نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۰۷، تابستان ۱۳۹٤
ص‌ص: ۱۳~۲٤

مطالعه‌ی کاریوتایپ و خصوصیات کروموزومی گاومیش‌های مازنی و آذری

- **مصطفی پورنورعلی** (نویسنده مسئول)

کارشناس ارشد زیست شناسی علوم جانوری، گرایش سلولی تکوینی، دانشگاه گیلان.

- **علیرضا ترنگ**

استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور.

- **فرهاد مشایخی**

استاد گروه زیست شناسی، دانشگاه گیلان.

تاریخ دریافت : اردیبهشت ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش : فروردین ۱۳۹۴

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۱۸۲۰۹۶۸۰

Email: mostafapournourali@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش، کاریوتایپ جمعیت گاومیش‌های مازنی در مقایسه با جمعیت گاومیش‌های آذری مورد مطالعه قرار گرفت. مطالعات کاریوتایپی یک ابزار قدرتمند برای تعیین کاریوتایپ 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 جمع-آوری 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 فیتوهماگلوتینین کشت داده شدند و گستره-های متافازی بر روی لام تهیه گردید. از گیمسا برای رنگ آمیزی کروموزوم‌ها استفاده شد. گاومیش مازنی و آذری کاریوتایپ مشابه با عدد دیپلوئید $2n = 50$ را نشان دادند. تعداد بازوان (NF) در جنس نر و ماده، ٦۰ بدست آمد. دسته‌بندی استیبنز 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 کاریوتایپی، گاومیش‌های مازنی تقارن بیشتری را نسبت به گاومیش‌های آذری نشان دادند. شواهد کروموزومی و سایر جزئیات آنالیز کاریوتایپ گونه‌ها می‌تواند در تعیین روابط خویشاوندی گونه‌ها از نظر صفات کروموزومی، سازماندهی جمعیت‌های مختلف و کشف ارتباط میان آن ها به ما کمک کند.

واژه‌های کلیدی: شمارش کروموزومی، ایدیوگرام، تقارن کاریوتایپی، گاومیش

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

Karyotyping studies and Chromosome morphology in Mazani and Azeri buffaloes

Mostafa Pournourali[*1], Alireza Tarang[2], Farhad Mashayekhi[3]
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 Mazendaran 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 that Azeri buffalo populations. The chromosomal evidences and other detailed karyotype analysis allows us to detect interrelationships of spices 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

گاومیش (*Bubalus bubalis*) از خانواده‌ی گاویان، سرشار از منابع غذایی مفید می‌باشد(۲۶) که از فراموش‌شده‌ترین 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).

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

گاومیش‌های ایرانی بر اساس شرایط اقلیمی به سه دسته عمده تقسیم می‌شوند. دسته اول، گاومیش‌های آذری هستند که در سه استان آذربایجان‌غربی، آذربایجان‌شرقی و اردبیل پرورش می‌یابند. دسته دوم، گاومیش‌های شمالی هستند که دراستان‌های گیلان و مازندران زندگی می‌کنند و دسته سوم، گاومیش‌های خوزستانی هستند که فقط در استان خوزستان به سر می‌برند (Naserian and Saremi، ۲۰۰۷). امروزه اجداد گاومیش‌های ایرانی به خوبی شناسایی نشده‌اند، اما گمان می‌رود که گاومیش‌های هندی، خصوصاً نژاد مورا اجداد گاومیش‌های ایران باشند، زیرا به لحاظ ظاهری شباهت زیادی به هم دارند.

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

۲۰۰۳) و پروتئین(Huang و همکاران، ۱۹۸۷) بالا نسبت به گاو، گوسفند و بز و همچنین تغذیه‌ی گاومیش از علوفه‌ی خشبی که نسبت به سایر علوفه‌ها ارزانتر است (Hasanzadeh and Monazzah، ۲۰۱۰) و نیز با توجه به سازش‌پذیری بهتر این جانور با محیط اطراف، گاومیش 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 گاومیش‌ها 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 کاریوتایپی در مطالعات سیتوژنتیکی برای بدست آوردن ارتباط تکاملی میان جمعیت‌ها، زیرگونه‌ها و گونه‌ها استفاده می‌شود. تقارن کاریوتایپی از طریق تعیین صفات کاریوتایپی در ترسیم درخت فیلوژنیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد(Paszko، ۲۰۰۶).

