رنجوارہ ماکور داس بجوی

رنجوارہ ماکور داس بجوی

بسم الله الرحمن الرحيم

٤١٤١٣

دانشکده کشاورزی
گروه علوم دامی

پایان نامه:

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی علوم دامی

عنوان:

بررسی کاریوتایپ بزهای نژاد رائینی، بومی و آمیخته‌های آنها با الگوی نواربندی G

اساتید راهنما:
دکتر جلیل شجاع
دکتر محمدعلی حسین‌پور فیضی

استاد مشاور:
پروفسور یوسف آقایف

پژوهشگر :
محمد صادق ملک‌پور

۳۱۴۱۴

شماره پایان نامه ۳۵

تیر ماه ۱۳۸۱

تقدیم به

پدرم که الگوی صبر و استواری است

مادرم که سجاده دعایش همواره توشه راهم است

و

همسرم

امیدم

شوق زنده بودنم

تقدیر و تشکر

سپاس و ستایش خدای بی‌همتا را که به لطف خویش مرا به این راه رهنمون و سختی راه را بر من هموار و گامهایم را در آموختن استوار نمود.

از اساتید راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر جلیل شجاع و جناب آقای دکتر محمدعلی حسین‌پور فیضی به خاطر راهنمایی‌ها، مساعدت‌ها وسعه‌صدر ایشان در انجام پروژه سپاسگزارم.

از استاد مشاور گرامی جناب پروفسور یوسف آقایف بخاطر قبول مشاوره پروژه متشکرم از مدیریت محترم گروه علوم دامی و اعضاء هئیت علمی گروه بخاطر کمک‌ها و مساعدت‌ها در طول مدت تحصیل بی‌نهایت سپاسگزارم.

از مدیریت محترم مجتمع آزمایشگاهی دانشکده کشاورزی و ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان و کادر علمی آزمایشگاه رادیوبیولوژی دانشکده علوم دانشگاه تبریز بی‌نهایت سپاسگزارم از آقای مهندس سیامک اکبری و خانم مهندس پروین آذرفام بخاطر راهنمایی‌ها و کمک‌های صمیمانه در به ثمر رسیدن پروژه بی‌نهایت سپاسگزارم.

در پایان سپاس و تشکر قلبی خود را تقدیم آقایان وحید سیاهپوش، جعفر پورصمد، فرزین آدابی، کامران رجبی، حسن غریبی، کمال محمدی، سمید کدخدایی، بهروز اسماعیل‌پور، قباد سلیمی، قربان الیاسی، هومن قره‌باغی، علی تحویلدارزاده و حسن بیرانوند می‌نمایم. همیشه و همه جا به یاد دوست مهربانم نوزاد آمنه خواهم بود.

با تشکر

محمدصادق ملک‌پور

تیرماه ۸۱

فهرست مطالب

عنوان | صفحه

مقدمه ۱

فصل اول : بررسی منابع

گونه اهلی بز ۲

سیتوژنتیک و اصلاح‌نژاد دام ٤

مطالعه کروموزوم‌ها ۹

رنگ‌آمیزی و نواربندی کروموزوم‌ها ۱۱

اولویت نواربندی G در نواربندی کروموزوم پستانداران ۱۵

مکانیزم رنگ آمیزی ۱٦

کشت بافت خون محیطی ۱۷

انواع سلولهای محیطی خون ۱۸

انواع کشت سلولی از خون محیطی ۱۸

نمونه‌برداری خون ۱۹

کشت لنفوسیت‌های خون ۱۹

برداشت لنفوسیت‌های خون ۲۰

روشهای رنگ‌آمیزی ۲۳

تهیه کاریوتایپ ۲٤

شمارش کروموزوم‌ها و تشخیص همولوگ‌ها ۲۵

تهیه آیدیوگرام ۲٦

اهداف تحقیق ۲۷

فصل دوم : مواد و روشها

محل اجرای طرح ۲۸

تهیه محیط کشت..... ۲۸

تهیه محلول هیپوتونیک ۳۳

تهیه محلول فیکساتیوکارنوی ۳٤

کشت سلول ۳۸

برداشت سلول ۳۹

روش نواربندی G..... ٤۰

فصل سوم: نتایج و بحث

بررسی گسترشهای کروموزومی ٤۸

تهیه کاریوتایپ ٥٦

جدول شاخص سانترومر ٥۷

کاریوتایپ بز رائینی ٥۸

کاریوتایپ بزهای آمیخته ٦۱

کاریوتایپ بزهای بومی ٦٤

تهیه آیدیوگرام ٦٥

پیشنهادات ٦۹

منابع ۷۰

نام خانوادگی دانشجو: ملک پور **نام:** محمدصادق

عنوان پایان‌نامه: بررسی کاریوتایپ بزهای رائینی، بومی وآمیخته‌های آنهابا الگوی نواربندی G

