جامعة بغداد
كلية التربية للعلوم الصرفة /ابن الهيثم
قسم علوم الحياة

# دراسة الهيأة الكروموسومية لنوع من أسماك المياه العذبة العراقية

## (سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius*)

رسالة تقدمت بها

**هبة حسين رسن**

**بكالوريوس علوم الحياة/ جامعة بغداد/ 2004**

**إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم – جامعة بغداد**

**وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير**

**في علوم الحياة / علم الحيوان/ وراثة خلوية**

باشراف

**الدكتورة أسماء سامي ابراهيم**

**جمادى الاولى/1437هـ** **شباط/2016م**

بِسْمِ اللهِ الرَّحْمنِ الرَّحِيمِ

﴿يرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آَمَنُوا مِنْكُمْ
وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ
وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ (١١)﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة – الآية (١١)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# اقرار المشرف

**أشهد أن اعداد هذه الرسالة الموسومة دراسة الهيأة الكروموسومية لنوع من اسماك المياه العذبة العراقية(سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius*) التي قدمتها ( هبة حسين رسن ) قد جرى تحت اشرافي في كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم / جامعة بغداد وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم في علوم الحياة / علم الحيوان/ وراثة خلوية.**

**التوقيع:**
**اسم المشرف: د. أسماء سامي ابراهيم**
**المرتبة العلمية: مدرس**
**العنوان: قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم**
**التاريخ: / /2016**

# توصية رئيس قسم علوم الحياة

**استناداً إلى التوصية أعلاه من قبل المشرفة المدرس الدكتورة أسماء سامي ابراهيم أرشح هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.**

**التوقيع:**
**الاسم: د. مازن نواف عبود**
**المرتبة العلمية: أستاذ مساعد**
**العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم – جامعة بغداد**
**التاريخ: / /2016**

## اقرار لجنة المناقشة

نحنُ أعضاء لجنة المناقشة الموقعون ادناه ، نشهد اننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة ( دراسة الهيأة الكروموسومية لنوع من أسماك المياه العذبة العراقية ( سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* )) المقدمة من قبل الطالبة ( هبة حسين رسن) كجزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم في علوم الحياة/ علم الوراثة بتقدير (امتياز) .

التوقيع:
الاسم: د.عبد الصاحب كاظم علي
اللقب العلمي: رئيس باحثين
التاريخ: / /2016
(عضو)

التوقيع:
الاسم: د. حازمة موسى خليل
اللقب العلمي :استاذ مساعد
التاريخ: / /2016
(عضو)

التوقيع:
الاسم: د. اسماء سامي ابراهيم
اللقب العلمي:مدرس
التاريخ: / /2016
(عضو / المشرف)

التوقيع:
الاسم: د. حسين عبد المنعم داود
اللقب العلمي:استاذ
التاريخ: / /2016
(رئيس اللجنة)

## مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / ابن الهيثم

التوقيع:
الاسم: د. خالد فهد علي
اللقب العلمي: استاذ مساعد
التاريخ: / /2016

# الإهداء

بكل الحب ..... الى رفيق دربي

الى من سار معي نحو

الحلم..... خطوه بخطوه

بذرناه معاً ..... وحصدناه' معاً

وسنبقى معاً ..... بأذن الله

**زوجي**

الى ضحكتي في هذه الدنيا ، سعادتي ونور عيني

**أطفالي الاحباء**

هبة

# شكر وتقدير

اللهم لك الحمد في الأول والآخر، اللهم منك المعونة ومنك الهداية عليك توكلنا وإليك أنبنا وإليك المصير، ونصلي ونسلم على حبيبنا المصطفى رسولك الكريم الذي آتيته جوامع الكلم وعصمته من الزلل وألهمته الصواب وعلى آله الطيبين الطاهرين وأصحابه الغر الميامين. وأنا على مشارف نهاية رحلة بحثي هذا لا يسعني إلا أن أتقدم بعظيم حبي وامتناني إلى أستاذتي المشرفة الدكتورة **أسماء سامي إبراهيم** على رعايتها ودعمها ومساعدتها لي طيلة مدة البحث و التي كان لها الأثر الكبير في التخفيف من صعوبات ومشقات العمل.

وأتقدم بوافر الشكر والتقدير إلى رئاسة قسم علوم الحياة ممثلة برئيس القسم الدكتور **مازن نواف عبود**، كما أشكر كل من ساعد على اتمام هذا البحث وقدم لي العون ومد لي يد المساعدة وزودني بالمعلومات اللازمة لاتمام بحثي وأخص منهم بالذكر: الأستاذ الدكتور **حسين عبد المنعم داود** والأستاذ المساعد الدكتور **إبراهيم مهدي عزوز السلمان** وطالب الدكتوراه **ثائر محمد إبراهيم**.

ويدعوني الواجب أن أعرب عن جزيل الشكر والعرفان إلى افراد عائلتي لدعمهم المستمر وفي المقدمة **والدي ووالدتي** من لا أزال حتى الآن أتحسس بصماتهما قلباً وعقلاً وأنحو منحاهم منهجاً ومساراً، اللذان أعطيا ولم يأخذا وإلى ريحانة حياتي أختي الوحيدة **دعاء**.

وأخيراً شكري وتقديري إلى كل من أعانني بتشجيع ودعاء وصَدق معي القول.

**هبة**

# الخلاصة

تمتلك الأسماك أهمية اقتصادية وبيئية كبيرة و بالرغم من ذلك لا تزال الدراسات الوراثية الخلوية حولها قليلة لاسيما الدراسات الوراثية الكروموسومية للاسماك المحلية، لذلك هدفت الدراسة الحالية التعرف على الهيأة الكروموسومية (Karyotype) (الطراز والعدد الكروموسومي) ونظام تحديد الجنس( Sex determination system ) لنوع من أسماك المياه العراقية العذبة ممثلاً بسمكة أبو الزمير العميق ((*Mystus pelusius* (Solander in Russell, 1794) التي تعد الممثل الوحيد لعائلة Bagridae في العراق، إذ تم جمع (20) سمكة بواقع (10) ذكور و(10) إناث تم اصطيادها من نهر دجلة في منطقة الكريعات بمحافظة بغداد . اجريت الدراسة الحالية للتحري عن الهيأة الكروموسومية، إذ تم اعداد التحضيرات الكروموسومية من خلايا الكلية وفقاً لتقنية (Air-drying technique).

أظهرت نتائج فحص ودراسة كروموسومات الطور الاستوائي لخلايا الكلية في الذكور والإناث أنها ذات عدد كروموسومي ثنائي 2n=32 ، والذي يمثل أقل عدد كروموسومي مسجل حتى الآن في الأسماك العراقية المدروسة سابقاً، كما أوضحت النتائج أن الطراز الكروموسومي في الذكور تضمن (2n=( 6m+13sm+7st+6t وعدد الأذرع FN=51 و الطراز الكروموسومي في الإناث تضمن (2n=(6m+12sm+8st+6t وعدد الاذرع FN=50، و لوحظ أيضاً أن الزوج تحت الوسطي السنترومير Submetacentric (sm) الأول هو الأكبر حجماً ضمن الكروموسومات الثنائية الأذرع (Biarmed).

بينت النتائج أن الذكر متباين الأمشاج ((Heterogamety ) والانثى متماثلة الأمشاج (Homogamety)، وعليه فإنها تتبع نظام تحديد الجنس (XX/XY)، إذ يمثل الكروموسوم (X)

بكروموسوم تحت الوسطي السنترومير (sm) متوسط الحجم والكروموسوم (Y) بكروموسوم تحت نهائي السنترومير Subtelocentric (st) صغير الحجم.

أظهرت نتائج استعمال تقنية حزم جمزا -Giemsa-banding technique (G-banding) المناطق الغنية بالقواعد النتروجينية الكوانين Guanine (G) والسايتوسين Cytosine (C) والتي يطلق عليها بـ ( حزم G الفاتحة ) (G-light) و المناطق الغنية بالقواعد النتروجينية الادنين Adenine (A) والثايمين Thymine (T) و التي يطلق عليها بـ ( حزم G الداكنة ) (G-dark) لذا حددت وبشكل أكثر دقة الكروموسومات الشقيقة Sister chromosomes في ذكور وإناث سمكة أبو الزمير العميق، فضلاً عن أن هذه التقنية وصفت بشكل أفضل الكروموسومات الجنسية Sex chromosomes، فقد لوحظ أن معظم الكروموسومات وفي كلا الجنسين ذات حزم G فاتحة (G-light)، إذ أن كل الأزواج الكرموسومية الجسمية Autosomes pairs الأحادية الذراع (Uniarmed) من نوع نهائية السنترومير Telocentric) (t)) وتحت نهائية السنترومير (st) تحتوي بأكملها على حزم (G-light)، أما الكروموسومات الجسمية الثنائية الأذرع من النوعين وسطية السنترومير (Metacentric (m)) وتحت وسطية السنترومير (sm) فقد تركزت الحزم الفاتحة عند أطراف أذرعها الكروموسومية، في حين أن المناطق الاخرى لهذه الكروموسومات الثنائية الأذرع هي ذات حزم داكنة (G-dark). أكدت نتائج استعمال تقنية الحزم (G-banding) ما بينته طريقة التصبيغ التقليدية( تقنية التصبيغ بجمزا Giemsa staining technique) حول تمييز الكروموسومات الجنسية، إذ أوضحت هذه التقنية وبشكل أدق وأفضل أن الذكر متباين الأمشاج من خلال ملاحظة كروموسوم (X) من نوع تحت الوسطي السنترومير (sm) متوسط الحجم مع ملاحظة الحزم (G-light) في موقع طرفي للذراع القصير (Short arm) لهذا الكروموسوم، أما الكروموسوم (Y) من نوع تحت النهائي

## الخلاصة

السنترومير (st) فهو الأكبر حجماً ضمن الكروموسومات الأحادية الأذرع وقد تميز هذا الكروموسوم عن الكروموسومات الأحادية الأذرع الأخرى بكونه داكناً بالكامل وعدم ملاحظة حزم (G-light)، بينما لوحظ في الإناث وجود زوج من الكروموسومات تحت الوسطية السنترومير (sm) متوسطة الحجم ذات حزم (G-light) تقع عند أطراف الأذرع الطويلة والقصيرة التي تمثل الكروموسومات الجنسية (XX)، وعليه عدت الإناث متماثلة الأمشاج والذكور متباينة الأمشاج وأثبتت أن نظام تحديد الجنس في سمكة أبو الزمير العميق هو نظام تحديد جنسي بسيط من نوع (XX/XY).

# المحتويات


| التسلسل | العناوين | رقم الصفحة |
|---|---|---|
| **الفصل الأول: المقدمة Introduction** | | |
| 1- | المقدمة | 1 |
| **الفصل الثاني: استعراض المراجع Literature Review** | | |
| 2- | استعراض المراجع | 4 |
| 1-2 | عائلة أبو الزمير Family: Bagridae | 4 |
| 2-2 | الدراسات الكروموسومية Chromosomal studies | 5 |
| 3-2 | الأعضاء المستعملة في الدراسات الكروموسومية للأسماك | 12 |
| 4-2 | تقنية التحزيم Banding Technique | 14 |
| 5-2 | الكروموسومات الجنسية للأسماك Sex Chromosome of Fish | 18 |
| | **الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل Materials and Methods** | |
| 3- | المواد وطرائق العمل | 26 |
| 1-3 | المواد Materials | 26 |
| 1-1-3 | الأجهزة المستعملة | 26 |
| 2-1-3 | المحاليل المستعملة | 26 |
| 2-3 | طرائق العمل Working Methods | 28 |
| 1-2-3 | جمع العينات Collection of specimens | 28 |
| 2-2-3 | تخدير الأسماك | 29 |
| 3-2-3 | تنميط الكروموسومات Karyotyping | 29 |
| 4-2-3 | اعداد الحزم G-bands | 30 |
| **الفصل الرابع: النتائج والمناقشة** | | |
| 4- | النتائج والمناقشة | |
| 1-4 | الدراسة الكروموسومية لسمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* | 32 |
| 2-4 | تقنية الحزم وتحديد الكروموسومات الجنسية | 43 |

| | | |
|---|---|---|
| **الاستنتاجات والتوصيات** | | |
| | الاستنتاجات Conclusions | 52 |
| | التوصيات Recommendations | 53 |
| **المصادر** | | |
| | المصادر العربية | 54 |
| | المصادر الاجنبية | 55 |

# قائمة الجداول


| رقم الجدول | عنوان الجدول | الصفحة |
|---|---|---|
| 1 | الاعداد الكروموسومية الملاحظة في خلايا الكلية لعشرة ذكور من سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* | 33 |
| 2 | الاعداد الكروموسومية الملاحظة في خلايا الكلية لعشرة اناث من سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* | 34 |

# قائمة الاشكال


| رقم الشكل | عنوان الجدول | الصفحة |
|---|---|---|
| 1 | سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* (Solander in Russell, 1794) | 29 |
| 2 | a- كروموسومات الطور الاستوائي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa staining technique .<br>b- الطراز الكروموسومي في ذكور سمكة ابو الزمير *العميق Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa staining technique. | 37 |
| 3 | a- كروموسومات الطور الاستوائي في اناث سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa staining technique .<br>b- الطراز الكروموسومي في اناث سمكة ابو الزمير *العميق Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa staining technique. | 38 |
| 4 | a- كروموسومات الطور الاستوائي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa-banding technique .<br>b- الطراز الكروموسومي في ذكور سمكة ابو الزمير *العميق Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa-banding technique. | 47 |
| 5 | a- كروموسومات الطور الاستوائي في اناث سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa-banding technique .<br>b- الطراز الكروموسومي في اناث سمكة ابو الزمير *العميق Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa-banding technique. | 48 |

# قائمة المختصرات

| المختصر | المصطلح |
|---|---|
| (a) | Acrocentric |
| (A) | Adenine |
| (C-banding) | Centromere-banding technique |
| (C) | Cytosine |
| (2n) | Diploid chromosome number |
| (ESD) | Environmental sex determination |
| (FN) | Fundamental number |
| (GSD) | Genetic sex determination |
| (G-banding) | Giemsa-banding technique |
| (G) | Guanine |
| (m) | Metacentric |
| ($NOR_s$) | Nucleolar organizer regions |
| (P.B.S) | Phosphate buffer saline |
| (Q-banding) | Quinacrine-banding technique |
| (R-banding) | Reverse-banding technique |
| (SD) | Sex determining |
| (sm) | Submetacentric |
| (st) | Subtelocentric |
| (t) | Telocentric |
| (TE) | Thermal effect |
| (T) | Thymine |

# قائمة المصطلحات

| المصطلح | التعريب |
|---|---|
| Acrocentric | طرفية السنترومير |
| Adenine | الادنين |
| Arginine | الارجنين |
| Autosomes pair | زوج كروموسومات جسمية |
| Banding techniques | تقنيات الحزم |
| Biarmed | ثنائية الأذرع |
| Centric fusions | الاندماجات المركزية |
| Centromere banding technique | تقنية حزم السنترومير |
| CG-rich | الحزم الغنية بالكوانين و السايتوسين |
| Chromosomal aberrations | التغيرات (الانحرافات) الكروموسومية |
| Chromosomal manipulation | التلاعب بالكروموسومات |
| Chromosomal rearrangement | اعادة الترتيب الكروموسومي |
| Chromosomal sex differentiation | التمايز الكروموسومي الجنسي |
| Chromosomal studies | دراسات كروموسومية |
| Chromosomes reorganization | اعادة تنظيم الكروموسومات |
| Colchicine | كولجسين |
| Comparative molecular genetic study | دراسة وراثية جزيئية مقارنة |
| Constitutive heterochromatin | الكروماتين المتباين التكويني |
| Cytogenetic | علم الوراثة الخلوية |
| Cytosine | سايتوسين |
| Cytotaxonomic | تصنيفية خلوية |
| Deletion | الحذف |
| Diploid chromosome number | العدد الكروموسومي الثنائي |
| DNA markers | مؤشرات الدنا |
| Duplication | التضاعف |

| المصطلح | التعريب |
|---|---|
| Environmental sex determination | تحديد جنسي بيئي |
| Evolutionary relationships | العلاقات التطورية |
| Family: Bagridae | عائلة أبو الزمير |
| Fixative solution | المحلول المثبت |
| Fundamental number | عدد الأذرع |
| Glacial acetic acid | حامض الخليك الثلجي |
| G-dark bands | حزم G الداكنة |
| Genetic control | تحكم وراثي |
| Genetic sex determination | تحديد جنسي وراثي |
| Giemsa banding technique | تقنية حزم جمزا |
| Giemsa stain | ملون جمزا |
| Giemsa staining technique | تقنية التصبيغ بجمزا |
| G-light bands | حزم G الفاتحة |
| Gonadal | المناسل |
| Guanine | كوانين |
| Hermaphroditic | خنثية |
| Heterochromatin | الكروماتين المتباين |
| Heterogamety | متباينة الأمشاج |
| Heterogeneous | غير متجانسة |
| Heteromorphic | متباينة الشكل |
| Histone proteins | بروتينات هستونية |
| Homogamety | متماثلة الأمشاج |
| Hypotonic | منخفض التوتر |
| Hypotonic KCL solution | محلول كلوريد البوتاسيوم منخفض التوتر |
| Inversion | الانقلاب |
| Karyotype | عدد الكروموسومات وطرزها |
| Karyotyping | تنميط الكروموسومات |

| المصطلح | التعريب |
|---|---|
| Larva | يرقات |
| Metacentric | وسطي السنترومير |
| Metaphase | طور استوائي |
| Multiple sex determination systems | أنظمة تحديد جنسي متعددة |
| Negative bands | حزم سالبة |
| Non-balanced crossing over | العبور غير المتوازن |
| Nucleolar organizer regions | مناطق تنظيم النوية |
| Order: Siluriformes | رتبة أسماك السلور |
| Pericentric inversion | الانقلاب ضمن السنترومير |
| Phosphate buffer saline | محلول دارئ الفوسفات الفسلجي |
| Phylogenetic | تطور السلالات |
| Phylogenetic history | التاريخ العرقي |
| Positive bands | حزم موجبة |
| Proto-sex chromosomes | كروموسومات جنسية بدائية |
| Quinacrine-banding technique | تقنية حزم كوينكرين |
| Reciprocal translocation | الانتقالات التبادلية |
| Reverse banding technique | تقنية الحزم العكسية |
| Robertsonian fusion | اندماج روبرت سونيان |
| Sex chromosomes | كروموسومات جنسية |
| Sex chromosomes determination systems | أنظمة تحديد الكروموسومات الجنسية |
| Sex determining | تحديد الجنس |
| Sex ratio | النسب بين الجنسين |
| Sex reversal | انقلاب جنسي |
| Short arm | الذراع القصير |
| Simple sex determination systems | أنظمة تحديد جنسي بسيطة |
| Sister chromosomes | كروموسومات شقيقة |

| المصطلح | التعريب |
|---|---|
| Submetacentric | تحت وسطي السنترومير |
| Subsequent chromosomes inversions | الانقلابات الكروموسومية المتتالية |
| Subtelocentric | تحت نهائي السنترومير |
| Taxonomic | تصنيفي |
| Telocentric | نهائي السنترومير |
| Telomeric | نهايات (أطراف) الأذرع الكروموسومية |
| Thermal effect | تأثير حراري |
| Thymine | ثايمين |
| Translocations | الانتقالات |
| Trypsin | تربسين |
| Uniarmed | أحادي الذراع |

# المقدمة

# Introduction

## 1- المقدمة Introduction

تعد الأسماك من الثروات الطبيعية المهمة اقتصادياً لقيمتها الغذائية العالية، إذ اعتمدت لسد النقص الحاصل في المصادر الغذائية ومواجهة الزيادة السكانية لدى الكثير من الشعوب، كما يعاد تصنيع المخلفات السمكية بوصفها علفاً للدواجن والمواشي وأنواع اخرى تربى كأسماك للزينة، فضلاً عن دور البعض منها في القضاء على ناقلات الأمراض واستعمالها كمؤشرات احيائية للكشف عن تلوث المياه (إبراهيم، 2008 ; Coad, 2010; Kim, 1998; Gold *et al*., 1990 ; Francis *et al*., 2014).

لقد اهتم سكان وادي الرافدين بالأسماك الموجودة في نهري دجلة والفرات منذ أكثر من 4000 سنة، إذ أنشئت اولى البحيرات السمكية في معابد السومريين، ورغم هذا الاهتمام الكبير الذي تعود بدايته إلى أقدم الأزمنة، لكن المعلومات المتوفرة عن الأسماك في هذه المنطقة المهمة من العالم قليلة جداً (محمد، 1987).

إن الدراسات الوراثية الخلوية توفر معلومات مهمة وأكثر دقة مما توفره الدراسات المظهرية (Singh *et al*., 2013b) إذ أن المعرفة المتزايدة عن الكروموسومات يمكن أن توفر معلومات موثوقة عن تطور السلالات (Kalbassi *et al*., 2006) وفهم وتفسير أفضل للعلاقات بين الأنواع (Artoni *et al*.,2009) فضلاً عن أهميتها في التصنيف و التطور والوراثة (Gold *et al*., 1990) وتربية وانتاج الأسماك (Kirpichnikov, 1981)، كما توفر نهجاً غنياً بالمعلومات بتكاليف منخفضة للغاية لتمييز التنوع الاحيائي في الأسماك (Medrado *et al*., 2012). عالمياً أجريت الكثير من الدراسات الوراثية عن الأسماك (Al-Sabti, 1991 ; Nazari *et al*., 2009 ; Garcia and Filho, 2008 ; Martinez *et al*., 2004 ; Cardoso *et al*., 2013 ; Valente *et al*., 2012).

إن الأساليب المستعملة عموماً في تحضير الكروموسومات تستند إلى أعداد الكروموسومات مباشرة من الأعضاء مثل الكلية و الكبد والغلاصم أو خلايا مستزرعة مثل (خلايا الدم البيض اللمفية) (Ida *et al*., 1978 ; Lieppman and Hubbs, 1969 ; Ganai *et al*., 2014 ; Luca *et al*., 2010 ; Uma and Chandran, 2009).

وقد تم اعتماد الكلية في الدراسة الحالية لأعداد الكروموسومات وتحديد الهيأة الكروموسومية وذلك لكون طريقة العمل والمواد المستعملة بسيطة وغير مكلفة فضلاً عن امكانية الحصول على عدد كبير من الخلايا المنقسمة في مرحلة الطور الاستوائي Metaphase (Dai, 2013).

كما اعتمدت تقنيات الحزم Banding techniques في الدراسات الوراثية الخلوية لعدة أغراض كاستعمالها لتحديد الكروموسومات الجنسية (Centofante *et al*., 2001) ومنها تقنية حزم جمزا Giemsa-banding technique إذ تمكن العلماء من خلال استعمال هذه التقنية من معرفة العلاقة التطورية وصلة القرابة بين الكائنات واضافة الكثير من المعلومات حول دور تطور الكروموسومات في نشوء الأنواع (Qu *et al*., 2012 ; Ueda and Naoi, 1999).

اظهرت مراجعة المصادر المحلية ان هناك القليل من الدراسات الوراثية الكروموسومية التي شملت تحديد الهيأة الكروموسومية، إذ امتازت الهيأة الكروموسومية للأسماك عموماً بالعدد الكبير والحجم الصغير للكروموسومات مما شكل صعوبة للباحثين في هذا المجال ( Karuppasamy *et al*., 2010 ; Singh *et al*., 2013b) ومنها دراسة الهيأة الكروموسومية Karyotype في سمكة البني *Barbus sharpeyi* (Balasem *et al*.,1994)، الكطان *B. xanthopterus* (Balasem *et al*., 2004) والشبوط *B. grypus* (Al-Ansari *et al*., 2005) وكلاً من سمكة الحمري *B. luteus*، البلعوط الملوكي *Chondrostoma regium* والبنيني كبير الفم

*Cyprinion macrostomum* (إبراهيم، 2008)، لذا فإن هناك حاجة كبيرة لدراسة الأسماك العراقية وراثياً

لذا هدفت الدراسة الحالية إلى:

1- تحديد العدد والطراز الكروموسومي (Karyotype) لنوع من أسماك المياه العراقية العذبة سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius*.

