



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

# دراسة الهيئة 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 / وراثه خلوية

باشراف

**الدكتورة أسماء سامي ابراهيم**

شباط/2016م

جمادى الاولى/1437هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا 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 الهيئة 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/ وراثه 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

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعون ادناه ، نشهد  
اننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة ( دراسة الهيئة  
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 آتته 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.

وأقدم 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 السلطان 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 وصدق معي القول.

عبد

## الخلاصة

تمتلك الأسماك أهمية اقتصادية وبيئية كبيرة و بالرغم من ذلك لا تزال الدراسات الوراثية الخلوية حولها قليلة لاسيما الدراسات الوراثية الكروموسومية للأسماك المحلية، لذلك هدفت الدراسة الحالية التعرف على الهيئة الكروموسومية (Karyotype) (الطرز 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 الهيئة 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 الأذرع  $FN=50$ ، و لوحظ أيضاً أن الزوج تحت الوسطي السنتروميير (sm) Submetacentric 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 السنتروميير (sm) متوسط الحجم والكروموسوم (Y) بكروموسوم تحت نهائي السنتروميير (st) Subtelocentric صغير الحجم.

أظهرت نتائج استعمال تقنية حزم جمزا (G- Giemsa-banding technique

banding) المناطق الغنية بالقواعد النتروجينية الكوانين (G) Guanine والساييتوسين Cytosine

(C) والتي يطلق عليها بـ (حزم G الفاتحة) (G-light) و المناطق الغنية بالقواعد النتروجينية

الادينين (A) Adenine والثايمين (T) Thymine 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 الكروموسومية الجسمية

Autosomes الأحادية الذراع (Uniarmed) من نوع نهائية السنتروميير (Telocentric

(t) وتحت نهائية السنتروميير (st) تحتوي بأكملها على حزم (G-light)، أما الكروموسومات

الجسمية الثنائية الأذرع من النوعين وسطية السنتروميير (Metacentric (m) وتحت وسطية

السنتروميير (sm) فقد تركزت الحزم الفاتحة عند أطراف أذرعها الكروموسومية، في حين أن

المناطق الأخرى 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 السنتروميير (sm) متوسط الحجم مع ملاحظة الحزم (G-light) في موقع طرفي

للذراع القصير (Short arm) لهذا الكروموسوم، أما الكروموسوم (Y) من نوع تحت النهائي



السنتروميير (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 السنتروميير (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

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



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

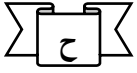


## قائمة الجداول

الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
33	الاعداد الكروموسومية الملاحظة في خلايا الكلية لعشرة ذكور من سمكة أبو الزمير العميق <i>Mystus pelusius</i>	1
34	الاعداد الكروموسومية الملاحظة في خلايا الكلية لعشرة اناث من سمكة أبو الزمير العميق <i>Mystus pelusius</i>	2

## قائمة الاشكال

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



## 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 <sub>s</sub> )	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	التعريف
Acrocentric	طرفية السنتروميير
Adenine	الادينين
Arginine	الارجنين
Autosomes pair	زوج كروموسومات جسمية
Banding techniques	تقنيات الحزم
Biarmed	ثنائية الأذرع
Centric fusions	الاندماجات المركزية
Centromere banding technique	تقنية حزم السنتروميير
CG-rich	الحزم الغنية بالكوانين و السابتوسين
Chromosomal aberrations	التغيرات (الانحرافات) الكروموسومية
Chromosomal manipulation	التلاعب بالكروموسومات
Chromosomal rearrangement	اعادة الترتيب الكروموسومي
Chromosomal sex differentiation	التمييز 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	سابتوسين
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 التصيبغ 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	تتميط الكروموسومات



المصطلح	التعريب
Larva	يرقات
Metacentric	وسطي السنتروميير
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 السنتروميير
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 السنتروميير
Subsequent chromosomes inversions	الانقلابات الكروموسومية المتتالية
Subtelocentric	تحت نهائي السنتروميير
Taxonomic	تصنيفي
Telocentric	نهائي السنتروميير
Telomeric	نهايات (أطراف) الأذرع الكروموسومية
Thermal effect	تأثير حراري
Thymine	ثايمين
Translocations	الانتقالات
Trypsin	تريسين
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 أخرى تربي كأسمك للزينة، فضلاً عن دور البعض منها في القضاء على ناقلات الأمراض واستعمالها كمؤشرات احيائية للكشف عن تلوث المياه (Coad, 2010; 2008 ; إبراهيم، 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 أولى 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 و انتاج 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) (Lieppman and Hubbs, 1969 ; Ida et al., 1978 ; Ganai et al., 2014 ; Luca et al., 2010 ; Uma and Chandran, 2009).

وقد تم اعتماد الكلية في الدراسة الحالية لأعداد الكروموسومات وتحديد الهيئة 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 واطافة 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 الهيئة الكروموسومية، إذ امتازت الهيئة 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 الهيئة 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 والطرز 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

### 1-2 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 Gosztanyi, 2000)، وتنتشر في المياه العذبة لأفريقيا وفي نهري دجلة والفرات في غرب آسيا وعلى امتداد جنوب وشرق آسيا حتى شمال اليابان وجنوباً إلى جزر الهند الشرقية (Berra, 2007)، تُكْر 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 لأفريقيا 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 *Mystus* Genus: الذي يضم 45 نوعاً من الأنواع المنتشرة في آسيا (Plamoottil and Abraham, 2013; Ng and Pethiyagoda, 2013; Coad, 2010).



تمتاز الأسماك القطبية العائدة لعائلة Bagridae بأنها نشطة ليلاً (Coad, 2010) والكثير منها مهم اقتصادياً لقيمتها 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 هو: *Mystus pelusius* (Solander in Russell, 1794)

**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 الأخرى، إذ تميزت الهيئة 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 إجمالي الأسماك المعروفة تصنيفياً لحد الآن (Singh *et al.*, 2013b ; Karuppasamy *et al.*, 2010).

لقد دُكر بأن الهيئة الكروموسومية للأسماك ليست ثابتة كما هو الحال في الإنسان وأنواع الحيوانات الأخرى، إذ لم تكن لديها هيئة كروموسومية قياسية، فالأسماك المختلفة كانت متنوعة من حيث الأعداد والطرز الكروموسومية حتى ضمن الأنواع العائدة للجنس نفسه (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 الهيئة الكروموسومية في التوصل إلى فهم وتفسير أفضل للعلاقات بين الأنواع (Artoni *et al.*, 2009).

