

بررسی کاربوتایپ ماهی گل چراغ (*Garra rufa* (Heckel, 1843) در استان فارس (Actinopterygii: Cyprinidae)

حمید رضا اسماعیلی* و زینب پیراوار

hresmaeili@yahoo.com

بخش زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، صندوق پستی: ۷۱۴۵۴

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۸۶

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۴

چکیده

تعداد کروموزومها و کاربوتایپ ماهی گل چراغ (*Garra rufa* (Heckel, 1843) متعلق به خانواده کپور ماهیان با استفاده از روش معمول در آزمایشگاه تعیین گردید. در این بررسی ۵ عدد ماهی گل چراغ صید شده از رودخانه رودبال فیروزآباد فارس (حوضه مند) مورد استفاده قرار گرفت و با شمارش ۳۰ گسترش کروموزومی، تعداد کروموزومهای این ماهی $2n=50$ و تعداد بازوهای آن $NF=84$ تعیین گردید. با استفاده از نسبت طول بازوی بلند کروموزوم به طول بازوی کوتاه آن فرمول کروموزومی $10M+24SM+16ST$ ساب متاستریک و ۱۶ ساب تلوسنتریک ($10M+24SM+16ST$) بدست آمد.

لغات کلیدی: ماهی گل چراغ، *Garra rufa*، کاربوتایپ، کروموزوم

مقدمه

ماهی گل چراغ در ایران اصولاً براساس ویژگیها یا صفات ریخت شناسی و تشریحی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (Coad, 2005; عبدلی، ۱۳۷۸). بکارگیری روشهای غیر مورفولوژیک مانند مطالعات سیتوژنتیک ممکن است زمینه لازم را برای شناخت بهتر آن فراهم آورد. بررسی مطالعات سیتوژنتیکی از جمله مطالعات کاربوتایی ماهیان در سالهای اخیر مورد توجه زیادی واقع شده است.

تاکنون کاربوتایپ تعداد زیادی از ماهیان پرورشی و یا ماهیانی که ارزش اقتصادی دارند و نیز تعداد دیگری از ماهیان شامل ماهیان خاویاری (نوروزفشخامی، ۱۳۷۴)، ماهی سیم (نهایندی و همکاران، ۱۳۸۰)، کپور نقره‌ای (وارسته و همکاران، ۱۳۸۱)، کپور علفخوار (نوروزفشخامی و همکاران، ۱۳۸۱)، مار ماهی خاردار آب شیرین (اسماعیلی و همکاران، ۱۳۸۴)، ماهی سر مخروطی پارس جنوب ایران (Esmaeili & Piravar, 2006) و سیکلید هرمزی (Esmaeili et al. 2006) توسط

ماهی گل چراغ با نام علمی (*Garra rufa* (Heckel, 1843) متعلق به خانواده کپور ماهیان و زیر خانواده Garrinae است (Nelson, 2006). جنس *Garra* در جنوب غربی آسیا و همینطور از آفریقا تا جنوب شرقی آسیا یافت می‌شود و دارای ۷۳ گونه است که ۴ گونه آن شامل (*Garra persica* (Berg, 1913) (Nikolsky, 1900) *G. rossica* (Heckel, 1843) و *G. variabilis* (Heckel, 1843) و *G. rufa* (1843) در ایران وجود دارد (Coad, 1998).

Garra rufa در ایران دارای اسامی مختلفی از جمله ماهی سنگ لیس، ماهی سنگی، ماهی گل خورک، ماهی گل چراغ، شل ماهی و گارا روفاست و در حوضه‌های رودخانه کر، دجله و فرات، دریاچه مهارلو، حوضه‌های خلیج، انشعابات رودخانه کارون (استان چهارمحال و بختیاری)، رودخانه بازفت، ارمند، بشار و ماربر یافت می‌شود (Coad, 2005; عبدلی، ۱۳۷۸).

