



بررسی تریزومی غیرجنسی (اتوزومی) در مادیان ترکمن

• رضا مهران‌نژاد، آزمایشگاه ژنتیک مرکز تحقیقات شیلاتی آرتمیای ایران

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۲

چکیده

مطالعات سیتوژنتیکی ابزاری مساعدت کننده در راستای افزایش تولید مثل و راندمان تولیدات دامها، اصلاح نژاد و شناسایی و تشخیص ناهنجاری‌های مختلف کروموزومی است، لزوم توجه عمیق به دانش سیتوژنتیک احساس می‌گردد. اسب نژاد ترکمن از نژادهای اصیل ایرانی است که از سالیان دور کشورهای اروپایی از این نژاد جهت اصلاح نژاد اسبهای خویش استفاده نموده‌اند. در مطالعه سیتوژنتیک اسب نژاد ترکمن جهت تهیه گسترش‌های متافازی، از تعداد ۴۰ رأس جنس‌های اسب نژاد ترکمن (نر و ماده) دارای شناسنامه و داغ مخصوص بودند، نمونه خون محیطی تهیه گردید. نمونه‌های خونی پس از کشت و رنگ آمیزی، مورد بررسی میکروسکوپی، عکسبرداری و کاربوتایپ قرار گرفت. در این بررسی کاربوتایپ اسب نژاد ترکمن $2n=64$ تعیین گردید، از تعداد ۶۲ کروموزوم غیر جنسی ۷ جفت متاسانتریک، ۶ جفت ساب متاسانتریک و ۱۸ جفت تلوسانتریک بودند. کروموزوم جنسی X ساب متاسانتریک و کروموزوم جنسی Y ساب متاسانتریک کوچک بود. در بررسی متافازی نمونه‌های یک مادیان ترکمن ۷ ساله تعداد کروموزومها $2n=65$ بود. پس از بررسی مشخص شد که کروموزوم اضافی که یک کروموزوم تلوسانتریک است و هومولوگ کروموزومهای جفت ۱۹ می‌باشد این مورد یک مورد تریزومی اتوزومی بود که برای اولین بار گزارش می‌شود. این مادیان از لحاظ تولید مثل طبیعی بوده و کره زائیده شده سالم بود. با نواربندی G به‌طور دقیق هومولوگ کروموزوم اضافی تعیین شد. گزارش تریزومی شماره ۱۹ در این حیوان برای اولین بار گزارش می‌شود.

کلمات کلیدی: اسب، نژاد ترکمن، کاربوتایپ، تریزومی، نواربندی G

Pajouhesh & Sazandegi No 65 pp: 31-35

A New autosomal trisomy in Turkman horse

By: Reza Mehrannezhad. Genetic lab, Research Center of Artemia of Iran.

In this study blood samples from Turkman horse were obtained. For the determination of chromosomes blood samples were used for metaphasal chromosome by the use of short term culture method. In this study the diploid model of Turkman horse was $2n=64$ and from the 31 pairs of autosomal chromosomes, 8 pairs were metacentric, 5 pairs were submetacentric and 18 pairs were telocentric. The X and Y sex chromosomes were considered as submetacentric. In this study the diploid model for a 7 years old Turkman horse was found to be $2n=65$. The extra chromosomes was the number 19 and this case was an example of autosomal trisomy. Using the G-banding technique, it was confirmed that the extra chromosomes is a homologue of pairs No:19.

Key words: Turkman horse Chromosomes, Trisomy, Karyotype, G-banding.

مقدمه

سیتوزنتیک کاربردهای فراوانی در زمینه دامپروری و دامپزشکی دارد. از جمله میتوان به تشخیص ناهنجاریهای کروموزومی در دامها، تشخیصهای پیش از تولد، سرطان شناسی، اصلاح نژاد دام اشاره نمود. انحرافات کروموزومی یکی از دلایل اصلی سقط جنین و نقایص نوزادان در بدو تولد دارد. با اینکه ناهنجاریهای کروموزومهای جنسی مختلفی در اسبهای اهلی گزارش شده است، ولی در باره ناهنجاریهای کروموزومهای غیر

جنسی اطلاعات مختصری وجود دارد.

تریزومی اتوزومی معمولاً به علت جدا نشدن و یا اختلاف در تفرق کروموزومها در طی تقسیم میوز اول است و یا به علت اختلال در جدا شدن کروماتیدها در طی میوز دوم است. در نتیجه گامت مورد نظر حاوی کروموزومهای بیش از تعداد هاپلوئید خواهد شد. گزارشهای مختلفی در مورد تریزومی اتوزومی وجود دارد. تریزومی غیر جنسی در اسب نژاد ترکمن برای اولین بار گزارش می شود.

