Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ٦، شماره ٣، پاییز ١٣٩٤، ٣٨٨-٣٨١

کاریولوژی ماهی سنگ لیس معمولی (*Garra rufa*) در رودخانه سمیرم استان اصفهان (پرتوبالگان: کپورماهیان)

علی نظام‌الاسلامی .M.Sc [1]، یزدان کیوانی .Ph.D [2*]، سالار درافشان .Ph.D [2]

١- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، اصفهان ٨٤١٥٦٨٣١١، ایران
٢- هیأت علمی دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، اصفهان ٨٤١٥٦٨٣١١١، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: keivany@cc.iut.ac.ir

تاریخ دریافت: ١٣٩٣/١١/٢٢ تاریخ پذیرش: ١٣٩٤/٢/٢٩

چکیده

هدف: هدف از این پژوهش تعیین کاریوتایپ ماهی سنگ لیس معمولی (*Garra rufa*) متعلق به خانواده کپور ماهیان از رودخانه سمیرم (زیرحوضه کارون) در استان اصفهان بوده است.

مواد و روش‌ها: هفت نمونه ماهی سنگ لیس با تور پره صید و زنده به آزمایشگاه منتقل شد. با استفاده از روش له کردن آبشش و بخش قدامی بافت کلیه و رنگ آمیزی گیمسا مورد مطالعه قرار گرفتند. سپس تقسیم میتوز با PHA تحریک و سایر مراحل روتین کاریولوژی انجام شد.

نتایج: با شمارش تعداد کروموزوم‌ها در ٥٠ پلاک متافازی متعلق به هفت قطعه ماهی سنگ لیس، عدد کروموزومی n_2=٤٨ با فراوانی ٥٢ درصد بیشترین فراوانی را داشت که شامل ٣٤ کروموزوم متاسنتریک، ١٢ ساب متاسنتریک و ٢ آکرو/ تلوسنتریک بود. تعداد بازوهای کروموزومی FN =٩٤ به‌دست آمد. بلندترین و کوتاهترین کروموزوم در این گونه کروموزوم های متاسنتریک به‌ترتیب با طول کل ٦/٤٠ و ١/٦٧ میکرون بودند.

نتیجه‌گیری: گزارش اعداد و فراوانی‌های عدد کروموزومی مختلف و تنوع فرمول کروموزومی برای این‌گونه و وجود تفاوت‌های منطقه‌ای نشان‌دهنده یا حالت پلی‌مورفیسم درون‌گونه‌ای یا وجود گونه‌های مختلف از این ماهی می‌باشد که نیازمند بررسی‌های بیشتر، خصوصاً مولکولی می‌باشد.

واژگان کلیدی: سیتوژنی، کاریولوژی، کپورماهیان، کروموزوم، گل‌چراغ

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

راسته کپورماهی‌شکلان (Cypriniformes) گروهی از ماهیان آب شیرین می‌باشند که با ۱۱ خانواده و حدود ۷۴۲۹ گونه درسراسر جهان، به جز استرالیا و آمریکای جنوبی یافت می‌شوند (۱و ۲). خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) با حدود ۲۹۷۷ گونه بزرگ‌ترین خانواده در بین مهره‌داران می‌باشد و در آمریکای شمالی، آفریقا و اوراسیا یافت می‌شوند (۱ و ۲). یکی از جنس‌های شناخته شده کپورماهیان، جنس گارا (*Garra*) است که در آفریقا و آسیا، از جمله ایران پراکنش دارد (۳ و ۴). ماهی *G. rufa* در ایران دارای اسامی مختلفی مانند ماهی سنگ لیس، ماهی سنگی، ماهی گل‌خورک، ماهی گل‌چراغ، شل‌ماهی و گاراروفا است (۵).

جنبه‌های مختلفی از ریخت‌شناسی، زیست‌شناسی و کاریولوژی گونه‌های مختلف جنس *Garra* در دسترس است که اطلاعات ارزنده‌ای را در مورد این کپور ماهیان در اختیار قرار می‌دهند (۶-۱۵). در عین حال، اطلاعات سیتولوژیکی از جمله کاریولوژیکی نسبت به ریخت‌شناسی و زیست‌شناسی آن‌ها اندک است. با این‌حال، اطلاعات کاریولوژیکی خوبی در مورد سایر کپورماهیان (۱۶-۱۹) و سایر ماهی‌های ایران (۲۰-۲۶) وجود دارد. طی مطالعات کاریولوژیک می‌توان به وضعیت تکاملی و سیستماتیک جانوران پی برد، همچنین می‌توان تغییراتی که بر کاریوتیپ اجدادی صورت گرفته و در سویه‌های مختلف امروزی تثبیت شده را پیگیری و شناسایی کرد (۲۷-۲۹). مطالعه کاریوتیپ ماهی علاوه بر کاربردی که در علم رده‌بندی و سیستماتیک دارد، در زمینه‌های آبزی‌پروری (دست‌کاری‌های کروموزومی، القای پلی‌پلوییدی، ماده‌زایی، نرزایی و آمیخته‌گری) کاربردهای فراوانی دارد (۱۹ و۳۰). همچنین، مطالعات سیتوژنتیک می‌تواند به‌عنوان یک شاخص بیولوژیکی برای مطالعه آلودگی آب‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۷). مطالعات کاریولوژیک در ماهیان نسبت به دیگر مهره‌داران به‌علت اندازه کوچک کروموزوم‌ها و تعداد کروموزوم زیاد مشکلات تکنیکی زیادی در بردارد. مهم‌ترین مشکل کار با کروموزوم ماهی، به‌دست آوردن کروموزوم‌های واضح و مجزا ست (۸، ۱۹، ۳۰ و ۳۱).