* نویسنده مسئول

خشک شدن لامها در هوای آزمایشگاه، به مدت ۱۵ دقیقه با گیمسای ۱۰ درصد با pH ۶/۸ رنگ آمیزی و سپس با آب مقطر شستشو و در محیط آزمایشگاه خشک گردیدند. لامها توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی گرفت و گسترشهای کروموزومی مناسب شمارش شده و سپس با میکروسکوپ دوربیندار از متافازهای مناسب عکسبرداری بعمل آمد. اندازه گیری طول بازوها در نرم افزار Image Tool, Version 3.00, تعیین کاربوتیپ در برنامه فتوشاپ و رسم ایدیوگرام در برنامه Harvard Graphics 2.0 و فتوشاپ انجام گرفت. شاخص سانترومیری بصورت نسبت طول بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم محاسبه گردید. نوع کروموزوم بر اساس روش لوان (Levan *et al.*, 1964) تعیین گردید.

نتایج

در بررسی میکروسکوپی لامها از میان ۳۰ عدد پلاک متافازی شمارش شده از ۵ ماهی، ۲۰ عدد ۵۰ تایی، ۶ عدد ۴۹ تایی، ۲ عدد ۴۷ تایی، ۱ عدد ۵۲ تایی و ۱ عدد ۴۸ تایی مشاهده شد (جدول ۱).

با اندازه گیری طول بازوی بلند و کوتاه کروموزوم و همچنین طول کل کروموزوم و نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه، فرمول کروموزومی (16ST+24SM+10M) برای این گونه تعیین گردید (شکل ۱ و ۲ و جدول ۱). تعداد بازوهای کروموزومی این ماهی NF=84 بدست آمد. ایدیوگرام هاپلوئید این ماهی در نمودار ۱ نشان داده شده است.

محققین ایرانی گزارش شده است اما اطلاعاتی در مورد کاربوتایپ شمار زیادی از گونه های بومی دیگر از جمله ماهی گل چراغ در دسترس نیست. از طرفی اختلاف فاحشی در تعداد کروموزومهای گزارش شده این ماهی در کشورهای دیگر وجود دارد (Gozukara & Cavas, 2004). لذا هدف از این پژوهش تعیین تعداد، نوع کروموزوم و نیز رسم ایدیوگرام ماهی گل چراغ از جنوب ایران است.

مواد و روش کار

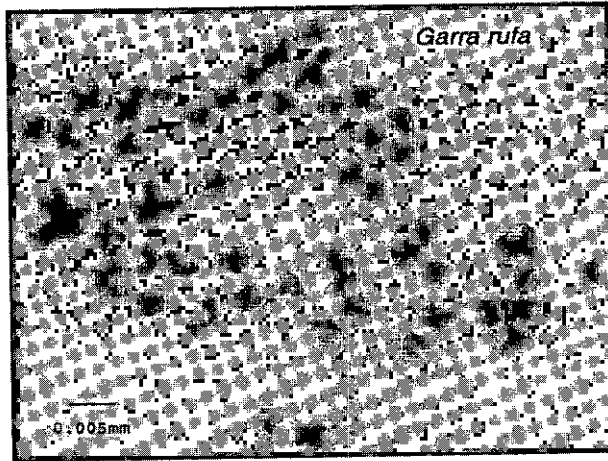
در این مطالعه ۵ عدد ماهی گل چراغ با میانگین طول ۵۳/۰۶ میلی متر و میانگین وزن ۱/۳۹ گرم از رودخانه رودبال فیروزآباد (حوضه مند) در استان فارس جمع آوری و به صورت زنده به آزمایشگاه تحقیقاتی ماهی شناسی بخش زیست شناسی دانشگاه شیراز منتقل شد. نمونه ها تا شروع آزمایش در آکواریوم با هوادهی مناسب نگهداری شدند. در این تحقیق مهارکننده میتوزی کلشی سین ۰/۰۲۵ درصد و به میزان ۰/۰۲ میلی گرم در لیتر به ازای هر گرم وزن ماهی بطور مستقیم به درون صفاق ماهی زنده تزریق شد و پس از ۳ تا ۵ ساعت آزاد گذاشتن ماهی در آکواریوم آن را خارج کرده، آبشش و کلیه را از بدن ماهی بیرون آورده و در محلول هیپوتونیک کلرید پتاسیم ۰/۳۶ درصد به مدت ۴۰ دقیقه به صورت سوسپانسیون قرار داده شد (Esmaeili & Piravar, 2006). پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده، محلول رویی جدا گردیده و به رسوب باقی مانده چهار میلی لیتر فیکساتیو کارنوی سرد و تازه اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس چند قطره از سوسپانسیون سلولی از فاصله ۸۰ تا ۱۰۰ سانتیمتری روی اسلایدهای سرد چکانده شد. پس از

