

مقایسه ریخت‌شناسی و الکتروفوروزی پروتئین‌های سرم خون

Spermophilus fulvus (Mammalia: Rodentia)

و *Spermophilus xanthoprimum* در ایران

محمد مرادی قرخلو^{۱*}، سهیل ایگدري^۲

۱. استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۷؛ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۷/۳)

چکیده

این تحقیق به منظور مطالعه وضعیت جمعیتی سنجاب‌های زمینی جنس *Spermophilus* در ایران با استفاده از آنالیز پروتئین‌های سرم خون و ویژگی‌های ریخت‌شناسی به اجرا درآمد. بر این اساس پروتئین‌های گلوبولین و آلبومین سرم خون ۴۸ نمونه سنجاب زمینی جنس *Spermophilus* از شمال شرقی ایران (مشهد و بجنورد)، غرب ایران (کردستان، همدان، قزوین و زنجان) و شمال غربی ایران (پیراحمدکندی، کلیسا کندی و روستای نادلو) جمع‌آوری و با استفاده از تکنیک SDS-PAGE مورد آزمایش و مقایسه قرار گرفتند. نمونه‌های شمال غربی ایران گونه *S. xanthoprimum*، آنالیز الکتروفوروزی، ۹-۱۰ باند در ناحیه گلوبولین، ۱-۲ باند در ناحیه پست آلبومین و ۲ باند در ناحیه پره آلبومین و در نمونه‌های شمال شرقی گونه *S. fulvus*، ۹-۱۱ باند در ناحیه گلوبولین، ۲ باند در ناحیه پست آلبومین و ۳ باند در ناحیه پره آلبومین به دست آمد. نتایج این تحقیق به همراه صفات ریخت‌شناسی و کاربیلوژیکی که در مطالعات دیگر این نمونه‌ها انجام شده است، می‌تواند در تشخیص پراکنش گونه *S. fulvus* در شمال شرقی و غرب ایران و گونه *S. xanthoprimum* در شمال غربی ایران کمک کند. به‌علاوه در این تحقیق ویژگی‌های زیستگاهی، ریخت‌شناسی و وضعیت پراکنش سنجاب‌های زمینی ایران که در هنگام نمونه‌برداری به ثبت رسیده بود نیز ارائه می‌گردد.

کلید واژگان: *Spermophilus fulvus*، *Spermophilus xanthoprimum*، آلبومین، گلوبولین، سرم خون.

۱. مقدمه

C. xanthoprymnus را در آسیای میانه معرفی کردند. در ایران برای اولین بار Lichtenstien (۱۸۲۳) نمونه‌های مشهد و قائن را به نام *S. fulvus* را معرفی کردند. Thomas (۱۹۰۷) با مطالعه ریختی که بر روی نمونه‌های به دست آمده از مشهد انجام داد، آن را یک زیرگونه به نام *C. f. pathianus* معرفی کرد. Geoffroy (۱۹۳۹) نمونه‌های سنجاب زمینی که Belanger از زنجان به دست آورده بود را مورد مطالعه قرار داد و آن‌ها را *S. concolor* نام برد. Etemad (۱۹۷۹) در کتاب پستانداران ایران، براساس منابع، مطالعات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی، آن را گونه *S. fulvus* معرفی کرد. Moradi و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعات کارپولوژیکی بر روی نمونه‌های استان‌های شمال شرقی، غربی و شمال غربی ایران به ترتیب پراکنش گونه *S. fulvus* در استان‌های شمال شرقی و غرب ایران و پراکنش گونه *S. xanthoprymnus* در استان‌های شمال غربی ایران معرفی کردند.