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

بينت دراسة وراثية خلوية أن العدد الكروموسومي الثنائي (Diploid chromosome number) (2n) في رتبة الاسماك القطبية (Siluriformes) تراوح بين  $2n=28$  في *Liobagrus andersonii* من عائلة Bagridae (Kim et al., 1982) و  $2n=132$  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 القطبية (Siluriformes) وجود تنوع في العدد الكروموسومي تراوح بين  $2n=24$  في *Leiobagrus marginatus* (Khuda-Bukhsh et al., 1986; Alves et al., 2006; Yu et al., 1987) و  $2n=134$  في *Corydoras aeneus* (Rebello - Porto et al., 1992; Fenocchio and Bertollo, 1990; Borin and Martins-Santo, 1999; Oliveira et al., 1993).

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

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

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

تمثل عائلة Loricariidae أكبر العوائل السمكية في العالم والعائدة لرتبة الاسماك القطبية (Siluriformes) إذ تضم 690 نوعاً (Reis et al., 2003)، وصفت الهيئة الكروموسومية في 100 نوع حتى الآن (Alves et al., 2006 ; Oliveira and Gosztanyi, 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 إلى أن العدد الكروموسومي 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 السنتروميير (a) Acrocentric (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* و *iheringi* و *H. strigaticeps* العدد الكروموسومي نفسه  $2n=74$  مع تباين طرازها 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 والطرز الكروموسومي، إذ سجل العدد الكروموسومي  $2n=54$  لسمة *Neoplecostomus microps* وتضمن الطراز الكروموسومي  $(24m + 20sm + 10st)$  و  $FN=108$ ، والعدد  $2n=56$  في *Hatttia loricariformis* وطرز  $(16m + 22sm + 10st + 8a)$  و  $FN=106$ ، بينما كانت سمكة *Hyposomus affinis* ذات عدد كروموسومي  $2n=66$  وطرز  $(14m + 14sm + 12st + 26a)$  و  $FN=106$  وسمكة *Upsilidus sp.* ذات عدد كروموسومي  $2n=96$  وطرز  $(16m + 8sm + 72a)$  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 إعادة 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 *Mystus guilo* و  $2n=58$  (Kim et al., 1982) و *Liobagrus andersonii* (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).

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

المعلومات المتوفرة عن الهيئة 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  $2n=56\pm 2$  (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 للهيئة 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 *Mystus* ، *H. nemurus* ، *Hemibagrus menoda* ، *Coreobagrus ichikawai* و *Pelteobagrus nudiceps* ، *M. bocourti* ، *M. singaringas* ، *albolineatus* و *Sperata acicularis* والعائدة لعائلة Bagridae (Arai, 2011 ; Donsakul, 2000)، بينما الهيئة 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 السنتروميير Pericentric inversion في تمايز الهيئة الكروموسومية لهذه الأنواع كما عدت عملية اعادة الترتيب الكروموسومي آلية تطورية شائعة نسبياً ضمن عائلة Bagridae (Arai, 2011). إن عمليات تنوع الهيئة 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 الهيئة 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 al.* ; 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 الوراثة 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 الهيئة 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 splendens*، *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 الوراثة الخلوية للأسماك وذلك لكون طريقة العمل والمواد المستعملة بسيطة وغير مكلفة فضلاً عن



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

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) و (Singh et al., 2013a ; 2009). ومن هذه الدراسات دراسة أجريت لسمة *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) و *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

(Affonso and Galetti Jr., 2005; Valentim *et al.*, 2006; 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 *Pomacanthus paru*، *Mugil incilis* و *Prochilodus vimboides* و *Anisotremus virginicus* (Netto *et al.*, 2007).

## 4-2 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 Moore and Best, 2001 Varly, 1988; Thiriote-Quievreux, 2002).

إن تقنيات الحزم تسمح بالتحري بشكل أكثر دقة عن جوانب مختلفة في الهيئة

الكروموسومية ومن أهم تطبيقاتها تصنيف الكروموسومات وترتيبها بشكل أدق عند اعداد الهيئة 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 التصنيف Taxonomic (Smith,2006) ، دراسة تطور السلالات Phylogenetic (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) كذلك استعملت هذه التقنيات للكشف عن أنظمة تحديد الكروموسومات الجنسية (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 للفقرات 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) وهي كالاتي:

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* (Karahana 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 techniques (C-banding, G-banding) بكثرة (Ueda and Naoi, 1999). أوضحت الدراسات المعتمدة على تقنية الحزم C-banding technique أنها مفيدة في التحري عن تطور الهيئة 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 (Almeida et ; Ueda and Naoi, 1999). (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 السنتروميير 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 السنتروميير (Gold *et al.*, Acrocentric chromosomes  
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 سنتروميير العديد من  
كروموسوماتها (Gaffaroğlu *et al.*, 2013 ; Ocalewicz *et al.*, 2004). في حين اظهرت  
دراسة لسمكة *Cyprinion macrostomum* وجود هذه الحزم ضمن السنتروميير لجميع  
الكروموسومات (Gaffaroğlu and Yüksel, 2009).

ظهرت تقنية الحزم G-banding technique في عام 1971 وتم إجراء  
العديد من التحويلات على هذه التقنية من قبل عدة باحثين (Sumner *et al.*, 1971 ;  
Wang and Fedoroff, 1972 ; Korf *et al.*, 1976). 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 الهيئة الكروموسومية  
ذات العلاقة بعملية التنوع ويمكن من خلال المقارنة بين أنماط الحزم التعرف على العلاقات  
التطورية بين الأنواع (Ueda and Naoi, 1999 ; Bickmore, 2001 ; Kannan and  
Alwi, 2009 ; Qu *et al.*, 2012). كذلك استعملت هذه التقنية للتمييز بين المجاميع

السكانية (Karahana 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 لسمة *Colisa fasciatus* (Rishi, 1979) ولسمة *Hoplias malabaricus* (Bertollo et al., 1997). كما أجريت دراسات اخرى لسمة *Rhinomugil corsula* (Chakrabarti and Khuda-Bukhsh, 2000) وسمة *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 (Kubat et al., 2008; Ezaz et al., 2009; Yano et al., ; Cioffi et al., 2011; 2013 ; Kaiser and Bachtrog, 2010 ; 2014a). كما يمكن من خلالها التحري عن العمليات التطورية للجينوم (Bachtrog et al., 2011). تعد الأسماك لاسيما العظمية منها ذات أنظمة تحديد جنسي متنوعة ومتميزة مقارنة بالفقاريات الاخرى كاللبنائن 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) 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  
 الذكر (Silva *et al.*, 2012b ;Oliveira *et al.*, 2009 Foresti, 2001  
 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 وتنشيط عملية إعادة التركيب لزوج من الكروموسومات الجسمية تليها

Subsequent مجموعة من التغيرات الكروموسومية كالانقلابات الكروموسومية المتتالية chromosome inversions وTranslocations والانتقالات 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 ; Nanda *et al.*, 1990 ; Rice, 1987) Chromosomal sex differentiation ;Ozouf-Costa *et al.*,2004 ;Lippman *et al.*,2004 ; Ruiz-Carus, 2002 ; Gross *et al.* , 2009 ; Chen *et al.* , 2008 ; Parise-Maltempa *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 متميزة (متباينة الشكل) (Moreira-Filho *et al.*, ) Schwartz and ;Harvey *et al.*, 2002 ;Centofante *et al.*, 2002 ; 1993 (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 (Woram *et al.*, 2003) ; Peichel *et al.*, 2004 ; Ross *et al.*, ;(2009).

