Archive of SID

مطالعه کاریولوژیک خرچنگ شناگر آبی خلیج فارس (*Portunus plagicus*)

جزایری، الف.، پاپهن، ف. و مصلح آبادی، ز.، ۱۳۸۹. مطالعه کاریولوژیک خرچنگ شناگر آبی خلیج فارس (*Portunus plagicus*). مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال دوم، شماره هفتم، پاییز ۱۳۸۹، صفحات ۴۴-۳۷.

چکیده

خرچنگ شناگر آبی خلیج فارس (*Portunus plagicus*)، تا کنون از جهات مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است، اما مطالعات کروموزومی و ترکیب کروموزوم های آن به علت تعداد زیاد و ساختار پیچیده آن ها، کار دشواری بوده است. در مطالعه سیتوژنتیکی حاضر برای تهیه کاریوتایپ خرچنگ آبی از سه روش کشت سلول های خونی، تزریق کلشسین و حمام کلشسین استفاده گردید و گسترش های سلولی از بافت های آبشش، بیضه و تخمدان تهیه شد. در این تحقیق مشخص گردید که بهترین روش تهیه کاریوتایپ خرچنگ آبی، روش تزریق کلشسین بوده و مناسب ترین بافت ها برای تهیه پلاک های متافازی، بافت های آبشش ماده و بیضه بود. با شمارش کروموزوم های پلاک های متافازی بافت آبشش ماده، مشخص شد که عدد دیپلویید این گونه ۲n=۱۰۲ و شمارش کروموزوم های پلاک های متافازی بافت بیضه این گونه n=۵۱ بوده است (عدد هاپلوئید). از نظر مدت زمان تیمار کلشسین، بهترین شرایط تیمار ۶ و ۸ ساعت بود. اندازه گیری دقیق طول بازوهای کروموزومی مشخص نمود که ترکیب کروموزومی این گونه شامل ۴ جفت کروموزوم متاسانتریک، ۲۴ جفت کروموزوم ساب متاسانتریک و ۲۳ جفت کروموزوم تلوسانتریک بود.

واژگان کلیدی: خرچنگ شناگر آبی خلیج فارس (*Portunus plagicus*)، کروموزوم، کاریوتایپ.

اشرف جزایری[۱]
فروغ پاپهن[۲]
زهرا مصلح آبادی[۳]

۱. دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم پایه، استادیار بخش زیست شناسی، اهواز، ایران
۲. دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم پایه، دانشیار بخش زیست شناسی، اهواز، ایران
۳. دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشجوی کارشناسی ارشد بیوسیستماتیک جانوری، اهواز، ایران

* **نویسنده مسئول مکاتبات**
Z.moslehabadi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۳/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۳/۲۵

مقدمه

خلیج فارس که در محدوده جغرافیایی ۲۵ تا ۳۲ درجه عرض شمالی و ۴۸ تا ۵۶ درجه طول شرقی واقع شده است (محمد فاضل، ۱۳۷۹)، دریای کم عمقی در جنوب ایران بین کشور ایران و شبه جزیره عربستان قرار گرفته است. خلیج فارس با دارا بودن ویژگی های خاص جغرافیایی، بوم شناختی، مشخصات بیولوژیکی، فیزیکوشیمیایی و غیره، یکی از نادرترین بوم سازگان به شمار می رود (پاپهن و همکاران، ۱۳۷۹).

خلیج فارس از لحاظ دارا بودن انوع گوناگون بی مهرگان، ماهی ها و سایر جانوران دریایی، یکی از غنی ترین دریاهای جهان محسوب می شود. همچنین جانوران دریایی دیگر مانند میگو، انواع خرچنگ ها و لاک پشت های بزرگ در خلیج فارس صید و صادر می گردد (اسدی،۱۳۸۱).

در میان سخت پوستان، دو گروه از خرچنگ ها به عنوان منبع مهم غذایی محسوب می شوند، گروه براکیورا (Brachyura) یا خرچنگ های حقیقی که خرچنگ های شناگر وابسته به خانواده پورتونیده (Portunidae) از این گروه بوده که از لحاظ اکولوژیکی و به عنوان یکی از حلقه های اصلی چرخه حیات در دریاها، در قسمت های زیادی از آب های ساحلی حائز اهمیت می باشند (Neumann and Spiridonov, 1999).