اساتید راهنما: دکترجلیل شجاع و دکتر محمدعلی حسین‌پور فیضی

استاد مشاور: پروفسور یوسف آقایف

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته:** علوم دامی **گرایش:** ژنتیک واصلاح نژاد دام

دانشگاه: تبریز **دانشکده:** کشاورزی **تاریخ فارغ‌التحصیلی:** تیر ۸۱ **تعداد صفحه:** ۷٤

واژه‌های کلیدی: سیتوژنتیک، کروموزوم، نواربندی G ، بزرائینی

چکیده:

در این تحقیق ٤٥ راس ازبزهای نژاد رائینی، بومی وآمیخته‌های آنها مورد آزمایش قرارگرفتند. با سرنگ استریل، ۰/٤ میلی‌لیترخون از وریدوداج دامهای مورد آزمایش به ۵ میلی‌لیتر محیط کشت $RPMI_{1640}$ منتقل گردید و سپس به مدت ۷۲ ساعت درانکوباتور کشت داده شد. در این بررسی کشت بافت کامل محیط خون انجام گرفت. لنفوسیت‌های T توسط فیتوهم‌آگلوتینین نوع M (PHA-M) وادار به تقسیم شده ودرساعت ۷۰ با ۲۰۰ میکرولیتر کلشی‌سین تقسیم سلولی در مرحله متافاز میتوز متوقف گردید. بمنظور استخراج لنفوسیت‌های T ، نمونه‌ها تحت تیمار ٤ میلی‌لیتر محلول هیپوتونیک kcl قرار گرفتند. سپس با ٤ میلی لیتر محلول فیکساتیو کارنوی طی ۳ مرحله تثبیت گردیدد. از سوسپانسیون سلولی بر روی لامهای تمیز و منجمد گسترش کروموزومی تهیه گردید. برای نواربندی G لامها ٤٨ ساعت در آون قرار گرفتند و با آنزیم پروتئولیتیک تریپسین مورد هضم آنزیمی قرارگرفته و با محلول رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شدند. سپس با میکروسکوپ متصل به رایانه مورد بررسی قرارگرفته و از گسترشهای کروموزومی عکس تهیه گردید. بزنژاد رائینی، بومی وآمیخته‌های آنها دارای عدد کروموزومی ۲n=٦۰ می باشند. تمام کروموزوم‌ها از نوع آکروسنتریک می‌باشند.

مقدمه

بخش قابل توجهی از کشور ایران را کویر و نواحی گرمسیری ونیمه گرمسیری خشک تشکیل داده وکمبود مراتع مناسب جهت برآورده ساختن نیازهای غذائی دام از مسائل مهم دامپروری کشورمی باشد. از اینروتوجه به گونه‌های دامی که موادغذائی نامرغوب را با قابلیت بالاتری به مصرف رسانده و به فرآورده‌های دامی پرارزش تبدیل کنند، جایگاه ویژه‌ای درپرورش دامهای اهلی دارد. از مسائل مهم اصلاح دامهای بومی، انتخاب دامهای ممتاز در تولید، تیپ وصفات اقتصادی و انتقال این صفات به نسل بعد می باشد. ناهنجاری‌های ارثی که صفات مهم اقتصادی نظیرباروری، شیردهی، کیفیت و کمیت گوشت، پشم و پوست را تحت تاثیرقرارمی‌دهند، میتوانند آسیبهای فراوانی رامتوجه دامپروری نمایند و شناسائی وحذف آنها تنها با آزمونهای سیتوژنتیکی امکان‌پذیراست. انتخاب دامهائی که ارزش بالائی درتولید داشته و به عنوان والد ممتاز نسل بعد انتخاب می‌شوند، درصورت داشتن ناهنجاری می‌توانند آنرا به نسل بعد منتقل کنند، و این در مورد دام نری که اسپرم آن درسطح گسترده‌ای برای تلقیح مصنوعی وطبیعی استفاده می‌شود، حائز اهمیت بالائی است.واین مهم انجام تست سیتوژنتیکی نژاد و دامهای عالی را اجتناب‌ناپذیرمی‌سازد. بز نژاد رائینی برای این طرح در نظرگرفته شد، برای اینکه در بین دیگرنژادهای بومی کشور بخاطر تولید کرک حائز اهمیت بیشتری است و درصد قابل توجهی از بزهای کرکی ایران را به خود اختصاص داده و از آن در اصلاح دیگر نژادها که در تولید گوشت، شیر و کرک ارزش اقتصادی پائینی دارند، می‌توان استفاده کرد.

