

بررسی رشد و نمو جنینی در سنجاب های زرد ایرانی (*Spermophilus fulvus*) و مقایسه الکتروفوروزی پروتئین های سرم خون و سیتوژنتیکی این سنجاب با سنجاب خاکستری (*Spermophilus xanthoprimum*) (Mammalia: Rodentia) در ایران

محمد مرادی قرخلو

دانشگاه زنجان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، زنجان، ایران. moradi.g@znu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: در بین خانواده سنجاب ها (Sciuridae)، سنجاب های زرد ایرانی (*Spermophilus fulvus*)، طولانی ترین خواب تابستانی را دارند. در این سنجاب ها از اواخر مرداد ماه خواب تابستانی شروع شده و تا اواخر بهمن ماه این خواب ادامه پیدا می کند. هدف از این پژوهش بررسی رشد و نمو جنینی در سنجاب های زرد ایرانی (*Spermophilus fulvus*) و مقایسه الکتروفوروزی پروتئین های سرم خون و سیتوژنتیکی این سنجاب با سنجاب خاکستری (*Spermophilus xanthoprimum*) (Mammalia: Rodentia) در ایران است.

روش کار: جهت شناسایی گونه های سنجاب زمینی (*Spermophilus*) در ایران، تعداد ۴۸ سر (۲۸ سر نر و ۲۰ سر ماده) از شمال شرقی ایران (مشهد و بجنورد)، از غرب ایران (کردستان، همدان، قزوین و زنجان) و شمال غربی ایران (پیر احمد کندی، کلیسا کندی و روستای نادو) جمع آوری گردید و پروتئین های گلوبولین و آلبومین سرم خون همه نمونه ها با استفاده از تکنیک SDS-PAGE مورد آزمایش قرار گرفتند. مطالعات کاریولوژیکی نیز با روش Ford and Hamerton، از سلول های مغز استخوان نمونه ها، کاربوتایپ تهیه گردید. یافته ها: در اجرای این پروژه، با جمع آوری تعداد زیادی نوزاد از چندین لانه در اردیبهشت ماه، هم چنین بررسی رشد و نمو نوزادان در آزمایشگاه، مشخص گردید که این سنجاب ها، در سال یک بار زاد و ولد می کنند و در هر زایش ۵-۷ نوزاد به دنیا می آورند. نتایج حاصل از این مطالعات نشان داد که در محدوده رسوبی پروتئین های گلوبولین (Globulin = G)، نمونه های شمال شرقی و غرب ایران ۵ باند الکتروفوروزی و در نمونه های شمال غربی ایران ۱۱ باند الکتروفوروزی را ایجاد نمودند. در محدوده رسوبی پروتئین های آلبومین (Albumin = A) برای تمامی نمونه های شمال شرقی و غرب ایران، تنها یک باند و برای نمونه های شمال غربی ایران ۴ باند الکتروفوروزی را ایجاد کردند. برای قطعیت دادن نتایج حاصل از مطالعات الکتروفوروزی در پراکنش دو گونه از این سنجاب ها در محدوده جمع آوری شده از ایران، نتایج کاربوتایپی حاصل نشان داد، که نمونه های شرق و شمال شرقی ایران (مشهد و بجنورد) و غرب ایران (قزوین، همدان، زنجان و کردستان) دارای دیپلوئید کروموزوم ۲n=۳۶ عدد و در کاربوتایپ شمال غربی ایران (ماکو) دیپلوئید کروموزوم ۲n=۴۲ عدد شمارش گردید.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این دو روش الکتروفوروزی و کاریولوژیکی نشان داد که در سنجاب های زمینی ایران، گونه *Spermophilus fulvus* در شرق و شمال شرقی و غرب ایران و گونه *Spermophilus xanthoprimum* در شمال غربی ایران پراکنش دارند.

واژه های کلیدی: پروتئین آلبومین، پروتئین گلوبولین، سنجاب زرد، رشد و نمو.

مقدمه

Spermophilus cuvier نام گذاری شده است (۴، ۱). در کمیسیون بین المللی رده بندی جانوران، اصطلاح *Citellus oken* را برای نام گذاری این گونه پیشنهاد شد (۳). (Corbet (1978 اصطلاح فوق را در نام گذاری این گونه رد نموده و اصطلاح *Spermophilus*

سنجاب های زمینی برای اولین بار در سال ۱۷۶۶ به نام علمی *Mus linnaeus*، در سال ۱۷۷۸ *Citellus maximus*، در سال ۱۸۱۶، *Citellus oken*، در سال ۱۸۲۳، *Citellus fulvus* و در سال ۱۸۲۵،

را *Spermophilus xanthoprimum* معرفی کردند (۱۴). بنا به نظر Mitchell-Jones (۱۹۹۹) پراکنندگی گونه *Spermophilus xanthoprimum* در بیشتر کشورهای اروپایی از جمله جمهوری چک، اسلواکی، اتریش، مجارستان، رومانی، یوگسلاوی، بلغارستان و ترکیه ادامه یافته و از طریق شرق ترکیه به غرب ایران پراکنش یافته است (۱۲). هدف از این پژوهش بررسی رشد و نمو جنینی در سنجاب‌های زرد ایرانی (*Spermophilus fulvus*) و مقایسه الکتروفوروزی پروتئین‌های سرم خون و سیتوژنتیکی این سنجاب با سنجاب خاکستری (*Spermophilus xanthoprimum*) (Mammalia: Rodentia) در ایران است.

مواد و روش‌ها

برای تجزیه و تحلیل الکتروفوروزی پروتئین‌های گلوبولین (G-Protein) و آلبومین (A Protein) سرم خون، هم چنین مطالعات سیتوژنتیکی، ۴۸ سرسنجاب از گونه‌های *Spermophilus fulvus* و *Spermophilus xanthoprimum* از مناطق مختلف ایران با رعایت تمام قوانین اخلاق زیستی به طور زنده صید گردید (شکل ۱). نمونه‌هایی که از شیر مادر جدا شده بودند، پس از صید و تعیین سن، مجدداً به زیستگاه طبیعیشان رها سازی گردیدند. چند نمونه باردار را به آزمایشگاه منتقل نموده تا پس از زایش، رشد و نمو نوزادان آن‌ها به صورت روزانه مورد مطالعه و ارزیابی قرار گیرند. چند سر از نمونه‌های بالغ را با اتر بی‌هوش نموده و با سرنگ از قلب آن‌ها خون گیری به عمل آمد. بعد از لخته شدن خون، بخش رویی آن‌ها جدا شده به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم‌های جدا شده با ماده بافری حاوی ۱۰٪ Tris cl، ۲٪ SDS، ۱۰٪ Glycerol، ۵٪ Mercapto-ethanol، ۰/۰۱ درصد Bromphenol blue مخلوط شده و محلول به دست آمده به مدت ۳ دقیقه جوشانده و تا زمان انجام