خرچنگ های خانواده پورتونیده به خرچنگ های شناگر معروفند که علت آن ظاهر پدال مانند (Pedal) پای پنجم آن ها

www.SID.ir

Archive of SID

بوده که شرایط شناگری را در آن ها تسهیل کرده است. گونه خرچنگ شناگر آبی که به سینگو (Singo) معروف است، یکی از مهم ترین گونه های متعلق به این خانواده می باشد (Apel and Spiridov, 1998) که از نظر تغذیه انسانی و تأثیر آن بر وضعیت اقتصادی جوامع وابسته، حائز اهمیت می باشد (حسینی، ۱۳۷۱).

خرچنگ های این خانواده به دلیل گوشت بازار پسندشان، روز به روز بیشتر مورد توجه واقع شده و میزان صید و پرورش آن ها در جهان رو به افزایش می باشد (Ng, 1998). در ایران نیز از انواع خرچنگ های خوراکی بوده و در بسیاری از سواحل شنی خلیج فارس به وفور یافت می شوند (Abdel, 1993). با این وجود، تاکنون برنامه ریزی ویژه ای، جهت صید و تکثیر این گونه مهم اقتصادی صورت نگرفته است (حسینی و مشایی،۱۳۸۰).

کاریوتایپ (Karyotype) به کلیه خصوصیاتی که می توان به وسیله آن هر کروموزوم را در مجموعه کروموزوم های جاندار مورد مطالعه تعیین کرد، اطلاق می شود. از جمله این خصوصیات می توان به مواردی مانند تعداد کروموزوم ها، اندازه نسبی آن ها و طول بازوها اشاره کرد. مطالعه کاریوتایپ امکان بررسی ساختار ژنتیکی موجودات را فراهم می کند (Scheffer, 1980).

کاریوتایپ را می توان برای یک فرد، نژاد، جنس و یا گروهی از جمعیت مشخص به کار برد و به صورت تصویری است که در آن جفت کروموزوم های همولوگ به ترتیب نزولی، از نظر اندازه ردیف شده اند (Denton, 2001) و هر گونه دارای کاریوتایپ خاص خود می باشد (هالرمن، ۱۳۸۴). با توجه به این که یکی از روش های بنیادی در امر شناسایی موجودات، بررسی اختلافات آن ها از طریق مطالعات کروموزومی می باشد، لذا این قبیل مطالعات در بررسی های بیوسیستماتیکی آن ها از اهمیت بالایی برخوردار است. از این رو، نمونه مورد بررسی در این تحقیق که تا کنون از نظر چگونگی آرایش کروموزومی مورد مطالعه قرار نگرفته است، از این نقطه نظر بررسی گردیده تا بدین وسیله علاوه بر تعیین جایگاه سیستماتیک آن، گام کوچکی در بررسی تنوع زیستی خلیج فارس نیز برداشته شده باشد.

مواد و روش ها

با توجه به این که این تحقیق برای نخستین بار بر روی این گونه انجام شده، از سه روش متفاوت جهت دستیابی به اطلاعات کروموزومی آن استفاده گردید که دلیل آن، انتخاب مناسب ترین روش در تهیه کاریوتایپ این سخت پوست می باشد.

نمونه گیری از آبان ۱۳۸۹ تا فروردین ۱۳۹۰ در سواحل شمال غرب خلیج فارس (استان خوزستان) به وسیله لنج صیادی و با استفاده از تور ترال انجام شد. سپس نمونه های زنده پس از صید در ظروفی که به طور مناسب هوادهی می شد، به آزمایشگاه منتقل گردید.

در روش کشت سلولهای خونی، خرچنگ ها به طور زنده به آزمایشگاه منتقل شده و بلافاصله پس از تشریح، از قلب آن ها به وسیله سرنگ هپارینه نمونه خون تهیه گردید. در این آزمایش، جهت کشت سلول های آمیبوسیت از کیت کشت کروموزوم از نوع $RPMI_{1640}$ تهیه شده از شرکت پژوهان طب استفاده شد. میتوژنی که درکشت خون محیطی به کار برده شد، فیتوهماگلوتینین (PHA) بود. سرم جنین گاو به عنوان فاکتور رشد که دارای مود مغذی است به میزان ۲۰-۱۵ درصد حجمی محیط کشت به آن اضافه شد. آنتی بیوتیک ها شامل پنی سیلین، استرپتومایسین و بی کربنات سدیم به مقدار لازم توسط کارخانه سازنده به محیط کشت اضافه شده بود.