در مورد سنجاب‌های زمینی جنس *Spermophilus* ایران اطلاعات اندکی وجود دارد. از این رو این تحقیق بر آن است که وضعیت جمعیتی سنجاب‌های زمینی ایران را با استفاده از آنالیز پروتئین‌های سرم خون و ویژگی‌های ریخت‌شناسی مورد مطالعه قرار دهد. برای این منظور پروتئین‌های سرم خون سنجاب‌های زمینی شمال شرقی و غرب ایران با سنجاب‌های زمینی شمال غربی ایران مورد آزمایش و مقایسه قرار گرفتند. به علاوه در این تحقیق ویژگی‌های زیستگاهی، ریخت‌شناسی و وضعیت پراکنش سنجاب‌های زمینی ایران که در هنگام نمونه برداری به ثبت رسیده بود نیز ارائه خواهد شد.

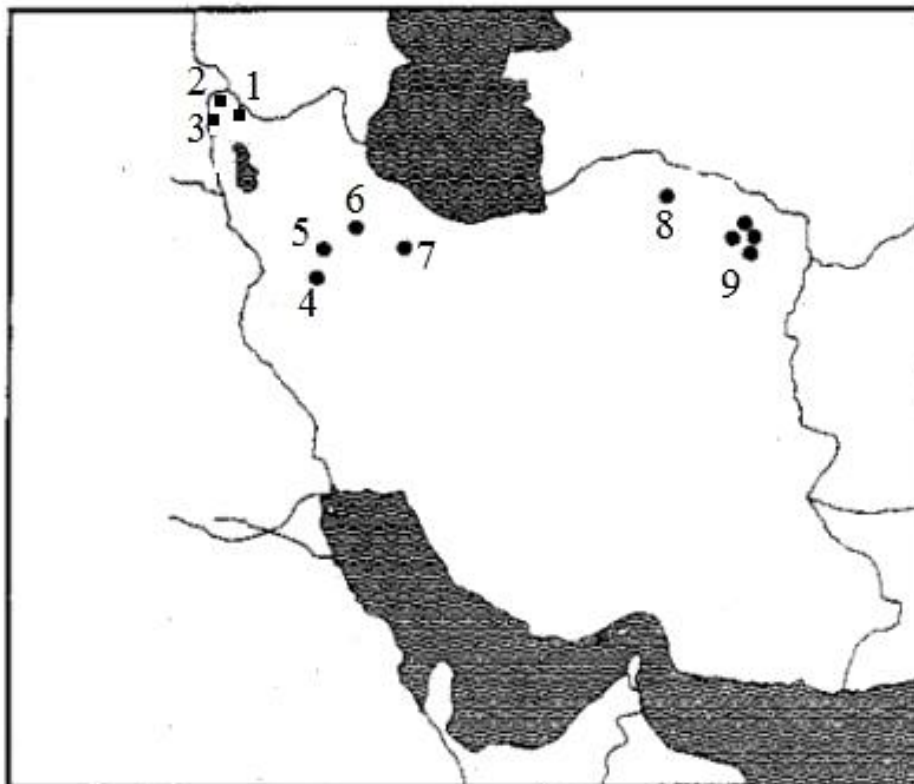
۲. مواد و روش‌ها

برای تجزیه و تحلیل الکتروفوروزی پروتئین‌های گلوبولین و آلبومین سرم خون تعداد ۴۸ نمونه از دو گونه شناسایی شده شامل: *S. fulvus* و *S. xanthoprymnus* از مناطق مختلف در شرق و غرب ایران به طور زنده صید