بالإمكان تلخيص أنظمة التحديد الجنسي في الأسماك بمجموعتين هما:



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

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. auritus* و *trifurcatus* إذ سجل وجود كروموسوم Z من نوع وسطي السنتروميتر Metacentric (m) وهو الأكبر ضمن الهيئة الكروموسومية مع كروموسوم W من نوع تحت وسطي السنتروميتر 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 السنتروميتر (m) كبير الحجم وكروموسوم Z من نوع طرفي السنتروميتر Acrocentric (a) صغير جداً. كما ذكر وجود هذا النظام في أسماك *Mystus tengara* (Rishi, 1973) *Loricariichthys platymetopon* (Scavone and Julio Jr., 1995)، *Thoracocharax stellatus* (Silva *et al.*, 2012a)، *Carnegiella marthae* (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 العائلة لعائلة *Apareiodon hasemani* كل الحالات التي ذكرت كروموسوم 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 السنتروميير (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 *Steindachneridion melanodermutum* و *Pimelodell sp.* (Heptapteridae) *Pungitius pungitius* وسمكة (Swarça *et al.*, 2007) (Pimelodidae) *Eigenmannia virescens* (Ross *et al.*, 2009) كما لوحظ وجود هذا النظام في أسماك *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 tietensis* من عائلة Loricariidae (Andreato *et al.*, 1992) و *Erythrinus* (C) (Cioffi and Bertollo, 2010). كما ذكر وجود هذا النظام في كل الأجناس العائلة لعائلة Amblycipitidae 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

(Rishi, 1976a) Beloutidae.

## 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 *Trematomus*، *Pagetopsis macropterus*، *Chionodroco hamatus*

*T. nicolai* و *T. newnesi*، *hansoni* (Ghigliotti et al., 2013) كما سجل هذا النظام

في أسماك *Eigenmannia*، (Mendes et al., 2012) *Brachyhypopomus gauderia*

، (Silva and Margarido, 2005) *Gymnotus* sp.، (Almeida-Toledo, 2000) sp.

*Oplognathus fasciatus*، (Cioffi et al., 2011) *Hoplias malabaricus* (D)

، (Xu et al., 2013) *Potamotrygon Falkneri*، (Da Cruz et al., 2011) وسمكة

(Cardoso et al., 2015) *Brachyhypopomus gauderio*.

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 *Ancistrus* و *Leporinus elongatus* (Parise-Maltempi et al., 2013) كما عُثر على نظام  $sp.2$  (De Oliveira et al., 2008) إذ تكون الإناث متباينة الأمشاج. مائل ومائل 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 (GSD) Genetic sex determination (Devlin and Nagaham, 2002) ; Ospina-Alvarez and Pifferrer, 2003 ; Valenzuela et al., 2003 ; Mank et al., 2006 ; 2008 ; Parise-Maltempi et al., 2013). فضلاً عن تأثير عوامل تحديد الجنس البيئية (ESD) Environmental sex determination 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 (TE) Thermal effect 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 (Pifferrer and Guiguen, 2008). Sex reversal كما يمكن أن يحدث انقلاب جنسي.

نتيجة التلوث البيئي، إذ أدى تعرض إناث سمكة البعوض *Gambusia affinis* (Mosquito fish) لفضلات مصانع الورق إلى تحولها 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

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

## 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 واطى 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 دارى الفوسفات الفسلجي Phosphate Buffer Saline (P.B.S):**

حُضِرَ المحلول بإذابة 8gm من كلوريد الصوديوم NaCl و 0.2gm من كلوريد البوتاسيوم KCl و 1.15gm من فوسفات الصوديوم احادي الهيدروجين  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  و 0.2gm من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  في 1000ml من الماء المقطر ويضبط تحت اس هيدروجيني 7.2 ويحفظ في  $4^\circ\text{C}$  (Allen *et al.*, 1977)

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

أعد المحلول المثبت أنياً عند اعداد التحضيرات الكروسومية 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 الكليسيروول عند درجة حرارة  $60^\circ\text{C}$  ووضع في حمام مائي هزاز لمدة ساعتين، ثم أضيف 66 ml من الكحول المثيلي المطلق ورج المحلول لمدة ساعة واحدة ثم رشح المحلول ونتاج الملون جمزا، بعدها حفظ في قناني معتمة لمدة أسبوع قبل الاستعمال.

ولاستعمال ملون جمزا يخفف كالاتي:

2-3 ml of Giemsa stain stock

2.5 ml of Absolute methanol



3-5 drops (5%) NaHCO<sub>3</sub> solution

80 ml of Distilled water

(Macgregor and Varley, 1988)

### 6. محلول التريسين Trypsin solution:

حضر بإذابة 0.01 gm من مسحوق التريسين في 100 ml من محلول داريء 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).

## 2-3 طرائق العمل Working Methods

### 1-2-3 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 أطوالها

القياسية بين 16 cm و 21.2 cm وأطوالها الشوكية بين 17.5 cm و 22.5 cm في حين تراوحت

أوزانها بين 50 gm و 113 gm.

