در
امور دام و آبزیان شماره ۷۸ بهار ۱۳۸۷
پژوهش و سازندگی

شناسایی مراحل رشد ونمو جنینی ازون برون (*Acipenser stellatus*)

● **حسین پرندآور**
مربی پژوهشی وزارت جهاد کشاورزی
● **شهربانو عریان**
استاد دانشگاه تربیت معلم تهران ـ (دانشکده علوم پایه ، گروه زیست شناسی)
● **محمد پورکاظمی**
دانشیار وزارت جهاد کشاورزی
تاریخ دریافت: مردادماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: مهرماه ۱۳۸۵
Email: H_parand@yahoo.com

چکیده

در این بررسی ۳۶ مرحله مختلف از روند رشد جنینی ماهی ازون برون دریای خزر از ابتدای لقاح و اولین تسهیم[۱]، بلاستولاسیون[۲]، گاسترولاسیون[۳]، نورولاسیون[۴]، ارگانوژنز[۵] تا مرحله تخم گشایی[۶] مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور دستیابی به اطلاعات دقیق زمانی هر مرحله، هر ۳۰ دقیقه یکبار از تخم‌های لقاح یافته در انکوباتور تا قبل از مرحله بلاستولاسیون و بعد از آن در فواصل زمانی یک تا ۱/۵ ساعت، نمونه برداری صورت گرفت.در هر مرحله نمونه برداری حداقل ۱۰۰ عدد تخم انتخاب و در شیشه‌های کوچک حاوی محلول فیکساتیو بوئن و فرمالین۴٪ نگهداری گردیدند. همزمان با برداشت تخم‌های لقاح یافته، میزان اکسیژن و درجه حرارت آب انکوباتور به کمک دستگاه اکسیژن متر دیجیتال اندازه‌گیری و ثبت گردید. جهت تعیین وزن تخم‌ها از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده شد. بررسی‌ها نشان داد که دمای آب در مرحله انکوباسیون از ۱۹ تا ۲۵ درجه سانتیگراد و میزان اکسیژن از ۶/۶ تا ۸/۴ میلی گرم در لیتر متغیر بود. در این بررسی نتایج بدست آمده نشان داد که اولین تقسیم (تسهیم) در ۳/۲۶ درجه ساعت، آغاز بلاستولاسیون در ۸۹/۲ درجه ساعت، شروع گاسترولاسیون در ۲۶۱/۸ درجه ساعت، شروع نورولاسیون در ۴۴۱ درجه ساعت و شروع ارگانوژنز در ۵۲۸ درجه ساعت و زمان تخمه گشایی در ۱۳۳۵/۳ درجه ساعت پس از لقاح اتفاق افتاد. میزان لقاح بدست آمده در زمان اولین تقسیم ۹۷ درصد و میزان بازماندگی در پایان مرحله تخمه گشایی ۸۴ درصد بود. با بررسی حاضر مشخص گردید که اگرچه کلیه تاسماهیان از یک الگوی رشد و نمو جنینی تبعیت می کنند اما دما نقش مهمی را در مدت زمان تخمه گشایی در گونه‌های مختلف و حتی در جمعیت مختلف یک گونه ایفا می‌نماید.

کلمات کلیدی: رشد و نمو جنینی، ازون برون، ایران

Pajouhesh & Sazandegi No 77 pp: 8-14

Embryonic development in stellate sturgeon *Acipenser stellatus*

By:H . Parandavar, International Sturgeon Research Institute, Sh Oryan and Biology Group, Science Faculty, University of Tarbiyat Moallem, Tehran, Iran M. Pourkazemi Rasht, Iran

The development and embryogenesis in stellate sturgeon from the onset of insemination up to hatching through 36 stages including early cleavage, blastulation, gastrulation and organogenesis was studied. To achieve accurate information during each stage, samples of fertilized eggs from the incubator were collected 30 min intervals prior to blastulation and at 30-60 min intervals after blastulation. At each stage at least 100 egg specimens were collected. and transferred to small bottles and fixed in buoin solution and 4% formalin solution. Dissolved oxygen concentrations and water temperature in the incubators were recorded during each sampling. Egg samples were weighed to the nearest 0.001 g. Water temperature ranged from 19-25°C and dissolved oxygen concentrations varied from 6.6-8.4 mg L^{-1} during incubation. First cleavage divisions started at 26.25 t^{o}, blastula at 89.2 t^{o} and early gastrula at 261.8 t^{o} after insemination. Neurulation started at 441 t^{o} and hatching of larvae commenced at 1335.3 t^{o} after insemination. Fertilization achieved was 97 per cent and survival rate at the end of hatching was 84 per cent. It is evident from the results obtained from the present study that although embryogenesis in all sturgeons follow a similar pattern, temperature plays a vital role in hatching in different species and as well as in different populations of one species.

