

تعداد میکروپیل در تخمک مولدین تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) صید شده در سواحل جنوب غربی دریای خزر

* علی حلاجیان

انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت

چکیده

تاس ماهی روسی با نام علمی (*Acipenser gueldenstaedtii*) (Brandt & Ratzeberg, 1833) یکی از با ارزش ترین 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 تاس ماهی روسی پرداخته است. در این تحقیق از ۵ عدد مولد تاس ماهی روسی که از صیدگاه‌های سواحل جنوب غربی 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 تاس ماهی روسی اختلاف معنی دار وجود داشت ($P < 0/05$).

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

مقدمه

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

تاس ماهی روسی یا چالباش با نام علمی *Acipenser gueldenstaedtii* در دریاهای 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 (۶). ماهیان نر در ۸ تا ۱۴ سالگی و ماده‌ها در ۱۰ تا ۱۲ سالگی بالغ می‌شوند (۵)، هم‌آوری مطلق آنان بین ۷۰ تا ۸۰۰ هزار عدد تخمک در هر مولد می‌باشد (۷).

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

* مسئول مکاتبه: hallajianali@yahoo.com



تخمک مولدین تاس ماهی روسی نواحی جنوبی دریای خزر می باشد.

مواد و روش ها

به منظور مطالعه و بررسی میکروپیل در تخمک های مولدین تاس ماهی روسی، از ۵ مولد تاس ماهی روسی صید شده از صیدگاه های 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 به منظور تکثیر مصنوعی، تعدادی تخمک قبل از تکثیر از هر یک از مولدین جمع آوری و به طور جداگانه در ظروف شیشه ای حاوی فرمالین ۴ درصد تثبیت شد.

تخمک های تثبیت شده از مولدین به آزمایشگاه بافت شناسی بخش فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری انتقال یافتند. از هر مولد ۵۰ عدد تخمک مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا تخمک ها 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 شده اند، محتوی داخلی قطب حیوانی با دقت فراوان خالی شده، سپس بخش داخلی غشاء با آب به طور کامل شسته شدند، بعد از این عمل غشاء تخمک برای مشاهده و شمارش میکروپیل به کمک لوپ آماده گردید. غشاء تخمک 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. میکروپیل ها با بزرگنمایی ۳۲ الی ۵۰X، مورد شمارش قرار گرفتند. در بررسی

کوریون محافظ تخم لقاح نیافته و جنین در حال رشد می باشد. بعد از تشکیل این لایه ها، ساختمان میکروپیل ها^۱ در بین این لایه ها و در سطح تخمک تشکیل می گردند. میکروپیل به شکل قیف بوده، قسمت گشاد آن در سطح تخمک قرار می گیرد. این منافذ در سطح تخمک در قسمت قطب حیوانی وجود دارند و اسپرم ها از آن منافذ به داخل تخمک جهت بارور نمودن نفوذ می کنند. منطقه منافذ میکروپیل زیاد وسیع نبوده و از ۰/۰۳-۰/۱۴ میلی متر مربع سطح قطب حیوانی را تشکیل می دهد (۶). در ماهیان ازون برون، فیل ماهی و تاس ماهی روسی فاصله میان سوراخ بیرونی میکروپیل ها از همدیگر معمولاً بسیار کم (بین ۴۰ تا ۸۰، حداکثر تا ۱۰۰ میکرون) است (۹). تعداد منافذ میکروپیل در هر عدد از تخمک ماهیان استخوانی یک منفذ است (۱)، در حالی که این منافذ در تخمک ماهیان خاویاری متفاوت و به طور معمول بیش از یک میکروپیل گزارش شده است (۴ و ۹). وقتی که تعداد منافذ میکروپیل ۵ تا ۱۰ عدد باشد، مساحت میکروپیل در قطب حیوانی بین ۱۲۰ تا ۱۳۰ میکرون خواهد بود، به طوری که میکروپیل ها در یک محدوده مشخص از سطح قطب حیوانی قرار خواهند گرفت (۹).

