بررسی سیتوژنتیک آرتمیای دریاچه ارومیه

مهتاب یارمحمدی[۱] ـ محمد پورکاظمی[۲] ـ ابوالقاسم کمالی[۳]

yarmohammadi_2002@yahoo.com

۱ و ۲ ـ انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، رشت صندوق پستی: ۶۳۴۶-۴۱۶۳۵

۳ - دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات و محیط زیست، گرگان

تاریخ دریافت : خرداد ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش : اسفند ۱۳۸۰

چکیده

به منظور تعیین تعداد کروموزوم‌های آرتمیا در دریاچه ارومیه، سیست‌های جمع‌آوری شده از ایستگاههای تپه‌شاهی و اطراف کوه زنبیل مورد بررسی و مطالعهٔ سیتوژنتیک قرار گرفتند. برای شناسایی، سیستهای جمع‌آوری شده، ابتدا در آب با شوری ۳۵ppt انکوباسیون شدند و همچنین برای تعیین نحوهٔ تولید مثل آنها، سیست‌ها برای سه نسل متوالی (F3) تا سن بلوغ با استفاده از جلبک *Dunaliella tertiolecta* پرورش داده شدند. براساس نتایج حاصل از پرورش سیست‌های آرتمیا در دریاچهٔ ارومیه، دو نوع آرتمیا از لحاظ تولید مثلی (دوجنسی و بکرزا) شناسایی گردید.

با استفاده از ناپلیوس تازه تفریخ یافتهٔ آرتمیا، به روش له کردن، گسترش‌های کروموزومی تهیه و مورد ارزیابی قرار گرفتند. با توجه به تعداد ۱۰۰ صفحه متافازی شمارش شده در آرتمیای دو جنسی دریاچه ارومیه و ۳۵ پلیت متافازی در آرتمیای بکرزای دریاچه ارومیه، عدد کروموزومی برای هر دو نوع آرتمیا یکسان و معادل ۲n=۴۲ تعیین گردید. در آرتمیاهای مطالعه شده، اندازه کروموزومهای متافازی بسیار کوچک و با اشکال متاسانتریک، ساب متاسانتریک و تلوسانتریک مشاهده شد و کاریوتایپ آنها با فرمول ۲n=۳۰M / SM+ ۱۲A/T و در آرتمیای دو جنسی و ۲n=۳۲M / SM+ ۱۰A/T در آرتمیای بکرزای دریاچه ارومیه پیشنهاد گردید. همچنین در کلیه نمونه‌های بررسی شده، سلول‌های مرحله اینترفاز فاقد کروموسنتر بودند.

ضمناً از آنجائیکه بعلت اندازهٔ بسیار کوچک کروموزوم‌های آرتمیا، تعیین دقیق نوع کروموزوم‌ها در کاریوتایپ دشوار بود، آزمایش‌های متعددی از طریق C-Banding انجام شد ولی بعلت فقدان کروموسنتر در سلولهای مرحله اینترفاز امکان تفکیک کروموزوم‌ها برحسب نوع باندینگ میسر نبود.

واژگان کلیدی: آرتمیا، کروموزوم، سیتوژنتیک، دریاچه ارومیه، ایران

مقدمه

آرتمیا، سخت‌پوست ریز آبهای شور و بسیار شور با پراکنش جغرافیایی گسترده در سراسر دنیاست (Triantaphyllidis *et al.*, 1995). بعنوان یک غذای زندهٔ با ارزش در تغذیهٔ مراحل اولیهٔ زندگی (لاروی) بسیاری از آبزیان تجاری از جمله میگو، بچه ماهیان خاویاری، آزاد ماهیان، صدفها و غیره بکار می‌رود. مصرف سالانهٔ سیست آرتمیا در مراکز تکثیر و پرورش آبزیان جهان از ۶۰ تن در سال ۱۹۸۰ به حدود ۲۰۰۰ تن در سال ۱۹۹۴ افزایش یافته است (Triantaphyllidis, *et al.* 1994).

جنس آرتمیا مجموعه‌ای از گونه‌های خویشاوند (sibling species) و فراگونه (super species) است که بر پایهٔ عامل جدایی تولید مثلی(reproductive isolation) از هم متمایز می‌شوند (Triantaphyllidis *et al.*, 1995). امروزه جنس آرتمیا مجموعه‌ای از گونه‌های دو جنسی و فراگونهٔ جمعیتهای بکرزا با سطوح مختلف پلوئیدی را شامل می‌شود (Triantaphyllidis *et al.*, 1997) بطور کلی دو نوع مختلف آرتمیا تحت نامهای آرتمیای دو جنسی و آرتمیای بکرزا در ایام مختلف سال با شرایط متفاوت به دو شیوهٔ زنده‌زایی (ovoviviparously) و تخمگذاری (oviparously) تولید مثل می‌نمایند. در حال حاضر وجود آرتمیا از ۵ قارهٔ جهان و تقریباً از ۳۷۰ منطقهٔ جغرافیایی گزارش شده است (نوری، ۷۵). پراکنش آنها، مسیر پرواز بعضی از پرندگان مهاجر و تلقیح مصنوعی به منظور اهداف تجاری توسط انسان را منعکس می‌کند (Abreu-Grobois & Beardmore, 1991).