سنجاب زمینی در سال ۱۷۶۶ به نام علمی *Mus Linnaeus*، در سال ۱۷۷۸، *Citellus maximus*، در سال ۱۸۱۶، *C. oken* و در سال ۱۸۲۳، *C. fulvus* Lichtenstein نام گذاری شده است (Yiğit et al., 2005) و Ellerman و Morrison-Scott (۱۹۵۱) در کمیون بین‌المللی رده‌بندی جانوران، اصطلاح *C. oken* را برای نام گذاری این گونه پیشنهاد نمود. Corbet (۱۹۷۴) نیز نام علمی *Spermophilus cuvier* را برای آن به کار برد. Bennet (۱۸۳۵) براساس مطالعات ریخت‌شناسی که بر روی نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه ارزروم ترکیه انجام داده بود، پراکنش گونه *C. xanthoprymnus* را در این کشور گزارش نمود. Morsaloglu (۱۹۶۴ و ۱۹۶۵) مطالعات فونستیک بر روی نمونه‌های ترکیه را انجام داده و پراکنش دو زیرگونه *C. c. thracius* و *C. c. gelengiud* را در این کشور گزارش نمود. Karabag (۱۹۵۳)، Osborn (۱۹۶۵) و Simsek (۱۹۶۴) آرایه‌شناسی و زیست‌شناسی این گونه را مورد بررسی قرار دادند و با توجه به نام گذاری‌های Ellerman و Morrison-Scott (۱۹۵۱)، نام *Spermophilus citellus* را برای این گونه به کار بردند. Kumerlovee (۱۹۷۵) و Wilson و Reeder (۱۹۹۳) در مروری بر گونه‌های پستانداران جهان، هر دو گونه *S. xanthoprymnus* و *S. citellus* را آرایه‌های معتبری دانستند. Doramaci و همکاران (۱۹۹۴) کارپوتایپ سنجاب‌های زمینی شرق ترکیه را مورد بررسی قرار داده و گونه موجود در شرق ترکیه را *S. xanthoprymnus* معرفی کردند. بنا به نظر Mitchell Jones و همکاران (۱۹۹۹) گونه *S. citellus* در بیشتر کشورهای اروپائی از جمله چک، اسلواکی، اتریش، مجارستان، رومانی، یوگسلاوی، بلغارستان و ترکیه پراکنش دارد. Yiğit و همکاران (۲۰۰۶) با مطالعه سنجاب‌های منطقه پالئارتیک، پراکنش دو گونه از سنجاب‌های زمینی به نام‌های *C. citellus* و

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 براساس روش Sambrook و همکاران (۱۹۸۹) تهیه گردید. بافر مورد استفاده شامل ۰/۱٪ Glycine، ۰/۱۹۲٪ TrisM، ۰/۲۵M SDS با PH ۸/۳ 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 (۱۰:۴۵:۴۵) تثبیت گردید. ویژگی‌های ریختی نمونه‌ها نیز در آزمایشگاه مورد سنجش و بررسی قرار گرفت.

گردید (شکل ۱). ویژگی‌های زیستگاهی نیز در هنگام نمونه‌برداری بر اساس مشاهدات میدانی ثبت گردید (شکل ۱). نمونه‌ها با اتر بی‌هوش شده و با سرنگ ۵cc از قلب جانور خون‌گیری به عمل آمد. بعد از لخته شدن خون، بخش جدا شده یا سرم به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سرم‌های جدا شده توسط ماده بافری حاوی ۰/۶۲۵M Tris CL، با PH ۶/۸، ۲ درصد SDS، ۱۰ درصد Glycerol، ۵ درصد Bromphenol Blue و ۰/۰۱ درصد Mercaptoethanol مخلوط شده و محلول به دست آمده به مدت ۳ دقیقه جوشانده شد و تا زمان انجام آزمایش الکتروفوروزی در دمای 70°C نگهداری شدند. برای تزریق (Loaded) نمونه‌ها به داخل ژل‌ها از روش Esen (۱۹۷۸) استفاده شد. در این روش با استفاده از دستگاه الکتروفوروزی



شکل ۱. جایگاه‌های نمونه‌برداری و الگوی 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 و ۹- مشهد)

۳. نتایج

Spermophilus fulvus (Lichtenstein, ۱۸۲۳)
 ۱،۳، زیستگاه

این گونه در دشت‌های خشک و پوشیده از گیاهان بوته‌ای و در کوه‌پایه‌های نزدیک کشتزارها به‌ویژه در اطراف گندم زارهای دیمی به‌صورت اجتماعی زندگی می‌کنند. این سنجاب‌ها سوراخ‌های وسیعی تا عمق یک‌ونیم متری حفر می‌کنند و لانه خود را از گیاهان خشک یا مواد دیگر مانند کاغذ و غیره می‌پوشانند. اگر آب در دسترس آن‌ها باشد می‌نوشند و گاهی هم به نوشیدن شب‌نم گیاهان اکتفا می‌کنند. در بعضی نواحی (کبودر آهنگ همدان و در شهر زنجان) به مناطق مسکونی انسان‌ها نزدیک شده و از باقیمانده زباله‌ها تغذیه می‌کنند.

