ISSN 1110-0419

التركيب الدقيق لمناسل سمك الهامور (*Epinephelus tauvina*) خلال مراحل التحول الجنسى

نوره أحمد عبيد الكعبى
قسم علم الحيوان ــ كلية العلوم للبنات بالدمام ــ ص.ب. ٨٣٨ الدمام ٣١١١٣ ــ المملكة العربية السعودية

الملخص:

تم إجراء هذا البحث على عدد ٢١ سمكه من أسماك الهامور *Epinephelus tauvina* الناضجة أثناء مراحل التحول الجنسى. وتم فحص المناسل نسيجيا بالطرق المعروفة وبالفحص المجهرى وذلك للتأكد من أن المنسل فى مرحلة التحول الجنسى حيث تم التعرف على هذه المراحل، وجهزت عينات دقيقة جدا بالطرق الإلكترومجهرية الحديثة لدراسة التركيب الدقيق للمنسل أثناء التحول الجنسى.

وقد لوحظ من خلال الدراسة أن منسل أسماك الهامور (*E. tauvina*) يظهر به فى بدء التحول الجنسى المراحل الأولية لنمو البويضات خاصة مرحلة النويات الكروماتينية، كما لوحظ ظهور العديد من الطلائع المنوية التى تتميز بصغر حجمها وكثافة نواتها. ظهرت أيضا بعض الخلايا المحبة التى يخرج منها زوائد سيتوبلازمية قليلة وتتميز باحتوائها على العديد من الحبيبات الكثيفة إلكترونيا. لقد تميز منسل الهامور فى مرحلة التحول الجنسى بظهور العديد من مراحل تخليق الحيوان المنوى.

كلمات داله: إبينفلس توفينا ــ مناسل ــ سمك الهامور ــ التحول الجنسى ــ خنوثة أنثويه ــ التركيب الدقيق.

المقدمه:

لقد قام العديد من العلماء بدراسة ظاهرة الإنعكاس الجنسى فى العديد من الأسماك منها أسماك الهامور، حيث أثبت الباحث (Abu-Hakima, 1987) وجود هذه الظاهرة فى سمك الهامور *Epinephelus tauvina* الذى يعتبر ذو خنوثة أنثوية protogynous hermaphrodites وأشار الباحث الى أن التحول الجنسى فى هذه الأسماك له علاقة بنشاط التبويض.

كما أكد الباحثون (Brusle, *et al.*, 1989 & 1992) وجود هذه الظاهرة فى أسماك الهامور *Epinephelus microdon* ذات الخنوثة الأنثوية حيث تبين بدراسة التركيب الدقيق للمنسل وجود أمهات المني وكذلك الخلايا الجرثومية الأولية والتى تعمل على بناء الخصية فيما بعد. وذكر الباحثان (Reinboth and Brusle-Sicard, 1997) أن ظهور الخلايا الجرثومية الأولية وخلايا ليدج والخلايا المحبة فى المناسل فى مرحلة التحول الجنسى فى الأسماك العظمية *Coris julis* يدعم الإقتراح الذى يؤيد أن للهرمونات الحاثة للمناسل دور مؤثر فى ظاهرة الخنوثة الأنثوية.

واستدل الباحثون (Marino, *et al.*, 2001) على أن أسماك الهامور من نوع *Epinephelus marginatus* يظهر بها أيضا خنوثة أنثوية حيث يحدث ضمور تدريجى للنسيج الأنثوى ويزداد نمو النسيج الذكرى، وتظهر الأفراد الخنثى من شهر مايو وحتى شهر نوفمبر ويتراوح طول هذه الأسماك بين ٦٩ ــ ٩٣ سم، ولقد أوضح هؤلاء الباحثون مميزات التركيب الدقيق للذكور فى هذه المرحلة. وقد درس الباحثان (الكعبى وسالم، ٢٠٠٢) التركيب الدقيق لمناسل سمك الهامور *Epinephelus chlorostigma* حيث لوحظ ظهور خلايا ليدج فى النسيج البينى للمنسل فى مرحلة التحول الجنسى وكذلك ظهور العديد من الخلايا المنوية الأولية والبويضات الممتصة والطلائع المنوية الأولية. وقد أكد أيضا الباحثون (Bhandari, *et al.*, 2003 & 2005) أن حدوث الخنوثة الأنثوية فى أسماك الهامور *Epinephelus merra* مرتبط بتغير مستويات الهرمونات الستيرويدية فى مصل هذه الأسماك.

ولايزال هناك قصور شديد فى معرفة التركيب الدقيق للمناسل فى الأسماك المتحولة جنسيا، ويهدف هذا البحث إلى دراسة التركيب الدقيق للمناسل أثناء مرحلة التحول الجنسى فى أسماك الهامور *E. tauvina* فى الخليج العربى.