2- تحديد الكروموسومات الجنسية Sex chromosomes باعتماد تقنية الحزم G-banding technique.

# استعراض المراجع

# Literature Review

# 2- استعراض المراجع Literature Review

## 2-1 عائلة أبو الزمير Family: Bagridae

تمثل الأسماك أكثر من نصف الفقريات الموجودة إذ تضم ما يقدر بحوالي 32,000 نوع من أسماك المياه العذبة والمالحة (Eschmeyer and Fong, 2014) وهي متباينة من الناحية المظهرية والسلوكية والبيئية (Nelson, 2006). تُعد أسماك المياه العذبة واحدة من أكثر المجاميع تنوعاً في الفقريات وتضم 13,000 نوع منتشر في جميع أنحاء العالم (Francis *et al*., 2014).

ان رتبة أسماك السلور (Order: Siluriformes) أو الأسماك القطية Catfishes هي مجموعة كبيرة من أسماك المياه العذبة والبحرية وتضم 36 عائلة و478 جنساً و3093 نوعاً تتوزع بشكل واسع في جميع أنحاء العالم باستثناء المناطق الباردة لنصفي الكرة الأرضية الشمالي والجنوبي (Ferraris, 2007). وتعد عائلة Bagridae واحدة من العوائل العائدة لرتبة Siluriformes (Oliveira and Gosztonyi, 2000)، وتنتشر في المياه العذبة لافريقيا وفي نهري دجلة والفرات في غرب آسيا وعلى امتداد جنوب وشرق آسيا حتى شمال اليابان وجنوباً الى جزر الهند الشرقية (Berra, 2007)، ذُكِر وجود 53 نوعاً من الأسماك في المياه العراقية العذبة تنتمي إلى 11 عائلة ومنها الأسماك القطية التابعة لعائلة أبو الزمير Bagridae الموجودة في المياه العذبة لافريقيا وآسيا إذ يصل طول بعض الأنواع إلى 2 متر وهناك حوالي 18 جنساً و 170 نوعاً تقريباً، أما في العراق فقد سجل وجود نوع واحد فقط ينتمي لهذه العائلة وهو سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* (Solander in Russell, 1794) العائد لجنس Genus: *Mystus* الذي يضم45 نوعاً من الأنواع المنتشرة في آسيا

.(Plamoottil and Abraham, 2013; Ng and Pethiyagoda,2013; Coad, 2010)

تمتاز الأسماك القطية العائدة لعائلة Bagridae بأنها نشطة ليلاً (Coad, 2010) والكثير منها مهم اقتصادياً لقيمته الغذائية العالية ومذاقه الطيب والبعض منها يحتفظ بها كأسماك للزينة في أحواض زجاجية (Francis *et al*., 2014 ; Coad, 2010 ; Kim, 1998).

وقد أشار الشماع (Al-Shamma'a, 2006) إلى عدم استعمال أسماك أبو الزمير العميق *M. pelusius* مطلقاً كغذاء في العراق وكذلك ذكر بأن هذه الأسماك تتغذى على الحشرات ويرقاتها والجمبري والعوالق الحيوانية. إن التصنيف العلمي لسمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* (Solander in Russell, 1794) هو:

**Kingdom**: Animalia
**Phylum**: Chordata
**Subphylum**: Vertebrata
**Superclass**: Osteichthyes
**Class**: Actinopterygii
**Order**: Siluriformes
**Family**: Bagridae
**Genus**: *Mystus*
**Species**: *Pelusius*

(Francis *et al*., 2014 )

## 2-2 الدراسات الكروموسومية Chromosomal studies

لم تكن الدراسات الخاصة بالكروموسومات في الأسماك واسعة النطاق مقارنة بالفقريات الاخرى، إذ تميزت الهيأة الكروموسومية للأسماك عموماً بالعدد الكبير والحجم الصغير للكروموسومات مما شكل صعوبة للباحثين في هذا المجال، لذلك تكون المعلومات الكروموسومية المتوفرة عن الأسماك قليلة وتمثل 10% فقط من اجمالي الأسماك المعروفة تصنيفياً لحد الآن (Singh *et al*., 2013b ; Karuppasamy *et al*., 2010).

لـقد ذُكِر بأن الهيـأة الكروموسومية للأسـماك ليست ثابـتة كما هـو الحـال فـي الإنـسان وأنـواع الحيوانات الاخرى، إذ لـم تكن لديها هيـأة كروموسومية قياسية، فالأسـماك المختلفة كانت مـتنوعة من حيـث الأعداد والطرز الكروموسومية حـتى ضمن الأنـواع العائدة للجـنس نفسـه (Das and Khuda-Bukhsh, 2007).

توفر الدراسات الوراثية الخلوية للأسماك معلومات مكملة وأكثر دقة مما توفره الدراسات المظهرية للأسماك (Singh *et al*., 2013a). فقد أثبت علم الوراثة الخلوية Cytogenetic نفسه كأداة مهمة لفهم الأنظمة في الأجناس لذا تساهم خصائص الهيأة الكروموسومية في التوصل إلى فهم وتفسير أفضل للعلاقات بين الأنواع (Artoni *et al*., 2009).

بدأت دراسة الكروموسومات للأسماك العائدة لرتبة الاسماك القطية( Siluriformes) خلال العقود الثلاثة الماضية مقارنة بالمجاميع الاخرى من الأسماك، فالمعلومات المعروفة عن الهيأة الكروموسومية معظمها لدراسات أجريت على عوائل القراميط الامريكية Bagridae (Siluridae, ,Callichthydae) Kim *et* ; Le Grande, 1981 ; Scheel *et al*., 1972) *al*., 1982). إذ أشارت دراسة وراثية لأسماك من رتبة الاسماك القطية( Siluriformes )إلى أنها ممثلة تمثيلاً وراثياً خلوياً جيداً نسبياً من خلال دراسة الكروموسومات في 110 نوع مدروس حتى الآن والمنتشرة في 12 عائلة مختلفة إذ أن 81 نوعاً من هذه الأنواع عائدة إلى اربعة عوائل هي: (Bagridae, Callichthydae, Siluridae, Ictaluridae). إن التباين الواسع النطاق للهيأة الكروموسومية لا يزال سائداً وبمستوى متجانس بين معظم عوائل رتبة الاسماك القطية Siluriformes، لذا فمن الصعب تحديد النمط العام لتطور الهيأة الكروموسومية فيما يتعلق بِنَسب تطور السلالات Phylogenetic في الأسماك القطية (Choudhury *et al*., 1993).

بينت دراسة وراثية خلوية أن العدد الكروموسومي الثنائي (Diploid chromosome number) (2n) في رتبة الاسماك القطية( Siluriformes) تراوح بين 2n=28 في *Liobagrus andersonii* من عائلة Bagridae (Kim *et al*., 1982) و2n=132 في *Corydoras aeneus* من عائلة Callichthyidae (Scheel *et al*., 1972). بينما تراوح عدد الأذرع Fundamental number (FN) من 44 في *Ompak bimaculatus* من عائلة Siluridae (Nayyar, 1966) إلى 222 في *Corydoras aeneus* في عائلة Callichthyidae (Scheel *et al*., 1972). في حين أظهرت دراسات وراثية خلوية أخرى أجريت على عدة أنواع عائدة إلى رتبة الاسماك القطية( Silurifromes) وجود تنوع في العدد الكروموسومي تراوح بين 2n=24 في *Leiobagrus marginatus* ( Khuda-Bukhsh *et* ;Alves *et al*., 2006 ;Yu *et al*., 1987 *al*., 1986) و 2n=134 في *Corydoras aeneus* (Rebelo - Porto *et al*.,1992 ; Fenocchio and Bertollo, 1990; Oliveira *et al*.,1993 ;Borin and Martins-Santo,1999).

سُجِل العدد الكروموسومي الثنائي 2n=56 في 13 جنساً من رتبة الاسماك القطية(Siluriformes) مما يشير إلى أن هذا العدد الكروموسومي يمكن أن يمثل العدد الأساسي للسلف في هذه الرتبة .(Oliveira and Gosztonyi, 2000).

بينت دراسات وراثية اخرى اجريت على رتبة الاسماك القطية( Siluriformes) تسجيل العدد الكروموسومي الثنائي 2n=56±2 مع تركيب كروموسومي مكون أساساً من كروموسومات ثنائية الأذرع Biarmed من نوع وسطية السنترومير Metacentric (m) وتحت وسطية السنترومير Submetacentric (sm) بكثرة مع زيادة عدد الأذرع (FN) ( Le Grande, 1981 ; Lima and Galetti Jr., 1990 ; Oliveira *et al*., 1988 ; Brum and Galetti, 1997).

كما أكدت الدراسات التي اجريت على 321 نوعاً عائداً لهذه الرتبة بأنها ذات عدد كروموسومي 2n=56±2، مما يشير إلى حدوث تغيرات طفيفة في العدد الكروموسومي الثنائي خلال تكون الكروموسومات، ضمن التركيب الكروموسومي لهذه الأنواع، بينما كانت عوائل اخرى عائدة لرتبة الاسماك القطية( Siluriformes) كعوائل (Bagridae, Ictaluridae, Callichthyidae) ذات أنواع بأعداد كروموسومية مختلفة، مما يشير إلى أن التاريخ التطوري لهذه المجاميع كان مختلفاً عما كان عليه في العوائل الاخرى العائدة لرتبة Siluriformes (Oliveira and Gosztonyi, 2000).

تمثل عائلة Loricariidae أكبر العوائل السمكية في العالم والعائدة لرتبة الاسماك القطية ( Siluriformes) إذ تضم 690 نوعاً (Reis *et al*., 2003)، وصفت الهيأة الكروموسومية في 100 نوع حتى الآن (Alves *et al*., 2006 ; Oliveira and Gosztonyi, 2000).وأظهرت الدراسات الوراثية الخلوية التي أجريت في 90 نوعاً عائداً لهذه العائلة، إن العدد الكروموسومي تراوح بين 2n=38 في *Ancistrus* sp. و 2n=96 في *Hemipsilichthys gobio* (Alves *et al*., 2012a). في حين أشارت دراسة سابقة الى أن العدد الكرموسومي تراوح من 2n=36 في سمكة *Rineloricaria lativostris* (Giuliano-Caetano, 1998) إلى 2n=96 في *Hemipsilichthys gobio* (Kavalco *et al.*, 2005).

أظهرت دراسة وراثية خلوية لستة أنواع عائدة لجنس *Hypostomus* تنوعاً كبيراً في العدد الكروموسومي تراوح بين 2n=68 و 2n=76 الذي تزامن مع سيادة الكروموسومات الطرفية السنترومير Acrocentric (a) (Alves *et al*., 2012b). في حين أشارت دراسة سابقة إلى أن العدد الكروموسومي في جنس *Hypostomus* تراوح بين 2n=64 في *Hypostomus* sp.1 و 2n=76 في *H.* prope *paulinus* (Fenerich *et al*., 2004).

أوضحت دراسة وراثية لستة أنواع عائدة لجنس *Hypostomus* تسجيل العدد الكروموسومي نفسه 2n=68 في سمكتي *H. ancistroides* و *H.* prope *plecostomus* مع تباين طرازها الكروموسومي فالطراز الكروموسومي للنوع الأول تضمن (16m+4sm+16st+32a) بينما الطراز الكروموسومي للنوع الثاني تضمن (12m+16sm+12st+28a)، كما أظهرت الأسماك *H. albopunctatus*، *H.* prope *iheringi* و *H. strigaticeps* العدد الكروموسومي نفسه 2n=74 مع تباين طرزها الكروموسومية فالنوع الأول كان ذا طراز كروموسومي (10m+20sm+16st+28a) والنوع الثاني ذا طراز كروموسومي (10m+14sm+20st+30a) والنوع الثالث ذا طراز كروموسومي (10m+14sm+14st+36a)، بينما كانت سمكة *H.* prope *peulinus* ذات عدد كروموسومي 2n=76 وبطراز كروموسومي تضمن (6m+18sm+12st+40a) (Alves *et al*., 2012b).

لقد شوهد تنوع الطرز الكروموسومية بالرغم من كون العدد الكروموسومي متماثلاً، فقد سُجل العدد الكروموسومي 2n=52 في كل من *Pteryoplichthys joselimaianus*، *Hemiancistrus spinosissimus*، *H. spilomma* و *Lipocarcus anisitsi* ولكن الطرز الكروموسومية اختلفت إذ تضمنت الطراز (28m+16sm+8st/a) في النوع الأول و (26m+22sm+4st) في النوع الثاني أما النوع الثالث فقد أظهر الذكور الطراز الكروموسومي (24m+22sm+6st) بينما أظهرت الإناث الطراز الكروموسومي (25m+21sm+6st) وتضمن النوع الرابع الطراز (16m+24sm+12st/a) (Artoni *et al*.,1999; De Oliveira *et al*.,2006).

بينت دراسة وراثية خلوية اخرى لأربعة أنواع عائدة لعائلة Loricariidae تنوعاً في العدد والطراز الكروموسومي، إذ سجل العدد الكروموسومي 2n=54 لسمكة *Neoplecostomus microps* وتضمن الطراز الكروموسومي (24m +20sm+10st) و FN=108، والعدد 2n=56 في *Hatttia loricariformis* وبطراز (16m+22sm+10st+8a) و FN=106، بينما كانت سمكة *Hyposomus affinis* ذات عدد كروموسومي 2n=66 وبطراز (14m+14sm+12st+26a) و FN=106 وسمكة *Upsilidus* sp. ذات عدد كروموسومي 2n=96 وبطراز (16m+8sm +72a) و FN=120 (Kavalco *et al.*, 2005).

تمتاز عائلة Bagridae بالتنوع الكبير أيضاً من حيث الأعداد والطرز الكروموسومية المسجلة فعلى سبيل المثال كانت سمكة *Coreobagris brevicorpus* ذات عدد كروموسومي 2n=44 (Kim *et al.*, 1982) وسمكة *Mystus macropterus* ذات عدد كروموسومي 2n=60، أدت عمليات اعادة الترتيب الكروموسومي Chromosomal rearrangement دوراً هاماً في تنوع وتطور عائلة Bagridae (Hong and Zhou, 1984). اشارت دراسة وراثية لعائلة Bagridae بأن الأعداد الكروموسومية فيها تراوحت بين 2n=28 في *Liobagrus andersonii* (Kim *et al.*, 1982) و 2n=58 في *Mystus guilo* (Manna and Khuda-Bukhsh, 1978) بينما تراوح عدد الأذرع (FN) بين 26 و 116 وفي أغلب الحالات يتجاوز عدد الأذرع 100 (Choudhury *et al.*, 1993). في حين بينت دراسة اخرى بأن العدد الكروموسومي الثنائي تراوح في عائلة Bagridae بين 28 و 60 كروموسوماً (Oliveira and Gosztonyi, 2000).

ذُكِر اختلاف العدد الكروموسومي بين الأنواع العائدة لجنس *Mystus* (Karuppasamy *et al.*, 2010; Das and Khuda-Bukhsh, 2003). وبناءً على

المعلومات المتوفرة عن الهيأة الكروموسومية في خمسة أنواع من جنس *Mystus* فإن العدد الكروموسومي الثنائي تراوح بين 54 و 58 (Singh *et al*., 2013b) وفي دراسة اخرى لجنس *Mystus* بينت أن العدد الثنائي في هذا الجنس هو 2n= 56±2 (Chanda, 1989) وهو مشابه للعدد الكروموسومي الموجود في معظم اجناس العائلة Bagridae كما في *Hemibagrus wyckii* (Ferraris, 2007) وسمكة *Mystus wyckii* ذات عدد كروموسومي 2n=54 (Wichian and Ryoichi, 1988).

كما أظهرت دراسات للهيأة الكروموسومية وجود العدد الكروموسومي 2n=56 في كل من *Hemibagrus menoda* (Ferraris, 2007) و *Mystus menoda* في الهند (Chanda, 1989). والعدد الكروموسومي 2n = 58 في *Mystus corsula* (Barat and Khuda-Bukush, 1986). سُجل العدد الكروموسومي 2n=56 في أسماك *Coreobagrus ichikawai*، *Hemibagrus menoda*، *H. nemurus*، *Mystus albolineatus*، *M. singaringas*، *M. bocourti*، *Pelteobagrus nudiceps* و *Sperata acicularis* والعائدة لعائلة Bagridae (Arai, 2011 ; Donsakul, 2000)، بينما الهيأة الكروموسومية لهذه الأنواع تضمنت الطراز الكروموسومي (22m + 22sm + 12st/a) (Supiwong *et al*., 2013).

في حين أشارت دراسة سابقة لسمكة *Mystus bocourti* بأنها ذات طراز كروموسومي (24m+18sm+14st/a) (Donsakul, 2000). لقد تمت الإشارة إلى دور بعض الظواهر كالانقلاب ضمن السنترومير Pericentric inversion في تمايز الهيأة الكروموسومية لهذه الأنواع كما عدت عملية اعادة الترتيب الكروموسومي آلية تطورية شائعة نسبياً ضمن عائلة Bagridae (Arai, 2011). إن عمليات تنوع الهيأة الكروموسومية في الأنواع تتأثر بعوامل

متعددة قد تكون داخلية جينومية أو كروموسومية أو خارجية كالتدفق الجيني بين المجاميع السكانية وهو عامل مهم لحدوث التغيرات في الهيأة الكروموسومية (Supiwong *et al*., 2013).

## 2-3 الأعضاء المستعملة في الدراسات الكروموسومية للأسماك

إن أغلب الدراسات الكروموسومية المنجزة في الأسماك اعتمدت كل من الكلية، الغلاصم، خلايا الدم البيض اللمفية واليرقات كأعضاء خاصة لاعداد التحضيرات الكروموسومية (Degonzo *et al*., 2000 ;Woznicki *et al*., 1998 ; Manna and Prasad, 1968; ; Grazyna *et al*., 2008 ; Oliveira *et al*., 2006 ; Manosroi *et al*., 2003 ; Bhatnagr *et al*., 2014 ; Valic *et al*., 2010 ; Esmaeili *et al*., 2009 Sukham *et* ; Nirchio *et al*., 2014 ; Sarower *et al*., 2014 ; Ganai *et al*., 2014 .(*al*., 2014

أشارت العديد من الدراسات إلى اعتماد الكلية بشكل كبير في الدراسات الوراثية الخلوية ومن هذه الدراسات دراسة أجريت لنوعين من جنس *Talia* من عائلة Auchenipteridae والعائدة لرتبة Siluriformes وهما *T. jaracatia* و *T. neivai* (Lui *et al*., 2013). كما تم اعداد التحضيرات الكروموسومية من الكلية لأجل دراسة الهيأة الكروموسومية لسمكة *Callichthys callichthys* والعائدة لعائلة Callichthyidae (Konerat *et al*., 2014).

كذلك اعتمدت الكلية كعضو لاعداد الكروموسومات في سمكة السلور *Mystus ngasep* من عائلة Bagridae في شمال الهند (Singh *et al*., 2013b) وكذلك في أسماك *Batta splendes*، *Leuciscus borysthenicus* و *Barilius ngawa* (Grazyna *et al*., 2008 .(Sukham *et al*., 2014 ; Luca *et al*., 2010 ;

أشير إلى اعتماد الكلية لاعداد التحضيرات الكروموسومية بشكل كبير في الدراسات الوراثية الخلوية للأسماك وذلك لكون طريقة العمل والمواد المستعملة بسيطة وغير مكلفة فضلاً عن

امكانية الحصول على عدد كبير من الخلايا المنقسمة وتحديداً في الطور الاستوائي Metaphase، لكنها تتطلب نفوق الأسماك (Affonso *et al*., ; Foresti *et al*., 1993 ; 2007 ; Martinez *et al*. 2011; Kushwaha *et al*., 2011 ; Dai, 2013).

أجريت العديد من الدراسات الوراثية الخلوية باعتماد الغلاصم كمصدر لتحضير الكروموسومات لأن طريقة العمل والمواد المستعملة بسيطة وغير مكلفة ولا تتطلب نفوق الحيوان (Uma and Chandran, ; Rivlin *et al*., 1985 ;Lieppman and Hubbs, 1969 ; 2009 ; Singh *et al*., 2013a). ومن هذه الدراسات دراسة أجريت لسمكة *Notropis lutrensis* (Lieppman and Hubbs, 1969). ولنوعين من الأسماك *Mystus vittatus* و *M. gulio* العائدة لعائلة Bagridae (Karuppasamy *et al*., ; Choudhurg *et al*., 1993 2010).

استعملت خلايا الدم البيض اللمفية لاعداد الكروموسومات في عدة دراسات وراثية كونها امتازت بامكانية الحصول على عدد كبير من الخلايا المنقسمة مع كروموسومات منتشرة بشكل جيد، فضلاً عن امكانية ابقاء العينات حية واستعمالها في دراسات اخرى ( Manosroi *et al*., 2003 ; Eyo, 2005)، لكنها مكلفة نوعاً ما وتستغرق وقتاً طويلاً لاعداد الكروموسومات مقارنة بالأعضاء الاخرى (Al-Sabti, 1986) ومن الدراسات التي اعتمدت خلايا الدم البيض اللمفية لاعداد التحضيرات الكروموسومية هي دراسة أجريت للأسماك *Pangasiandon gigas* (Manosroi *et al*., 2003)، *Larias ebriensis* (Eyo, 2005) و *Hemisorubim platyrhynchos* (Swarça *et al*., 2013).

اعتمدت بعض الدراسات على أعضاء (أنسجة صلبة) اخرى لاجراء التحضيرات الكروموسومية كالأعضاء التناسلية و القلب و المعدة و الطحال و الكبد و الأمعاء

(Valentim *et al*., 2006 ;Affonso and Galetti Jr., 2005 ; إبراهيم، 2008 ; Uma and Chandran, 2009). ومن هذه الدراسات دراسة أجريت على أسماك *Potamotrygon orbignyi* ،*P. motoro* ،*Centropyge ferrugatus* ،*C. auratonotus* و*Gymnocorymbus ternetzi*. (Affonso and Galletti Jr., 2005).

أظهرت دراسة امكانية استعمال اليرقات Larva في اعداد التحضيرات الكروموسومية والحصول على الكروموسومات المتغلظة والمنتشرة مما يسهل عدها وذلك في سمكة *Labeo rohita* (Sarower *et al*., 2014).

ولتحسين التحليلات الوراثية الخلوية في الأسماك مع التركيز بصورة خاصة على الأنواع النادرة والحساسة، اعتمدت منهجية جديدة باستعمال الأسماك النافقه للحصول على التحضيرات الكروموسومية ما بعد الوفاة التي أجريت في أسماك *Mugil incilis*، *Pomacanthus paru*، *Prochilodus vimboides* و *Anisotremus virginicus* (Netto *et al*., 2007).

## 2-4 تقنية التحزيم Banding Technique

استعملت تقنية الحزم لأول مرة من قبل العالم كاسبيرسون عام 1967 إذ تتمايز الكروموسومات عن بعضها البعض من خلال تصبيغ الأذرع الكروموسومية خطياً أو بشكل حزم ذات مواقع متنوعة (Caspersson *et al*., 1970 ; Macgregor and Varly, 1988 ; Moore and Best, 2001 ; Thiriot-Quievreux, 2002).