فصل اول

بررسی منابع

گونه بز اهلی (Capra Hircus)

در میان حیوانات مورد استفاده در دامپروری، بز در مناطق گرمسیری دنیا اهمیت ویژه‌ای دارد. در مقایسه با سایر نشخوارکنندگان، بز گذشته از آنکه محصولات گوناگونی تولید می‌کند، حیوانی است که نسبت به شرایط کاملاً سخت و نامساعد بسیار مقاوم بوده و یک تبدیل کننده خوب در استفاده از مراتع با کیفیت پایین از جمله تولید کرک به شمار می‌رود. بزهای کرکی دنیا به دو دسته عمده بز آنقوره و بز کشمیر تقسیم می‌شوند. کشمیر پوشش موئی بز کشمیر است که در نواحی وسیعی از چین و مغولستان و ایران و افغانستان وجود دارد. چین و مغولستان تولید کننده اصلی کشمیر ظریف ولی ایران و افغانستان انواع ضخیم‌تر کشمیر را تولید می‌کنند(۵).

منشاء و موطن بز کرکی

بر اساس آمار گزارش شده در سال ۱۹۹۷ جمعیت بز دنیا برابر ۷۰۰ میلیون راس بوده است که تقریباً ۱۶ درصد از نشخوارکنندگان اهلی بعد از گاو و گوسفند در دنیا را تشکیل می‌دهند. بزها به سه گروه عمده بر اساس نوع تولید تقسیم‌بندی و تحت عنوان گوشتی، شیری و کرکی نامیده می‌شوند. دو گروه اول از نظر جغرافیایی در منطقه وسیعی پراکنده‌اند. از نظر جانورشناسی بزها و خویشاوندان آنها از سلسله جانوری رده پستانداران زیررده جفت‌داران راسته سم‌داران زیر راسته زوج‌سان دسته نشخوارکنندگان خانواده تهی‌شاخان جنس کاپرا می‌باشند بز اهلی را کاپرا هیرکوس می‌نامند (٦) که به ۵ گونه C. Falconeri, C. Hircus, C. Ibex, C. Cacucasica, C. Perenaica تقسیم می‌شوند.

بـزهای اهلـی C. Hircus از گونه‌های وحشی منشعب شده‌اند ولی نسبت به اصل خود به دلـیل آمیخـته‌گـری دارای تفاوتهایی هستند. به نظر می‌رسد از منظر اقتصادی طبقه‌بندی بر اساس خصوصیات تولیدی آنها، بهتر از منشاء جانورشناسی آنها باشد (۵ و ٦).

بـزهای تولیدکنـنده کرک در دو نوع اصلی به نام آنقوره و کشمیر تقسیم می‌شوند. بعضی از نویسـندگان بـزهای کشـمیر را از منشـاء C. Falconeri می‌دانند و بعضی دیگر آن را منشعب از C. Hircus Blythi مـی‌شناسـند و سـه منطقه اولیه اهلی شدن را برای آنها نام می‌برند که شامل شـمال شرقی قرقیز، جنوب شرقی تبت و شمال غربی مغولستان می‌باشد. ولی مناطق پراکنش آنها در شرق کشمیر و غرب هندوکش و شمال بلوچستان و جنوب آسیای میانه است. در مراحل اهلی شـدن احـتمالاً تولید کرک در بز نسبت به زمان حال بیشتر بوده است، زیرا آثار باقیمانده از اجداد ایـن گونـه بـزها آنهـا را محـدود به مناطق سرد و ارتفاعات بلند روسیه می‌نماید که تولید پوشش کرکـی ارزش بیشـتری داشـته اسـت. ولی با مهاجرت بز بطرف سرزمینهای استوایی، ارزش نسبی تولید الیاف آن نسبت به شیر و گوشت کاهش یافت.

