

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

حمید رضا اسماعیلی* و زینب پیراور

hresmaeili@yahoo.com

بخش زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، صندوق پستی: ۷۱۴۵۴

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۸۶ تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۴

چکیده

تعداد کروموزومها و کاریوتایپ 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 رودبار فیروزآباد فارس (حوضه مند) مورد استفاده قرار گرفت و با شمارش ۳۰ گسترش کروموزومی، تعداد کروموزومهای این ماهی $2n=50$ و تعداد بازویهای آن $NF=84$ تعیین گردید. با استفاده از نسبت طول بازوی بلند کروموزوم به طول بازوی کوتاه آن فرمول کروموزومی $10M+24SM+16ST$ (۱۰M+۲۴SM+۱۶ST) امتاستریک، ۲۴ ساب متاستریک و ۱۶ ساب تلوستریک بدست آمد.

لغات کلیدی: ماهی گل چراغ، *Garra rufa*، کاریوتایپ، 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؛ عبدالی، 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 کاریوتایپی ماهیان در سالهای اخیر مورد توجه زیادی واقع شده است. تاکنون کاریوتایپ تعداد زیادی از ماهیان پرورشی و یا ماهیانی که ارزش اقتصادی دارند و نیز تعداد دیگری از ماهیان شامل ماهیان خاویاری (نوروزفشاخانی، ۱۳۷۴)، ماهی سیم (نهادنی و همکاران، ۱۳۸۰)، کپور نقره‌ای (وارسته و همکاران، ۱۳۸۱)، کپور علفخوار (نوروزفشاخانی و همکاران، ۱۳۸۱)، مار ماهی خاردار آب شیرین (اسماعیلی و همکاران، ۱۳۸۴)، ماهی سر مخروطی پارسی 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* (Nelson, 2006) جنس *Garra* در جنوب غربی آسیا و همینطور از آفریقا تا جنوب شرقی آسیا یافت می‌شود و ذارای ۷۳ گونه است که

نيکلسکي (Nikolsky,) *Garra persica* (Berg, 1913) و *Garra heckeli* (Heckle,) *G. variabilis* (Heckel, 1843) و *G. rossica* (1900

G. rufa (1843) در ایران وجود دارد (Coad, 1998). *Garra rufa* در ایران دارای اسمی مختلفی از جمله ماهی سنگ لیس، ماهی سنگی، ماهی گل خورک، ماهی گل چراغ، شل ماهی و گارا روفا است و در حوضه‌های رودخانه کر، دجله و فرات، دریاچه مهارلو، حوضه‌های خلیج، انشعبابات رودخانه کارون (استان چهارمحال و بختیاری)، رودخانه بازفت، ارمند، بشار و ماربر یافت می‌شود (Coad, 2005؛ عبدالی، ۱۳۷۸).

* نویسنده مسئول

خشک شدن لامها در هوای آزمایشگاه، به مدت ۱۵ دقیقه با گیمسای ۱۰ درصد با pH ۶/۸ رنگ‌آمیزی و سپس با آب مقطر شستشو و در محیط آزمایشگاه خشک گردیدند. لامها توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی گرفت و گسترشاهی کروموزومی مناسب شمارش شده و سپس با میکروسکوپ دوربین دار از متافازهای مناسب عکسبرداری بعمل آمد؛ اندازه‌گیری طول بازوها در نرم افزار Image Tool, Version 3.00, تعیین کاریوتایپ در برنامه فتوشاپ و رسم ایدیوگرام در برنامه Harvard Graphics 2.0 و فتوشاپ انجام گرفت. شاخص سانتورومری بصورت نسبت طول بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم محاسبه گردید. نوع کروموزوم بز 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 اندازه‌گیری طول بازوی بلند و کوتاه کروموزوم و همچنین طول کل کروموزوم و نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه، فرمول کروموزومی (۱۰M+۲۴SM+۱۶ST) برای این گونه تعیین گردید (شکل ۱ و ۲ و جدول ۱). تعداد بازوهای کروموزومی این ماهی NF=۸۴ بدست آمد. ایدیوگرام هابلوبید این ماهی در نمودار ۱ نشان داده شده است.