إن تقنيات الحزم تسمح بالتحري بشكل أكثر دقة عن جوانب مختلفة في الهيأة الكروموسومية ومن أهم تطبيقاتها تصنيف الكروموسومات وترتيبها بشكل أدق عند اعداد الهيأة الكروموسومية، كما يمكن من خلال هذه التقنية التعرف على القطع الكروموسومية الصغيرة التي مرت بعمليات اعادة الترتيب كالانتقالات التبادلية Reciprocal translocation التي لا يمكن

ملاحظتها باستعمال تقنيات التصبيغ البسيطة المعروفة (Moore and Best, 2001) طورت الأساليب المعتمدة في اعداد التحضيرات الكروموسومية منذ عام 1976 إذ استعملت تقنيات الحزم في التصنيفTaxonomic(Smith,2006) ، دراسة تطور السلالاتPhylogenetic (Bickmore, 2001 )، التحكم الوراثي Genetic control (Mani *et al*., 2013) وعمليات التلاعب بالكروموسومات Chromosomal manipulations (Margery,1973), كذلك يمكن من خلالها الدراسة والتعرف على تطور الطرز الكروموسومية للكثير من أنواع الكائنات ومنها الأسماك، إذ تكون الطرز الكروموسومية للأنواع المتقاربة وراثياً متطابقة بنسبة كبيرة، فضلاً عن أن المقارنة بين أنماط الحزم تعمل على تأكيد العلاقات التطورية بين الأنواع، كما يمكن من خلال دراسة الحزم ملاحظة التغيرات الحاصلة في الطراز الكروموسومي والناجمة عن عدة ميكانيكيات كاندماج روبرت سونيان Robertsonian fusion وأخيراً بالامكان رصد الملوثات المائية من خلال ملاحظة التغيرات (الانحرافات) الكروموسومية Chromosomal aberrations في الأسماك المتواجدة في بيئة مائية ملوثة باعتماد تقنيات الحزم عند دراسة تركيبها الكروموسومي (Mani ; Smith, 2006 ; Deng *et al*., 2003 ; Bickmore, 2001 ; Margery, 1973 *et al*., 2013). كذلك استعملت هذه التقنيات للكشف عن أنظمة تحديد الكروموسومات الجنسية Sex chromosomes determination systems (Rishi, 1979 ; Le Grande, 1975 ; Centofante *et al*., 2001).

واعتمدت تقنيات الحزم في الدراسات الوراثية الخلوية للفقريات المختلفة (Bernardi, 1989)، كالفئران والإنسان (Margery, 1973 ; Pardue and Gall, 1970) وفي الزواحف (Carr *et al*., 1981). والأسماك (Abe and Muramoto, 1974 ; Thorgaard, 1976).

هناك عدة أنواع من تقنيات الحزم اوردها كل من(Moore and Best, ; Bickmore, 2001 2001) وهي كالآتي:

1. Centromere-banding technique (C-banding)
2. Giemsa-banding technique (G- banding)
3. Quinacrine-banding technique (Q- banding)
4. Reverse-banding technique (R- banding)

أجريت دراسات وراثية خلوية باعتماد تقنيات الحزم (C, G, Q) banding في دراسة التركيب الوراثي لسمكة *Garra variabilis* (Karahan and Ergene, 2010) وسمكة *Pseudophowinus antalyae* (Ergene *et al*., 2010)، وكذلك اعتمدت تقنية الحزم في دراسة عدد قليل من أسماك الكارب الاوربية (Klinkhardt *et al*., 1995).

إن معظم الدراسات الكروموسومية في الأسماك اعتمدت تقنيتي الحزم (C-banding, G-banding) techniques بكثرة (Ueda and Naoi, 1999). أوضحت الدراسات المعتمدة على تقنية الحزم C-banding technique أنها مفيدة في التحري عن تطور الهيأة الكروموسومية وتحديد العلاقات بين أنواع الأسماك (Ueda *et al*., 2001 ; Mani *et al*., 2013 ; Sharma *et al*., 2002) وفي دراسة وتحديد مناطق تنظيم النوية (Nucleolar organizer regions) NORs. (Ueda and Naoi, 1999 ; Almeida *et al*., 2013).

استعملت هذه التقنية كوسيلة لتحديد مواقع الكروماتين المتباين التكويني Constitutive heterochromatin (Bickmore, 2001 ; Gold *et al*., 1990 ; Sumner, 1972). لوحظت حزم C-bands ضمن السنترومير Pericentromeric وفي نهاية الأذرع الكروموسومية Telomeric في معظم أنواع الأسماك (Margarido and Galetti Jr., 2000 ;

; Silva *et al.*, 2012a ; Karasu *et al.*, 2011 ; Kirtiklis *et al.*, 2005 Knytl *et al.*, 2013). كما يمكن أن توجد حزم C-bands على طول الذراع الكروموسومي القصير للكروموسومات الطرفية السنترومير Acrocentric chromosomes (Gold *et al.*, 1986).

ومن الدراسات التي أجريت باستعمال هذه التقنية دراسة لسمكة *Abeamis brama* (Ocalewicz *et al.*, 2004) ودراسة اخرى لسمكة *Luciobarbus escherichii* (Gaffaroğlu *et al.*, 2013) إذ لوحظت حزم C-bands ضمن سنترومير العديد من كروموسوماتها (Gaffaroğlu *et al.*, 2013 ; Ocalewicz *et al.*, 2004). في حين اظهرت دراسة لسمكة *Cyprinion macrostomum* وجود هذه الحزم ضمن السنترومير لجميع الكروموسومات (Gaffaroğlu and Yüksel, 2009).

ظهرت تقنية الحزم G-banding technique في عام 1971 وتم إجراء العديد من التحويرات على هذه التقنية من قبل عدة باحثين (Sumner *et al.*, 1971 ; Korf *et al.*, 1976 ; Wang and Fedoroff, 1972). اعتمدت هذه التقنية بشكل واسع لدراسة الكروموسومات (تحديد الطراز والعدد الكروموسومي Karyotype)، التغيرات الكروموسومية كالانتقالات Translocations والحذف Deletion والانقلاب Inversion والتضاعف Duplication، فضلاً عن دورها في الكشف عن التغيرات في الهيأة الكروموسومية ذات العلاقة بعملية التنوع ويمكن من خلال المقارنة بين أنماط الحزم التعرف على العلاقات التطورية بين الأنواع (Kannan and ; Bickmore, 2001 ; Ueda and Naoi, 1999 Qu *et al.*, 2012 ; Alwi, 2009). كذلك استعملت هذه التقنية للتمييز بين المجاميع

السكانية (Karahan and Ergene, 2010)، ولدراسة مدى التقارب الوراثي بين الأنواع (Borisov and Orlov, 2012).

ومن الدراسات التي أجريت على الاسماك باستعمال تقنية الحزم G-banding دراسة لسمكة *Colisa fasciatus* (Rishi, 1979) ولسمكة *Hoplias malabaricus* (Bertollo *et al.*, 1997). كما أجريت دراسات اخرى لسمكة *Rhinomugil corsula* (Chakrabarti and Khuda-Bukhsh, 2000). وسمكة *Pangasianodon gigas* (Manosroi *et al*., 2003).

## 2-5 الكروموسومات الجنسية للأسماك Sex Chromosome of Fish

درست الكروموسومات الجنسية Sex chromosomes على نطاق واسع في الفقريات واللافقريات والنباتات والتركيز على منشئها وتمايزها (Ezaz *et al*.,2009 ;Kubat *et al*.,2008 ; Yano *et al*., ; Cioffi *et al*., 2011; 2013 ; Kaiser and Bachtrog, 2010 ; Bachtrog *et al*., 2014a). كما يمكن من خلالها التحري عن العمليات التطورية للجينوم (2011). تعد الأسماك لاسيما العظمية منها ذات أنظمة تحديد جنسي متنوعة ومتميزة مقارنة بالفقاريات الاخرى كاللبائن والثعابين والطيور (Devlin and Nagahama, 2002 ; Ross *et al*., 2009) إذ تمتلك الطيور والثعابين نظام (ZZ/ZW) وتكون الإناث متباينة الأمشاج Heterogamety (Ezaz *et al*., ; Waters *et al*., 2001 ; Kumar and Hedges, 1998 2006) ومعظم اللبائن ذات نظام تحديد جنسي (XX/XY) إذ تكون الذكور متباينة الأمشاج Heterogamety (Graves, 2006 ; Shetty *et al*., 1997 ; Harild *et al*., 1997).

بينما تظهر الأسماك مجموعة غير متجانسة Heterogeneous للغاية من أنظمة التحديد الجنسي (Da Cruz *et al*., 2011) التي تشمل أنظمة تحديد جنسي بسيطة ومتعددة

;Almeida-Toledo and ) Multiple and Simple sex determination systems (Silva *et al*., 2012b ;Oliveira *et al*., 2009 Foresti, 2001 يكون فيها الذكر متباين الأمشاج أحياناً والانثى متباينة الأمشاج أحياناً أخرى ( Almeida-Toledo; Devlin and Nagahama, 2002 and Foresti, 2001) والملاحظة في الأنواع العائدة للجنس نفسه وحتى للمجاميع السكانية من النوع نفسه (Centofante *et al*.,2002 ; Silva *et al*., 2012b ; Mank *et al*., 2006).

إن أنظمة تحديد الجنس الأكثر شيوعاً في الأسماك هي التي تكون فيها الإناث متباينة الأمشاج (Silva *et al*., 2012a ; Centofante *et al*., 2002) كما لوحظت أسماك خنثية Hermaphroditic في بعض الأنواع (Bellafronte *et al*., 2012 ;Schartl, 2004) لقد اهتم الباحثون في علم الأحياء التطوري منذ حقبة طويلة بأصل وتطور الكروموسومات الجنسية وافترضوا أن جميع الكروموسومات الجنسية نشأت من زوج من الكروموسومات الجسمية Autosomes pair التي أصبحت بمرور الوقت متباينة الشكل Heteromorphic (Parise-Maltempi *et al*., 2013 ; Kondo *et al*., 2006 ; Ohno *et al*., 1967) بينما ذكر جيلوتي وجماعته (Ghigliotti *et al*., 2013) أن الكروموسومات الجنسية هي كروموسومات مشتقة من كروموسومات جنسية بدائية Proto-sex chromosomes تحمل مجموعة من جينات تحديد الجنس وهي أساسية في كثير من أنواع الفقاريات ومنها الأسماك من أجل نشوء وتحديد الذكور والإناث (Livernois *et al*., 2012 ; Bellafronte *et al*., 2012) إذ افترضت عدة ميكانيكيات لتفسير نشوء الكروموسومات الجنسية في الأسماك هي:

العبور غير المتوازن Non-balanced crossing over في الكروماتين المتباين Heterochromatin وتثبيط عملية اعادة التركيب لزوج من الكروموسومات الجسمية تليها

مجموعة من التغيرات الكروموسومية كالانقلابات الكروموسومية المتتالية Subsequent chromosome inversions والانتقالات Translocations والحذف Deletions، وتراكم تتابع أو تسلسل معين من القواعد النتروجينية المكرر بشكل منتظم بعدها ستؤدي إلى تغيرات هيكلية ووظيفية ومن ثم انتاج الكروموسومات الجنسية وعرفت هذه العملية بالتمايز الكروموسومي الجنسي Chromosomal sex differentiation (Nanda *et al*., 1990 ; Rice, 1987 ; Ozouf-Costa *et al*.,2004 ;Lippman *et al*.,2004 ; Ruiz-Carus, 2002 ; Gross *et al*. , 2009 ; Chen *et al*. , 2008 ; Parise-Maltempi *et al*.,2007 Livernois *et al*., 2012 ; Cioffi and Bertollo, 2012 ; Machado *et al*. , 2011 ; Yano *et al*., 2014b ; Dan *et al*., 2013 ; Martins *et al*., 2013).

وبالمقارنة مع التنوع الكبير في المجتمعات السمكية فإن معظم أنواع الأسماك العظمية وغير العظمية لا تمتلك كروموسومات جنسية متمايزة (متباينة الشكل) (Moreira-Filho *et al*., 1993 ;Harvey *et al*., 2002 ;Centofante *et al*., 2002 ; Schwartz and Maddock, 2002) على سبيل المثال لم تلاحظ كروموسومات متباينة الشكل في سمكة *Culaea inconstans* (Ross *et al*., 2009) وسمكتي *Epinephelus guttatus* و *Thalassoma bifasciatum* (Ruiz-Carus, 2002).

مع ذلك فان الأسماك لديها مجموعة متنوعة من أنظمة تحديد الكروموسومات الجنسية وهي مثال جيد للتنوع الاحيائي (Ospina-Alvarez and Piferrer, 2008)، إذ يمكن لهذه الأنظمة أن تتطور بسرعة (Ross *et al*., ; Peichel *et al*., 2004 ; Woram *et al*., 2003 2009).

بالامكان تلخيص أنظمة التحديد الجنسي في الأسماك بمجموعتين هما:

**1-أنظمة تحديد جنسي بسيطة Simple sex determination systems(ZZ/ZW, XX/XY, ZZ/ZO, XX/XO)**

يعد نظام ZZ/ZW من أنظمة تحديد الجنس البسيطة التي تكون فيه الإناث متباينة الأمشاج وهو الأكثر شيوعاً في الأسماك ( Almeida-Toledo and Foresti, 2001; Machado *et al*., 2011 ;Bellafronte *et al*., 2011 ;Artoni and Bertollo, 2002) إذ لوحظ في جميع الأنواع العائدة لجنس *Tripotheus* ومعظم الأنواع العائدة لجنس *Leporinus* (Yano *et al*., 2014a ;Almeida-Toledo and Foresti, 2001) كما في سمكتي *T. trifurcatus* و *T. auritus* إذ سجل وجود كروموسوم Z من نوع وسطي السنترومير Metacentric (m) وهو الأكبر ضمن الهيأة الكروموسومية مع كروموسوم W من نوع تحت وسطي السنترومير Submetacentric (sm) وهو صغير الحجم (Yano *et al*., 2014a ; Yano *et al*., 2014b)، في حين سجل وجود كروموسوم W أكبر حجماً من كروموسوم Z في بعض الحالات كما في جنس *Leporinus* (Feldberg *et al*., 1987 ; Bellafronte *et al*., 2012) وفي سمكة *Colica fasciatus* (Rishi, 1979) إذ سجل وجود كروموسوم W من نوع وسطي السنترومير (m) كبير الحجم وكروموسوم Z من نوع طرفي السنترومير Acrocentric (a) صغير جداً. كما ذكر وجود هذا النظام في أسماك *Mystus tengara* (Scavone and Julio Jr., 1995)، *Loricariichthys platymetopon* (Rishi, 1973)، *Carnegiella marthae* (Silva *et al*., 2012a) *Thoracocharax stellatus* (Terêncio *et al*., 2008) و *Scophthalmus maximus* (Martinez *et al*., 2009) وسجل ظهور نظام ZZ/ZW في أسماك عائدة لتحت عائلة Ancistrinae كما في سمكة *Ancistrinae* cf. *dubi* (Sandra *et al*., 2004) كما لوحظ هذا النظام في سمكة

في (Bellafronte *et al*., 2012) Parodontidae العائدة لعائلة *Apareiodon hasemani* كل الحالات التي ذكرت كرموسوم W يختلف عن كروموسوم Z من خلال وجود كتل كروماتين متباين واضحة باستثناء سمكة *Hypostomus* sp. (Artoni *et al*., 1998) إذ تظهر كتل الكروماتين المتباين في منطقة بينية لكروموسوم Z من نوع طرفي السنترومير (a) وكروموسوم W صغير مع عدم وجود تمييز للكروماتين المتباين (Almeida-Toledo and Foresti, 2001).

ذكر وجود نظام XX/XY الذي تكون فيه الذكور متباينة الأمشاج في سمكتي *Pimelodell* sp. (Heptapteridae) و *Steindachneridion melanodermutum* (Pimelodidae) وسمكة *Pungitius pungitius* (Swarça *et al*., 2007) *Eigenmannia virescens* كما لوحظ وجود هذا النظام في أسماك (Ross *et al*., 2009) *Poecilia reticulata* ،(Almeida-Toledo *et al*., 2000) (Gymnotiformes) *Hoplias malabaricus* (B) و (Nanda *et al*., 1990) (Cyprinodontiformes) *Pseudotocinclus* وفي سمكتي (Born and Bertollo, 2000) (Characiformes) *Erythrinus* و (Andreata *et al*., 1992) Loricariidae من عائلة *tietensis* *erythrinus* (C) (Cioffi and Bertollo, 2010). كما ذكر وجود هذا النظام في كل الأجناس العائدة لعائلة Amblycipiitidae مثل *Amblyceps*، *Liobagrus* و *Xiurenbagrus* ومنها سمكة *L. marginatus* (Chen *et al*., 2008).

كما سجل وجود نظام XX/XO الذي تكون فيه الذكور متباينة الأمشاج في سمكتي *Potamotrygon* sp. (Valentim, 2001) و *Ancistrus* n. sp.1 من نهر Vermelho في البرازيل (De Olivera *et al*., 2008 ; Alves *et al*., 2006).

ذكر وجود النظام ZZ/ZO إذ تكون الإناث متباينة الأمشاج في الأنواع العائدة لعائلة Beloutidae (Rishi, 1976a).

**2-أنظمة تحديد جنسي متعددة Multiple sex determination systems**

**$X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$, $XX/XY_1Y_2$, $ZZ/ZW_1W_2$, $Z_1Z_1Z_2Z_2/Z_1Z_2W_1W_2$**

**و$X_1X_1X_2X_2/X_1X_1X_2$ ونظام WXZ غير الاعتيادي**

سجل وجود نظام $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ والذي تكون فيه الذكور متباينة الأمشاج كما في أسماك *Chionodroco hamatus*، *Pagetopsis macropterus*، *Trematomus hansoni*، *T. newnesi* و *T. nicolai* (Ghigliotti *et al*., 2013) كما سجل هذا النظام في أسماك *Brachyhypopomus gauderia* (Mendes *et al*., 2012)، *Eigenmannia* sp. (Almeida-Toledo, 2000)، *Gymnotus* sp. (Silva and Margarido, 2005)، *Hoplias malabaricus* (D) (Cioffi *et al*., 2011)، *Oplognathus fasciatus* (Xu *et al*., 2013)، *Potamotrygon Falkneri* (Da Cruz *et al*., 2011) وسمكة *Brachyhypopomus gauderio* (Cardoso *et al*., 2015).

ذكر نظام $XX/XY_1Y_2$ الذي تكون فيه الذكور متباينة الأمشاج في سمكتي *Hoplias malabaricus* (G) (Bertollo *et al*., 2000) و*Ancistrus* sp.1 والعائدة لعائلة Loricariidae وهو ثاني نظام تحديد جنس متعدد معروف في هذه العائلة (De Oliveira *et al*., 2008).

أشير إلى وجود نظام $ZZ/ZW_1W_2$ في سمكة *Apareiodon offinis* (Parodontidae) إذ تكون الإناث متباينة الأمشاج (Moreira-Filho *et al*., 1980).

بينما سجل وجود نظام $Z_1Z_1Z_2Z_2/Z_1Z_2W_1W_2$ في سمكتي *Leporinus elongatus* (Parise-Maltempi *et al*., 2013) و *Ancistrus* sp.2 (De Oliveira *et al.*, 2008) إذ تكون الإناث متباينة الأمشاج. كما عُثر على نظام مماثل ولكن الذكور متباينة الأمشاج في سمكة *Nosopsyllus fasciatus* (Bayreuther,1969).

ذكر نظام $X_1X_1X_2X_2/X_1X_1X_2$ في سمكة *Callichrous bimaculatus* (Rishi, 1976b). في حين سُجل وجود نظام WXZ غير الاعتيادي في السمكة المسطحة Flat fish (Devilin and Nagahama, 2002).

تتأثر الأنظمة الكروموسومية الجنسية في أكثر أنواع الأسماك بعوامل تحديد الجنس الوراثية Genetic sex determination (GSD) (Devlin and Nagaham, 2002 ; Ospina-Alvarez and Piferrer, 2008 ;Mank *et al*.,2006 ;Valenzuela *et al*.,2003 ; Parise-Maltempi *et al*., 2013). فضلاً عن تأثير عوامل تحديد الجنس البيئية Environmental sex determination (ESD) التي يمكن أن تتفاعل وتسهم في تحديد أو تغيير جنس السمكة البالغة (Van Eenennaam *et al*., 1998 ; Ospina-Alvarez and Pifferrer, 2008 ; Schultheis *et al*., 2009 ; Parise-Maltempi *et al*., 2013).

لوحظ أن التحولات في النسب بين الجنسين Sex ratio هي نتيجة للتأثير الحراري Thermal effect (TE) في عوامل تحديد الجنس الوراثية (GSD) (Lagomarsino and Conover, 1993). لكن العوامل الخارجية مثل درجة الحرارة والهرمونات والسلوك الاجتماعي يمكن أن تقوم بتعديل مسار تطور المناسل Gonadal في الأسماك كما يمكن أن يحدث انقلاب جنسي Sex reversal (Pifferrer and Guiguen, 2008).

نتيجة التلوث البيئي، إذ أدى تعرض إناث سمكة البعوض *Gumbusia affinis* (Mosquito fish) لـفضلات مـصانع الورق إلى تحـولها إلى ذكور (Borton *et al.*, 1989)، بينما أدى تعرض ذكور سمكة *Oryzias latipes* لمادة O,P-DDT إلى انقلابها جنسياً وتحولها إلى إناث (Nanda *et al*., 2003 ; Matsuda *et al*., 2002 ; Edmunds *et al*., 2000).

# المواد وطرائق العمل

# Materials and Methods

# 3-المواد وطرائق العمل Materials and Methods

## 3-1-1 الاجهزة المستعملة

| ت | اسم الجهاز | الشركة المصنعة | الهدف من الاستعمال |
|---|---|---|---|
| 1 | جهاز طرد مركزي Centrifuge | Hettich, Germany | دراسة الكروموسومات |
| 2 | جهاز رجاج Autovortex | VORTEX MIXER–300, USA | دراسة الكروموسومات |
| 3 | حمام مائي هزاز Shaking water bath | Vision, Germany | تحضير ملون جمزا Giemsa |
| 4 | ميزان رقمي Digital balance | DENNER INSTRUMENT, Mxx-412, USA | لمعرفة اوزان الاسماك و المواد |
| 5 | مجهر ضوئي مركب | KRÜSS, Germany | دراسة الكروموسومات و طرزها |
| 6 | كاميرا رقمية | Amscope Microscope Digital camera, China | لتصوير الكروموسومات و طرزها |
| 7 | محرك مغناطيسي Magnetic stirrer | Stuart scientific Co.ltd. United Kingdom | اعداد محلول الكولجسينColchicine |

## 3-1-2 المحاليل المستعملة

### 1. محلول الكولجسين Colchicine Solution:

حضر باذابة 6 mg من مسحوق الكولجسين في 1ml من محلول داريء الفوسفات الفسلجي(P.B.S) مزجت المادتين باستعمال جهاز المحرك المغناطيسي Magnetic stirrer، واستعمل المحلول الناتج لايقاف الانقسام الخلوي في الطور الاستوائي (Metaphase) لأجل دراسة عدد الكروموسومات وطرزها Karyotype (Macgregor and Varley, 1988 ; Balasem *et al*., 1994).

**2. محلول كلوريد البوتاسيوم واطئ التوتر Hypotonic KCl Solution:**

حضر المحلول بإذابة 5.591 gm من كلوريد البوتاسيوم في لتر واحد من الماء المقطر للحصول على محلول عياريته (0.075 M)، ويعمل هذا المحلول على زيادة حجم الخلايا (Balasem *et al*., 1994).

**3. محلول دارئ الفوسفات الفسلجي Phosphate Buffer Saline (P.B.S):**

حُضر المحلول بإذابة 8gm من كلوريد الصوديوم NaCl و0.2gm من كلوريد البوتاسيوم KCl و 1.15gm من فوسفات الصوديوم احادي الهيدروجين $Na_2HPo_4$ و 0.2gm من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين$KH_2PO_4$ في 1000ml من الماء المقطر ويضبط تحت اس هيدروجيني7.2 ويحفظ في 4°م (Allen etal.,1977)

**4. المحلول المثبت Fixative solution (Carnoy solution):**

أعد المحلول المثبت آنياً عند اعداد التحضيرات الكرموسومية بمزج ثلاثة حجوم من الكحول المثيلي المطلق Absolute Methanol مع حجم واحد من حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid (Balasem *et al*., 1994).