در سال ۱۳۹۱، مطالعه‌ای توسط مرزبان و همکاران روی گاومیش آذری انجام گرفت که در این تحقیق تعداد کروموزوم‌های گاومیش 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 گاومیش‌های مازنی توسط تقوایی و همکاران صورت گرفت که در این مطالعه تعداد کروموزوم‌های گاومیش مازنی همانند گاومیش‌های آذری ۵۰ عدد به دست آمد.

در این مطالعه، 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 داده شد (تقوایی، ۱۳۹۱).

در سال ۲۰۱۲، کنتائو و همکاران طی بررسی که روی گاومیش-های 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 گاومیش‌های جمعیت مازنی و آذری و همچنین بررسی تقارن کاریوتایپی بین این دو جمعیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جهت مطالعات سیتوژنتیکی، تعداد ده (۵ نر و ۵ ماده) راس از گاومیش‌های مازنی و ۳۰ (۱۵نر و ۱۵ ماده) رأس از گاومیش‌های آذری انتخاب شدند. گاومیش‌های مازنی متعلق به استان مازندران و گاومیش‌های 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 فیتوهماگلوتینین به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور CO_2 دار(Binder, Germany) کشت داده شدند. دو ساعت مانده به پایان گرمخانه گذاری، از کلسمید 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

شوند. نمونه‌ها پس از این مرحله به انکوباتور ۳۷ درجه به مدت پنج روز منتقل شدند تا پیر شوند. بعد از آن، سلول‌ها در معرض تریپسین قرار گرفتند و با گیمسا رنگ آمیزی شدند. از هر نمونه خونی بر روی ۱۵ لام گسترش تهیه گردید. سپس، نمونه‌ها زیر میکروسکوپ با بزرگ نمایی ۱۰۰۰× 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:

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

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

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

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

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

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

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

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 کاریوتایپ بصورت 4M + 6SM + 38T + Sex Chromosome می‌باشد.همان طور 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 برابر۳۳۲/۱۷ میکرومتر بوده و اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها برابر ۴/۳۴ است. شاخص سانترومری نسبت بازوی کوتاه کروموزوم به طول کل کروموزوم است و برای تعیین مکان استقرار سانترومر استفاده و تعیین می‌شود. در گاومیش‌های مازنی شاخص سانترومری 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.

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 تقریبا 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 کوتاه ترین کروموزوم ۳۰/۲۴ بوده و درصد شکل کلی کاریوتایپ ۱۱/۰۹ می باشد و همچنین مقادیر A_1 و A_2 به ترتیب برابر ۰/۸۸۶ و ۰/۳۷۴ است.

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

بر اساس جدول تقارن دوطرفه‌ی استبینز 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.

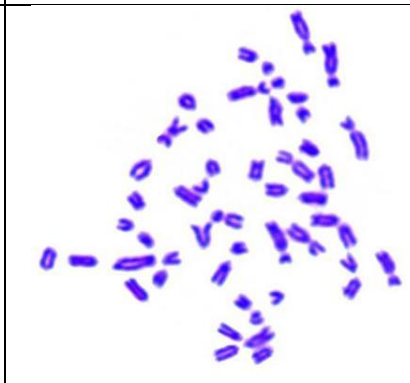
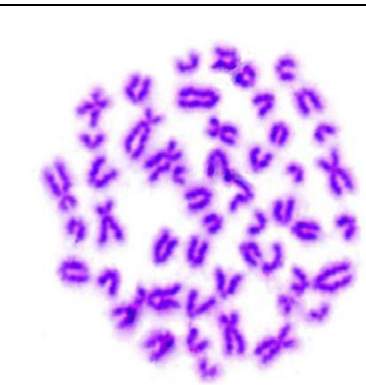
جدول ۱- مشخصات کاریوتایپ گاومیش های مازنی و آذری

