند (مرزبان، ۱۳۹۱). همچنین تقوایی در سال ۱۳۹۱ در مطالعه‌ای بر روی گاو میش‌های مازنی، تعداد کروموزوم‌ها را ۵۰ عدد بیان کردند (تقوایی، ۱۳۹۱). نتایج حاصله از مطالعه‌ی کروموزومی روی گاو میش‌های کشورهای برزیل (Pires و همکاران، ۱۹۹۸؛ Rommelt، ۱۹۷۷)، هندوستان (Ali و همکاران، ۲۰۱۲؛ Balakrishnan Yadav، ۱۹۸۴؛ Bidhar و همکاران، ۱۹۸۶؛ Gupta and Chaudhri، ۱۹۷۸؛ Kenthao و همکاران، ۲۰۱۲؛ Kumar and Yadav، ۱۹۹۱؛ Murali و همکاران، ۲۰۱۰؛ Naserian and Saremi، ۲۰۰۷؛ Ramesha and Hegde، ۱۹۹۲؛ Yadav و همکاران، ۱۹۸۴)، ایتالیا (Salerno و همکاران، ۱۹۸۰)، پاکستان (Ali و همکاران، ۲۰۱۲؛ Balakrishnan و همکاران، ۱۹۸۸؛ Jannuzzi، ۱۹۹۴)، تایلند (Meo و همکاران، ۲۰۰۵؛ Kenthao و همکاران، ۲۰۱۲)، ترکیه (Fischer H، ۱۹۷۸)، سری لانکا (Ulbrich و همکاران، ۱۹۷۸)، مصر (Ahmad و همکاران، ۲۰۰۴؛ Cribiu and

گردید (Bidhar و همکاران، ۱۹۸۶). این در حالی است که شاخص سانترومیری در گاومیش‌های مورا در سال ۱۹۸۹ به ترتیب ۳۸/۱۷، ۳۷/۹۵، ۳۵/۹۷، ۳۸/۸۰ و ۴۸/۷۲ در بین ۵ جفت کروموزوم اول به دست آمد (Sharrar و همکاران، ۱۹۸۹).

در سال ۱۹۹۲، دو محقق هندی روی دو نژاد از گاومیش‌های هندوستان تحقیق کردند که نتایج آن‌ها نشان داد که در نژاد سورتی شاخص سانترومیری در بین ۵ جفت کروموزوم اول به ترتیب ۲۷/۳۵، ۳۰/۷۰، ۳۵/۰۰، ۳۶/۱۷ و ۳۶/۴۲ و در نژاد مورا به ترتیب ۲۴/۴۱، ۲۸/۴۵، ۳۳/۹۴، ۳۳/۰۲ و ۳۸/۳۷ به دست آمد (Ramesha K P and Heg، 1992).

همه‌ی نتایج فوق نشان دهنده‌ی تنوع در شاخص سانترومیری است که در اکثر نتایج این شاخص در جفت پنجم از همه بیشتر به دست آمد. طول کل کروموزوم در گاومیش مازنی ۲۳۵/۸۳ میکرومتر و در گاومیش آذری ۳۳۲/۱۷ میکرومتر به دست آمد.

این اختلاف احتمالا به دلیل شرایط خاص محیط کشت (مقدار اسیدیته محیط کشت) و یا زمان اضافه کردن کلسیم است (Stebbins، ۱۹۷۱).

فرمول کاریوتایی هر دو جمعیت به صورت $4M + 6SM + 38T + Sex Chromosome$ گزارش شد.

با توجه به این که در هر دو جمعیت، ۸۰ درصد کروموزوم‌ها به صورت تلوسانتریک بودند، می‌توان نتیجه گرفت که گاومیش‌ها کاریوتایی نامتقارن دارند (Stebbins، ۱۹۷۱؛ Paszko، ۲۰۰۶).

نتایج حاصل از گروه‌بندی کاریوتایپ به روش استینز نیز تا حدودی تأیید کننده نتیجه‌ی فوق است. به طوری که هر دو جمعیت در گروه 3B قرار گرفتند و معمولاً کاریوتایپ‌های نامتقارن در این گروه جای دارند (Stebbins، ۱۹۷۱).