Keywords: Embryonic development, Stellate sturgeon

مقدمه

ماهی ازون بـــرون(*Acipenser stellatus*) از گـــروه ماهیان رودکوچ بوده(۷) که جهت تخم‌ریزی به رودخانه‌های منتهی به دریا و دارای آب مناســـب مهاجرت می‌کند و در گذشته سهم عمده‌ای را در تولید خاویار ایران داشت.

آمار صید ماهیان خاویاری در طی ۱۰ سال گذشته کشورمان نشان می‌دهد که میزان اســـتحصال خاویار انواع تاسماهیان سیر نزولی داشته واز مقدار ۱۹۳ تن در ســـال ۱۳۷۲ به مقدار ۲۶/۶ تن در ســـال ۱۳۸۳ رســـیده اســـت ودر این میان خاویار ازون برون که زمانـــی۵۷/۵ درصد (۱۱۱تن) از کل اســـتحصال خاویار کشورمان را در سال ۱۳۷۲ به خود اختصاص می‌داد در ســـال ۱۳۸۳ این میزان بـــه ۱۰/۹ درصد(۲/۹ تن) رسیده است.

با توجه به پیشـــرفت فعالیت‌های حفاری چاه نفت در دریای خزر و متعاقب آن آلودگی آب این دریاچه به مواد نفتی، همچنین از بین رفتن جایگاههـــای تخم‌ریزی طبیعی، صید بیش از حد و غیر مجاز(۱، ۲، ۴، ۶ ، ۲۲) و ســـایر عوامل انسانی باعث گشته تا ساختار جمعیتی ماهیان خاویاری را تحت تأثیر قرار دهد.با توجه به مطالب ذکر شـــده لازم است کـــه اصـــول فیزیولوژیک و کاربرد آن در تکثیر و پرورش ماهیان بســـیار جدی گرفته شـــود و در این راســـتا مطالعه مراحل رشـــد و نمو جنینی ماهیان مختلف، اساســـی‌ترین اقدامات برای بدست آوردن اطلاعات در زمینه مشـــکلات و نارســـایی‌های ازدیاد ذخایر ماهیان خاویاری و حفظ نسل آن‌ها می‌باشد(۱۰).

با توجه به مشـــکلاتی که امروزه در برخی از مراحل تکثیر و پرورش ماهیان از جمله ماهیان خاویاری وجود دارد، بررسی رشد و نمو جنینی در مرحله انکوباسیون می‌تواند کمک مؤثری در جهت آگاهی از وضعیت جنیـــن ماهیان و شـــناخت عوامل د خیل در رشـــد و نمو آن‌هـــا نماید. ماهیان خاویـــاری از زمان لقاح تا زمان تفریخ ۳۶ مرحله جنینی را طی می‌نمایند. اولین اطلاعات در مورد جنین شناســـی تاســـماهیان توسط Kowalewsky و همکاران در ســـال ۱۸۷۰ ارائه شد که رشد و نمو لارو را در گونه شـــیپ (*Acipenser nudiventris*) بررسی کرد و این اطلاعات بعدها توســـط محققین دیگر(۲۵، ۲۶ ، ۲۷)کامل شد. در ایران نیز این گونه بررسی‌ها در قالب پروژه دانشجویی از جمله: بررسی مراحل جنینی تاســـماهی ایرانی(۵) صورت گرفته است. هدف از این بررسی، شناخت مراحل مختلف رشـــد و نمو جنینی ازون بـــرون از مرحله لقاح تا مرحله تفریخ در شرایط کارگاهی کشورمان بوده است.

مواد و روش کار

صیـــد ماهیان مولد خاویاری جهت انجام تکثیر مصنوعی در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شـــهید بهشـــتی درصیدگاههای ناحیه ۱و۲ شیلاتی و رودخانه سفیدرود صورت می‌گیرد(۳).

در این بررسی از ماهی ازون برونی که با استفاده از تور پره(Beach net) در رودخانه ســـفیدرود صید شـــده بود، اســـتفاده گردید. جهـــت رســـیدگی جنســـی از هورمون هیپوفیز ماهی کپور(۱۶) اســـتفاده شد و تزریق در دو مرحله بر اســـاس کار روس‌ها (۳) صورت گرفت. از مولد مذکور به مقدار ۱/۷کیلو گرم تخم اســـتحصال گردید.تخم‌های بدســـت آمده پس از انجام لقاح با اســـپرم و مراحل اولیه آن(به هم زدن بمنظور دخول اســـپرم‌ها به داخل تخمک و شستشو با گل رس به منظور از بین بردن چسبندگی تخم ها) به داخل انکوباتور مخصوص ماهیان خاویاری موســـوم به یوشچنکو نگهداری گردیدند.هر انکوباتور دارای ۴ تراف بوده و در هر تراف به میزان ۵۰۰ تا ۷۰۰ گرم تخم لقاح داده شـــده، ریخته

شد.برای اندازه‌گیری میزان اکسیژن و درجه حرارت آب در هر بار نمونه برداری از دستگاه اکسیژن متر دیجیتال مدل Oximeter ۳۲۳-B/set استفاده گردید.