**5. ملون جمزا Giemsa stain:**

حضر بإذابة 1 gm من مسحوق جمزا في 66 ml من الكليسيرول عند درجة حرارة 60°C ووضع في حمام مائي هزاز لمدة ساعتين، ثم أضيف 66 ml من الكحول المثيلي المطلق ورج المحلول لمدة ساعة واحدة ثم رشح المحلول ونتج الملون جمزا، بعدها حفظ في قناني معتمة لمدة أسبوع قبل الاستعمال.

ولاستعمال ملون جمزا يخفف كالآتي:

2-3 ml of Giemsa stain stock

2.5 ml of Absolute methanol

3-5 drops (5%) $NaHCO_3$ solution
80 ml of Distilled water
(Macgregor and Varley, 1988)

**6. محلول التربسين Trypsin solution:**

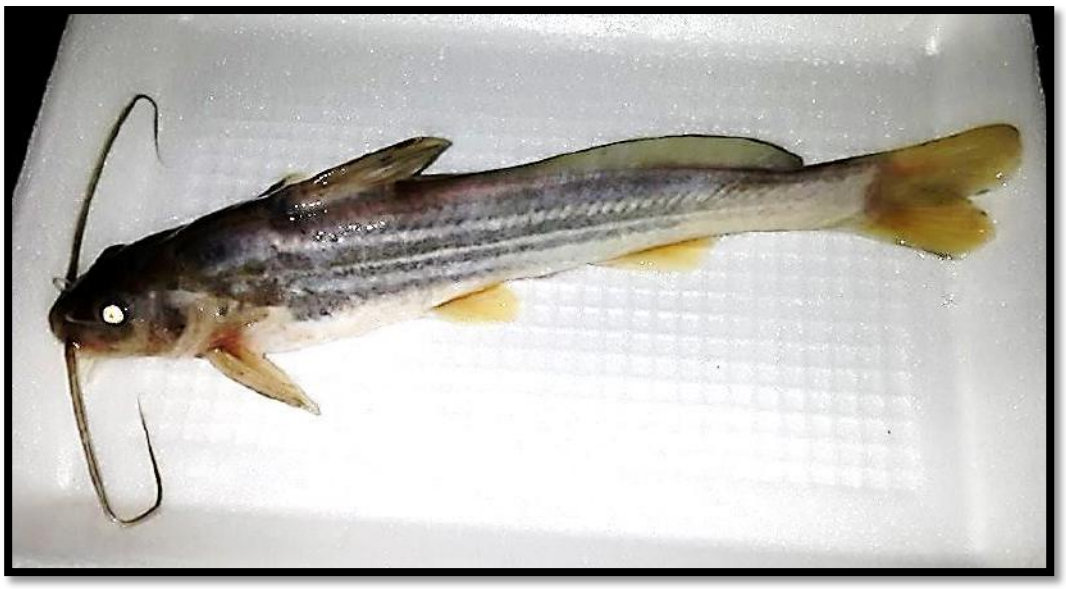
حضر بإذابة 0.01 gm من مسحوق التربسين في 100 ml من محلول دارىء الفوسفات الفسلجي (P.B.S) في درجة حرارة المختبر، وحفظ في أنابيب صغيرة محكمة عند درجة حرارة -20°C لحين استعماله لاعداد الحزم G-banding (Blaxhall, 1983 ; Rishi, 1979).

## 3-2 طرائق العمل Working Methods

### 3-2-1 جمع العينات Collection of specimens

تطلبت الدراسة الوراثية الخلوية الحالية اصطياد (20) سمكة حية من أسماك أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* ومن كلا الجنسين (شكل 1)، (10) ذكور و(10) إناث، تراوحت الأطوال الكلية للذكور بين 18.2 cm و 23.4 cm بينما تراوحت أطوالها القياسية بين 15 cm و 20.5 cm وأطوالها الشوكية بين 16.4 cm و 22 cm في حين تراوحت أوزانها بين 36 gm و 70 gm. أما الإناث فتراوحت أطوالها الكلية بين 18.3 cm و 24.5 cm بينما تراوحت اطوالها القياسية بين 16 cm و21.2 cm وأطوالها الشوكية بين 17.5 cm و 22.5 cm في حين تراوحت أوزانها بين 50 gm و 113 gm.

جمعت العينات من نهر دجلة في منطقة الكريعات بمحافظة بغداد ونقلت حية بأوعية بلاستيكية مجهزة بتهوية صناعية لتوفير الاوكسجين إلى مختبر البيئة المتقدم في قسم علوم الحياة–كلية التربية ابن الهيثم للعلوم الصرفة/ جامعة بغداد، ووضعت الأسماك في أحواض زجاجية مملوءة مسبقاً بماء خال من الكلور ومجهزة بتهوية صناعية لتوفير الاوكسجين وفي ظروف المختبر.



**شكل (1): سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* (Solander in Russell, 1794)**

**3-2-2 تخدير الأسماك**

خدرت أسماك أبو الزمير العميق بوضعها في أوعية حاوية على 750 ml من الماء مضافاً له 1 ml من زيت القرنفل لمدة 3 إلى 5 دقائق لصعوبة السيطرة عليها أثناء تحديد وزنها وحقنها بالكولجسين (العبيدي وجماعته، 2013).

**3-2-3 تنميط الكروموسومات Karyotyping:**

اعدت التحضيرات الكروموسومية من خلايا الكلية لأسماك أبو الزمير العميق وفقاً لتقنية Air-drying technique (Bertollo *et al*., 1978 ; Okonkwo and Nirchio *et al*., 2014 ; Obiakor, 2010).

1- حُقنت الأسماك بجرعة من الكولجسين (0.06 mg) لكل غرام من وزن السمكة على جانبي الزعنفة الظهرية وأعيدت إلى الأحواض الزجاجية وتركت لمدة 5 إلى 6 ساعات.

2- شُرحت الأسماك وعزلت الكلى وغسلت بمحلول دارئ الفوسفات الفسلجي (P.B.S) للتخلص من الدم الزائد.

3- هرست الكلى جيداً في أطباق بترية حاوية على (10 ml) من محلول KCL لمدة 20 دقيقة للسماح بانتفاخ الخلايا.

4- وضع العالق الخلوي في الأنابيب الخاصة بجهاز النبذ المركزي بسرعة (1500 rpm) ولمدة (10) دقائق.

5- تم التخلص من الراشح وأعيد تعليق الخلايا برجها بجهاز الرجاج Autovortex ثم أضيف (10 ml) من المحلول المثبت (الكحول المثيلي المطلق: حامض الخليك الثلجي 3: 1) المحضر آنياً واجراء النبذ المركزي بالسرعة والمدة نفسها.

6- كررت عملية التثبيت والنبذ المركزي أربع مرات.

7- فرشت الخلايا باستعمال ماصة زجاجية على بعد 60cm على عشر شرائح زجاجية لكل سمكة وتركت لتجف في درجة حرارة المختبر ثم صبغت خمس شرائح بصبغة جمزا لمدة (30) دقيقة وذلك لدراسة اعداد الكروموسومات وطرزها في حين تم حفظ الخمس شرائح الاخرى لاستعمالها لاحقاً في تقنية اعداد الحزم (G-banding) Giemsa banding technique.

8- فحصت الشرائح المصبغة بالمجهر الضوئي المركب لتقدير العدد الكروموسومي في 250 خلية عند الطور الاستوائي Metaphase لكل سمكة وصورت الأطوار الاستوائية لدراسة واعداد الطرز الكروموسومية.

### 3-2-4 اعداد الحزم G-bands

اتبعت طريقة بلاكسهل (Blaxhall, 1983) لاعداد الحزم G-bands لأجل تحديد الكروموسومات الجنسية كالآتي:

1- تم معاملة الخمس شرائح الحاوية على التحضيرات الكروموسومية غير المصبغة والمحفوظة لمدة شهرين مسبقاً بمحلول التربسين البارد ولمدة دقيقتين.

2- بعد ذلك أوقف عمل انزيم التربسين بمعاملة التحضيرات الكروموسومية بمحلول (P.B.S)، ثم تركت لتجف وصبغت بصبغة جمزا لمدة (15) دقيقة.

3- فحصت التحضيرات الكروموسومية بالمجهر الضوئي المركب وصورت الأطوار الاستوائية لغرض الكشف عن الكروموسومات الجنسية ودراستها.

# النتائج والمناقشة

# Results and Discussion

# 4- النتائج والمناقشة Results and Discussion

## 4-1 الدراسة الكروموسومية لسمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius*:

أوضح الجدولين (1) و (2) نتائج فحص ودراسة كروموسومات الأطوار الاستوائية لخلايا الكلية في ذكور وإناث سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* الذي يعد الممثل الوحيد لجنس *Mystus* في المياه العراقية العذبه (Coad, 2010) ، إن أغلب الأطوار الاستوائية لخلايا الكلية كانت ذات عدد كروموسومي ثنائي 2n=32 إذ لوحظ تكرار هذا العدد الكروموسومي في 538 طوراً استوائياًمن مجموع 2500 خلية مفحوصة (وبنسبة21.52 %) في الذكور وفي 497 طوراً استوائياً من مجموع 2500 خلية مفحوصة(وبنسبة 19.88% ) في الاناث و الذي يمثل العدد الأعلى نسبةً مقارنةً بالأعداد الكروموسومية الملاحظة في خلايا الكلية الاخرى المفحوصة التي تراوحت بين 20-31 إذ لوحظ أن العدد الكروموسومي 31 هو العدد الأقل نسبةً في الأطوار الاستوائية المفحوصة لعينات الذكور والإناث إذ بلغ نسبته في الذكور(3.76 % ) ونسبته في الإناث (3.44 %) ، في حين أن العدد الكروموسومي الثنائي 25 هو العدد الاعلى نسبةً في الأطوار الاستوائية المفحوصة لعينات الذكور والإناث إذ بلغت نسبته(8.48 % ) في الذكور و (7.8% ) في الإناث لكنه لا يزال أقل نسبةً بكثير مقارنةً بالنسبة المئوية للعدد الكروموسومي 2n=32، وقد يعود هذا الاختلاف في الأعداد الكروموسومية الملاحظة للأطوار الاستوائية المفحوصة إلى الخسائر أثناء اعداد التحضيرات الكروموسومية أو الاضافات من الخلايا المجاورة (Singh *et al*., 2013a) أو قد يرجع إلى افراط المعاملة بمحلول منخفض التوتر Hypotonic الذي ينتج عدة أطوار استوائية ناقصة (Nanda *et al*, 1995).

جدول (1): الاعداد الكروموسومية الملاحظة في خلايا الكلية لعشرة ذكور من سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius*

| رقم السمكة | عدد الكروموسومات / عدد الخلايا المفحوصة | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 250 | 17 | 8 | 23 | 11 | 28 | 16 | 22 | 6 | 26 | 2 | 27 | 1 | 63 |
| 2 | 250 | 9 | 1 | 7 | 13 | 13 | 18 | 27 | 28 | 27 | 13 | 28 | 2 | 64 |
| 3 | 250 | 8 | 15 | 17 | 12 | 12 | 14 | 14 | 23 | 19 | 16 | 32 | 9 | 59 |
| 4 | 250 | 21 | 20 | 17 | 15 | 22 | 28 | 19 | 21 | 18 | 11 | 16 | 4 | 38 |
| 5 | 250 | 21 | 18 | 22 | 26 | 16 | 19 | 18 | 19 | 21 | 9 | 10 | 7 | 44 |
| 6 | 250 | 10 | 22 | 15 | 18 | 21 | 13 | 15 | 19 | 15 | 18 | 14 | 21 | 49 |
| 7 | 250 | 6 | 25 | 15 | 12 | 13 | 21 | 16 | 24 | 12 | 31 | 10 | 14 | 51 |
| 8 | 250 | 10 | 24 | 9 | 16 | 12 | 30 | 27 | 13 | 8 | 21 | 13 | 14 | 53 |
| 9 | 250 | 7 | 24 | 15 | 19 | 13 | 26 | 24 | 11 | 2 | 19 | 19 | 11 | 60 |
| 10 | 250 | 14 | 22 | 16 | 14 | 9 | 27 | 15 | 18 | 9 | 26 | 12 | 11 | 57 |
| المجموع | 2500 | 123 %4.92 | 179 %7.16 | 156 %6.24 | 156 %6.24 | 159 %6.36 | 212 %8.48 | 197 %7.88 | 182 %7.28 | 157 %6.28 | 166 %6.64 | 181 %7.24 | 94 %3.76 | 538 %21.52 |

جدول (2): الاعداد الكروموسومية الملاحظة في خلايا الكلية لعشرة اناث من سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius*

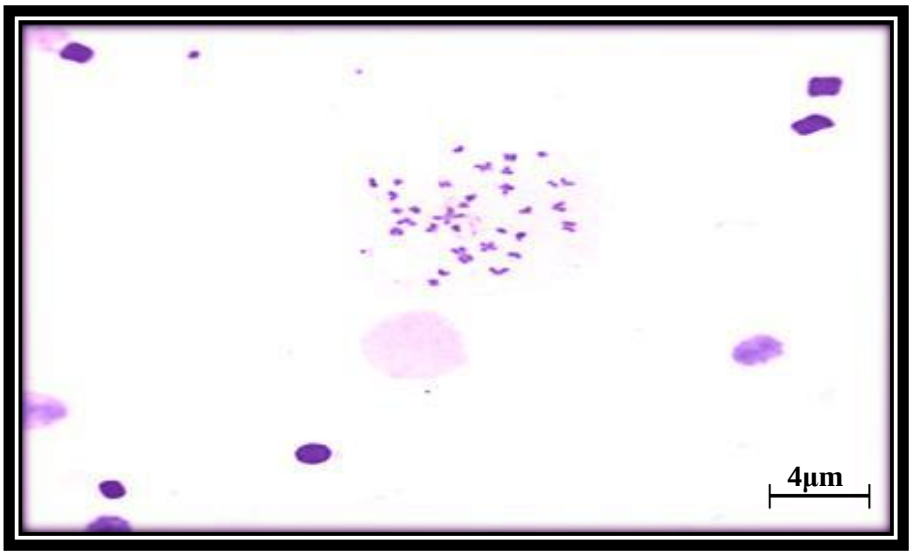
| رقم السمكة | عدد الكروموسومات / عدد الخلايا المفحوصة | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 250 | 15 | 20 | 21 | 16 | 18 | 15 | 24 | 14 | 19 | 14 | 17 | 10 | 47 |
| 2 | 250 | 25 | 20 | 16 | 21 | 16 | 17 | 18 | 16 | 20 | 12 | 15 | 7 | 47 |
| 3 | 250 | 11 | 12 | 14 | 22 | 12 | 21 | 20 | 22 | 15 | 16 | 19 | 11 | 55 |
| 4 | 250 | 20 | 18 | 17 | 17 | 12 | 20 | 18 | 13 | 13 | 20 | 21 | 11 | 50 |
| 5 | 250 | 20 | 14 | 18 | 16 | 15 | 20 | 21 | 20 | 19 | 16 | 18 | 7 | 46 |
| 6 | 250 | 18 | 13 | 19 | 20 | 19 | 21 | 16 | 18 | 16 | 17 | 17 | 6 | 50 |
| 7 | 250 | 15 | 13 | 16 | 14 | 20 | 20 | 20 | 21 | 20 | 19 | 16 | 9 | 47 |
| 8 | 250 | 10 | 12 | 15 | 20 | 15 | 16 | 20 | 22 | 16 | 18 | 23 | 10 | 53 |
| 9 | 250 | 9 | 9 | 12 | 14 | 13 | 20 | 14 | 23 | 24 | 24 | 26 | 8 | 54 |
| 10 | 250 | 12 | 12 | 17 | 16 | 18 | 25 | 21 | 17 | 20 | 22 | 15 | 7 | 48 |
| المجموع | 2500 | 155 %6.2 | 143 %5.72 | 165 %6.6 | 176 %7.04 | 158 %6.32 | 195 %7.8 | 192 %7.68 | 186 %7.44 | 182 %7.28 | 178 %7.12 | 187 %7.48 | 86 %3.44 | 497 %19.88 |

واعتمـاداً على هذه النتـائج يمثل العدد 32 العدد الكروموسومي الثنائي (2n) في كلا الجنسين لسمـكة أبو الزميـر العميق شـكل (a–2، a–3) وهو يقع ضمن مديات العدد الكروموسومي لعـائلة Bagridae والتي تنتمـي إليها أسـماك أبو الزميـر العميق إذ يتـراوح العدد الكـروموسـومي فيها بين 2n=28 في سمكة *Liobagrus andersonii* (Kim *et al*., 1982) ، و 2n=60 في سمكة *Mystus macropterus* (Hong and Zhou, 1984)، بينما أظهرت النتائج أن الطراز الكروموسومي في الذكور تضمن 2n=(6m+13sm+7st+6t) وعدد الأذرع FN=51 Fundamental number (شكل b–2) والطراز الكروموسومي في الإناث تضمن 2n=(6m+12sm+8st+6t) وعدد الأذرع FN=50 (شكل b–3) إذ أن اختلاف عدد الأذرع بين الذكور والإناث ناتج عن الاختلاف في الزوج الكروموسومي الجنسي والمتمثل بزوج من الكروموسومات الجنسية Sex chromosomes المتماثلة (XX) تحت الوسطية السنترومير Submetacentric (sm) في الأنثى مقارنة بالزوج الكروموسومي الجنسي غير المتماثل (XY) المكون من كروموسوم (X) تحت وسطي السنترومير (sm) وكروموسوم (Y) تحت نهائي السنترومير Subtelocentric (st) في الذكور الذي يعود إلى حدوث عملية اعادة الترتيب الكروموسومي Chromosomal rearrangement المتمثلة بعملية الانقلاب ضمن السنترومير Pericentric inversion خلال نشوء وتطور الكروموسومات الجنسية (Da Cruz *et al*., 2011) ويتفق عدد الأذرع الملاحظ في ذكور وإناث سمكة أبو الزمير العميق مـع عـدد الأذرع المسجل في عـائلـة Bagridae الـذي يتـراوح بيـن 26 - 116 (Choudhury *et al*., 1993). كما لوحظ من خلال النتائج أن الزوج تحت الوسطي السنترومير (sm) الأول هو الأكبر حجماً ضمن الكروموسومات الثنائية الأذرع Biarmed وقد يرجع ذلك لاختلاف المحتوى من الحامض

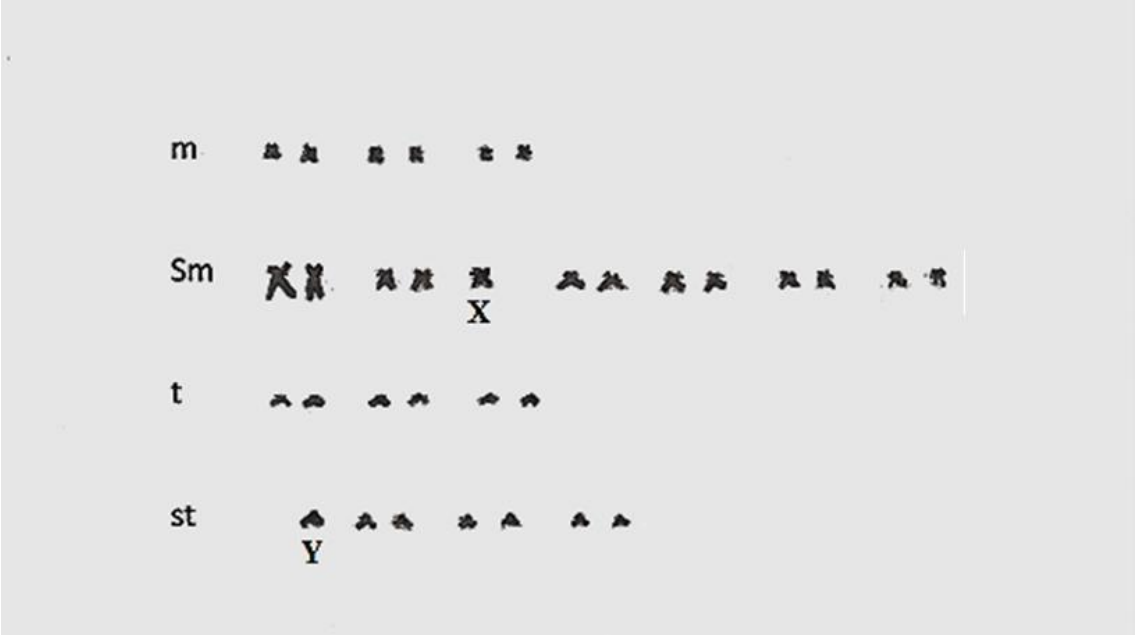
النووي DNA الذي يؤدي إلى اختلاف حجم الكروموسومات (Oliveira and Gasztonyi, 2000) أو قد يكون سمة تصنيفية خلوية Cytotaxonomic مميزة (Valic *et al*., 2010).

يتضح من النتائج أن العدد الكروموسومي لذكور وإناث أبو الزمير العميق هو أقل عدداً كرموسومياً مسجلاً في الأسماك العراقية المدروسة لحد الآن، إذ أوضحت دراسات محلية سابقة أن العدد الكروموسومي المسجل في سمكة الخشني *Liza abo* هو 2n=48 وبطراز (4m/sm+44st/t) (Balasem, 1999)، كذلك سجل العدد الكروموسومي نفسه في سمكة البلعوط الملوكي *Chondrostoma regium* ولكن بطراز كروموسومي تضمن (14m+30sm+4st) (إبراهيم، 2008)، في حين سجل العدد الكروموسومي 2n=50 في سمكة الكركور الأحمر *Garra rufa* وبطراز كروموسومي تضمن (36m/sm+14t/st) (Balasem *et al*., 1999) وتكرر نفس العدد الكروموسومي نفسه في سمكة البنيني كبير الفم *Cyprinion macrostomum* ولكن بطراز كروموسومي تضمن (6m+24sm+12st+8t) في الذكور و(6m+23sm+13st+8t) في الإناث (إبراهيم، 2008) وكذلك سجل العدد الكروموسومي 2n=98 في أسماك البني *Barbus sharpeyi*، القطان *B. xanthopetrus* والشبوط *B. grypus* ولكن بطراز تضمن (44m/sm+54st/t) في النوع الأول، في حين سجل الطراز (16m/sm+82st/t) في النوع الثاني والطراز (22m+64sm+12st) في النوع الثالث (Al-Ansari *et al*., 2005 ; Balasem *et al*., 1994 ; 2004).

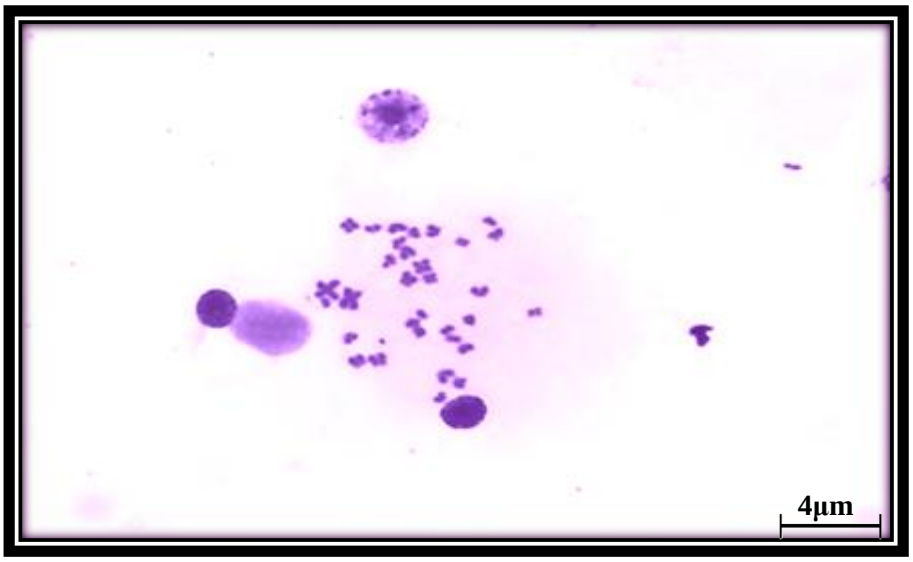
وأخيراً سجل وجود العدد الكروموسومي 2n=148 في سمكة الحمري *Barbus luteus* وبطرز تضمن (80m+52sm+16st) في الذكور و (80m+51sm+17st) في الإناث (إبراهيم، 2008).