درصد شکل کلی کاریوتایپ (TF%) در هر دو جمعیت گاومیش‌های مازنی و آذری برابر ۱۱/۰۹ شد. این بدان معنی است که از لحاظ این صفت کاریوتایی دو جمعیت هیچ گونه تفاوتی با هم ندارند. شایان ذکر است TF% پارامتری قوی برای مقایسه جمعیت‌ها نیست (Stebbins، ۱۹۷۱؛ Paszko، ۲۰۰۶).

صد از ژنوم را دارا می‌باشد (Sharrar و همکاران، ۱۹۸۹). جوشی و همکاران (۱۹۹۲) گزارش نمودند که طول نسبی کروموزوم در بزرگترین کروموزوم، کوچکترین کروموزوم و کروموزوم جنسی X به ترتیب برابر، ۷/۳۳، ۲/۱۳ و ۶/۷۰ در نژاد سورتی و نیز ۷/۰۱، ۲/۲۶ و ۶/۶۸ در نژاد مورا می‌باشد (Joshi و همکاران، ۱۹۹۲). نیز در سال ۱۹۹۷، در مطالعه‌ای که روی گاومیش رودخانه‌ای کانارا صورت گرفت، مشخص شد که طول نسبی اولین کروموزوم اتوزوم برابر ۶/۸ درصد، طول نسبی ۲۴امین کروموزوم برابر ۱/۶۷ درصد و نیز طول نسبی کروموزوم X برابر ۶/۴۶ درصد است (Joshi and Govindaiah، ۱۹۹۷). مورالی و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که طول نسبی کروموزوم در گاومیش رودخانه‌ای تودا در کشور هندوستان از ۶/۷۴ تا ۲/۰۲ متغیر است. طول نسبی کروموزوم X و Y در این تحقیق به ترتیب برابر ۶/۴۰ و ۲/۷۹ به دست آمد (Murali و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین در سال ۲۰۱۲، کنتائو و همکاران نشان دادند طول نسبی کروموزوم در گاومیش تایلندی بین ۱/۷۰ تا ۷/۱۰ می‌باشد. آن‌ها طول نسبی کروموزوم X و Y را به ترتیب برابر ۶/۵۰ و ۳/۰۶ بیان کردند (Kenthao و همکاران، ۲۰۱۲).

شاخص سانترومیری، نسبت بازوی کوتاه کروموزوم به طول کل کروموزوم است و برای تعیین مکان استقرار سانترومیر استفاده و تعیین می‌شود. در گاومیش‌های مازنی شاخص سانترومیری برای ۵ جفت کروموزوم اول به ترتیب ۳۲، ۲۸، ۳۶، ۴۳ و ۴۱ درصد گزارش شد و نیز برای گاومیش‌های آذری این مقدار به ترتیب برابر با ۴۳، ۳۶، ۳۰، ۳۶ و ۴۶ بود.

