magiran.com

تهیه کاریوتایپ ماهی سیاه کولی (*Vimba vimba persa*)

محمد پورکاظمی[۱]*؛ فاطمه کازرونی منفرد[۲]؛ فروزان باقرزاده [۳] و محمدرضا نوروز فشخامی[٤]

pourkazamei_m@yahoo.com

۱ و ٤- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، رشت صندوق پستی: ٣٤٦٤-٤١٦٣٥

۲- دانشکده محیط‌زیست دانشگاه تهران، تهران صندوق پستی: ٦١٣٥-١٤١٥٥

۳- دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا صندوق پستی: ١١٤٤

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۸۹

چکیده

در این بررسی تعداد، نوع کروموزومها و کاریوتایپ ماهی سیاه کولی (*Vimba vimba persa*) مورد تحقیق قرار گرفت. برای این منظور ۲۰۰ عدد لارو و ۱۰ عدد بچه ماهی سیاه کولی با میانگین وزنی ۳۰/۲ گرم از مرکز تکثیر و پرورش شهید انصاری رشت، جمع‌آوری و برای توقف تقسیم سلولی در مرحله متافازی از حمام کلشی سین ۰/۰۵ درصد (برای لاروها) به مدت ۶ ساعت و تزریق کلشی سین ۰/۰۱ درصد داخل صفاقی و عضله پشتی برای بچه ماهیان استفاده گردید. جهت هیپوتونیز کردن بافت‌ها از محلول KCl (۰/۰۷۵ مولار) و برای تثبیت کردن آنها از محلول کارنوی در سه مرحله استفاده شد. برای رنگ‌آمیزی لامها از گیمسای ۱۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه برای لاروها و ۳۰ دقیقه برای بچه ماهیان استفاده گردید، سپس کروموزومها در زیر میکروسکوپ بررسی شدند. تعداد ۱۰۰ گسترش کروموزومی در لاروها و ۲۰۰ گسترش کروموزومی در بچه ماهیان بررسی و شمارش شد. از مجموع ۳۰۰ لام شمارش شده در مرحلهٔ متافاز ۷۴/۶۷ درصد دارای ۲n=۵۰، ۱۴/۶۷ درصد دارای ۲n=۴۸ و ۴/۶۷ درصد دارای ۲n=۴۹ کروموزوم بودند. طبق محاسبه آماری انجام شده تعداد کروموزومهای سیاه کولی ۲n=۵۰ (۲n=۴۹/۵۴±۰/۱۱) و تعداد بازوی کروموزومی آن NF=۹۰ تعیین گردید. به منظور تهیه کاریوتایپ از بهترین پلاکهای متافازی عکس تهیه و اندازه بازوهای بلند و کوتاه کروموزومها، طول نسبی، طول کل کروموزوم و همچنین شاخص سانترومری محاسبه شد. با قراردادن جفت کروموزومهای همولوگ در کنار همدیگر فرمول کروموزومی این ماهی ۷ جفت متاسنتریک، ۱۳ جفت ساب متاسنتریک و ۵ جفت ساب تلوسنتریک یا آکروسنتریک (۷M +۱۳Sm +۵St/A) تعیین گردید. در مقایسه کاریوتایپ سیاه کولی با سایر گونه‌های متعلق به این جنس، شباهت زیادی از لحاظ تعداد و نوع کروموزوم مشاهده می‌شود.

لغات کلیدی: کروموزوم، *Vimba vimba persa*، سیتوژنتیک، دریای خزر

* نویسندهٔ مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

magiran.com
[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

مقدمه

ماهی سیاه کولی با اسم علمی (*Vimba vimba persa*) از جنس Vimba و خانواده Cyprinidae، گونه‌ای رودکوچ است که در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه‌های منتهی به آن و همچنین رودخانه کورا زیست می‌کند. بیشترین فراوانی این گونه در سواحل استان گیلان در تالاب انزلی می‌باشد (عبدلی، ۱۳۷۸؛ وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۹). این ماهی در ۳ تا ۴ سالگی بالغ شده و از اواخر اسفند تا خرداد ماه جهت تخمریزی وارد رودخانه‌ها می‌گردد و بین ۱۰۰ تا ۳۰۰ هزار تخم می‌گذارد (ستاری و همکاران، ۱۳۸۲). سیاه کولی گونه با ارزش شیلاتی محسوب می‌شود. در گذشته میزان صید آن به ۲۰۰ تن می‌رسید ولی بعلت دخالت بشر و تغییر محیط زیست بویژه فشار صید، مقدار استحصال آن در سالهای ۱۳۶۹ لغایت ۱۳۷۲ به ۲۴ تن رسید. حداکثر صید این گونه در سال ۱۳۷۶ به میزان ۳۲۷ تن گزارش شده و بعلت کاهش ذخایر، میزان صید آن به ۹ تن در سال ۱۳۸۴ رسیده است (دریانورد و همکاران، ۱۳۸۸).

از بین ۲۳۰۰۰ گونه ماهی شناسایی شده گسترش کرموزومی و کاریوتایپ ۱۰/۴ درصد آنها (۲۴۰۰ گونه)، بویژه گونه‌هایی که دارای ارزش اقتصادی می‌باشد، تعیین شده است (Al-sabti, 1987). تاکنون مطالعات اندکی در زمینه سیتوژنتیک ماهیان در ایران صورت گرفته که شامل گونه‌های ماهی سفید (نوروزفشخامی و خسروشاهی، ۱۳۷۴الف)، کپور نقره‌ای (وارسته و همکاران، ۱۳۸۱)، کپور علفخوار (نوروزفشخامی و همکاران، ۱۳۸۱)، ماهی سیم دریای خزر (نهاوندی و همکاران، ۱۳۸۰)، ماهی گل چراغ *Garra ruffa* در استان فارس (اسماعیلی و پیرآور، ۱۳۸۶)، ماهی آزاد دریای خزر (Kalbassi *et al.*, 2006)، فیلماهی (نوروزفشخامی و خسروشاهی، ۱۳۷۴ب)، تاسماهی ایرانی (Noruzfashkhami *et al.*, 2000) و ماهی سوف (میری نرگسی و همکاران، ۱۳۸۶) می‌باشد.