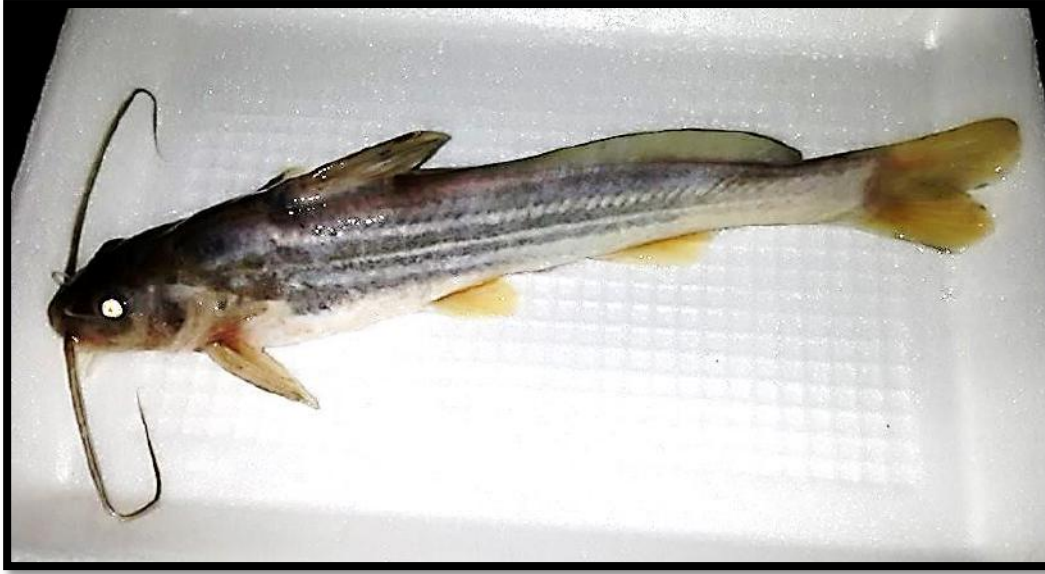
جمعت العينات من نهر دجلة في منطقة الكريعات بمحافظة بغداد ونقلت حية بأوعية

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 تمييط الكروموسومات Karyotyping:

أعدت التحضيرات الكروموسومية من خلايا الكلية لأسماك أبو الزمير العميق وفقاً لتقنية (Okonkwo and Bertollo *et al.*, 1978) Air-drying technique (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- سُرحت الأسماك وعزلت الكلى وغسلت بمحلول دارى الفوسفات الفسليجي (P.B.S) للتخلص من الدم الزائد.

3- هرس 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 الميثيلي المطلق: حامض الخليك الثلجي 3: 1)

المحضر أنياً وأجراء 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

الاخري لاستعمالها لاحقاً في تقنية اعداد الحزم (G- Giemsa banding technique

.banding)

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 كالاتي:

- 1- تم معالجة الخمس شرائح الحاوية على التحضيرات الكروموسومية غير المصبغة والمحفوظة لمدة شهرين مسبقاً بمحلول التريسين البارد ولمدة دقيقتين.
- 2- بعد ذلك أوقف عمل انزيم التريسين 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 العذبة (Coad, 2010) ، إن أغلب الأطوار الاستوائية لخلايا الكلية كانت ذات عدد كروموسومي ثنائي  $2n=32$  إذ لوحظ تكرار هذا العدد الكروموسومي في 538 طوراً استوائياً من مجموع 2500 خلية مفحوصة (وبنسبة 21.52 %) في الذكور وفي 497 طوراً استوائياً من مجموع 2500 خلية مفحوصة (وبنسبة 19.88 %) في الإناث و الذي يمثل العدد الأعلى نسبةً مقارنةً بالأعداد الكروموسومية الملاحظة في خلايا الكلية الأخرى 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 الأعلى 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): الأعداد الكروموسومية الملاحظة في خلايا الكلية لعشرة ذكور من سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius*

رقم السمكة	عدد الكروموسومات	عدد الخلايا المفوضة
1	250	63
2	250	64
3	250	59
4	250	38
5	250	44
6	250	49
7	250	51
8	250	53
9	250	60
10	250	57
المجموع	2500	538
		%21.52
		%3.76
		%7.24
		%6.64
		%6.28
		%7.28
		%7.88
		%8.48
		%6.36
		%6.24
		%6.24
		%7.16
		%4.92



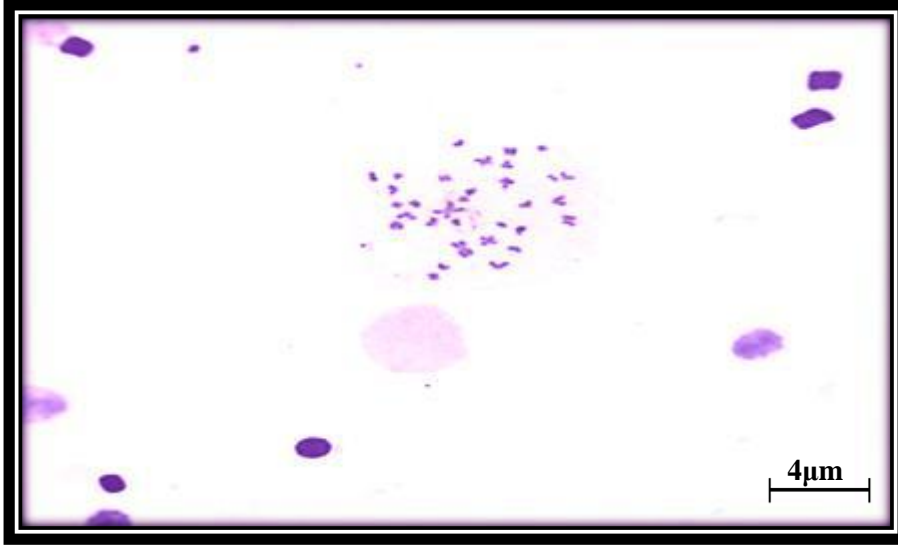


واعتماداً على هذه النتائج يمثل العدد 32 العدد الكروموسومي الثنائي ( $2n$ ) في كلا الجنسين لسمكة أبو الزمير العميق شكل ( $a-2$ ،  $a-3$ ) وهو يقع ضمن مديات العدد الكروموسومي لعائلة Bagridae والتي تنتمي إليها أسماك أبو الزمير العميق إذ يتراوح العدد الكروموسومي فيها بين  $2n=28$  في سمكة *Liobagrus andersonii* (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 السنتروميير Submetacentric (sm) في الأنثى مقارنة بالزوج الكروموسومي الجنسي غير المتماثل (XY) المكون من كروموسوم (X) تحت وسطي السنتروميير (sm) وكروموسوم (Y) تحت نهائي السنتروميير Subtelocentric (st) في الذكور الذي يعود إلى حدوث عملية إعادة الترتيب الكروموسومي Chromosomal rearrangement المتمثلة بالانقلاب ضمن السنتروميير Pericentric inversion خلال نشوء وتطور الكروموسومات الجنسية (Da Cruz et al., 2011) ويتفق عدد الأذرع الملاحظ في ذكور وإناث سمكة أبو الزمير العميق مع عدد الأذرع المسجل في عائلة Bagridae الذي يتراوح بين 26 - 116 (Choudhury et al., 1993). كما لوحظ من خلال النتائج أن الزوج تحت الوسطي السنتروميير (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).