جهت کشت آمیبوسیت ها، حدود ۱ سی سی سرم و ۰/۱ سی سی از فیتوهماگلوتینین کاملاً استریل، به محیط کشت افزوده و در ادامه مقدار ۱ سی سی خون هپارینه به هر ویال کشت اضافه شد. سپس کیت را به آرامی تکان داده تا خون به خوبی در محیط کشت پخش شود. در مرحله بعد محیط های کشت را به مدت ۴ روز در انکوباتور با حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده و هر ۲۴ ساعت یک بار به آرامی تکان داده شدند.

برداشت سلولی به استخراج سلول های مورد نظر از محیط کشت و سپس ثابت نمودن آن ها به فرمی که قابل نگهداری باشد، گفته می شود. در اینجا غالب سلول ها باید در فاز معینی از تقسیم قرار داشته باشند.

هدف از این تحقیق، مطالعه کروموزوم های خرچنگ شناگر آبی خلیج فارس در مرحله متافاز تقسیم میتوز بوده است.

www.SID.ir

Archive of SID

برای توقف تقسیم سلولی، وجود یک مهار کننده دوک تقسیم میتوزی لازم است تا وقفه تقسیم را در مراحل متافاز و آنافاز ایجاد نماید. این مواد شامل وین بلاستین، کلشسین و مشابه آن کلسمید (دی استیل متیل کلشسین) می باشد که به هر ویال کشت اضافه نموده و کیت ها برای ۲ تا ۳ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه نگهداری شدند.

پس از کامل شدن کشت، استخراج سلول ها از محیط کشت انجام گردید. برای این منظور، محتویات کشت را به لوله سانتریفیوژ منتقل کرده و به مدت ۶ دقیقه با دور ۱۰۰۰، سانتریفیوژ گردیده و پس از خارج کردن لوله های سانتریفیوژ، محلول رویی دور ریخته شد.

برای این که در هنگام تهیه گسترش نمونه روی لام، کروموزوم ها قابل تشخیص باشند، از یک محلول هیپوتونیک در مایع سلولی استفاده می گردد تا سبب تورم سلول ها گردد. محلول هیپوتونیک مورد استفاده کلرید پتاسیم ۰/۰۷۵ مولار بود. به این منظور، ۳ سی سی محلول هیپوتونیک به آرامی همراه با تکان دادن لوله، به توده سلولی اضافه شد. سپس لوله ها به مدت ۲۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار داده شدند. پس از تیمار، لوله های حاوی نمونه را به مدت ۶ دقیقه با دور ۱۰۰۰، سانتریفیوژ نموده و مجدداً لایه رویی دور ریخته شد.

جهت تثبیت سلولی، از محلول تثبیت کننده، مخلوط تازه تهیه شده ای از ۳ قسمت متانول و ۱ قسمت اسید استیک گلایسیال بود، مقدار ۳ سی سی محلول ، قطره به قطره به نمونه اضافه گردید. سپس لوله ها را به مدت ۱۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار داده و بعد از آن به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ نموده و مجدداً لایه رویی دور ریخته شد. به محتویات رسوب چند قطره فیکساتور اضافه کرده و با پیپت پاستور، خوب مخلوط نموده و برای تهیه لام از آن استفاده گردید (Sola *et al.,* 1982; Tesigenopoulus, 1999).

برای تهیه گسترش از نمونه روی لام، روش های مختلفی توصیه شده، که هر کدام از این روش ها با توجه به ماهیت نمونه های مختلف و همچنین شرایط محیطی نمونه ها، دستورالعمل خاصی را شامل می شود. در این تحقیق از روش سقوط قطره ای (از فاصله ۵۰ سانتیمتری) از نمونه معلق در ماده تثبیت کننده، بر روی لام های تمیز و سرد (لام ها قبلاً در فریزر با دمای ۴- درجه قرار داده شده بودند) استفاده شد (Sola *et al.,* 1982; Tesigenopoulus, 1999).

رنگ آمیزی با رنگ گیمسا انجام گردید که کروموزوم ها به طور یکنواخت رنگ آمیزی شدند. رنگ گیمسای مورد استفاده با بافر فسفات در کیت های کشت رقیق شده بود. ۳ قطره رنگ را با ۳ سی سی آب تصفیه شده مخلوط نموده و برای رنگ آمیزی هر لام، استفاده شد (Sola *et al.,* 1982; Tesigenopoulus, 1999).