۲،۱،۳ ریخت‌شناسی

افراد این گونه دارای جثه بزرگ است و بدنشان در سطح پشتی از موهای زرد رنگ که در قاعده، قهوه‌ای تیره با دو سوم انتهایی روشن پوشیده شده است. در خط میانی سطح پشتی، انتهای موها دارای نوک قهوه‌ای یا سیاه هستند. در قسمت‌های پهلویی پشت، انتهای موها کاملاً سفید شده و یک سایه کم‌رنگی از سفید قهوه‌ای در زمینه زرد به‌وجود آورده است. سطح شکمی روشن‌تر از سطح پشتی است و گاهی آثاری از موهای قهوه‌ای تیره به‌صورت پراکنده در این سطح دیده می‌شود. چتر انتهایی دم از موهای بلند و متراکم تشکیل یافته است. سطح پشتی دم، نقره‌ای سیاه رنگ با یک هاله روشن در وسط، سطح شکمی دم نسبت به سطح پشتی روشن‌تر و یک‌نواخت می‌باشد. کف دست‌ها و پاها برهنه هستند و در انتهای انگشتان ناخن‌های سیاهی وجود دارد که این ناخن‌ها در دست‌ها بلندتر از پاها می‌باشند.

۳،۱،۳ پراکنش

پراکنندگی این سنجاب‌ها در شمال‌شرقی از مشهد تا ارتفاعات شیروان و بجنورد و در غرب ایران در کردستان، همدان، زنجان و قزوین گزارش شده است (شکل ۱).

۴،۱،۳. نتایج الکتروفورزی پروتئین‌های سرم خون

پروتئین‌های سرم خون ۳۶ نمونه جمع‌آوری شده از شمال شرقی ایران (۱۴ نمونه) و غرب ایران (۲۲ نمونه) مورد آزمایش الکتروفورزی قرار گرفتند. در این نمونه‌ها، ۹-۱۱ باند در ناحیه گلوبولین، ۲ باند در ناحیه پست آلبومین و ۳ باند در ناحیه پره آلبومین به‌دست آمد (شکل‌های ۲ و ۳).

Spermophilus xanthopyrnus ۲،۳
 (Bennet, 1835)
 ۱،۲،۳ زیستگاه

افراد این گونه در دشت‌های صاف و هموار به‌ویژه در چمنزارهای سرسبز پوشیده از گیاهان تیره گرمینه زندگی می‌کنند. زندگی اجتماعی در این گونه کمتر به چشم می‌خورد. لانه خود را در کنار چمنزارها و در زمین‌های بایر خارج از آبریزهای بارندگی انتخاب می‌کنند. سوراخ ورودی لانه‌ها به‌صورت افقی ایجاد می‌شود و نسبت به سوراخ ورودی گونه قبلی خیلی کوچک‌تر است. در لانه زیرزمینی این گونه یک سوراخ خروجی اضطراری نیز به فاصله نیم‌متری وجود دارد که در موقع آب‌گرفتگی لانه یا در مواقع ضروری از این سوراخ به بیرون فرار می‌کنند. برعکس گونه *S. fulvus*، این سنجاب‌ها به مناطق مسکونی انسان‌ها نزدیک نمی‌شوند.