کپور ماهیان بومی ایران همانند سایر کپور ماهیان جهان، از لحاظ کروموزومی به دو دسته تقسیم می‌شوند. گروه اول شامل کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بین ۱۰۰ تا ۱۰۴ عدد کروموزوم دارد (Brzuska, 1988 و Fister, 2003; Al-Sabti, 1987; Zheng, 1980) و گروه دوم شامل گونه‌هایی است که بین ۵۰ تا ۶۰ کروموزوم دارند مانند ماهی سیم (*Abramis brama*) (۲n=۵۰؛ نهاوندی و همکاران، ۱۳۸۰)، ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) (۲n=۵۰؛ Vasiliev, 1985؛ نوروزفشخامی و خسروشاهی، ۱۳۷۴ب) و کلمه (*Rutilus rutilus*) (۲n=۵۰؛ Vasiliev, 1985). مطالعه کاریولوژی سیاه کولی توسط Rabova و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام گرفته و تعداد کروموزومهای آن را ۲n=۵۰ عدد گزارش نموده‌اند.

هدف از انجام این بررسی، تعیین تعداد، نوع و همچنین کاریوتایپ کروموزومهای سیاه کولی بومی آبهای ایران همراه با مشخص نمودن NF و تعیین طول بازوهای کروموزومی کوتاه، بلند و نسبتهای آن می‌باشد.

مواد و روش کار

به منظور مطالعه کروموزومی سیاه کولی ۲۰۰ عدد لارو و ۱۰ عدد بچه ماهی با میانگین وزنی۳۰/۲ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت به بخش ژنتیک انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انتقال یافت و در آکواریومهای مجهز به سیستم هوادهی نگهداری و با غذای دستی تغذیه شدند. جهت تهیه گسترش کروموزومی از روش له کردن بافت به دو روش حمام کلشی سین برای لاروها (Baksi & Means, 1988) و تزریق کلشی سین در بچه ماهیان استفاده گردید (Reddy & John, 1986). هر دو روش در اصول کلی تهیه گسترش کروموزومی مشترک بودند.

جهت تهیه گسترش کروموزومی از لارو سیاه کولی، لاروها به مدت ۶ ساعت در بشر حاوی محلول کلشی شین ۰/۰۵ درصد همراه با هوادهی نگهداری شدند. پس از این مرحله لاروها کشته شده و همراه با مقدار ۱ میلی‌لیتر محلول هیپوتونیک (KCl با غلظت ۰/۰۷۵ مولار) توسط اسکالپل به مدت ۱۵ دقیقه خرد شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر محلول هیپوتونیک اضافه شده و نمونه به مدت ۳۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد (داخل دستگاه انکوباتور) قرار گرفت. جهت خارج کردن محلول هیپوتونیک، نمونه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید.

نمونه‌ها در ۳ مرحله تثبیت شدند. در مرحله اول و دوم، نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در محلول فیکساتیو کارنوی (۳ قسمت متانول خالص+ ۱ قسمت اسید استیک خالص) قرار گرفت. سپس نمونه‌ها سانتریفوژ شده و پس از خارج کردن محلول رویی، به رسوب باقیمانده مقدار ۱ میلی‌لیتر محلول فیکساتیو اضافه گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه، ۳-۲ قطره از سوسپانسیون سلولی بدست آمده بر روی یک لام تمیز پرتاب شد. جهت

خشک نمودن لامها، از صفحه داغ ۶۰ تا ۶۵ درجه سانتیگراد استفاده گردید. سپس ۳ تا ۴ قطره اسید استیک بر روی لام ریخته شد. پس از خشک شدن، لامها با گیمسا (۱۰ درصد) به مدت ۲۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند. بعد از شستشوی لامها با آب مقطر، مجدداً لامها در هوای اتاق خشک شده و کروموزومها بوسیله میکروسکوپ نوری Nikon (مدل Labophot 2) مورد بررسی قرار گرفتند.

جهت تهیه گسترش کروموزومی از بچه ماهیان به روش تزریق کلشی سین، ابتدا به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن ماهی ۰/۵ میلی‌لیتر کلشی سین ۰/۰۱درصد (5×10^{-5} گرم) به داخل صفاق و عضله پشتی ماهی تزریق گردید و ماهی به مدت ۲۰۰ دقیقه در آکواریوم مجهز به سیستم هوادهی نگهداری شد.

با شمارش تعداد کروموزومها در گسترش‌های بدست آمده، حداقل، حداکثر و میانگین تعداد کروموزومها تعیین گردید و انحراف از معیار طبق روشهای آماری محاسبه شد. جهت تعیین اندازه دقیق کروموزومها، ۱۰ عدد عکس از بهترین گسترش‌های کروموزومی تهیه شده، اسکن گردیدند و مختصات ابتدا و انتهای بازوهای کروموزومی و سانترومرها با برنامه Photoshop تعیین شد. سپس با استفاده از برنامه Excel 2003 و فرمول خط، طول بازوهای کروموزومی (بلند و کوتاه) برحسب میکرومتر اندازه‌گیری گردید.

شاخص سانترومری طبق فرمول:

$$CI = \frac{\text{طول بازوی کوتاه}}{\text{طول کل هر کروموزوم}}$$

و طول نسبی هر کروموزوم براساس فرمول:

$$\frac{\text{طول کل هر کروموزوم}}{\text{مجموع طول کل همه کروموزومها}}$$

محاسبه گردید.

سپس کروموزومهای همولوگ طبق شاخص سانترومری (Levan *et al.*, 1964) بصورت جفت در کنار همدیگر طبقه‌بندی گردیدند. براساس این روش کروموزومهای دارای شاخص سانترومری ۰/۳۷۵ تا ۰/۵ در گروه کروموزومهای متاسنتریک (M)، ۰/۲۵۰ تا ۰/۳۷۵ در گروه ساب متاسنتریک (Sm)، ۰/۱۲۵ تا ۰/۲۵۰ در گروه ساب تلوسنتریک (St) یا آکروسانتریک (A) و ۰ تا ۰/۱۲۵ در گروه تلوسنتریک (T) طبقه‌بندی گردیدند.