جهت تهیه کاریوتایپ و توصیف کروموزومی از کشت های آماده شده، لام هایی تهیه گردید. پس از انجام رنگ آمیزی کروموزوم های ۳۰ سلول بررسی قرار و از بهترین آن ها عکس تهیه شد. در مطالعات میکروسکوپی ابتدا وضعیت کلی گسترش تهیه شده از نمونه ها با بزرگنمایی (۱۰×۱۰) مشاهده گردیدند. سلول هایی که نسبت به سایر سلول ها از جهات فاز تقسیم سلولی، پخش کروموزومی و همچنین ظاهر کروموزوم ها، از وضعیت بهتری برخوردار بودند، با بزرگنمایی (۱۰×۴) بررسی و در نهایت موارد انتخاب شده با لنز روغنی با بزرگنمایی (۱۰۰×۱۰) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. هر نمونه سلولی که بهترین گسترش کروموزومی و همچنین بهترین کیفیت را از نظر رنگ آمیزی ساده داشت، انتخاب شده و از آن ها با دوربین میکروسکوپ با بزرگنمایی (۱۰۰×۱۰) عکسبرداری شد. برای مشاهده و عکسبرداری از میکروسکوپ Olympus استفاده گردید (Sola *et al.,* 1982; Tesigenopoulus, 1999).

در روش تزریق کلشسین، پس از صید ، خرچنگ ها را در ظروف مخصوص که به طور مناسب هوادهی می شد، قرار داده و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. پس از انتقال، سریعاً نمونه را وزن نموده و به ازای هر گرم وزن بدن ۰/۰۲ میلی لیتر محلول کلشسین (۵ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی) به وسیله سرنگ انسولین از بین پای اول و دوم به صورت داخل احشایی تزریق شد، سپس خرچنگ های تزریق شده در مدت زمان های ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ ساعت در آکواریوم هوادهی شده حاوی آب دریا نگهداری شدند. پس از این مدت، جانور از آکواریوم خارج و تشریح شد، فیلامنت های آبششی، بافت بیضه و تخمدان جدا گردید و هر قسمت به یک پتری دیش تمیز منتقل شد.

www.SID.ir

Archive of SID

پس از له کردن بافت های جدا شده، آن ها را در لوله های آزمایش ریخته و هم حجم بافت به کار رفته، به آن محلول هیپوتونیک ۰/۰۷۵ مولار اضافه گردیده و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد.

در مرحله بعد برای یک دست شدن محلول، آن را از کاغذ تنظیف عبور داده و در ادامه مرحله اول سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه انجام گردید. پس از سانتریفیوژ، لایه رویی را دور ریخته و به رسوب زیرین ۵ میلی لیتر فیکساتیو سرد (نسبت ۱ به ۳ اسید استیک به متانول) اضافه و به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شد. مرحله دوم سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت. بعد از سانتریفیوژ محلول رویی مجدداً دور ریخته شده و به رسوب زیرین مانند مرحله اول فیکساتیو اضافه می گردید. یک بار دیگر عمل سانتریفیوژ و شستشو انجام گرفته و در نهایت به رسوب باقی مانده یک میلی لیتر فیکساتیو اضافه گردید و عمل لام گیری و رنگ آمیزی مانند روش اول صورت گرفت (Tan *et al.*, 2004).

در روش حمام در محلول کلشسین، خرچنگ های نابالغ نر و ماده با میانگین وزنی ۳ گرم در آکواریوم هوادهی شده با شرایط شوریPPT ۳۵– ۳۳ (آب دریا)، دمای ۲۸–۲۵ درجه سانتیگراد و غلظت کلشسین ۱ درصد در مدت زمان ۱۸۰ دقیقه نگهداری شدند. پس از گذشت این مدت زمان خرچنگ ها تشریح و بافت آبششی خارج گردید. سپس بافت های جدا شده را له کرده، آن ها را در لوله های آزمایش ریخته و هم حجم بافت، به آن محلول هیپوتونیک ۰/۰۷۵ مولار اضافه گردیده و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد که طی این مدت دو بار محلول هیپوتونیک تعویض گردید.

پس از آن محلول را از کاغذ تنظیف عبور داده و به آن ۵ میلی لیتر فیکساتیو سرد و تازه (نسبت ۱ به ۳ اسید استیک به متانول) اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه انجام گردید. محلول رویی تخلیه و رسوب حاصل مجدداً برای دو نوبت با فیکساتیو سرد و تازه ترکیب و سانتریفیوژ شد.

