

تعداد میکروپیل در تخمک مولدین تاس‌ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) صید شده در سواحل جنوب‌غربی دریای خزر

* علی حلاجیان

انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۶/۱۸

چکیده

تاس‌ماهی روسی با نام علمی (*Acipenser gueldenstaedtii*) (Brandt & Ratzeberg, 1833) یکی از با ارزش‌ترین ماهیان شیلاتی در سواحل دریای خزر بوده و بیشتر در سواحل شمالی دیده می‌شود. پژوهش فوق به بررسی و مطالعه تعداد میکروپیل در تخمک‌های مولدین تاس‌ماهی روسی پرداخته است. در این تحقیق از ۵ عدد مولد تاس‌ماهی روسی که از صیدگاه‌های سواحل جنوب‌غربی دریای خزر در استان گیلان صید شده بودند، استفاده گردید. تعداد ۵۰ عدد تخمک از هر مولد در فرمالین ۴ درصد تثبیت شد. سپس به کمک تیغ تیز قطب حیوانی تخمک از قطب گیاهی جدا، شسته و سپس منافذ میکروپیلی در قطب حیوانی هر تخمک مورد شمارش و ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله از مجموع ۲۵۰ عدد تخمک مورد بررسی، حداقل، حداکثر و متوسط تعداد میکروپیل مشاهده شده در هر تخمک به ترتیب صفر، ۱۳ و $6/1 \pm 2/6$ عدد بوده است و از لحاظ آماری بین ۵ مولد تاس‌ماهی روسی اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/05$).

واژه‌های کلیدی: تاس‌ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*)، تخمک، دریای خزر، میکروپیل

مقدمه

دریای خزر بزرگترین دریاچه لب شور جهان است که ماهیان با ارزشی همچون تاس‌ماهیان را در خود جا داده است، به طوری که این دریا و حوزه آبریز آن مهم‌ترین زیستگاه طبیعی ۶ گونه از تاس‌ماهیان (تاس‌ماهی ایرانی *Acipenser persicus*، تاس‌ماهی روسی *Acipenser gueldenstaedtii*، تاس‌ماهی شیپ *Acipenser nudiventris* ازون برون *Acipenser stellatus*، استرلیاد *Acipenser ruthenus* و فیل‌ماهی (*Huso huso*) می‌باشد و با تولید ۹۰ درصد خاویار دنیا شهرت جهانی دارد. تاس‌ماهیان از ماهیان غضروفی - استخوانی دوران اولیه هستند که حدود ۲۰۰ میلیون سال پیش از ماهیان استخوانی جدا شدند.

تاس‌ماهی روسی یا چالباش با نام علمی *Acipenser gueldenstaedtii* در دریاچه‌های سیاه، آزوف و خزر زندگی می‌کند. در سواحل شمالی دریای خزر نسبت به سایر مناطق بیشتر دیده می‌شود و از ماهیان مهاجری است که برای تخم‌ریزی به رودخانه‌های ولگا، اورال و تا حدودی به رودخانه‌های ترک و سفیدرود مهاجرت می‌نماید. حداکثر طول آن ۲۲۲ سانتی‌متر و وزن معمول آن بین ۱۶ تا ۸۰ کیلوگرم و به ندرت تا ۱۶۰ کیلوگرم نیز دیده شده است (کهنه‌شهری و آذری‌تاکامی، ۱۳۵۳). ماهیان نر در ۸ تا ۱۴ سالگی و ماده‌ها در ۱۰ تا ۱۲ سالگی بالغ می‌شوند (کازانچف، ۱۹۸۱)، هم‌آوری مطلق آنان بین ۷۰ تا ۸۰۰ هزار عدد تخمک در هر مولد می‌باشد (Cherr و Clark، ۱۹۸۲).