به منظور دستیابی به اطلاعات دقیق از نظر زمانی، نمونه برداری از تخم‌ها در فواصل زمانی کوتاه(از شروع لقاح تا قبل از مرحله بلاستولاسیون هر ۳۰ دقیقه و از آن به بعد تا مرحله تخمه گشایی در فواصل زمانی ۱ تا ۱/۵ ساعت) صورت گرفت.

در هر مرحله نمونه برداری، حداقل ۱۰۰ عدد تخم از انکوباتور برداشته شد و در شیشه‌های کوچک حاوی محلول فیکساتیو بوئن(به نسبت ۱، ۵، ۱۵ میلی لیتر اسیدپیکریک، فرمالین و اسید استیک گلاسیال) و همچنین فرمالین ۴٪ جهت بررسیهای بعدی نگهداری شد.

به منظور سهولت در بررسی وضعیت پیشرفت لقاح و تقسیمات حاصل از رشد و نمو جنین، به کمک لوپ مدرج و با استفاده از ۲ سوزن، با دقت و ظرافت خاص پوسته زدایی تخم‌ها انجام شد. قطر تخم‌ها در هر مرحله بررسی با استفاده از لوپ مدرج و وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتال ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

در این بررسی، از واحد درجه ساعت(از حاصلضرب درجه حرارت آب در مدت زمان شروع یک مرحله جنینی پس از لقاح به ساعت) برای هر مرحله استفاده گردید.

نتایج

دامنه تغییرات در جه حرارت در طی ۳۶ مرحله(۵۴/۵ ساعت) از ۱۹ تا ۲۵ درجه سانتیگراد و دامنه تغییرات اکسیژن از ۶/۶ تا ۸/۴ میلی گرم در لیتردر نوسان بود.

بررسی‌های انجام گرفته در این طرح نشان داد که اولین تقسیم کلیواژی که تخم را به دو نیم نمود، در ۲۶/۳درجه ساعت صورت گرفت (درجه حرارت آب ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱/۲۵ ساعت پس از لقاح) (شکل۱). بررسی تخم‌ها در این مرحله نشان داد که درصد لقاح برابر ۹۷ درصد بود.

دومین تقسیم کلیواژی که از ناحیه استوایی تخم گذشته بود در ۴۲ درجه ساعت صورت گرفت (درجه حرارت آب ۲۱درجه سانتی‌گراد و ۱/۲۵ ساعت پس از لقاح) (شکل ۲).

در این مرحله از بررسی، تخم‌هایی مشاهده گردید که دارای تقسیمات ناهنجار بوده و از الگوی تقسیم طبیعی پیروی ننموده و بصورت تقسیمات ۶ تایی و ۷ تایی ظاهر شدند (شکل ۳).

در سومین تقسیم کلیواژی، سطح قطب حیوانی به هشت بلاستومر تقسیم گردیدند که این اتفاق در ۶۶/۹ درجه ساعت صورت گرفت(درجه حرارت آب ۲۱درجه سانتی‌گراد و ۱/۲۵ ساعت پس از لقاح) (شکل۴).

شروع بلاستولاسیون در ۸۹/۲ درجه ساعت بود (درجه حرارت آب ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱/۲۵ ساعت پس از لقاح) در این مرحله پیشرفت اولین و دومین خط تقسیم از قطب حیوانی تا قطب گیاهی مشاهده شد(شکل۵).

در مرحله گاسترولاسیون(مرحله ۱۳) یک پیگمان پررنگ نازکی در بین قطب حیوانی و نباتی مشاهده گردید که اندکی از خط استوایی تخم بالاتر و نزدیک به قطب حیوانی بود.در این مرحله تمام قسمت قطب حیوانی دارای رنگ روشن‌تری بود. این مرحله در ۲۶۱/۸ درجه ساعت صورت گرفت (درجه حرارت آب ۲۱درجه سانتی‌گراد و ۱/۲۵ ساعت پس از لقاح) (شکل۶).

گاسترولای پیشرفته در ۲۹۲/۸ درجه ساعت(دمای ۲۴/۴ درجه سانتیگراد و ۱۲ ساعت پس ازلقاح) بود(شکل۷).

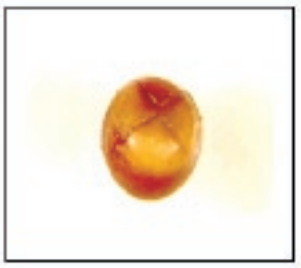
شروع نورولاسیون در ۴۴۱ درجه ساعت (درجه حرارت آب ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱/۲۵ ساعت پس از لقاح)بود که در این مرحله تشکیل لوله عصبی مشاهده گردید(شکل۸).

