



سی‌توژنتیک کاربردی

مفاهیم و روش‌های آزمایشگاهی

قاسم کریم‌زاده

دانشیار دانشگاه تربیت مدرس

وحید صیادی

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری



مرکز نشر دانشگاهی

سیتوزنتیک کاربردی
مفاهیم و روش‌های آزمایشگاهی

قاسم کریم‌زاده، وحید صیادی

ویراستار: زهره آقاچانی
حروفچین و صفحه‌آرا: مرضیه دین‌پناه
طراح جلد: علیرضا دربان
ناظر چاپ: حمیدرضا دمیرچی
چاپ اول ۱۳۹۸
مرکز نشر دانشگاهی
تعداد ۲۰۰
چاپ و صحافی: توس
۴۸۰۰۰ تومان

نشانی فروشگاه مرکزی: خیابان انقلاب، رویه‌روی سینما سپیده، پلاک ۱۱، تلفن: ۶۶۴۰۸۸۹۱، ۶۶۴۱۰۶۸۶



17197164781000 ۱۱ ۱۱

فروش اینترنتی: www.iup.ac.ir

حق چاپ برای مرکز نشر دانشگاهی محفوظ است

فهرست‌نویسی پیش از انتشار کتابخانه ملی جمهوری اسلامی ایران

سرشناسه: کریم‌زاده، قاسم، ۱۳۳۹ -

عنوان و نام پدیدآور: سیتوزنتیک کاربردی: مفاهیم و روش‌های آزمایشگاهی / قاسم کریم‌زاده، وحید صیادی.
مشخصات نشر: تهران: مرکز نشر دانشگاهی، ۱۳۹۸.

مشخصات ظاهری: ۳۶۴ ص.: مصور (بخش رنگی)، جدول، نمودار.
فروست: مرکز نشر دانشگاهی؛ ۱۵۵۸. کشاورزی: ۱۲۹.

شابک: 978-964-01-1558-9

وضعیت فهرست‌نویسی: فیا

موضوع: گیاهان - باخته‌شناسی ژنتیک

موضوع: Plant cytogenetics

موضوع: گیاهان - باخته‌شناسی ژنتیک - دستنامه‌های آزمایشگاهی

موضوع: Plant cytogenetics - Laboratory manuals

شناسه افزوده: صیادی، وحید، ۱۳۶۶ -

شناسه افزوده: مرکز نشر دانشگاهی

شناسه افزوده: Iran University Press

رده‌بندی کنگره: QK۹۸۳۳۵

رده‌بندی دیویی: ۵۷۲/۸

شماره کتابشناسی ملی: ۵۹۸۱۶۵۲

بسم الله الرحمن الرحيم

فهرست

صفحه	عنوان
سیزده	پیشگفتار
۱	۱ آزمایشگاه سیتوژنیک (آشنایی با تجهیزات، ایمنی و اصول کار)
۱	۱-۱ مقدمه
۲	۲-۱ محیط آزمایشگاه
۳	۳-۱ اصول ایمنی و بهداشتی
۷	۴-۱ اصول اختصاصی در آزمایشگاه سیتوژنیک
۹	۵-۱ تجهیزات مورد نیاز در آزمایشگاه سیتوژنیک
۱۹	۶-۱ مدیریت آزمایشگاه
۲۰	۷-۱ محلول سازی
۲۰	۱-۷-۱ فرمول های مورد نیاز برای محلول سازی
۲۱	۲-۷-۱ محلول سازی از مایعات
۲۱	۱-۲-۷-۱ محلول سازی از مایعات بر حسب غلظت مولار
۲۳	۲-۲-۷-۱ محلول سازی از مایعات بر حسب غلظت نرمال
۲۴	۳-۷-۱ محلول سازی از جامدات
۲۴	۱-۳-۷-۱ محلول سازی از جامدات بر حسب غلظت مولار
۲۵	۲-۳-۷-۱ محلول سازی از جامدات بر حسب غلظت نرمال
۲۷	۲ میکروسکوپ ها
۲۷	۱-۲ آشنایی با میکروسکوپ ها
۲۸	۲-۲ چگونگی تشکیل و مشاهده تصویر