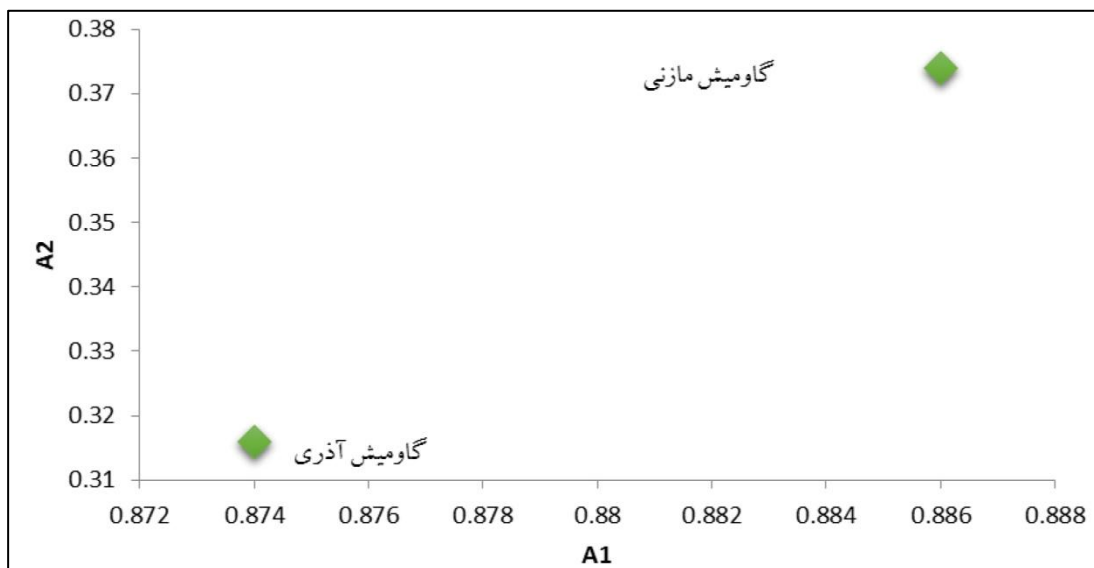
در سال ۱۹۷۸ شاخص سانترومیری در ۵ جفت اول کروموزوم، در گاومیش مورا به ترتیب برابر ۲۷/۳۶، ۳۰/۷۰، ۳۷/۴۹، ۳۲/۵۶ و ۴۰/۴۵ گزارش شد (Gupta and Chaudhri، ۱۹۷۸).

در سال ۱۹۸۴، شاخص سانترومیری ۵ جفت اول کروموزوم در گاومیش مورا به ترتیب برابر ۲۷/۹۰، ۳۲/۳۳، ۳۰/۳۰، ۳۳/۴۱ و ۴۲/۱۰ گزارش شد (Yadav).

همچنین در سال ۱۹۸۶ این شاخص در ۵ جفت اول کروموزوم ساب متاسانتریک گاومیش اریسا بین ۴۱/۱۷ تا ۴۸/۸۰ گزارش

مقایسه مقادیر شاخص‌های عدم تقارن A_1 و A_2 نیز نشان می‌دهد که مقدار A_1 در گاو میش مازنی $0/886$ و در گاو میش آذری $0/874$ و نیز مقدار A_2 در گاو میش مازنی $0/374$ و در گاو میش آذری $0/316$ است. از آنجایی که هر قدر مقدار این دو پارامتر بیشتر باشد، نشان دهنده عدم تقارن کاربوتایپ است (Stebbins, 1971)، لذا با استناد به این دو پارامتر نیز می‌توان نتیجه گرفت که کاربوتایپ گاو میش مازنی نسبت به کاربوتایپ جمعیت آذری نامتقارن تر است. همچنین نمودار تجزیه دو مؤلفه A_1 و A_2 همه موارد فوق را تأیید می‌کند. در این نمودار کاربوتایپ گاو میش آذری به مبدا نمودار نزدیک تر بوده و این مؤید این مطلب است که کاربوتایپ گاو میش آذری از تقارن بیشتری نسبت به کاربوتایپ گاو میش مازنی برخوردار است (Paszko, 2006) (نمودار ۱).

اختلاف دامنه‌ی طول نسبی کروموزوم‌ها (DRL) در گاو میش مازنی $5/03$ و در گاو میش آذری $4/34$ محاسبه گردید. با توجه به اینکه هر قدر مقدار DRL بیشتر باشد، کاربوتایپ نامتقارن تر است، لذا گاو میش مازنی کاربوتایپ نامتقارن تری دارد (Paszko, 2006). در سال 2009، مقدار این پارامتر برای گاو میش نژاد مورا $3/95$ به دست آمد (Murali و همکاران، 2009). مقدار طول نسبی کوتاه ترین کروموزوم (RLS) در گاو میش مازنی $30/24$ و در گاو میش آذری $33/74$ به دست آمد. از آنجایی که هرچه مقدار RLS کمتر باشد، کاربوتایپ نامتقارن تر است، لذا گاو میش مازنی کاربوتایپ نامتقارن تری نسبت به گاو میش آذری دارد (Stebbins, 1971; Paszko, 2006).