با وجود تنوع گونه‌ای ماهیان در آب‌های ایران، مطالعات کاریولوژیک انجام شده در آن‌ها نسبتا اندک است و این موضوع یکی از جنبه‌های جانورشناسی در ایران است که هنوز جای کار دارد. رابطه با کاریوتایپ ماهی سنگ لیس معمولی در نواحی مختلف پراکنش آن مطالعات متعددی وجود دارد (۶-۱۲)، اما در مورد جمعیت‌های آن در ایران اطلاعات محدود بوده و تنها یک مطالعه در استان فارس انجام شده است (۱۰)، از طرفی اختلاف در تعداد کروموزوم‌های جمعیت‌های مختلف آن در گستره طبیعی آن مشهود است (۶-۱۲). لذا هدف از این مطالعه تعیین تعداد و نوع کروموزوم‌ها و نیز آیدیوگرام جمعیت ماهی سنگ لیس در رودخانه سمیرم (زیر حوضه کارون) استان اصفهان است.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی‌های کاریولوژیک، طی سه مرحله آزمای ش، هفت قطعه ماهی از رودخانه سمیرم، از سرشاخه‌های کارون، صید و به‌صورت زنده به آزمایشگاه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل شدند. به‌منظور بی‌هوش کردن ماهی‌ها از عصاره پودر گل‌میخک با غلظت ۱ گرم در لیتر به‌مدت ۳۰ ثانیه به‌همراه هوادهی مداوم و برای به هوش آوردن آن‌ها از جریان مداوم آب در مجاورت آبشش ماهی‌ها با استفاده از پمپ هوا استفاده شد. برای این کار نمونه‌ها در یک دبه پلاستیکی دهانه گشاد با گنجایش ۳۰ لیتر حاوی آب تمیز محل نمونه‌برداری قرار داده شدند. در طول مدت انتقال آب حاوی نمونه‌ها به‌وسیله یک دستگاه پمپ هوای قابل حمل، هوادهی شد. ماهی‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه و انجام مراحل هم دما سازی به‌درون آکواریوم‌های پیش‌بینی شده با شرایط هوادهی و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد رهاسازی شده و برای انجام عملیات مربوط به تهیه کاریوتیپ آماده شدند. در این مطالعه از روش تورگارد و دیزنی (۲۷)، با اندکی تغییرات استفاده شد. برای مطالعه کاریوتایپ، از بافت کلیه و آبشش ماهی (به‌دلیل فراوانی سلول‌های در حال تقسیمات میتوزی) استفاده شد.

جهت تحریک تقسیمات میتوزی، از تزریق فیتوهماگلوتنین (PHA) ساخت شرکت بهارافشان– ایران با غلظت ۴۶۰ میلی‌گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، طی دو مرحله تزریق درون صفاقی با استفاده از سرنگ انسولین انسانی به فاصله زمانی حدود ۱۸ ساعت بین دو تزریق و دمای آب ثابت ۲۲ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: شرایط عملیات تزریق فیتوهماگلوتنین به ماهی‌های سنگ لیس معمولی رودخانه سمیرم، به‌منظور آماده سازی برای مطالعه کاریولوژیکی.

عنوان	تعداد ماهی مورد آزمایش	وزن متوسط ماهیان (g)	میزان تزریق اول (mg/g) PHA	میزان تزریق دوم (mg/g) PHA	جنسیت
آزمایش ۱	۲	۱۹/۸۶	۰/۷۸	۰/۶۰	ماده
آزمایش ۲	۳	۱۳/۷۵	۱/۵	۱/۰۷	ماده
آزمایش ۳	۲	۴/۷۱	۱/۹۵	۱/۹۵	نر

پس از انجام تزریق، ماهی‌ها به‌داخل یک آکواریوم اختصاصی با شرایط اکسیژنی مناسب انتقال داده شدند و به‌منظور فراهم کردن آرامش بیشتر برای آن‌ها، یک پوشش تیره رنگ روی آکواریوم قرار گرفت. حدود ۱۲ ساعت بعد از تزریق دوم PHA و در حدود ۷ ساعت پیش از بی‌هوشی کامل ماهی‌ها، از یک مرحله تزریق درون صفاقی کلشی‌سین (ساخت شرکت مرک- آلمان)، به‌منظور توقف تقسیمات سلولی در مرحله متافاز تقسیم میتوز استفاده شد (یک میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر آب مقطر). پس از قرار دادن ماهی‌ها در یک محلول غلیظ پودر گل‌میخک و اطمینان از بی‌هوشی کامل، بافت کلیه و آبشش از لاشه ماهی جدا شده و در یک بشر کوچک ۵۰ میلی‌لیتر قرار داده شد. بافت‌های جداسازی شده تا حد ممکن قطعه قطعه تا کاملا هموژنیزه شدند. جهت فرآیند هیپوتونیزاسیون، محلول هیپوتونیک تری‌سیترات سدیم ۱ درصد به‌میزان ۲ میلی‌لیتر به آن اضافه شد. جهت تکمیل هیپوتونیزاسیون و تورم سلول‌ها، مقداری از محلول تری سیترات سدیم به‌درون ظرف اضافه شده و سلول‌ها به‌مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق به حال خود رها شدند.