در آخرین مرحله به رسوب نهایی یک میلی لیتر فیکساتیو افزوده و به کمک پیپت پاستور کاملاً یکنواخت گردید و در ادامه مراحل لام گیری و رنگ آمیزی مشابه دو روش اول صورت گرفت (Amini and Mansoori, 2010).

نتایج

به دلیل وجود تعداد زیاد و نسبتاً کوچک کروموزوم ها در خرچنگ شناگر آبی (*Portunus pelagicus*) مطالعه تعداد، ساختار و فرمول کروموزومی آن کار دشواری بود و بطور کلی در مقایسه با سایر آبزیان تهیه کاریوتایپ از سخت پوستان با مشکلات بیشتری مواجه است.

در روش کشت بافت خونی، به علت این که خون این بی مهرگان فاقد رنگریزه و تقریباً بی رنگ است، به علاوه به علت حجم کم خون، نمونه برداری به سختی صورت گرفت و نتایج کشت، سلول های کافی جهت تهیه گسترش را فراهم ننمود.

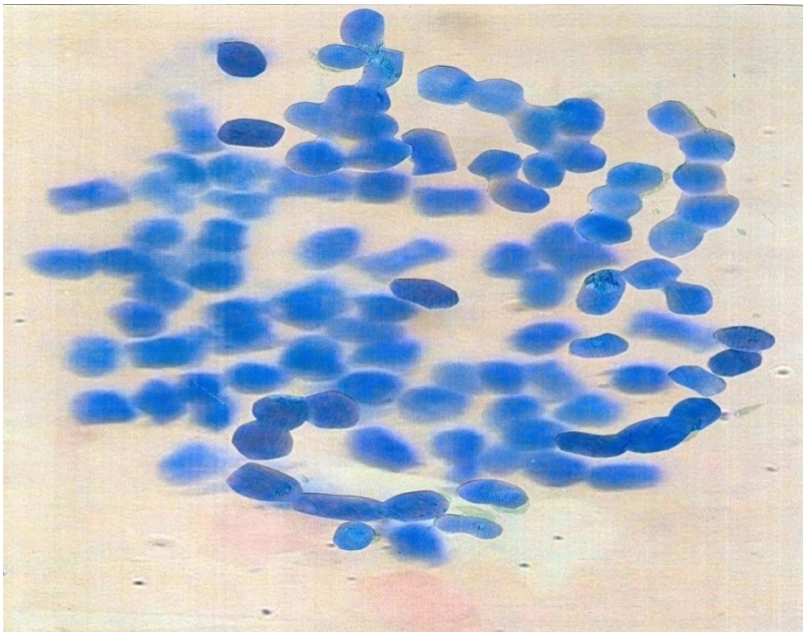
در روش حمام کلشسین نیز اگرچه بافت آبشش مورد استفاده قرار گرفت، ولی هیچ پلاک متافازی قابل توجهی به دست نیامد، اما در روش تزریق کلشسین پلاک های متافازی مناسبی از بافت های آبشش ماده و بیضه حاصل شد. بدین ترتیب با شمارش کروموزومی پلاک های میتوزی به دست آمده از بافت آبشش ماده عدد دیپلوییید در این گونه ۲n=۱۰۲ تعیین گردید. از سوی دیگر از بافت بیضه پلاک های کروموزومی میوزی به دست آمد که مشخص نمود عدد هاپلوییید این گونه n=۵۱ بوده است (اشکال ۱ و ۲).

از نظر مدت زمان تیمار کلشسین، بهترین شرایط تیمار ۶ و ۸ ساعت بود. کروموزوم های حاصل از مدت زمان های طولانی تر کلشسین، به صورت متراکم، نقطه ای و نامشخص بودند. از بافت تخمدان خرچنگ های ماده نیز گسترش متافازی مناسبی به دست نیامد.