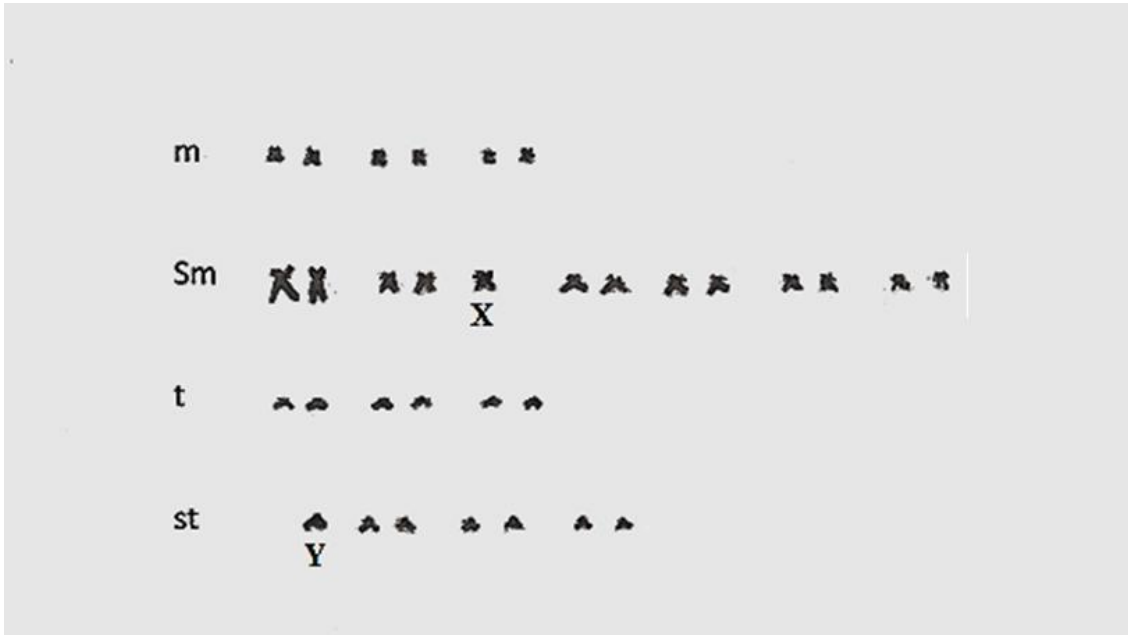
يتضح من النتائج أن العدد الكروموسومي لذكور وإناث أبو الزمير العميق هو أقل عدداً كروموسومياً مسجلاً في الأسماك العراقية المدروسة لحد الآن، إذ أوضحت دراسات محلية سابقة أن العدد الكروموسومي المسجل في سمكة الخشني *Liza abo* هو  $2n=48$  وبطراز  $(4m/sm+44st/t)$  (Balasem, 1999)، كذلك سجل العدد الكروموسومي 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).



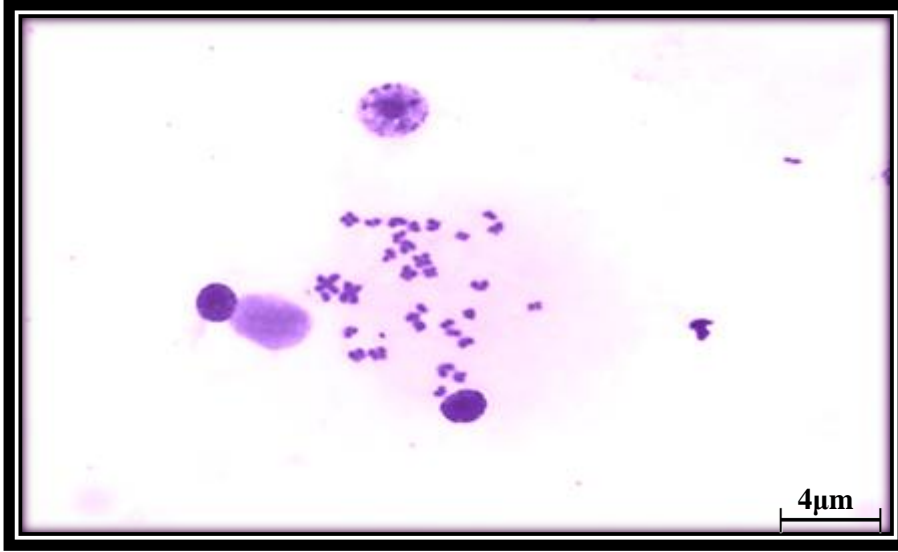
شكل (2 - a): كروموسومات الطور الاستوائي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق

*Mystus pelusius* باستخدام تقنية (1000X) Giemsa staining technique .

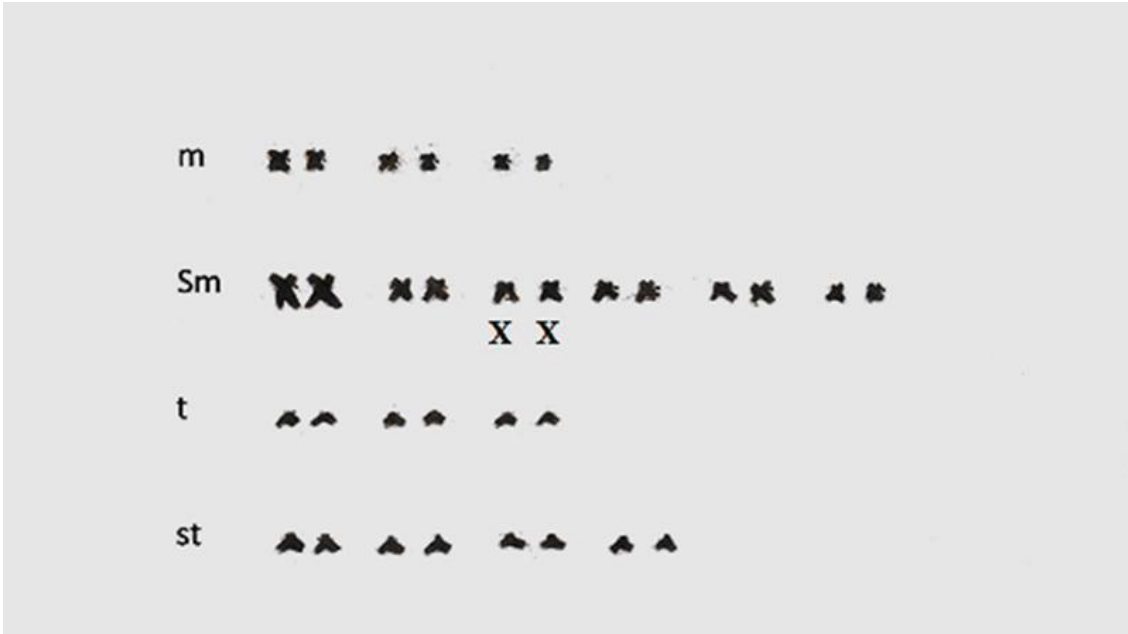


شكل (2 - b): الطراز الكروموسومي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق

*Mystus pelusius* باستخدام تقنية Giemsa staining technique .