* مسئول مکاتبه: hallajianali@yahoo.com

هیبریداسیون این نکته رعایت می‌شود (کازانچف، ۱۹۸۱). از آنجایی که شکل، تعداد و ابعاد میکروپیل در انواع گونه‌های تاس ماهیان و حتی در یک گونه و در یک مولد متغییر بوده و بعضاً به‌عنوان کلید شناسایی گونه‌ها به کار می‌رود، بنابراین هدف از این پژوهش، مطالعه و تعیین تعداد میکروپیل در تخمک مولدین تاس ماهی روسی نواحی جنوبی دریای خزر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعه و بررسی میکروپیل در تخمک‌های مولدین تاس ماهی روسی، از ۵ مولد تاس ماهی روسی صید شده از صیدگاه‌های نواحی شیلاتی کیشهر و زیباکنار واقع در استان گیلان در سال ۱۳۸۲ که به مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری دکتر بهشتی انتقال یافته بودند، بعد از شکافتن شکم ماهی به‌منظور تکثیر مصنوعی، تعدادی تخمک قبل از تکثیر از هر یک از مولدین جمع‌آوری و به‌طور جداگانه در ظروف شیشه‌ای حاوی فرمالین ۴ درصد تثبیت شد.

تخمک‌های تثبیت شده از مولدین به آزمایشگاه بافت‌شناسی بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری انتقال یافتند. از هر مولد ۵۰ عدد تخمک مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا تخمک‌ها از فرمالین خارج و با آب مقطر شسته شدند. بعد از شستشو، تخمک بین دو انگشت شصت و اشاره طوری قرار داده شد تا کمر بند جدا کننده دو قطب حیوانی و گیاهی با چشم غیر مسلح دیده شود. سپس این کمر بند به کمک تیغ تیز برش داده شد تا قطب حیوانی از قطب گیاهی جدا شود.

بعد از برش تخمک، از آنجایی که منافذ میکروپیل در سطح قطب حیوانی واقع شده‌اند، محتوی داخلی قطب حیوانی با دقت فراوان خالی شده، سپس بخش داخلی غشاء با آب به‌طور کامل شسته شدند، بعد از این عمل غشاء تخمک برای مشاهده و شمارش میکروپیل به کمک لوپ آماده گردید. غشاء تخمک

تخمک ماهیان از چند لایه با پوشش چرم مانند احاطه شده است. این پوشش‌ها غشای پروتئینی بوده که از سلول‌های ویژه‌ای منشاء می‌گیرند. این غشاء یا کوریون محافظ تخم لقاح نیافته و جنین در حال رشد می‌باشد. بعد از تشکیل این لایه‌ها، ساختمان میکروپیل‌ها^۱ در بین این لایه‌ها و در سطح تخمک تشکیل می‌گردند. میکروپیل به شکل قیف بوده، قسمت گشاد آن در سطح تخمک قرار می‌گیرد. این منافذ در سطح تخمک در قسمت قطب حیوانی وجود دارند و اسپرم‌ها از آن منافذ به داخل تخمک جهت بارور نمودن نفوذ می‌کنند. منطقه منافذ میکروپیل زیاد وسیع نبوده و از ۰/۰۳-۰/۱۴ میلی‌متر مربع سطح قطب حیوانی را تشکیل می‌دهد (کهنه‌شهری و آذری‌تاکامی، ۱۳۵۳). در ماهیان ازون‌برون، فیل ماهی و تاس ماهی روسی فاصله میان سوراخ بیرونی میکروپیل‌ها از همدیگر معمولاً بسیار کم (بین ۴۰ تا ۸۰، حداکثر تا ۱۰۰ میکرون) است (Dettlaff و همکاران، ۱۹۹۳). تعداد منافذ میکروپیل در هر عدد از تخمک ماهیان استخوانی یک منفذ است (بیلارد و دپشی، ۱۳۸۱)، در حالی که این منافذ در تخمک ماهیان خاویاری متفاوت و به‌طور معمول بیش از یک میکروپیل گزارش شده است (حلاجیان و همکاران، ۱۳۷۸؛ Dettlaff و همکاران، ۱۹۹۳). وقتی که تعداد منافذ میکروپیل ۵ تا ۱۰ عدد باشد، مساحت میکروپیل در قطب حیوانی بین ۱۲۰ تا ۱۳۰ میکرون خواهد بود، به‌طوری که میکروپیل‌ها در یک محدوده مشخص از سطح قطب حیوانی قرار خواهند گرفت (Dettlaff و همکاران، ۱۹۹۳).