جمعیت	فرمول کاریوتایپی	2n	طول کل کروموزوم*	TF%	DRL	RLS	A_1	A_2	**SC
گاومیش مازنی	4M + 6SM + 38T + Sex Chromosome	۵۰	۲۳۵/۸۳	۱۱/۰۹	۵/۰۳	۳۰/۲۴	۰/۸۸۶	۰/۳۷۴	3B
گاومیش آذری	4M + 6SM + 38T + Sex Chromosome	۵۰	۳۳۲/۱۷	۱۱/۰۹	۴/۳۴	۳۳/۷۴	۰/۸۷۴	۰/۳۱۶	3B

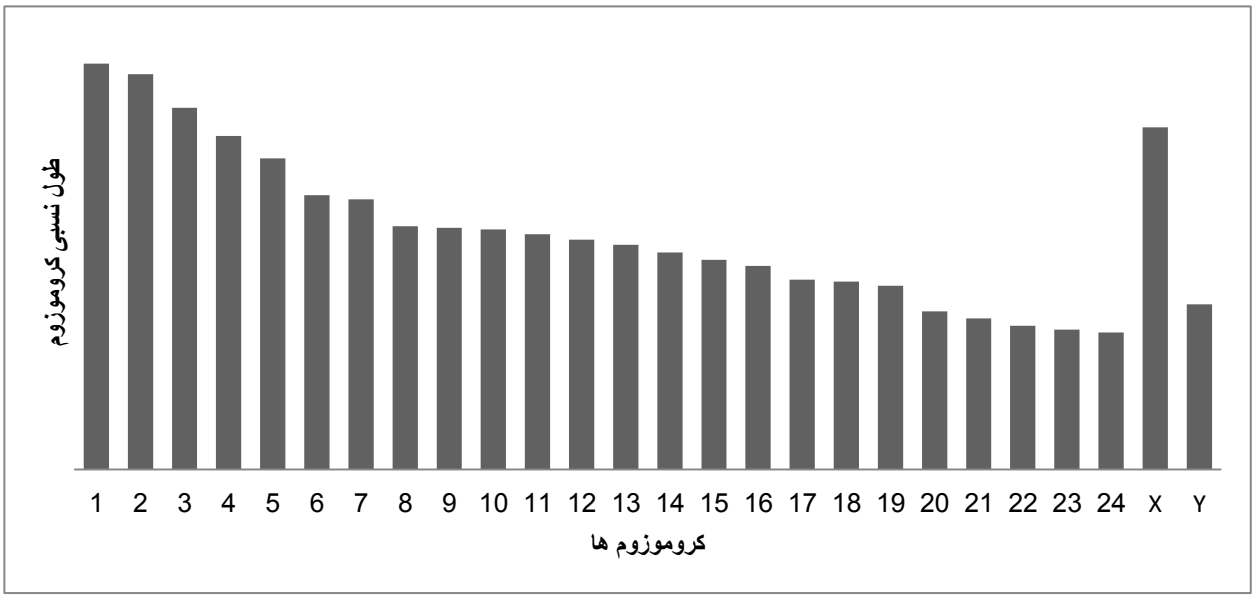
*طول کروموزوم‌ها بر حسب میکرومتر محاسبه گردید.