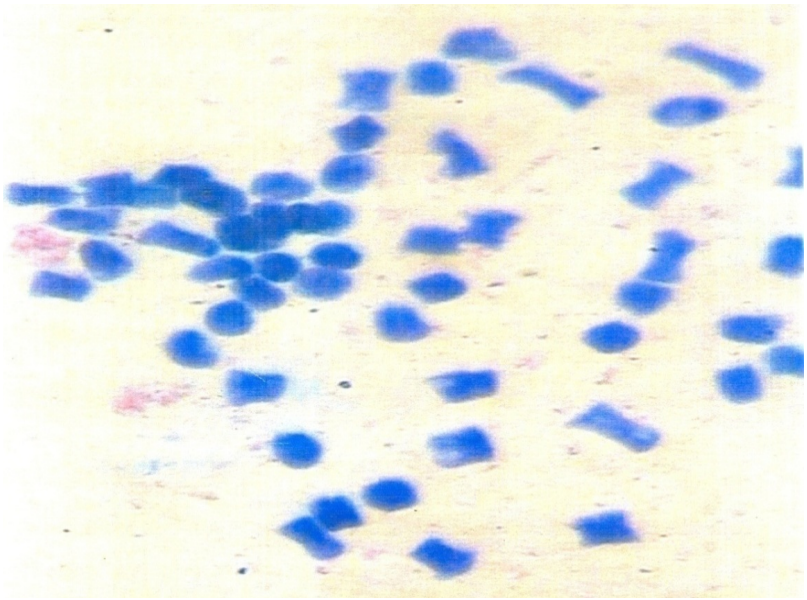
اندازه گیری دقیق طول بازوهای کروموزومی مشخص نمود که ترکیب کروموزومی این گونه شامل ۴ جفت کروموزوم متاسانتریک، ۲۴ جفت کروموزوم ساب متا سانتریک و ۲۳ جفت کروموزوم تلوسانتریک بود (شکل ۳).

www.SID.ir

Archive of SID



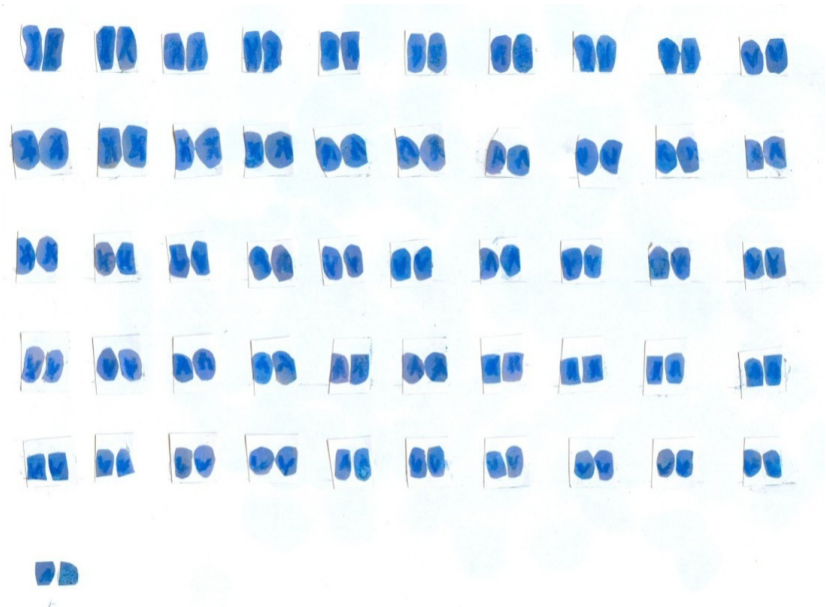
شکل ۱: گسترش کروموزومی بافت آبشش خرچنگ شناگر آبی (*Portunus pelagicus*) ماده خلیج فارس (۱۳۸۹-۱۳۹۰)



شکل ۲: گسترش کروموزومی متافازی بافت بیضه خرچنگ شناگر آبی (*Portunus pelagicus*) خلیج فارس (۱۳۸۹-۱۳۹۰)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳: کاریوتایپ خرچنگ شناگر آبی (*Portunus pelagicus*) خلیج فارس (۱۳۸۹-۱۳۹۰)

بحث و نتیجه گیری

در سخت پوستان اطلاعات کروموزومی نسبتاً اندک است، زیرا تعداد کروموزوم های آن ها زیاد و اندازه کروموزوم ها در مقایسه با حشرات و مهره داران، کوچک است، وجود کروموزوم های نقطه ای شکل نیز از ویژگی های ده پایان است (Xiang *et al.*, 1996).

تعداد کروموزوم ها در این گونه مورد بررسی و شمارش قرار گرفته که تعداد کروموزوم های دیپلوییید ۲n=۱۰۲ و تعداد کروموزوم های هاپلوییید این گونه n=۵۱ بدست آمد. بهترین بافت برای تهیه گسترش کروموزومی و شمارش کروموزمی، بافت بیضه و آبشش ماده بود.