۲۸	۲-۳ میکروسکوپ نوری
۲۹	۲-۳-۱ بخش مکانیکی
۳۰	۲-۳-۲ بخش نوری
۳۱	۲-۴ میکروسکوپ زمینه تاریک
۳۲	۲-۵ میکروسکوپ های مبتنی بر نور فرابنفش
۳۴	۲-۶ میکروسکوپ اختلاف فاز (فاز متضاد)
۳۵	۲-۷ میکروسکوپ قطبی
۳۶	۲-۸ میکروسکوپ تداخلی (نومارسکی)
۳۷	۲-۹ میکروسکوپ معکوس
۳۸	۲-۱۰ میکروسکوپ الکترونی
۴۱	۲-۱۱ میکروسکوپ کنفرانس
۴۲	۲-۱۲ استریو میکروسکوپ
۴۴	۲-۱۳ تنظیم حداکثر وضوح و روش های تصویر
۴۶	۲-۱۴ کالیبره کردن و اندازه گیری ها: سلولی
۴۷	۲-۱۵ مقیاس
۴۸	۲-۱۵-۱ تعیین خط مقیاس در دوربین معمولی آللوگ و دیجیتال
۴۹	۲-۱۵-۲ تعیین خط مقیاس در دوربین دیجیتال ریزه میکروسکوپ
۵۰	۲-۱۶ قدرت تفکیک میکروسکوپ
۵۱	۲-۱۷ استفاده از عدسی شیشی با روغن ایمرسیون
۵۱	۲-۱۸ لام و لامل
۵۲	۲-۱۹ درخشندگی
۵۲	۲-۲۰ شرایط نگهداری میکروسکوپ
۵۴	۳ مطالعه کروموزوم
۵۴	۳-۱ مقدمه
۵۵	۳-۲ کروموزوم
۵۶	۳-۳ بسته بندی کروموزوم
۵۷	۳-۴ اجزای ساختاری کروموزوم
۵۹	۳-۵ انواع کروموزوم

۶۰	۶-۳ روش های له کردن کروموزوم
۶۰	۱-۶-۳ جمع آوری ریشه ها
۶۰	۱-۱-۶-۳ عوامل مؤثر بر جوانه زنی
۶۱	۲-۱-۶-۳ خواب بذر و راه حل عدم ریشه دهی
۶۳	۲-۶-۳ پیش تیمار ریشه ها
۶۴	۱-۲-۶-۳ آب یخ
۶۴	۲-۲-۶-۳ هیدروکسی کوئینولین
۶۵	۳-۲-۶-۳ کلشی سین
۶۵	۴-۲-۶-۳ آلفا پروموفتالین
۶۶	۵-۲-۶-۳ رادی کاربوترن
۶۶	۳-۶-۳ تثبیت
۶۷	۱-۳-۶-۳ محلول کاری ۱
۶۷	۲-۳-۶-۳ محلول کاربوی ۱
۶۷	۳-۳-۶-۳ محلول الكل چرو یونیک سید
۶۸	۴-۳-۶-۳ نگهداری
۶۸	۴-۶-۳ آبکافت DNA ژنومی و عمل متوقف کردن (هالتینگ)
۶۹	۵-۶-۳ رنگ آمیزی ریشه ها
۶۹	۱-۵-۶-۳ استوارسین
۶۹	۲-۵-۶-۳ استوکارمن
۷۰	۳-۵-۶-۳ رنگ آمیزی فولگن
۷۳	۴-۵-۶-۳ کارمن کلریدریک اسید الکلی
۷۳	۵-۵-۶-۳ لاکتو پروپونیک اورسین
۷۴	۶-۵-۶-۳ رنگ آمیزی کربول فوشین
۷۴	۷-۵-۶-۳ سایر رنگ ها
۷۶	۶-۶-۳ له کردن
۷۶	۷-۳ روش اسمیر
۷۷	۸-۳ تهیه نمونه کروموزومی از برگ
۷۷	۹-۳ تهیه نمونه کروموزومی از دانه گرده و کیسه جنینی