متوسط اندازه دهانه میکروپیل (غشاء خارجی) ۲۱/۹ میکرون و متوسط اندازه قسمت باریک میکروپیل (غشاء داخلی) ۱۸/۵ میکرون در تاس ماهیان می باشد (۴). قسمت مجرای تنگ میکروپیل هر گونه از اندازه عرض سر اسپرماتوزوئید همان گونه اندکی بیشتر است که در هیبریداسیون این نکته رعایت می شود (۶). از آنجایی که شکل، تعداد و ابعاد میکروپیل در انواع گونه های تاس ماهیان و حتی در یک گونه و در یک مولد متغییر بوده و بعضاً به عنوان کلید شناسایی گونه ها به کار می رود، بنابراین هدف از این پژوهش، مطالعه و تعیین تعداد میکروپیل در

1- Micropyle



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 ($P > 0/05$).

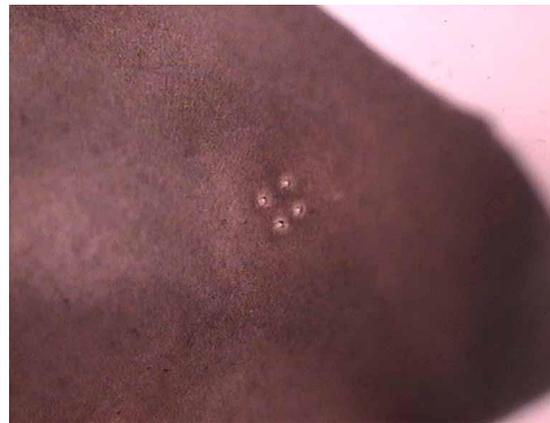
آماری، نرم‌افزار Excel و آزمون توکی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

نتایج به‌دست 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.



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



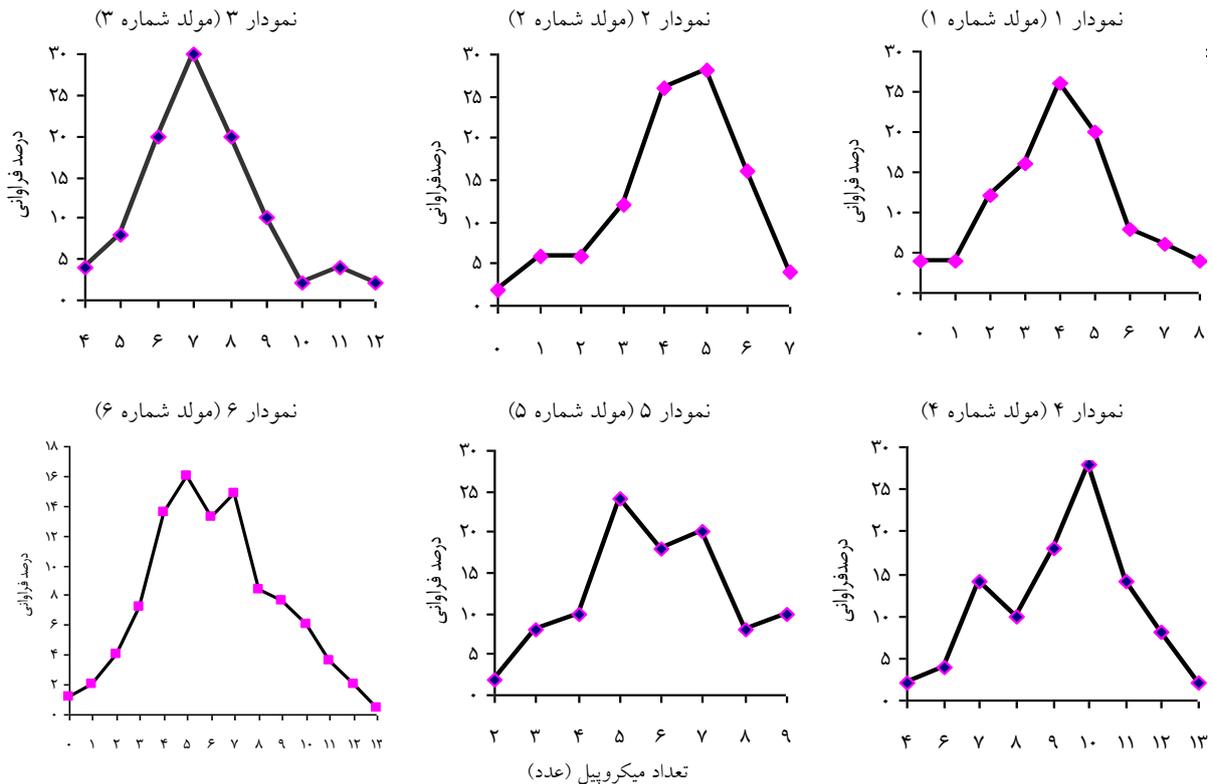
شکل ۱- نمایی از تجمع میکروپیل‌های ۴ تایی در تخمک تاس ماهی روسی (۲۰X)