تحقیقات نشان داده است که بیضه ها به علت داشتن پلاک های متافازی میتوزی و میوزی، جهت تهیه کاریوتایپ در گونه های سخت پوستان و از جمله خرچنگ ها مناسب ترین اندام به شمار می روند (Hasegawa, 1981). در این تحقیق نیز پلاک های متافازی مناسبی از بافت بیضه تهیه شد که به خوبی عدد هاپلوییید گونه را نشان داد.

تعداد کروموزوم های دیپلوئید گزارش شده در سخت پوستان از ۶ عدد *Acanthocyclops robustus* از خانواه Copepoda تا تعداد بالا مانند ۳۶۷ در *Astacus trowbridgii* از خانواده Astacidae متغیر است (Niiyama, 1962).

تا کنون تعداد کروموزوم ها برای برخی گروه های ده پایان گزارش شده است. طی مطالعاتی که توسط Tan و همکارانش در سال ۲۰۰۴ انجام گردید عدد کروموزومی گونه *Cherax quadricarinatu* ، ۲n=۲۰۰ اعلام شد که از بافت بیضه بالغ برای شمارش عدد کروموزومی استفاده کردند.

براساس بررسی هایی که Zhu و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی گونه *Portunus trituberculatus* انجام دادند، عدد کروموزومی این گونه را ۲n=۱۰۶ تعیین کردند و بهترین بافت را برای شمارش عدد کروموزومی بیضه معرفی کردند

بر اساس نتایج حاصل از بررسی امینی و منصوری بر روی میگوی موزی (*Penaeus merguiensis*) در خلیج فارس، بهترین بافت جهت تهیه گسترش کروموزومی این گونه بافت بیضه و تعداد کروموزوم های دیپلوئید ۲n=۸۸ عنوان شد (Amini and Mansoori, 2010).

عدد کروموزومی برخی از ده پایان به قرار زیر است:

در سال ۱۹۹۵ عدد کروموزومی گونه *Astacus fluviatilis* ۲n=۱۱۶ تعیین گردید (Lecher *et al.*, 1995).

www.SID.ir

Archive of SID

در سال ۱۹۶۲، Niiyama عدد کروموزومی گونه *Astacus trowbridgii* را ۲n=۳۷۶ اعلام نمود.

در سال ۱۹۹۷، Diupotex و همکاران ضمن مطالعه ای که بر روی گونه *Procambarus digueti* داشت، عدد کروموزومی این گونه را ۲n=۱۰۲ اعلام نمودند.

بررسی ها بر روی گونه خرچنگ دراز آب شیرین نشان داد که تیمار کلشسین مناسب برای سخت پوستان گرم آبی ۱ تا ۲ میکروگرم به ازای هر گرم وزن بدن و به مدت ۸ تا ۱۲ ساعت بود، در حالی که برای سایر سخت پوستان تیمار کلشسین مناسب ۱ میکروگرم به ازای هر گرم وزن بدن و برای مدت ۴ تا ۶ ساعت اعلام شده است (Tan *et al.,* 2004).

در این تحقیق نیز دوز کلشسین به کار رفته تقریباً مشابه و مدت زمان مناسب ۶ و ۸ ساعت برآورد شد.

استفاده از بافت تخمدان خرچنگ های بالغ گسترش های کروموزومی مناسبی نداشت. به نظر می رسد وقوع مراحل مختلف رسیدگی که هر یک موجب وقوع تغییرات قابل توجهی در ساختمان و فیزیولوژی تخمدان می گردد، باعث می شود که تشخیص مرحله رسیدگی مناسب جهت برداشت بافت تخمدان دشوار گردد (Nakamura *et al.,* 1988).

در این تحقیق تشخیص کروموزوم های جنسی ممکن نشد. این امر ممکن است به دلیل وجود کروموزوم های نقطه ای شکل متعدد در این گونه ها و یا روش رنگ آمیزی C-Band باشد. به همین علت، پیشنهاد می شود از روش FISH استفاده شود.

به هر حال تفاوت ریختی کروموزوم های جنسی در تنها کمتر از ۶ درصد گونه های آبزیان مشاهده شده است (هالرمن، ۱۳۸۴).

سپاسگزاری

از همکاری صمیمانه مرکز تحقیقات آبزی پروری جنوب کشور و از جناب آقای بوروایه که در طول این پروژه ما را یاری نمودند، سپاسگزاری می گردد.

منابع

اسدی، ب.، ۱۳۸۱. خلیج فارس و مسایل آن. چاپ اول، انتشارات سمت، صفحه ۴۸-۴۹.