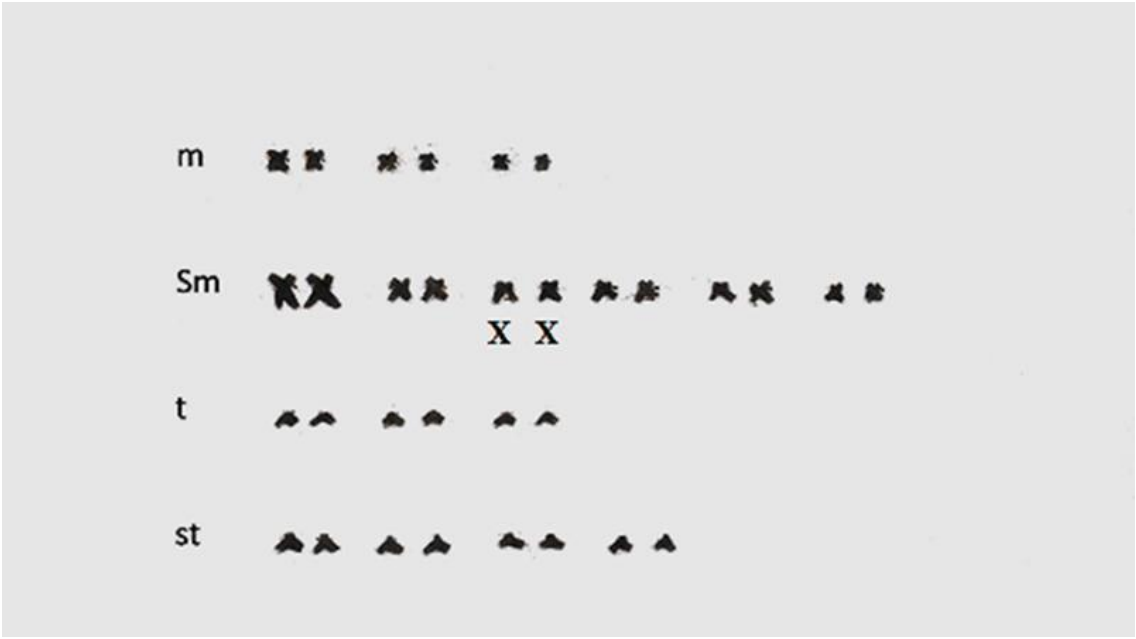

**شكل (2 – a): كروموسومات الطور الاستوائي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa staining technique (1000X) .**




**شكل (2 – b): الطراز الكروموسومي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa staining technique.**




**شكل (3 – a): كروموسومات الطور الاستوائي في اناث سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa staining technique (1000X).**




**شكل (3 – b): الطراز الكروموسومي في اناث سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa staining technique.**

ذُكِـرَ تنـوع الأعـداد الكرومـوسـوميـة بين الأنواع العائدة لجنس *Mystus* (Karuppasamy *et al*, 2010). فقد بينـت دراسـة لثـلاثـة أنـواع عـائدة لـهذا الجـنس في تـايلند أن العدد الكروموسومي المسجل في أسماك *M. bocourti*، *M. albolineatus* و *M. singaringan* هو 2n=56 (Supiwong *et al.*, 2013) وسجل العدد نفسه في سمكة *M. ngasep* في الـهند (Singh, 2013b)، بينما سـجل العـدد الكروموسومي 2n=54 في سمكـة *M. wyckii* فـي تايلند (Wichian and Ryoichi, 1988) وتكـرر العـدد نفسه في دراسـة اخـرى أجريت لسمـكة *M. vittatus* (A) في الهند (Karuppasamy *et al*., 2010) في حين سجل العدد الكرموسومي 2n=58 في سمكتي *M. vittatus* (B) و *M. guilo* في الهند (Choudhury *et al*., 1993) والعدد الكروموسومي 2n=60 في سمكة *M. macropterus* (Hong and Zhou, 1984).

وبناءً على المعلومات المتوفرة في الدراسات المذكورة سابقاً فإن العدد الكروموسومي لجنس *Mystus* والـعائد لعائلة Bagridae يتـراوح بين 54 – 60 (Singh *et al*., 2013b) بيـنما أظهرت نتـائج الـدراسـة الحالية لسـمكة أبو الزميـر العميق أنها ذات عـدد كروموسومي 2n=32 وهو يتـفق مع العدد الكروموسومي المسجل لعائلة Bagridae الذي يتراوح بين 28 – 60 (Oliveira and Gosztonyi, 2000) واعتماداً على ذلك فإن العدد الكرموسومي للنوع المدروس حالياً هو الأقل بين الأنواع العائدة لجنس *Mystus* وقد يعود هذا الانخفاض في العدد الكروموسومي (2n) إلى حدوث التغيرات الكروموسومية (إعادة الترتيب الكروموسومي) لبعض الكروموسومات كاندماج روبرت سونيان ( Robertsonian fusion ) المتضمن التحام الكروموسومات الأحادية الذراع (Uniarmed) تحت نهائية السنترومير ((Subtelocentric (st) ونهائية السنترومير ((Telocentric (t) وتكوينها لكروموسومات ثنائية الأذرع وسطية السنترومير

(Metacentric (m)) وتحت وسطية السنترومير( Submetacentric (sm) ) و الحذف Deletion أو نوع من الانتقالات Translocations وحدوث الانقلاب ضمن السنترومير على مختلف المستويات يحقق تغيير الكروموسومات الأحادية الأذرع (st, t) إلى كروموسومات ثنائية الأذرع (sm, m) والعكس صحيح (Singh *et al*., 2013b ; Kavalco *et al*., 2005 ; De Mattos *et al*., 2014). وقد يفسر هذا الاختلاف والتنوع في العدد الكروموسومي للأنواع العائدة للعائلة نفسها وللجنس نفسه ومنها سمكة أبو الزمير العميق إلى الاختلاف في الظروف البيئية التي تتغير طبيعياً أو صناعياً نتيجة الأنشطة البشرية في الأماكن البيئية المختلفة ( Das and Khuda-Bukhsh, 2003 ; Bhatnagar *et al*., 2014) إذ تؤدي هذه التغيرات على مستوى المادة الوراثية (الكروموسومات) إلى التكيف مع التغيرات البيئية (Hoffmann and Rieseberg, 2008).

إن العدد 2n=32 في *M. pelusius* مقارنة بالعدد الكروموسومي للأنواع العائدة لعائلة Bagridae يمكن أن يمثل سمة مميزة للنوع أو يرتبط بتاريخها التطوري (Prado *et al*., 2012) إذ أن 45.7% من الأنواع العائدة لرتبة Siluriformes ومنها الأنواع العائدة لجنس *Mystus* ذات عدد كروموسومي أقل من 2n=56 و 39.5% ذات عدد كروموسومي أعلى من 2n=56 وهذا يشير إلى أن انخفاض العدد الكروموسومي (2n) قد ثبت (استقر) أكثر مقارنة بالأنواع ذات العدد الكروموسومي الأعلى (Oliveira and Gasztonyi, 2000) وقد أشارت دراسات عالمية إلى تنوع الطرز الكروموسومية وعدد الأذرع (FN) للأنواع العائدة لجنس *Mystus* ومنها أسماك *M. bocourti*، *M. albolineatus* و *M. singaringan* إذ اظهرت جميعها طرازاً كروموسومياً متضمناً (22m+22sm+12st/a) و FN=100 (Supiwong *et al*., 2013)، وفي دراسة أخرى أظهرت سمكة *M. guilo* طرازاً تضمن (12m+34sm+4st+8t) و

FN=108 أما سمكة *M. vittatus* (B) فكانت ذات طراز كروموسومي (10m+30sm+12st+6t) و FN=110 (Choudhury *et al*., 1993) وتضمن الطراز الكروموسومي لسمكة *M. vittatus* (A) (6m+18sm+30a) و FN=78 (Karuppasamy *et al*., 2010) اما سمكة *M. ngasep* فقد تضمن طرازها الكروموسومي (12m+22sm+8st+14t) وFN=90 (Singh *et al*., 2013b) إن هذا التنوع الملاحظ في الطرز الكروموسومية وعدد الأذرع للأنواع العائدة لجنس *Mystus* ومنها سمكة أبو الزمير العميق موضوع الدراسة الحاليه قد يرجع إلى التغيرات الكروموسومية ومنها اندماج روبرت سونيا المسبب لانخفاض العدد الكروموسومي أو زيادة العدد الكروموسومي من خلال تجزئة الكروموسومات الثنائية الأذرع إلى كروموسومات أصغر أحادية الأذرع وقد تحدث هاتين العمليتين كل على حد أو معاً أو مع التضاعف (Duplication ) فضلاً عن عمليات اخرى كالحذف والانقلاب ضمن السنترومير (Artoni and Bertollo,2001; Fenerich *et al*.,2004 ; Da Cruz *et al*., 2011 ; Esmaeili *et al*., 2009 ; Nirichio *et al*., 2014).

ويلاحظ أن أغلب الكروموسومات للأسماك العائدة لجنس *Mystus* ثنائية الأذرع ترافقها زيادة في عدد الاذرع (FN) و حتى الأنواع ذات العدد الكروموسومي المنخفض تكون ذات عدد أذرع (FN) عالٍ وهذا يدل على أن الأسماك العائدة لعائلة Bagridae ومنها جنس *Mystus* متنوعة وراثياً (Choudhury *et al*., 1993)، إذ أن تنوع الطراز الكروموسومي مع زيادة عدد الكروموسومات ثنائية الأذرع يدل على درجة أرقى ضمن سلم التطور (Formacion and Uma, 1985) ، ونظراً لتنوع الطراز الكروموسومي في سمكة أبو الزمير العميق وامتلاكها لعدد أكبر من الكروموسومات الثنائية الأذرع (m و sm) مقارنة بالكروموسومات

الأحادية الأذرع (st و t) فقد تحتل هذه السمكة موقعاً متقدماً ضمن سلم التطور مقارنة بالأنواع العائدة لجنس *Mystus* المدروسة عالمياً مما يدل على أن الأنواع ذات الكروموسومات الأحادية الأذرع الأكثر و (FN) أقل، هي أقل رقياً ضمن سلم التطور (Dai, 2013).

بينت الدراسة الحالية للطراز الكروموسومي في ذكور وإناث سمكة أبو الزمير العميق تمييز الكروموسومات الجنسية، إذ أظهرت الذكور والإناث تماثلاً في عدد الكروموسومات وسطية السنترومير (m) ونهائية السنترومير (t)، بينما لوحظ وجود اختلاف في عدد الكرموسومات تحت وسطية السنترومير (sm) فهي 12 كرموسوماً في الاناث و13 كرموسوماً في الذكور وكذلك في عدد الكرموسومات تحت النهائية السنترومير (st) فهي 8 كرموسومات في الاناث و7 كرموسومات في الذكور. مما يؤكد وجود الزوج الكروموسومي الجنسي المكون من كرموسوم (X) تحت وسطي السنترومير (sm) مع كرموسوم (Y) تحت نهائي السنترومير (st) وبناءً على ذلك عُدَّت الذكور متباينة الامشاج Heterogamety والاناث متماثلة الامشاج Homogamety (شكل 2-b، 3-b).

## 4-2 تقنية الحزم وتحديد الكروموسومات الجنسية

## Giemsa banding technique (G-banding) and determination of sex chromosomes

أظهرت نتائج استعمال تقنية الحزم (G-banding) التي اعتمدت في هذه الدراسة لتحديد أكثر دقة للمناطق الغنية بالقواعد النتروجينية الكوانين (G) Guanine والسايتوسين Cytosine (C) والمناطق الغنية بالقواعد النتروجينية الأدنين (A) Adenine والثايمين (T) Thymine من أجل تحديد الكروموسومات الشقيقة Sister chromosomes في ذكور و إناث سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* (شكل 4-a، 5-a) لأن طريقة التصبيغ التقليدية (تقنية التصبيغ بجمزا) Giemsa staining technique تظهر الكروموسومات بلون موحد إذ أن ملون جمزا Giemsa stain ليس لديه خصوصية لأي قاعدة معينة في الحامض النووي DNA (شبه محايد) يلون الكروموسوم بلون بنفسجي موحد (Centofante *et al*., 2002 ; Rønne, 1991 ; Gaffaroğlu *et al*., 2013) فضلاً عن أن هذه التقنية تسمح بوصف أفضل للكروموسومات الجنسية Sex chromosomes (Bertollo *et al*., 1997). إذ تتميز هذه التقنية ببساطتها مقارنة بالتقنيات الاخرى، وامكانية الحصول على حزم جيدة وثابتة فضلاً عن امكانية حفظها لمدة طويلة وانخفاض تكلفة المواد المستعملة وسرعة العملية وهذه عوامل مهمة عند اختيار التقنية المناسبة للتحريات الوراثية الخلوية (Seabright, 1971 ; Yunis and Sanchez, 1973 ; Moore and Best, 2001). إذ لوحظ من خلال دراسة الهيأة الكروموسومية لذكور وإناث سمكة أبو الزمير العميق وكما هو موضح في (شكل 4-b، 5-b) أن معظم الكروموسومات ذات حزم G فاتحة (G-light) التي تكون غنية بالقواعد النتروجينية الكوانين (G) والسايتوسين (C) (CG-rich) وهذا يتفق مع الميزة الشائعة في الأسماك وهي كثرة المناطق الغنية بالقواعد

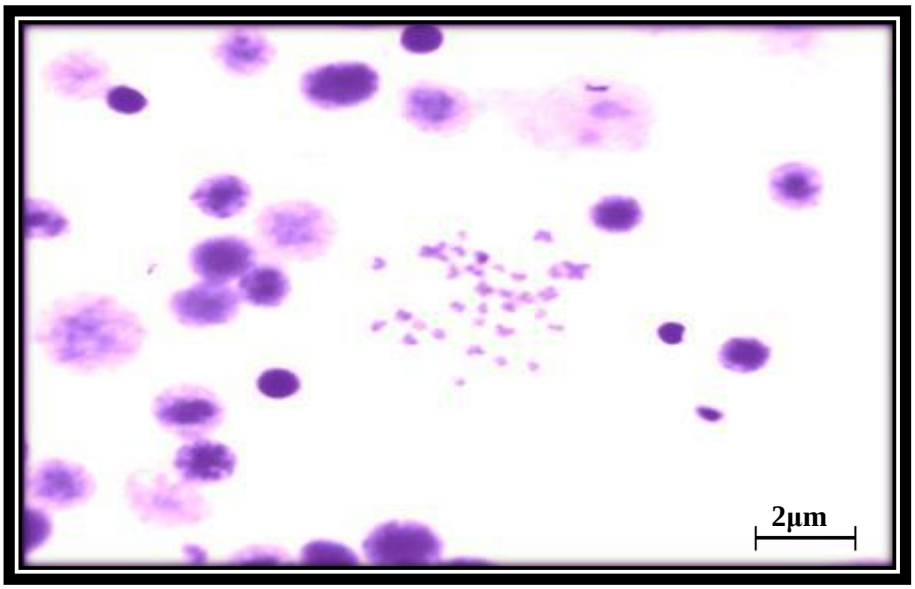
النتروجينية الكوانين (G) والسايتوسين (C) (Verma *et al*., 2011 ; Moore and Best, 2001). إذ لوحظ في الهيأة الكروموسومية للذكور شكل (4–b) أن كل الأزواج الكروموسومية الجسمية Autosomes pairs الأحادية الأذرع Uniarmed من نوع نهائية السنترومير Telocentric (t) وتحت نهائية السنترومير Subtelocentric (st) تحتوي بأكملها على حزم G فاتحة غنية بالقواعد النتروجينية الكوانين (G) والسايتوسين (C) ويطلق عليها بالحزم السالبة Negative bands (Sajjad *et al*., 2014 ; Bickmore, 2001) أما الأزواج الكروموسومية الجسمية الثنائية الأذرع Biarmed من النوعين وسطية السنترومير Metacentric (m) وتحت وسطية السنترومير Submetacentric (sm) فقد لوحظ أن الحزم الفاتحة (G-light) تركزت فقط عند أطراف أذرعها الكروموسومية، في حين أن المناطق الاخرى لكل هذه الكروموسومات هي ذات حزم داكنة (G-dark) أي أنها غنية بالقواعد النتروجينية الادنين (A) والثايمين (T) وتعرف بالحزم الموجبة Positive bands (Sajjad *et al*., 2014 ; Bickmore, 2001) وكذلك الحال عند دراسة الهيأة الكروموسومية للإناث (شكل 5–b) فقد لوحظ أن الأزواج الكروموسومية الجسمية الأحادية الأذرع من النوعين نهائية السنترومير (t) وتحت نهائية السنترومير (st) بأكملها فاتحة أي ذات حزم G سالبة اما الأزواج الكروموسومية الجسمية الثنائية الأذرع من النوعين وسطية السنترومير (m) وتحت وسطية السنترومير (sm) ذات حزم G فاتحة (G-light) متركزة في أطراف الأذرع لجميع الكروموسومات الثنائية الأذرع في حين أن مناطق هذه الكروموسومات الاخرى هي ذات حزم داكنة (G-dark). قد يعود ظهور المناطق الغنية بالكوانين (G) والسايتوسين (C) الفاتحة إلى كون البروتينات الهستونية Histone proteins الأساسية الغنية بالارجنين Arginine مرتبطة بإحكام مع الحامض النووي DNA الغني بالكوانين (G) والسايتوسين (C) مما يمنع وصول الصبغة إلى القواعد وظهورها بلون فاتح ومن ثم تكوين حزم G

السالبة بينما المناطق الداكنة غنية بالقواعد النتروجينية الادنين (A) والثايمين (T) إذ يتم هضم البروتينات الهستونية من نوع هستون ($H_1$) بعدها وصول الصبغة بسهولة إلى هذه القواعد النتروجينية والتفاعل معها وظهور حزم G الإيجابية (Rønne, 1991) ويشير ذلك إلى أن أنماط الحزم الداكنة والفاتحة تنشأ نتيجة الاختلافات في تسلسل الحامض النووي DNA على طول الكروموسوم (Bickmore, 2001).

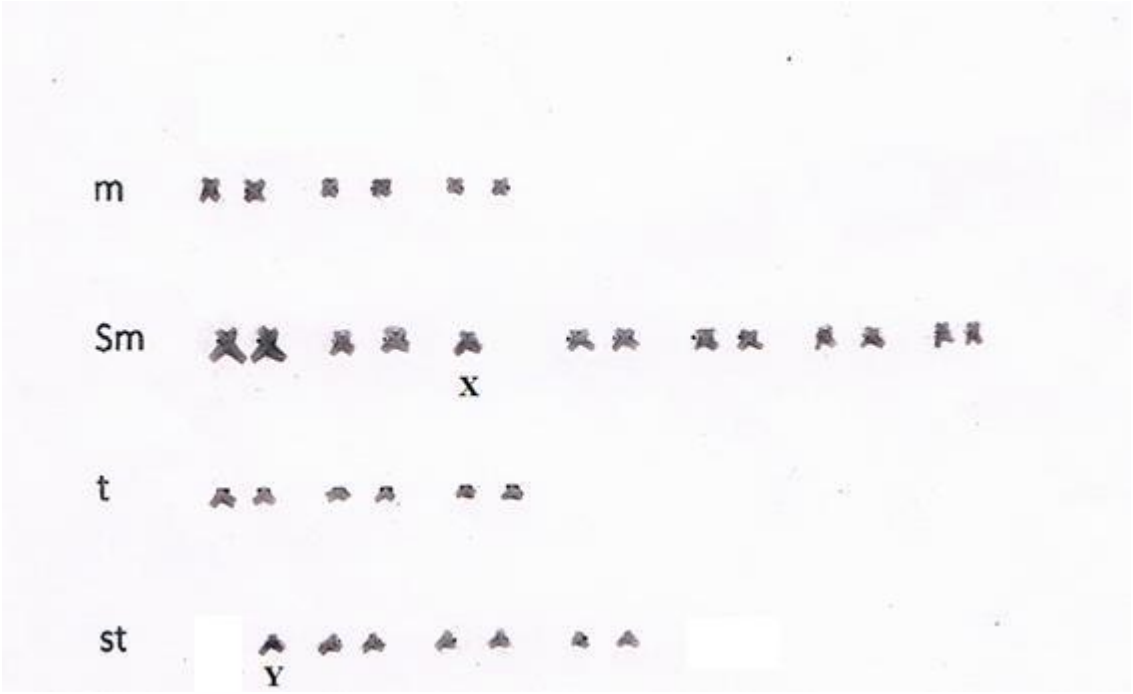
أشارت دراسة سابقة إلى استعمال تقنية الحزم G-banding في الكشف عن الهيأة الكروموسومية لأحد الأنواع العائدة لجنس *Mystus* وهي سمكة *M. tengara* إلى ظهور حزم G الإيجابية (Rishi, 1973) وهذا يتفق مع الدراسة الحالية في نجاح تقنية G-banding في تحديد الهيأة الكروموسومية بشكل أكثر دقة للأسماك، مع ذلك فإن تطبيق تقنيات الحزم ومنها التقنية الحالية في الأسماك لاسيما في عائلة Bagridae نادرة (قليلة) وقد يعود ذلك إلى الحجم الصغير والعدد الكبير للكروموسومات مما شكل صعوبة للباحثين (Karuppasamy *et al*., 2010 ; Supiwong *et al*., 2013 ; Singh *et al*., 2013b).

أكدت نتائج استعمال تقنية الحزم G-banding وكما هو موضح في شكل (4-b، 5-b) النتائج التي تم الحصول عليها باستعمال تقنية التصبيغ التقليدية حول تمييز الكروموسومات الجنسية إذ أوضحت تقنية الحزم G-banding وبشكل أدق وأفضل أن الذكور متباينة الأمشاج Heterogamety وذلك من خلال ملاحظة وجود الكروموسوم الجنسي (X) من نوع تحت وسطي السنترومير (sm) وهو متوسط الحجم مع ملاحظة الحزم الفاتحة (G-light) في هذا الكروموسوم في موقع طرفي للذراع القصير Short arm كما لوحظ الكروموسوم الجنسي (Y) وهو من نوع تحت نهائي السنترومير (st) وهو الأكبر حجماً ضمن الكروموسومات الأحادية الأذرع إذ يتميز هذا الكروموسوم عن الكروموسومات الأحادية الاخرى الأذرع بوجود الحزم الداكنة (G-dark)

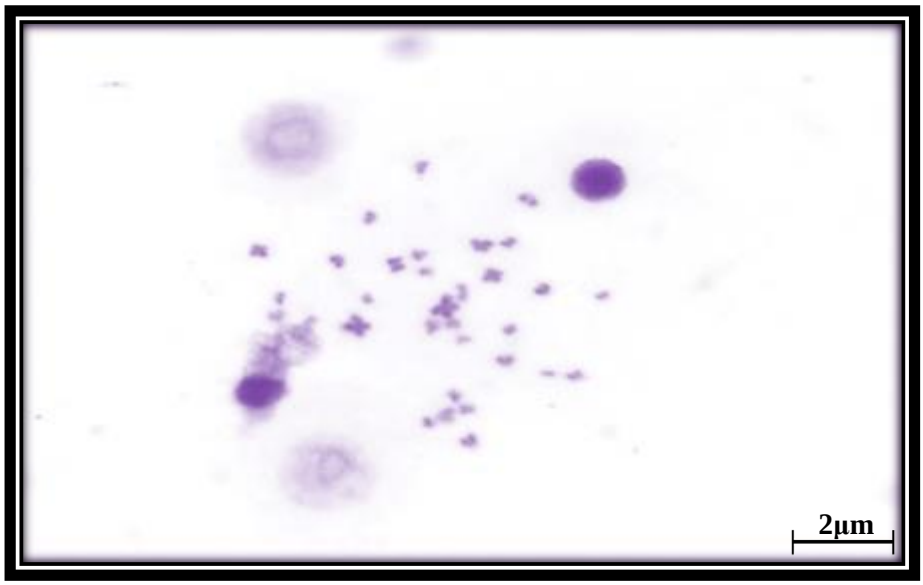
باكمله وهذا يدل على أن كروموسوم (Y) غني بالقواعد النتروجينية الادنين (A) والثايمين (T)، في حين لوحظ في الإناث وجود زوج من الكروموسومات تحت وسطية السنترومير (sm) متوسطة الحجم ذات حزم فاتحة (G-light) تقع عند أطراف الأذرع الطويلة والقصيرة التي تمثل الكروموسومات الجنسية (XX) وعليه عدت الإناث متماثلة الأمشاج Homogamety.