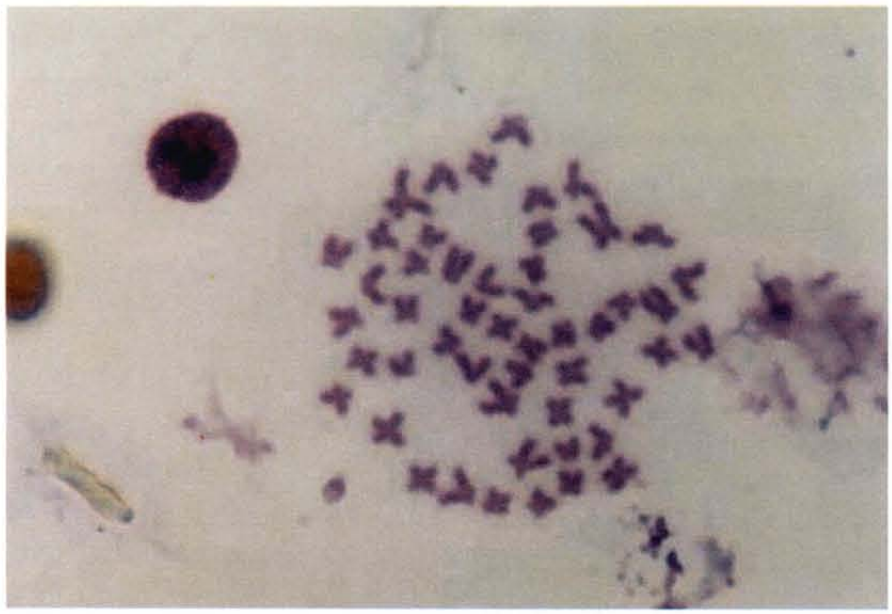
نتایج

براساس روش کار ارائه شده گسترشهای کروموزومی مناسبی از لاروها (شکل ۱) و بچه ماهی‌های (شکل ۲) مورد آزمایش بدست آمد بطوریکه کروموزومها کاملاً از لحاظ شکل ظاهری واضح و مناسب بودند و بازوهای آنها نیز به راحتی قابل اندازه‌گیری بود.

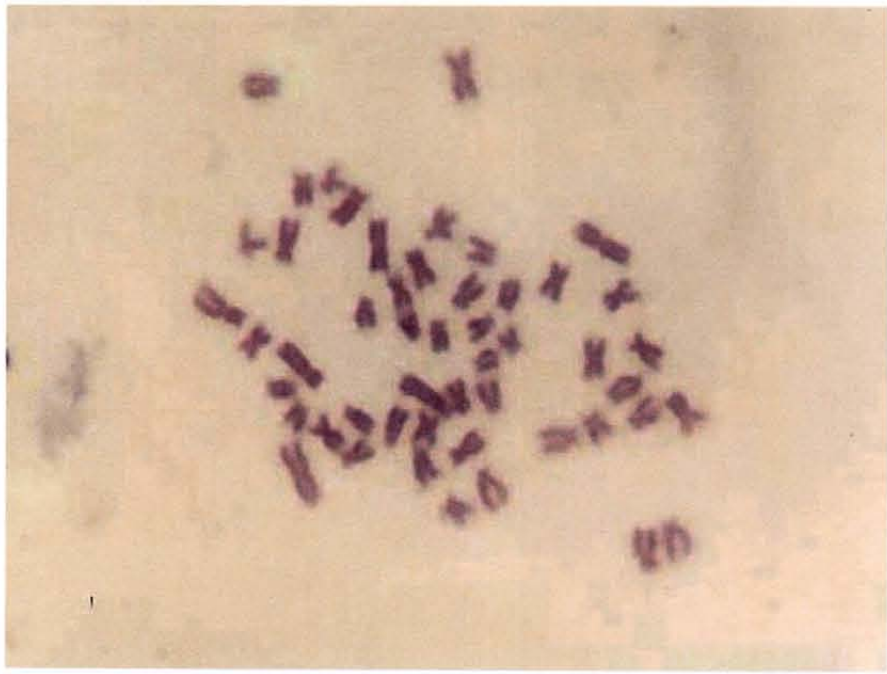
طبق نتایج کسب شده غلظت و مدت زمان مناسب برای تاثیر کلشی سین بر روی لاروهای مورد آزمایش در این تحقیق بترتیب ۰/۰۵ درصد به مدت ۶ ساعت و در مورد بچه ماهیهای مورد آزمایش بترتیب 5×10^{-5} گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن (تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر کلشی سین ۰/۰۱ درصد به ازای ۱۰۰ گرم وزن بدن) به مدت ۲۰۰ دقیقه بود.

magiran.com
[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

magiran.com



شکل ۱: گسترش کروموزومی بدست آمده از لارو سیاه کولی(۲n=۵۰) با بزرگنمایی ×۱۰۰۰۰



شکل ۲: گسترش کروموزومی بدست آمده از بچه ماهی سیاه کولی (۲n=۵۰) با بزرگنمایی ×۱۰۰۰۰

[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

magiran.com

به منظور تعیین تعداد کروموزومهای ماهی سیاه کولی، روش کار ارائه شده بر روی لاروها ۳ بار و بر روی بچه ماهیان ۵ بار تکرار شد. ۳۰۰ گسترش متافازی (۱۰۰ گسترش از لاروها و ۲۰۰ گسترش از بچه ماهیان) شمارش گردید که در این میان بیشترین فراوانی در گروه (۲n=۵۰) مشاهده شد (جدول ۱ و نمودار ۱).

براساس محاسبات آماری و تعیین انحراف از معیار با احتمال ۹۵ درصد فراوانی تعداد کروموزومهای گونه سیاه کولی ۲n=۵۰ (۴۹/۵۴±۰/۱۱) بدست آمد (شکل ۳).