اصـطلاح یـا واژه کشـمیر در تجـارت به پوشش ظریف زیرین بزها که بوسیله فولیکولهای ثانویـه تولـید می‌شود اشاره میگردد. این واژه ظاهراً از منطقه جغرافیایی Kashmir در آسیا گرفته شـده اسـت. واژه پشـمینا Pashmina نـیز مـترادف بـا کشـمیر در موارد بخصوصی در هند بکار می‌رود (۵، ٦ و ۷).

بز کرکی ایران

بـزهای تولید کننده کرک در ایران حدود ۵ میلیون راس از بین ۲۵/۷ میلیون راس جمعیت بـز ایـران تخمین زده می‌شود و اکثراً در استانهای کرمان، جنوب خراسان، سیستان و بلوچستان و

یـزد پرورش داده می‌شود. این نژاد در ایران به رنگهای مختلف سفید، قرمز، قهوه‌ای روشن و تیره و سیاه یافت می‌شود و ایران جزء ۳ کشور اصلی پرورش دهنده این بز به شمار می‌آید (۵).

بـا ایـن همـه بـه دلایل شرایط نامساعد مرتع و عدم توجه به پرورش بزهای کرکی به دلیل پاییـن بودن مقدار کرک تولید شده، در بعضی نواحی خلوص نژادی این حیوان در نتیجه تلاقی با سـایر بـزهای شـیری از بیـن رفته کیفیت اولیه پوشش خود را از دست داده‌اند. لذا چنانچه با دید عمـیق بـه این ثروت خدادادی و منبع ارزی و نیز روند فرسایشی آن بنگریم، بیشتر به لزوم تدوین برنامه‌های حیاتی و تشویقی برای پرورش بز کرکی پی برده می‌شود.

بـا توجه به اینکه بز از نظر تولید گوشت و شیر در ایران اهمیت ناچیزی دارد و نیز با توجه به ارزش اقتصادی کرک در بازارهای جهانی و افزایش قیمت آن لزوم توجه به این نژاد در ایران و تکثـیر و اصـلاح دیگر نژادهای بومی حائز اهمیت است ولی باید توجه داشت که دامهای انتخاب شـده باید فاقد ناهنجاری ارثی باشند تا در کنار صفات خوب آنها را به نسلهای بعد و دیگر نژادها انتقال ندهند.

سیتوژنتیک و اصلاح نژاد دام

در سـال ۱۹۷۹ گوستاوسـون طی مقاله‌ای وجود جابجایی کروموزومی در گله‌های گاو شیری کشـور سـوئد را گزارش نمود و در آن به تاثیر این ناهنجاری در تولید شیر و باروری گاوها اشاره نمـود. دوره‌هـای شـیردهی گاوهـای حامل این ناهنجاری نسبت به فاصله گوساله‌زایی این گاوها طولانـی‌تـر اسـت، از ایـنرو گاوهـای حـامل شیر بیشتری تولید می‌کنند و تولید کننده‌های بهتری هستند. البته این مزیت در طول عمر تولیدی آنها منظور نمی‌گردد چرا که تعداد دوره‌های شیردهی کـاهش یافـته اسـت. ماده گاوهای حامل این ناهنجاری کروموزومی به علت تولید عالی در اولین دوره شـیردهی شـانس بالایـی بـرای انتخاب داشته و نرهای آنها نیز ممکن است برای تولید شیر

بیشتر دارای ارزش ژنتیکی پیش‌بینی شده بالایی باشند بنابراین اسپرم آنها شانس فراوانی برای شرکت در نسل بعد و در سطح وسیعی پیدا می‌کند و امکان تثبیت این ناهنجاری در لاین را افزایش می‌دهد. معذالک زیان برآورد شده در سال از طرق ذیل حاصل میشود:

۱- درصد حذف بالای تلیسه‌ها ۳۰٪

۲- تلقیح‌های اضافی ۰/۵۶+

۳- گوساله کمتر ۷۰٪

با ارائه این مقاله در آن سالها نقش سیتوژنتیک در شناسایی ناهنجاری‌های کروموزومی و تاثیر آن بر تولید و صفات اقتصادی آشکار گردید و از آنجا که تنها روش شناسایی ناهنجاری کروموزومی روشهای سیتوژنتیکی است مطالعات مشابهی در زمینه اصلاح نژاد دام‌ها و شناسایی ناهنجاری‌های موثر بر تولید و صفات اقتصادی دامهای اهلی آغاز گردید (۱۹).