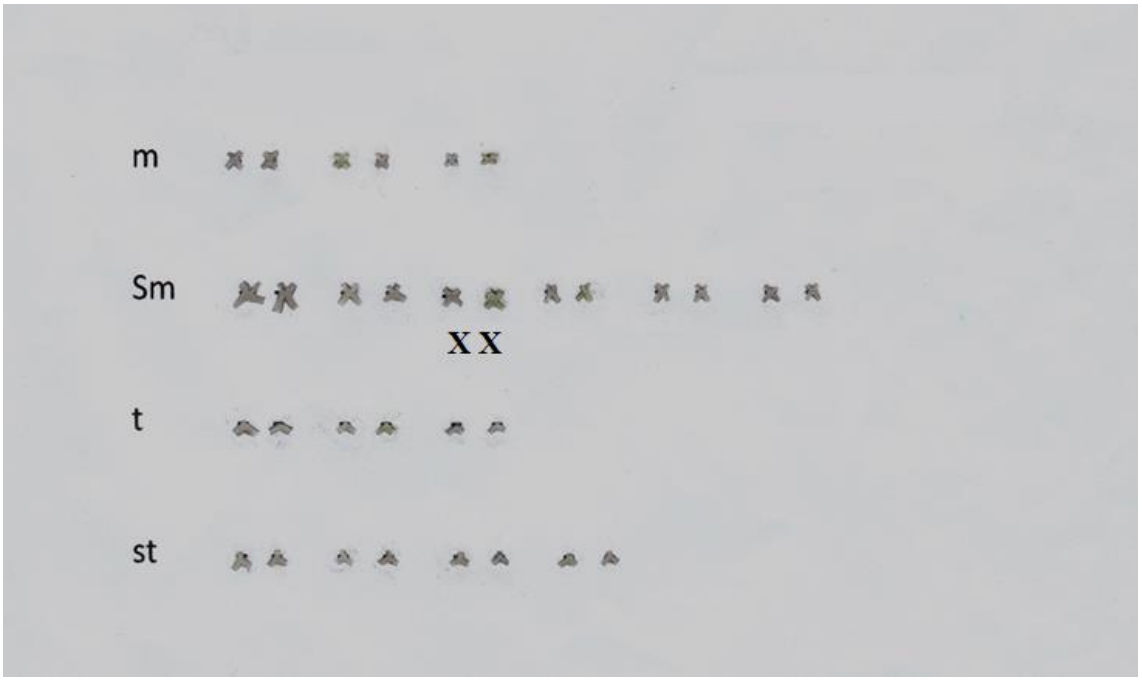

**شكل (4 – a): كروموسومات الطور الاستوائي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa – banding technique (1000X).**




**شكل (4 – b): الطراز الكروموسومي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa – banding technique.**




**شكل (5 – a): كروموسومات الطور الاستوائي في اناث سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa – banding technique( 1000X).**




**شكل (5 – b): الطراز الكروموسومي في اناث سمكة ابو الزمير العميق *Mystus pelusius* باستعمال تقنية Giemsa – banding technique**

وبناءً على ما تقدم فقد أظهرت الهيأة الكروموسومية للذكور والإناث ترتيب حزم G نفسها ما عدا الاختلاف الملاحظ في الكروموسومات الجنسية. وقد بينت عدة دراسات أن الكروموسومات الجنسية المتباينة الشكل في أنظمة تحديد الجنس البسيطة Simple sex determination systems ومنها نظام (XX/XY) قد نشأت من زوج من الكروموسومات الجسمية Autosomes pair التي أصبحت بمرور الوقت مختلفة في المحتوى الجيني (متباينة الشكل) نتيجة حدوث تغيرات ضمن تركيبها الكروموسومي المحدد للجنس كالانقلابات Inversions، الحذف Deletion، الانتقالات Translocations والاندماجات المركزية Centric fusions (Parise- ; Silva *et al*., 2012a ; De Oliveira *et al*., 2008 ; Kondo *et al*., 2006 Maltempi *et al*., 2013). أو قد يعود تكون الكروموسومات الجنسية المتباينة الشكل إلى تراكم قطع الكروماتين المتباين Heterochromatin تليها زيادة في حجم أحد الكروموسومين الجنسيين أو تراكم في الكروماتين المتباين يليه فقدان في متواليات الحامض النووي DNA أو استبدال قطع الكروماتين المتباين مع حدوث عمليات اعادة الترتيب الكروموسومي Chromosomal rearrangement (Centofante *et al*., 2002 ; Artoni *et al*., 1998 ;Ghigliotti *et al*., 2013 ; Silva *et al*., 2012b).

يتضح من النتائج أن تقنية الحزم G-banding قد أثبتت أن نظام تحديد الجنس في سمكة أبو الزمير العميق هو نظام تحديد جنسي بسيط من نوع (XX/XY) الذي تكون فيه الذكور متباينة الأمشاج وهو أحد الأنظمة الأكثر شيوعاً بين الأسماك إذ أظهرت الدراسات أن 64% من الأسماك تكون فيها الإناث متباينة الأمشاج و 36% منها تكون الذكور متباينة الأمشاج، وأن 80% من أنظمة تحديد الجنس تتوافق مع أنظمة تحديد الجنس البسيطة من نوع (ZZ/ZW) الذي تكون فيه الإناث متباينة الأمشاج ونظام (XX/XY) الذي تكون فيه الذكور متباينة الأمشاج و

20% تتوافق مع أنظمة تحديد الجنس المتعددة Multiple sex determination systems ومنها نظام $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ (Silva *et al*., 2012b ; Machado *et al*., 2011)، وهذا يتفق مع دراسة سابقة لأحد الأنواع العائدة لجنس *Mystus* وهي سمكة *M. gulio* التي سجلت وجود نظام تحديد الجنس البسيط (XX/XY) في هذه السمكة ذات العدد الكروموسومي 2n=58 والطراز الكروموسومي (12m+34sm+4st+8t) (Choudhury *et al*., 1993)، قد يعود ظهور نظام (XX/XY) في سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* وسمكة *M. gulio* إلى أنها ذات أصل مشترك (Parise-Maltempi *et al*., 2013). في حين أشير إلى وجود نظام تحديد الجنس البسيط (ZZ/ZW) الذي تكون فيه الإناث متباينة الأمشاج في سمكة *Mystus tengara* والذي تم تحديده أيضاً باستعمال تقنية الحزم G-banding التي أظهرت الطراز الكروموسومي (9m+38sm+7st/t) في الإناث والطراز الكروموسومي (10m+38sm+6st/t) في الذكور (Rishi, 1973). قد يدل هذا التنوع في أنظمة تحديد الجنس في الأنواع العائدة لجنس *Mystus* على أصلها المستقل وإلى أن التمايز في الكروموسومات الجنسية قد تطور مؤخراً بين الأنواع (De ; Almeida-Toledo and Foresti, 2001 Oliveira *et al*., 2008) أو قد يعود اختلاف أنظمة تحديد الجنس بين الأنواع العائدة للجنس نفسه كما في جنس *Mystus* نتيجة لحدوث الاندماجات المركزية تليها الانقلابات وهي عمليات شائعة من عمليات اعادة الترتيب الكروموسومي التي أدت إلى تطور وظهور أنظمة تحديد جنسي مختلفة (De Oliveira *et al*., 2008) كما قد يرجع اختلاف أنظمة تحديد الجنس إلى حدوث اعادة تنظيم الكروموسومات Chromosomes reorganization في مناطق تحديد الجنس Sex determining (SD) في مختلف الأنواع (Martinez *et al*., 2009).

من جانب آخر لم يتمكن العديد من الباحثين من تحديد أنظمة تحديد الجنس (الكروموسومات الجنسية المتباينة الشكل) في أنواع أخرى عائدة لجنس *Mystus* ومنها اسماك *M. bocourti*، *M. albolineatus*، *M. singaringas* (Supiwong *et al*., 2013) وسمكة *M. vittatus* (A) (Karuppasamy *et al*., 2010). و قد يعود عدم القدرة على تحديد الكروموسومات الجنسية المتباينة الشكل في معظم أنواع الأسماك إلى حالتها البدائية (Das and Khuda-Bukhsh, 2003) أو لكون الهيأة الكروموسومية للأسماك عموماً لاسيما الأسماك العائدة لعائلة Bagridae ومنها جنس *Mystus* تتميز بالعدد الكبير والحجم الصغير للكروموسومات مما شكل صعوبة للباحثين على متابعة التحليلات الكروموسومية وتحديد الكروموسومات المتباينة الشكل Heteromorphic إذ أن ما يقارب 10% فقط من أنواع الأسماك المدروسة لحد الآن قد تم تحديد الكروموسومات الجنسية المتباينة الشكل فيها ( Delvin and Silva *et al*., 2012b ; Karuppasamy *et al*., 2010 ; Nagahama, 2002 ; Supiwong *et al*., 2013).

# الاستنتاجات والتوصيات

# Conclusions and Recommendations

## الاستنتاجات Conclusions

1- انخفاض العدد الكروموسومي الثنائي لسمكة أبو الزمير العميق مقارنة بالأعداد الكروموسومية للأنواع الأخرى العائدة للجنس نفسه *Mystus* الذي يمثل سمة مميزة للنوع أو يرتبط بتاريخها التطوري، ويدل على احتلالها لموقع متقدم ضمن سلم التطور.

2- تنوع الطراز الكروموسومي لسمكة أبو الزمير العميق وامتلاكها لعدد أكبر من الكروموسومات الثنائية الأذرع مقارنة بالكروموسومات أحادية الذراع مما يشير إلى احتلالها لموقع تطوري متقدم ضمن عائلة Bagridae.

3- تحديد الجنس وفقاً لنظام (XX/XY)، فقد عدت الذكور متباينة الأمشاج Heterogamety والإناث متماثلة الأمشاج Homogamety.

4- معظم الكروموسومات هي ذات حزم G فاتحة (G-light) غنية بالقواعد النتروجينية الكوانين Guanine (G) والسايتوسين Cytosine (C) وهي ميزة شائعة في الأسماك.

## التوصيات Recommendations

1- اجراء دراسة وراثية جزيئية مقارنة Comparative molecular genetic study للتحري عن العلاقات التطورية Evolutionary relation ships والتاريخ العرقي Phylogenetic history للأسماك وذلك لتحديد ترتيبها ضمن سلم التطور.

2- التحري عن الكروموسومات الجنسية في الأسماك العراقية باستعمال تقنيات اخرى فضلاً عن التقنية المستعملة حالياً، ومنها تقنية C-banding ومؤشرات الدنا DNA markers.

3- اعتماد مصادر جديدة لاعداد التحضيرات الكروموسومية في الأسماك فضلاً عن الكلية المستعملة في الدراسة الحالية لزيادة عدد الأعضاء المعتمدة في مثل هذه الدراسات.

4- استعمال سمكة ابو الزمير العميق كمؤشر احيائي في دراسة والكشف عن تلوث المياه .

# المصادر

# References

## المصادر العربية

ابراهيم، أسماء سامي (2008). دراسات وراثية خلوية ومظهرية لثلاثة أنواع من شبوطيات المياه العذبة العراقية، (*Barbus luteus, Cyprinion macrostomum, chondrostoma regium*). أطروحة دكتوراه، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد: 168 صفحة.

العبيدي، حازم جواد؛ البياتي، نمير محمود؛ دحام، حداوي محمد؛ صبري، سوزان وحيد والجشعمي، خلود جميل (2013). بعض مواصفات القرنفل *Eugenia caryophyllata*, Clove المستخدم في تخدير أنواع من أسماك الكارب. مجلة جامعة النهرين للعلوم، 16(3): 28-32 صفحة.

محمد، سندس طالب (1987). دراسة مظهرية عظمية ونسيجية لبعض أفراد الشبوطيات. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة: 145 صفحة.

## المصادر الاجنبية

Abe, S. and Muramoto, J. (1974). Differential staining of chromosomes of two Salmonoid species, *Salvelinus leucomaenis* (Pallas) and *Salvelinus malma* (Walbaum). Proc. Japan. Acad., 50(4): 507-511.

Affonso, P. R. A. M. and Galetti Jr., P. M. (2005). Chromosomal diversification of reef fishes from genus *Centropyge* (Perciformes, Pomacanthidae). Genetica, 123: 227-233.

Affonso, P. R. A. M.; Miranda, V. S.; Jacobina, U. P.; Bitencourt, J. A.; Almeida, J. S. and Carneiro, P. L. S. (2007). Chromosomes in focus: Basic cytogenetics, light microscopy and the case of neotropical fish, modern research and educational topics in microscopy. A. Méndez Vilas and J. Diaz (Eds.): 370-377.

Al-Ansari, N. A.; Balasem, A. N. and Ibrahim, A. S. (2005). The karyotype of *Barbus grypus* (Heckel). J. Um-Salam Sci., 2: 81-84.

Allen, J.W.; Schuler, C.F.; Mendes, R.W. and Latt, S. A. (1977). Asimplified technique for in vivo analysis of sister chromatid exchange using 5-bromodeoxy uridine tablets,Cytogenetic, 18: 231-237.

Almeida, J. S.; Affonso, P. R. A. M.; Diniz, D.; Carneiro, P. L. S. and Dias, A. L. (2013). Chromosomal variation in the tropical armored catfish *Callichthys callichthys* (Siluriformes, Callichthyidae): Implications for conservation and taxonomy in a species complex from a Brazilian hotspot. ZEBRAFISH, 10(4): 451-457.

Almeida-Toledo, F.; Foresti, F.; Daniel, M. F. and Toledo-Filho, S. A. (2000). Sex chromosome evolution in fish: the formation of the neo-Y chromosome in *Eigenmannia* (Gymnotiformes). Chromosoma, 109(3): 197-200.

Almeida-Toledo, L. F. and Foresti, F. (2001). Morphologically differentiated sex chromosomes in neotropical freshwater fish. Genetica, 111: 91-100.

Al-Sabti, K. (1986). Chromosome complements of the gold fish (*Carassuis auratus*) and common carp (*Cyrinus carpio*). Cytobios, 48: 143-150.

Al-Sabti, K. (1991). Handbook of genotoxic effects and fish chromosomes. Ljubljana. Yugoslavia: 221 pp.

Al-Shamma'a, A. A. (2006). Diet composition of three catfishes from Al-Hammar Marsh, Al-Fuhoud. Iraq. March Bull., 2: 154-159.

Alves, A. L.; De Borba, R. S.; Oliveira, C.; Nirchio, M.; Granado, A. and Foresti, F. (2012a). Karyotypic diversity and evolutionary trends in the neotropical catfish genus *Hypostomus* Lacépéde, 1803 (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). Comp. Cytogen., 6(4): 443-452.

Alves, A. L.; De Borba, R. S.; Pozzobon, A. P. B.; Oliveira, C.; Nirchio, M.; Granado, A. and Foresti, F. (2012b). Localization of 185 ribosomal genes in suckermouth armoured catfishes Loricariidae (Teleostei, Siluriformes) with discussion on the Ag-NOR evolution. Comp. Cytogen., 6(3): 315-321.

Alves, A. L.; Oliveira, C.; Nirchio, M.; Granado, A. and Foresti, F. (2006). Karyotypic relatioships among the tribes of hypostominae (Siluriformes: Loricariidae) with description of XO sex chromosome system in a neotropical fish species. Genetica, 128 (1-3): 1-9.

Andreata, A. A.; Ameida-Toledo, L. F.; Oliveira, C. and Toledo-Filho, S. A. (1992). Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae): 1. XX/XY sex chromosome

heteromorphism in *Pseudotocinlus tietensis*. Cytologia, 57: 369-372.

Arai, R. (2011). Fish karyotypes: A check list: springer. Biemont, C. 2008. Genome size evolution: Within-species variation in genome size. Heredity, 101: 297-298.

Artoni, R. F. and Bertollo, L. A. C. (2001). Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). Hereditas, 134: 201-210.

Artoni, R. F. and Bertollo, L. A. C. (2002). Evolutionary aspects of the ZZ/ZW sex chromosome system in the Characidae fish, genus *Triportheus*. A monophyletic state and NOR location on the W chromosome. Heredity, 89(1): 15-19.

Artoni, R. F.; Molina, W. F.; Bertollo, L. A. C. and Galetti Jr., P. M. (1999). Heterochromatin analysis in the fish species *Liposarcus anisitsi* (Siluriformes) and *Leporinus elongatus* (Characiformes). Genet. Mol. Biol., 22(1): 39-44.

Artoni, R. F.; Venere, P. C. and Bertollo, L. A. C. (1998). A heteromorphic ZZ/ZW sex chromosome system in fish, genus *Hypostomus* (Loricariidae). Cytologia, 63: 421-425.

Artoni, R. F.; Vicari, M. R.; Almeida, M. C.; Moreira-Filho, O. and Bertollo, L. A. C. (2009). Karyotype diversity and fish conservation of southern field from south Brazil. Rev. Fish Biol. and Fisheries, 19(3): 393-401.

Bachtrog, D.; Kirkpatrick, M.; Mank, J. E.; Mc Daniel, S. F.; Pires, J. C.; Rice, W. and Valenzuela, N. (2011). Are all sex chromosomes created equal?. Trends Genet., 27(9): 350-357.

Balasem, A. N.; Dali, F. A. and Mutar, A. J. (1994). Karyotyping of *Barbus sharpyrei*. Cytobios, 78: 177-180.

Balasem, A. N. (1999). *Liza abu* as a suitable biological indicator for water pollution. Iraqi J. Agric., 4: 161-165.

Balasem, A. N.; Mular, A. J. and Dali, F. A. (1999). Cytogenetic studies on Iraqi fishes *Garra ruffa* (Heckel, 1843). The Veterillarian, 9: 112-116.

Balasem, A. N.; Mutar, A. J. and Dali, F. A. (2004). Chromosome complements of *Barbus xanthopterus*. J. of Al-Nahrain univ., 7: 177-181.

Barat, A. and Khuda-Bukush, A. R. (1986). Karyomorphological studies in two species of fishes *Lepidocephalichthys guntea* (Fam: Cobitidae) and *Mystus corsula* (Fam: Bagridae). Perspect. Cytol. and Genet., 5: 115-118. (cited by Singh *et al.*, 2013b).

Bayreuther, K. (1969). Die cytogenetik zweier norddeutscher populationen von *Nospsyllus fasciatus* Bosc (Aphamiptera). Chromosoma, 27: 20-46.

Bellafronte, E.; Schemberger, M. O.; Artoni, R. F.; Moreira-Filho, O. and Vicari, M. R. (2012). Sex chromosome system ZZ/ZW in *Apareiodon hasemani* Eigenmann, 1916 (Characiformes, Parodontidae) and a derived chromosomal region. Genet. and Molec. Boil., 35(4): 770-776.

Bellafronte, E.; Schemberger, M. O.; Moreira-Filho, O.; Almeida, M. C.; Artoni, R. F.; Margarido, V. P. and Vicari, M. R. (2011). Chromosomal markers in Parodontidae: An analysis of new and reviewed data with phylogenetic inferences. Rev. Fish. Biol Fisheries, 21: 559-570.

Bernardi, G. (1989). The isochore organization of the human genome. Annu. Rev. Genet., 23: 637-661.

Berra, T. M. (2007). Freshwater fish distribution, second edition. The University of Chicago Press, Ltd. London: 605 pp.

Bertollo, L. A. C.; Born, G. G.; Dergam; J. A.; Fenocchio, A. S. and Moreira-Filho, O. (2000). A biodiversity approach in the neotropical Erythrinidae fish, *Hoplias malabaricus*. Karyotypic survey, geographic distribution of cytotypes and cytotaxonomic considerations. Chromosome Res., 8: 603-613.

Bertollo, L. A. C.; Fontes, M. S.; Fenocchio, A. S. and Cano, J. (1997). The $X_1X_2Y$ sex chromosome system in the fish *Hoplias malabaricus*. 1. G-, C- and chromosome replication banding. Chromosome Res., 5: 493-499.

Bertollo, L. A. C.; Takahashi, C. S. and Moreira-Filho, O. (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). Braz. J. Genet., 1: 103-120. (cited by Rodrigo *et al*., 2008)

Bhatnagar, A.; Yadav, A. S. and Kamboj, N. (2014). Karyomorphology of three Indian major carps from Haryana, India. J. Fisheries Sci. Com., 8(2): 95-103.

Bickmore, W. A. (2001). Karyotype analysis and chromosome banding, Encyclopedia of life sciences, nature publishing group. www.els.net.: 1-7 pp.

Blaxhall, P. C. (1983). Chromosome karyotyping of fish using conventional and G-banding methods. J. Fish. Biol., 22: 417-424.

Borin, L. A. and Martins-Santos, I. C. (1999). *Caracterizafao cariotipica* de tres especies do genera *Trichomycterus* (Pisces, Siluriformes) da Bacia do Iguaqu. Genet. Molec. Biol., 22: 71. (cited by Degonzo *et al*., 2000).

Borisov, Y. M and Orlov, V. N. (2012). A comparison of the chromosome G-banding pattern in two *Sorex* species, *S. satunini* and *S. araneus* (Mammalian, Insectivora). Comp. Cytogen., 6(3): 267-271.

Born, G. G. and Bertollo, L. A. (2000). An XX/XY sex chromosome system in a fish species, *Hoplias malabaricus*, with a polymorphic NOR- bearing X chromosome. Chromosome. Res., 8(2): 111-118.

Borton, S. A.; Davis, W. P. and Bundrick, C. M. (1989). Morphological and behavioral characters in mosquito fish as potential bioindication of exposure to Kraftmill effluent. Bull. Env. Contam. Toxical., 62: 525-546. (Cited by Jones, J. C. and Reynolds, T. D. (1997). Effects of pollution on reproductive behavior of fishes. Rev. Fish Biol. and Fisheries, 7: 463-491).

Brum, M. J. and Galetti, P. M. (1997). Teleostei ground plan karyotype. J. Comp. Biol., 2: 91-102. (cited by Degonzo *et al*., 2000).

Cardoso, A. L.; Pieczarka, J. C. and Nagamachi, C. Y. (2015). $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ sex chromosome systems in the neotropical Gymnotiformes electric fish of the genus *Brachyhypopmus*. Genet. and Molec. Biol., 38(2): 213-219.

Cardoso, A. L.; Sales, K. A. H.; Nagamachi, C. Y.; Pieczarka, J. C. and Noronha, R. C. R. (2013). Comparative cytogenetics of two species of genus *Scobinancistrus* (Siluriformes, Loricariidae, Ancistrini) from the Xingu River. Brazil. Comp. Cytogenet., 7(1): 43-51.

Carr, J. L.; Bickham, J. W. and Dean, R. H. (1981). The karyotype and chromosomal banding patterns of the Central American River turtle *Dermatemys mawii*. Herpetologica, 37(2): 22-95.

Caspersson, T.; Zech, L. and Johanson, C. (1970). Differential banding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. Exp. Cell. Res.; 60: 315-319.

Centofante, L.; Bertollo, L. A. C. and Moreira-Filho, O. (2001). Comparative cytogenetics among sympatric species of *Characidium* (Pisces, Characiformes): diversity analysis with the description of a

ZW sex chromosome system and natural triploidy. Caryologia, 54(3): 253-260.

Centofante, L.; Bertollo, L. A. C. and Moreira-Filho, O. (2002). A ZZ/ZW sex chromosome system in a new species of the genus *Parodon* (Pisces, Parodontidae). Caryologia, 55(2): 139-150.