** stebbins classification یا دسته بندی استبینز

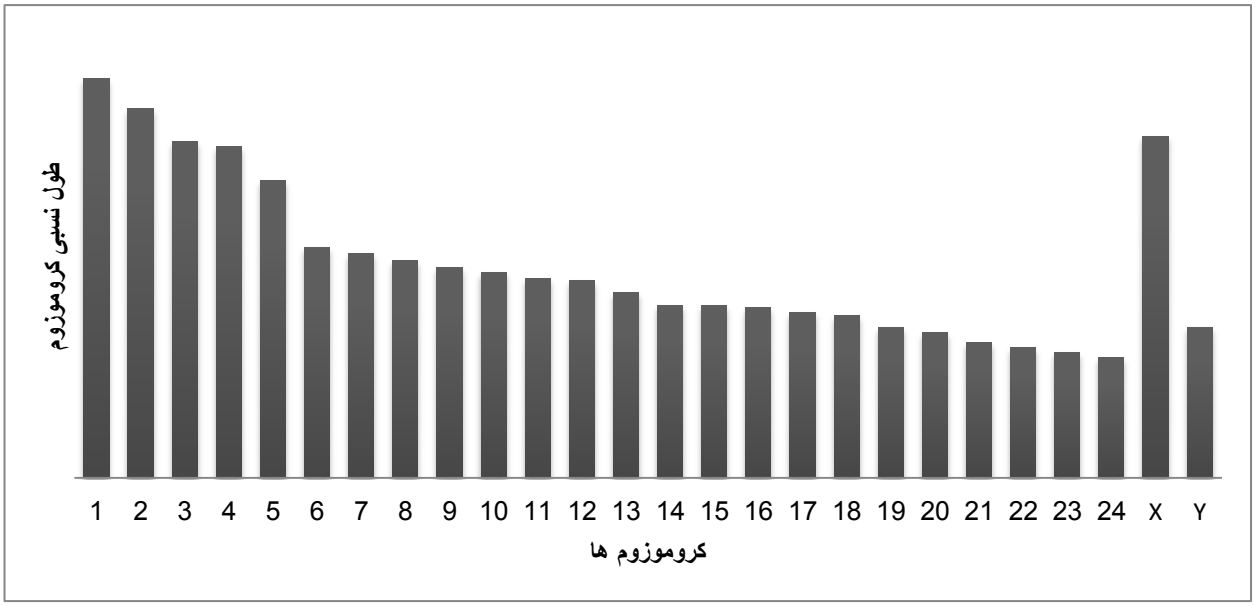
جدول ۲- شکل جانور و گستره‌ی متافازی مربوط به گاومیش آذری (بالا) و گاومیش مازنی (پایین)

گستره متافازی جنس نر	گستره متافازی جنس ماده	تصویر نمونه
		

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

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

بحث

در این تحقیق، عدد دیپلوئید در گاومیش‌های مازنی و آذری هر دو با هم برابر و 2n = 50 بود. این نشان می‌دهد که هر دو از جمعیت‌های گاومیش‌های رودخانه‌ای‌اند (*Bubalus bubalis bubalis*). خاوری در سال ۱۹۷۸، در مطالعه‌ای بر روی گاومیش‌های آذری عدد دیپلوئید را ۵۰ به دست آورد (Khavary، ۱۹۷۸). مرزبان در سال ۱۳۹۱ در مطالعه‌ای که بر روی گاومیش‌های آذری انجام دادند، تعداد کروموزوم‌ها را ۵۰ عدد گزارش نمودند (مرزبان، ۱۳۹۱). همچنین تقوایی در سال ۱۳۹۱ در مطالعه ای بر روی گاومیش‌های مازنی، تعداد کروموزوم‌ها را ۵۰ عدد بیان کردند (تقوایی، ۱۳۹۱). نتایج حاصله از مطالعه‌ی کروموزومی روی گاومیش‌های 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; Iannuzzi، ۱۹۹۴)، تایلند (Meo و همکاران،۲۰۰۵; Kenthao و همکاران، ۲۰۱۲)، ترکیه (Fischer H, Ulbrich، ۱۹۷۸)، سری لانکا(Scheurmann و همکاران، ۱۹۷۴) و مصر (Ahmad و همکاران، ۲۰۰۴; Cribiu and De Hondt and Ghanam ;۱۹۷۸ ، Obeidah، ۱۹۷۱)، نتیجه‌ی به دست آمده از این بررسی را تأیید می‌کنند.