پس از تکمیل هیپوتونیزاسیون، عملیات سانتریفیوژ و تثبیت سلول‌ها با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (مدل Lt240 ساخت انگلستان) با سرعت ۱۶۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. برای تثبیت سلول‌ها، ابتدا به آرامی مایع رویی آن‌را با استفاده از پیپت پاستور برداشته و بلافاصله محلول تثبیت کننده کارنوی تازه و سرد (محلول حجمی ۳ به ۱ اتانول ۹۶ درصد و اسید استیک خالص) جایگزین آن شد. سپس محلول به‌وسیله یک دستگاه شیکر لوله مدل IP40 ساخت آلمان به‌آرامی هم زده شد تا سلول‌ها کاملا در معرض کارنوی قرار گیرند. مخلوط سلولی به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. جایگزینی کارنوی، سانتریفیوژ و آرامش سلول‌ها در مجموع چهار بار انجام شد. برای تهیه گسترش کروموزومی از روش خشک کردن در هوا مطابق دستورالعمل تورگارد و دیزنی استفاده شد. سوسپانسیون سلولی به‌منظور تهیه گسترش‌های بهتر کروموزومی، از فاصله۱ تا ۱/۵ متری بر روی لام‌های آماده شده چکانده شد. لام‌ها به‌مدت یک ساعت در دمای اتاق به‌حال خود رها شدند تا خشک گردند.

برای رنگ‌آمیزی کروموزوم‌ها از محلول گیمسا ساخت شرکت داروا‌ش- ایران، بدون رقیق‌سازی استفاده شد. رنگ گیمسا بر روی لام‌ها پاشیده شد و گسترش‌های کروموزومی به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در معرض این محلول قرار گرفتند. لام‌ها را به‌منظور دفع گیمسای اضافی، با استفاده از جریان آرام و غیر مستقیم آب لوله‌کشی شهری (ریختن آب بر روی سطح پشتی لام) شسته و لام‌های رنگ آمیزی شده به‌منظور خشک شدن، به‌مدت یک ساعت در دمای اتاق نگه‌داری شدند.

گسترش‌های تهیه شده، با استفاده از میکروسکوپ نوری معمولی Nikon ساخت ژاپن، با بزرگنمایی ×۴۰ و ×۱۰۰ مشاهده و شمارش شدند. با استفاده از لنز ×۱۰۰، روغن ایمرسیون و میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکاسی دیجیتالی Canon مدل DS۱۲۶۲۳۱ و فیلترهای نوری آبی و زرد، از گسترش‌های مناسب تصویر دیجیتالی تهیه شد. برای مطالعه کاریوتایپ، ۵۰ پلاک متافازی بررسی و شمارش شد. جنسیت ماهیان مورد بررسی در جدول ۱ آمده است. جهت تهیه کاریوتایپ، یکی از گسترش‌های واضح و مناسب که متعلق به یک فرد ماده بود را انتخاب کرده و با نرم‌افزارPhotoshop Cs5 و Image tool، ابعاد کروموزم‌ها شامل طول کل، طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند اندازه گیری شد. به‌دلیل عدم وجود گسترش واضح در عکس‌های تهیه شده از ماهی‌های نر، امکان مقایسه کاریوتایپ جنس نر و ماده در این تحقیق میسر نگردید. دسته‌بندی کروموزوم‌ها بر اساس نسبت طول بازوها و شاخص سانترومری به‌دست آمده به‌روش لوان و همکاران (۲۸) با فرمول‌های FN= 4m+4sm+2a-t، I = 100S/C و R = L/S, P=100C/N، انجام گرفت که R: نسبت بازوها، FN: تعداد بازوی‌های کروموزومیT، L: طول بازوی بلند، m: کروموزوم متاسنتریک، S:

www.SID.ir

Archive of SID

طول بازوی کوتاه، sm: کروموزوم ساب متاسنتریک، I: شاخص سانترومری a,t: کروموزوم آکرو و تلوسنتریک، C: طول کل کروموزم P: طول نسبی کروموزوم، N: طول کلی کروموزوم‌ها در یک سری هاپلویید، می‌باشد (جدول ۲). آیدیوگرام توسط نرم افزار Excel 2007 و بر اساس طول بازوی کوتاه و بلند کروموزوم‌ها برای گونه مورد مطالعه ترسیم شد.

نتایج

با شمارش تعداد کروموزوم‌ها در ۵۰ پلاک متافازی متعلق به تعداد هفت قطعه ماهی سنگ لیس معمولی، جدول فراوانی عدد کروموزومی تهیه شد (جدول ۳). عدد کروموزومی ۲n=۴۸ با فراوانی ۵۲ درصد و ۲n=۴۴ با فراوانی ۱۰ درصد به‌ترتیب بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند و در نهایت ۲n=۴۸ برای این ماهی در رودخانه سمیرم تعیین شد. براساس گسترش مناسب کروموزومی در یک ماهی ماده (شکل ۱)، کاریوتایپ این ماهی تهیه شد (شکل ۲). پس از اندازه‌گیری ابعاد کروموزوم‌ها (برحسب میکرون)، شاخص سانترومری و نسبت بازوها محاسبه گردید (جدول ۴). کاریوتایپ تهیه شده بر اساس الگوی لوان و همکاران (۲۸) به‌صورت ۳۴ کروموزوم متاسنتریک، ۱۲ ساب متاسنتریک و ۲ آکرو/ تلوسنتریک و همچنین تعداد بازوهای کروموزومی FN =۹۴ به‌دست آمد. بر اساس طول بازوها و شاخص سانترومری به‌دست آمده، آیدیوگرام ترسیم شد (شکل ۳). بلندترین و کوتاه‌ترین کروموزوم در این گونه کروموزوم‌های متاسنتریک به‌ترتیب با طول ۶/۴۰ و ۱/۶۷ میکرون بودند (جدول ۴).