اشکال دوجنسی آرتمیا دیپلوئید بوده و دارای تعداد ۲n=۴۲ کروموزوم می‌باشند. اشکال بکرزا می‌توانند دیپلوئید (۲n=۴۲)، تریپلوئید (۳n=۶۳) ،تتراپلوئید (۴n=۸۴) یا پنتاپلوئید (۵n=۱۰۵) و یا ترکیبی از پلوئیدی‌های مختلف باشند (Abatzopoulos *et al.*, 1986). که برای راحتی طبقه‌بندی تحت عنوان نام علمی *Artemia parthenogenetica* نامیده شده‌اند (Ttiantaphyllidis *et al.*, 1998). امروزه جمعیت‌های مختلف آرتمیا در آرژانتین و ایتالیا (Halfer-Cervini, 1987)، شمال یونان (Abatzopoulos *et al.*, 1986)، یوگسلاوی (Petrovic, 1991)، ماداگاسکار و نامیبیا (Ttiantaphyllidis *et al.*, 1994)، چین (Zhang *et al.*, 1990) و

آمریکای جنوبی (Colihueque & Gojardo, 1996) مورد مطالعه سیتوژنتیک و کروموزومی قرار گرفته‌اند.

تاکنون مطالعات کروموزومی روی آرتمیاهای ایران انجام نشده است، اما در دیگر نقاط جهان از اوایل قرن بیستم مطالعات مستمر و گسترده‌ای در این زمینه روی اشکال دو جنسی و بکرزا صورت گرفته است (Barigozzi, 1989).

مباحث مختلفی در رابطه با وجود دوگونهٔ آرتمیا در دریاچهٔ ارومیه وجود دارد. بعضی از محققین عقیده دارند که جمعیت آرتمیای دریاچهٔ ارومیه از یک‌گونه و آنهم با نحوهٔ تولید مثل دو جنسی می‌باشد (Abreu-Grobois, 1987)، در حالیکه یک نمونه سیست متعلق به دریاچهٔ ارومیه از طریق مطالعه الگوهای آیزوزایم ایزوالکتروفوکوسینگ وجود جمعیت آرتمیای بکرزا را مشخص نمود (Ahmadi *et al.*, 1990). همچنین وجود همزمان گونه‌های دو جنسی و بکرزا در دریاچه ارومیه گزارش شده است (Azari Takami, 1989). بنظر می‌رسد هنگامیکه گونه‌های دو جنسی و بکرزا بطور هم‌بوم (sympatric) وجود دارند، دو جنسی‌ها در ماههای سرد و بکرزاها در ماههای گرم سال، گروه غالب را تشکیل می‌دهند (آذری تاکامی، ۱۳۷۸). تاکنون مطالعات پایه‌ای برای شناسایی قطعی جمعیت آرتمیا یا آرتمیاهای دریاچهٔ ارومیه صورت نگرفته است. هدف از انجام این بررسی ارزیابی آرتمیای دریاچه ارومیه از طریق بررسی کروموزمی و تعیین تعداد کروموزوم و نیز تعیین روش تولید مثلی آنها بوده است.

مواد و روشها

برای انجام مطالعات سیتوژنتیک، سیست‌های آرتمیای دریاچهٔ ارومیه از آزمایشگاه آرتمیای دانشگاه ارومیه (ایستگاه تپه‌شاهی و اطراف کوه زنبیل، صید سال ۱۳۷۸)، ایستگاه مطالعات آرتمیای دریاچهٔ ارومیه (صید پاییز و زمستان ۱۳۷۷ و صید تابستان ۱۳۷۸) و بخش تکثیر و پرورش غذای زندهٔ مجتمع شهید بهشتی، تهیه و به بخش ژنتیک انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری منتقل گردید.

برای جداسازی سیست‌های آرتمیا از خاک و خاشاک از الک‌های ۴ میلیمتری و ۱۰۰ میکرونی

در آب نمک اشباع استفاده شد. سپس با استفاده از روش شناورسازی در سطح، سیست‌های سالم از مواد زاید جداسازی شدند. در این روش سیست‌ها به یک استوانهٔ مدرج حاوی آب شور اشباع (۲۵۰ ppt) منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه هوادهی شدند. با قطع هوادهی، سیست‌ها در سطح آب تجمع یافته و مواد زاید از آنها جداسازی گردید. برای جداسازی سیست‌های سالم از پوسته‌های خالی، از روش فوق ولی در آب شیرین استفاده شد. پس از جداسازی و خشک نمودن، سیست‌های نمونه به آزمایشگاه انتقال یافته و در دمای ۴ درجهٔ سانتیگراد در یخچال نگهداری شدند.

کلیهٔ سیست‌های مورد مطالعه در آب با شوری ۳۵ppt، دمای ۲۵ درجهٔ سانتیگراد، pH برابر ۸/۵، هوادهی ملایم دایمی از کف ظرف و با نور لامپ‌های فلورسنت به فاصلهٔ ۲۵ سانتیمتری از محیط کشت در ظرف مخروطی یک لیتری به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت تفریخ شدند.