cuvier را برای نام گذاری این سنجاب به کار برد. Bennet (۱۸۳۵) بر اساس مطالعات مورفولوژیکی که بر روی نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه ارزروم در کشور ترکیه انجام داده بود، پراکنش گونه *Citellus xanthoprimum* را در این کشور اعلام نمود (۱). Mursaloglu (۲۰۰۶) مطالعات فونستیک بر روی نمونه‌های ترکیه انجام داده و پراکنش دو زیر گونه *Citellus citellus*، *Citellus citellus thracicus* را در این کشور اعلام نمود (۱۴). Karabag (۲۰۰۳) (۷)، Osborn (۱۹۶۵) (۹) و Simsek (۱۹۶۴) (۸) تاکسونومی و بیولوژی این گونه را مورد بررسی قرار دادند و با توجه به نام گذاری‌های Scott Ellerman and Morrison (۲) و Corbet (۳) اصطلاح *Spermophilus citellus* را برای نام گذاری این گونه به کار بردند. در ایران Geoffroy (۱۹۹۹) نمونه‌هایی که Belanger از زنجان به دست آورده بود مورد مطالعه قرار داده و با نام *Spermophilus concolor* از این گونه اسم برده است (۶). Thomas (۱۹۰۷) با مطالعات مورفولوژیکی و بیومتریکی که بر روی نمونه‌های به دست آمده از مشهد انجام داد آن را یک زیرگونه دانسته و بنام *Citellus fulvus pathianus* معرفی کرده است (۱۸). Satunin (۲۰۰۸) بر اساس مطالعات مورفولوژیکی و مورفومتریکی بر روی نمونه‌های جمع‌آوری شده آن را به عنوان زیر گونه جدیدی به نام *Citellus fulvus hypoleucos* معرفی نموده است (۱۰). Kumerloeve (۱۹۷۵) (۸) و Wilson and Reeder (۱۹۹۳) (۱۹) در مروری بر گونه‌های پستانداران جهان، گونه *Spermophilus xanthoprimum* را به عنوان گونه جدید و معتبری دانسته و در کتاب پستانداران دنیا این گونه را ثبت نموده‌اند. Dogramaci (۱۹۹۴) کاریوتیپ سنجاب‌های زمینی شرق ترکیه را مورد آنالیز قرارداد و در مقایسه با فرانس‌های داخلی و خارجی گونه موجود در شرق ترکیه

از کبودر آهنگ (ایستگاه تحقیقاتی همدان) از یک لانه ۷ نوزاد تقریباً ۴۵ روزه صید شد. در هفته اول فروردین ماه ۱۳۹۶ از محوطه کشاورزی دانشگاه زنجان (ایستگاه تحقیقاتی زنجان) از یک لانه، یک ماده باردار صید شد که پس از سه روز ۵ نوزاد به دنیا آورد که یکی از نوزادان پس از چند ساعت مرد. وزن بدن و اعضای بدن (طول کلی بدن، طول بدن، طول دم، طول پای عقب، طول گوش) ۴ نوزاد باقی مانده با دقت یک هزارم گرم در توزین وزن بدن و با دقت یک صد میلی متر در اندازه گیری اعضای بدن اندازه گیری شدند. اندازه متوسط طول کلی بدن نوزادان آن ها ۶۰/۶ میلی متر، طول متوسط دم آن ها ۸ میلی متر، طول متوسط پای عقب ۸ میلی متر، طول متوسط گوش ۱ میلی متر و متوسط وزن بدن آن ها ۱۵ گرم اندازه گیری شد. در ۱۲ فروردین همان سال یک ماده باردار دیگری از آوج (ایستگاه تحقیقاتی قزوین) صید گردید که در ۱۷ فروردین، ۵ نوزاد در آزمایشگاه بیوسیستماتیک جانوری بدنیا آورد. اندازه متوسط آن ها به شرح زیر اندازه گیری شد: طول کلی بدن ۵۳/۷۵ میلی متر، طول دم ۷/۵ میلی متر، طول پای عقب ۷ میلی متر، طول گوش ۰/۵ میلی متر و وزن متوسط آن ها ۱۴/۴۹ گرم محاسبه گردید. یک جفت نر و ماده را که در هفته اول اسفند ۱۳۹۵ از محوطه کشاورزی پردیس دانشگاه فردوسی مشهد صید شده بودند در یک قفس مخصوص پستانداران کوچک قرار داده و با مواد مورد علاقه شان (برگ یونجه، مغزگردو، مغزیسته، سیب، هویج) تغذیه گردیدند. این نمونه ها پس از مدتی که خود را با شرایط آزمایشگاه بیوسیستماتیک جانوری سازش داده بودند با یک دیگر آمیزش کرده و نمونه ماده حامله را از نر جدا و به طور مرتب روزانه غذا داده شد. ماده حامله در آخر اردیبهشت ۱۳۹۶، ۴ نوزاد به دنیا آورد. سطح شکمی نوزادان هنگام تولد صورتی روشن اما سطح خلفی آن ها قهوه‌ای تیره و بدون پوشش مو بودند. بعد از ۱۵-۱۷ روز بدنشان به جز کف پاها و