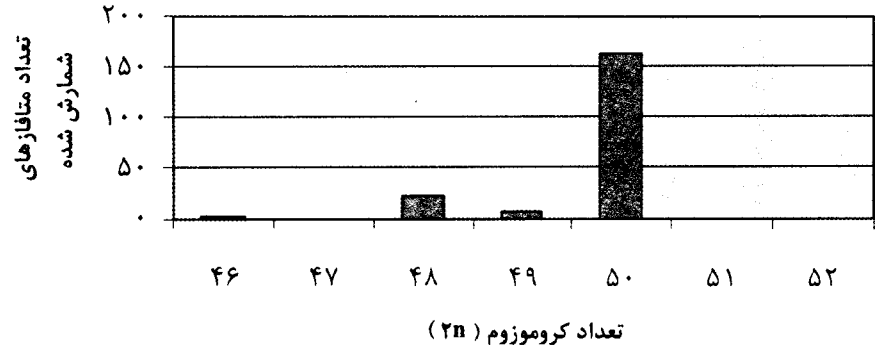
براساس طول کل کروموزومها، طول بازوهای کوچک و بزرگ کروموزومها، طول نسبی هر کروموزوم همچنین شاخص سانترومری، نوع کروموزومها در سه گروه متاسنتریک، ساب متاسنتریک و ساب تلوسنتریک مشخص گردید.

در این بررسی شاخص سانترومری در کروموزومهای متاسنتریک بین ۰/۴۵۰ تا ۰/۴۸۰ با طول نسبی ۰/۰۳ تا ۰/۰۱۷ بدست آمد که تعداد هفت جفت کروموزوم در این گروه قرار گرفتند (جدول ۲). کروموزومهای ساب متاسنتریک شاخص سانترومری کوچکتری (بین ۰/۲۹۴تا ۰/۳۳۲) داشتند و طول نسبی آنها در دامنه ۰/۰۱۴ تا ۰/۰۲۸ بود. سیزده جفت کروموزوم در این گروه قرار گرفتند (جدول ۲). در نهایت پنج جفت کروموزوم در گروه ساب تلوسنتریک قرار گرفتند زیرا شاخص سانترومری آنها بین ۰/۱۸۲ تا ۰/۲۱۵ و طول نسبی هر کروموزوم بین ۰/۰۱۳ تا ۰/۰۳ قرار داشت (جدول ۲).

با توجه به اندازه‌گیری‌های دقیق انجام شده و مقادیر بدست آمده فرمول کروموزومی ماهی سیاه کولی ۷M+۱۲SM+۵ST-A همراه با ۹۰ بازوی کروموزومی (NF=۹۰) با ۲n=۵۰ تعیین گردید (شکل ۴).

جدول ۱: فراوانی تعداد کروموزومها در گسترش‌های کروموزومی شمارش شده در لارو و بچه ماهیان سیاه کولی

اندازه ماهی	تعداد متافاز شمارش شده	۲n=۴۶	۲n=۴۷	۲n=۴۸	۲n=۴۹	۲n=۵۰	۲n=۵۱	۲n=۵۲
لارو	۱۰۰	۳	۸	۱۹	۶	۵۹	۱	۴
بچه ماهی	۲۰۰	۲	۰	۲۵	۸	۱۶۵	۰	۰



نمودار ۱: پراکنش تعداد کروموزومهای شمارش شده در ۲۰۰ گسترش مرحلهٔ متافاز از بچه ماهی سیاه کولی

[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

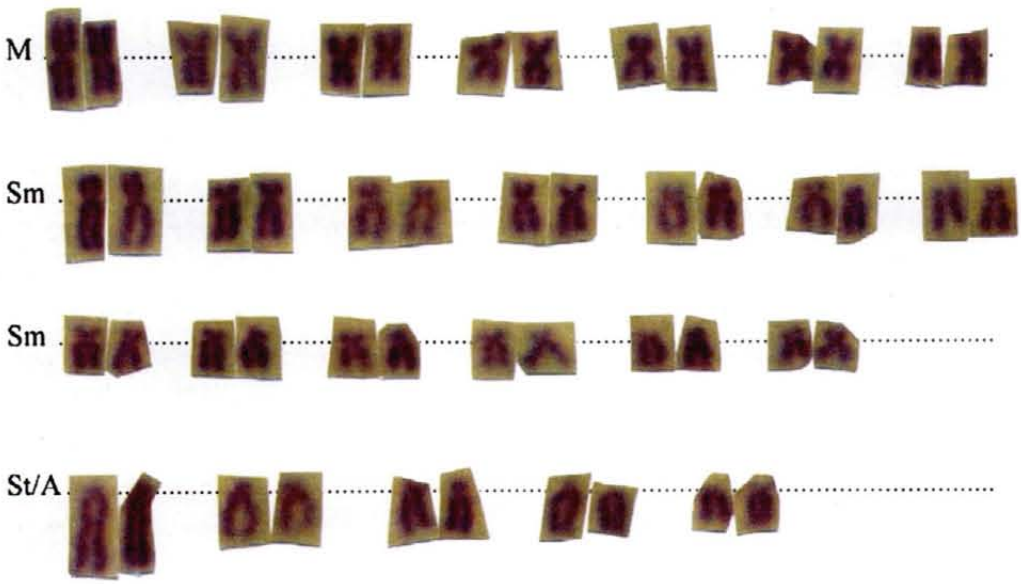
magiran.com
[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

جدول ۲: طول بازوهای کروموزومی، طول کلّ شاخص سانترومری، طول نسبی و نوع کروموزومهای همولوگ در سیاه کولی (M = متاسانتریک، Sm = ساب متاسانتریک، St/A = ساب تلوسانتریک یا آکروسانتریک)