به منظور مشخص شدن روش تولید مثلی، سیست‌های هر گروه برای سه نسل متوالی پرورش یافتند. برای انجام این کار ابتدا تعداد ۲۰۰ عدد ناپلیوس اینستار یک، ۲۴ ساعت بعد از تفریخ به ظروف مخروطی با تراکم ابتدایی یک ناپلیوس در ۲ میلی‌لیتر آب با شوری ۷۵ppt، دمای ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتیگراد، pH برابر ۸/۵ و هوادهی دایمی و ملایم از کف منتقل شدند. در طول مدت پرورش روزانه یکبار تغذیه با استفاده از جلبک *Dunaliella tertiolecta* براساس جدول غذادهی (جدول ۱) صورت گرفت (Lavens & Sorgeloos, 1996).

پس از تخم‌گشایی سیست‌ها، برای تهیهٔ گسترش‌های کروموزومی آرتمیا از روش Abatzopoulos *et al.*, 1986 با کمی تغییر به شرح زیر استفاده شد:

ناپلیوس‌های اینستار یک و دو (بعلت دارا بودن منابع فراوان از یاخته‌های متافازی) در محلول‌های کلشی‌سین با غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳ و ۰/۰۴ درصد به مدت ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه قرار داده شدند.

برای جداسازی کروموزومهای متافازی از یکدیگر و متورم شدن یاخته‌ها، از محلول هیپوتونیک با فشار اسمزی پایین‌تر نسبت به یاخته‌ها (سیترات سدیم ۰/۵ و ۱ درصد، کلریدپتاسیم ۰/۰۷۵ مولار یا آب مقطر) بمدت ۴۰ تا ۶۰ دقیقه استفاده شد. برای تثبیت نمونه‌ها

قبل از رنگ‌آمیزی، از محلول متانول و اسیداستیک (به نسبت ۱:۱) به مدت ۱۵ دقیقه و سپس از اسیداستیک ۶۰ درصد در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه استفاده شد.

جدول ۱ : جدول غذادهی آرتمیا فرانسیسکانا با استفاده از جلبک *Dunaliella tertiolecta*

روز	مقدار *D. tertiolecta* (1000 cells/animal/day)
۱	۱۵۰
۲ و ۳	۳۰۰
۴	۴۵۰
۵ و ۶	۶۰۰
۷	۷۵۰
۸	۱۲۲۰
۹	۱۴۴۰
۱۰ و ۱۱	۱۸۰۰
۱۲، ۱۳ و ۱۴	۲۱۶۰

تهیه گسترش‌های کروموزومی آرتمیا به دو طریق زیر انجام گرفت:

الف: روی هر لام تمیز شده با الکل اتانول ۵۰ درصد یک تا سه عدد ناپلیوس قرار داده شد و بوسیلهٔ لامل له شدند، سپس با غوطه‌ورسازی لام حامل نمونه و لامل در نیتروژن مایع به مدت ۵ تا ۶ ثانیه، لامل از لام جدا گردید.

ب: بعد از مرحلهٔ تثبیت، حدود ۱۰۰ عدد ناپلیوس به همراه اسیداستیک ۵۰ درصد، در هاون هموژنایزر له شده، محلول یکنواخت شدهٔ حاصل روی لامهای گرم شده روی هات پلیت (صفحه گرم) در دمای حدود ۴۰ درجهٔ سانتیگراد از ارتفاع حدود ۴۰ سانتیمتری پرتاب گردیدند.

لامهای تهیه شده پس از خشک شدن در مجاورت هوا با رنگ گیمسای ۱۰ درصد به مدت ۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند (به منظور تهیهٔ ۳۰ متافاز، در حدود ۱۰ تا ۱۵ لام آماده گردید). برای مطالعهٔ کروموزومی ناپلیوسهای آرتمیا به دلیل دارا بودن سلولهایی با سطوح پلوئیدی مختلف،

چندین میتوز در هر ناپلیوس روی لام مطالعه گردید.

همچنین به منظور تعیین اختلاف سیتوژنتیک در نمونه سیستهای مورد بررسی، از روش هتروکروماتین C-banding استفاده شد. در این روش در حدود ۱۰۰ لام رنگ‌آمیزی نشده حامل گسترش‌های کروموزومی در هر یک از نمونه سیستهای آرتمیاهای دو جنسی و بکرزا، بعد از یک هفته نگهداری در داخل دسیکاتور در دمای اتاق (به علت عدم جذب رطوبت محیط) بترتیب مورد تیمارهای زیر قرار گرفتند:

۱- اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق.

۲- هیدروکسیدباریم اکتاهیدرات ۵ درصد در آب مقطر ۵۰ درجه سانتیگراد، به مدت ۵ الی ۷ دقیقه.