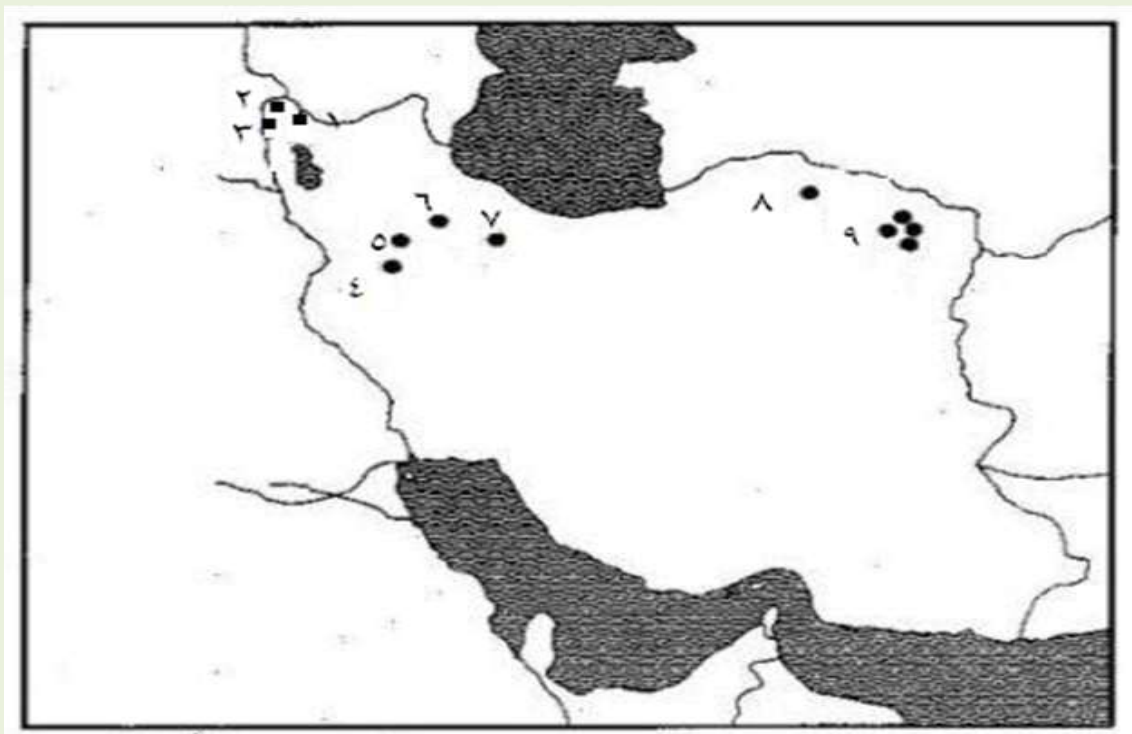
آزمایش الکتروفوروزی در دمای ۷۰- نگهداری گردید. برای تزریق (Loaded) نمونه‌ها به داخل ژل‌ها از روش Esen (۱۹۶۷) استفاده شد (۱۶). در این روش با استفاده از دستگاه الکتروفوروزی مدل Consort 863E با تیغه ژل عمودی، به میزان ۱۰ تا ۱۵ میکرولیتری به داخل ژل‌ها تزریق گردید. ژل‌های جدا کننده (۷/۵ درصد)، ژل‌های توده شده (۴ درصد) و SDS-Polyacrylamid به روش Esen تهیه گردید (۱۶). بافر مورد استفاده شامل M25% M192/0 Glycine, Tris، ۰/۱ درصد SDS با PH 3/8 بود. ولتاژ ثابت ۸ ولت بر سانتیمتر بر روی ژل‌های لود شده اعمال گردید بعد از انجام الکتروفوروز، ژل‌ها توسط محلول ۰/۲۵ درصد Crmassie brilliant blue R250 در ۹۰ میلی لیتر متانول- آب به نسبت ۱:۱ رنگ آمیزی شد و در محلول متانول- آب و اسید استیک (۴۵:۴۵:۱۰) تثبیت گردید. برای مطالعات سیتوژنتیکی (کاریولوژی) از سلول‌های در حال تقسیم مغز استخوان ران با استفاده از روش (Ford and Hamerton) (۱۹۹۸) (۵)، پس از بیهوش کردن جانور، به ازای ۱۰۰ گرم وزن، ۱ سی سی کلشیسین یک در هزار به صورت داخل صفاقی تزریق گردید تا سلول‌های در حال تقسیم میتوزی، رشته‌های دوک آن‌ها را بریده و تقسیم را متوقف سازد. سلول‌هایی که تقسیم شان متوقف شده بودند را هاروست کرده و با دستگاه پرتاب سلولی، کاریوتایپ سلول‌ها تهیه و از آن‌ها ایدئوگرام جهت شمارش دیپلوئید کروموزوم‌ها (2n)، شمارش بازوهای کروموزوم‌های اتوزومی (NFa)، شمارش تعداد کل بازوهای کروموزومی (NF) و تشخیص کروموزوم‌های جنسی X و Y براساس محل قرار گرفتن سانترومر آن‌ها استفاده گردید.

نتایج

بررسی رشد و نمو جنینی در سنجاب زرد ایرانی (*Spermophilus fulvus*)
در ۲۸ اردیبهشت ماه ۱۳۹۶ از اقبالیه (ایستگاه تحقیقاتی قزوین) از یک لانه ۵ نوزاد تقریباً ۲۵ روزه و در ۱۵ خرداد

کلی بدن آن‌ها ۲۳۴ میلی‌متر، طول سر و بدن ۱۸۷ میلی‌متر، طول دم ۵۲ میلی‌متر، طول پای عقب ۳۸ میلی‌متر، طول گوش ۷ میلی‌متر و وزن بدن ۲۷۲ گرم محاسبه گردید (جدول ۱). نوزادانی که در آزمایشگاه بیوسستماتیک جانوری نیز متولد شده بودند، به طور مرتب روزانه، هفتگی و ماهیانه تا رسیدن به سن بلوغ، با ترازوی دیجیتال (بادقت یک هزارم گرم) از نظر افزایش وزن بدن، رشد و نمو بعضی از اندام‌های استاندارد بدن (طول کلی بدن، طول سر - بدن، طول دم، طول پای عقب و طول گوش) با کولیس دیجیتال (بادقت یک صدم میلی‌متر) اندازه‌گیری و ثبت شدند (نمودارهای ۱ تا ۶).

دست‌ها از مو پوشیده شدند و پس از ۲۲-۲۵ روز چشم‌انسان باز شد و در داخل قفس مانند افراد بالغ از خود عکس‌العمل نشان دادند. پس از ۲۰-۲۵ روز دندان‌های پیشین پایینی و بالایی آن‌ها ظاهر و در روزهای ۲۵-۲۸ گوش‌هایشان باز و بعد از ۲۵-۳۵ روز کاملاً از شیر مادر جدا شده و از مواد غذایی موجود در قفس (یونجه تازه، هویج، تخم آفتاب‌گردان و گندم تازه جوانه زده) شروع به تغذیه نمودند. در ۲۱ خرداد ۱۳۹۶ دوتا از بچه‌ها مردند، ولی دو تای دیگر که یکی نر و دیگری ماده بود تا زمان بلوغ در آزمایشگاه نگهداری شده و به طور مرتب روزانه مورد اندازه‌گیری مورفومتریک قرار گرفتند. متوسط طول

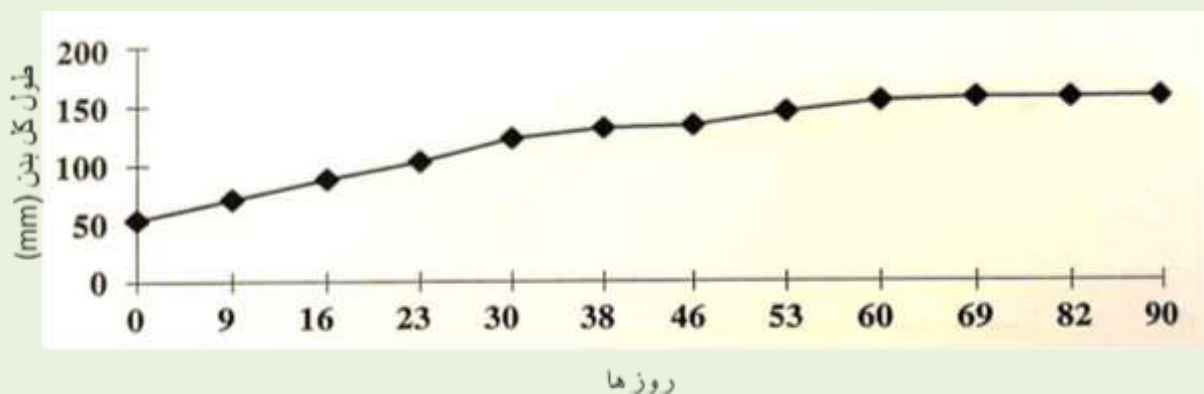


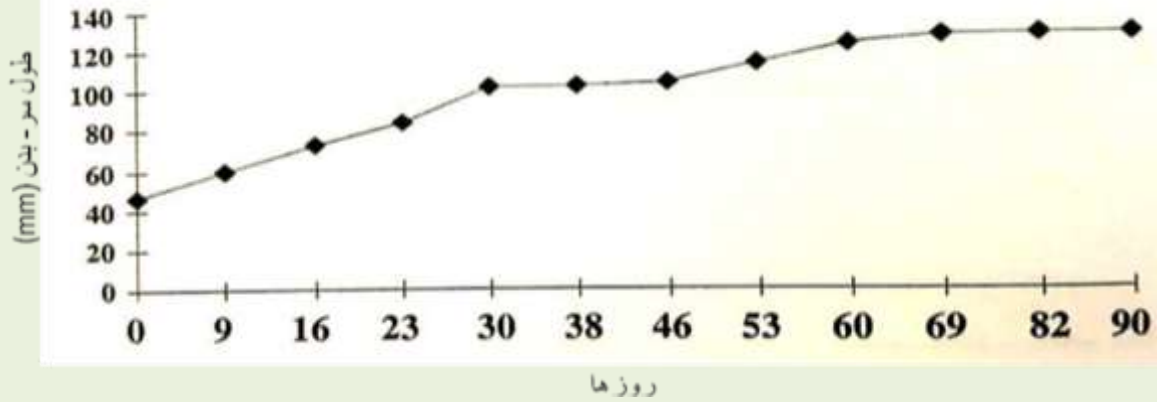
شکل ۱- پراکنش گونه‌های *Spermophilus fulvus* (●) و *Spermophilus xanthoprimum* (■) در ایران