شروع ارگانوژنز در ۵۲۸ درجه ساعت (درجه حرارت آب ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱/۲۵ ساعت پس از لقاح) صورت گرفت و اولین ضربان قلب (مرحله ۲۸) در ۷۶۲/۵ درجه ساعت(درجه حرارت آب ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱/۲۵ ساعت پس از لقاح) مشاهده شد.از این مرحله به بعد روند اندام زایی به وضوح قابل رؤیت بود به گونه‌ای که با ادامه این اندام زایی دم به سر نزدیک شده و جنین نیز در داخل تخم دارای حرکت بود(شکل ۹). زرده شکل گرد به خود گرفته و مویرگ‌های خونی داخل آن قابل مشاهده بود(شکل۱۰) این مرحله (مرحله ۳۱) در ۶۹۸/۳ درجه ساعت (درجه حرارت آب ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱/۲۵ ساعت پس از لقاح) ظاهر گردید. در آخرین مرحله (مرحله ۳۶ یا تخمه گشایی) جنین، پوسته را شکافته و از تخم خارج گردید. بر این اساس اولین لارو در ۱۳۳۵/۳ درجه ساعت (دمای ۲۴/۵ درجه ساعت و ۵۴/۵ ساعت پس از لقاح) ظاهر گردید(شکل ۱۱). در پایان مرحله تخمه گشایی از مجموع ۱۰۰ تخم مورد بررسی تنها ۸۴ عدد آن تبدیل به لارو گردید.

بحث

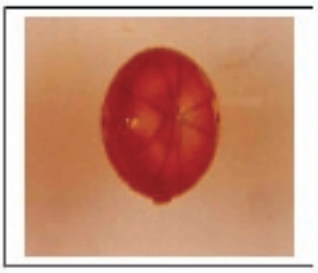
تخم لقاح نیافته و رسیده ماهی خاویاری، گرد و یا کمی کشیده می‌باشد و رنگ آن طوسی مایل به قهوه‌ای است و امکان تغییر رنگ وجود دارد(۲۰). عمل لقاح با تغییرات قابل ملاحظه‌ای در رنگدانه‌ها شروع می‌شود، رنگ در ناحیه قطب حیوانی به جز یک لکه تیره در رأس آن روشن است و ناحیه قطب گیاهی به همان رنگ تیره می‌ماند. در این مرحله فضای دور زرده‌ای یا پری ویتلن که بلافاصله بعد از لقاح و در اثر فشرده شدن پلاک‌های زرده‌ای (Platelletes) در زیر میکروپیل و بین زرده و کوریون ایجاد شده و نمایان می شود و در آن ناحیه توده پروتوپلاسمی اولیه که کلاهک(Cap) ویا دیسک ژرمینال یا پیاله جانوری(Germinal disk) نیز نامیده می‌شود، در سطح زرده و در قسمت قطبی جانوری می‌گیرد.پس از آن اولین تقسیم کلیواژی صورت می‌گیرد که در بررسی حاضر این تقسیم در دمای ۲۱ـ۱۹ درجه سانتیگراد در فاصله زمانی ۱/۴۵ ـ ۱/۱۵ ساعت پس از لقاح کامل گردید که تقسیم از نوع مروبلاستیک(Meroblastic) بودیعنی تقسیمات شکافتگی تنها بخش ژرمینال در قطب جانوری را شامل شده و موجب تشکیل دو بلاستومر با اندازه یکسان گردید. در بررسی که توسط Dettlaff و همکاران بر روی فیلماهی انجام گرفت، اولین تقسیم کلیواژی ۱۱۰ دقیقه پس از لقاح و در چالباش ۱۵۰ دقیقه پس از لقاح و در دمای ۱۸/۴ درجه سانتیگراد بود(۱۵). در بررسی صورت گرفته بر روی تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*) این تقسیم پس از

شکل ۱ ـ اولین تقسیم کلیواژی
(تقسیم شدن سطح قطب حیوانی
به ۲ بلاستومر)



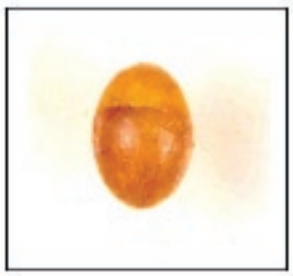
شکل ۲ ـ دومین تقسیم کلیواژی
(تقسیم شدن سطح قطب حیوانی به
۴ بلاستومر)

۳ ـ تخم‌های پلی اسپرمی
(تقسیمات غیر طبیعی تخم)



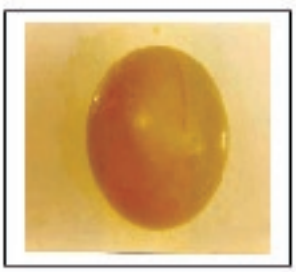
شکل ۴ ـ سومین تقسیم کلیواژی
(تقسیم شدن سطح قطب حیوانی به
۸ بلاستومر)