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



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

دُكِرَ تنوع الأعداد الكروموسومية بين الأنواع العائدة لجنس *Mystus* (Karuppasamy et al., 2010). فقد بينت دراسة لثلاثة أنواع عائدة لهذا الجنس في تايلند 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 الهند (Singh, 2013b)، بينما سجل العدد الكروموسومي  $2n=54$  في سمكة *M. wyckii* في تايلند (Wichian and Ryoichi, 1988) وتكرر العدد نفسه في دراسة أخرى أجريت لسمكة *M. vittatus* (A) في الهند (Karuppasamy et al., 2010) في حين سجل العدد الكروموسومي  $2n=58$  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* والعائد لعائلة Bagridae يتراوح بين 54 - 60 (Singh et al., 2013b) بينما أظهرت نتائج الدراسة الحالية لسمكة أبو الزمير العميق أنها ذات عدد كروموسومي  $2n=32$  وهو يتفق مع العدد الكروموسومي المسجل لعائلة Bagridae الذي يتراوح بين 28 - 60 (Oliveira and Gosztanyi, 2000) واعتماداً على ذلك فإن العدد الكروموسومي 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 السنتروميير (Submetacentric (sm) ) و الحذف Deletion أو نوع من الانتقالات Translocations وحدث الانقلاب ضمن السنتروميير 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 لأنواع العائلة 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 Bhatnagar et al., 2014 ; and Khuda-Bukhsh, 2003) 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 لأنواع العائلة لعائلة Bagridae يمكن أن يمثل سمة مميزة للنوع أو يرتبط بتاريخها التطوري (Prado et al., 2012) إذ أن 45.7% من الأنواع العائلة لرتبة Siluriformes ومنها الأنواع العائلة 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 العائلة 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) أما سمكة *M. ngasep* فقد تضمن طرازها الكروموسومي (12m+22sm+8st+14t) و FN=90 (Singh *et al.*, 2013b) إن هذا التنوع الملاحظ في الطرز الكروموسومية وعدد الأذرع لأنواع العائلة 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 السنتروميير (Artoni and Bertollo, 2001; Fenerich *et al.*, 2004; Nirichio *et al.*, 2009; Esmaili *et al.*, 2011; Da Cruz *et al.*, 2014).

ويلاحظ أن أغلب الكروموسومات للأسماك العائلة لجنس *Mystus* ثنائية الأذرع ترافقها زيادة في عدد الأذرع (FN) و حتى الأنواع ذات العدد الكروموسومي المنخفض تكون ذات عدد أذرع (FN) عالٍ وهذا يدل على أن الأسماك العائلة 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 السنتروميير (m) ونهائية السنتروميير (t)، بينما لوحظ وجود اختلاف في عدد الكروموسومات تحت وسطية السنتروميير (sm) فهي 12 كروموسوماً في الإناث و 13 كروموسوماً في الذكور وكذلك في عدد الكروموسومات تحت النهائية السنتروميير (st) فهي 8 كروموسومات في الإناث و 7 كروموسومات في الذكور. مما يؤكد وجود الزوج الكروموسومي الجنسي المكون من كروموسوم (X) تحت وسطي السنتروميير (sm) مع كروموسوم (Y) تحت نهائي السنتروميير (st) وبناءً على ذلك عُدت الذكور متباينة الامشاج Heterogamety والإناث متماثلة الامشاج Homogamety (شكل 2-b، 3-b).



## 2-4 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 (Guanine (G) والسايروسين Cytosine (C) والمناطق الغنية بالقواعد النتروجينية الأدينين (Adenine (A) والثايمين (Thymine (T) من أجل تحديد الكروموسومات الشقيقة Sister chromosomes في ذكور و إناث سمكة أبو الزمير العميق *Mystus pelusius* (شكل a-4، a-5) 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 (Rønne, 1991 ; Centofante et al., 2002 ; 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 الأخرى، وإمكانية الحصول على حزم جيدة وثابتة فضلاً عن إمكانية حفظها لمدة طويلة وانخفاض تكلفة المواد المستعملة وسرعة العملية وهذه عوامل مهمة عند اختيار التقنية المناسبة للتحريات الوراثة الخلوية (Yunis and Sanchez, 1973 ; Seabright, 1971 ; Moore and Best, 2001). إذ لوحظ من خلال دراسة الهيئة الكروموسومية لذكور وإناث سمكة أبو الزمير العميق وكما هو موضح في (شكل b-4، b-5) أن معظم الكروموسومات ذات حزم G فاتحة (G-light) التي تكون غنية بالقواعد النتروجينية الكوانين (G) والسايروسين (C) (CG-rich) وهذا يتفق مع الميزة الشائعة في الأسماك وهي كثرة المناطق الغنية بالقواعد

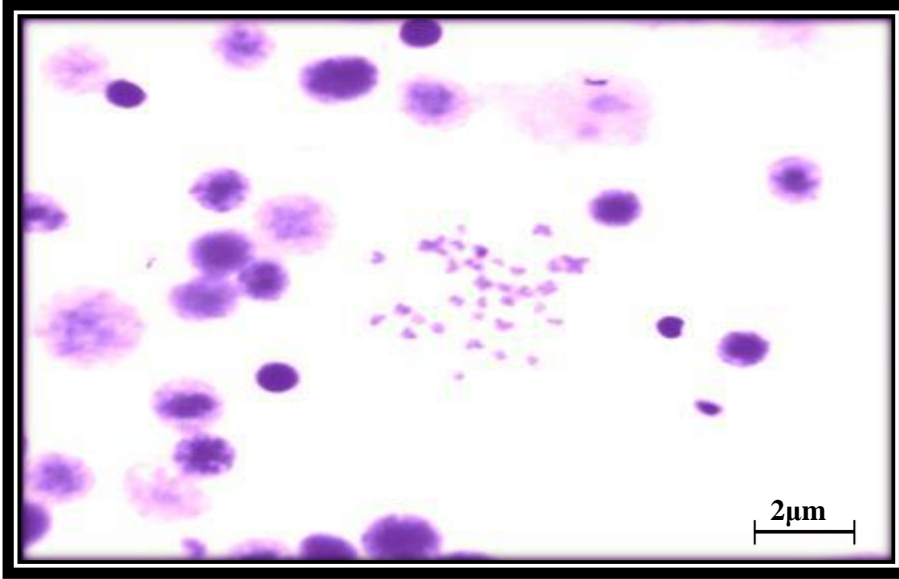
النتروجينية الكوانين (G) والسايوسين (C) (Verma *et al.*, 2011 ; Moore and Best, (C) 2001). إذ لوحظ في الهيئة الكروموسومية للذكور شكل (b-4) أن كل الأزواج الكروموسومية الجسمية Autosomes pairs الأحادية الأذرع Uniarmed من نوع نهائية السنتروميير Telocentric (t) وتحت نهائية السنتروميير Subtelocentric (st)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