۱ - پیراحمدکندی ۲ - کلیساکندی ۳ - روستای نادو ۴ - همدان ۵ - کردستان ۶ - زنجان ۷ - قزوین ۸ - بجنورد ۹ - مشهد

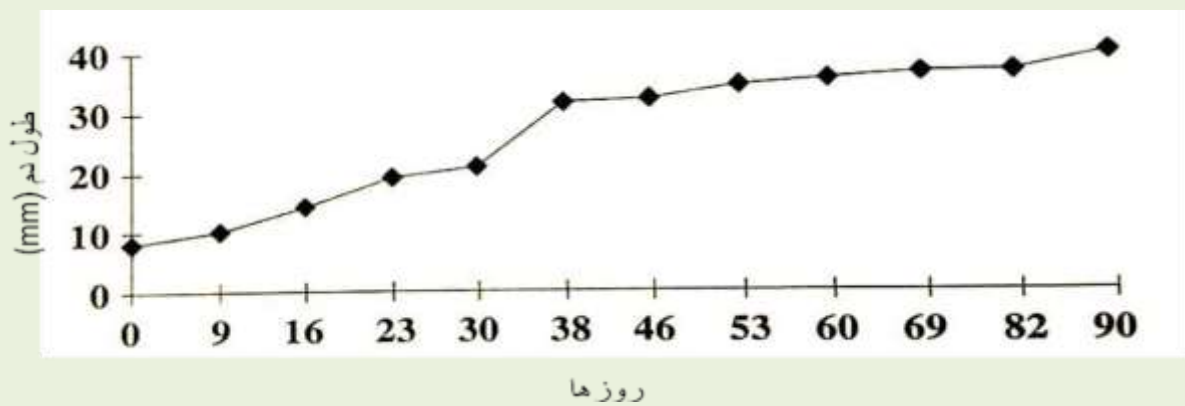
جدول ۱- تغییرات وزنی بدن (g) و اندازه مو رفومتریک (mm) نوزادان در موقع تولد و بعد از تولد

تاریخ	تعداد روزها	تعداد نوزادان	طول کلی بدن	طول سر و بدن	طول دم	طول پای عقب	طول گوش	وزن بدن
۲۸ اردیبهشت ۱۳۹۶	۰	۳ ♀	۶/۶	۵۲/۶	۸	۸	۱	۵
۲۹ اردیبهشت ۱۳۹۶	۱۲	۳ ♂	۸۲/۶	۷۱	۱۱/۶	۱۱	۱/۶	۱۲
۱۸ خرداد ۱۳۹۶	۲۳	۳ ♀	۱۱۳/۳	۹۰/۷	۲۲/۶	۳۰/۳۳	۳/۳۳	۳۱
۲۱ خرداد ۱۳۹۶	۲۶	۲ ♂	۱۳۲/۵	۱۰۰	۳۲/۵	۲۶/۵	۵/۵	۴۳/۵
۲۸ خرداد ۱۳۹۶	۳۳	۲ ♂	۱۵۹/۵	۱۲۰	۳۹/۵	۳۳/۵	۵/۵	۶۱/۵
۱۴ تیر ۱۳۹۶	۴۹	♂ ۱ ♀ ۱	۲۰۸	۱۶۱	۴۴	۳۴	۵/۷	۱۱۴
۲۲ تیر ۱۳۹۶	۵۷	♂ ۱ ♀ ۱	۲۱۴/۵	۱۶۵/۵	۴۶	۳۵	۶	۱۳۷/۵
۳۱ تیر ۱۳۹۶	۶۷	♂ ۱ ♀ ۱	۲۲۵	۱۷۴/۵	۴۸	۳۵/۵	۶/۱	۱۴۱
۱۶ مرداد ۱۳۹۶	۸۲	♂ ۱ ♀ ۱	۲۳۴	۱۸۶	۵۰	۳۶	۶/۴	۲۰۸
۴ شهریور ۱۳۹۶	۱۰۰	♂ ۱ ♀ ۱	۲۳۳/۵	۱۸۷	۵۱	۳۷	۶/۷	۲۲۶
۲۰ شهریور ۱۳۹۶	۱۲۷	♂ ۱ ♀ ۱	۲۳۴	۱۸۷	۵۲	۳۸	۷	۲۷۲
۵ آبان ۱۳۹۶	۱۶۲	♂ ۱	۲۳۶	۱۸۲/۵	۵۳/۵	۳۸	۷	۳۴۳/۵

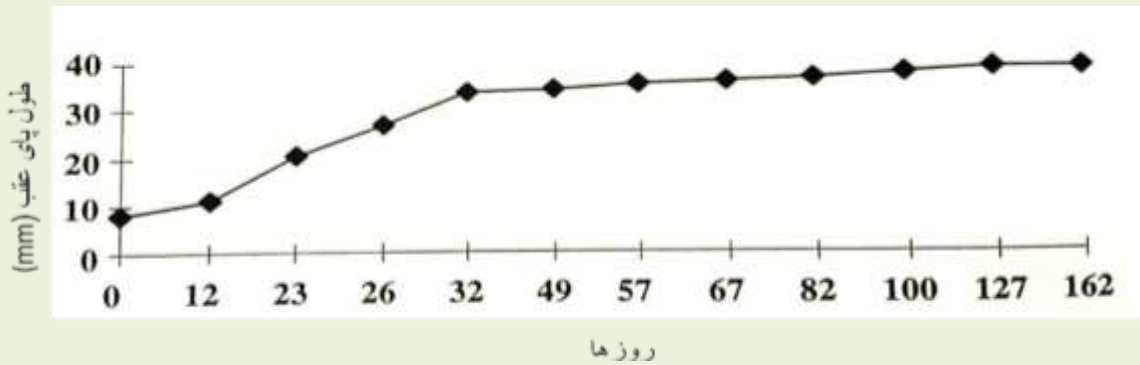
نمودار ۱- منحنی رشد و نمو طول کلی بدن نوزادان متولد شده *Spermophilus fulvus* در آزمایشگاه بیوسستماتیک