همچنین، نتایج به دست آمده از آنالیز کروموزومی بر روی گاومیش‌های 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(گاومیش باتلاقی).

در این بررسی مشخص شد که طول نسبی کروموزوم در گاومیش مازنی بین ۲/۱۷ تا ۷/۲۰ و در گاومیش آذری بین ۲/۲۱ تا ۶/۵۵ متغیر است. 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.

اولین گزارش در مورد طول نسبی کروموزوم در گاومیش رودخانه ای مربوط به سال ۱۹۷۸ است که در گاومیش 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 (Yadavو همکاران، ۱۹۸۴). در تحقیقی که روی گاومیش‌های رودخانه‌ای اریسا صورت گرفت مشخص شد که طول نسبی کروموزوم‌ها در این گاومیش از ۵/۷۰ تا ۰/۸۶ متغیر است (Bidhar و همکاران، ۱۹۸۶).

همچنین در سال۱۹۸۹، شرر و همکاران در مطالعه‌ای که روی گاومیش مورا انجام دادند، پی بردند که طول نسبی کروموزوم‌ها بین ۱/۸۶ تا ۸/۷۵ می‌باشد و کروموزوم جنسی X حدوداً ۴/۷۲ در

صد از ژنوم را دارا می باشد (Sharrar و همکاران، ۱۹۸۹).

جوشی و همکاران (۱۹۹۲) گزارش نمودندکه 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 و۲/۷۹ به دست‌آمد(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. آن ها طول نسبی کروموزوم X و Y را به ترتیب برابر ۶/۵۰ و ۳/۰۶ بیان کردند (Kenthao و همکاران، ۲۰۱۲).

شاخص سانترومری، نسبت بازوی کوتاه کروموزوم به طول کل کروموزوم است و برای تعیین مکان استقرار سانترومر استفاده و تعیین می شود. در گاومیش‌های مازنی شاخص سانترومری 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 سانترومری 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 سانترومری ۵ جفت اول کروموزوم در گاومیش مورا به ترتیب برابر ۲۷/۹۰، ۳۲/۳۳، ۶۰/۳۰، ۳۳/۴۱ و ۴۲/۱۰گزارش شد (Yadav).

همچنین در سال ۱۹۸۶ این شاخص در ۵ جفت اول کروموزوم ساب متاسانتریک گاومیش اریسا بین ۴۱/۱۷ تا ۴۸/۸۰ گزارش گردید(Bidhar و همکاران، ۱۹۸۶). این در حالی است که شاخص سانترومری 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 آن ها نشان داد که در نژاد سورتی شاخص سانترومری 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 به‌دست‌آمد (Ramesha K P and Heg، 1992).

همه‌ی نتایج فوق نشان دهنده‌ی تنوع در شاخص سانترومری 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 میکرو متر به دست آمد.

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

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

با توجه به این که در هر دو جمعیت، ۸۰ درصد کروموزوم ها به صورت تلوسانتریک بودند، می توان نتیجه گرفت که گاومیش‌ها کاریوتایپی نامتقارن دارند (Stebbines، ۱۹۷۱; Paszko،۲۰۰۶).

نتایج حاصل از گروه‌بندی کاریوتایپ به روش استبینز نیز تا حدودی تأیید کننده نتیجه‌ی فوق است. به‌طوری که هر دو جمعیت در گروه 3B قرار گرفتند و معمولاً کاریوتایپ‌های نا متقارن در این گروه جای دارند (Stebbines، 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 کاریوتایپی دو جمعیت هیچ گونه تفاوتی با هم ندارند. شایان ذکر است TF% پارامتری قوی برای مقایسه جمعیت‌ها نیست (Stebbines، ۱۹۷۱; Paszko،۲۰۰۶).