جدول ۲: دسته‌بندی انواع کروموزوم‌ها بر اساس نسبت بازوها و شاخص سانترومری برگرفته از لوان و همکاران (۲۸).

نوع کروموزوم	نسبت بازوها	شاخص سانترومری
متاسنتریک (m)	۱-۱/۷	۳۷-۵۰
ساب‌متاسنتریک (sm)	۱/۷-۳	۲۵ -۳۷/۵
آکرو و تلوسنتریک (a,t)	۳ - ∞	۰-۲۲/۵

جدول ۳: فراوانی عدد کروموزومی در پلاک‌های متافازی شمارش شده در ماهی سنگ لیس.

تعداد کروموزوم در هر پلاک متافازی	۳۵	۴۰	۴۱	۴۴	۴۵	۴۶	۴۷	۴۸	۴۹	۵۰	۵۳
تعداد پلاک‌های متافازی	۲	۲	۳	۵	۲	۳	۲	۲۶	۲	۲	۱
فراوانی مشاهده شده (٪)	۴	۴	۶	۱۰	۴	۶	۴	۵۲	۴	۴	۲

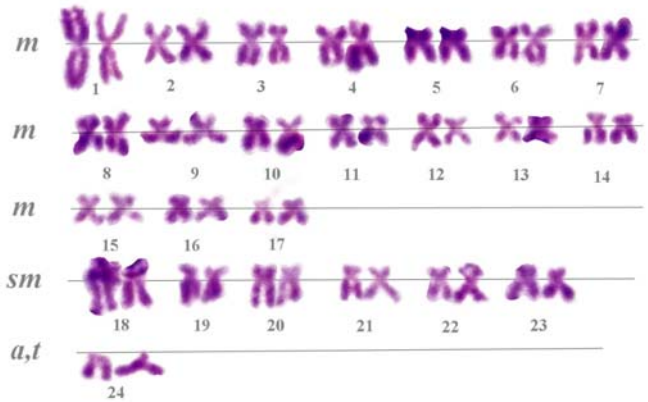
شکل ۱: گسترش کروموزومی (مرحله متافاز میتوز) در ماهی سنگ لیس معمولی (بزرگنمایی ×۱۰۰۰)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴: شاخص سانترومری ماهی سنگ لیس معمولی در رودخانه سمیرم (m: متاسنتریک، sm: ساب متاسنتریک و t,a: آکرو و تلوسنتریک).