از سال ۱۹۸۰ به بعد دیگر ناهنجاری‌های کروموزومی نظیر تریزومی، جابجایی، واژگونی، حذف و مضاعف شدن کروموزوم‌ها طی مقالات متعددی گزارش گردید. مواردی که با روشهای سیتوژنتیکی می‌توان روی آنها کار کرد عبارتند از:

۱- **ناهنجاری کروموزوم‌های جنسی:** در مطالعات سیتوژنتیکی با تعیین کروموزوم‌های جنسی یک حیوان قبل از تولد، دو جنسی بودن، عقیمی و فری مارتین[1] یا عدم باروری دوقلوها در گاو را می‌توان شناسایی کرد.

۲- **ناهنجاری کروموزومهای غیرجنسی:** جابجایی رابرتسونی در کروموزوم‌ها بیشترین ناهنجاری کروموزوم‌های غیرجنسی است که در دام‌های اهلی گزارش شده است (۱۳). در این نوع جابجایی جدا شدن بازوهای کروموزومی بصورت عرضی انجام می‌گیرد و از اتصال دو کروموزوم اکروسانتریک یک کروموزوم متاسانتریک بزرگ پدید می‌آید مانند

1- Freemartin

کروموزوم‌های۱ و۳ اکروسانتریک بز که کروموزوم متاسانتریک شماره۱گوسفند را بوجود می‌آورند. دیگر ناهنجاری کروموزوم‌های غیرجنسی عبارتند از انواع جابجایی، حذف، واژگونی و مضاعف شدن که می‌توان آنها را با روشهای سیتوژنتیکی تشخیص داد. آنیوپلوئیدی در دام‌های اهلی، بیشتر در کروموزومهای جنسی مشاهده می‌شود و بندرت در کروموزوم‌های غیرجنسی گزارش گردیده‌اند.

۳- **مطالعه روی سرطان:** میزان بالای تقسیم سلولی در بافتهای مورد بررسی در زیر میکروسکوپ شاخص تغییرات است. سرطان در کاریوتایپ یا کروموزوم‌های غیرجنسی این سلولها قابل شناسایی است.

۴- **آسیبهای محیطی :** عوامل محیطی جهش‌زا بر روی کروموزوم‌ها تاثیراتی دارند که ممکن است پایدار یا ناپایدار باشند (۱، ۲ و ۱۳).

از سال ۱۹۷۰ با معرفی روشهای نواربندی توسط پاردووگال، بررسی کاریوتایپ گونه‌ها و نژادهای دامهای اهلی آغاز گردید. روشها بر اساس چهار روش اصلی C ، R ، G و Q بود و از آنجائیکه هنوز روشی استاندارد و ثابت برای مطالعه کاریوتایپ‌ها ارائه نشده بود تمام مطالعات بصورت پراکنده و با استفاده از چهار روش مذکور انجام می‌گرفت (۱ و۲). در سال ۱۹۷۳ هانسن[1] با نواربندی Q کاریوتایپ گونه اهلی بز را تهیه کرد و در آن کاریوتایپ بز را با عدد کروموزومی ٦٠ = ٢n و کروموزوم‌های آکروسانتریک گزارش نمود (۲۰). در همین سال اوون و همکاران[2] کاریوتایپ بز را با دو روش نواربندی G و Q تهیه و آنها را مورد مقایسه قرار داد. کاریوتایپ ارائه شده توسط اوون که با روش Q تهیه شده بود مشابه کار هانسن بود اما روش دومی که بکار برده بود تفاوتهایی را نشان می‌داد. در روش نواربندی G عدد کروموزومی ٦٠ = ٢n

1- Hanssen
2- Evans et al.

و کـروموزوم‌هـا آکروانـتریک بودنـد امـا کیفیت نواربندی و تعداد نوارهای مشاهده شده بر روی بازوهای کروموزومی واضح‌تر و شفاف‌تر می‌نمود. روشهای نواربندی G و Q می‌توانستند نوارها را بـر روی بازوهـا بـا اختلافی کم و بیش بخوبی نشان دهند اما آنچه که موجب تردید رد کیفیت صـحت کاریوتایپ‌ها می‌گردید جایگاه دقیق سانترومر بر روی کروموزوم‌ها بود (۱۸). تا اینکه در سال ۱۹۷٤، شندل و ژاکر[1] کاریوتایپ گونه اهلی بز را با نواربندی C تهیه و جایگاه سانترومرها را بـر روی کـروموزوم‌هـا به دقت تعیین نمودند. در این روش نوارها بر روی کروموزوم‌ها مشخص نمـی‌شـد بلکـه سانترومرها مانند لکه سیاهی بر روی بازوها به چشم می‌خورد که این امر در تهیه کاریوتایـپ بسیار حائز اهمیت است. چرا که در تنظیم کاریوتایپ‌ها کروموزوم‌ها به ترتیب نزولی و بر اساس جایگاه سانترومر مرتب و پشت سر هم قرار می‌گیرند (۳۳).