نمودار ۱- بردار حاصل از تجزیه دو مؤلفه A_2 به A_1

نتیجه گیری کلی

متاسفانه متاسفانه / متاسفانه می‌باشد و ۱۹ جفت کروموزوم دیگر تلوسانتريک می‌باشد. کروموزوم X بزرگ ترین کروموزوم تلوسانتريک و کروموزوم Y یکی از کوچک ترین کروموزوم‌های تلوسانتريک است. پارامترهای تقارن کاربوتایپ نشان می‌دهند که کاربوتایپ گاو میش مازنی نسبت به گاو میش آذری نامتقارن تر است.

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، گاو میش‌های مازنی و آذری هر دو متعلق به زیرگونه *Bubalus bubalis bubalis* بوده و رودخانه‌ای می‌باشند. مطالعه کاربوتایپ در هر دو جمعیت نشان می‌دهد که به لحاظ ساختار سیتوژنتیکی دو جمعیت با هم تفاوت معناداری ندارند. در هر دو جمعیت، از میان ۵۰ جفت کروموزوم، ۵ جفت سب

- (1986). Chromosome number and morphology of paralkhemundi buffaloes in Orissa. *Buffalo Bulletin.*, 5(3): 54-56.
- Cribiu E P and A Obeidah. (1978). The C-banding pattern of Egyptian water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Annales de Genetique et de Selection Animale*. 10(2) : 271-274.
- De Hondt HA, Ghanam SA. (1971). Cytogenetic studies of the Egyptian water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Buffalo Journal*, 1: 33-40.
- Fischer H, Ulbrich, F. (1978), Chromosomes of the Murrah buffalo and its crossbreds with the Asiatic swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Z. Tierzucht.Yuchtblol.*, 84 : 110-114.
- Guerra M D S. (1986). Short communication reviewing the chromosome nomenclature of Leavan et al. *Brazil Jornal of genetics*, 4: 741-743.
- Gupta P and S P R Chaudhri. (1978). Robertsonian changes in the chromosomes of Indian Murrah buffalo, *Bubalus bubalis*. *The Nucleus*, 21: 90-97.
- Harisah M T I Azmi, M Hilmi, M K Vidyadaran, T A Bongso, Z M Nav, V Momongan and P K Baasrur. (1989). Identification of crossbred buffalo genotypes and their chromosome segregation patterns. *Genome*, 32(6): 999-1002.
- Hasanzadeh S and Monazzah S. (2011). Gross morphology, histomorphology and histomorphometry of the jejunum in the adult river buffalo. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 12: 99-106.
- این بدان معنی است که گاومیش مازنی به لحاظ تکاملی پیشرفته تر است. پیشنهاد می‌شود در آینده مقادیر پارامترهای عدم تقارن کاریوتایی در مورد گاومیش‌های سایر نقاط جهان به دست آید تا بتوان برای گاومیش‌های ایرانی درخت فیلوژنیک ترسیم کرد.
- تشکر و قدردانی**
- از تمامی کارکنان و مدیریت پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال کشور به خاطر فراهم نمودن کلیه امکانات و کمک مالی کمال تشکر و قدردانی را داریم.
- منابع**
- تقوایی، م، م، (۱۳۹۱). آنالیز کروموزومی گاومیش مازنی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.
- مرزبان، م، (۱۳۹۱). آنالیز کروموزومی گاومیش آذری. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.
- Ahmad I, Javad K And Sattar A. (2004). Screening of breeding bulls of different breeds through karyotyping. *Pakistan Veterinary Journal*, 24:190-192.
- Ali A, Abdullah M, Javed K, Babar M E, Mustafa H, Ahmad N and Akhtar M. (2012). Cytogenetic and Genome Studies in Pakistani Buffalo (*Bubalus bubalis*) - A Review. *The Journal of Animal and Plant Sciences.*, 22: 225-227.
- Balakrishnan C R, Kumar S and Yadav B R. (1988). Cytogenetic, biochemical polymorphism and blood groups of the buffalo. *Buffalo Prod. Hlth. II World Buffalo Cong.*, New Delhi: 12-16.December. II. 16-30.
- Balakrishnan C R, Yadav B R. (1984). Normal and abnormal chromosomes in the Indian River buffaloes. *Buffalo Bulletin.*, 3:13-17.
- Bidhar G C, Pattnaik G R, Rao P K, Patro BN.