۷۸	۱۰-۳ دائمی کردن نمونه‌های میکروسکوپی
۷۸	۱-۱۰-۳ برداشتن لامل
۷۸	۲-۱۰-۳ آبگیری و شفافیت نمونه‌های میکروسکوپی
۷۹	۳-۱۰-۳ عملیات دائمی کردن
۷۹	۱۱-۳ کاربوتیپ
۸۱	۱-۱۱-۳ آنالیز کاربوتیپ
۸۲	۱-۱۱-۳ پارامترهای کروموزومی
۸۴	۲-۱۱-۳ پارامترهای کاربوتیپی و بررسی تقارن کاربوتیپی
۸۶	۱-۱۱-۳ دسته‌بندی کاربوتیپ‌ها
۸۶	۱-۱۱-۳ دسته‌بندی استینز
۸۷	۲-۱۱-۳ دسته‌بندی روموزارکو
۸۸	۳-۱۱-۳ نام‌گذاری نوع کروموزوم‌ها به‌روش لوان و همکاران
۸۹	۱۲-۳ استفاده از نرم‌افزار «ترویزر» برای مطالعه کاربوتیپ
۱۰۲	۴ کاربرد روش اسمیر
۱۰۲	۱-۴ مقدمه
۱۰۲	۲-۴ تهیه نمونه کروموزومی از ریشه
۱۰۵	۳-۴ تهیه و رنگ‌آمیزی نمونه‌های کروموزومی از سوسپانسیون سلولی و کالوس
۱۰۵	۱-۳-۴ کشت سوسپانسیون کرفس
۱۰۶	۲-۳-۴ کشت کالوس در گونه خردل کاریناتا
۱۰۸	۳-۳-۴ آزمون زنده‌مانی سلول‌ها در سوسپانسیون سلولی
۱۰۹	۴-۴ تهیه نمونه کروموزومی از بافت گل
۱۱۰	۵-۴ تهیه نمونه کروموزومی از جوانه شاخه
۱۱۱	۱-۵-۴ روش اول
۱۱۱	۲-۵-۴ روش دوم (سوسپانسیون و پخش کردن پروتوپلاست)
۱۱۲	۶-۴ رنگ‌آمیزی دانه گرده
۱۱۲	۱-۶-۴ تعیین قدرت باروری دانه گرده
۱۱۳	۲-۶-۴ تعیین زنده‌مانی دانه گرده از طریق رنگ‌آمیزی تشخیصی
۱۱۳	۱-۲-۶-۴ ترکیبات لازم برای تهیه رنگ
۱۱۳	۲-۲-۶-۴ رنگ‌آمیزی دانه‌های گرده با دیواره نازک
۱۱۳	۳-۲-۶-۴ رنگ‌آمیزی دانه‌های گرده با دیواره ضخیم یا کرک‌دار