المواد وطرق البحث:

لقد أجرى هذا البحث على أسماك الهامور من نوع *Epinephelus tauvina* حيث تم الحصول عليها بعد صيدها من مياه الخليج العربى بساحل الدمام. ولقد جمعت هذه الأسماك فى فترات مختلفة خلال العام.

لقد إستؤصلت المناسل للدراسة بالمجهر الإلكترونى حيث تم تقطيعها إلى أجزاء صغيرة وثبتت فى المثبت ــ الأولي [(٤% جلوتر الدهيد فى محلول الكاكوديلات المنظم 0.1M (pH= 7.4)] لمدة ٤ ساعات (Sabatini, *et al.*, 1963). بعد ذلك غسلت بمحلول الكاكوديلات المنظم ثم تبتت تثبيتا ثانويا بواسطة (١% رابع أكسيد الأوزميوم فى محلول الكاكوديلات المنظم (pH= 7.4) لمدة ساعة ثم غسلت ومررت فى سلسلة تصاعدية التركيز من الكحول الإيثيلى وروقت فى أكسيد البروبلين ثم طمرت فى خليط الأيبون (Rowden & Lewis, 1974) بعد ذلك قطعت الى قطاعات رقيقة (بسمك ١ ميكرون) ثم صبغت بأزرق الطولويدين (١%) وفحصت بالمجهر الضوئى وحددت المناطق المناسبة للفحص بالمجهر الإلكترونى حيث حضرت قطاعات بالغة الرقة (ultrathen sections) التى حملت على شبكات نحاسية ثم صبغت بخلات اليورانيل وسترات الرصاص (Echlin, 1964). وتم فحص القطاعات بالمجهر الإلكترونى النفاذ (TEM) من نوع JOEL JEM 100 c (X) II فى مبنى كلية الطب بجامعة الملك فيصل بالدمام.

النتائج:

لقد تم جمع عدد (٨٧) سمكة هامور من نوع *E. tauvina* وبلغ عدد الأسماك المتحولة جنسيا (٢١) سمكة بنسبة ٢٤,١% والتى تراوحت اطوالها بين ٣٥,٥ ــ ٩٥سم.

وبدراسة التركيب الدقيق لمنسل الهامور فى مرحلة التحول الجنسى تم التعرف على بعض المراحل الأولية من نمو البويضات مثل مرحلة النويات الكروماتينية perinucleolar chromatin stage التى تتميز بكبر حجم النواة التى أغلبها كروماتين حقيقى. ولقد لوحظ فى هذه المرحلة وجود تجمعات صغيرة من الكروماتين الكثيف تتجه ناحية الحافة الخارجية للنواة. كما ظهرواضحا أيضا تجمع للمادة الإلكترونية الكثيفة (nuage) حول الغشاء الخارجى للنواة فى السيتوبلازم الذى يظهر كثيفا إلكترونيا. وتحاط البويضة بشريط رقيق من سيتوبلازم الخلايا الجرابية التى يظهر جزء من أنويتها فى (شكل ١) ويحتوى سيتوبلازمها على العديد من الفراغات وترتكز هذه الخلايا على شريط ضيق من مادة متوسطة الكثافة وهى الصفيحة القاعدية، ولقد لوحظ العديد من الخلايا البينية interstitial cells فى النسيج الضام بين البويضات حيث تتميز هذه الخلايا باحتوائها على أنوية غير منتظمة الشكل وسيتوبلازم قليل الكثافة الإلكترونية ويفصل بينها وبين البويضة غشاء سميك ينتشر به العديد من مناطق الإلتحام (desmosome) (شكل ٢)

ولقد ظهرت العديد من الخلايا الجرثومية الأولية primordial germ cells فى منسل الهامور أثناء مرحلة التحول الجنسى وهى كبيرة بيضاوية غير منتظمة الشكل ونواتها كبيرة دائرية منتظمة الشكل قليلة الكثافة الإلكترونية. وتميزت النواة بظهور جزء صغير من النوية وكذلك بقع صغيرة كثيفة إلكترونيا، كما تميز الغشاء النووى بظهور العديد من الإنبعاجات غير المنتظمة فى جهة واحدة من النواة. ويحتوى سيتوبلازم هذه الخلايا على العديد من الميتوكوندريا الدائرية الشكل حيث لوحظ إختفاء أغلب أعرافها، كما ظهرت العديد من تجمعات المادة الكثيفة إلكترونيا والتى تسمى (nuage) فى أحد جانبى النواة. وقد ظهرت مادة إسمنتية حول النواة مصاحبة للميتوكوندريا (شكل ٣). ولقد لوحظ العديد من الخلايا المنوية الأولية المتجمعة فى حويصلات محاطة بغشاء سميك spermatogonia nests ويظهر فى النسيج المجاور لها العديد من الطلائع المنوية التى تميزت بصغر حجمها وكثافة نواتها (شكل ٤).