شماره جفت کروموزوم	طول بازوی کوچک (µ)	طول بازوی بزرگ (µ)	طول کل (µ)	شاخص سانترومری	طول نسبی هر کروموزوم	نوع کروموزوم
۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵۶۸	۰/٤۷۱	۰/۰۳۰	M
	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵۱۹	۰/٤٦٤	۰/۰۲۷	
۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰٤۹۵	۰/٤۵۱	۰/۰۲٦	M
	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰٤٦۰	۰/٤۵۸	۰/۰۲٤	
۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰٤۳۹	۰/٤۷٤	۰/۰۲۳	M
	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰٤۲٤	۰/٤٦۱	۰/۰۲۲	
٤	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰٤۱۱	۰/٤۷۲	۰/۰۲۲	M
	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۹۲	۰/٤۸۰	۰/۰۲۱	
۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۸۳	۰/٤٦۱	۰/۰۲۰	M
	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۷۵	۰/٤۵۰	۰/۰۲۰	
٦	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳٦۱	۰/٤٦۳	۰/۰۱۹	M
	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳٤۹	۰/٤۵۲	۰/۰۱۸	
۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳٤۰	۰/٤٦۲	۰/۰۱۸	M
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۲۵	۰/٤۵۳	۰/۰۱۷	
۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰٤	۰/۰۰۵۲٦	۰/۳۲۷	۰/۰۲۸	Sm
	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵۰٦	۰/۳۳۲	۰/۰۲٦	
۹	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰٤٦۵	۰/۳۲۵	۰/۰۲٤	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰٤۵۱	۰/۳۲۲	۰/۰۲٤	
۱۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰٤۳۲	۰/۳۱۲	۰/۰۲۳	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰٤۲۲	۰/۳۱۹	۰/۰۲۲	
۱۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰٤۰۹	۰/۳۲۰	۰/۰۲۱	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰٤۰۱	۰/۳۱۸	۰/۰۲۱	
۱۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳۸٦	۰/۲۹٤	۰/۰۲۰	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳۷۸	۰/۳۲۸	۰/۰۲۰	
۱۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳۷۲	۰/۲۹٦	۰/۰۱۹	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳٦۷	۰/۲۹٤	۰/۰۱۹	
۱٤	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۵۸	۰/۳۱۵	۰/۰۱۹	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳٤۸	۰/۳۲۷	۰/۰۱۸	
۱۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳٤۳	۰/۳۳۱	۰/۰۱۸	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۳۷	۰/۳۲٦	۰/۰۱۸	
۱٦	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۳۳	۰/۲۹٤	۰/۰۱۷	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۲۷	۰/۳۱٦	۰/۰۱۷	
۱۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۲۳	۰/۳۰۷	۰/۰۱۷	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۱۹	۰/۲۹٤	۰/۰۱۷	
۱۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۱۱	۰/۳۰۰	۰/۰۱٦	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۰۵	۰/۳۱۹	۰/۰۱٦	
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲۹٦	۰/۳۰۱	۰/۰۱٦	Sm
۱۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲۹۰	۰/۲۹۵	۰/۰۱۵	
۲۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲۷۹	۰/۳۱۸	۰/۰۱۵	Sm
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲٦٦	۰/۳۱۹	۰/۰۱٤	
۲۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵٦۸	۰/۱۸۲	۰/۰۳۰	St/A
	۰/۰۰۱	۰/۰۰٤	۰/۰۰۵٤٤	۰/۱۸۲	۰/۰۲۸	
۲۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳۹٤	۰/۲۱۵	۰/۰۲۱	St/A
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳۵٦	۰/۲۱٤	۰/۰۱۹	
۲۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳۳۲	۰/۲۰۱	۰/۰۱۷	St/A
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳۳۰	۰/۱۹٦	۰/۰۱۷	
۲٤	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۰۷	۰/۱۹۰	۰/۰۱٦	St/A
	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳۰۱	۰/۱۹۲	۰/۰۱٦	
۲۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲۷۸	۰/۱۹٦	۰/۰۱۵	St/A
	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲۵۵	۰/۱۹۲	۰/۰۱۳	

magiran.com

شکل ۳: گسترش کروموزومی ماهی سیاه کولی(۲n=۵۰) با بزرگنمایی ×۱۰۰۰۰



شکل ٤: کاریوتایپ ماهی سیاه کولی (۲n=۵۰)

[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

magiran.com
[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

بحث

یکی از مراحل حساس در تهیه گسترش کروموزومی، متوقف نمودن سلولهای در حال تقسیم در مرحله متافاز می‌باشد. این کار از دو روش قرار دادن لاروها در محلول کلشی سین جهت شنا کردن (حمام کلشی سین) و تزریق محلول کلشی سین به بدن ماهیان مورد آزمایش انجام می‌گیرد. غلظت مناسب کلشی سین برای تاثیر بر روی لاروها بین ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۵ درصد (Baksi & Means, 1988 ;Kligerman & Bloom, 1977) و برای بچه ماهیان بین ۵×۱۰^{-۵} تا ۴×۱۰^{-۳} گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن گزارش گردید (Marian & Krasznai, ;Gold, 1974 1978; Al-Sabti, 1983; Reddy & John, 1986).

همچنین مدت زمان تاثیر کلشی سین روی لارو با توجه به غلظت آن ۲ تا ۶ ساعت (Howell & Denton, 1969; Baksi & Means, 1988; Kligerman & Bloom, 1977) و در بچه ماهیان با توجه به مقدار آن عمدتاً بین ۲ تا ۲۰ ساعت (Raicu & Taisescu, 1972; Marian & Krasznai, 1978; Cucchi & Baruffaldi, 1989) گزارش شده است.

بهینه بودن شرایط تیمار کلشی سین نقش مهمی در کمیت و کیفیت پلاکهای متافازی دارد. استفاده از غلظتها و مقادیر بیشتر و مدت زمان طولانی‌تر تیمار این ماده سبب کم شدن تعداد پلاکهای متافازی، همچنین کوچکتر شدن کروموزومها و استفاده از غلظت و مقدار کم کلشی سین و مدت زمان کوتاهتر تیمار ماده مذکور باعث کاهش یافتن تعداد پلاک متافازی و کشیده‌تر شدن شکل کروموزومها می‌گردد (Klinkhardt, 1991).