۱۴۶	۲-۳-۳-۶ تیمار گیاهیچه
۱۴۷	۳-۳-۳-۶ تیمار نوک ساقه و جوانه‌ها
۱۵۰	۴-۳-۳-۶ استفاده از روش درون‌شیشه‌ای برای اعمال کلشی‌سین
۱۵۲	۵-۳-۳-۶ تیمار ریشه
۱۵۳	۴-۳-۳-۶ کارایی کلشی‌سین
۱۵۴	۴-۳-۳-۶ استفاده از دانه‌های گرده کاهش نیافته
۱۵۴	۵-۳-۳-۶ استفاده از جوانه‌های نابجای پلی‌پلوئید
۱۵۴	۶-۳-۳-۶ نیتروژن دی‌اکسید
۱۵۵	۷-۳-۳-۶ اثرات سرایتی و تشخیص سطح پلوئیدی
۱۵۵	۸-۳-۳-۶ تولید هیبریدهای بین گونه‌ای به روش درون‌شیشه‌ای
۱۵۷	۹-۳-۳-۶ میکسر پلوئید
۱۵۸	۱-۹-۳-۶ دو سطح پلوئید مختلف در یک بافت
۱۵۹	۱-۱-۹-۳-۶ میکسوپلوئیدی دیپلوئید-تریپلوئید
۱۶۰	۲-۱-۹-۳-۶ میکسوپلوئیدی دیپلوئید-تریپلوئید
۱۶۰	۲-۹-۳-۶ تعداد کروموزوم‌ها، متافاز در یک بافت
۱۶۲	۷ هیبریدسازی فلونورستی در محل
۱۶۲	۱-۷ مقدمه
۱۶۳	۲-۷ هیبریدسازی فلونورستی در محل
۱۶۴	۱-۲-۷ آماده‌سازی نمونه‌های کروموزومی
۱۶۴	۱-۱-۲-۷ جمع‌آوری، پیش تیمار و تثبیت ریشه
۱۶۴	۲-۱-۲-۷ تهیه محلول بافر
۱۶۵	۳-۱-۲-۷ تهیه محلول آنزیم
۱۶۵	۴-۱-۲-۷ آماده‌سازی اسلایدها
۱۶۶	۲-۲-۷ روش هیبریدسازی فلونورستی در محل
۱۶۷	۱-۲-۲-۷ مرحله پیش هیبریدسازی
۱۶۷	۲-۲-۲-۷ هیبریدسازی
۱۶۹	۳-۲-۲-۷ پس از هیبریدسازی (روز بعد)
۱۷۱	۴-۲-۲-۷ مشاهده میکروسکوپی و عکسبرداری
۱۷۱	۳-۲-۲-۷ هیبریدسازی ژنومی در محل (GISH)
۱۷۳	۴-۲-۲-۷ هیبریدسازی چندرنگی ژنومی در محل (McGISH)

۱۷۶	۵-۲-۷ نشان‌دارسازی DNA در محل
۱۷۸	۶-۲-۷ هیبریدسازی فلونورستی در محل روی رشته‌های گسترش یافته DNA
۱۷۸	۱-۶-۲-۷ دستورالعمل ۱: روش فیبرفیش روی رشته‌های گسترش یافته DNA هسته‌ای
۱۸۵	۲-۶-۲-۷ دستورالعمل ۲: روش فیبرفیش با استفاده از کاوشگر کروموزوم مصنوعی باکتریایی و مولکول‌های هدف حلقوی
۱۸۷	۳-۶-۲-۷ دستورالعمل ۳: رنگ‌آمیزی رشته‌ها (رنگ‌آمیزی یوبو)
۱۸۸	۸ فلوسایتومتري
۱۸۸	۱-۸ مقدمه
۱۸۹	۲-۸ تخمین اندازه ژنوم
۱۹۱	۳-۸ تاریخچه فلوسایتومتری
۱۹۲	۴-۸ اصول کلی و مفاهیم فلوسایتومتري
۱۹۷	۵-۸ کاربردهای فلوسایتومتري
۱۹۷	۱-۵-۸ آنالیز اندازه ژنوم در بافت و چرخه سلولی
۲۰۱	۲-۵-۸ آنالیز سطح پلوئیدی
۲۰۲	۱-۲-۵-۸ کنترل پایداری سطح پلوئیدی
۲۰۳	۲-۲-۵-۸ تولید لاین‌های هاپلوئید و دی‌هاپلوئید
۲۰۳	۳-۲-۵-۸ جداسازی سطوح پلوئیدی جدید
۲۰۴	۴-۲-۵-۸ تعیین گیاهان آنیوپلوئید
۲۰۴	۳-۵-۸ آپومیکی
۲۰۵	۴-۵-۸ تعیین جنسیت در مراحل اولیه رشد
۲۰۶	۵-۵-۸ هیبرید بین گونه‌ای
۲۰۷	۶-۵-۸ هیبریدسازی سوماتیکی و انتقال جزئی ژنوم
۲۰۷	۷-۵-۸ پیش‌بینی صفات زراعی
۲۰۸	۸-۵-۸ آنالیز تأثیر مواد سمی بر DNA ژنومی (ژنوتوکسیسیتی)
۲۰۸	۹-۵-۸ آنالیز و تنظیم پلی‌سوماتی
۲۱۱	۱۰-۵-۸ بررسی نمو و بنه بدر
۲۱۱	۱۱-۵-۸ تهیه فلوکاربوتیپ
۲۱۷	۱۲-۵-۸ مرتب‌کردن فلوسایتومتري کروموزوم‌ها برای جداسازی و نقشه‌یابی ژن