حقیقین ایرانی گزارش شده است اما اطلاعاتی در مورد کاریوتایپ شمار زیادی از گونه‌های 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

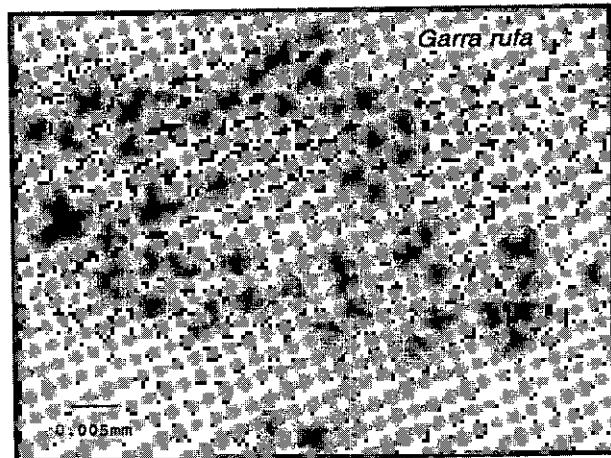
در این مطالعه ۵ عدد ماهی گل چراغ با میانگین طول ۵۳/۰۰ میلی‌متر و میانگین وزن ۱/۳۹ گرم از روختانه روبدال فیروزآباد (حوضه مند) در استان فارس جمع‌آوری و به صورت زنده به آزمایشگاه تحقیقاتی ماهی‌شناسی بخش زیست‌شناسی دانشگاه شیراز منتقل شد. نمونه‌ها تا شروع آزمایش در آکواریوم با هواهی مناسب نگهداری شدند. در این تحقیق مهارکننده میتوzی کلشی سین ۰/۰۲۵ درصد و به میزان ۰/۰۲ میلی‌گرم 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 سانتریفیوژ شده، محلول رویی جدا گردیده و به رسمی باقی مانده چهار میلی‌لیتر 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*

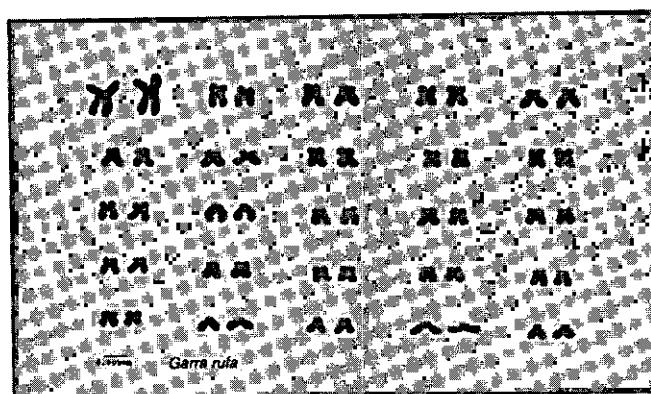
تعداد کروموزوم	تعداد پلاک متافازی	درصد فراوانی
۴۸	۱	۱
۵۲	۲	۲/۳
۴۷	۶	۲/۳
۴۹	۲۰	۶/۶
۵۰	۲۰	۶۶/۶

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

شماره کروموزوم	کوتاه (میکرومتر)	طول بازوی بلند (میکرومتر)	طول بازوی بلند (میکرومتر)	طول کل (میکرومتر)	نسبت بازوها	شاخص سانترومری	نوع کروموزوم
۱	۱/۰۸	۰/۸۹	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	۲/۳۰	۶/۲۶	۱/۱۲	۰/۴۷	M	
۵	۲/۴۴	۳/۸۱	۶/۲۵	۱/۰۶	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	۲/۰۰	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	۴/۹۰	۳/۰۰	۰/۲۲	St	
۱۳	۱/۱۳	۳/۰۴	۴/۶۷	۳/۱۳	۰/۲۴	St	
۱۴	۱/۴۷	۳/۱۷	۴/۶۳	۲/۱۶	۰/۳۲	Sm	
۱۵	۱/۰۶	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	۱/۰۹	۲/۷۳	۴/۳۲	۱/۷۱	۰/۳۶	Sm	
۱۹	۱/۰۲	۳/۲۶	۴/۲۸	۲/۱۹	۰/۲۴	St	
۲۰	۱/۰۶	۳/۲۰	۴/۲۶	۲/۰۱	۰/۲۵	St	
۲۱	۱/۰۹	۳/۰۰	۴/۰۹	۲/۷۰	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	۰/۹۰	۲/۹۴	۳/۸۹	۳/۰۷	۰/۲۴	St	
۲۵	۰/۹۱	۲/۷۴	۳/۹۰	۳/۰۱	۰/۲۰	St	



شکل ۱: گسترش کروموزومی ماهی گل چراغ (*Garra rufa*)



شکل ۲: کاریوگرام ماهی گل چراغ (*Garra rufa*)



نمودار ۱: ایدیوگرام هاپلوئیدی ماهی گل چراغ (*Garra rufa*)