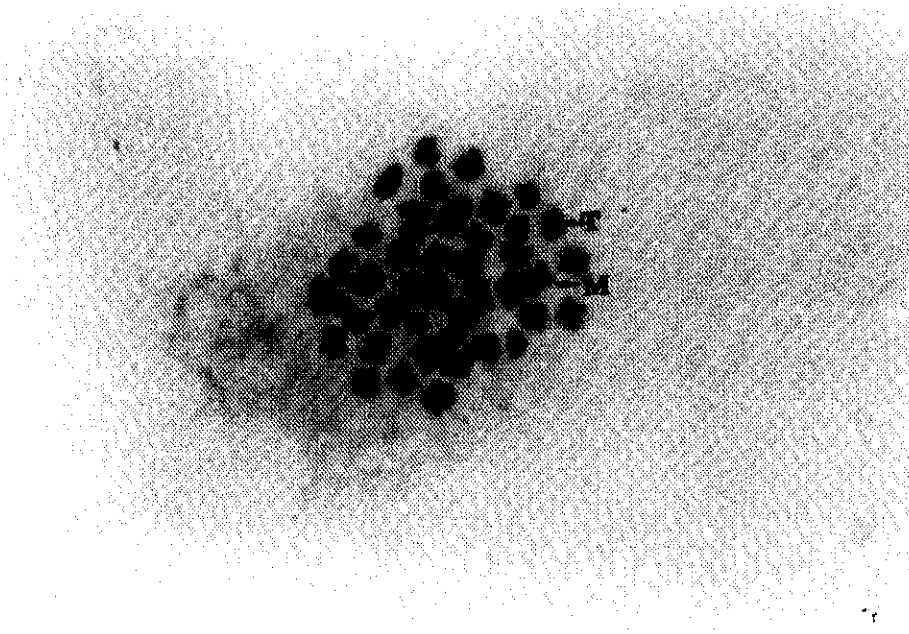
۳- محلول نمکی ۲×SSC در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد (از حل کردن ۱۷/۵۳ گرم Nacl و ۸/۸۲ گرم‌تری سیترات سدیم در ۱ لیتر آب مقطر تهیه می‌گردد) به مدت ۱ ساعت.

۴- رنگ‌آمیزی با گیمسای ۱۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه.

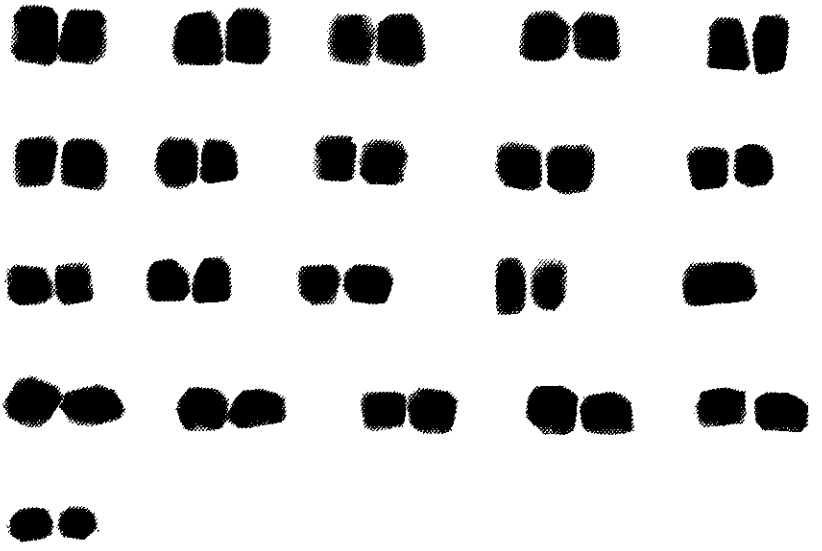
نتایج

با توجه به نتایج حاصل از پرورش سیستهای مربوط به ایستگاه تپه‌شاهی دریاچهٔ ارومیه و اطراف کوه زنبیل طی دو نسل متوالی مشخص گردید که آرتمیاهای فوق بترتیب دو جنسی و بکرزا می‌باشند. قابل ذکر است که در شرایط یکسان پرورشی مراحل رشد و رسیدن به بلوغ جنسی در آرتمیای دو جنسی سریعتر و طی دو هفته صورت گرفت. در حالیکه در آرتمیای بکرزا این مراحل به نسبت کندتر و در مدت سه هفته انجام پذیرفت.