مواد و روش کار

برای تهیه گسترش متافازی از ۴۰ رأس اسب نژاد ترکمن (نر و ماده) که دارای شناسنامه، شجره نامه و داغ مخصوصی بودند، اقدام به اخذ نمونه خون کامل از ورید وادج با لوله‌های خلاء دار حاوی هیپارین گردید.

نمونه‌ها در شرایط استریل و در کنار کیسه یخ و در جعبه سرد به آزمایشگاه ژنتیک منتقل شد، سپس اقدام به کشت نمونه‌های اخذ شده در آزمایشگاه نمودیم. در آزمایشگاه ابتدا میزان ۱ میلی لیتر خون کامل به محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ که حاوی ۲۰٪ سرم جنین گوساله (F.C.S) است، اضافه گردید.

سپس به میزان ۰/۱ میلی لیتر میتوزن PHA به هر یک از محیطها اضافه شد. در پایان نمونه‌ها را در داخل انکوباتور CO₂ در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت قرار به منظور متوقف کردن تقسیمات سلولی در مرحله متافاز حدود ۵ ساعت قبل از برداشت به میزان ۰/۱۵ میلی لیتر محلول کلشیسین به هر یک از ظروف کشت اضافه می شود و دوباره در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار میگیرد تا دوره انکوباسیون کامل شود بعد از طی دوره انکوباسیون نمونه‌های کشت شده را جداگانه در لوله‌های سانتریفوژ استریل ریخته به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ کرده و مایع رو توسط پیپت دور ریخته و حدود ۶ میلی لیتر از محلول کلرید پتاسیم به آن اضافه می کنیم. سپس اقدام به تهیه لام و رنگ آمیزی با محلول گیمسا می نماییم.

بعد از رنگ آمیزی از گسترش‌های مناسب با میکروسکوپ دوربین دار عکس برداری نموده و اقدام به کاربوتایپ عکسها شد (۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۲۱، ۲۲).

روش نواریندی G

برای انجام نواریندی G نکات زیر رعایت گردید:

- ۱- لامهای تازه تهیه شده را به مدت ۱۰-۸ روز در دمای اتاق نگهداری می کنیم.
- ۲- لامهای مورد نظر را به مدت ۱۵ ثانیه درون محلول تریپسین ۰/۳٪ در دمای ۲۱-۱۸ درجه سانتیگراد قرار گرفت.
- ۳- لامها را با محلول بافر فسفات شستشو می دهیم، بعد از خشک شدن لامها آنها را با رنگ گیمسای ۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه رنگ آمیزی نمودیم (۱۱، ۱۴، ۲۱، ۲۲).

نتایج

در بررسیهای انجام گرفته که حاصل کشت نمونه‌های خونی ۴۰ رأس اسب نژاد ترکمن بوده نتایج زیر حاصل گردید: کاربوتایپ اسب نژاد ترکمن $2n=64$ تعیین گردید. این مجموعه کروموزومی شامل ۷ جفت کروموزوم متاسانتتریک، ۶ جفت کروموزوم ساب متاسانتتریک و ۱۸ جفت کروموزوم تلوسانتتریک است.

کروموزوم جنسی X ساب متاسانتتریک بزرگ و کروموزوم جنسی Y ساب متاسانتتریک کوچک است.