۲۱۹	۱۳-۵-۸ همزمانی بررسی بیان ژن با سطح پلئیدی سلولی با استفاده از فلوسایتومتری
۲۲۱	۶-۸ مراحل انجام فلوسایتومتری
۲۲۴	۷-۸ دستگاه فلوسایتومتری
۲۲۵	۸-۸ خطاهای استوکيومتری در فلوسایتومتری
۲۲۶	۹-۸ عوامل مؤثر بر ارزیابی صحیح فلوسایتومتریک
۲۲۶	۱-۸ انتخاب بافت مناسب
۲۲۸	۲-۹ تفاوت در مقدار DNA نمونه و مرجع
۲۲۸	۹-۸ روش مناسب تهیه نمونه
۲۳۰	۴-۹ انتخاب فلوروکروم مناسب
۲۳۲	۵-۹ انتخاب داده‌ها مرجع مناسب برای مطالعات فلوسایتومتری
۲۳۵	۶-۹ بافرهای جدا سازی هسته
۲۴۵	۱۰-۸ پروتکل‌های ترانسفرمتی، در بافت‌های مختلف گیاهی
۲۴۶	۱-۱۰ گیاهان غیر تازه، خشک و یخ‌زده
۲۵۴	۲-۱۰ بذر
۲۵۹	۳-۱۰ گیاهان دارای ترکیبات سیتوزولم و متابولیت‌های ثانویه
۲۶۲	۴-۱۰ برگ
۲۶۳	۵-۱۰ برگ‌ها با pH اسیدی
۲۶۵	۶-۱۰ گیاهان حاوی فلزات سنگین
۲۶۵	۷-۱۰ کلروپلاست
۲۶۷	۸-۱۰ کالوس
۲۶۸	۹ نرم افزارهای کاربردی در مطالعات سیتوژنتیکی
۲۶۸	۱-۹ مقدمه
۲۶۸	۲-۹ تجزیه و تحلیل داده‌های فلوسایتومتری
۲۶۹	۱-۲-۹ تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار فلوماکس
۲۶۹	۱-۱-۲-۹ نصب نرم افزار فلوماکس
۲۶۹	۲-۱-۲-۹ محیط نرم افزار و معرفی قسمت‌های مختلف
۲۷۲	۳-۱-۲-۹ تجزیه داده‌های حاصل از فلوسایتومتری گیاه گشنیز
۲۷۶	۴-۱-۲-۹ گیتینگ پیشرفته
۲۷۸	۳-۹ بانک‌های اطلاع‌رسانی در مطالعات سیتوژنتیکی

صفحه	عنوان
۲۷۸	۹-۳-۱ پایگاه داده DNA C-values گیاهی
۲۸۴	منابع
۳۰۶	پیوست ۱
۳۰۷	(۱) گیاهان دارویی
۳۲۰	(۲) گیاهان زراعی
۳۲۳	(۳) گیاهان زینتی
۳۲۶	(۴) گیاهان بومی و سبزی
۳۲۸	(۵) بوته‌ها، درختچه‌ها و درختان
۳۳۳	پیوست ۲ عکس‌های رنگ متن کتاب
۳۳۶	واژه‌نامه