السالبة بينما المناطق الداكنة غنية بالقواعد النتروجينية الادينين (A) والثايمين (T) إذ يتم هضم البروتينات الهستونية من نوع هستون (H<sub>1</sub>) 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 الهيئة 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 الهيئة 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 ; Singh et al., 2013b ; Supiwong et al., 2013).

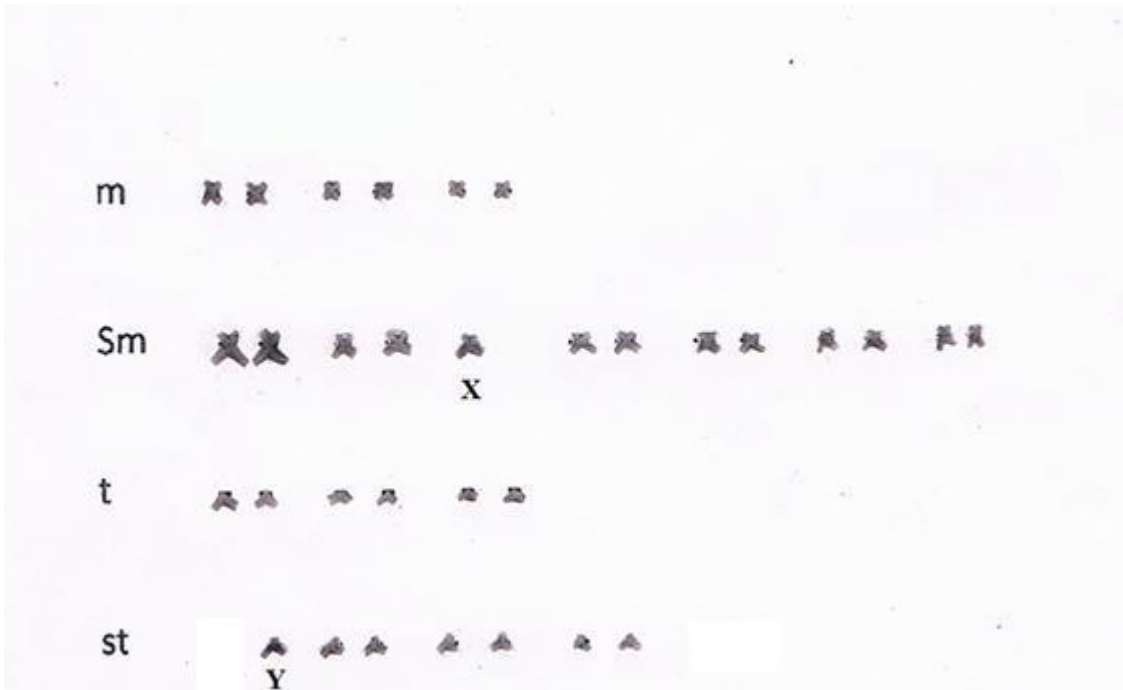
أكدت نتائج استعمال تقنية الحزم G-banding وكما هو موضح في شكل (b-4، b-5) النتائج التي تم الحصول عليها باستعمال تقنية التصيبغ التقليدية حول تمييز الكروموسومات الجنسية إذ أوضحت تقنية الحزم G-banding وبشكل أدق وأفضل أن الذكور متباينة الأمشاج Heterogamety وذلك من خلال ملاحظة وجود الكروموسوم الجنسي (X) من نوع تحت وسطي السنتروميير (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 السنتروميير (st) وهو الأكبر حجماً ضمن الكروموسومات الأحادية الأذرع إذ يتميز هذا الكروموسوم عن الكروموسومات الأحادية الأخرى بوجود الحزم الداكنة (G-dark)

باكملة وهذا يدل على أن كروموسوم (Y) غني بالقواعد النتروجينية الادنين (A) والثايمين (T)، في حين لوحظ في الإناث وجود زوج من الكروموسومات تحت وسطية السنتروميير (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.



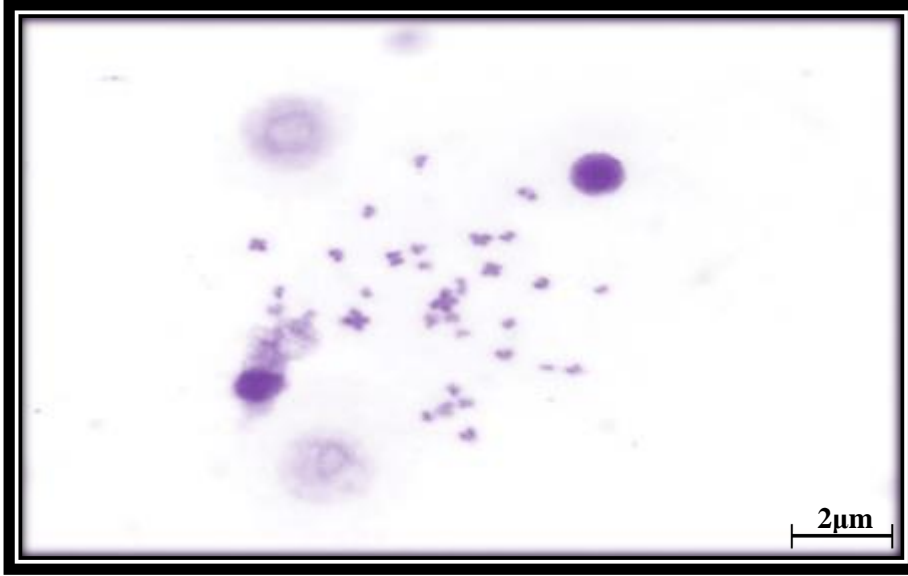
شكل (4 - a): كروموسومات الطور الاستوائي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق

*Mystus pelusius* باستخدام تقنية Giemsa – banding technique (1000X).