هیپوتونیز نمودن سلولها نیز عامل مهم دیگری در بدست آوردن گسترشهای کرموزومی مناسب می‌باشد که این کار با استفاده از محلول هیپوتونیک و انتخاب مدت زمان مناسب برای تاثیر آن انجام می‌گیرد. محلول کلرید پتاسیم ۰/۰۷۵ مولار بهترین محلول هیپوتونیک و مدت زمان ۲۰ تا ۶۰ دقیقه بهترین زمان برای تاثیر محلول مذکور توسط تعدادی از محققین معرفی شده است (Vitturi *et al.*, 1993 ;Hartley, 1988). محلول هیپوتونیک با نفوذ در درون سلولهای متافازی باعث متورم شدن سلولها در نتیجه نازک شدن غشای سلولی و سهولت پاره شدن آن، و باعث فاصله گرفتن کروموزومهای درون سلولها و بدست آوردن گسترشهای کروموزومی مناسب روی لام میکروسکوپی می‌گردد.

در گسترش کروموزومی تهیه شده از سلولی که بخوبی هیپوتونیز شده باشد، کروموزومها با فاصله مناسب از یکدیگر و بدون رویهم افتادگی قرار می‌گیرند (Baksi & Means, 1988; Klinkhardt, 1991).

به منظور تثبیت نمودن سلولها و توقف فعالیت آنزیمی، از محلول فیکساتیو کارنوی (۳ قسمت متانول خالص و ۱ قسمت اسید استیک خالص) استفاده شد که رایج‌ترین محلول استفاده شده توسط محققینی مانند Gold *et al.*, 1990; Fontana *et al.*, 1996 ; Nowruzfashkhami *et al.*, 2000 می‌باشد. اکثر این محققین بر تازه بودن بر مصرف محلول تازه تهیه شده و سرد شده محلول فیکساتیو تاکید کرده‌اند زیرا محلول کهنه حاوی مقدار زیادی متیل استات است که برای تثبیت سلولها نامناسب می‌باشد.

همانطور که ذکر شد، طبق نتایج بدست آمده در این تحقیق ماهیان سیاه کولی مورد آزمایش دارای ۵۰ عدد کروموزوم (۲n=۵۰) بودند. نمونه‌هایی از مطالعات سیتوژنتیک انجام شده در مورد کپور ماهیان در جدول ۳ آورده شده است.

با توجه به تعداد کروموزومها (۲n=۵۰) و بازوهای کروموزومی (NF= ۹۰)، گونه سیاه کولی جزء گروه دیپلوئید بوده و فرمول کروموزومی آن ۷M +۱۳Sm + ۵St/A می‌باشد که این نتایج با نتایج کسب شده توسط Rabova و همکاران (۲۰۰۳)، از نظر تعداد کروموزومها (۲n=۵۰) مطابقت دارد ولی Rabova و همکاران (۲۰۰۳) ۸ جفت کروموزوم متاسانتریک و ۱۴ جفت کروموزوم ساب متاسانتریک تا ساب تلوسانتریک و ۳ جفت کروموزوم ساب تلوسانتریک تا آکروسانتریک شناسایی نمودند که با فرمول کروموزومی حاصل از این مطالعه ۷M + ۱۳Sm +۵St/A متفاوت است. تفاوت موجود میان نتایج اعلام شده و این تحقیق ممکن است ناشی از تفاوت در جمعیتها و زیرگونه‌های موجود سیاه کولی در هر منطقه باشد و همچنین ممکن است در روش کار و نحوهٔ اندازه‌گیری بازوهای کروموزومی و تعیین نوع کروموزومها خطاهایی وجود داشته باشد که منجر به تفاوت در نوع کروموزمهای شناسایی شده گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مساعدت‌های کلیه افرادی که در انجام این پروژه ما را یاری نمودند، بویژه آقایان مهندس کاظمی، مسئول بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان و دکتر مهدی‌نژاد، مسئول وقت بخش اکولوژی انستیتو و همچنین ریاست محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید انصاری، آقای مهندس درویشی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

magiran.com

جدول ۳: تعداد و نوع کروموزومهای تعدادی از گونه‌های متعلق به خانواده کپور ماهیان

گونه	اسم علمی	2n	نوع کروموزوم					NF	منبع
			M	Sm	St	A	T		
کپورمعمولی	*Cyprinus cario*	۱۰۰	۱۱	۱۵	۰	۲٤		–	Zheng, 1980
		۱۰۰± ٤	۵۰		٤۸	۰	۰	–	Al-Sabti, 1987
		۱۰۲	۱۲	۱۲	۹	۱۸	۰	–	Brzuska, 1988
		۱۰٤	۲٤	۱۲	۲٤	٤٤	۰	۱٦٤	Fister, 2003
کپور نقره‌ای	*Hypophthalmichthys molitrxi*	٤۸	۰	۰	۰	۰	۰	–	Kirpichnikov, 1973
		٤۸	۰	۰	۰	۰	۰	–	Vasiliev, 1978
		٤۸	۷	۱۲	۰	۵	۰	–	Zheng, 1980
		٤۸	۱۲	۸	٤	۰	۰	۹٦	Lingyun, 1981
		٤۸	٦	۱٦	۰	۰	۲	–	Reddy, 1991
		٤۸	۱۲		۱۲	۰	۰	–	Almeida & Lurdes, 1995
		٤۸	٦	۱٤	۰	٤	۰	۸۸	وارسته و همکاران، ۱۳۸۱
کپور علفخوار	*Ctenopharyngodon idella*	٤۸	۱۰	۸	۰	۰	٦	۸٤	Ojima *et al.*, 1972
		٤۸	۱۰	۸	٦	۰	۰	–	Marian & Krasznai, 1978
		٤۸	۱۰	۱۵	۰	۰	۰	–	Reddy, 1991
		٤۸	۱۰	۸	٦	۰	۰	–	نوروزفشخامی و همکاران، ۱۳۸۱
کپور سرگنده	*Aristichthys nobilis*	٤۸	۷	۱۲	۰	۵	۰	–	Zheng, 1980
		٤۸	۰	۰	۰	۰	۰	–	Beck *et al.*, 1980
		٤۸	۱۰	۸	۰	٦	۰	–	Marian & Krasznai, 1978
		٤۸	۱۲		۱۲	۰	۰	–	Almeida & Lurdes, 1995
		٤۸	۱۲		۱۲	۰	۰	–	Almeida & Lurdes, 1995
سیم	*Abramis brama*	۵۰	۸	۸	۰	۹	۰	۸۲	نهاوندی و همکاران، ۱۳۸۰
ماهی طلایی	*Carassius auratus*	۱۰۰	۱۱	۱۵	۰	۲٤		–	Zheng, 1980
ماهی سفید	*Rutilus firisii kutum*	۵۰	۷	۹	٦	۳	۰	–	Vasiliev, 1985
		۵۰	۸	۱۰	۰	۷		–	نوروزفشخامی و خسروشاهی، ۱۳۷٤ب.
کلمه	*Rutilus rutilus*	۵۰	۷	۹	٦	۳	۰	۸۲	Vasiliev, 1985
سیاه کولی	*Vimba vimba persa*	۵۰	۸	۱٤		۳	۰	–	Rabova *et al.*, 2003
		۵۰	۷	۱۳	۵	۰	۰	۹۰	بررسی حاضر
شاه کولی	*Chalcalburnus chalcoides*	۵۰	۱٤	۷	۲	۰	۲	۹۲	Geng & Lin, 2004