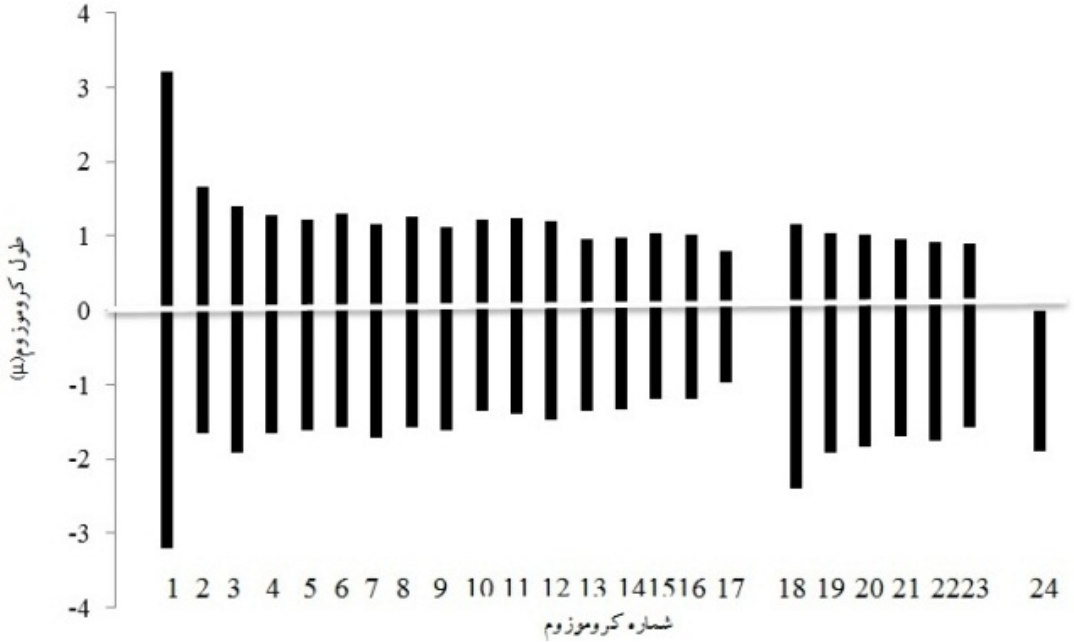
ردیف	طول بازوی کوتاه (µm)	طول بازوی بلند (µm)	طول کروموزوم (µm)	نسبت بازوها	شاخص سانترومری (٪)	طول نسبی کروموزوم (٪)	نوع کروموزوم	تعداد بازوها
۱	۳/۲۰	۳/۲۰	۶/۴۰	۱	۵۰	۹/۲۹	m	۴
۲	۱/۶۵	۱/۶۵	۳/۳۰	۱	۵۰	۴/۷۶	m	۴
۳	۱/۳۹	۱/۹۱	۳/۱۶	۱/۳۷	۴۴/۰۸	۴/۳۷	m	۴
۴	۱/۲۸	۱/۶۶	۳/۱۴	۱/۲۸	۴۰/۹۴	۳/۵۵	m	۴
۵	۱/۲۱	۱/۶۱	۳/۰۳	۱/۳۲	۴۰/۹۸	۳/۹۶	m	۴
۶	۱/۱۵	۱/۷۱	۲/۹۴	۱/۴۷	۳۹/۳۲	۴/۲۶	m	۴
۷	۱/۲۹	۱/۵۸	۲/۹۲	۱/۲۲	۴۴/۲۷	۴/۵۵	m	۴
۸	۱/۲۵	۱/۵۸	۲/۸۱	۱/۲۶	۴۴/۵۳	۴/۰۴	m	۴
۹	۱/۱۲	۱/۶۱	۲/۷۹	۱/۴۳	۴۰/۰۵	۴/۵۶	m	۴
۱۰	۱/۲۱	۱/۳۶	۲/۷۳	۱/۱۲	۴۴/۵۱	۳/۷۴	m	۴
۱۱	۱/۲۳	۱/۳۹	۲/۵۳	۱/۱۳	۴۸/۸۶	۳/۶۵	m	۴
۱۲	۱/۲۰	۱/۴۷	۲/۵۲	۱/۲۲	۴۷/۷۵	۳/۶۵	m	۴
۱۳	۰/۹۶	۱/۳۵	۲/۴۷	۱/۳۹	۳۹/۰۴	۳/۸۷	m	۴
۱۴	۰/۹۸	۱/۳۳	۲/۴۶	۱/۳۵	۳۹/۸۳	۳/۶۱	m	۴
۱۵	۱/۰۴	۱/۱۹	۲/۳۵	۱/۱۴	۴۴/۶۴	۳/۳۹	m	۴
۱۶	۱/۰۱	۱/۱۹	۲/۰۷	۱/۱۷	۴۸/۹۳	۳	m	۴
۱۷	۰/۷۹	۰/۹۸	۱/۶۷	۱/۲۳	۴۷/۷	۴/۸۸	m	۴
۱۸	۱/۱۵	۲/۳۹	۳/۸۲	۲/۰۶	۳۰/۲۵	۵/۵۳	sm	۴
۱۹	۱/۰۴	۱/۹۲	۲/۹۱	۱/۸۳	۳۵/۹۹	۴/۲۰	sm	۴
۲۰	۱/۰۲	۱/۸۳	۲/۸۲	۱/۷۹	۳۶/۲۲	۲/۴۱	sm	۴
۲۱	۰/۹۵	۱/۷۰	۲/۶۷	۱/۷۹	۳۵/۵۶	۳/۵۸	sm	۴
۲۲	۰/۹۲	۱/۷۵	۲/۵۹	۱/۸۹	۳۵/۶۳	۴/۰۷	sm	۴
۲۳	۰/۸۹	۱/۵۷	۲/۴۹	۱/۷۶	۳۵/۶۵	۴/۲۳	sm	۴
۲۴	۰	۱/۸۹	۱/۸۹	∞	۰	۲/۷۳	a,t	۲
جمع	۲۸/۲۳	۴۰/۱۸	۶۹/۱۸	-	-	۱۰۰	-	۹۴



شکل ۲: کاریوتایپ تهیه شده از کروموزوم‌های مرحله متافاز میتوز در ماهی سنگ لیس معمولی رودخانه سمیرم (بزرگ‌ترین کروموزوم، شماره ۱ و کوچک‌ترین کروموزوم، شماره ۱۷)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳: آیدیوگرام کروموزوم‌های مرحله متافاز میتوز در ماهی سنگ لیس معمولی در رودخانه سمیرم.

جدول ۵: نتایج مطالعات کاریولوژیک جنس Garra (به نقل از منبع (۱۰) با اضافات)