۲،۲،۳ ریخت‌شناسی

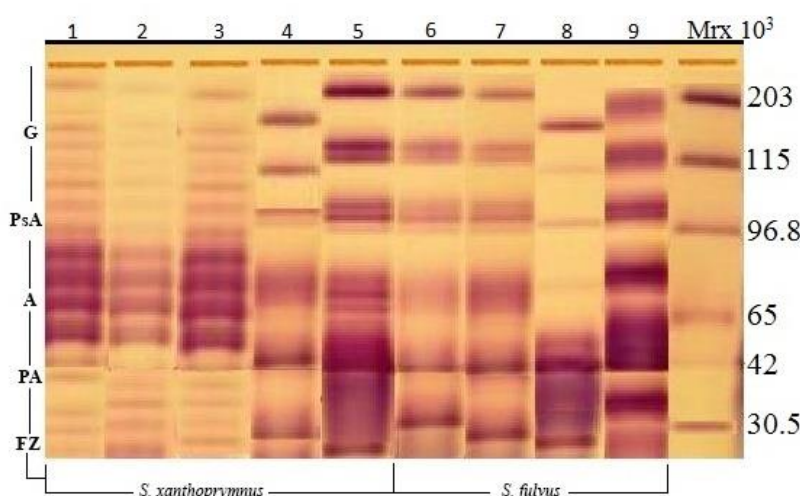
جثه نسبت به گونه *S. fulvus* کوچک‌تر و در سطح پشتی از موهای زرد مایل به قهوه‌ای که در قاعده کاملاً سیاه و در دو سوم انتهایی نقره‌ای رنگ هستند، پوشیده شده است. در سطوح طرفی، رنگ موها روشن‌تر شده و حالت نقره‌ای به خود می‌گیرد. موهای شکمی نسبت به سطح پشتی روشن‌تر است و مانند گونه قبلی، موهای سیاه و پراکنده در آن دیده می‌شود. سطح پشتی دم مانند سطح پشتی از موهای زرد و مایل به قهوه‌ای پوشیده شده است. تراکم و بلندی موها در این گونه به‌صورت چتر در نیامده و به‌تدریج باریک‌تر می‌شود. کف

دست‌ها و پاها برهنه هستند و ناخن‌های انتهایی انگشتان نسبت به گونه *S. fulvus* درازتر می‌باشد.

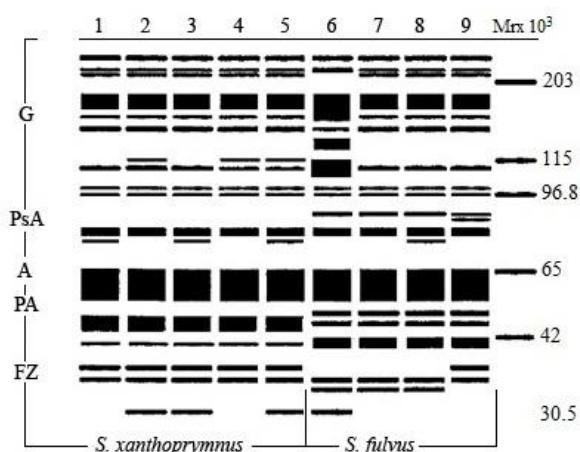
۳،۲،۳. پراکنش

پراکنندگی این سنجاب‌ها، در شمال غربی ایران به‌ویژه در ناحیه مرزی ایران و ترکیه در روستاهای اطراف شهرستان‌های ماکو و بازرگان پراکنش دارد (شکل ۱).

۴،۲،۳. نتایج الکتروفوروزی پروتئین‌های سرم خون پروتئین‌های سرم خون ۱۲ نمونه جمع‌آوری شده از شمال غربی ایران نیز مورد آزمایش الکتروفوروزی قرار گرفتند. در این نمونه‌ها، ۹-۱۰ باند در ناحیه گلوبولین، ۱-۲ باند در ناحیه پست آلبومین و ۲ باند در ناحیه پره آلبومین ایجاد شد (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲- الگوی باندهای SDS-PAGE پروتئین‌های سرم خون گونه *Spermophilus xanthopyrmnus* از شمال غربی ایران (۱- پیراحمدکندی، ۲- کلیساکندی و ۳- روستای نادو)، گونه *Spermophilus fulvus* از غرب ایران (۴- همدان، ۵- کردستان، ۶- زنجان و ۷- قزوین)، از شمال شرقی ایران (۷- بجنورد و ۸- مشهد و حومه) و مارکر (۱۰- شاهد).