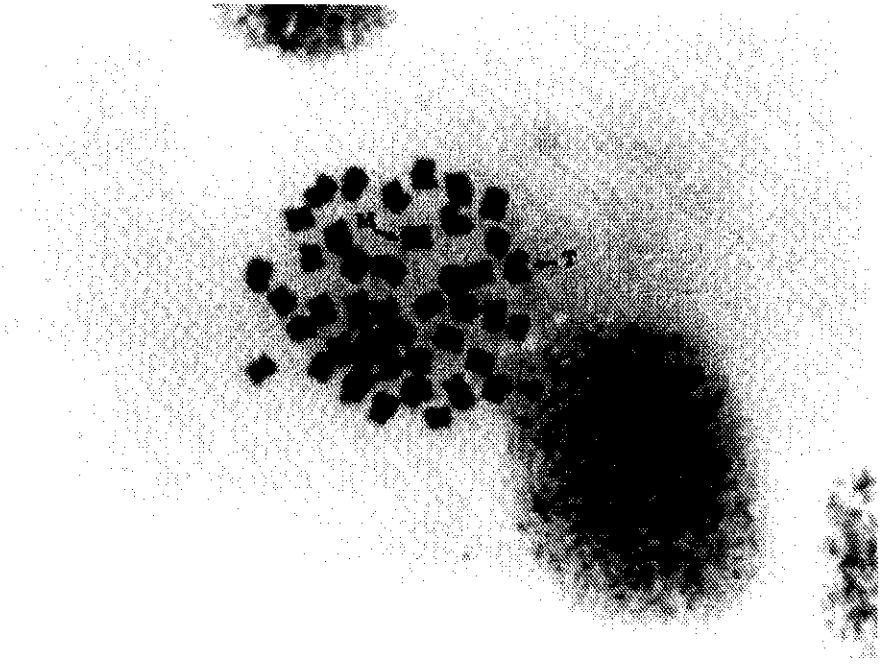
در مطالعات کروموزومی انجام شده، معمولاً تعداد گسترش‌های کروموزومی با پراکنش مناسب برای شمارش، از یک ناپلیوس به ناپلیوس دیگر متفاوت می‌باشد. نمونه سیستهای مطالعه شده بعد از له کردن ناپلیوس اینستار یک و بررسی ۱۰۰ پلیت متافازی در آرتمیای دو جنسی و ۳۵ پلیت متافازی در آرتمیای بکرزای دریاچه ارومیه همگی دارای ۲n=۴۲ کروموزوم و دیپلوییید بودند (شکلهای ۱، ۲، ۳ و ۴).



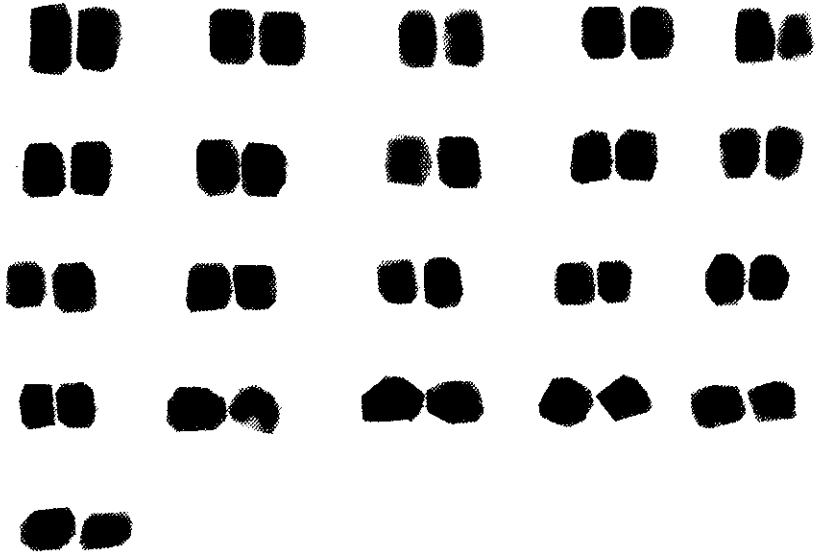
شکل ۱ : گسترش کروموزومی آرتمیای دو جنسی دریاچه ارومیه (ایستگاه تپه‌شاهی، سال ۱۳۷۸)
(M: کروموزوم متاسانتریک، T: کروموزوم تلوسانتریک)



شکل ۲ : کاریوتایپ آرتمیای دوجنسی دریاچه ارومیه



شکل ۳: گسترش کروموزومی آرتمیای بکرزای دریاچه ارومیه (اطراف کوه زنبیل، سال ۱۳۷۸)
(M: کروموزوم متاسانتریک، T: کروموزوم تلوسانتریک)



شکل ۴ : کاریوتایپ آرتمیای بکرزای دریاچه ارومیه

کروموزوم‌های مشاهده شده در مرحلهٔ متافازی همگی تقریباً یک اندازه بودند و انواع کروموزوم‌های متاسانتریک، تلوسانتریک و آکروسانتریک نیز قابل مشاهده بودند ولی کروموزوم‌های پرومتافازی دارای اندازه‌های متفاوتی بودند. بعلت اندازه بسیار کوچک کروموزوم‌های متافازی، اندازه‌گیری طول بازوها و تشخیص دقیق نوع کروموزوم‌های متا یا ساب‌متاسانتریک و تلو یا آکروسانتریک امکانپذیر نبود و در نتیجه کاریوتایپ احتمالی آنها با فرمول T یا ۶A +SM یا ۲n=۳۰M در آرتمیای دو جنسی و T یا ۱۰A +SM یا ۲n=۳۲M در آرتمیای بکرزای دریاچه ارومیه پیشنهاد شد. همچنین در نمونه‌های فوق در هسته‌های در حال استراحت (resting stage) هیچ کروموسنتری مشاهده نگردید. کروموسنتر نواحی غیرفعال هتروکروماتینی هسته در مرحلهٔ اینترفاز است که از لحاظ بازهای آدنین و تیمین غنی و در موقع رنگ‌آمیزی نسبت به بقیه نواحی هسته پررنگتر می‌باشد.)

متأسفانه کروموزومها در تیمارهای مختلف محلولهای اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال و هیدروکسید باریم ۵ درصد بعد از رنگ‌آمیزی با محلول گیمسا، فاقد باند (های) مشخص بودند و تنها تغییر در ظاهر کروموزومها، کمرنگ شدن آنها بعد از رنگ‌آمیزی بود. دلیل این امر می‌تواند تأثیر هیدروکسید باریم باشد. بنابراین برغم تلاشهای انجام گرفته، تهیهٔ کاریوتایپ C-banding گیمسا از نمونه‌های مورد مطالعه امکان‌پذیر نشد.