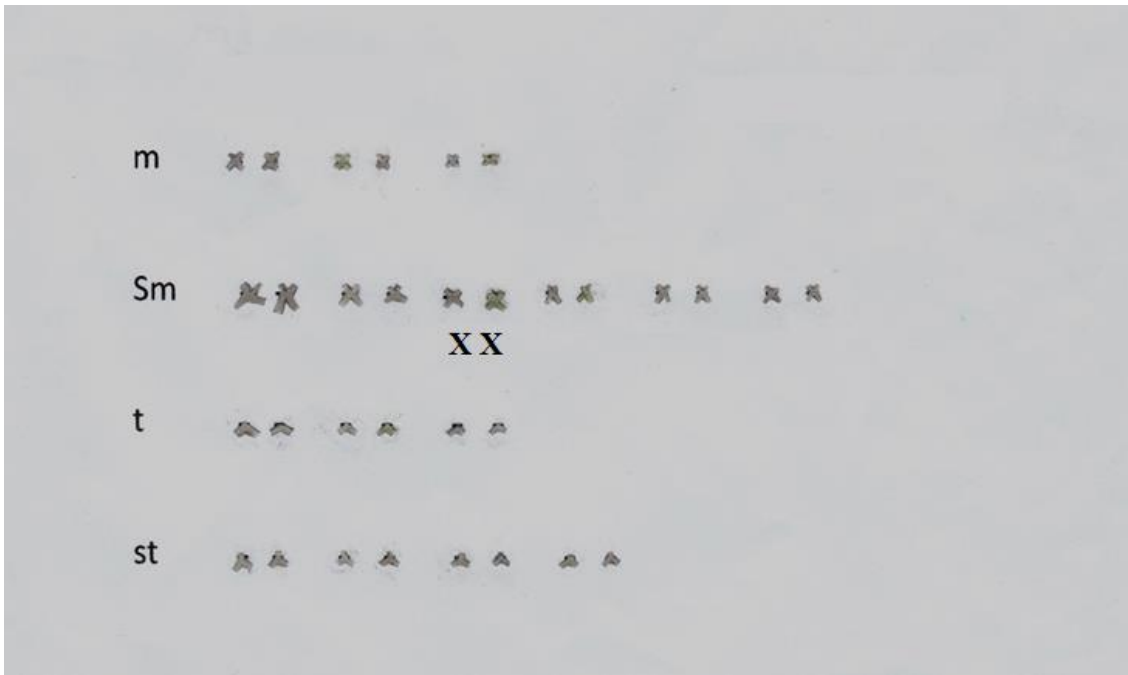
شكل (4 - b): الطراز الكروموسومي في ذكور سمكة ابو الزمير العميق

*Mystus pelusius* باستخدام تقنية Giemsa – banding technique.



شكل (5 - a): كروموسومات الطور الاستوائي في اناث سمكة ابو الزمير العميق

*Mystus pelusius* باستخدام تقنية Giemsa - banding technique (1000X).



شكل (5 - b): الطراز الكروموسومي في اناث سمكة ابو الزمير العميق

*Mystus pelusius* باستخدام تقنية Giemsa - banding technique

وبناءً على ما تقدم فقد أظهرت الهيئة 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) 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 إعادة 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  $2n=58$  والطرز 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 والطرز 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 (Almeida-Toledo and Foresti, 2001 ; De 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 إعادة 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 إعادة تنظيم الكروموسومات Chromosomes reorganization في مناطق تحديد الجنس (SD) Sex determining 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 (Supiwong *et al.*, 2013) *M. singaringas* ، *M. albolineatus* ، *M. bocourti* 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 الهيئة 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 لأنواع 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 (G) Guanine والسايروسين (C) Cytosine 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 للنبات، جامعة بغداد: 168 صفحة.
- العبيدي، حازم جواد؛ البياتي، ندير 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 ونسجية 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). A simplified 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 (*Carassius auratus*) and common carp (*Cyprinus 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* Lacépède, 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 relationships 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.
- Andreatta, A. A.; Almeida-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 *Pseudotocinclus 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.
- Balaseem, A. N.; Dali, F. A. and Mutar, A. J. (1994). Karyotyping of *Barbus sharpyrei*. *Cytobios*, 78: 177-180.

- Balasesm, A. N. (1999). *Liza abu* as a suitable biological indicator for water pollution. Iraqi J. Agric., 4: 161-165.
- Balasesm, A. N.; Mular, A. J. and Dali, F. A. (1999). Cytogenetic studies on Iraqi fishes *Garra ruffa* (Heckel, 1843). The Veterillarian, 9: 112-116.
- Balasesm, 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](http://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). *Characterizafao 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. Toxicol.*, 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 *Brachyhypopomus*. *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 vulnerable fish *Onychostoma lini* from China, the 7<sup>th</sup> 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<sub>3</sub> 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<sub>3</sub>-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<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> and Z<sub>1</sub>Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>2</sub>/Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>W<sub>1</sub>W<sub>2</sub>) 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 loricariidae (Siluriformes) and occurrence of the ZZ/ZW sexual system in *Hemiancistrus 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 38<sup>th</sup> 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](http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/species%20by%20family). (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). Illustrative 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 em populações 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). Evolution 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 endangered Caspian Salmon, *Salmo trutta caspius* (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 Verlag, 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 Scharl, 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<sup>th</sup> Indian science congress Varanasi, India*: 468 pp. (cited by Sukham *et al.*, 2014).

Manosroi, J.; Meng-Umphun, 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.; Fernández, J.; Toro, M. A.; Vera, M.; Pardo, B.; Millán, A.; Fernández, C.; Vilas, R.; Viñas, A.; Sánchez, 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 Jlio-Jnior, 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 Paran 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](http://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.; Schimid, 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, 4<sup>th</sup> 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). Supernumerary chromosomes, robertsonian rearrangement and multiple NORs in *Corydoras 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 *Diploknysus 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. Cienencia e Cultura, 28: 1171-1173. (cited by Rishi, 1979).
- Rishi, K. K. (1979). Somatic G-banded chromosomes of *Colisa fasciatus* (Perciformes: Belontiidae) 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 non-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.; Scharl, 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 elasmobranchs: 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). *Environ. 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, 3<sup>rd</sup> 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.
- Thiriou-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 família 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 (Rajiformes, 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 Naturalist*, 161(4): 676-683.
- Valic, D.; Kapetanovic, D.; Zanella, D.; Mrakovčić, M.; Teskeredžić, 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 sturgeon, *Acipenser transmontanus* (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 telomeric 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