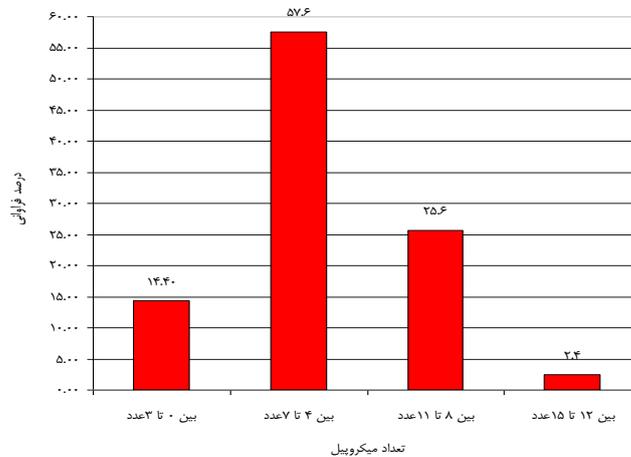
شکل ۴- نمایی از تجمع میکروپیل‌های ۸ تایی در تخمک تاس ماهی روسی (۲۰X)



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



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



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

بحث و نتیجه گیری

بر اساس مطالعات صورت گرفته توسط Ginsburg و Dettlaff (۶) تعداد منافذ میکروپیل 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 میکروپیل در تخمک ماهی ازون برون بین صفر تا ۱۰ عدد در هر تخمک گزارش داده است. طبق گزارشات حلاجیان و همکاران (۱۳۷۸) تعداد منافذ میکروپیل در تخمک مولدین ازون برون ۲ تا ۱۳ عدد، در مولدین تاس ماهی ایرانی بین ۲ تا ۲۷ عدد، در مولدین



و یا عدم تشخیص قطب حیوانی از گیاهی، آن تخمک‌ها در محاسبات مد نظر قرار نگرفتند، ولی با تمام دقت باز چنین تخمک‌های در ۲ عدد ماهی (یکی ۴ درصد و دیگری ۲ درصد) مشاهده گردید. با وجود کم بودن فراوانی تخمک‌هایی بدون میکروپیل نشان می‌دهد که در بعضی موارد این عامل می‌تواند دلیل لقاح نیافتن تخمک‌ها باشد.

علت پلی‌اسپرمی شدن تخمک‌ها و راه‌های جلوگیری از آن می‌تواند از موضوعات تحقیقاتی جالبی باشد که علاوه بر تعداد میکروپیل، سایر موارد از قبیل کیفیت تخمک، رقت و کیفیت اسپرم را نیز می‌توان مورد بررسی قرار داد. تاس ماهیان به‌علت دارا بودن چند میکروپیل بعضاً چند عدد اسپرماتوزوئید به‌طور همزمان نیز وارد یک تخمک شده که حالت پلی‌اسپرمی را ایجاد می‌کند. اگرچه به‌نظر می‌رسد که حضور میکروپیل‌های متعددی شانس پلی‌اسپرمی را افزایش دهد، ولی وجود فرآیند دو برابر کوچک شدن مجرای میکروپیل‌ها بعد از ورود اولین اسپرم شانس عبور تعداد زیادی اسپرم به بخش انتهایی مجرا را کاهش داده و دخول آن را به فضای پری‌وتیلین محدود می‌کند و در حال حاضر مشخص نیست که آیا مکانیسم ممانعت سریع از پلی‌اسپرمی در تخم‌های ماهیان خاویاری موجود است یا خیر. ولی با این وجود احتمال ورود چند اسپرم به داخل هسته تخمک به‌علت پائین بودن کیفیت تخمک وجود دارد. این‌گونه تخم‌ها جزء تخم‌های لقاح یافته محسوب می‌گردند و اسپرماتوزوئیدهای که وارد محوطه سیتوپلاسمی می‌شوند در طی فرایند تکامل تخم ۳، ۴ و حتی بیشتر 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