شکل ۵ ـ مرحله بلاستولاسیون
(پیشرفت خطوط تقسیم از قطب حیوانی
تا قطب گیاهی)

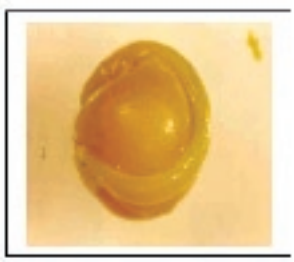


شکل ۶ ـ مرحله گاسترولاسیون
(مشخص شدن مرز بین قطب حیوانی
و قطب گیاهی)

شکل ۷ ـ گاسترولاسیون پیشرفته
(پیشرفت قطب حیوانی به سمت قطب
گیاهی)



شکل ۸ ـ مرحله نورولاسیون
(تشکیل لوله عصبی)



شکل ۹ـ مرحله ارگانوژنز
(تشکیل و تکمیل شدن اندام زایی
در جنین)

شکل ۱۰ـ ادامه پیشرفت ارگانوژنز
و مشاهده مویرگها

شکل ۱۱ـ مرحله شروع تخمه گشایی

سه ساعت صورت گرفت(۵).

دومین تقسیم کلیواژی باعث نمایان شدن ۴ بلاستومر در سطح زرده میگردد. شیارهای دومین تقسیم سلول قبل از اینکه مراحل تکمیل اولین تقسیم خود را طی کند، تشکیل می‌شود. این تقسیم در بررسی حاضر در فاصله ۳۰/۲ – ۲ ساعت پس از لقاح انجام گرفت.در بررسی انجام گرفته بر روی فیلماهی دومین تقسیم کلیواژی در ۱۵۰ دقیقه پس ار لقاح صورت گرفته است(۱۵).این تقسیم در تاسماهی ایرانی نیز ۴/۳۰ – ۴ ساعت پس از لقاح صورت گرفته است(۵).

از نکات قابل توجه در این مرحله وجود تخم‌هایی است که دارای تقسیمات کلیواژی غیر طبیعی می‌باشند که دلیل آن می‌تواند احتمالاً دخالت همزمان چند اسپرم در عمل لقاح (پلی اسپرمی) و تقسیمات سلولی باشد که در نتیجه چند بلاستومر در آن واحد ایجاد می‌شود(۷ ، ۱۵) که توسعه و تکامل این تخم‌ها بطور طبیعی پیش می‌رود و در اثر تکامل این تخم هاجنین در آن ایجاد می‌شود ولی قبل از بیرون آمدن از تخم می‌میرد و فقط تعداد معدودی از آن‌ها تبدیل به لاروهایی با شکل غیر طبیعی، خمیده، بدن کوتاه و سر کامل نشده خارج می‌شوند که خواهند مرد(۱۷ ، ۱۸).

در سومین تقسیم بلاستومری سطح قطب حیوانی به هشت بلاستومرتقسیم می‌گردد که در این مرحله قطبی شدن سلول(میکرومرها و ماکرومرها)به قطبهای حیوانی ـ نباتی متمایز هویدا می‌شوند. در بررسی حاضر این مرحله در ۳/۳۰ – ۳ ساعت پس از لقاح صورت گرفت. این مرحله در تاسماهی ایرانی ۶/۴۵ – ۵ ساعت پس از لقاح صورت گرفت(۵).

چهارمین تقسیم کلیواژی مصادف با تقسیمات بلاستومری به ۱۶ قسمت می‌باشد که اولین و دومین تقسیم تا قطب گیاهی کشیده شده است. از این مرحله به بعد بلاستومرها شروع به فاصله گرفتن از یکدیگر می‌نمایند و در قطب جانوری تقسیم سلولی با سرعت بیشتری جریان می‌یابد و مرزهای سلولی کم کم نامشخص می‌شود و سلول‌ها به سمت دو لایه شدن پیش می‌روند. با افزایش تقسیمات سلول، تخم وارد ابتدای مورولا می‌شود.شروع وقوع این مرحله در بررسی حاضر در ۱۷۶/۸ درجه ساعت(۸ ساعت پس از لقاح و در دمای ۲۲/۱ درجه سانتیگراد)صورت گرفت.

در این مطالعه شروع گاسترولاسیون(مرحله ۱۳) در۲۶۱/۸ درجه ساعت(۱۱ ساعت بعد از لقاح ودر دمای۲۳/۸ درجه سانتیگراد) بود و در۴۱۳/۱ درجه ساعت به گاسترولای پیشرفته رسید. بررسی‌های صورت گرفته نشان داد که برش بافت شناسی این مرحله مطابق با کار Dettlaff و همکارانش در سال ۱۹۹۳ بود که سه لایه اکتودرم، اندودرم و مزودرم قابل تشخیص بود. در این مرحله یک پیگمان پر رنگ نازکی در بین قطب حیوانی و نباتی ایجاد می‌شود که اندکی از خط استوایی تخم بالاتر نزدیک به قطب حیوانی است و تمام قسمت قطب حیوانی دارای رنگ روشن تری است که در قطب گیاهی سلول‌های بلاستومر شروع به کوچک شدن می‌کنند(۷) که گسترش بلاستومرها بر سطح زرده نشانه‌ای از عبورمرحله بلاستولا به مرحله گاسترولا می‌باشد.