محققین	کشور	FN	فرمول کروموزومی				۲n	گونه
			t	a	sm	m		
Vasiles (1980)	-	-	-	-	-	-	۵۲	*G. cambodgiensis*
Golubtsov & Krysanov (1993)	–	۸	–	–	–	–	۵۰	*G. dembeensis*
Barat (1985)	هند	۹	–	۱۰	۲۶	۱۴	۵۰	*G. gotyla gotyla*
Bukhsh (1984)	هند	۷	۱۶	۱۰	۲۴	–	۵۰	*G. gotyla gotyla*
Kumari Sahoo et al. (2007)	هند	۷	۲۲	۸	۸	۱۲	۵۰	*G. gotyla gotyla*
Kumari Sahoo et al. (2007)	هند	۷	۱۲	۱۰	۱۴	۱۴	۵۰	*G. kempi*
Kumari Sahoo et al. (2007)	هند	۸	۱۲	۶	۱۶	۱۶	۵۰	*G. lissorhynchus*
Nagpure et al. (2006)	هند	۸	۸	۱۰	۱۴	۱۸	۵۰	*G. mullya*
Arkhipchuk (1999)	–	–	–	–	–	–	۵۰	*G. imberba*
Arkhipchuk (1999)	هند	۸	۱۴	۱۲	۱۸	۶	۵۰	*G. lamta*
Barat (1985)	هند	۸	۱۲	۲	۲۴	۱۲	۵۰	*G. lamta*
Khuda-Bukhsh (1980)	–	۷	۱۴	۱۲	۱۸	۶	۵۰	*G. lamta*
Barat (1985)	–	۸	–	۱۶	–	۳۴	۵۰	*G. makiensis*
Golubtsov & Krysanov (1993)	اتیوپی	۸		۱۲		۳۸	۵۰	*G. quadrimaculata*
Karahan & Ergene (2010)	ترکیه	۱	۱۸	۲۴	۱۸	۴۲	۱۰۲	*G. variabilis*
Esmaeili et al (2009)	ایران	۹	۲	–	۱۶	۳۰	۴۸	*G. persica*
Gözükara and Çavaş (2004)	ترکیه	۸	–	۲	۲۰	۲۲	۴۴	*G. rufa*
Kılıç and Demirok (2000)	ترکیه	۸	۱	۱	۲۶	۱۶	۴۴	*G. rufa*
Karahan and Ergene (2009)	ترکیه	۹	۶	۸	۱۰	۲۶	۵۰	*G. rufa*
Karahan and Ergene (2009)	ترکیه	۸	۴	۸	۱۲	۲۲	۴۶	*G. rufa*
Karahan and Ergene (2009)	ترکیه	۹	۴	۴	۱۴	۲۸	۵۰	*G. rufa*
Esmaeili and Piravar (2007)	ایران	۸	-	۱۶	۲۴	۱۰	۵۰	*G. rufa*
Present study	ایران	۹	۲	–	۱۲	۳۴	۴۸	*G. rufa*

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

گزارش‌های متعددی از عدد کروموزومی ماهی سنگ لیس معمولی وجود دارد، تعداد کروموزوم‌های این ماهی را از ۲n=۴۴ تا ۲n=۵۰ گزارش نموده‌اند (جدول ۵). بنابراین به‌نظر می‌رسد دامنه وسیعی از عدد کروموزومی برای این ماهی وجود دارد که ممکن است بیانگر وجود ارایه‌های (تاکسون‌های) مختلف در گستره پراکنش این ماهی باشد. در این مطالعه عدد کروموزومی این گونه ۲n=۴۸ به‌دست آمد که شامل ۳۴ کروموزوم متاسنتریک، ۱۲ ساب متاسنتریک و ۲ کروموزوم آکروتلوسنتریک بوده و تعداد بازوهای آن NF=۹۴ است. که در محدوده عدد کروموزومی گزارش شده برای این گونه قرار داشته و با نتایج اونلو و همکاران مطابقت دارد (۹). اسماعیلی و پیرآور (۱۰) عدد کروموزومی ۲n=۵۰ را در استان فارس برای این ماهی گزارش کردند که شامل ۱۰ کروموزوم متاسنتریک، ۲۴ ساب‌متاسنتریک و ۱۶ ساب‌تلوسنتریک بوده و تعداد بازوهای کروموزومی را NF=۸۴ به‌دست آوردند. کاراهان و اِرجِن (۱۲) در ترکیه چهار جمعیت از گونه *G. variabilis* را مورد مطالعه کاریولوژیک قرار دادند و ۲n=۴۶-۵۰ را برای این مناطق به‌دست آوردند، عدد کروموزومی دو تا از نواحی مورد مطالعه ۴۶ و دو ناحیه دیگر ۵۰ به دست آمد، فرمول کروموزومی در هر چهار ناحیه با هم تفاوت نشان داد، در این مطالعه کاهش عدد کروموزومی از ۲n=۵۰ به ۲n=۴۶ را به اتصالات سانترومری در طول این دوره تغییرات نسبت داده‌اند. همچنین اسماعیلی و همکاران (۱۱)، عدد کروموزومی ۲n=۴۸ را برای گونه ماهی سنگ لیس پارسی *G. persica* در ایران گزارش کردند. مشخص کردن تعداد کروموزوم‌ها و آنالیز شکل کروموزوم ها برای شناسایی گونه‌ها و مشخص کردن ارتباط و تفاوت‌های بین گونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. عدد کروموزومی و شکل کروموزوم‌ها می‌تواند در بین ماهیان یک گونه هم متفاوت باشد. این اختلافات می‌تواند در بررسی و شناسایی ارتباطات تکاملی درون و بین جمعیتی مورد استفاده قرار گیرد (۲۷). تطابق عدد کروموزومی به‌دست آمده در این مطالعه با عدد کروموزومی گزارش شده به‌وسیله اسماعیلی و همکاران (۱۰) برای گونه *G. persica*، همچنین مساوی بودن تعداد بازوهای کروموزومی در این مطالعه، با مطالعه مذکور می‌تواند نظریه بیانکو و بنارسکو که گونه *G. persica* را زیرگونه‌ای از *G. rufa* (۱۵) و منون (۱۳) که این دو گونه را با هم مترادف عنوان نموده بودند، را قوت بخشد.