جدول ۱: فراوانی کروموزومها در ماهی گل چراغ *Garra rufa*

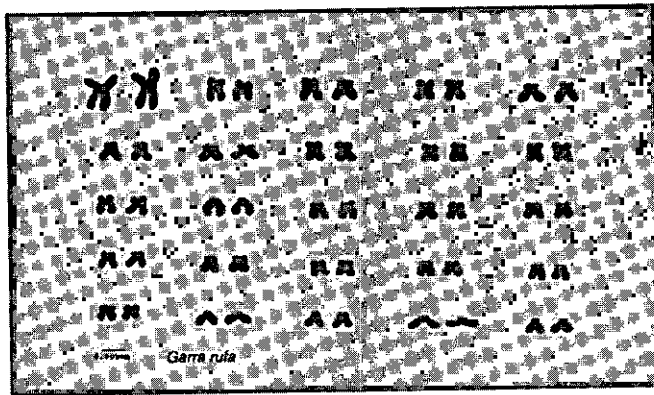
تعداد کروموزوم	۵۰	۴۹	۴۷	۵۲	۴۸
تعداد پلاک متافازی	۲۰	۶	۲	۱	۱
درصد فراوانی	۶۶/۶	۲۰	۶/۶	۳/۳	۲/۳

جدول ۲: طبقه‌بندی و اندازه‌گیری کروموزومی ماهی *Garra rufa*. (M) متاستریک، (Sm) ساب متاستریک، (St) ساب تلوستریک

شماره کروموزوم	طول بازوی کوتاه (میکرومتر)	طول بازوی بلند (میکرومتر)	طول کل (میکرومتر)	نسبت بازوها	شاخص سانترومری	نوع کروموزوم
۱	۱/۵۸	۵/۸۹	۲/۴۷	۴/۷۲	۰/۲۰	St
۲	۲/۶۴	۴/۰۷	۴/۷۱	۱/۵۴	۰/۳۹	M
۳	۲/۳۲	۴/۳۵	۶/۶۶	۱/۸۸	۰/۳۵	Sm
۴	۲/۹۶	۳/۳۰	۶/۲۶	۱/۱۲	۰/۴۷	M
۵	۲/۴۴	۳/۸۱	۶/۲۵	۱/۵۶	۰/۳۹	M
۶	۱/۹۴	۴/۲۶	۶/۲۰	۲/۲۰	۰/۳۱	Sm
۷	۱/۷۳	۳/۷۵	۵/۴۸	۲/۱۷	۰/۳۲	Sm
۸	۲/۵۵	۲/۹۱	۵/۴۶	۱/۰۲	۰/۴۹	M
۹	۱/۹۴	۳/۴۹	۵/۴۳	۱/۸۰	۰/۳۶	Sm
۱۰	۱/۲۳	۴/۰۲	۵/۲۵	۳/۲۶	۰/۲۳	SM
۱۱	۲/۱۷	۲/۹۳	۵/۱۱	۱/۳۵	۰/۴۲	M
۱۲	۱/۱۰	۳/۸۵	۴/۹۵	۳/۵۰	۰/۲۲	St
۱۳	۱/۱۳	۳/۵۴	۴/۶۷	۳/۱۳	۰/۲۴	St
۱۴	۱/۴۷	۳/۱۷	۴/۶۳	۲/۱۶	۰/۳۲	Sm
۱۵	۱/۵۶	۳/۰۶	۴/۶۲	۱/۹۶	۰/۳۳	Sm
۱۶	۱/۷۰	۲/۹۲	۴/۶۲	۱/۷۱	۰/۳۶	Sm
۱۷	۱/۴۳	۲/۸۹	۴/۳۲	۲/۰۳	۰/۳۳	Sm
۱۸	۱/۵۹	۲/۷۳	۴/۳۲	۱/۷۱	۰/۳۶	Sm
۱۹	۱/۰۲	۳/۲۶	۴/۲۸	۳/۱۹	۰/۲۴	St
۲۰	۱/۰۶	۳/۲۰	۴/۲۶	۳/۰۱	۰/۲۵	St
۲۱	۱/۰۹	۳/۰۰	۴/۰۹	۲/۷۵	۰/۲۶	Sm
۲۲	۱/۴۱	۲/۶۸	۴/۰۹	۱/۹۰	۰/۳۴	Sm
۲۳	۱/۴۲	۲/۶۰	۴/۰۲	۱/۸۳	۰/۳۵	Sm
۲۴	۰/۹۵	۲/۹۴	۳/۸۹	۳/۰۷	۰/۲۴	St
۲۵	۰/۹۱	۲/۷۴	۳/۶۵	۳/۰۱	۰/۲۰	St