شروع گاسترولاسیون بر روی چالباش در فاصله ۱۰۱۰ – ۹۷۰ دقیقه و انتهای گاسترولاسیون ۱۹۰۰ دقیقه پس از لقاح(۲۳) و در ازون برون ۱۰۱۵ – ۹۸۰ دقیقه و انتهای گاسترولاسیون ۱۹۵۵ دقیقه پس از لقاح(۱۵) و در فیلماهی ۱۰۰۰ دقیقه پس از لقاح و انتهای آن در ۱۹۰۰ دقیقه پس از لقاح بود(۲۱). در بررسی مشابه‌ای که بر روی تاسماهی ایرانی صورت گرفته است، گاسترولاسیون ۲۰ ساعت بعد از لقاح آغاز و در ۴۳ ساعت بعد از لقاح به مرحله پیشرفته خود رسید(۵). پس از مرحله گاسترولاسیون، دو لبه بلاستوپور به هم وصل شده و تشکیل شیار بلاستوپور را داده و خط عصبی تشکیل می‌گردد(۷). این مرحله، هیجدهمین مرحله رشد و نمو جنینی(شروع نورولاسیون) می‌باشد که در بررسی حاضر در ۴۴۱ درجه ساعت (۱۸ ساعت پس از لقاح و در دمای ۲۴/۵ درجه سانتیگراد) صورت گرفت.این مرحله در ماهی چالباش در ۵۸۵ درجه ساعت(در دمای ۱۸ درجه سانتیگراد و۳۲/۵ ساعت پس از لقاح بود) (۱۵) و در تاسماهی ایرانی ۴۳ ساعت پس از لقاح بود(۵). پس از نورولاسیون مرحله اندام زایی آغاز گردید(مرحله ۲۳ رشد و نمو جنینی) و در طی آن جنین بر سطح زرده کاملاً برجسته و مشخص بود و با پیشرفت مرحله اندام زایی در مرحله ۲۸ رشد ونمو جنینی، اولین ضربان قلب(۷) در۷۷۷ درجه ساعت(۳۱/۰۸ ساعت پس ار لقاح و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد) مشاهده گردید.پیشرفت اندام زایی صورت گرفته و پس از طی مراحل مختلف (تشکیل قلب، چشم، دم و سر) به مرحله‌ای می‌رسد که جنین در داخل تخم شروع به حرکت می‌نماید و زرده شکل گرد بخود گرفته و مویرگ‌های خونی داخل آن قابل ملاحظه می‌باشد(۷) که این حالت در بررسی حاضر در مرحله ۳۱ و ۹۴۳/۳ درجه ساعت (۳۸/۵ ساعت پس از لقاح در دمای ۲۴/۵ درجه سانتیگراد) ملاحظه شد.بر اساس مطالعات صورت گرفته در تاسماهی ایرانی آغاز مرحله نورولاسیون ۴۹ ساعت پس از لقاح و آخرین مرحله اندام زایی ۶۸ ساعت پس از لقاح بود(۵).

آخرین مرحله، شکستن تخم و خروج لارو از آن(Hatching) بود که لارو با تقلا و ترشح غده مخصوص، پوسته خارجی را پاره کرده و با ایجاد شکافی نوزاد ماهی با سر از پوسته خارج می‌گردد. بعضی از نوزادان نیز با دم خارج می‌گردند(۷).در بررسی حاضر، اولین لارو در ۱۳۳۵/۳ درجه ساعت(۵۴/۵ ساعت پس از لقاح و در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد) از پوسته تخم خارج گردید.شکستن تخم و خروج لارو تاسماهی ایرانی از پوسته ۷۷ ساعت پس از لقاح بود (۵).

آزمایشات Dettlaff و Ginsburg در سال ۱۹۵۴ نشان داد که در دمای ثابت ۱۶ درجه سانتیگراد، بعد از ۱۲۳ ساعت (۱۹۶۸ درجه ساعت) و در دمای ۲۳/۱ درجه سانتیگراد، پس از ۶۷/۵ ساعت (۱۵۵۹/۳ درجه ساعت) بطور دقیق عمل بیرون آمدن لارو از تخم صورت می‌گیرد(۱۵).