متوسط اندازه دهانه میکروپیل (غشاء خارجی) ۲۱/۹ میکرون و متوسط اندازه قسمت باریک میکروپیل (غشاء داخلی) ۱۸/۵ میکرون در تاس ماهیان می‌باشد (حلاجیان و همکاران، ۱۳۷۸). قسمت مجرای تنگ میکروپیل هر گونه از اندازه عرض سر اسپرماتوزوئید همان گونه اندکی بیشتر است که در

1- Micropyle

آماده شده به نحوی روی یک لام تمیز قرار گرفت که قسمت محدب آن رو به پایین بود. به منظور جلوگیری از خشک شدن غشاء و تمرکز نور لوپ، یک قطره آب به آن اضافه شده است. میکروپیل‌ها با بزرگنمایی ۳۲ الی ۵۰X، مورد شمارش قرار گرفتند. در بررسی آماری، نرم افزار Excel و آزمون توکی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

نتایج به دست آمده از شمارش تعداد میکروپیل‌های حاصل از ۲۵۰ عدد تخمک مولدین تاس ماهی روسی بیانگر آن بود که متوسط تعداد میکروپیل‌های شمارش شده $6/1 \pm 2/6$ عدد در هر تخمک است. حداکثر تعداد میکروپیل در سطح تخمک این مولدین ۱۳ عدد و حداقل آن صفر (میکروپیلی در سطح قطب حیوانی

تخمک مشاهده نگردید) در هر تخمک بود. در شکل‌های ۱ تا ۴ تعداد میکروپیل در تخمک‌های این مولدین نشان داده شده است.

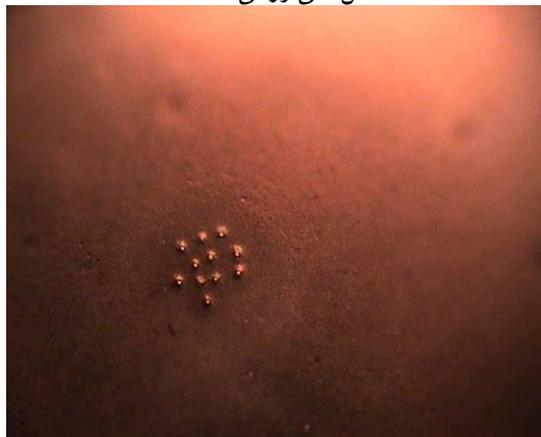
شکل‌های ۱ تا ۵، درصد فراوانی میکروپیل در هر یک از مولدین و شکل‌های ۶ و ۷ درصد فراوانی میکروپیل کل مولدین را نشان می‌دهد. در بررسی آماری که از مقایسه بین تعداد میکروپیل‌های تخمک مولدین تاس ماهی روسی مورد مطالعه صورت گرفت، مشاهده شد که به غیر از مولدین یک با دو که تعداد میکروپیل‌های آنها بین صفر تا ۸ عدد در هر تخمک بود، در سایر موارد اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($P > 0/05$)، ولی بین سایر مولدین با سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P > 0/05$).



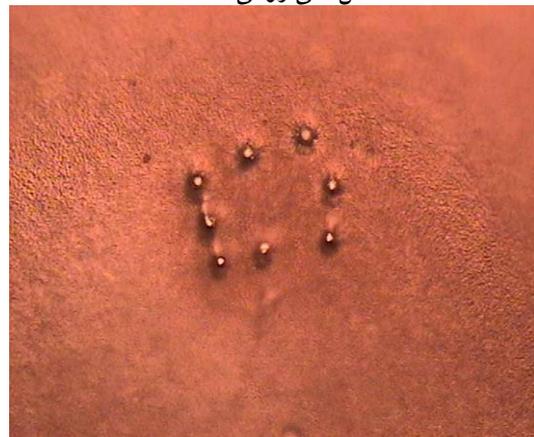
شکل ۲- نمایی از تجمع میکروپیل‌های ۶ تایی در تخمک تاس ماهی روسی (۲۰X)