وبتكبير الطلائع المنوية لوحظ أن النواة تظهر كثيفة إلكترونيا ويحدث إنبعاج واضح للغشاء النووى المزدوج للداخل خاصة فى قطب النواة المواجه للجسم المركزى، ويحتوى السيتوبلازم على العديد من الحويصلات الفارغة والميتوكندريا (شكل ٥). ومع تقدم عملية التحول الجنسى لوحظ ظهور العديد من الطلائع المنوية المنتشرة فى نسيج المنسل والتى تحاط بعدد من الفجوات المتسعة غير منتظمة الشكل. وأيضا ظهرت بعض من أمهات البيض oogonia التى تميزت باحتوائها على نواة بيضاوية قليلة الكثافة الإلكترونية تحتوى على نوية واحدة ومحاطة بسيتوبلازم رقيق كثيف إلكترونيا (شكل ٦).

وينتشر فى النسيج الضام البينى للمنسل فى مرحلة التحول الجنسى بين الخلايا الذكرية والأنثوية خلايا محببة granulocytes يخرج منها بعض الزوائد السيتوبلازمية والتى تميزت باحتوائها على العديد من الحبيبات البيضاوية الكثيفة

إلكترونيا، وهذه الخلية ذات شكل غير منتظم وتظهر نواتها على شكل فصين منفصلين (شكل ٧).

ولقد ظهر فى منسل الهامور فى هذه المرحلة العديد من مراحل التخليق المنوى حيث تتكثف الحبيبات الكروماتينية الدقيقة داخل النواة فى الطلائع المنوية وتصبح متجانسة التوزيع وأكثر كثافة مقارنة بالمراحل السابقة، وتتكون نقرة نووية واضحة يظهر بها الجسم المركزى القريب وتصبح النواة كلوية الشكل. ويوجد عدد من الميتوكوندريا بالقرب من هذه المنطقة وهى دائرية الشكل وكبيرة الحجم مع فقد أعرافها ويمتلئ السيتوبلازم بالليسوسومات كما يحتوى على العديد من الحويصلات الدائرية الفارغة (شكل ٨).

وبعد ظهور الطلائع المنوية تحدث تغيرات تركيبية نتيجة زيادة نموها، حيث يظهر كروماتين النواة حبيبى ويحدث دوران للنواة بزاوية مقدارها (٩٠°) ويصبح كل من الجسم المركزى والسوط متعامدان تقريبا على قاعدة النواة ويظهر الغشاء النووى المزدوج أكثر تعرجا ويحدث مايسمى بعملية الإخراج الخلوى حيث تبدأ الخلية فى طرد الزائد من السيتوبلازم لتكون مايسمى بالأجسام المتبقية residual bodies ذات الأحجام المختلفة والتى توجد فى المساحات بين الخلوية التى ظهرت أكثر إتساعا. كما ظهر أيضا السوط فى الجزء المواجه للإنبعاج الداخلى للنواة والذى يمتد من الجسم المركزى البعيد distal centriol ويحاط بعدد من الميتوكندريا الكبيرة الحجم والتى فقدت أغلب أعرافها (شكل ٩).

وبعد حدوث التغيرات السابقة فى الطلائع المنوية يظهر الحيوان المنوى يحتوى على نواة أصغر حجما ذات كروماتين كثيف إلكترونيا ليكون رأس الحيوان المنوى يليه القطعة الوسطية القصيرة التى تحاط بعدد محدود من المتوكندريا ثم يمتد السوط ليكون ذيل الحيوان المنوى، وتظهر مقاطع عرضية للسوط مكونة من ٩ أزواج من الأنيبيبات الطرفية المحيطية وزوج من الأنيبيبات فى الوسط وتمتلئ المساحات البين خلوية بالعديد من الحويصلات الدائرية غير منتظمة الشكل (شكل ١٠).