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 تاس‌ماهی روسی ۱ تا ۵۲ عدد (۱۰)، صفر تا ۴۵ عدد (۱۱) و ۱ تا ۴۳ عدد (۹)، در ماهی استرلیاد (*A. ruthenus*) ۵ تا ۱۳ عدد (۹) و در تاس‌ماهی سفید (*A. transmontanus*) ۳ تا ۱۵ عدد (۹) در هر تخمک گزارش شده است.

گزارش‌های کارشناسان روسی در ارتباط با تعداد منافذ میکروپیل در تخمک تاس‌ماهیان مربوط به تاس‌ماهیان بخش‌های شمالی دریای خزر (سواحل شوروی سابق) بوده و در بخش‌های جنوبی دریای خزر (سواحل ایران) تحقیقی صورت نگرفته تا این‌که در سال ۱۳۷۷ توسط حلاجیان تعداد میکروپیل‌های تخمک گونه‌های تاس‌ماهی ایرانی، ازون‌برون و فیل‌ماهیان صید شده در سواحل جنوبی دریای خزر مورد تحقیق قرار گرفته است.

در پژوهش حاضر دامنه تعداد منافذ میکروپیل در تخمک مولدین تاس‌ماهی روسی صید شده در سواحل جنوبی دریای خزر بین صفر تا ۱۳ عدد بوده که نسبت به تعداد میکروپیل‌های گزارش شده در تاس‌ماهی روسی نواحی شمالی دریای خزر متفاوت است، به‌طوری‌که تعداد میکروپیل شمارش شده این ماهی در نواحی جنوبی (تا ۱۳ و متوسط ۶ عدد در هر تخمک) نسبت به تاس‌ماهی روسی نواحی شمالی دریای خزر (تا ۵۲ عدد و متوسط ۲۵ عدد (۱۰) و تا ۴۵ عدد (۱۱) کمتر بوده است.

بیشترین درصد فراوانی میکروپیل همان‌طوری‌که در شکل ۶ دیده می‌شود بین ۴ تا ۷ عدد در هر تخمک می‌باشد.

موضوع قابل ذکر، فراوانی تخمک‌های بدون میکروپیل است. اما با مد نظر قرار گرفتن احتمال اشتباه در هنگام انتخاب قطب در تخمک به‌علت خراب بودن



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.

می‌شوند که این گروه نیز به صورت کرمی غیرعادی و یا با سرهای تکامل نیافته ظاهر می‌شوند (۹).

همانند تاس ماهیان مطالعه شده (تاس ماهی ایرانی، ازون برون و فیل ماهی) در حوزه جنوبی دریای خزر (۳) تعداد میکروپیل‌های تخمک در تاس ماهی 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 تاس ماهی روسی و دیگر ماهیان خاویاری حوزه جنوبی دریای خزر نشان‌دهنده تعداد کم آنها نسبت به حوزه شمالی دریای خزر است، این موضوع که آیا تاس ماهی روسی صید شده در این

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 ازون برون در رود ولگا. مترجم رجب‌محمدنظری (۱۳۷۵). ژورنال ایکیتولوژی، ۳۳ (۴) ۳ صفحه.
- ۳- حلاجیان، ع.، ۱۳۷۷. بررسی تعداد و وضعیت میکروپیل در تخمک تاس ماهیان 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 تاس ماهیان جنوب دریای خزر. مجله علمی شیلات 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.، مستعیر، 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**

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; Email: hallajianali@yahoo.com