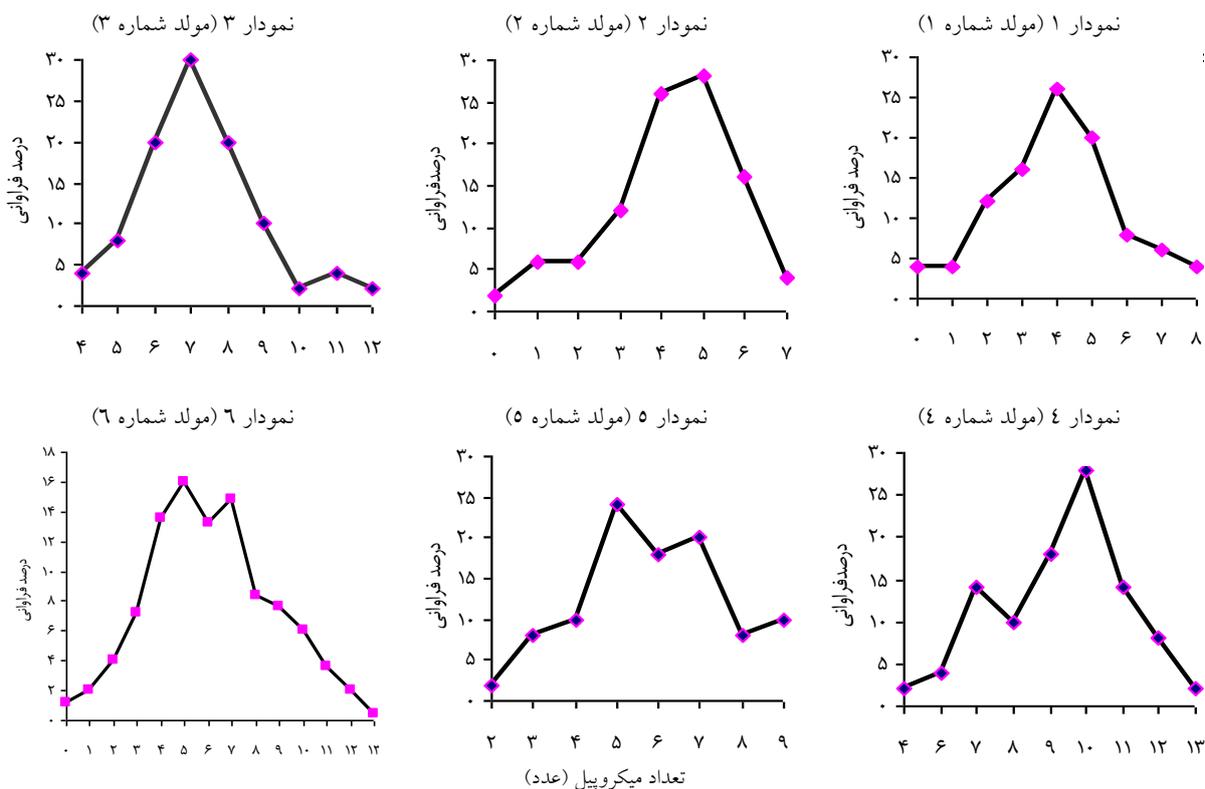
شکل ۱- نمایی از تجمع میکروپیل‌های ۴ تایی در تخمک تاس ماهی روسی (۲۰X)