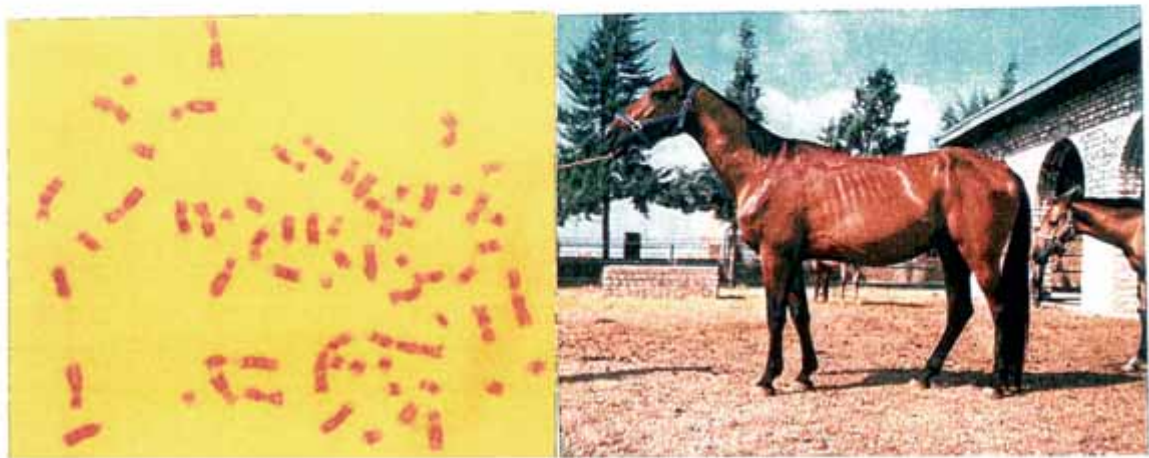
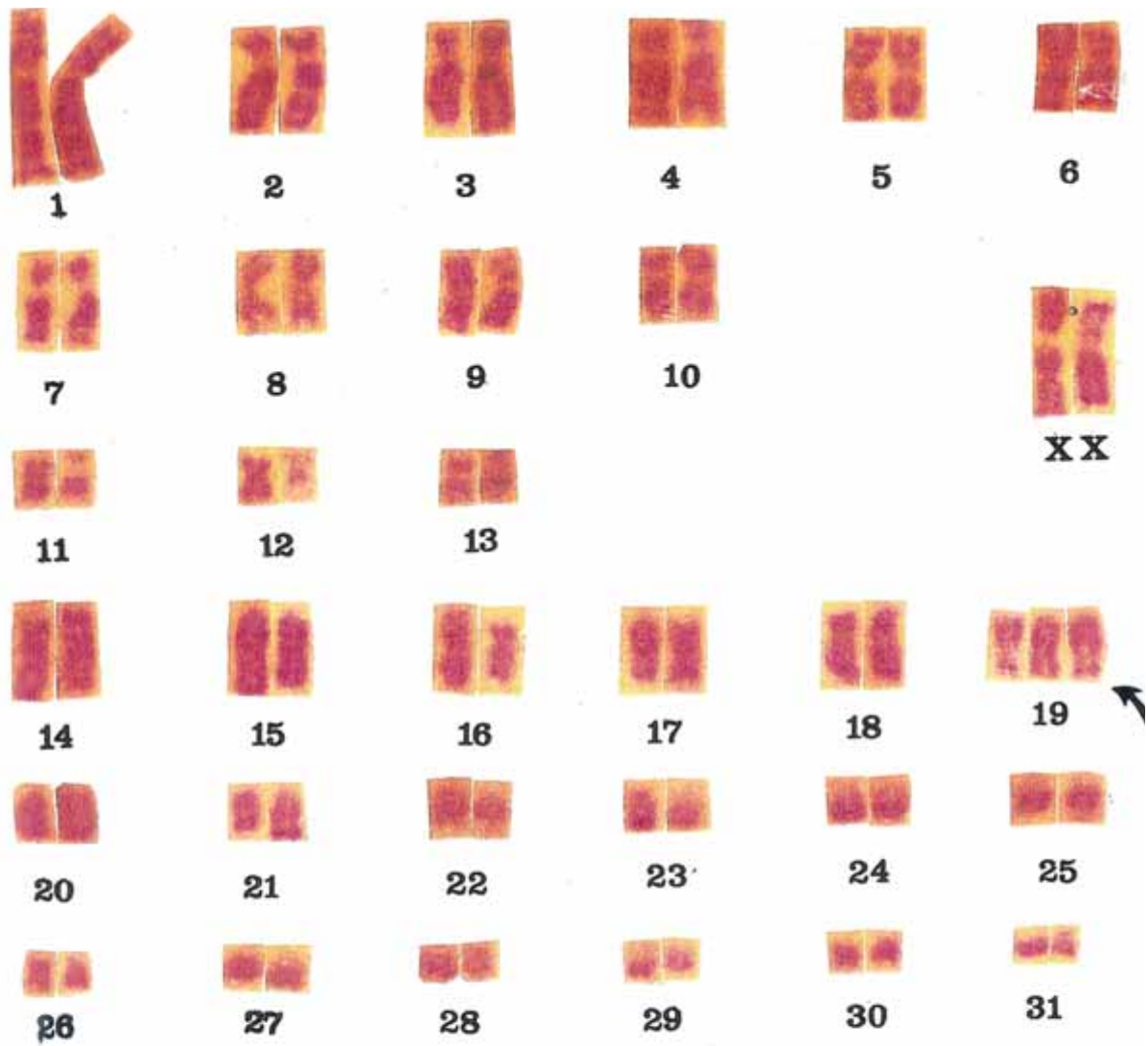
در بررسی نمونه‌های خون محیطی یک رأس مادبان ترکمن ۷ ساله مدل دیپلوئیدی $2n=65$ حاصل شد.