مطالعات نشان داده است که درجه حرارت، فاکتور مهمی در موفقیت تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری است(۱۶،۱۲). همچنین مراحل طبیعی تکامل اولیه در شرایط درجه حرارت ۲۰ – ۱۴ درجه سانتیگراد برای تاسماهی آتلانتیک(۱۴)، تاسماهی دریاچه ای(۱۹)، تاسماهی سفید(۱۱) و پاروپوزه(۹) گزارش گردید. مطالعات Dettlaff و Ginsburg نشان داد که جنین ازون برون، چالباش و فیل ماهی در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد رشد یکسان دارند و در دمای پایین‌تر از ۱۵ درجه

سانتیگراد، جنین گونه‌های سرمادوست نظیر چالباش سریع‌تر رشد می‌نمایند و در دمای ۱۷ درجه سانتیگراد جنین ازون برون که گرما دوست است، سریع‌تر رشد می‌کند. علاوه بر آن تولید مثل ماهیان، فصلی است و جنین و لارو آنها، دامنه دمایی مناسب تقریباً باریکی را که خاص هر گونه هست را نشان می‌دهد(۸، ۱۳). با وجود محدوده جغرافیایی وسیع گونه‌های تاسماهی انتظار می‌رود که سازگاری دمای تخمریزی آن‌ها نیز بسیار وسیع باشد. اطلاعات گونه‌های اروپایی که توسط Dettlaff در سال ۱۹۸۱ بررسی شد و داده‌های بررسیWang(۲۸) عکس این را نشان می‌دهند یعنی همه گونه‌های تاسماهی بررسی شده از نظر سازگاری دمای تخمریزی، بسیار متعصب می‌باشند(همان دمای تخمریزی را حفظ می‌کنند) و حتی تاسماهی سیبری از رودخانه لنا همان دامنه دمای تخمریزی ۱۸ ـ ۱۰ درجه سانتیگراد را نشان داده است(۲۱، ۲۴) تنها استثنا ازون برون است که در آبهای کمی گرمتر(۲۵- ۱۵ درجه سانتیگراد) برای تخمریزی سازگاری یافتند.

از مجموع بررسی و مقایسه حاضر با نتایج حاصل از تحقیقات Dettlaff چنین بنظر می‌رسد که منحنی زمانی روند رشد جنینی ازون برون صید شده در رودخانه سفیدرود در شرایط آب و هوایی ایران کاملاً از منحنی Dettlaff و Ginsburg تبعیت نمی‌نماید و این می‌تواند به همان دلیلی باشد که Wang در سال ۱۹۸۵ به آن اشاره نمود که: اگرچه همه تاسماهیان ممکن است در رشد و نمو جنینی بسیار متعصب بوده و به تغییرات دمای انکوباسیون نیز با جریان‌های متابولیکی یکسان، عکس العمل نشان داده و جنین و لارو آن‌ها دامنه وسیعی از درجه حرارت را در فصلهای تولید مثلی تحمل کنند(بین ۱۰ تا ۲۰ درجه سانتیگراد برای تمام گونه‌ها) اما دمای مناسب در گونه‌های مختلف و حتی در جمعیت‌های مختلف یگ گونه ممکن است متفاوت باشد(۲۸).

تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مالی و تصویب مؤسسه تحقیقات شیلات ایران به اجرا در آمد لذا بدینوسیله ضمن قدردانی و تشکر از همه همکاران محترم در مؤسسه علی الخصوص ریاست محترم وقت جناب آقای دکتر رضوانی و معاونت محترم تحقیقاتی وقت، جناب آقای دکتر معصومیان مراتب سپاس خود را اعلام نموده وهمچنین شایسته است مراتب تشکر و قدردانی خود را از آقای مهندس محمد علی آخوندزاده مدیریت محترم وقت مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی، آقای مهندس یعقوب وهابی رئیس وقت بخش تکثیر مجتمع شهید بهشتی، آقای مهندس سید شفیع شفیع زاده و همکاران بخش فیزیولوژی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری به جهت کمک و یاری اینجانب در مراحل اجرایی این طرح اعلام دارم.

پاورقی‌ها

1- Cleavage
2- Blastolation
3- Gostrolation
4- Neurulation
5- Organogenesis
6- Hatching

منابع مورد استفاده

۱ـ برادران طهوری، ه.، ۱۳۷۷؛ لزوم تکثیر و تولید تاس ماهیان در حوزه جنوبی دریای خزر. ماهیگیری مسئولانه: مجموعه مقالات هفتمین کنفرانس شیلات ایران..شرکت سهامی شیلات ایران.ص ۲۴۴ ـ ۲۲۱.

۲ـ پورکاظمی، م.، ۱۳۷۶؛ نگرشی بر وضعیت تاسماهیان دریای خزر و چگونگی حفظ ذخایر آن. مجله علمی شیلات ایران. سال ششم، شماره ۳. پاییز ۷۶.ص ۲۲ـ۱۳.

۳ـ تیزکار، ب.، ۱۳۷۶؛ مقایسه نرماتیوهای تکثیر و پرورش قره برون صید شده از دریا و رودخانه سپیدرود از مرحله تکثیر تا بچه ماهی نورس. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات. دانشگاه تربیت مدرس نور. ۱۵۹ صفحه.ص ۵۰-۴۲.