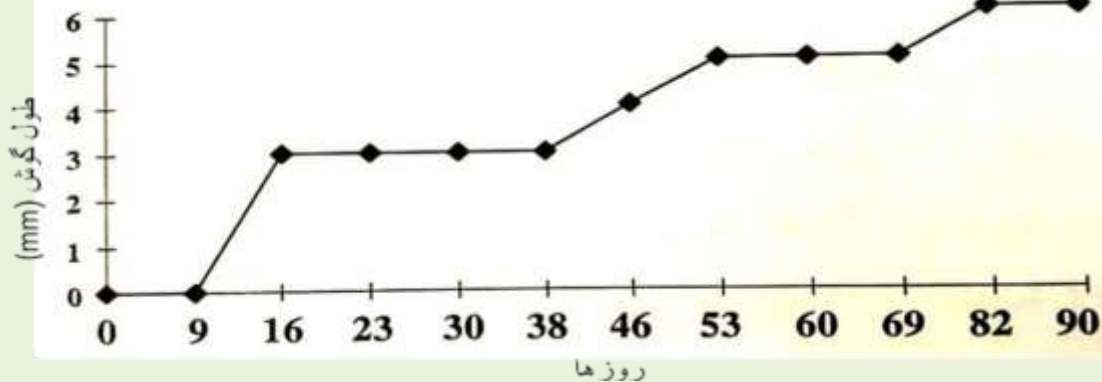
نمودار ۲- منحنی رشد و نمو طول سر - بدن نوزادان متولد شده *Spermophilus fulvus* در آزمایشگاه بیوسیتما تیک



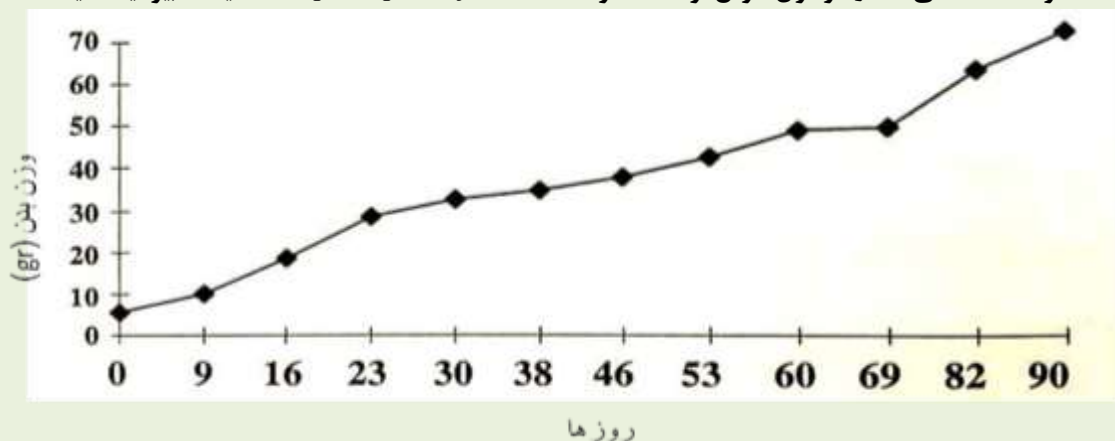
نمودار ۳- منحنی رشد و نمو طول دم نوزادان متولد شده *Spermophilus fulvus* در آزمایشگاه بیوسیتما تیک



نمودار ۴- منحنی رشد و نمو طول پای عقب نوزادان متولد شده *Spermophilus fulvus* در آزمایشگاه بیوسیتما تیک



نمودار ۵- منحنی رشد و نمو طول گوش نوزادان متولد شده *Spermophilus fulvus* در آزمایشگاه بیوسستماتیک



نمودار ۶- منحنی تغییرات وزنی بدن نوزادان متولد شده *Spermophilus fulvus* در آزمایشگاه بیوسستماتیک

آلبومین ($Albumin = A$) در تمامی نمونه ها تنها یک باند الکتروفورزی ایجاد شدند (شکل های ۲ و ۳).

نتایج حاصل از مطالعات سیتوژنتیکی (کاربولوژی)

در سنجاب های زمینی ایران

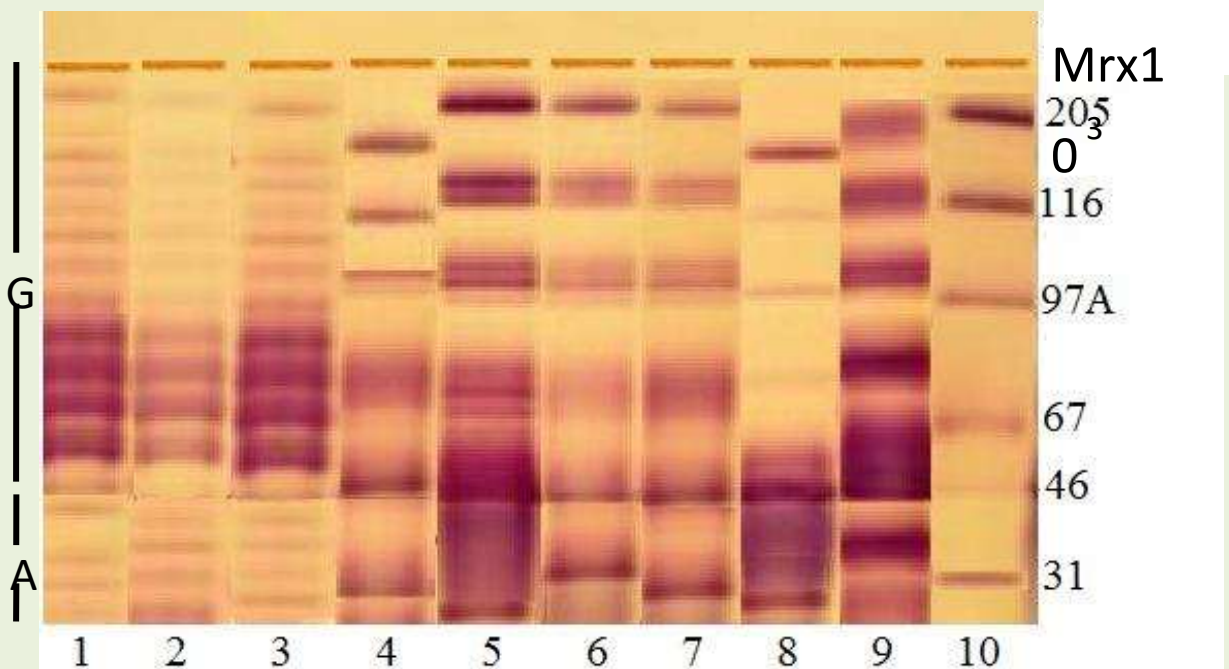
نتایج حاصل از کاریوتیپ های به دست آمده از نمونه های مناطق مختلف ایستگاه های تحقیقاتی از شرق و شمال شرقی (بجنورد و مشهد) و غرب ایران (قزوین، زنجان، کردستان و همدان) در این تحقیق نشان داد که تعداد دیپلوئید کروموزوم ها $2n = 36$ عدد، تعداد کل بازوهای کروموزومی $FN = 71$ عدد و تعداد بازوهای کروموزوم های اتوزومی $FNa = 68$ عدد شمارش گردید. کروموزوم X در ردیف ایدئوگرام کروموزوم ها، بزرگ ترین کروموزوم ها بوده و متاستریک (mc) و کروموزوم Y در ردیف ایدئوگرام کروموزوم ها، کوچک ترین کروموزوم ها و آکروستریک (ac) می باشد. نتایج حاصل مطالعات