پاپهن، ف.، محمودیان، ع.ح. و رونق، م.ت.، ۱۳۷۹. گزارش پروژه ملی ۲۰۰۰، بررسی زیست شناختی میش ماهی منقوط (*Portonibeadi acanthus*) در سواحل شمالی خلیج فارس. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز.

حسینی، ه.، ۱۳۷۱. شناسایی خرچنگ های پهنه جزر و مدی ناحیه بوشهر. رشته بیولوژی دریا، واحد تهران شمال دانشگاه آزاد اسلامی، پایان نامه کارشناسی ارشد.

حسینی، ه. و مشایی، ن.، ۱۳۸۰. مقایسه دو قفس صید اختصاصی خرچنگ شناگر (*Portunus pelagicus*) در سواحل جنوب شرقی ایران. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۷۸. صفحه ۱۳.

محمد فاضل، ا.، ۱۳۷۹. دیرین شناسی و تنوع زیستی. چاپ اول،انتشارات موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران، صفحه ۳۲.

هالرمن، ا.، ۱۳۸۴. اصول و روش های مطالعات ژنتیکی ماهیان. ترجمه ایرج هاشم زاده سقرلو، جلد اول، انتشارات نقش مهر، چاپ اول، صفحه۵۳.

Abdel, K., Williams, L., Kailola, P. and Grieve, C., 1993. Blue swimmer crab. Australian Fisheries Resources. Bureau of rural Sci and the fish.

Amini, F. and Mansoori, S. M., 2010. Karyological study on Persian Gulf Banana shrimp, *Penaeus (Fenneropenaeus)merguiensis*. Journal of veterinary research. 65(1), 37-41.

Apel, M. and Spiridonv, V. A., 1998. Fauna of Arabia, Natural History Museum, Basle. Switzerland. 17, 159-33.

Denton, E.T., 2001. Fish chromosome methodology Charles tomas publisher. 166pp.

Diuppotex chong, M. E., Foster, N. R. and Zarate, L. A., 1997. A cytogenetic of the cray fish *Procambarus digueti* (Bouvier, 1897) (Decapoda, Cambaridae) from lake Camecuaro, ichoacan, Mexici.Crustaceana. 70, 875-885.

Hasegawa, M., 1981. Simple and rapid for a chromosomes study of crustacean. Res. Crustacea. 11,111-113

Lecher, P., Defaye, D. and Noel, P., 1995. Chromosomes and nuclear DNA of crustacean. Invertebr. Reprpd. Dev. 27, 85-114.

www.SID.ir

Archive of SID

Karyology of bony fishes: a review. Genetica. 54, 285-328.

Tan, X. G., Qin, J., Chen, B., Chen, L. and Li, X., 2004. Karyological analyses on red claw *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). Journal of aquaculture. 234, 65-76.

Tesigenopoulus, G. S., 1999. The north mediteranean *Barbus Lineage*: phylogenetic and taxonomic implications based on allozyme data. Journal of fish biology. 54, 268-276. White, M. J. D. (1973). Animal cytology and evolution. 3th. Press Cambridge University. 961 pp.

Xiang, J. H., Courtney, A. J. and Zhou, L. H., 1996. Chromosome complements in the spermatogenesis of tow Penaeid prawns, *Penaeus merguiensis* and *Penaeus esculentus*. Cytologia. 61, 317-320.

Zhu, D. F., Wang, C. L. and Li, Z. Q., 2005. Karyotype analysis on *Portunus trituberculatus.* Journal of fisheries china. 5, 1-4.

Nakamura, H. K., Michaii, A., Wada, T., Awaji, M. and Townssley, S. J., 1988. Achech list of decapoda chromosomes(Crustacea). Bull, Natl. Inst. Aquac. 13, 1-9.

Neumann, V. and Spiridonov, V. A., 1999. Shallow water crabs from the western Indian Ocean: Portunidae and Xanthoidae excluding pilumnidae (Crastacean, Decapoda, Brachyura), tropical zoology. 12, 9-66.

Ng, P. K. L., 1998. The living marine resource of the western central pacific. FAO, Rome. 2, 1046-1155.

Niiyama, H., 1962. On the unprecedently large number of chromosomes of the Cray fish *Astacus trowbridgii* Simpson.Journal of Zoology. 35, 229-233.

Scheffer, S. J., 1980. Cytogenetic plant, animal and humans. Bioscrince. 31(9), 680.

Sola, L., Cataudella, S. and Cappana, E., 1981. New developments in vertebrate cytotaxonomy.

www.SID.ir