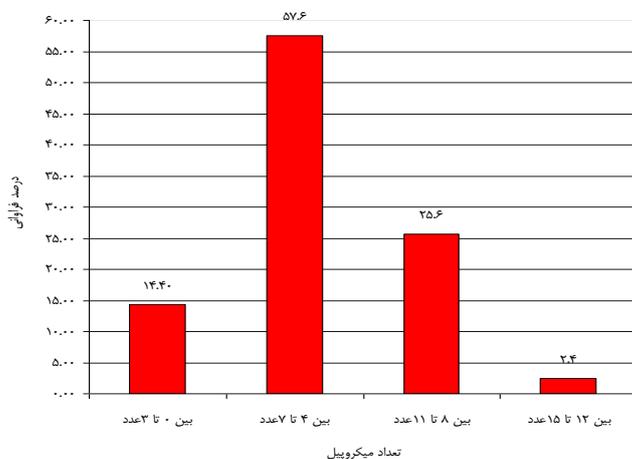
شکل ۴- نمایی از تجمع میکروپیل‌های ۸ تایی در تخمک تاس ماهی روسی (۲۰X)



شکل ۳- نمایی از تجمع میکروپیل‌های ۸ تایی در تخمک تاس ماهی روسی (۵۰X)



شکل ۶-۱- درصد فراوانی میکروبیول در مولدین تاس ماهی روسی صید شده



شکل ۷- درصد فراوانی میکروبیول در تخمک مولدین تاس ماهیان روسی صید شده

بحث و نتیجه گیری

بر اساس مطالعات صورت گرفته توسط Ginsburg و Dettlaff تعداد منافذ میکروبیول در ازون برون ۱ تا ۱۳ عدد، در تاس ماهی دریای سیاه و آزوف ۱ تا ۴۳ عدد، استرلیاد ۵ تا ۱۳ عدد، تاس ماهی

آلمانی ۳ تا ۹ عدد و فیل ماهی ۱ تا ۱۷ عدد گزارش شده است. Podushka (۱۹۹۳) تعداد منافذ میکروبیول در تخمک ماهی ازون برون بین صفر تا ۱۰ عدد در هر تخمک گزارش داده است. طبق گزارشات حلاجیان و همکاران (۱۳۷۸) تعداد منافذ میکروبیول در تخمک

بیشترین درصد فراوانی میکروپیل همان طوری که در شکل ۶ دیده می شود بین ۴ تا ۷ عدد در هر تخمک می باشد.

موضوع قابل ذکر، فراوانی تخمک های بدون میکروپیل است. اما با مد نظر قرار گرفتن احتمال اشتباه در هنگام انتخاب قطب در تخمک به علت خراب بودن و یا عدم تشخیص قطب حیوانی از گیاهی، آن تخمک ها در محاسبات مد نظر قرار نگرفتند، ولی با تمام دقت باز چنین تخمک های در ۲ عدد ماهی (یکی ۴ درصد و دیگری ۲ درصد) مشاهده گردید. با وجود کم بودن فراوانی تخمک هایی بدون میکروپیل نشان می دهد که در بعضی موارد این عامل می تواند دلیل لقاح نیافتن تخمک ها باشد.

علت پلی اسپرمی شدن تخمک ها و راه های جلوگیری از آن می تواند از موضوعات تحقیقاتی جالبی باشد که علاوه بر تعداد میکروپیل، سایر موارد از قبیل کیفیت تخمک، رقت و کیفیت اسپرم را نیز می توان مورد بررسی قرار داد. تاس ماهیان به علت دارا بودن چند میکروپیل بعضاً چند عدد اسپرماتوزوئید به طور همزمان نیز وارد یک تخمک شده که حالت پلی اسپرمی را ایجاد می کند. اگرچه به نظر می رسد که حضور میکروپیل های متعددی شانس پلی اسپرمی را افزایش دهد، ولی وجود فرآیند دو برابر کوچک شدن مجرای میکروپیل ها بعد از ورود اولین اسپرم شانس عبور تعداد زیادی اسپرم به بخش انتهایی مجرا را کاهش داده و دخول آن را به فضای پری و تیلین محدود می کند و در حال حاضر مشخص نیست که آیا مکانیسم ممانعت سریع از پلی اسپرمی در تخم های ماهیان خاویاری موجود است یا خیر. ولی با این وجود احتمال ورود چند اسپرم به داخل هسته تخمک به علت پائین بودن کیفیت تخمک وجود دارد. این گونه تخم ها جزء تخم های لقاح یافته محسوب می گردند و اسپرماتوزوئیدهای که وارد محوطه سیتوپلاسمی می شوند در طی فرایند تکامل تخم ۳، ۴ و حتی بیشتر

مولدین ازون برون ۲ تا ۱۳ عدد، در مولدین تاس ماهی ایرانی بین ۲ تا ۲۷ عدد، در مولدین فیل ماهی ۲ تا ۱۲ عدد و طبق گزارش Ginsburg (۱۹۶۸) برای این ماهی ۱ تا ۳۳ عدد بوده است.