اختلاف دامنه‌ی طول نسبی کروموزوم ها (DRL) در گاومیش مازنی ۵/۰۳ و در گاومیش آذری ۴/۳۴ محاسبه گردید. با توجه به اینکه هر قدر مقدار DRL بیشتر باشد، کاریوتایپ نامتقارن‌تر است، لذا گاومیش مازنی کاریوتایپ نامتقارن‌تری دارد (Paszko، ۲۰۰۶). در سال ۲۰۰۹، مقدار این پارامتر برای گاومیش نژاد مورا ۳/۹۵ به دست آمد (Murali و همکاران، ۲۰۰۹). مقدار طول نسبی کوتاه ترین کروموزوم(RLS) در گاومیش مازنی ۳۰/۲۴ و در گاومیش آذری ۳۳/۷۴ به دست آمد. از آنجایی که هرچه مقدار RLS کمتر باشد، کاریوتایپ نامتقارن‌تر است، لذا گاومیش مازنی کاریوتایپ نامتقارن تری نسبت به گاومیش آذری دارد(Stebbines، ۱۹۷۱؛ Paszko،۲۰۰۶).

مقایسه مقادیر شاخص‌های عدم تقارن A_1 و A_2 نیز نشان می‌دهد که مقدار A_1 در گاومیش مازنی ۰/۸۸۶ و در گاومیش آذری ۰/۸۷۴ و نیز مقدار A_2 در گاومیش مازنی ۰/۳۷۴ و در گاومیش آذری ۰/۳۱۶ است. از آنجایی که هر قدر مقدار این دو پارامتر بیشتر باشد، نشان دهنده عدم تقارن کاریوتایپ است (Stebbines، ۱۹۷۱)، لذا با استناد به این دو پارامتر نیز می توان نتیجه گرفت که کاریوتایپ گاومیش مازنی نسبت به کاریوتایپ جمعیت آذری نا متقارن تر است.همچنین نمودار تجزیه دو مؤلفه A_1 و A_2 همه موارد فوق را تأیید می‌کند. در این نمودار کاریوتایپ گاومیش آذری به مبدا نمودار نزدیک تر بوده و این مؤید این مطلب است که کاریوتایپ گاومیش آذری از تقارن بیشتری نسبت به کاریوتایپ گاومیش مازنی برخوردار است(Paszko، ۲۰۰۶)(نمودار ۱).

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

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، گاومیش‌های مازنی و آذری هر دو متعلق به زیرگونه *Bubalus bubalis bubalis* بوده و رودخانه‌ای می باشند. مطالعه کاریوتایپی 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 ساب متاسانتریک / متاسانتریک می‌باشد و ۱۹ جفت کروموزوم دیگر تلوسانتریک می‌باشد.

کروموزوم X بزرگ ترین کروموزوم تلوسانتریک و کروموزوم Y یکی از کوچک ترین کروموزوم‌های تلوسانتریک است. پارامترهای تقارن کاریوتایپی نشان می‌دهند که کاریوتایپ گاومیش مازنی نسبت به گاومیش آذری نامتقارن‌تر است.

این بدان معنی است که گاومیش مازنی به لحاظ تکاملی پیشرفته‌تر است. پیشنهاد می‌شود در آینده مقادیر پارامترهای عدم تقارن کاریوتایپی 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

تقوائی،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. (1986). Chromosome number and morphology of paralakhemundi 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.Yuchtbiol.*, 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.

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. Heriditas, 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, Tanomtong1 A, Supanuam P, Pinyoteppratan 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 Evol*ution, 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.

Scheurmann E, Weisner H, Fisher H and Jainuddeen M. (1974). The karyotype, C-bands and identification of the sex chromosomes in the Ceylon water buffalo. *Giessneer Beitr. Erpath and Zuchthyg*, 6: 1-7. (Anim. Breed Abstr. 42: 7).

Sharar A I, Narayankhedkar S G and Chauhan M D. (1989). Cytogenetic studies in murrah buffaloes. *Journal of Bombay Veterinary Collage*, 1: 49-53.

Stebbins G L. (1971). Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold (publisher) Ltd., London, UK.

Yadav B R, Balakrishnan C R, Tomer O S. (1984). Chromosomal screening of male cattle and buffaloes. Indian J. Anim. Sci., 54: 519-523.