نتیجه گیری

با توجه به این که اعداد کروموزومی متعددی در رابطه با این گونه گزارش شده است و با توجه به تفاوت در مناطق مورد مطالعه، به نظر می‌رسد که حالت پلی مورفیسم درون گونه‌ای در رابطه با این گونه وجود داشته باشد. همچنین تنوع فرمول کروموزومی و فراوانی‌های عدد کروموزومی به‌دست آمده برای گونه‌های این جنس و نتایج حاصل از مطالعات قبلی، بیانگر وجود چندریختی کروموزومی در بین جمعیت‌های آن‌ها است. پدیده چندریختی کروموزومی در ماهی‌ها نه تنها در سطح بین‌گونه‌ای بلکه حتی در بین افراد یک گونه نیز دیده می‌شود. درعین‌حال، این تفاوت‌ها می‌تواند حاصل وجود گونه‌های مختلف از این جنس باشد که نیازمند بررسی‌های بیشتر، خصوصا از نظر مولکولی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری صمیمانه کارشناس محترم آزمایشگاه شیلات دانشگاه صنعتی اصفهان، آقای مهندس سعید اسدالله و اقای مهندس محمدعلی موسوی جهت همکاری در نمونه‌برداری و کارهای آزمایشگاهی، تشکر و قدردانی می‌شود. هزینه انجام این پژوهش توسط طرح پژوهشی ملی "مطالعه و تهیه اطلس ماهیان آب‌های داخلی ایران" منعقده بین دانشگاه صنعتی اصفهان و سازمان حفاظت محیط زیست ایران به شماره ۱۱۰۲۳ تأمین شده است.

منابع

1. Eschmeyer WN, Fong JD. Catalogue of Fishes. 3Volumes, California Academy of Sciences, 2015.

2. Nelson JS. Fishes of the World. John Wiley and sons, New York, 2006. 601 p.

3. Esmaeili HR, Coad BW, Gholamifard A, Nazari N, Teimori A. Annotated checklist of the freshwater fishes of Iran. Zoosystem. Ross. 2010; 19: 361-386.

4. Keivany Y, Nasri M, Abbasi K, Abdoli A. Atlas of Inland Water Fishes of Iran. Iran Department of Environment Press, Tehran, 2015. In press.

5. Abdoli A. The Inland Water Fishes of Iran. Iran Museum of Nature, Tehran, 2000.

www.SID.ir

Archive of SID

6. Durna S, Bardakci, F, Degerli, N. Genetic diversity of *Garra rufa* Heckel, 1843 (Teleostei: Cyprinidae) in Anatolia. Biochem System Ecol. 2009; 20: 1-10.

7. Karahan A, Ergene S. Cytogenetic variation of geographically isolated four populations of *Garra rufa* (Heckel, 1843) (Pisces, Cyprinidae) in Turkey. Caryologica. 2009; 62(4): 276-287.

8. Gozukara SE, Cavas T. A karyological analysis of *Garra rufa* (Heckel, 1843) (Pisces, Cyprinidae) from the Eastern Mediterranean River Basin in Turkey. Turk J Veter Animal Sci. 2004; 28(4): 497-500.

9. Ünlü E, Kilic-Demürok N, Cengiz EI, Karadede H. Karyology of *Garra rufa* (Cyprinidae) in River Tigris (Turkey). In Ninth International Congress of European Ichthyologists (CE19) Fish Biodiversity. Italy. 1997.

10. Esmaeili HR, Piravar Z. Karyotype analysis of *Garra rufa* (Heckel, 1843) (Actinopterygii: Cyprinidae) in Fars province. Iran Sci Fish J. 2007; 16(3): 11-18.

11. Esmaeili HR, Ebrahimi M, Ansari TH, Teimory A, et al. Karyotype analysis of Persian stone lapper, *Garra persica* Berg, 1913 (Actinopterygii: Cyprinidae) from Iran", Current Science. 2009; 96: 959-961.

12. Karahan A, Ergene S. Cytogenetic analysis of *Garra variabilis* (Heckel, 1843) (Pisces, Cyprinidae) from Savur Stream (Mardin), Turkey. Turk J Fish Aquat Sci. 2010; 10: 483-489.

13. Menon AGK. Monograph of the cyprinid fises of the genus *Garra* Hamilton. Memo Indian Mus. 1964; 14(49): 173-260.

14. Ghalenoei M, Pazooki J, Abdoli A, Hassanzadeh Kiabi B, et al. Morphometric and meristic study of *Garra rufa* populations in Tigris and Persian Gulf Basins. Iran Sci Fish J. 2010; 19(3): 107-118.

15. Bianco PG, Banarescu P. A contribution to the knowledge of the Cyprinidae of Iran (Pisces, Cypriniformes), Cybium.1982; 6(2): 75-96.

16. Esmaeili HR, Ebrahimi M, Ansari TH, Teimory A, et al. Karyotype Pourali-Darestani SA, Bazyar A, Hasanzadeh-Kiabi B. A karyological study of *Barbus capito*, *Barbus mursa* and two populations of *Capoeta capoeta* from northern Iran. Iran J. Natural Res. 2006; 58(4): 831-842.

17. Teimori A, Hojat Ansari T. Karyotype Analysis of the King Nase Fish, *Chondrostoma regium* (Heckel,1843) (Actinopterygii: Cyprinidae) from Iran. Turk J Fish Aquat Sci. 2010; 10: 477-481.