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 تشییت شده در حین گسترش، حالت پلی مورفیسم درون گونه‌ای، اضافه شدن کروموزومها از سلولهای مجاور، عدم تشخیص و تفکیک بازوها بسیار زیز، عدم تشخیص صحیح گونه مورد مطالعه، کافی نبودن تعداد نمونه‌های مورد مطالعه و ... باشد (Unlu et al., 1986; Khuda-Bukhsh et al., 1986; 1997) (Khuda-Bukhsh et al., 1986; 1997). با توجه به اینکه در بیش از ۲۰ درصد گونه‌های کپور ماهیانی که تاکنون توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته تعداد کروموزومها 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). این مطلب که در اکثر گونه‌های جنس *Garra* مورد مطالعه قرار گرفته است، بنابراین عدد کروموزومی $2n=50$ برای گونه *Garra rufa* منطقی بنظر می‌رسد. به هر حال بررسی کاریوتایپ این ماهی با روشهای نواربندی کروموزومی (Banding) و بکارگیری تعداد بیشتری نمونه پیشنهاد می‌گردد. بدین ترتیب، با ارائه کاریوتایپ 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 تمیوری به جهت همکاری در تهیه کاریوتایپ تشکر و قدردانی می‌نمایم.

منابع

اسمعاعیلی، ح. د.؛ ابراهیمی، م.؛ پیراور، ز. و تمیوری، آ.، ۱۳۸۴. اولین گزارش نقشه کروموزومی مار ماهی خاردار

گزارشات متعددی از عدد کروموزومی ماهی *Garra rufa* وجود دارد. Arkhipchuk (1999) تعداد کروموزومهای این ماهی را $2n=44$ و Vasilev (1980) $2n=50$ گزارش می‌نماید. عدد کروموزومی آن را $2n=44$ (Gozukava در سال ۲۰۰۴) با اعلام نمود. بنابراین بنظر می‌رسد دامنه وسیعی از عدد کروموزومی برای این ماهی وجود دارد. بررسی‌های کاریولوژیک ماهی گل چراغ که در ترکیه توسط Gozukava و Unlu et al. (1997) داد که عدد کروموزومی این ماهی $2n=44$ که شامل کروموزوم متاستریک، ۲۰ ساب متاستریک و ۲ آکروستریک می‌باشد. آنها تعداد بازوها کروموزومی این ماهی را $NF=85$ گزارش نمودند، اما $NF=84$ برای این مهره‌دار آبزی 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 تلوسترنیک بوده و تعداد بازوها کروموزومی آن $NF=84$ است. عدد کروموزومی $2n=50$ ثبت شده برای این ماهی از نظر تعداد در محدوده عدد کروموزومی گزارش شده توسط Vasilev (1980) و Arkhipchuk (1999) مطابقت ندارد. گزارشاتی 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. Krysanov و Golbutsov در سال ۱۹۹۳ کاریوتایپ سه گونه مختلف از جنس *Garra* را در اتیوبی مورد بررسی قرار دادند و عدد کروموزومی $2n=50$ را برای سه گونه *Garra demebeensis* و *G. makiensis* (Boulenger, 1903) (Ruppell, 1837) و *G. quadrimaculata* (Ruppell, 1837) گزارش نمودند. نتایج فوق نشان داد که تعداد بازوها کروموزومی برای این سه گونه بترتیب $2n=50$ ، 84 و 88 است. بعلاوه عدد کروموزومی *Garra gotyla gotyla* و *Garra lamptra* *Garra pingi pingi* توسط محققین مختلف گزارش شده است (Klinkhardt et al., 1986; Khuda-Bukhsh et al., 1986; 1995).

- Esmaeili, 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.
- عبدلی، ا. ، ۱۳۷۸.** ماهیان آبهای داخلی ایران. انتشارات نقش مان. تهران، ۳۷۸ صفحه.
- نوروزفشنامی، م. ، ۱۳۷۴.** کاریولوژی ماهیان خاویاری از طریق کشت گلبولهای سفید خون. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۲، سال چهارم، صفحات ۶۳ تا ۷۱.
- نوروزفشنامی، م.؛ پورکاظمی، م. و کلباسی، م. ، ۱۳۸۱.** تهیه کاریوتایپ ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). مجله علمی شیلات. سال یازدهم، شماره ۳، صفحات ۱۲۷ تا ۱۴۳.
- نهادنی، ر.؛ امینی، ف. و رضوانی، س. ، ۱۳۸۰.** بررسی سیتوژنتیک ماهی سیم (*Aramis 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 نوروزفشنامی، م. ، ۱۳۸۱.** بررسی تعداد کروموزومهای ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و تهیه کاریوتایپ 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.
- Esmaeili, 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. ; Kılıç-Demirok, N. ; Cengiz, E.I. and
Karadede, H. , 1997. Karyology of *Garra rufa*
(Cyprinidae) in River Tigris (Turkey). Ninth
International Congress of European Ichthy-

ologists (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 Ichthy-
ology. 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