تعداد منافذ میکروپیل در تخمک مولدین تاس ماهی روسی ۱ تا ۵۲ عدد (Ginsburg, ۱۹۶۸)، صفر تا ۴۵ عدد (Podushka, ۱۹۹۳) و ۱ تا ۴۳ عدد (Dettlaff و همکاران، ۱۹۹۳)، در ماهی استرلیاد (*A. ruthenus*) ۵ تا ۱۳ عدد (Dettlaff و همکاران، ۱۹۹۳) و در تاس ماهی سفید (*A. transmontanus*) ۳ تا ۱۵ عدد (Dettlaff و همکاران، ۱۹۹۳) در هر تخمک گزارش شده است.

گزارش های کارشناسان روسی در ارتباط با تعداد منافذ میکروپیل در تخمک تاس ماهیان مربوط به تاس ماهیان بخش های شمالی دریای خزر (سواحل شوروی سابق) بوده و در بخش های جنوبی دریای خزر (سواحل ایران) تحقیقی صورت نگرفته تا این که در سال ۱۳۷۷ توسط حلاجیان تعداد میکروپیل های تخمک گونه های تاس ماهی ایرانی، ازون برون و فیل ماهیان صید شده در سواحل جنوبی دریای خزر مورد تحقیق قرار گرفته است.

در پژوهش حاضر دامنه تعداد منافذ میکروپیل در تخمک مولدین تاس ماهی روسی صید شده در سواحل جنوبی دریای خزر بین صفر تا ۱۳ عدد بوده که نسبت به تعداد میکروپیل های گزارش شده در تاس ماهی روسی نواحی شمالی دریای خزر متفاوت است، به طوری که تعداد میکروپیل شمارش شده این ماهی در نواحی جنوبی (تا ۱۳ و متوسط ۶ عدد در هر تخمک) نسبت به تاس ماهی روسی نواحی شمالی دریای خزر (تا ۵۲ عدد و متوسط ۲۵ عدد (Ginsburg, ۱۹۶۸) و تا ۴۵ عدد (Podushka, ۱۹۹۳) کمتر بوده است.

به حوزه شمالی دریای خزر است، این موضوع که آیا تاس‌ماهی روسی صید شده در این نواحی با نواحی شمالی از نظر تعداد میکروپیل از یک نژادند، نیاز به بحث و تحقیق بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادم‌ان جناب آقای دکتر پورکاظمی، معاونت محترم تحقیقاتی آن انستیتو جناب آقای دکتر بهمنی، همکاران محترم بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو آقایان مهندس کاظمی، مهندس دژندیان، مهندس پوردهقانی، مهندس یوسفی و همچنین مسئول محترم بخش تکثیر و پرورش مجتمع شهید بهشتی جناب آقای مهندس محمدی پرشکوهی صمیمانه سپاسگزاری و تشکر می‌گردد.

بلاستومر در آنها ظاهر می‌شوند. این گونه تخم‌ها در مراحل بعدی رشد و نمو از بین خواهند رفت، یعنی تخم‌های پلی‌اسپرمی غیرعادی که جنین‌های آن تکامل یافته معمولاً می‌میرند و مقدار کمی از آنها که کامل می‌شوند که این گروه نیز به صورت کرمی غیرعادی و یا با سرهای تکامل نیافته ظاهر می‌شوند (Dettlaff) و همکاران، ۱۹۹۳).