در سـال ۱۹۷۷ نواربـندی R گونـه اهلـی بـز توسـط فرانسـوی‌هـا در سـومین گردهمائـی متخصصـین سیتوژنتیک در کشور فرانسه گزارش گردید. نوارهای R عکس نوارهای G می‌باشند از ایـنرو برای آزمون روش G بسیار سودمند می‌باشد. چنانچه با تهیه نوارهای R و G یک نژاد و مقایسـه آنهـا می‌توان دقت کاریوتایپ تهیه شده را سنجید. اما با توجه به موارد یاد شده در بخش اولویـت نواربـندی G در همیـن فصـل نواربـندی G بـه عـنوان روش استاندارد تهیه کاریوتایپ گونه‌های اهلی مورد موافقت بین‌المللی قرار گرفته است (۳٤).

در سـال ۱۹۸۰ فـورد و همکاران[2]، کاریوتایپ گونه اهلی بز را با روش نواربندی G تهیه و گـزارش نمودنـد. طـبق گزارش فورد و همکاران در این بررسی نواحی سانترومری در این روش رنـگ نگرفتند و کیفیت نواربندی نسبت به کار مشابه اوون در سال ۱۹۷۳ دارای وضوح و کیفیت بالاتـری بـود. از اینرو دستورالعمل فورد و همکاران برای تهیه کاریوتایپ با روش G دارای دقت

1-Schendle and Czaker
2- Ford et al.

بالاتری بود. البته اصول کلی روشهای نواربندی همانهایی است که در سال ۱۹٦۸ کاسپرسون ارائه نمـوده اسـت و ایـن طبیعی است که با گذشت زمان و تجهیز آزمایشگاهها با وسائل مدرن و مواد آزمایشی با خلوص بالاتر کیفیت آزمایشها از دقت نسبی بالاتری برخوردار خواهد بود (۳٤).

در سـال ۱۹۸۲، المایگـر[1] و اسـترانزیگر[2]، کاریوتایپ بز سانن[3] را که با نواربندی G بدست آورده بودنـد ارائـه نموده و وجود یک نوع جابجایی کروموزومی از نوع رابرتسونی را در این نژاد گزارش نمودند (۱٤). البته طبق گزارش سامنر[4] در همان سال و در پنجمین گردهمایی متخصصین سـیتوژنتیک اروپـا کـه در کشـور ایتالـیا و در شـهر مـیلان برگزار گردید، برای مطالعه ناهنجاری کروموزومـی روش نواربـندی R بهـتر تشـخیص داده شـد چرا که در نواربندی R نواحی انتهایی بازوهـای کروموزومـی بـا وضـوح بیشـتری رنگ‌پذیر بوده و نسبت به نواربندی G دقت بالاتری داشـت و وی ضـمن تایید نواربندی G پیشنهاد می‌کند که برای مطالعه ناهنجاری‌های از نواربندی R نیز استفاده شود (۲۱).

در سـال ۱۹۹۱، هایز و پتی از کشور فرانسه کاریوتایپ گونه‌های اهلی گاو، گوسفند و بز را بـا روش RBG مورد مقایسه قرار دادند، در این روش از بروموویوریدین برای نشانه‌گذاری نوارها و رنـگ گیسـما بـرای رنـگ‌آمیزی استفاده می‌شود ولی در روش RTG ، از تریپسین برای هضم آنزیمـی و گیسـما بـرای رنـگ‌آمیزی استفاده می‌گردد و هر دو روش مبتنی بر روش نواربندی R مـی‌باشد. در روش RBG چون برمویوریدین بر روی زنجیره DNA جایگزین می‌گردد از این‌رو دقت نسبی بالاتری دارد ولی نسبت به روش دیگر هزینه و زمان بیشتری را صرف می‌کند (۲۲).

1- Elmeiger
2- Stranziger
3- Saannen
4- Sumner