نتایج الکتروفورزی از پروتئین های سرم خون

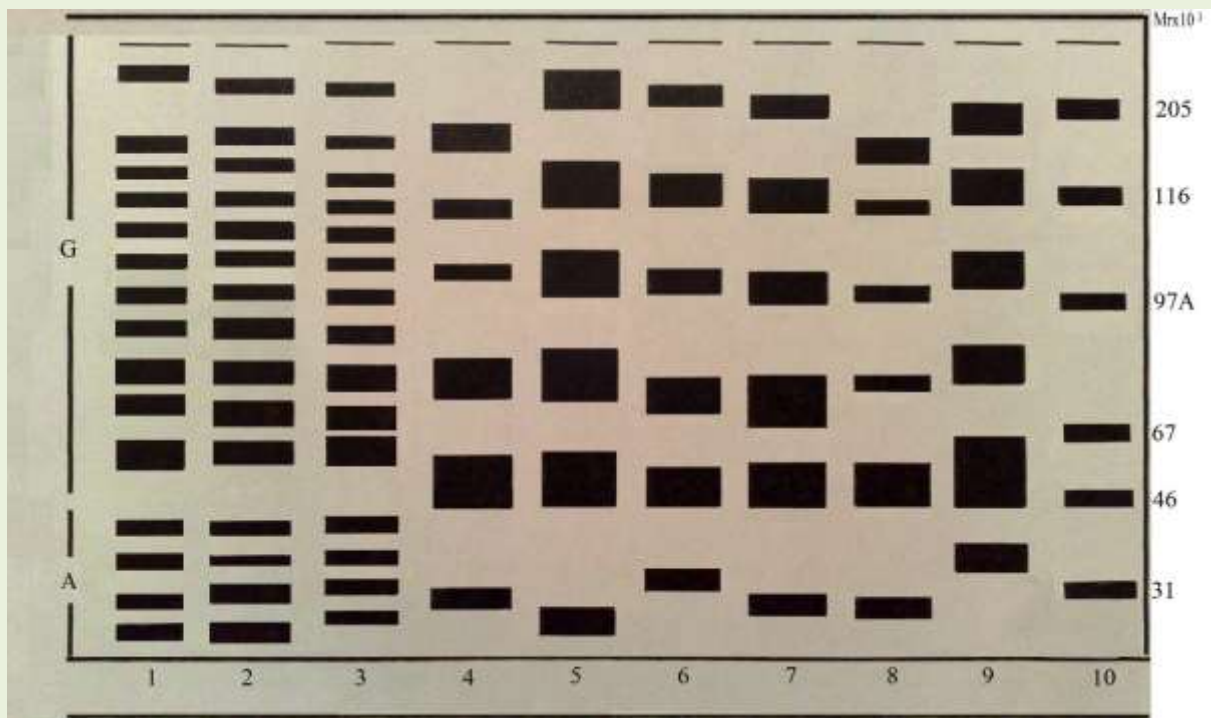
پروتئین های آلبومین ($Albumin = A$) و گلوبولین ($Globulin = G$) سرم خون نمونه های صید شده از شرق و شمال شرقی (بجنورد و مشهد) و غرب ایران (قزوین، زنجان، کردستان و همدان) و هم چنین نمونه های صید شده از شمال غربی ایران (پیراحمدی، کلیساکندی و روستای نادو) جهت شناسایی گونه های پراکنش یافته از جنس *Spermophilus* در ایران مورد آزمایش الکتروفورزی قرار گرفتند. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که باندهای ایجاد شده از پروتئین گلوبولین ($Globulin = G$) در تمامی نمونه های شمال غربی ایران ۱۱ باند و از پروتئین های آلبومین ($Albumin = A$) ۴ باند الکتروفورزی در روی ژل از خود نشان دادند و در نتایج حاصل از مطالعات الکتروفورزی نمونه های شرق، شمال شرقی و غرب ایران از پروتئین گلوبولین ($Globulin = G$) ۵ باند الکتروفورزی و از پروتئین های

اتوزومی 64 (FNa = 64) عدد می باشد. کروموزوم X در ردیف ایدئوگرام کروموزوم ها، با اندازه متوسط و متاستریک (mc) و کروموزوم Y در ردیف ایدئوگرام کروموزوم ها، کوچ کترین کروموزوم ها و آکروستریک (ac) می باشد، نتایج حاصل از مطالعات سیتولوژیکی نشان می دهد که گونه پراکنش یافته در شمال غربی ایران، گونه سنجاب خاکستری ایرانی (*Spermophilus xanthoprimum*) می باشد (شکل های ۷ و ۶).

سیتولوژیکی نشان می دهد، که گونه پراکنش یافته در شرق، شمال شرقی و غرب ایران، گونه سنجاب زرد ایرانی (*Spermophilus fulvus*) می باشد (شکل های ۴ و ۵). نتایج حاصل از کاریوتیپ های به دست آمده از نمونه های مناطق مختلف ایستگاه های تحقیقاتی از شمال غربی (پیراحمد کندی، کلیسا کندی و روستای نادو) در این تحقیق نشان داد که تعداد دیپلوئید کروموزوم ها 42 (2n = 42) عدد، تعداد کل بازوهای کروموزومی 67 (FN = 67) عدد و تعداد بازوهای کروموزوم های



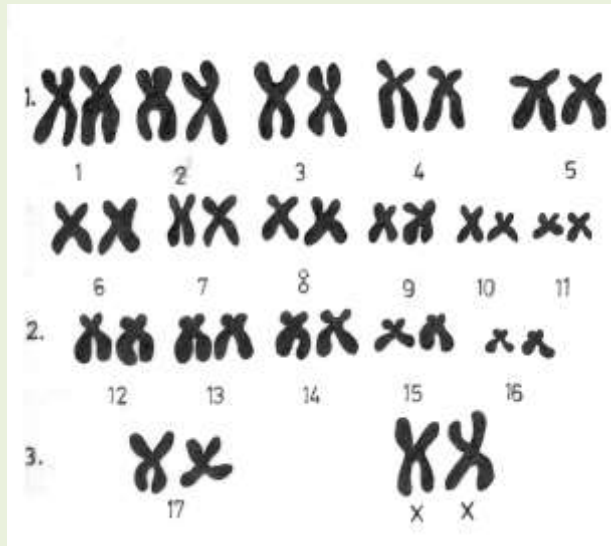
شکل ۲- باندهای الکتروفوروزی ایجاد شده پروتئین های گلوبولین ($G=$ Globulin) و آلبومین (Albumin) از سرم خون نمونه های شمال غربی ایران (۱- پیراحمد کندی ۲- کلیسا کندی ۳- روستای نادو) و نمونه های شرق، شمال شرقی (۴- بجنورد ۵- مشهد) و غرب ایران (۶- قزوین ۷- زنجان ۸- کردستان ۹- همدان) ۱۰- الگوی شاهد