پیشگفتار

کتاب سیتورنیک کار، بی‌شک، مفهومی و روش‌های آزمایشگاهی حاصل تلاشی مجدانه در تدوین و تألیف دانسته‌ها و تجربیات نگارندگان به‌منظور بهبود و گسترش علم سیتورنیک پیشرفته و کاربردی در ایران است. مهم‌ترین هدف این کتاب ارائه اطلاعات جدید، مطابق با آخرین یافته‌ها، همسو و همگام با مراجع علمی معتبر، پایگاه‌های اطلاعاتی و کتب منتشره به علاقمندان است. امید است این کتاب اطلاعات مفیدی را در زمینه مطالعات آزمایشگاهی در اختیار محققین و دانشجویان محترم قرار دهد. تألیف مجموعه‌ای غنی و به‌روز شده از مباحث عملی و کاربردی سیتورنیک پیشرفته، همواره یکی از خواسته‌های دانشجویان و محققین بوده است؛ لذا این کتاب کوشیده است که مجموعه‌ای از اطلاعات مرتبط را که حاصل سالیان متمادی تدریس، مطالعه و تجربه است، در اختیار محققین به‌ویژه دانشجویان رشته‌های مهندسی کشاورزی، ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، بیوتکنولوژی، زراعت (گیاهان زراعی و صنعتی، اکولوژی، علف‌های هرز)، علوم باغبانی (دانه زینتی، گیاهان دارویی، سبزی و صیفی، درختان میوه)، گیاه‌شناسی، زیست‌شناسی گیاه‌پزشکی (بیماری‌شناسی گیاهی، قارچ‌شناسی، نماتدشناسی، حشره‌شناسی)، منابع طبیعی (شیلات، گیاهان آبرزی، مرتعی، آبخیزداری و جنگلداری) و دیگر علاقمندان قرار دهد.

کتاب در قالب نه فصل و دو ضمیمه شامل مباحث مربوط به کاربردهای عملی و نوین سیتورنیک و آشنایی با تجهیزات، ایمنی و اصول کار در آزمایشگاه، آشنایی با انواع میکروسکوپ‌های نوری و الکترونی، کاربوتیپ و مطالعه کروموزوم، استفاده از روش اسمیر برای مطالعه کروموزوم‌ها، نواربندی کروموزومی، پلی‌پلوئیدی (دوبرابر

کردن کروموزوم‌ها — روش تولید هیبرید بین‌گونه‌ای)، سیتوژنتیک مولکولی شامل هیبریدسازی فلوئورستی در محل، فلوسایتومتری و تخمین اندازه ژنوم و سطح پلوئیدی با استفاده از آن است. همچنین، توضیحاتی در مورد برخی نرم‌افزارهای کاربردی و به‌روز در مطالعات کروموزومی، بانک‌های اطلاع‌رسانی در مطالعات سیتوژنتیکی مانند پایگاه داده DNA C-values گیاهی و فهرست تعداد کروموزوم‌های گیاهی از دیگر بخش‌های کتاب است. در فصل ضمیمه، نمونه‌هایی از تصاویر کاربوتیپ‌ها و آنالیزهای فلوسایتومتری در جوامع مختلف گیاهی با هدف آشنایی بیشتر مخاطبین ارائه شده است. از آنجا که دانسته‌های بشری مرز نمی‌شناسند و به این دلیل که خود را مبرا از اشتباه نمی‌دانیم از محرران گرامی، دانشجویان عزیز و خوانندگان محترم استدعا دارم که با رهنمودهای انتشارشان ما را در جهت رفع نقایص احتمالی یاری کنند.

دکتر قاسم کریم‌زاده (دانشیار دانشگاه تربیت مدرس)

مهندس مهدی صیادی (دانشجوی دکتری دانشگاه تربیت مدرس)

دی ماه ۱۳۹۸