شکل ۱: گسترش کروموزومی ماهی گل چراغ (*Garra rufa*)، $2n=50$.



شکل ۲: کاربوتایپ ماهی گل چراغ (*Garra rufa*)، $2n=50$.



نمودار ۱: ایدیوگرام هاپلوئیدی ماهی گل چراغ (*Garra rufa*)، $n=25$.

بحث

برای گونه دیگری از این جنس با نام علمی *Garra cambodgiensis* عدد کروموزومی $2n=52$ گزارش شده است (Hinegardner & Rosen, 1972). تفاوت در عدد کروموزومی و فرمول کروموزومی و یا تعداد بازوها ممکن است بدلیل شرایط آزمایش، از دست رفتن کروموزومها در موقع تهیه گسترش (حذف کروموزومی)، جابجایی نادرست سلولهای تثبیت شده در حین گسترش، حالت پلی مورفیسم درون گونه‌ای، اضافه شدن کروموزومها از سلولهای مجاور، عدم تشخیص و تفکیک بازوهای بسیار ریز، عدم تشخیص صحیح گونه مورد مطالعه، کافی نبودن تعداد نمونه‌های مورد مطالعه و ... باشد (Unlu et al., 1997; Khuda-Bukhsh et al., 1986). با توجه به اینکه در بیش از ۷۰ درصد گونه‌های کپور ماهیانی که تاکنون توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته تعداد کروموزومهای آنها معادل $2n=50$ است و این عدد کروموزومی بعنوان یک عدد کروموزومی مدل و پایه‌ای برای خانواده کپور ماهیان در نظر گرفته شده است (Khuda-Bukhsh et al., 1986) و با نظر به این مطلب که در اکثر گونه‌های جنس *Garra* مورد مطالعه قرار گرفته $2n=50$ است، بنابراین عدد کروموزومی $2n=50$ برای گونه *Garra rufa* منطقی بنظر می‌رسد. به هر حال بررسی کاربوتایپ این ماهی با روشهای نواریندی کروموزومی (Banding) و بکارگیری تعداد بیشتری نمونه پیشنهاد می‌گردد. بدین ترتیب، با ارائه کاربوتایپ این گونه، اطلاعات بیشتری جهت استفاده در بانک اطلاعاتی سیتوژنتیک ماهیان به منظور مدیریت صحیح ذخایر این گونه بومی در دسترس قرار می‌گیرد.

تشکر و قدردانی

از دانشکده علوم دانشگاه شیراز جهت حمایت مالی برای انجام این تحقیق و از آقایان مهرگان ابراهیمی و آزاد تیموری به جهت همکاری در تهیه کاربوتایپ تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

منابع

اسماعیلی، ح. ر.؛ ابراهیمی، م.؛ پیراور، ز. و تیموری، آ.، ۱۳۸۶. اولین گزارش نقشه کروموزومی مار ماهی خاردار