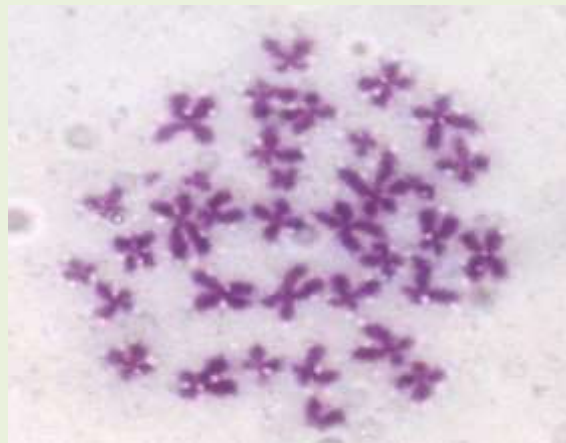
شکل ۳- پروفیل باندهای الکتروفوروزی ایجادشده پروتئین های گلوبولین (Globulin=G) و آلبومین (Albumin) از سرم خون نمونه های شمال غربی ایران
 (۱- پیراحمدکندی ۲- کلیساکندی ۳- روستای نادو) و نمونه های شرق، شمال شرقی (۴- بجنورد ۵- مشهد) و غرب ایران (۶- قزوین ۷- زنجان ۸- کردستان ۹- همدان) ۱۰- الگوی شاهد



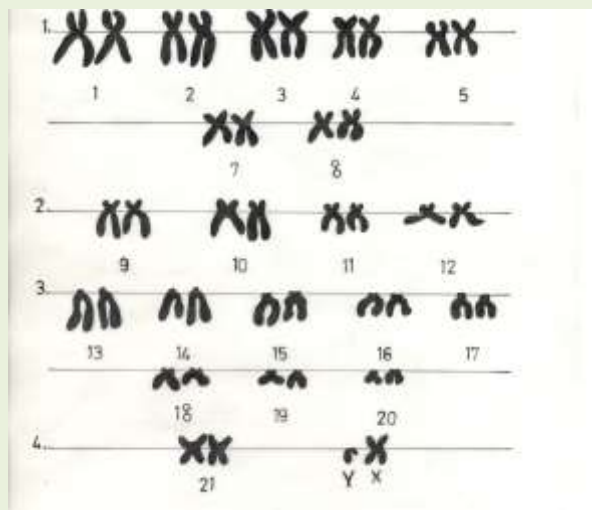
شکل ۴- کاریوتیپ *Spermophilus fulvus* نمونه های صید شده از اقبالیه (ایستگاه تحقیقاتی قزوین)



شکل ۵- ایدئوگرام *Spermophilus fulvus* نمونه های صید شده از اقبالیه (ایستگاه تحقیقاتی قزوین)



شکل ۶- کاریوتیپ *Spermophilus xanthoprimum* نمونه های صید شده از پیر احمد کندی (ایستگاه تحقیقاتی ماکو)



شکل ۷- ایدئوگرام *Spermophilus xanthoprimum* نمونه های صید شده از پیر احمد کندی (ایستگاه تحقیقاتی ماکو)

با جثه کوچ کتر، کاملاً با یکدیگر متفاوت هستند، جهت بررسی این تفاوت مورفولوژیکی، تمامی نمونه های صید شده در این پروژه مورد مطالعات الکتروفورزی و سیتوژنتیکی قرار گرفتند. نتایج حاصل از مطالعات الکتروفورزی پروتئین های گلوبولین (Globulin=G) و آلبومین (Albumin) سرم خون نمونه های شرق و شمال شرقی و غرب ایران برای گونه *Spermophilus fulvus* به ترتیب ۵ و ۱ باند و در نمونه های شمال غربی ایران ۱۱ و ۴ باند برای گونه *Spermophilus xanthoprimum* ایجاد نمودند (شکل های ۲ و ۳). این نتایج با مطالعات الکتروفورزی حاصل در روی نمونه های ایران و ترکیه کاملاً مطابقت دارد (۱۶). نتایج حاصل از مطالعات سیتوژنتیکی (کاریولوژی) در روی نمونه های صید شده از شرق، شمال شرقی و غرب ایران با تعداد دیپلوئید کروموزوم ها برای گونه *Spermophilus fulvus* 36 عدد و در نمونه های صید شده از شمال غربی ایران با تعداد دیپلوئید کروموزوم ها 42 ($2n = 42$) عدد برای گونه *Spermophilus xanthoprimum* کاملاً مطابقت دارد (۱۳). در اجرای این پروژه، با جمع بندی مطالعات میدانی و آزمایشگاهی بر روی زاد و ولد سنجاب های زرد ایرانی و مقایسه باندهای حاصل از پروتئین های گلوبولین (Globulin=G) و آلبومین (Albumin) سرم خون نمونه ها در مطالعات الکتروفورزی و تعداد دیپلوئید کروموزوم ها و نتایج حاصل از مطالعات کاریولوژیکی در این پروژه نشان می دهد، اولاً سنجاب های زرد ایرانی در سال یک بار زاد و ولد می کنند، ثانیاً این مطالعات نشان می دهد که از سنجاب های جنس *Spermophilus* در ایران دو گونه پراکنش دارند. گونه *Spermophilus fulvus* در شرق، شمال شرقی و غرب ایران که احتمالاً از طریق افغانستان و یا ترکمنستان وارد شرق و یا شمال شرقی ایران شده و سپس به طرف استان های مرکزی و غرب ایران گسترش یافته اند. در طی گذشت زمان نمونه

بحث و نتیجه گیری

۱- رشد و نمو جنینی در سنجاب های زرد ایرانی (*Spermophilus fulvus*) در اجرای این پروژه، تجربیات آزمایشگاهی و مطالعات فیلدی نشان داد که سنجاب های زرد ایرانی بر خلاف اکثریت تاکسون های راسته جونندگان که در شروع فصل سرما، برای جلوگیری از به هدر رفتن انرژی به خواب زمستانی می روند و با افزایش دما در شروع فصل بهار از خواب زمستانی بیدار می شوند، سنجاب های زرد ایرانی در اواخر مردادماه که دمای محیط به بالاترین حد گرمای خود می رسد به خواب می روند و در اواخر بهمن ماه که دمای محیط در بالاترین حد سرما می باشد از خواب بیدار می شوند. بنابراین سنجاب های زرد ایرانی با دریافت تابش نور خورشید به جای خواب زمستانی به خواب تابستانی می روند. هم چنین سن نوزادان صید شده در مطالعات میدانی و مشاهدات تجربی در زایش ماده های باردار در آزمایشگاه نشان می دهد که این جونندگان پس از مدت کوتاهی بیدار شدن از خواب، نروماده بالغ شان با یک دیگر جفت گیری نموده و پس از ۴۰ تا ۴۵ روز نوزادان خود را به دنیا می آورند. کنترل روزانه، هفتگی و ماهیانه رشد و نمو نوزادان (نمودار های ۱-۶) نیز نشان می دهد که: دوران بارداری در این سنجاب ها نسبت به دیگر تاکسون های جونندگان بسیار طولانی بوده، رشد و نمو کند نوزادان نیز نشان می دهد سنجاب های زرد ایرانی در سال فقط یک بار زاد و ولد دارند و به طور متوسط در هر زایش ۵-۷ نوزاد به دنیا می آورند (۱۶).