همانند تاس‌ماهیان مطالعه شده (تاس‌ماهی ایرانی، ازون‌برون و فیل‌ماهی) در حوزه جنوبی دریای خزر (حلاجیان، ۱۳۷۷) تعداد میکروپیل‌های تخمک در تاس‌ماهی روسی صید شده در ناحیه جنوبی دریای خزر نیز ثابت نبوده، به طوری که تعداد میکروپیل تخمک حتی در یک مولد نیز متفاوت است. اطلاعات مقایسه‌ای بر روی تعداد میکروپیل‌های تخمک تاس‌ماهی روسی و دیگر ماهیان خاویاری حوزه جنوبی دریای خزر نشان‌دهنده تعداد کم آنها نسبت

منابع

- ۱- بیلارد، ر.، و دپشی، ژ.، ۱۳۸۱. مروری بر جنین‌شناسی ماهی. مترجم مجیدعابدی. انتشارات دانشگاه آزاد. ۱۸۴ صفحه.
- ۲- پودشکا، ۱۹۹۳. تغییرپذیری تعداد میکروپیل‌های تخم‌ماهی ازون‌برون در رود ولگا. مترجم رجب‌محمدنظری (۱۳۷۵). ژورنال ایکیتولوژی، ۳۳ (۴) ۳ صفحه.
- ۳- حلاجیان، ع.، ۱۳۷۷. بررسی تعداد و وضعیت میکروپیل در تخمک تاس‌ماهیان دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس. ۲۳۳ صفحه.
- ۴- حلاجیان، ع.، پورکاظمی، م.، کلباسی، م.ر.، امینی، ک.، ۱۳۷۸. بررسی تعداد میکروپیل در تخمک سه گونه از تاس‌ماهیان جنوب دریای خزر. مجله علمی شبلیات ایران. شماره ۱. سال هشتم. صفحات ۳۵ تا ۴۸.
- ۵- کازانچف، ا.ان.، ۱۹۸۱. ماهیان دریای خزر و حوزه آبریز آن. ترجمه ابوالقاسم شریعتی، ۱۳۷۱. انتشارات وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی ایران - تهران. ۱۷۱ صفحه.
- ۶- کهنه‌شهری، م.، آذری‌تاکامی، ق.، ۱۳۵۳. تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۶۷ صفحه.
- ۷- وثوقی، غ.، مستجیر، ب.، ۱۳۷۱. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۱۷ صفحه.
8. Cherr, G.N. and Clark, W.H., 1982. Fine structure of the envelope and micropyles in the Richardson. Dev Growth eggs of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Differ 24, 341-352.
9. Dettlaff, T., A. Ginsburg, A.S. and Schmalhansen, O.I., 1993. Sturgeon Developmental biology and aquaculture, Springer-Verlag Berlin Fishes Heidelberg, 300p.
10. Ginsburg, A.S., 1968. Fertilization in fishes and the problem of polyspermy. Nauka, Moscow.
11. Podushka, S.B., 1993. The variability of the number of micropyles in eggs of Volga Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedti*. J, Ichthyology 33 (4), 152-155.

**Study on ovum micropyle of Russian sturgeon broodfishes
(*Acipenser gueldenstaedtii*) captured in the west- south coast of Caspian Sea**

***A. Hallajian**

Dr. Dadman International Caviar Monthly Research Institute, Rasht, Iran.

Abstract

Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* (Brandt & Ratzeberg, 1833)) is one of the most valuable fishes of the Caspian Sea, which occur more frequently in the Northern part of the Sea. The number of micropyle in the ovum of Russian sturgeon was investigated in this study. Fifty samples of ovum were fixed in 4% formalin, then animal and plant poles were cut and separated by thorn, washed and at last the number of micropyles were counted and compared in the examined samples. The results of studying 250 ovums showed that minimum, maximum and average number of micropyle in ovums was 0, 13 and 6.1 ± 2.6 , respectively. Statistical study indicated significant differences among 5 brood fishes ($P < 0.5$).

Keywords: Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*); Ovum; Caspian sea; Micropyle

* Corresponding author; hallajianali@yahoo.com