گزارشات متعددی از عدد کروموزومی ماهی *Garra rufa* وجود دارد. Arkhipchuk (1999) تعداد کروموزومهای این ماهی را $2n=44$ تا $2n=50$ گزارش می‌نماید. Vasilev (1980) عدد کروموزومی آن را $2n=44$ تا $2n=52$ اعلام نمود. بنابراین بنظر می‌رسد دامنه وسیعی از عدد کروموزومی برای این ماهی وجود دارد. بررسی‌های کاربوتایپ ماهی گل چراغ که در ترکیه توسط Cavas و Gozukava در سال ۲۰۰۴ انجام شد، نشان داد که عدد کروموزومی این ماهی $2n=44$ که شامل ۲۲ کروموزوم متاستریک، ۲۰ ساب متاستریک و ۲ آکروسنتریک می‌باشد. آنها تعداد بازوهای کروموزومی این ماهی را $NF=85$ گزارش نمودند، اما Unlu et al. (1997) عدد کروموزومی $2n=48$ برای این مهره‌دار آبرزی پیشنهاد می‌کنند. در این تحقیق، تعداد کروموزومهای ماهی *Garra rufa* $2n=50$ بدست آمد که شامل ۱۰ کروموزوم متاستریک، ۲۴ ساب متاستریک و ۱۶ ساب تلوسنتریک بوده و تعداد بازوهای کروموزومی آن $NF=84$ است. عدد کروموزومی $2n=50$ ثبت شده برای این ماهی از نظر تعداد در محدوده عدد کروموزومی گزارش شده توسط Arkhipchuk (1999) و Vasilev (1980) است. ولی تعداد بازوی کروموزومی و فرمول کروموزومی آن با نتایج بدست آمده توسط Cavas و Gozukava در سال ۲۰۰۴ مطابقت ندارد. گزارشی در مورد عدد کروموزومی تعدادی دیگر از گونه‌های جنس *Garra* وجود دارد که در آنها عدد کروموزومی $2n=50$ را برای اعضای این جنس ارائه داده‌اند. Kryanov و Golbutsov در سال ۱۹۹۳ کاربوتایپ سه گونه مختلف از جنس *Garra* را در اتیوپی مورد بررسی قرار دادند و عدد کروموزومی $2n=50$ را برای سه گونه *Garra demebeensis* (Ruppell, 1837) و *G. makiensis* (Boulenger, 1903) و *G. quadrimaculata* (Ruppell, 1837) گزارش نمودند. نتایج فوق نشان داد که تعداد بازوهای کروموزومی برای این سه گونه برترتیب ۸۲، ۸۴ و ۸۸ است. علاوه بر عدد کروموزومی $2n=50$ برای *Garra pingi pingi*، *Garra lampta* و *Garra gotyla gotyla* توسط محققین مختلف گزارش شده است (Klinkhardt et al., 1995; Khuda-Bukhsh et al., 1986).