شکل ۳- الگوی باندهای SDS-PAGE پروتئین‌های سرم خون گونه *Spermophilus xanthopyrmnus* از شمال غربی ایران (۱- پیراحمدکندی، ۲- کلیساکندی و ۳- روستای نادو)، گونه *Spermophilus fulvus* از غرب ایران (۴- همدان، ۵- کردستان، ۶- زنجان و ۷- قزوین)، از شمال شرقی ایران (۷- بجنورد و ۸- مشهد و حومه) و مارکر (۱۰- شاهد).

۴. بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج مطالعات ریخت‌شناسی، پراکنش و زیستگاه سنجاب‌های زمینی مورد مطالعه، نتایج در مورد گونه *S. fulvus* با نتایج Etamad (۱۹۷۸) در کتاب چونندگان ایران کاملاً مطابقت دارد. در مورد ریخت‌شناسی، پراکنش و زیستگاه گونه *S. xanthoprymnus* تاکنون هیچ گزارش موثقی به صورت مکتوب در مورد این گونه موجود نمی‌باشد، بنابراین برای اولین بار ریخت‌شناسی، پراکنش و زیستگاه این گونه از ایران نیز گزارش می‌شود.

نتایج حاصل از آزمایش‌های الکتروفوروزی بر روی پروتئین‌های سرم خون گونه *S. fulvus* ۹-۱۱ باند در ناحیه گلوبولین، ۲ باند در ناحیه پست آلبومین و ۳ باند در ناحیه پره آلبومین بر روی ژل الکتروفوروزی برای تمامی نمونه‌های شمال شرقی و غرب ایران نشان داد. این نمونه‌ها با گزارش Reyhan و همکاران (۲۰۰۶) در مورد گونه *S. fulvus* (۹-۱۱) باند برای پروتئین‌های Globulin و ۱-۳ باند برای پروتئین‌های Albumin کاملاً متفاوت است. همچنین مطالعات الکتروفوروزی بر روی گونه *S. xanthoprymnus* با ایجاد ۹-۱۰ باند در ناحیه گلوبولین، ۲-۱ باند در ناحیه پست آلبومین و ۲ باند در ناحیه پره آلبومین، با نتایج Reyhan و همکاران (۲۰۰۲) بر روی نمونه‌های ترکیه و Reyhan و همکاران (۲۰۰۶)

بر روی نمونه‌های ترکیه و ایران (۹-۱۱) باند پروتئین Globulin و ۲-۳ باند پروتئین Post-Albumin تا حدودی مطابقت دارد. نظر به این‌که *S. fulvus* در کشورهای قرقیزستان، تاجکستان، ازبکستان، ترکمنستان و افغانستان نیز پراکنش دارد (Wilson et al., 1993)، این گونه احتمالاً از طریق ترکمنستان یا شمال افغانستان به ایران نفوذ کرده و از شمال شرقی تا غرب ایران گسترش یافته است. سپس بر اثر به وجود آمدن موانع طبیعی و صنعتی پراکنش آن در شمال شرقی ایران (مشهد و حومه) و غرب ایران (استان‌های همدان، کردستان، زنجان و قزوین که هم مرز می‌باشند) متمرکز شده و پراکنش یافته است.

گونه *S. xanthoprymnus* که در کشورهای ارمنستان، آذربایجان، فلسطین، سوریه، قفقاز و ترکیه پراکنش دارد. و احتمالاً از طریق شمال ترکیه یا ارمنستان به شمال غربی ایران نفوذ کرده و در سرحد مرز ایران، ترکیه و ارمنستان پراکنش یافته است.