18. EsmaeiliHR, Piravar Z. Karyotype of Persian chub, *Petroleuciscus persidis* (Coad, 1981) (Actinopterygii: Cyprinidae) from Southern Iran. Turk J Zool. 2006; 30: 137-139.

19. Nasri M, Keivany Y, Dorafshan S. First karyological analysis of smallmouth lotak, *Cyprinion kais* Heckel, 1843, an endemic Cyprinid fish from the Tigris-Euphrates Basin. Ital J Zool. 2010; 77(3): 272–276.

20. Esmaeili HR, Gholami Z, Nazari N, Gholamifard A, et al. Karyotype Analysis of an Endemic Sucker Catfish, *Glyptothorax silviae* Coda, 1981 (Actinopterygii: Sisoridae) from Iran. Turk J Zool. 2009; 33(4): 409-412.

21. Esmaeili HR, Ebrahimi M, Piravar Z, Teimory A. First report on the karyotype of spiny eel *Mastacembelus mastacembelus* from south of Iran. J Sci. 2006; 18(3): 48-54.

22. Esmaeili HR, Piravar Z. First report on karyotype of *Cyprinion tenuiradius* Heckel, 1849 (Pisces: Cyprinidae), from Southwest of Iran. J Zool Mid East. 2006; 39: 75-80.

23. Esmaeili HR, Piravar Z, Ebrahimi M. First karyological analysis of Iranian cichlid fish, *Iranocichla hormuzensis* Coad, 1982 (Perciformes, Cichlidae) from southern Iran. J Appl Anim Res. 2006; 30(1): 77-80.

24. Esmaeili HR, Piravar Z, Shiva AH. Karyological analysis of two endemic tooth-carps, *Aphanius persicus* and *A. sophiae* (Pisces: Cyprinodontidae) from Southwest of Iran. Turk J Zool. 2007; 31: 64-74.

25. Esmaeili HR, Ebrahimi M, Teimory A, Hojat Ansari T. First karyological analysis of an endemic fish, Zagros tooth –carp *Aphanius vladykovi* Coad, 1988 (Actinopterygii, Cyprinodontidae) from Iran. Iranian Journal of Science and Technology. 2009; 33(4): 349-354.

26. Esmaeili HR, Ebrahimi M, Teimory A, Hojat Ansari T. First karyological analysis of an endemic fish, Isfahan tooth–carp *Aphanius isfahanensis* (Actinopterygii, Cuprinodontidae) from Iran. J Appl Anim Res India. 2008; 33: 73-76.

27. Thorgaard G.H, Disney J.E. Chromosom preparation and analysis. In Schreck CB, Moyle PB (eds), Method for fish biology, American Fisherise Society, Bethesta, Maryland; 1990; 171-190.

28. Levan A, Fredga K, Sandberg AA. Nomenclature for centrometric position on chromosomes. Hereditas. 1964; 52(2): 201-220.

29. Netto MRB, Pauls E, Affonso PRA. A standard protocol for obtaining fish chromosomes under post-mortem conditions. Micron 2007; 38: 214-217.

30. Pourali-Darestani SA, Bazyar A, Hasanzadeh-Kiabi B. A karyological study of *Barbus capito*, *Barbus mursa* and two populations of *Capoeta capoeta* from northern Iran. Iran J. Natural Res. 2006; 58: 4.

31. Gaffaroglu M, Yilmaz M, Yilmaz M. Karyotype of *Pseudorasbora parva* (Temminck and schlegel, 1846) (Pisces ,Cyprinidae) in Kizilirmak River, Turkey", Kafkas Univers Veter Fakult Dergisi, 2009; 15(3): 407-409.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Cell & Tissue (JCT) *Original Article*
Autumn 2015; 6(3):381-388

Karyology of *Garra rufa* from Semirom River, Isfahan Province (Actinopterygii: Cyprinidae)

Nezamoleslami A, M.Sc.[1], Keivany Y, Ph.D[2*], Salar Dorafshan S, Ph.D[2]

1. M.Sc. graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan 8415683111, Iran
2. Faculty member, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan 8415683111, Iran

* Email corresponding author: keivany@cc.iut.ac.ir

Received: 11 Feb. 2015 Accepted: 19 May. 2015

Abstract

Aim: To study the karyotype and chromosomal characteristics of *Garra rufa* from Semirom River (Karun River drainage) of Isfahan province.

Material and Methods: Seven specimens of *Garra rufa* was collected by a seine net and transferred live to the laboratory. After squashing of gill and head kidney tissues, the tissue was stained by Giemsa. The mitosis was triggered by PHA, followed by other routine procedures of karyology.

Results: From the total 50 mitotic metaphases obtained from 7 individuals, 2n=48 had the highest frequency (52%), consisting of 34 metacentric, 12 submetacentric and 2 acro/telocentric chromosomes. The fundamental number of chromosome arms (NF) was 94. The total lengths of the smallest and largest chromosomes were 6.40 and 1.67 µm, respectively.

Conclusions: The diversity in chromosomal number, chromosomal formulae and the fundamental number of chromosome arms (NF), may indicate the presence of an interspecific polymorphism or the presence of several species in this species which need further investigations, especially from a molecular point of view.

Keywords: Chromosome, Cyprinidae, Cytogenetics, Karyotype

www.SID.ir