پس از بررسی مشخص شد، کروموزوم اضافی که یک کروموزوم تلوسانتتریک است، همولوگ کروموزومهای جفت ۱۹ می باشد.

این موردیک تریزومی اتوزومی است که برای اولین بار گزارش می شود این مادبان از لحاظ تولید مثل نرمال بوده و کره زائیده شده سالم بود. با نواریندی G مشخص شد که کروموزوم اضافی متعلق به کروموزومهای جفت شماره ۱۹ می باشد.

بحث

در بررسی نتایج حاصل از کشت کروموزومی یک رأس مادبان ترکمن ۷ ساله کاربوتایپ این مادبان $2n=65$ بود. در بررسی مشخص شد که کروموزوم اضافی یک کروموزوم اتوزومال و مربوط به جفت شماره ۱۹ بوده است. جهت اطمینان بیشتر تعداد ۵ نمونه خونی از این حیوان مورد مطالعه قرار گرفت و در تمام موارد تریزومی اتوزومی مشاهده گردید. Klunder و همکارانش در سال ۱۹۸۹ به تریزومی اتوزومال شماره ۲۳ در یک رأس اسب استاندارد برد (SB) اشاره کردند (۲۴). باولینگ و میلون در سال ۱۹۹۰ در یک مادبان تروربرد (TB) ۳ ساله تریزومی اتوزومال شماره ۲۶ را گزارش نمودند (۳۵). در سال ۱۹۹۲ Zhang و همکارانش در یک اسب کوارتر (QH) ۲۵ ساله تریزومی مربوط به جفت ۲۷ را گزارش نمودند (۳۵). در سال ۱۹۸۷ پاور تریزومی مربوط به جفت ۲۸ را در اسب تروربرد گزارش نمود (۲۵). مورد اخیر برای اولین بار گزارش می شود و مربوط به مادبان ترکمن ۷ ساله است. این تریزومی در جفت شماره ۱۹ بود. مادبان از لحاظ تولید مثلی نرمال بود. و کره زائیده شده سالم بود.



عکس : کاریوتایپ مادبان ترکمن با تریزومی ۱۹ (G-band) (بزرگنمایی ۱۰۰×)

پیشنهادات

با توجه به خصوصیات منحصر به فرد نژاد ترکمن و کاربردهای وسیع آن در صنعت پرورش اسب، مسابقات سوارکاری، پرش و کورس، لزوم توجه به این نژاد، انجام پژوهش‌های بنیادی از جمله مطالعات سیتوژنتیکی احساس می‌شود. با تکنیک‌های سیتوژنتیک می‌توان انواع ناهنجاری‌های کروموزومی، ناباروری‌ها، کم باروری‌ها، سقط جنین‌های مکرر، تشخیص دو جنسی‌های گوناگون و غیره را مشخص نمود. با این تعاریف پیشنهاد می‌شود که مرکز رفرانس سیتوژنتیک با کادر مجرب در کشور برای این منظور تأسیس گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری‌های صمیمانه خانم لوئیز فیروز، دکتر ابراهیم‌پور، مهندس پرمور، مهندس یوسف نیا، دکتر علی حسینی و سایر عزیزانی که

کره اسپهای تریزومی شرح داده شده در متن

Reference	Age(yrs)					Foal
	Of mare	Cytgenetic Evaluation	Leg problem	Sex	Breed	Case
						No
Klunder et al. (۱۹۸۹)	unknown	Trisomy-۲۳	A	M	SB	۱
Bowling and Millon(۱۹۹۰)	۳	Trisomy-۲۶b	B	F	TB	۲
Zhang et al. (۱۹۸۲)	۲۵	Trisomy-۲۷	D	M	OH	۳
Power(۱۹۸۹)	۱۴	Trisomy-۲۸	D	M	TB	۴
Bowling and Millon (۱۹۹۰)	۲۳	Trisomy-۳۰	B	F	AR	۵
	۲۸	Trisomy-SSAc	C	M	AR	۶
Mehrannezhad. et al. (۲۰۰۳)	۷	Trisomy-۱۹	-	F	TM	۷

a Type of leg problem:A=legjoint swelling; C=contracted tendon; D=later gait problem

b Centric fusion-type trisomy.

c SSA:small acrocentric autosome; chromosome number unresolved.