Chakrabarti, J. and Khuda-Bukhsh, A. R. (2000). Chromosome banding studies in an Indian mullet: Evidence of structural rearrangements from NOR locations. Indian J. Exper. Biol., 38: 467-470.

Chanda, T. (1989). A study of chromosomes in some hill stream fishes of Assam. India. PhD thesis. Kalyani: Kalyani University. (cited by Singh *et al*., 2013b).

Chen, J.; Fu, Y.; Xiang, D.; Zhao, G.; Long, H.; Liu, J. and Yu, Q. (2008). XX/XY heteromorphic sex chromosome systems in two bullhead catfish species, *Liobagrus marginatus* and *L. styani* (Amblycipitidae, Siluriformes). Cytogenet. Genome Res., 122: 169-147.

Choudhury, R. C.; Prasad, R. and Das, C. C. (1993). Chromosomes of four Indian marine catfishes (Bagridae, Arridae: Siluriformes) with a heteromorphic pair in male *Mystis gulio*. Caryologia, 46(2-3): 233-243.

Cioffi, M. B. and Bertollo, L. A. (2010). Initial steps in XY chromosome differentiation in *Hoplias malabaricus* and the origin of an X(1) X(2) Y sex Chromosome system in this fish group. Heredity, 105(6): 554-561.

Cioffi, M. B. and Bertollo, L. A. (2012). Chromosomal distribution and evolution of repetitive DNAs in fish in: Garrido-Ramos, editor. Repetitive DNA. Genome. Dynamics. Genome Dyn., 7: 197-221.

Cioffi, M. B.; Kejnovsky, E. and Bertollo, L. A. (2011). The chromosomal distribution of microsatellite repeats in the genome of the wolf fish

*Hoplias malabaricus*, focusing on the sex chromosomes. Cytogenet. and Genome. Res., 132(4): 289-296.

Cioffi, M. B.; Liehr, T.; Trifonov, V.; Molina, W. F. and Bertollo, L. A. (2013). Independent sex chromosome evolution in lower vertebrates: a molecular cytogenetic overview in the Erythrinidae fish family. Cytogenet. and Genome. Res., 141(2-3): 186-194.

Coad, B. W. (2010). Freshwater fishes of Iraq. Pensft publishers. Bulgaria: 295 pp.

Da Cruz, V. P.; Shimabukuro-Dias, C. K.; Oliveira, C. and Foresti, F. (2011). Karyotype description and evidence of multiple sex Chromosome system $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ in *Potamotrygon* aff *motoro* and *P. falkneri* (Chnodrichthyes: Potamotrygonidae) in the upper Paraná River basin. Brazil. Neotropic. Ichthyol., 9(1): 201-208.

Dai, Y. (2013). Karyotype and evolution analysis of vulerable fish *Onychostoma lini* from China, the 7th international conference of systems biology (ISB), Haungshan, China, 49-54.

Dan, C.; Mei, J. Wang, D. and Gui, J. (2013). Genetic differentiation and efficient sex-specific marker development of a pair of Y and X linked markers in yellow catfish. Int. J. Biol. Sci., 9: 1043-1049.

Das, J. K. and Khuda-Bukhsh, A. R. (2003). Karyotype Ag-NOR, $CMA_3$ and SEM studies in a fish (*Mystus tengara*, Bagridae) with indication of female hetrogamety. Indian. J. Exp. Biol., 41: 603-608.

Das, J. K. and Khuda-Bukhsh, A. R. (2007). Preponderance of GC-rich sites in silver-stained nucleolus organizing regions of *Rita rita* (Hamilton) and *Mystus gulio* (Hamilton) (Bagridae, Pisces) as revealed by chromomycin $A_3$-staining technique and scanning electron microscopic studies. Genet. Mol. Res., 6: 284-291.

Degonzo, G. M.; Fencchio, A. and Pastori, C. (2000). Chromosome characterization of *Trichotnycterus spegazzini* (Siluriformes, Trichomycteridae) from three hydrographic basins of the North West of Argentina. Caryologia, 53(1): 39-43.

De Mattos, T. L.; Coelho, A. C.; Schneider, C. H.; Telles, D. O. C.; Menin, M. and Gross, M. C. (2014). Karyotypic diversity in seven Amazonian anurans in the genus *Hypsiboas* (Family: Hylidae). BMC Genetics, 15(43): 1-13.

Deng, W.; Tsao, S. W.; Lucas, J. N.; Leung, C. and Chenng, A. L. M. (2003). A new method for improving metaphase chromosome spreading. Cytometry, 51(1): 46-51.

De Oliveira, R. R.; Feldberg, E.; Anjos, M. B. and Zuanon, J. (2008). Occurrence of multiple sexual chromosome ($XX/XY_1Y_2$ and $Z_1Z_1Z_2Z_2/Z_1Z_2W_1W_2$) in catfishes of the genus *Ancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) from the Amazon basin. Genetica, 134: 243-249.

De Oliveira, R. R.; Souza, I. L. and Venere, P. C. (2006). Karyotype description of three species of loricarridae (Siluriformes) and occurrence of the ZZ/ZW sexual system in *Hemiancistus spilomma* Cardoso and Lucinda, 2003. Neotropic. Ichthyol., 4(1): 93-97.

Devlin, R. H. and Nagahama, Y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. Aquaculture, 208: 191-364.

Donsakul, T. (2000). Chromosome study on three species of bagrid catfishes, *Mystus albolineatus*, *M. wolffi* and *Heterobagrus boccurti*, from Thailand in proceedings of the 38th Kasetsart University annual conference: fisheries and science. Bangkok: Kasetsart University (cited by Supiwong *et al*., 2013).

Edmunds, J. S. G.; Mc Carthy, R. A. and Ramsdell, J. S. (2000). Permanent functional male to female sex reversal in d-rR stain medaka (*Oryzias latipes*) following egg microinjection of O, P-DDT. Environ. Health Perspec., 108: 219-224.

Ergene, S.; Karahan, A. and Kuru, M. (2010). Cytogenetic analysis of *Pseudophoxinus antalyae*. Bogustkaya, 1992 (Pisces: Cyprinidae) from the Eastern Mediterranean River Basin, Turkey. Turk. J. Zool., 34: 111-117.

Eschmeyer, W. N. and Fong, J. D. (2014). Species by Family/Subfamily. Available at http://research.calacademy.org/research/ichthyology/ catalog/species by family. (cited by Nirchio *et al*., 2014).

Esmaeili, H. R.; Gholami, Z.; Nazari, N. and Gholamifard, A. (2009). Karyotype analysis of an endemic suker catfish, *Glyptothorax silviae* Coad, 1981 (Actinoptergii: Sisoridae) from Iran. Turk. J. Zool., 33: 409-412.

Eyo, J. E. (2005). Cytogenetic variations in *Clarias* species (Clariidae: Suruliformis) of the Anambra River using leucocytes culture techniques. Anim. Res. Internat., 2(1): 275-286.

Ezaz, T.; Sarre, S. D.; O'Meally, D.; Graves, J. A. and Georges, A. (2009). Sex chromosome evolution in lizards: independent origins and rapid transitions. Cytogenet. and Genome. Res., 127(2-4): 249-260.

Ezaz, T.; Stiglec, R.; Veyrunes, F. and Graves, J. A. (2006). Relationships between vertebrate ZW and XY sex chromosome systems. Curr. Biol., 16(17): 736-743.

Feldberg, E.; Bertollo, L. A. C.; Almeida-Toledo, L. F.; Foresti, F. and Moreira-Filho, O. (1987). Biological aspects of Amazonian fishes. IX. Cytogenetic studies in two species of the genus *Semaprochilodus* (Pisces, Prochilodontidae). Genome, 29: 1-4.

Fenerich, P. C., Foresti, F. and Oliveira, C. (2004). Nuclear DNA content in 20 species of Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi) from the Neotropical region. Genetics and Molecular. Biol., 27(3): 350-354.

Fenocchio, A. S. and Bertollo, L. A. C. (1990). Supernumerary chromosomes in a *Rhamdia hilarii* population (Pisces, Pimelodidae). Genetica, 81: 193-198.

Ferraris, C. J. (2007). Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes, Siluriformes), and catalogue of Siluriform primary types. Zootaxa, 1418: 1-628.

Foresti, F.; Oliveira, C. and Almedia-Toledo, L. F. (1993). A method for chromosome preparations from large specimens of fishes using *in vitro* short treatment with colchicine. Experientia, 49(9): 810-813.

Formacion, M. J. and Uwa, H. (1985). Cytogenetic studies on the origin and species differentiation of the Philippine medaka, *Oryzias luzonensis*. J. Fish. Biol., 27: 285-291.

Francis, A.; Sivakumar, R. and Mathialagan, R. (2014). IIIustrative morphological systematics of catfish genus: *Mystus* (Scopoli, 1777) (Siluriformes: Bagridae) in lower Anicut, Tamil Nadu. India. Indian J. Sci., 10(23): 14-30.

Gaffaroğlu, M.; Ayata, M. K.; Ünal, S. and Arslan, A. (2013). Chromosomal studies of two different populations (Turkey) of *Luciobarbus escherichii* (Steindacher, 1897). Turk. J. Fish. Aquat. Sci., 13: 875-879.

Gaffaroğlu, M. and Yüksel, E. (2009). Constitutive heterochromatin in *Acanthobrama marmid* and *Cyprinion macrostomus* (Osteichthyes, Cyprinidae), Kafkas University Veterinarian Faculty, 15(2): 169-172.

Ganai, F. A.; Wani, S.; Ahmad, S.; Yousuf, A. R. and Tripathi, N. K. (2014). Coupled biochemical genetic and karyomorphological

analysis for taxonomic classification-A case study of *Schizothorax* species complex (Teleostei: Cyprinidae). Afr. J. Biotechnol., 13(15): 1623-1630.

Garcia, C. and Filho, O. M. (2008). Localization of ribosomal genes in three *Pimelodus* species (Siluriformes, Pimelodidae) of the São Francisco River: 55 genes as species markers and conservation of the 18Sr DNA sites. Genet. and Molec. Biol., 31(1): 261-264.

Ghigliotti, L.; Cheng, C.-H. C.; Bonillo, C.; Coutanceau, J. and Pisano, E. (2013). *In situ* gene mapping of two genes supports independent evolution of sex chromosomes in cold-adapted antarctic fish. Bio. Med. Res. International., 2013: 1-8.

Giuliano-Caetano, L. (1998). Polimorfismo cromossômico Robertsoniano empopulações de *Rineloricaria latirostris* (Pisces, Loricariidae). PhD thesis, Universidade federal de São Carlos., 78 pp. (cited by Kavalco *et al*., 2005).

Gold, J. R.; Amemiya, C. T. and Ellison, J. R. (1986). Chromosomal heterochromatin differentiation in North American cyprinid fishes. Cytologia, 51: 557-566.

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. J. Fish. Biol., 37: 563-575.

Graves, J. A. M. (2006). Sex chromosome specialization in mammals. Cell, 124: 901-914.

Grazyna, F.; Fopp-Bayat, D.; Jankun, M.; Krejszeff, S. and Mamcarz, A. (2008). Note on the karyotype and NOR location of Siamese fighting fish *Betta splendens* (Perciformes, Osphronemidae). Caryologia, 61(4): 349-353.

Gross, M. C.; Schneider, C. H.; Valente, G. T.; Porto, J. I.; Martins, C. and Feldberg, E. (2009). Comparative cytogenetic analysis of the genus

*Symphysodon* (Discus fishes, Cichlidae): chromosomal characteristics of retrotransposons and minor ribosomal DNA. Cytogenet. Genome. Res., 127(1): 43-53.

Harild, A.; Janke, A. and Arnason, U. (1997). The mt DNA sequence of the ostrich and the divergence between poleognathous and neognathous birds. Mol. Biol. Evol., 14: 754-761.

Harvey, S. C.; Masobanda, J.; Carrasco, L. A. P.; Bromage, N. R.; Penman, D. J. and Griffin, D. K. (2002). Molecular cytogenetic analysis reveals sequence differences between sex chromosomes of *Oreochromis niloticus*: Evidence for an early stage of sex chromosome differentiation. Cytogenet. and Genome. Res., 97(1-2): 76-80.

Hoffmann, A. A. and Rieseberg, L. H. (2008). Revisiting the impact of inversions in evolution: from population genetic markers to drivers of adaptive shifts and speciation?. Annu. Rev. Ecol. Syst., 39: 21-42.

Hong, Y. and Zhou, T. (1984). Karyotypes of nine species of Chinese catfishes (Bagridae). Zool. Res., 5: 21-28.

Ida, H., Murofushi, M.; Fujiwara, S. and Fujino, K. (1978). Preparation of fish chromosomes by in vitro colchicine treatment. Japan. J. Ichthyol., 24(4): 281-284.

Kaiser, V. B. and Bachtrog, D. (2010). Evoluation of sex chromosomes in insects. Annu. Rev. Genet., 44: 91-112.

Kalbassi, M. R.; Dorafshan, S.; Tavakolian, T.; Khazab, M. and Abdolhay, H. (2006). Karyological analysis of endangerd Caspian Salmon, *Salmo trutta caspuis* (Kessler, 1977). Aquacult. Res., 37(13): 1341-1347.

Kannan, T. P. and Alwi, B. (2009). Cytogenetics: past, present and future. Malays. J. Med. Sci., 16(2): 4-9.

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

Karasu, M.; Yüksel, E. and Gaffaroğlu, M. (2011). Karyotype, NORs, and C-banding analysis of *Pseudophoxinus firati* Bogutskaya, Küçük and Atalay, 2007 (Actinopterygii, Cyprinidae) in the Euphrates River, Turkey. Turk. J. Zool., 35(6): 865-868.

Karuppasamy, R.; Zutshi, B. and Bhavani, K. (2010). Karyotype of a Bagrid catfish, *Mystus vittatus*, from the freshwater system of Chidambaram. Tamil Nadu. India. Sci. Asia, 36: 157-160.

Kavalco, K. F.;Pazza, R.; Bertollo, L. A. C. and Moreira-Filho, O. (2005). Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). Heredity, 94: 180-186.

Khuda-Bukhsh, A. R.; Chanda, T. and Barat, A. (1986). Proceeding of the second international conference on Indo-Pacific fishes. Ichthyol. Soc. Japan, Tokyo, 886-898. (cited by Singh *et al*., 2013a).

Kim, C. L. (1998). Development of PCR-BAS ED DNA markers to identify and characterise Malaysian River catfish, *Mystus nemurus* (C and V): RAPD and AFLP, M.Sc. Thesis, Universiti Putra, Malaysia: 125 pp.

Kim, D. S.; Park, E. and Kim, J. S. (1982). Karyotype of nine species of the Korean catfishes (Teleostomi: Siluriformes). Korean. J. Genet., 4: 57-68.

Kirpichnikov, V. S. (1981). Genetic bases of fish selection. Springer Verleg, Berlin, Heidelberg, New York: 410 pp.

Kirtiklis, L.; Boron, A. and Porycka, K. (2005). Chromosome banding patterns of the Gudgeon, *Gobio Gobio* (Actinopterygii, Cyprinidae). Acta Ichthyologica et piscatoria, 35(2): 119-123.

Klinkhardt, M.; Tesche, M. and Greven, H. (1995). Database of fish chromosomes, Westarp-Wissenschaften. Germany: 237 pp. (cited by Ergene *et al*., 2010).

Knytl, M.; Kalous, L. and R'ab, P. (2013). Karyotype and chromosome banding of endangered crucian carp, *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758) (Teleostei, Cyprinidae). Compar. Cytogen., 7(3): 205-215.

Kondo, M.; Hornung, U.; Nanda, I.; Imai, S.; Sasaki, T.; Shimizu, A.; Asakawa, S.; Hori, H.; Schmid, M.; Shimizu, N. and Schartl, M. (2006). Genomic organization of the sex-determining and adjacent regions of the sex chromosomes of medaka. Genome. Res., 16: 815-826.

Konerat, J. T.; Bueno, V.; Baumgartner, L.; Martins-Santos, I. C. and Margarido, V. P. (2014). B chromosomes and NORs polymorphism in *Callichthys callichthys* (Linnaeus, 1758) (Siluriformes: Callichthyidae) from upper Paraná River, Brazil. Neotrop. Ichthyol., 12(3): 603-609.

Korf, B. R.; Schuh, B. E. and Salwen, M. J. (1976). The role of trypsin in the pre-treatment of chromosomes for giemsa banding. Hum. Genet., 31(1): 27-33.

Kubat, Z.; Hobza, R.; Vyskot, B. and Kejnovsky, E. (2008). Microsatellite accumulation on the Y chromosome in *Silene latifolia*. Genome, 51(5): 350-356.

Kumar, S. and Hedges, S. B. (1998). A molecular timescale for vertebrate evolution. Nature, 392: 917-920.

Kushwaha, B.; Kumar, R.; Nagpure, N. S.; Srivastava, S. K.; Basheer, V. S.; Anil, M. K. and Lakra, W. S. (2011). Chromosomal studies of three vulnerable marine fishes from west coast of India. Indian. J. Mar. Sci., 40(1): 62-66.

Lagomarsino, I. V. and Conover, D. O. (1993). Variation in environmental and genotypic sex-determining mechanisms across a latitudinal gradient in the fish, *Menidia menidia*. Evolution, 47(2): 487-494.

Le Grande, W. H. (1975). Karyology of six species of Louisiana flatfishes (Pleuronectiformes: Osteichthyes). Copeia, 3: 516-522.

Le Grande, W. H. (1981). Chromosomal evolution in North American catfishes (Siluriformes, Ictaluridae) with particular emphasis on the madtoms, *Noturus*. Copeia, 1: 33-52.

Lieppman, M. and Hubbs, C. (1969). A karyological analysis of two cyprinid fishes, *Notemigonus crysoleucas* and *Notropis lutrensis*. Texas. Rep. Biol. Med., 27(2): 427-435.

Lima, N. R. W. and Galetti Jr., P. M. (1990). Chromosome characterization of the fish *Trichogenes lonipinnis*. A possible basic karyotype of Trichomycteridae. Brazil. Genet. J., 13(2): 239-245.

Lippman, Z.; Gendrel, A. V.; Black, M.; Vaughn, M. W.; Dedhia, N.; Mc Combie, W. R.; Lavine, K.; Mittal, V.; May, B.; Kasschau, K. D.; Carrington, J. C.; Doerge, R. W.; Colot, V. and Martienssen, R. (2004). Role of transposable elements in heterochromatin and epigenetic control. Nature, 430: 471-476.

Livernois, A. M.; Graves, J. A. M. and Waters, P. D. (2012). The origin and evolution of vertebrate sex chromosomes and dosage compensation. Heredity, 108: 50-58.

Luca, C.; Suciu, R. and Costache, M. (2010). Comparative karyotype in different lineages of cyprinid fish (Teleostei: Cypriniformes: Cyprinidae). Studia Universitatis "Vasile Goldis". Seria S, triint. Ele. Viet, ii., 20(1): 37-41.

Lui, R. L.; Blanco, D. R.; Margarido, V. P.; Troy, W. P. and Filho, O. M. (2013). Comparative chromosomal analysis and evolutionary

considerations concerning two species of genus *Tatia* (Siluriformes, Auchenipteridae). Compar. Cytogenet., 7(1): 63-71.

Macgregor, H. C. and Varly, J. M. (1988). Working with animal chromosomes, second edition, chapter 4, contributed by Haff, T. and Schmid, M., John Wiley and Sons Company. Bath press Ltd. Bath. Avon. U. K.: 122 pp.

Machado, T. C.; Pansonato-Alves, J. C.; Pucci, M. B.; Nogaroto, V.; Aleida, M. C.; Oliveira, C.; Foresti, F.; Bertollo, L. A. C.; Moreira-Filho, O.; Artoni, R. F. and Vicari, M. R. (2011). Chromosomal painting and ZW sex chromosomes differentiation in *Characidium* (Characoformes, Crenuchidae), BMC Genet., 12: 65-73.

Mani, I.; Kumar, R.; Singh, M.; Kushwaha, B.; Nagpure, N. S.; Srivastava, P. K. and Lakra, W. S. (2013). Chromosomal distribution of constitutive heterochromatin in eight species of mahseers (Family: Cyprinidae) from India. Indian J. Biotechnol., 12: 178-186.

Mank, J. E.; Promislow, D. E. L. and Avise, J. (2006). Evolution of alternative sex-determining mechanisms in teleost fishes. Biol. J. Linnean Soc., 87: 83-93.

Manna, G. K. and Khuda-Bukhsh, A. R. (1978). Karyomorphological studies in three species of teleostean fishes. Cytologia, 43: 69-73.

Manna, G. K. and Prasad, R. (1968). A study of somatic chromosomes of a common Indian live-fish *Channa punctatus* by a kidney technique. Proceedings of 55$^{th}$ Indian science congress Varanasi, India: 468 pp. (cited by Sukham *et al*., 2014).

Manosroi, J.; Meng-Umphan, K.; Meevatee, U. and Manosroi, A. (2003). Chromosomal karyotyping from peripheral blood lymphocytes of the Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas*, Chevey). Asian Fisheries Sci., 16: 241-246.

Margarido, V. P. and Galetti Jr., P. M. (2000). Amplification of a GC-rich heterochromatin in the freshwater fish *Leporinus desmotes* (Characiformes, Anostomidae). Genet. and Mol. Biol., 23(3): 569-573.

Margery, W. S. (1973). Uses of banding techniques for the identification of human diseases of cytogenetic origin. Environm. Health Perspect.: 151-156.

Martinez, P.; Bouza, C.; Hermida, M.; Fernåndez, J.; Toro, M. A.; Vera, M.; Pardo, B.; Millån, A.; Fernåndez, C.; Vilas, R.; Viñas, A.; Sånchez, L.; Felip, A.; Piferrer, F.; Ferreiro, I. and Cabaleiro, S. (2009). Identification of the major sex-determining region of turbot (*Scophthalmus macimus*). Genetics, 183: 1443-1452.

Martinez, E. R. M.; Oliveira, C. and Foresti, F. (2004). Cytogenetic analyses of *Pseudopimelodus mangurus* (Teleostei: Siluriformes: Pseudopimelodidae). Cytologia, 69(4): 419-424.

Martinez, E. R. M.; Zawadzki, C. H.; Foresti, F. and Oliveira, C. (2011). Cytogenetic analysis of five *Hypostomus* species (Siluriformes, Loricariidae). Genet. and Mol. Biol., 34(4): 562-568.

Martins, N. F.; Bertollo, L. A. C.; Troy, W. P.; Feldberg, E.; Valentin, F. C. S. and Cioffi, M. B. (2013). Differentiation and evolutionary relationships in *Erythrinus erythrinus* (Characiformes, Erythrinidae): comparative chromosome mapping of repetitive sequences. Rev fish. Biol. Fisheries, 23(2): 261-269.

Matsuda, M.; Nagahama, Y.; Shinomiya, A.; Sato, T.; Matsuda, C.; Kobayashi, T.; Morrey, C. E.; Shibata, N.; Asakawa, S.; Shimizu, N.; Hori, H.; Hamaguchi, S. and Sakaizumi, M. (2002). DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. Nature, 417: 559-563.

Medrado, A. S.; Ribeiro, M. S.; Affonso, P. R. A. M.; Carneiro, P. L. S. and Costa, M. A. (2012). Cytogenetic divergence in two sympatric fish species of the genus *Astyanax* Baird and Girard, 1854 (Characiformes, Characidae) from northeastern Brazil. Genet. and Mol. Biol., 35(4): 797-801.

Mendes, V. P.; Portela-Castro, A. L. B. and Jůlio-Jůnior, H. F. (2012). First record of supernumerary (B) chromosomes in electric fish (Gymnotiformes) and the karyotype structure of three species of the same order from the upper Paraná River basin. Compar. Cytogenet., 6(1): 1-16.

Moore, C. M. and Best, R. G. (2001). Chromosome preparation and banding. Encyclopedia of life sciences. Nature publishing group, www.els.net: 1-7 pp.

Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C. and Galetti Jr., P. M. (1980). Evidence for a multiple sex chromosome system with female heterogamety in *Apareiodon affinis* (Pisces, Parodontidae). Caryologia, 33: 83-91 (cited by Bellafronte *et al*., 2012).

Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C. and Galetti Jr. (1993). Distribution of sex chromosome and mechanisms in neotropical fish and description of a ZZ/ZW system in *Parodon hilarii* (Parodontidae). Caryologia, 46: 115-125.

Nanda, I.; Feichtinger, W.; Schmid, M.; Schroder, J. H.; Zischler, H. and Epplen, J. T. (1990). Simple repetitive sequences are associated with differentiation of the sex chromosomes in the Guppy fish. J. Mol. Evol., 30: 456-462.

Nanda, I.; Scharti, M.; Feichtinger, W.; Schlupp, I.; Parzefall, J. and Schmid, M. (1995). Chromosomal evidence for laboratory synthesis of a triploid hybrid between the gynogenetic teleost *Poecilia formosa*

and host species. J. Fish. Biol., 47: 619-623. (cited by Karuppasamy *et al*., 2010).

Nanda, I.; Hornung, U.; Kondo, M.; Schimd, M. and Schartl, M. (2003). Common spontaneous sex-reversed XX males of the medaka *Oryzias latipes*. Genetics, 163: 245-251.

Nayyar, R. P. (1966). Karyotype studies in thirteen species of fishes. Genetica, 37(1): 78-92.

Nazari, S.; Pourkazemi, M. and Rebelo Porto, J. I. R. (2009). Comparative karyotype analysis of two Iranian cyprinids, *Albuurnoides bipunctatus* and *Alburnus filippii* (Cypriniformes, Cyprinidae). Iranian J. Animal Biosystemat., 5(2): 23-32.

Nelson, J. S. (2006). Fishes of the world, 4th edn. John Wiley and Sons. Inc. Hoboken. New Jersey: 624 pp.

Netto, M. R. C.; Pauls, E. and Affonso, P. R. A. M. (2007). A standard protocol for obtaining fish chromosomes under post-mortem conditions. Micron, 38: 214-217.

Ng, H. H. and Pethiyagoda, R. (2013). *Mystus zeylanicus* a new species of bagrid catfish from Srilanka (Teleostei, Bagridae). Ichthyol. Explor. Freshwaters, 24(2): 161-170.

Nirchio, M.; Rossi, A. R.; Foresti, F. and Oliveira, C. (2014). Chromosome evolution in fishes: a new challenging proposal from neotropical species. Neotrop. Ichthyol., 12(4): 761-770.

Ocalewicz, K.; Jankun, M. and Boroń, A. (2004). Karyotypic characterization of bream, *Abramis brama* (Pisces, Cyprinidae). Folia. Zool., 53(3): 329-334.

Ohno, S.; Muramoto, J. and Christian, L. (1967). Diploid-tetraploid relationship among old-world members of the fish family Cyprinidae. Chromosoma, 23: 1-9.

Okonkwo, J. C. and Obiakor, M. O. (2010). Karyological and chromosomal study of catfish (Clariidae, *Clarias gariepinus*, Burchell, 1822) from Anambra River, Anambra State, Nigeria. Pak. J. Nurt., 9(2): 112-115.

Oliveira, C.; Alves, A. L. and Foresti, F. (2006). The karyotype of *Scoloplax distolothrix* (Teleostei: Siluriformes: Scoloplacidae). Cytologia, 71(3): 257-259.

Oliveira, C.; Almeida-Toledo, L. F.; Mori, L. and Toledo-Filho, S. A. (1993). Cytogenetic and DNA content in six genera of the family Callichthyidae (Pisces, Siluriformes). Caryologia, 46(2-3): 171-188.

Oliveira, C.; Almeida-Toledo, L. F.; Toledo, A. S., Foresti, F. and Toledo, S. A. (1988). Superunmerary chromosomes, robertsonian rearrangement and multipe NORs in *Corydorus aeneus* (Pisces, Siluriformes, Callichthyidae). Caryologia, 41: 227-236.

Oliveira, C.; Foresti, F. and Hilsdorf, A. W. (2009). Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. Fish. Physiol. Biochem., 35(1): 81-100.

Oliveira, C. and Gosztonyi, A. E. (2000). A cytogenetic study of *Diplotnystes mesembrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discussion of chromosome evolution in Siluriformes. Caryologia, 53(1): 31-37.

Ospina-Alvarez, N. and Piferrer, F. (2008). Temperature dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. PLOS ONE, 3(7): 1-11.

Ozouf-Costa, C.; Brandt, J.; Körting, C.; Pisano, E.; Bonillo, C.; Coutanceau, J. and Volff, J. (2004). Genome dynamics and chromosomal localization of the non-Ltr retrotransposons Rex 1 and Rex 3 in Antarctic fish. Antarctic Sci., 16(1): 51-57.

Pardue, M. L. and Gall, J. G. (1970). Chromosomal localization of mouse satellite DNA. Science, 168: 1256-1258.

Parise-Maltempi, P. P.; Martins, C.; Oliveira, C. and Foresti, F. (2007). Identification of a new repetitive element in the sex chromosomes of *Leporinus elongatus* (Teleostei: Characiformes: Anostomidae): new insights into the sex chromosomes of *Leporinus*. Cytogenet. Genome. Res., 116: 218-223.

Parise-Maltempi, P. P.; Silva, E. L.; Rens, W.; Dearden, F.; O'Brien, P. C.; Trifonov, V. and Ferguson-Smith, M. A. (2013). Comparative analysis of sex chromosomes in *Leporinus* species (Teleostei, Characiformes) using chromosome painting. BMC Genetics, 14(60): 1-7.

Peichel, C. L.; Ross, J. A.; Matson, C. K.; Dickson, M.; Grimwood, J.; Schmutz, J.; Myers, R. M.; Mori, S.; Schluter, D. and Kingsley, D. M. (2004). The master sex determination locus in threespine Sticklebacks is on a nascent Y chromosome. Curr. Biol., 14: 1416-1424.

Pifferre, F. and Guiguen, Y. (2008). Fish gonadogenesis part II: molecular biology and genomics of sex differentiation. Rev. Fisheries Sci., 16: 35-55.

Plamoottil, M. and Abraham, N. P. (2013). *Mystus indicus* and *Mystus heoki*, two new catfishes from Kerala. India. Biosystematica, 7(1): 43-58.

Prado, C. P. A.; Haddad, C. F. B. and Zamudio, K. R. (2012). Cryptic lineages and Pleistocene population expansion in Brazilian Cerrado frog. Mol. Ecol., 21: 921-941. (cited by De Mattos *et al*., 2014).

Qu, L.; Xu, W.; He, L.; Shan, H. and Xu, Z. (2012). Value of computerized imaging system and G-banding quality control in identification of chromosome abnormalities. International conference on future

information. Technol. and Manag. Sci. Engin. LNIT, 14: 365-369. (cited by Sajjad *et al*., 2014).

Rebelo - Porto, J. I.; Feldberg, E.; Nakayama, C. N. and Falcao, J. N. (1992).A checklist of chromosome numbers and karyotype of Amazonian freshwater fishes. Rev. Hydrob. Trop., 25(4): 287-299.

Reis, R. E.; Kullander, S. O. and Ferraris, Jr. C. J. (2003). Checklist of the freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS. Porto Alegre: 742 pp. (cited by Martinez *et al*., 2011).

Rice, W. R. (1987). Genetic hitchhiking and the evolution of reduced genetic activity of the Y sex chromosome. Genetics, 116: 161-167.

Rishi, K. K. (1976a). Karyotypic studies on four species of fishes. Nucleus, 19: 95-98.

Rishi, K. K. (1976b). Mitotic and meiotic chromosomes of a teleost, *Callichrous bimaculatus* (Bloch) with indications of male heterogamety. Cinencia e Cultura, 28: 1171-1173. (cited by Rishi, 1979).

Rishi, K. K. (1979). Somatic G-banded chromosomes of *Colisa fasciatus* (Perciformes: Belontidae) and confirmation of female heterogamety. Copeia, 1: 146-149.

Rishi, K. K. (1973). Somatic karyotypes of three teteosts. Genen. Phaenen., 16: 101-107. (cited by Rishi, 1979).

Rivlin, K.; Rachlin, J. W. and Dale, G. (1985). A simple method for the preparation of chromosomes applicable to field work, teaching and banding. J. Fish. Biol., 26: 267-272.

Rønne, M. (1991). High-resolution banding: present aspects. Genet. Sel. Evol., 23(1): 49-55.

Ross, J. A.; Urton, J. R.; Boland, J.; Shapiro, M. D. and Peichel, C. L. (2009). Turnover of sex chromosomes in the Stichleback fishes (Gasterosteidae). Plos. Genet., 5(2): 1-12.

Ruiz-Carus, R. (2002). Chromosome analysis of the sexual phases of the protogynous hermaphrodites *Epinephelus guttatus* and *Thalassoma bifasciatum* (Serranidae and Labridae; Teleostei). Caribbean. J. Sci., 38: 44-51.

Sajjad, N.; Haque, S.; Burney, S. I.; Shahid, S. M.; Zehra, S. and Azhar, A. (2014). Fresh and aged human lymphocyte metaphase slides are equally usable for GTG banding. Pak. J. Pharm. Sci., 27(5): 1255-1259.

Sandra, M.; Artoni, R. F. and Miyazawa, C. S. (2004). Occurrence of sexual chromosome of the type ZZ/ZW in *Ancistrus* cf. *dubius* (Loricariidae, Ancistrinae) of the Paraguay River basin. Mato Grosso. Brazil. Caryologia, 57(4): 237-331.

Sarower, E. M.; Hossain, M. B.; Rahman, M. and Hoshan, M. I. (2014). Chromosomal studies and quantitative karyotypic analysis of Rohu, *Labeo rohita*. Pak. J. Biol. Sci., 17(4): 490-496.

Scavone, M. D. P. and Julio Jr. F. (1995). Cytogenetics analysis and heterochromatin distribution in ZZ/ZW sex chromosomes of the mailed catfish *Loricariichthys platymetopon* (Loricariidae: Siluriformes). Rev. Brasil. Genet., 18(1): 31-35.

Schartl, M. (2004). Sex chromosome evolution in mon-mammalian vertebrates. Curr. Opin. Genet. Dev., 14(6): 634-641.

Scheel, J. J.; Simonsen, V. and Gyldenholm, A. D. (1972). The karyotypes and some electrophoretic patterns of fourteen species of the genus *Corydoras*, Sonderdruck aus Z. Zool. Systematik evolution forschung, 10: 144-155. (cited by Choudhury *et al*., 1993).

Schultheis, C.; Böhne, A.; Schartl, M.; Volff, J. and Galiana-Arnoux, D. (2009). Sex determination diversity and sex chromosome evolution in poeciliid fish. Sex. Dev, 3(2-3): 68-77.

Schwartz, F. J. and Maddock, M. B. (2002). Cytogenetics of the elasmobranches: genome evolution and phylogenetic implications. Marine freshwater. Res., 53: 491-502.

Seabright, M. (1971). A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet, 2: 971-972.

Sharma, O. P.; Tripathi, N. K. and Sharma, K. K. (2002). A review of chromosome banding in fishes, in some aspects of chromosome structure and functions, edited by RC Sobti, G Obe and RS Athwal (Narosa publishing house, New Delhi, India): 109-122 pp.

Shetty, S.; Griffin, D. K. and Graves, J. A. (1997). Comparative painting reveals strong chromosome homology over 80 million years of bird evolution. Chromosome Res., 7: 289-295.

Silva, E. L.; Borba, R. S.; Centofante, L.; Miyazawa, C. S. and Parise-Maltempi, P. P. (2012a). Cytogenetic analysis in *Thoracocharax stellatus* (Kner, 1858) (Characiformes, Gasteropelecidae) from Paraguay River basin, mato grossa. Barazil. Compar. Cytogenet., 6(3): 323-333.

Silva, E. L.; Borba, R. S. and Parise-Maltempi, P. P. (2012b). Chromosome mapping of repetitive sequences in Anostomidae species: implications for genomic and sex chromosome evolution. Mol. Cytogenet., 5(45): 1-8.

Silva, E. B. and Margarido, V. P. (2005). An $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ multiple sex chromosome system in a new species of the genus *Gymnotus* (Pisces, Gymnotiformes). Envirn. Biol. Fishes, 73(3): 293-297.

Singh, S. S.; Singh, C. B.; Thoidingjam, L. and Waikhom, G. (2013a). A new report of karyotype in the freshwater Snakehead fish, *Channa*

*gachua* (Channidae: Perciformes) from Northeast India. Manipur. Internat. J. Res. Fisheries and Aquacult., 3(1): 7-10.

Singh, S. S.; Singh, C. B. and Waikhom, G. (2013b). karyotype analysis of the new catfish *Mystus ngasep* (Siluriformes: Bagridae) from Manipur. India. Turk. J. Fish. Aquat. Sci., 13: 179-185.

Smith, K. (2006). Basic cytogenetic technique culturing, slide making and G-banding. In: Celis J, Carter N, Simon K, Small J, Hunter T, Shotton D (Editors). Cell biology a laboratory handbook, 3rd edn. Elsevier Science, California: 381-385 pp.

Sukhum, S.; Chingakham, B.; Thoidingjam, L.; Waikhom, G.; Kumar, R. and Kushwaha, B. (2014). A cytogenetical study on *Barilius ngawa*, Vishwanath and Manojkumar, 2002 (Cypriniformes: Cyprinidae) from Northeast India. Manipure. Internat. J. Res. Fisheries and Aquacult., 4(1): 58-62.

Sumner, A. T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Exper. Cell Res., 75(1): 304-306.

Sumner, A. T.; Evans, H. J. and Buckland, R. A. (1971). New technique for distinguishing between human chromosomes. Nat. New Biol., 232: 31-32.

Supiwong, W.; Liehr, T.; Cioffi, M. B.; Chaveerach, A.; Kosyakova, N.; Pinthong, K.; Tanee, T. and Tanomtong, A. (2013). Karyotype and cytogenetic mapping of 9 classes of repetitive DNAs in the genome of the naked catfish *Mystus bocourti* (Siluriformes, Bagridae). Mol. Cytogenet., 6(51): 1-7.

Swarça, A. C.; Fenocchio, A. S. and Dias, A. L. (2007). An update cytogenetic review for species of the families Pseudopimelodidae, Pimelodidae and Heptapteridae (Pisces, Siluriformes). Suggestion of a cytotaxonomical classification. Caryologia, 60(4): 338-348.

Swarça, A. C.; Sanchez, S.; Dias, A. L. and Fenocchio, A. S. (2013). Cytogenetics of the porthole shovelnose catfish, *Hemisorubim platyrhynchos* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes, Pimelodidae), a widespread species in South American Rivers. Compar. Cytogenet., 7(2): 103-110.

Terêncio, M. L.; Schneider, C. H.; Gross, M. C.; Silva, A. M.; Feldberg, E. and Rebelo Porto, J. I. (2008). Comparative cytogenetics of *Carnegiella marthae* and *Carnegilla strigata* (Characiformes, Gasteropelecidae) and description of a ZZ/ZW sex chromosome system. Genetics and Mol. Biol., 31(1): 231-234.

Thiriot-Quievreux, C. (2002). Review of the literature on bivalve cytogenetics in the last ten years. Biol. Mar., 43: 17-26.

Thorgaard, G. H. (1976). Robertsonian polymorphism and constitutive heterochromatin distribution in chromosomes of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Cytogenet. Cell Genet, 17(4): 174-184.

Ueda, T. and Naoi, H. (1999). Brd U-4Na-EDTA-Giemsa band karyotypes of 3 small freshwater fish, *Danio rerio*, *Oryzias latipes*, and *Rhodeus ocellatus*. Genome, 42(3): 531-535.

Ueda, T. and Naoi, H. and Arai, R. (2001). Flexibility on the karyotype evolution in bitterings (Pisces, Cyprinidae). Genetica, 111: 423-432.

Uma, B. and Chandran, M. R. (2009). First report on the karyology of *Gymnocorymbus ternetzi* (Boulenger). Res. J. Cell and Mol. Biol., 3(2): 113-115.

Valente, G. T.; Vitorino, C. A.; Cabral-de-Mello, C. O.; Oliveira, C.; Souza, I. L.; Martins, C. and Venere, P. C. (2012). Comparative cytogenetics of ten species of cichlid fishes (Teleostei, Cichlidae) from the Araguaia River system, Brazil, by conventional cytogenetic methods. Compar. Cytogenet., 6(2): 163-181.

Valentim, F. C. S. (2001). Caracterização cromossômica em espécies de peixes da familia potamotrygonidae (Chnodrichthyes, Rajiformes) do médio rio Negro. Unpublished Ph.D. Dissertation. Universidade federal de. São Calos. São Carlos: 77 pp. (cited by Da Cruz *et al*., 2011).

Valentim, F. C. S.; Falcão, J. N.; Porto, J. I. R. and Feldberg, E. (2006). Chromosomes of three freshwater stingrays (Rajoformes, Potamotrygonidae) from the Rio Negro basin. Amazon. Brazil. Genetica, 128: 33-39.

Valenzuela, N.; Adam, D. C. and Janzen, F. J. (2003). Pattern does not equal process: Exactly when is sex environmentally determined?. The American Naturalst, 161(4): 676-683.

Valic, D.; Kapetanovic, D.; Zanella, D.; Mrakovčiĉ, M.; Tesḱeredžić, E.; Besendorfer, V.; Rábová, M. and Ráb, P. (2010). The karyotype and NOR phenotype of telestes ukliva (Cyprinidae). Folia Zool., 59(2): 169-173.

Van Eenennaam, A. L.; Murray, J. D. and Medrano, J. F. (1998). Synaptonemal complex analysis in spermatocytes of white sturegeon, *Acipenser transmotanus* (Pisces, Acipenseridae) a fish with very high chromosome number. Geneome, 41: 51-61.

Verma, J.; Lakra, W. S.; Kushwaha, B.; Sirajuddin, M.; Nagpure, N. S. and Kumar, R. (2011). Characterization of two freshwater silurid catfish using conventional and molecular cytogenetic techniques. J. Genet., 90(2): 319-322.

Wang, C. H. and Fedoroff, S. (1972). Banding in human chromosomes treated with trypsin, Nat. New Biol., 235: 52-54.

Waters, P. D.; Duffy, B.; Frost, C. J.; Delbridge, M. L. and Graves, J. A. M. (2001). The human Y chromosome derives largely from a single

autosomal region added to the sex chromosomes 80-130 million years ago. Cytogenet. Cell Genet., 92: 74-79.

Wichian, M. and Ryoichi, A. (1988). Karyotypes of bagrid catfishes, *Mystus wyckii* and *Bagroides macracanthus*, from Thailand. Bulletin Nat. Sci. Museum Tokyo. Series A, 14(2): 113-117.

Woram, R. A.; Gharbi, K.; Sakamoto, T.; Hoyheim, B.; Holm, L. E.; Naish, K.; Mc Gowan, C.; Ferguson, M. M.; Phillips, R. B.; Stein, J.; Guyomard, R.; Cairney, M.; Taggart, J. B.; Powell, R.; Davidson, W. and Danzmann, R. G. (2003). Comparative genome analysis of the primary sex-determining locus in salmonid fishes. Genome. Res., 13(2): 272-280.

Woznicki, P.; Jankun, M. and Luczynski, M. (1998). Chromosome polymorphism in *Salmo trutta* morpha *lacustris* from Poland, wdzydze lake population: variation in the short arm length of the chromosome eleven. Aquat. Sci., 60: 367-375.

Xu, D.; Lou, B.; Bertollo, L. A. C. and Cioffi, M. B. (2013). Chromosomal mapping of microsatellite repeats in the rock bream fish *Oplegnathus fasciatus*, with emphasis of their distribution in the neo-Y chromosome. Mol. Cytogenet., 6(12): 1-6.

Yano, C. F.; Bertollo, L. A. C.; Molina, W. F.; Liehr, T. and Cioffi, M. B. (2014a). Genomic organization of repetitive DNAs and its implications for male karyotype and the neo-Y chromosome differentiation in *Erythrinus erythrinus* (Characiformes, Erythrinidae). Compar. Cytogenet., 8(2): 139-151.

Yano, C. F.; Poltronieri, J.; Bertollo, L. A. C.; Artoni, R. F.; Liehr, T. and Cioffi, M. B. (2014b). Chromosomal mapping of repetitive DNAs in *Tripotheus trifurcatus* (Characidae, Characiformes): Insights into the differentiation of the Z and W chromosomes. PLOS ONE, 9(3): 1-6.

Yu, X.; Zhou, T.; Li, K. and Zhou, M. (1987). On the karyosystematics of cyprinid fishes and a summary of fish chromosomal studies in China. Genetica, 72: 225-236.

Yunis, J. J. and Sanchez, O. (1973). G-banding and chromosome structure. Chromosoma, 44: 15-23.

# Summary

The fish has a great economic and environmental importance, however the cytogenetic studies on them still few, especially the chromosomal studies of local fish, therefore current study aimed to identify the karyotype (Chromosomal type and number) and the sex determination system to a species of Iraqi freshwater fish, which is *Mystus pelusius* (Solander in Russell, 1794) fish in Iraq, as (20) fish (10) male and (10) female were hunted from Tigris river in Al-Kraat area of Bagdad city.The current study was done to investigate the karyotype, where the chromosomal preparations has been preparing from kidney cells according to (air-drying technique).

The results of the males and females kidney cells metaphase chromosomes study showed that the diploid chromosome number was 2n=32, which represents less chromosomal number recorded so far in the studied Iraqi fish, also the results showed that the males chromosomal types included 2n=(6m+13sm+7st+6t) and fundamental number FN=51, the females chromosomal type was 2n=(6m+12sm+8st+6t) and FN=50, also it observed that the first sub metacentric pair was the largest within the biarmed chromosomes.

The results revealed that the male (heterogamety) and the female (homogamety), accordingly it follows the sex determination system (XX/XY), as the (X) chromosome represented by medium sized submetacentric (sm) chromosome and (Y) chromosome by small sized subtelocentric (st) chromosome.

The results of Giemsa-banding technique (G-banding) showed that the rich regions with Guanine (G) and Cytosine (C) nitrogen bases called (G-light) bands and the rich regions with adenine (A) and thymine (T) called (G-dark) bands, thus it determined more accurately the sister chromosomes in *Mystus pelusius* males and females, more over this

technique described sex chromosomes better, it has been observed that most chromosomes in both sexes have (G-light) bands, as all (uniarmed) (telocentric, subtelocentric) autosomes pairs entirely contain (G-light) bands, while in the (biarmed) (metacentric, submetacentric) autosomes chromosomes the light bands concentrated in their telomeres, while the rest regions of these biarmed chromosomes have dark bands. Results of (G-banding) technique confirmed which was shown by the traditional pigmentation method (Giemsa staining technique) about the sex chromosomes discrimination, where this technique showed more accurately and better that the male was heterogamety through a observation of medium sized submetacentric (X) chromosome with (G-light) bands in telomric position of (short arm), while the subtelocentric (Y) chromosome was the larger within the uniarmed chromosomes and it was marked by being entirely dark and lack of (G-light) bands, while it was observed in females a medium sized submetacentric (sm) pairs with (G-light) bands in the telomeric of long and short arms which represents (XX) sex chromosomes, and according to this the females considered to be homogamety and the males heterogamety, and proved that the sex determination system in *Mystus pelusius* fish was a simple sex determination system of (XX/XY) type.

University of Baghdad
College of Education for Pure Science
(Ibn Al-Haitham)
Department of Biology

# Karyotyping Study of one Species of Iraqi Freshwater Fish

## ( *Mystus pelusius* )

*Thesis*

*Submitted to the College of Education for Pure Sciences / Ibn Al-Haitham of the University of Baghdad in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Master of Science*

*In*

*Biology / Zoology/ Cytogenetic*

*By*

**Hiba Hussein Resen**

**B.Sc. 2004, University of Baghdad**

*Supervised By*

**Dr. Asmaa Sami Ibrahim**

1437A.H. 2016 A.C