تشکر و قدردانی

از مساعدت‌های جناب آقای دکتر جمشید درویش ریاست محترم پژوهشکدهٔ جوندشناسی دانشگاه فردوسی مشهد در خصوص اطلاعات علمی و گرفتن نمونه‌ها مبدول فرمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- Bennet, E.T., 1835. Mammals of the neighbomoad of Trebizond and Erzeroum. Details - Proceedings of the Zoological Society of London 3, 89-90.
- Corbet, G.B. 1978. The mammals of the palearctic region. A taxonomic review. British Museum. N.H. London and Ithaca, 314 p.
- Dogramaci, S., Kefelioglu, H., Gunduz I., 1994. Turkiye *Spermophilus* (Mammalia: Rodentia) Cinsinin karyolojik Analizi. Turkish Journal of Zoology 18, 167-170.
- Ellerman, J.R., Morrison-Scott, R., 1951. checklist of palearctic region and Indian mammals 1758 to 1946. London, 808 p.
- Esen, A., 1978. Simple method for quantitative, semiquantitative, and qualitative assay of protein. Analytical Biochemistry 89, 264-273.

- Etemad, E., 1978. The Mammals of Iran, Vol.1. Rodents and their identification key, a publication on national society of natural resource and environment conservation, Iran.
- Geoffroy, I., 1834. In Belanger, Voyage auz indes orientalis Paris, 48 p.
- Karabag, T., 1953. Ankara dolaylarındaki tarla sincaplarının (*Citellus*, larin) biyolojisi ve bunlarla savas usulleri. Ankara. Univ. Zir. Fak. Yay. 48-68.
- Kumerloeve, H., 1975. Die saugetierte (Mammalia) der Turkei. Veroffentlichungen der Zoologischen Staatssammlung Munchen 18, 69-225.
- Osborn, D., 1964. The porcupine, beaver, jerboas and dormice of Turkey. Mammalia: Rodentia 28, 522-522.
- Mitchell-Jones, A.J., Amori, G., Bogdanowicz, W., Krystufek, B., Relinders, P.J.H., Spitzenberger, F., Stubbe, M., Thissen, J. M. B., Vohralik V., Zima J., 1999. The Atlas of European Mammals, London, 496 p.
- Mursaloglu, B., 1965. Geographic variation in *Citellus citellus* (Mammalia: Rodentia) in Turkey. Comm. Fac. Sci. Univ. Ankara. C. 10, 78-109.
- Mursaloglu, B., 1946. Statistisal 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. 9, 252-273.
- Reyhan, C., Mohammad, M., Sakir, O., 2006. Distibution and electrophoreti 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.
- Reyhan, C., Sakir, O., 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.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis T., 1989. Moleculer cloning, a laboratory manual. Second edition, New York, 1626 p.
- Simsek, N., 1986. Turkey Tarla Sincapları. *Spermophilus citellus* (L. 1766). (Mammalia: Rodentia) Alt turlerinin ayirt edilmesinde Baculumun onem. Doga, TR. Bio. D 10(3), 386-390.
- Thomas, O., 1907. On mammals from northern persia presented to the national museum by Col, A. C. Bailward. Annals and Magazine of Natural History 20, 196-202.
- Yiğit, N., Gharakheloo, M.M., Çolak, E., Özkurt, Ş., Bulut, Ş., Kankılıç, T., Çolak, R. 2006. The karyotype of some rodent speciec (Mammalia: Rodentia) from eastern Turkey and northern Iran with a new recored *Microtus schid*. Turkish Journal of Zoology 30, 459-464.
- Yiğit, N., Neuman, K., Özkurt, Ş., Çolak, E., Çolak, R., 2005. Biometric and genetic evolution of *Spermophilus* (Mammalia:Rodentia) populations in Turkey. Journal of Zoology 51, 191-198.
- Wilson, E., Reeder, M.N., 1993. Mammals species of the world. Secon Ed- Washington and London, 1206 p.