SB:Standardbred

TB:Throughbred

AR:Arab TM:Turkman

ایران، پایان نامه دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه ص.ص ۱۹-۲۵.

۱۰ - مهران نژاد، رضا، ۱۳۸۰، مطالعه سیتوژنتیکی و کروموزومی اسپهای بومی ایران، پایان نامه دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه ص.ص ۸۷-۹۶.

۱۱ - مهران نژاد، رضا، ۱۳۸۰، مطالعه سیتوژنتیکی و کروموزومی اسپهای بومی ایران، پایان نامه دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی

خالصانه در انجام این پروژه بنده را راهنمایی و مساعدت نمودند، کمال قدردانی را می‌نمایم.

منابع مورد استفاده

- ۱ - اسماعیل نعلبند، حسین، ۱۳۷۶، رفتارشناسی اسب، پایان نامه دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.
- ۲ - اشموعلیل، ناصر، اهمیت و منزلت اسب از دیدگاه احادیث، مجله دامدار. ویژه

- Equine Vet.J., 8(1)PP: 38-41.
- 24-Klunder, L.R.Mc feely, R.A.Beech, J.Mc clune, W.1989. Autosomal trisomy in a standardbred Colt. Equine Vet.J.,21(1)PP: 69-70.
- 25-Long, E.S. 1988; Chromosome anomalies and infertility in the mare. Equine Vet.J., 20(2).pp:89-93.
- 26-Macgregor,H.C.and Rarley, J.1988; Working with animal chromosomes, John Willey and sons.
- 27-Macgregor,H.C.1993; An introduction to animal cytogenetics,Chapman & Hall London.
- 28-Mcilwraith, C.W.and Owen R.A.P.R.and Basrur P.K.1976. An equine cryptorchid with testicular and ovarian tissues, Vet.J, 8 (4). pp:156-160.
- 29-Obe,G.and Basler, A.1987; Cytogenetics basis and applied aspects.
- 30-Pearson,P.L. and lawis, K.R.1974; ,Chromosome today.
- 31-Schaeffer,S.J.1980; Cytogenetics plants, animals, human. Springer, Verlag.
- 32-Sobti, R.C.1991; Eukaryotic chromosomes. pub.New Delhi.
- 33-Sybenga, J.1972; General cytogenetics, Amesterdam , North Holland public co.
- 34-Walkers, K.S. and Bruere.A.N.1979; Xo condition in mares. N.Z.Vet.J.27, PP:18-19.
- 35-Zhang, T.Q.; Bellamy, J.; Buoen, L.C.; Weber, A.F.and Ruth, G.R.1992; Autosomal trisomy in a foal with contracted tendon syndrome. In proceedings of the 10th European Colloqium on Cytogenetics of domestic animals. The Netherlands, Utrecht PP: 281-284.
- 12-Arqsmsen, B.and Hatt, F.B.1982; Animal Genetics.
- 13-Buoen, L.C., Zhang, T.Q.; A.F.; Turner. T., Bellamy, J.and Ruth.C.R. 1997; Arthrogriposes in the foal and it's possible relation to autosomal trisomy. Equine Vet. J, 29 (1), pp: 60-62.
- 14-Darlington, C.D. and Lacour, L.F. 1976; The handing of chromosomes. George allen and Unwin Ltd.
- 15-Dnyansagar. V.R.1986; A chromosomal aberration in Brown Swiss cattle.
- 16-Elisabeth M.; Kubien, M.A.; Pozer and Tischiner, M.1993; Clinical, cytogenetic and endocrine evaluation of a horse with a 65 XXY karyotype Equine Vet. J, 24(4)PP:333-335.
- 17-Fechhiemer, N.S.1979; Cytogenetic in animal reproduction, J.of dairy Science, Vol:62, No:5(541-53).
- 18-Ford, C.E.pollock, D.L.and Gustavsson, J. 1980; Proceeding of the first internnational conference for the standardization banded karyotypes at domestic animals. Hereditas 92: pp.; 142-162.
- 19-Gosden, J.R.1994.Chromosome analysis protocols.Human press Totow-new Jersey.
- 20-Halnan, C.R.E .1985; Sex chromosome mosaicism and infertility in mares, Veterinary Record. 116PP:542-543.
- 21-Halnan, C.R.E.1989; Cytogenetics of animals .A.B.International.
- 22-Have, W.C.D. and Elizabeth. H.S.1979; Cytogenetic in animal reproduction.C.A.B.
- 23-Kieffer, N.M.;Burns, S.J. and Judge, N.G.1976; Male pseudohermaphroditism of the testicular feminizing type in a horse,

.....