- Esmacili, H.R. ; Piravar, Z. and Ebrahimi, M. , 2006. First karyological analysis of Iranian cichlid fish, *Iranocichla hormuzensis* Coad, 1982 (Perciformes: Cichlidae) from southern Iran. Journal of Applied Animal Research, Vol. 30, No. 1, pp.77-80.
- Gozukara, E. and Cavas, T. , 2004. A karyological analysis of *Garra rufa* from the Eastern Mediterranean River Basin in Turkey. Turkish Journal of Veterinary Animal Science, Vol. 28, pp.497-500.
- Hinegardner, R. and Rosen, D.E. , 1972. Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes. Am. Nat., Vol. 106, pp.621-644.
- Khuda-Bukhsh, A.R. ; Chanda, T. and Barat, A. , 1986. Karyomorphology and evolution in some Indian hillstream fishes with particular references to polyploidy in some species. In: Indo-Pacific Fish Biology: Proceeding of the second international conference on Indo-Pacific Fishes (Eds. T. Uyeno; R. Arai; T. Taniuchi and K. Matsuura). Ichthyological Society of Japan, Tokyo, Japan. pp.886-898.
- Kilinkhadrt, M. ; Tesche, M. and Greven, H. , 1995. Database of fish chromosomes. Westarp Wissenschaften. www.fishbase.org.
- Krysanov, E.Y. and Golubtsov, A.S. 1993. Karyotypes of the three *Garra* species from Ethiopia. Journal of Fish Biology, Vol. 42, No. 3, pp.465-467.
- Levan, A. ; Fredga, K. and Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric positions on chromosomes. Hereditas, Vol. 52, pp.201-202.
- Mastacembelus mastacembelus* از جنوب ایران. مجله علوم پایه دانشگاه الزهراء. جلد ۱۸. شماره ۳، صفحات ۴۸ تا ۵۴
- عبدلی، ا.، ۱۳۷۸. ماهیان آبهای داخلی ایران. انتشارات نقش مانا. تهران، ۳۷۸ صفحه.
- نوروزفشخامی، م.، ۱۳۷۴. کاربوتایپ ماهیان خاویاری از طریق کشت گلبولهای سفید خون. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۲، سال چهارم، صفحات ۶۳ تا ۷۱.
- نوروزفشخامی، م.؛ پورکاظمی، م. و کلباسی، م.، ۱۳۸۱. تهیه کاربوتایپ ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). مجله علمی شیلات. سال یازدهم. شماره ۳، صفحات ۱۳۷ تا ۱۴۳.
- نهادندی، ر.؛ امینی، ف. و رضوانی، س.، ۱۳۸۰. بررسی سیتوژنتیک ماهی سیم (*Abramis brama*) حوضه جنوبی دریای خزر. مجله علمی شیلات. سال دهم. شماره ۳، صفحات ۸۹ تا ۱۰۰.
- وارسته، ا.؛ حسین زاده مقدم، م.؛ پورکاظمی، م. و نوروزفشخامی، م.، ۱۳۸۱. بررسی تعداد کروموزومهای ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و تهیه کاربوتایپ آن. مجله علمی شیلات. سال یازدهم. شماره ۱، صفحات ۱۰۷ تا ۱۱۴.
- Arkhipchuk, V.V. , 1999. Chromosome database. Database of Dr. Victor Arkhipchuk. www.fishbase.org
- Coad, B.W. , 1998. Systematic biodiversity in the freshwater fishes of Iran. Italian Journal of Zoology, Vol. 65, pp.101-108.
- Coad, B. W. 2005. www. Briancoad .com.
- Esmacili, H.R. and Piravar, Z. , 2006. Karyotype of Persian chub, *Petroleuciscus persidis* (Coad, 1981)(Actinopterygii: Cyprinidae) from Southern Iran. Turkish Journal of Zoology, Vol. 30, pp.137-139.

- Nelson, J.S. , 2006. Fishes of the World. 3rd Edition. John Wiley & Sons, New York, USA. xix + 601P.
- Ünlü, E. ; Kilic-Demirok, N. ; Cengiz, E.I. and Karadede, H. , 1997. Karyology of *Garra rufa* (Cyprinidae) in River Tigris (Turkey). Ninth International Congress of European Ichthyologists (CEI9) "Fish Biodiversity". Italy, 1997 (Napoli-Trieste). Book of Abstracts. 95P.
- Vasilev, V.P. , 1980. Chromosome numbers in fish-like vertebrates and fish. Journal of Ichthyology. Vol. 20, No.3, pp.1-38.

Karyotype analysis of *Garra rufa* (Heckel, 1843) (Actinopterygii: Cyprinidae) in Fars province

Esmaeili H.R.* and Piravar Z.

hresmaeili@yahoo.com

Department of Biology, Faculty of Science, Shiraz University, P.O.Box: 71454, Shiraz, Iran

Received: October 2005

Accepted: May 2007

Keywords: *Garra rufa*, Karyotype, Fars province, Iran

Abstract

The number of chromosome and karyotype of *Garra rufa* (Heckel, 1843) was determined by the conventional preparation and Gimsa staining technique, using gill epithelia and kidney cells. In this investigation, 5 specimens of *Garra rufa* were used which collected from Rodbal River, Firouzabad, Fars Province. Based on 30 chromosome spreads counts, the chromosome number was found to be $2n=50$ with arm number $NF=84$. By using the ratio of long arm to short arm, the karyotype formula of 10 metacentric, 24 sub-metacentric and 16 sub-telocentric (10M +24SM +16St) was obtained.

* Corresponding author