بحث

تحقیقات کلاسیک انجام شده روی تخم‌های لقاح یافته آرتمیا منجر به شناسایی تعداد کروموزومهای این جنس گردید. دلیل این امر وجود سلولهای لاروی است که دارای تعداد زیادی سلول در مرحله تقسیم میتوز می‌باشند. در این تحقیق تعداد کروموزوم در سلولهای سوماتیک (سلولهایی که دارای تعداد اصلی کروموزوم هستند) برای جمعیتهای دو جنسی و بکرزای دریاچه ارومیه، ۲n=۴۲ کروموزوم بود. در واقع از لحاظ تعداد کروموزوم هیچگونه تفاوتی بین آرتمیای دو جنسی و بکرزای دریاچهٔ ارومیه مشاهده نشد و این نتایج با مطالعات انجام شدهٔ قبلی منطبق می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۲ - تعداد کروموزومهای آرتمیای دریاچه ارومیه و نیز گونه‌های مختلف آرتمیا براساس مطالعات انجام شده

ردیف	نام گونه	تعداد کروموزوم	مرجع
		دوجنسی	
۱	*A. urmiana* (دوجنسی)	۴۲	Abreu-Grobois, 1987
	A.urmiana (دوجنسی)	۴۲	مطالعه حاضر
۲	*A. franciscana*	۴۲	Abreu- Grobois, 1987
۳	*A. monica*	۴۲	Abreu- Grobois, 1987
۴	*A. persimilis*	۴۴	Abreu- Grobois, 1987
۵	*A. tunisiana*	۴۲	Abreu- Grobois, 1987
	بکرزا *(A. parthenogenetica)*		
۶	*A.parthenogenetica* ارومیه	۴۲	مطالعهٔ حاضر
	A.parthenogenetica ارومیه	۴۲، ۸۴، ۱۰۵	Barigozzi, 1988
۷	" " "	۴۲، ۶۳، ۸۴ و ۱۰۵	Abreu- Grobois, 1987

در تحقیق حاضر با مطالعهٔ انجام شده روی کروموزوم‌های متافازی، وجود کروموزوم‌های متاسانتریک، ساب‌متاسانتریک و تلوسانتریک مشخص گردید. اگرچه در همه ۴۲ کروموزوم اشکال مختلف کروموزومی قابل مشاهده نبود ولی بنظر می‌رسد که کروموزوم‌های آرتمیا دارای سانترومر و احتمالاً مونوسانتریک باشند (Rodriguez *et al.*, 1998). همچنین وجود اشکال کروموزومی توسط Colihueque & Gajardo در سال ۱۹۹۶ و Rodriguez و همکاران در سال ۱۹۹۸ گزارش شده است .نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز مانند برخی از مطالعات انجام یافته از جمله Rodriguez و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Abatzopoulos و همکاران در سال ۱۹۸۶ بر خلاف نتایج محققینی است که کروموزوم‌های آرتمیا را فاقد انقباض‌های اولیه یا سانترومر و ریخت‌شناسی ظاهری معرفی کرده بودند (Abatzopoulos *et al.*, 1986).

تاکنون کاریوتایپ آرتمیا براساس مطالعات ریخت‌شناسی کروموزوم، گزارش نشده است، بجز یک مورد که در آن کاریوتایپ گونه آرتمیا فرانسیسکانا براساس نواربندی C انجام شده است

.(Abatzopoulos *et al.*, 1986)

در کاریوتایپ تهیه شده در این بررسی، بدلیل مشخص نبودن شکل کروموزوم و موقعیت سانترومر در همه ۴۲ کروموزوم، اندازه‌گیری طول بازوها میسر نبود و در نتیجه تشخیص و تمایز دقیق نوع کروموزوم‌ها به سختی امکان‌پذیر بود. براساس مطالعات انجام شده در این بررسی به نظر می‌رسد که تعداد اشکال متا و یا ساب‌متاسانتریک در آرتمیای دو جنسی دریاچهٔ ارومیه احتمالاً برابر ۱۵ جفت و تعداد اشکال تلوسنتریک یا آکروسنتریک احتمالاً ۶ جفت می‌باشد. در آرتمیای بکرزای دریاچهٔ ارومیه تعداد اشکال کروموزومهای متا یا ساب‌متاسانتریک احتمالاً ۱۶ جفت و اشکال تلو یا آکروسنتریک احتمالاً ۵ جفت می‌باشد.

تعداد کروموسنترها عامل مهمی در تشخیص گونه و تعیین وضعیت رده‌بندی جمعیت‌های آرتمیا در نظر گرفته می‌شود. در بدست آوردن تعداد کروموسنترها مشکلات تکنیکی کمتری وجود دارد، بنابراین از آن می‌توان به عنوان یک روش مطمئن استفاده نمود (Colihueque & Gajardo, 1996).