۴ ـ رضوانی گیل کلائی، س.، ۱۳۷۷؛ بررسی قابلیت‌های پرورش ماهیان خاویاری. هشتمین همایش ملی شیلات ایران، ۲۸ – ۲۶ بهمن ۱۳۷۷، دانشگاه تهران، کتابچه خلاصه مقالات، ص ۵۰ – ۴۹.

۵ـ شفیع زاده، ش.، ۱۳۷۲؛ مطالعه رشد ونمو جنینی ماهی قره برون.پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیولوژی دریایی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.۱۵۵ صفحه.

۶ـ عبدالحی ، ح. ۱۳۷۷؛ تکثیر مصنوعی ماهی به منظور بازسازی ذخایر. مجموعه مقالات هفتمین کنفرانس شیلات ایران. شرکت سهامی شیلات ایران.ص۲۰۵ ـ ۱۸۷.

۷ـ کهنه شهری، م.آذری تاکامی، ق.، ۱۳۵۳؛ تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران.۲۶۷ صفحه.

8- Alderice, D.F. and C.R. Forrester, 1971; Effect of salinity and temperature on embryonic development of petral sole *Eopsetta jordani*. J. Fish.Res. Board Can. 28:727-744.

9- Ballard, W.W. and Needhum R.G., 1964; Normal embryonic stages of *Polyodon spathula*(walbaum).J Morphol 114: 465-477.

10- Baranicova, I.A., 1979; Condition and current tasks of sturgeon culture.In:Berdichevskii ls (ed) Biological foundation of sturgeon culture development in the water bodies of the USSR, Nauka, Moscow, pp 49-58.

11- Bear, K.E. 1980; Embryonic and larval development of *Acipenser transmontanus*. M.Sc.Thesis.University of California, Davis. 93pp.

12- Binkowsky, F.P. and D.G. Czeskleba, 1980; Methods and techniques for collecting and culturing lake sturgeon eggs and larvae.

13- Blaxter, J.H.S. 1969; Development: Eggs and larvae. Pp177-252. In: W.S. Hoar & D.J. Randall (ed.) Fish physiology. Vol. 3. Academic Press,New York.

14- Dean, B., 1895; The early development of grass pike and sturgeon.J. Morphol. 11:1-62.

15- Dettlaff, T.A., A.S. Ginsburg and O.I. Schmalhausen, 1993; Sturgeon fishes.Springer-Verlag New York Berlin. Heidelberg.

16- Doroshov, S.E. , W.H. Clark , P.B. Lutes , R.L. Swallow , K.E. Beer , A.B. McGuire and M.D. Cochran.1993; Artificial propagation of White Sturgeon(*Acipenser transmontanus*) (Richardson). Aquaculture 32:93-104.

17- Ginsburge , A.S. 1953; Disturbances in development of acipenserid fishes related to the conditions of insemination. Dokl Akad Nauk SSSR 92: 1097-1100.

18- Ginsburg, A.S. 1963; Instruction for artificial insemination of the eggs of Acipenserid fishes.Glavrybvod, Moscow.

19- Harknes, W.J.K. and J.R. Dymond, 1961; The lake sturgeon: The history and problems of conservation. Fish and Wild Life Branch, Ontario Dept. of land Forest. Toronto. 121pp.

20- Holchik. J., 1989; The Freshwater Fishes of Europe, Vol.1 part 2.

21-Igumnova,L.V., 1975; Chronological patterns of embryonic development of the beluga. Sov. J. Dev. Biol. 6: 38-43.

22- Ivanov, V.P., 2000. Biological resources of the Caspian Sea. Astrakhan Published in kaspNIRKH,96 p.

23- Kronig(Chuliskaya), E.V.,1961; On the correlation between the processes of cleavage and gastrulation in *A.gueldenstaedtii* and *A.stellatus*. Dokl Akad Nauk SSSR, 134: 984-986.

24- Nikolskaya, N.G. and L.A. Sytina.1978; A comparative analysis of constant temperature on the embryonic development of for species of sturgeon. J. Ichthyology 18: 86-98.

25- Salensky,V.V., 1978; Development history of the sterlet(*Acipenser ruthenus*).

26- Salensky,V.V., 1980; Development history of the sterlet(*Acipenser ruthenus*). Postembryonic development and development of organs. Tr Ova Estestvoispytatelei pri Kazanskom Univ 10. Pt.2:227-545.

27- Salensky,V.V. 1981; Recherches sur le Development history du sterlet, *Acipenser ruthenus*. Arch. Biol. 2:233-241.

28- Wang, Y.L. & F.P. Binkowski and S.I. Doroshov, 1985; Effect of temprature on early development of white and lake sturgeon, *Acipenser transmontanus* and *A.fulvescens*.