۲- تشخیص گونه ای و پراکنش گونه های جنس *Spermophilus* در ایران

با توجه به این که نمونه های صید شده از شرق و شمال شرقی و غرب ایران از نظر ریخت شناسی (مورفولوژی) زرد طلایی با جثه بزرگ با نمونه های صید شده از شمال غربی ایران به رنگ خاکستری و

های استان‌های مرکزی ایران با گسترش مراکز صنعتی، کشاورزی، راه‌سازی، خطوط راه آهن و مناطق مسکونی به تدریج از بین رفته و تنها چند کلنی از آن‌ها در استان‌های شرقی و غربی ایران باقی مانده است. گونه

های استان‌های مرکزی ایران با گسترش مراکز صنعتی، کشاورزی، راه‌سازی، خطوط راه آهن و مناطق مسکونی به تدریج از بین رفته و تنها چند کلنی از آن‌ها در استان‌های شرقی و غربی ایران باقی مانده است. گونه

منابع

1. Bennet, E.T. (1835). Mammals of the neighborhood of Trebizond and Erzeroum, Porc. Zool. Sci. London, 3;89-90.
2. Corbet, G. B. (1978). The mammals of the palearctic region. A taxonomic review. British museum. N.H. London and Ithaca, 1-314.
3. Dogramaci, S., Kefelioglu, H., Gunduz, I. (1994). Turkiye Spermophilus (Mammalia: Rodentia) cinsinin karyolojik analizi. Turkish Journal of Zoology, 18; 167-170. Ankara.
4. Ellerman, J. R., Morrison, S. (1951). Checklist of palearctic region and Indian mammals 1758 to 1946. London, 1-808.
5. Esen, A. (1978). Simple method for quantitative, Semiquantitative, and qualitative assay of protein. -Analytical Biochemistry, 89; 264-273.
6. Ford, C.E., Hamerton, J.L. (1998). A colchicine-hypotonic-citrate squash sequence for mammalian chromosomes. Stain Technol, 31; 247-251.
7. Geoffroy, I. (1999). In belanger, voyage auz indes orientalis paris.
8. Karabag, T. (1953). Ankara dolaylarindaki Tarla sincaplarinin (Citellus, larin) Biyolojisi ve Bunlarla Savas Usulleri. Ankara. Univ. Zir. Fak. Yay. 48-68.
9. Kumerloeve, H. (1975). Die saugtiere (Mammalia) der Turkei- Veroffentlichungen der zoologischen. Staatssammlung Munchen 18; 69-225. Munich.
10. Osborn, D. (1964). The porcupine, Beaver, Jerboas and dormice of Turkey. (Mammalia: Rodentia), 28;522-522.
11. Satunin, K. A. (1909). Ueber einen neuen Ziesel aus Nord- Parisa. Ann. Mus. Zool. St. Peresb., 14;1.
12. Simsek, N. (2008). Turkey tarla sincaplari. *Spermophilus citellus* (L. 1766). (Mammalia: Rodentia) Alt turlerinin ayirt edilmesinde Baculumun onem. Doga, TR. Bio. D 10(3); 386-390.
13. Mitchell-Jones, A. J., Amori, G., Bogdanowicz, W., Krystufek, B., P. J. H. Relinders, F. Spitzenberger, M. Stubbe, J. M. B. Thissen, V. Vohralik and J. Zima (1999): The Atlas of European Mammals.- London.
14. MORADI, M., VAHDATI, A. (2005). Journal Science University of Tehran (in the press).
15. Mursaloglu, B. (2006). Statistical significance of secondary sexual variation in *Citellus citellus* (Mammalia: Rodentia) and new Subspecies of *Citellus* (Mammalia: Rodentia) and new Subspecies of *Citellus citellus* from Turkey. Comm. Fac. Sci. Unive. Ankara. C., 9; 252-273.
16. Reyhan, C., Mohammad, M., Sakir, O. (2006). Distribution and electrophoretic aspects of blood-serum proteins of the genus spermophilus (Mammalia:Rodentia)in Eastern Turkey and Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences, 9 (3); 519- 521.
17. Reyhan, C., Özkurt, Ş. (2002). Electrophoretic comparison of blood-serum proteins of *Spermophilus citellus* and *Spermophilus xanthoprymnus*(Mammalia: Rodentia) in Turkey. Zoology in The Middle East, 25; 5-8.
18. Thomas, O. (1907). on mammals from northern persia presented to the national museum by Col, A. C. Bailward. Ann, Mag, Nat, Hist. (Ser. 7), 20;196-202.
19. Wilson, E., Reeder, M. N. (1993). Mammals Species of the world. Secon Ed- Washington and London.428

Evaluation of Embryonic Development in Yellow Ground Squirrels (*Spermophilus fulvus*) and Electrophoresis Comparison of Serum and Cytogenetic Proteins of These Squirrels with Gray Squirrels (*Spermophilus xanthoprimum*) (Mammalia: Rodentia) in Iran

M. Moradi Gharkhloo

I. Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan. Iran. moradi.g@znu.ac.ir

Received: 2021.29. 11

Accepted: 2022.5. 2

Abstract

Introduction & Objective: Among the squirrel family (Sciuridae), the yellow ground squirrel (*Spermophilus fulvus*) has the longest summer sleep. Summer sleep of these squirrels begins in late winter and continues until late February. The aim of the present study was Evaluation of Embryonic Development in Yellow Ground Squirrels (*Spermophilus fulvus*) and Electrophoresis Comparison of Serum and Cytogenetic Proteins of These Squirrels with Gray Squirrels (*Spermophilus xanthoprimum*) (Mammalia: Rodentia) in Iran.

Material and Method: In this project, a large number of babies were collected from several nests in May, and their development was examined in the laboratory. In this way, it was found that these squirrels give birth once a year, with 5-7 babies per calving. 48 squirrels (28 males and 20 females) were collected from northeastern Iran (Mashhad and Bojnourd), western Iran (Kurdistan, Hamedan, Qazvin, and Zanjan), and northeastern Iran (Pir Ahmad Kandī, Kelisay-e Kandy, and Nadu village) to identify the species of ground squirrel (*Spermophilus*). The globulin and albumin proteins of all samples were first tested using the SDP-PAGE technique.

Results: According to the results, in the sedimentary range of globulin proteins (G = Globulin), the samples collected from northeastern and western Iran formed 5 electrophoretic bands and those collected from northwestern Iran formed 11 electrophoretic bands. Besides, in the sedimentary range of albumin proteins (A = Albumin), the samples collected from northeastern and western Iran formed only one electrophoresis band and those collected from northwestern Iran formed 4 electrophoretic bands. During the karyological studies according to the method proposed by Ford and Hamerton, karyotypes were obtained from bone marrow cells to confirm the results of electrophoresis studies on the distribution of two of these squirrels in the collection areas in Iran. The results indicated that the karyotype of the samples collected from northeastern Iran (Mashhad) and western Iran (Qazvin, Hamedan, Zanjan, and Kurdistan) had 36 diploid chromosomes ($2n = 36$) and that the karyotype of the samples collected from northwestern Iran (Mako) had 42 diploid chromosomes ($2n = 42$).

Conclusion: According to the results of electrophoresis and karyological methods, among ground squirrels, *Spermophilus fulvus* species are distributed in northeastern and western Iran and *Spermophilus xanthoprimum* species are distributed in northwestern Iran.

Keywords: Albumin Proteins, Development, Globulin Proteins, Yellow Squirrels.