کروموسنترها در هستهٔ مرحلهٔ اینترفاز گونه‌های *A. franciscana* و *A. persimilis* وجود دارند. اما جمعیت‌های آرتمیای بکرزا (*A. parthenogenetica*) و گونه‌های دو جنسی دیگر از جمله *A. urmiana* ،*A. sinica* و *A. tunisiana* فاقد کروموسنتر می‌باشند. بنابراین از این پدیده می‌توان بعنوان معیاری برای طبقه‌بندی نمونه‌های سیست استفاده نمود (Rodriguez *et al.*,1998 و Browne & Bowen, 1991). نمونه سیست‌های مطالعه شده در این تحقیق (گونه‌های *A. parthenogenetica* و *A. urmiana* از دریاچه ارومیه) فاقد کروموسنتر بودند. این یافته‌ها با نتایج بدست آمده توسط Browne & Bowen در سال ۱۹۹۱، Triantaphyllidis و همکاران در سال ۱۹۹۴ و Abrea-Grobois & Beardmore در سال ۱۹۸۲ مطابقت دارد.

در راستای مطالعهٔ سیتوژنتیک به منظور تعیین اختلاف سیتوژنتیک جمعیت‌های مورد بررسی از روش هتروکروماتین C-banding استفاده شد. C-banding در هسته و برای مطالعهٔ گسترشهای کروموزومی در مرحلهٔ اینترفاز بکار برده می‌شود و یک روش مرسوم جهانی برای اثبات نواحی هتروکروماتین در کروموزوم است، بطوریکه این روش در مهره‌داران عالی، برای

شناسایی هتروکروماتین و در نتیجه تهیهٔ کاریوتایپ مهم می‌باشد (Sumner, 1994).

متأسفانه کاریوتایپ C-banding گیمسا از جمعیت‌های مورد مطالعه بدست نیامد. البته نمی‌توان مطمئن بود که این وضعیت به دلیل عدم وجود باندهای هتروکروماتین در کروموزومهای آرتمیا باشد، زیرا ممکن است چگونگی بکارگیری روش فوق در این پژوهش به اندازهٔ کافی بهینه نبود. چنین پدیده‌ای (عدم تهیهٔ کاریوتایپ C-banding) در کروموزومهای تهیه شده از جمعیت‌های بکرزای شمال یونان توسط Abatzopoulos و همکاران در سال ۱۹۸۶ و در Tsing-Tao چین توسط Barigozzi و همکاران در سال ۱۹۸۴ ارائه شده بود.

تاکنون C-banding (و یا هر نوع نواربندی دیگری) در گونه‌های مختلف آرتمیا بجز گونهٔ *A. franciscana* گزارش نشده است که احتمالاً بدلیل فقدان کروموسنتر می‌باشد. تهیهٔ C-banding درکاریوتایپ‌های آرتمیا کاری بسیار دشوار است. بنابراین تنها زمانیکه جمعیت‌های مطالعه شده براساس سطوح پلوئیدی مجزا شده‌اند (مثلاً ۲n=۴۲، ۲n=۴۴، ۳n=۶۳، ۴n=۸۴ و غیره) می‌توان از کاریوتایپ آرتمیا بعنوان معیاری برای تشخیص گونه‌های آن استفاده نمود. در سایر موارد باید از روش آنالیز DNA استفاده نمود. بطور کلی زمانی که هستهٔ در حال استراحت (مرحلهٔ اینترفاز) فاقد کروموسنتر باشد، دستیابی به الگوهای رضایت‌بخش C-banding بسیار مشکل می‌باشد (مکاتبات شخصی با Abatzopoulos در سال ۲۰۰۰).

برغم همه این مشکلات، اهمیت آرتمیا از نقطه نظر تئوری و عملی سبب توجه به همهٔ فاکتورهای زیست‌شناسی آن شده است. معمولاً در مطالعه جمعیتهای بومی آرتمیا به سیتوژنتیک توجه زیادی شده است و به همین دلیل از این علم بعنوان یک مطالعه اولیه برای مشخص نمودن جمعیتهای بومی استفاده می‌شود (Abatzopoulos *et al.*,1986).

با توجه به تفاوتهای تولید مثلی، تمایزهای ژنتیکی آرتمیای ارومیه را باید با استفاده از روشهای دیگر بیوشیمیایی (آیزوزایم) و مولکولی (DNA یا mtDNA) جستجو نمود. در هر حال با اطمینان می‌توان گفت که نتایج جامع‌تری را می‌توان با استفاده از روشهای مولکولی و بیوشیمیایی برای شناخت سیستماتیک آرتمیای دریاچه ارومیه بدست آورد.

تشکر و قدردانی

از کلیه همکاران بخش‌های مختلف انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری خصوصاً بخشهای ژنتیک و بیولوژی بویژه از آقایان مهندس رضوان‌الله کاظمی، مهندس محمدرضا نوروزفشخامی، مهندس حسین پرندآور، مهندس علی حلاجیان، مهندس رضا ملک‌زاده، مهندس علیرضا علیپور، سهراب دژندیان، فریدون چکمه‌دوز، خانمها بهاره یونس حقیقی و بهاره دلدار که با همدلی و همگامی انجام مراحل تحقیق را ممکن ساختند تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

آذری تاکامی، ق. ، ۱۳۷۸. جزوه کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش غذای زنده. دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. ۴۰ صفحه.