- Hasanzadeh S and Orojee S. (2003). Gross, morphology, histology and histomorphometry of the ileum in river buffalo. *Buffalo Journal*, 19: 273-282.
- Huang Y J, Xie, M O, Liu Y J and Tan Z S. (1987). Observation of G and C banding karyotypes in water buffaloes. *Hereditas, China*, 9: 13-16.
- Iannuzzi L. (1994). Standard karyotype of the fiver buffalo (*Bubalus bubalis* L., 2n=50). *Cytogenetics and Cell Genetics*, 67: 102-113.
- Kenthao A, Tanomtongl A, Supanuam P, Pinyotepratan C, Muangprom P, Buranarom P, Sanoamuang L. (2012). Standardize karyotype and idiogram of Mehsani Buffaloes, *Bubalus bubalis* by conventional staining, GTG-Banding, CBG-Banding and AG-NOR Banding techniques. *Buffalo Bulletin*, 31: 24-39.
- Khavary H. (1978). Normal karyotype of the Iranian buffalo (*Bubalus bubalis*). *Bulletin de la Societe sciences veterinaries et de, medicine comparee 'de Lyon*, 80: 203-305. (*Anim. Breed Abstr.* 47: 2213).
- Kumar P and Yadav B R. (1991). Comparative cytogenetical studies in Mehsana, Murrah and Surti buffaloes. *Indian J. Dairy Sci.*, 46: 157-161.
- Meo G P Di, A Perucatti, S Floriot, D Incarnato, R Rullo, A A Caputi Jambrenghi, L Ferretti, G Vonghia, E Cribiu, A Eggen and L. Iannuzzi, (2005). Chromosome evolution and improved cytogenetic maps of the Y chromosome in cattle, zebu, river buffalo, sheep and goat. *Chromosome Research*, 13: 349-355.
- Mirhoseinie S Z, Farhad Vahidie S M, Gharehyazie B. (2005). Survey of efficiency of six microsatellite loci in Iranian indigenous cattle and buffalo populations. *Iranian journal of biotechnology*, 3:41-47.
- Murali N, Devendran P and Panneerselvam S. (2009). Cytogenetic Studies on the Chromosomes of Toda Buffaloes. *Buffalo Bulletin.*, 28: 2.
- Naserian A A, Saremi B. (2007). Water buffalo industry in Iran. *Italiann journal of animal sciences*, 6 : 1404-1405.
- Paszko P. (2006). A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. *System of Evolution*, 258: 39-48.
- Pires. R M L, Reichert R H and Kasahara S. (1998). Cytogenetics of Three Breeds of River Buffalo (*Bubalus bubalis* L), with Evidence of a Fragile site on The X chromosome. *Yheriogenology*, 49: 529-538.
- Ramesha K P and Hegde BP. (1992). Chromosomes of Surti and nondescript buffaloes of Kamataka. *Indian Vet. J.* 69:34-37.
- Romelt-Vasters C, E Sheurmann and M R Jainudeen. (1978). Chromosome of The Asian Water Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Kajian Veteriner.* 10: 8-14.
- Rommelt C. (1977). Karyotype identification by means of G and C banding techniques in Swamp and Murrah buffaloes. Thesis. Giessen, Jastus, Liebig Univ., FRG, (*Anim. BreedAbstr.* 45: 3805).
- Salerno A, Valerio D, Cargiulo A, Scognamiglio F. (1980). C- and G-banding patterns of the Italian buffalo chromosomes. *Europe Colloquiom of Cytogenetic Domestic Animals*, 4: 378-385.