[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

magiran.com
[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

منابع

اسماعیلی، ح. ر. و پیرآور، ز.، ۱۳۸۶. بررسی کاریوتایپ ماهی گل چراغ *Garra ruffa* در استان فارس. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، سال شانزدهم، صفحات ۱۱ تا ۱۸.

دریانورد، ر.؛ عبدالملکی، ش.؛ کر، د.؛ بندانی، غ.؛ غنی نژاد، د.؛ فضلی، ح.؛ نهرور، م. ر.؛ خدمتی، ک.؛ راستین، ر. و باقر زاده، ف.، ۱۳۸۸. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی در سواحل ایرانی دریای خزر طی سالهای ۸۶-۱۳۸۴. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ۹۵ صفحه.

ستاری، م.؛ شاهسونی، د. و شفیعی، ش.،۱۳۸۲. ماهی شناسی(۲) (سیستماتیک). انتشارات حق شناس، ۵۰۲ صفحه.

عبدلی، ا.، ۱۳۷۸. ماهیان آبهای داخلی ایران. انتشارات نقش مانا، تهران، ۳۷۸ صفحه.

میری نرگسی، م.؛ پورکاظمی، م. و نوروزفشخامی، م. ر.، ۱۳۸۶. کاریولوژی ماهی سوف سفید *Sander lucioperca* حوضه جنوبی دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، سال شانزدهم، شماره ۲، صفحات ۱۳۷-۱۴۴.

نوروزفشخامی، م. ر. و خسروشاهی، م.، ۱۳۷۴الف. مطالعه کروموزومی ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* از طریق کشت گلبولهای سفید خون. مجله علمی شیلات ایران، سال چهارم، شماره ۱، صفحات ۶۴ تا ۷۱.

نوروزفشخامی، م. ر. و خسروشاهی، م.، ۱۳۷۴ب. مطالعه کروموزومی ماهیان خاویاری از طریق کشت گلبولهای سفید خون. مجله علمی شیلات ایران، سال چهارم، شماره ۲، صفحات ۶۳ تا ۷۱.

نوروزفشخامی، م.ر.؛ پورکاظمی، م. و کلباسی، م. ر.، ۱۳۸۱. تهیه کاریوتایپ ماهی کپور علفخوار *Ctenopharhyngodon idella* از طریق کشت گلبولهای سفید خون. مجله علمی شیلات ایران، سال یازدهم، شماره ۳، صفحات ۱۳۷ تا ۱۴۴.

نهاوندی، ر.؛ امینی، ف. و رضوانی، س.، ۱۳۸۰. بررسی سیتوژنتیک ماهی سیم *Abramis brama* حوزه جنوبی دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، سال دهم، شماره ۳، پاییز ۸۰، صفحات ۸۹ تا ۱۰۰.

وارسته، ا.؛ حسین‌زاده مقدم، م.؛ پورکاظمی، م. و نوروز فشخامی، م. ر.، ۱۳۸۱. بررسی تعداد کروموزومی ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) و تهیه کاریوتایپ آن. مجله علمی شیلات ایران، سال یازدهم، شماره ۱، بهار ۸۱، صفحات ۱۰۷ تا ۱۱۴.

وثوقی، غ. و مستجیر، ب.، ۱۳۷۹. ماهیان آب شیرین. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۳۱۷ صفحه.

Almeida T. and Lurdes F.D., 1995. Chromosomal location of NORs and C-bands in F1 hybrids of big head carp and silver crap reared in Brazil. Aquaculture, 135:277-284.

Al-Sabti K., 1983. Karyotypical studies on three Salmonidae in Slovenia using leukocyte culture technique. Ichthyologia, 15:41-46.

Al-Sabti K., 1987. Cytogenetic studies on five species of Pisces from Yugoslavia. Cytobios, 49:198-199.

Baksi S.M. and Means J.C., 1988. Preparation of chromosomes from early stages of fish for cytogenetic analysis. Fish Biolology, 32:321-325.

Beck M.L., Bigger C.J. and Dupree H.K., 1980. Karyological analysis of *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichthys nobilis* and their F_1 Hybrid. Transaction of the American Fisheries Society, 109:433-438.

Brzuska E., 1988. Investigations on the chromosomes of the carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Hydrobiology, 30: 253-258.

Cucchi C. and Baruffaldi A., 1989. A simple *in vitro* method for increasing mitoses in teleost fishes. Cytobios, pp.165-169.

Fister S., 2003. Frequency of breaks and gaps on the carp (*Cyprinus carpio* L.) chromosomes. Veterinarski Glasnik, 57(7/8):393-403.

Fontana F., Lanfredi M., Rossi R., Bronzi P. and Arlati G., 1996. Karyotypic characterization of *Acipenser gueldenstaedti* with C-$AgNo_3$ and fluorescence-banding techniques. Italian Zoology, 63:113-118.