نوری، ف. ، ۱۳۷۵. بررسی مورفولوژی، تولید مثل و مراحل رشد آرتمیای دریاچه ارومیه. گزارش نهایی، دانشگاه ارومیه. ۷۵ صفحه.

Abatzopoulos, T.J. ; Kastritsis. C.D. and Triantaphyllidis, C.D. , 1986. A study of karyotypes and heterochromatic associations in *Artemia*, with special refrence to N. Greek populations. Genetica, Vol. 71, pp.3-10.

Abreu-Grobois, F.A., 1987. A review of the genetics of Artemia. *In*: Artemia research and its application. Morphology, genetics, strain characterization, toxicology. (Eds. Sorgeloos P. ; Bengston D.A. and Decleir & Jasper E.). Universa Press, Wettern, Belgium. 380 P.

Abreu-Grobois, F.A. and Beardmore, J.A. , 1982. Genetic differentiation and speciation in the brine shrimp *Artemia*. Mechanisms of speciation, pp.345-376.

Abreu-Grobois, F.A. and Beardmore, J.A. , 1991. Genetic characterization and

intra-genetic relationships of *Artemia monica* Verrill and *A. urmiana* Gunther. Hydrobiologia, Vol. 212, pp.151-168.

Ahmadi, M.R. ; Leibovits, H. and Simpson, K.L. , 1990. Characterization of Uromiah Lake Artemia (*Artemia urmiana*) by isoelectro focusing of isozyme patterns. Comp. Biochem. Physiol. U.K., Vol. 95B. No.1. pp.115-118.

Azari Takami, G. , 1989. Two strains of artemia in Urmiyeh Lake (Iran). Artemia Newsletter, No. 13, 5 P.

Barigozzi, C. , 1989. Cytogenetics and speciation of the brine shrimp Artemia. Atti. Acc. Lincei Mem. Fis. S. VIII, Vol.XIX, sez.III, fasc.4.

Browne, A.R. and Bowen, T.S. , 1991. Taxonomy and population genetics of Artemia. *In*: Artemia Biology. Browne, R.A., Sorgeloos,P. and Trotinan,M.A.(Eds), CRC Press, Inc. Boca Roton, Florida. USA, Chapter.9. pp:221-236.

Colihueque, N.; Gajardo,G., 1996. Chromosomal analysis in Artemia populations from south America. Cytobios, Vol 88, No.354, pp.144-148.

Halfer-Cervini, A.M. ; Piccinelli, M.A. ; Prosdocimi, T. and Barateli, L. , 1968. Sibling species in Artemia (Crustacea: branchiopoda). Evolution. No. 22, pp.373-381.

Lavens, P. and Sorgeloos, P. , 1996. Manual on production and use of live food for aquaculture. Lab of Aquaculture and Artemia Research Center, University of Ghent Belgium, FAO Publication. 375 P.

Petrovic, A. , 1991. The karyotype of the parthenogenetics Artemia (Crustacea)

from Secovlje, Yugoslavia. Genetica Vol. 83, pp:289-291.

Rodriguez, S. ; Popeschi, G.A. and Cohen, G. , 1998. Mitotic and miotic chromosomes of Artemia (Branchiopoda) from populations of Lapampa Province, Argentina. Journal of Crustacean Biology, Vol. 18, No. 1, pp:36-41.

Sumner, A.T. , 1994. Chromosome banding and identification absorption staining. *In*: Methods in molecular biology. Chromosome analysis products, (Ed. Gosdon, J.R). Vol 29, 214 P.

Triantaphyllidis, G.V. ; Pilla, E. ; Thomas, K.M. ; Abatzopoulos, T.J. ; Beardmore, A. and Sorgeloos, P. , 1994. International study on Artemia. LII. Incubation of Artemia cysts samples at high temperature reveals mixed nature with *Artemia franciscana* cysts. Journal of Exprimental Marine Biology and Ecology. No. 183, pp.273-282.

Triantaphyllidis, G.V.; Poulopoula, K. ; Abatzopoulos, T.J. ; Pinto Perez, C.A. and Sorgeloos, P. , 1995. International study on Artemia. XLII. Salinity effects on survival, maturity, growth, biometerics, reproductive and life span characteristics of a bisexual and a parthenogenetic population of Artemia. Hydrobiologia No. 302, pp. 215-227.

Triantaphyllidis, G.V. ; Criel, G.R. ; Abatzopoulos T.J. ; Thomas, K.M. ; Peleman, J.; Beardmore, J.A. and Sorgeloos, P. , 1997. International study on Artemia. LVII. Morphological and molecular characters suggest conspecificity of all bisexual European and North African Artemia populations. Marine Biology. No. 129, pp.477-487.

Triantaphyllidis, G.V. ; Abatzopoulos T.J. and Sorgeloos, P. , 1998. Artemia

Biogeography. Journal of Biogeography. No. 25, pp.213-226.

Zhang, R. ; Liu, F. ; Zhao, X. and Zheng, Z. , 1990. ACTA. ZOOL. SIN. DONGWU. XUEBAO. Vol.36, No.4, pp.412-419.