Geng L. and Lin Y., 2004. Karyotypic study on *Chalcalburnus chalcoides aralensis*. Chinese Journal of Fisheries.

magiran.com
[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

Gold J.R., 1974. A fast and easy method for chromosome karyotyping in adult telecasts. Progressive Fish Culturist, 36:169-171.

Gold J.R., Li Y.C., Shipley N.S. and Powers P.K., 1990. Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. Fish Biology, 37:563-575.

Hartley S.E., 1988. Cytogenetic studies of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland. Fish Biology, 33:735-740.

Howell W.M. and Denton T.E., 1969. Chromosomes of ammocoetes of the Ohio brook lamprey, *Lamerta aepyptera*. Coipeia, 2:393-395.

Kalbassi M.R., Dorafshan S., Tavakolian T., Khazab M. and Abdolhai H., 2006. Karyological Analysis of endangered Caspian Salmon (*Salmo trutta caspicus* Kessler 1877), Aquaculture Research, 37:1331-1337.

Kligerman A.D. and Bloom S.E., 1977. Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes, Fisheries Research Board of Canada, 34:266-269.

Klinkhardt M.B., 1991. A brief comparison of methods for preparation fish chromosomes: An overview. Cytobios, 67:193-208.

Kirpichnikov V.S., 1973. On karyotype evolution in cyclostomata and pisces, Ichthyologia, 5(1):55-77.

Levan A., Fredga K. and Sandberg A.A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes, Hereditas, 52:201-220.

Lingyun L., 1981. Kryotype analysis of *Hypophthalmichthys molitrix*. Journal of Genetics and Genomics, 8(3):251-255.

Marian T. and Krasznai Z., 1978. Karyological investigations on *Ctenopharyngodon idella* and *Aristichthys nobilis* and their cross-breeding, Aquacultura Hungarica (Szarvas), 1:44-50.

Nowruzfashkhami M.R., Pourkazemi M. and Baradaran Noveiri S., 2000. Chromosome study of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Cytologia, 65:197-202.

Ojima Y., Hayashi M. and Veno K., 1972. Cytogenetic studies in vertebrates, X. karyotype DNA studies in 15 species of Japanese Cyprinidae. Genetics, 47(6):431-440.

Rabova M., Rab P., Ozouf-costaz C., Ene C. and Wanzebock J., 2003. Comparative cytogenetics and chromosomal characteristics of ribosomal DNA in the fish genus *Vimba* (Cyprinidae). Genetica, 118(1):83-91.

Raicu P. and Taisescu E., 1972. *Misgurnus fossilis*, a tetraploid fish species. Heredity, 63(2):92-94.

Reddy P.V.G.K. and John G., 1986. A method to increase miotic metaphase spreads and permanent Chromosome preparation for karyotype studies in fishes. Aquaculture Hungrica, 5:31-36.

Reddy P.V.G.K., 1991. A comparative study of the Karyomorphology of Grass crap, *ctenopharyngodon idella*, Silver crap, *Hypophthalmichthys molitrix* and their hybrids. Aquaculture, 1:31-47.

Vasiliev V.P., 1978. The study of chromosome complex in cyprinid fish and their hybrids. Genetic, 18(4):1453-1460.

Vasiliev V.P., 1985. Evolutionary karyology of fishes. Nauka, Moscow, 300P.

Vitturi R., Catatano E. and Colombera D., 1993. Chromosome analysis of fish. Fish Biology, 43:227-227.

Zheng Z.R., 1980. Analysis and comparison between the karyotypes of *Cyprinus carpio* and *Carassius auratus* as well as *Aristhichtys nobilis* and *Hypophthalmichthys molitrix*. Acta Genetica Sinica, 7(1):72-77.

magiran.com

Karyotyping of *Vimba vimba persa*

Pourkazemi M.[(1)*]; Kazerooni Monfared F.[(2)]; Bagherzadeh F.[(3)] and Nowruzfashkhami M.R.[(4)]

Pourkazemi_m@yahoo.com

1 & 4- International Sturgeon Research Institute, P.O.Box:41635-3464 Rasht, Iran

2- Faculty of Environment, University of Tehran, P.O.Box:14155-6135 Tehran, Iran

3- Faculty of Natural Resources, University of Guilan, P.O.Box:1144 Sowmeh Sara, Iran

Received: May 2008 Accepted: June 2010

Keywords: Chromosome, *Vimba vimba persa*, Cytogentic, Caspian Sea

[Downloaded from isfj.ir on 2025-06-08]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.3.3]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109937]

Abstract

The chromosome number and type as well as karyotype in *Vimba vimba persa* were studied. A total of 200 larvae and 10 fingerlings of this species with an average weight of 30.2g obtained from Shahid Ansari fish hatchery. To arrest mitosis in metaphase, larvae under study were placed in a 0.05% solution of colchicine for a period of 6h while the fingerlings were given an intramuscular injection of 0.01% colchicine. The tissues were let to stand in a hypotonic solution of 0.075M KCl and were then treated with a fixative (Carnoy's solution) in three steps. The chromosomes were then stained with 10% Giemsa solution for 20 min (larvae) and 30 min (fingerlings) and examined under a light microscope. 100 metaphase plates were studied in *V. vimba persa* larvae and 200 metaphase plates were studied for fingerlings. Based on the count of 300 metaphase plates 74.67% showed 2n=50, 14.67% showed 2n=48 and in 4.67% 2n=49. Based on statistical analysis the chromosome number in this species was calculated as 2n=50 (49.54±0.11) and the number of chromosome arms (NF) was determined as 90. Appropriate metaphase plates were photographed in order to prepare karyotype. The size of the chromosomes (short and long arms), relative length of chromosome and centromere index was calculated. By arranging homologous chromosomes beside each other the chromosome formula was calculated as 7 pairs of Metacentric, 13 pairs of Sub-Metacentric and 5 pairs of Sub-Telocentric or Acrocentric chromosomes (7M±13Sm±5St/A). On the basis of the number and type of chromosomes, the karyotype obtained for this species was similar to that for other species belonging to the same genus.

* Corresponding author