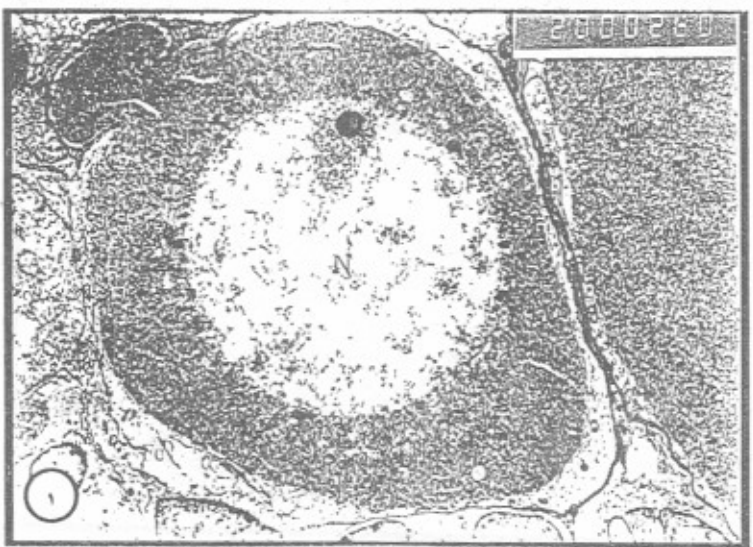
المناقشة:

لقد قام العديد من الباحثين بدراسة ظاهرة الخنوثة فى الأسماك حيث أنها طريقة تكاثر طبيعية فى الأسماك العظمية. ولقد أوضحت الدراسة الحالية أن أسماك الهامور *E. tauvina* ذات خنوثة أنثوية protogynous hermaphrodite حيث تعمل بعض أو كل الأفراد فى مستهل حياتها كإناث وفى الفترة الأخيرة من حياتها تقتصر على الذكور، وهذا ينطبق مع ماذكره الباحث (Abu-Hakima, 1987) فى نفس النوع من أسماك الهامور، وكذلك مع ماأكده الباحثون (Doshac, *et al.*, 1982) فى أسماك *Coris julis* وكذلك فى أسماك الهامور *Epinephelus striatus* (Sadovy and Colin, 1995). ولقد إهتمت هذه الدراسة بالتركيب الدقيق للمناسل فى مرحلة التحول الجنسى فى أسماك الهامور *Epinephelus tauvina* حيث لوحظ ظهور بعض مراحل النويات الكروماتينية كما ظهرت العديد من الخلايا البينية فى المساحات المنتشرة بين

البويضات. وظهرت أيضا العديد من الخلايا المحبة فى النسيج الضام البينى والذى يميز مراحل التحول الجنسى فى هذه الأنواع من الأسماك متفقا فى ذلك مع الباحثين (Reinboth and Brusle-Sicard, 1997) فى الأسماك العظمية ذات الخنوثة الأنثوية *Coris julis* حيث أوضح هؤلاء الباحثون أن وجود هذين النوعين من الخلايا فى الأفراد المتحولة جنسيا يدعم دور هاتين الخليتين فى إنتاج gonadotropic hormones التى لها دورا هاما فى عملية التحول الجنسى من إناث الى ذكور.

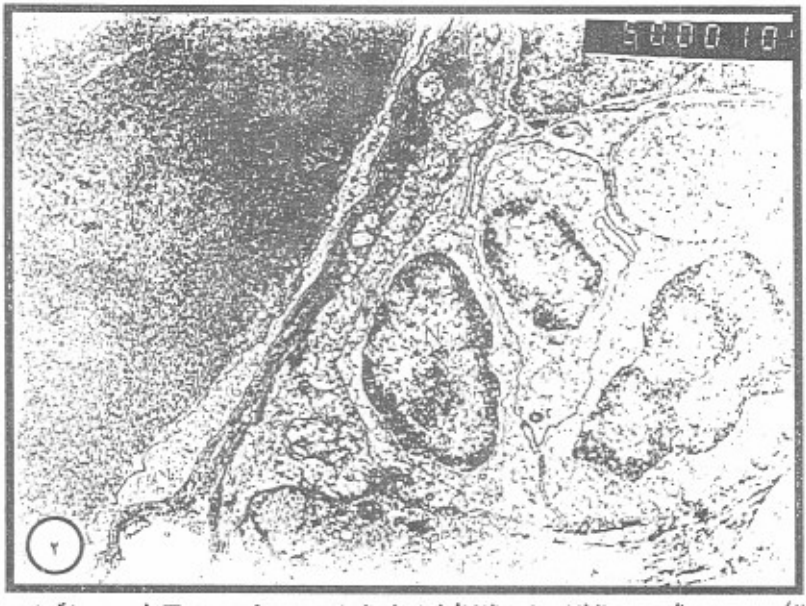
ولقد لوحظ فى هذه الدراسة ظهور الخلايا المنوية الأولية وأيضا الطلائع المنوية التى تتميز بظهور الجسم المركزى والسوط متعامدان تقريبا على قاعدة النواة. وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل إليه الباحثان (Gow and Gow, 1993) فى سمك البغروس، والباحثان (الكعبى وسالم، ٢٠٠٢) فى سمك الهامور *Epinephelus chlorostigma* من حدوث دوران للنواة بمقدار ٩٠° أثناء تمايز الحيوان المنوى.

ولقد أوضح العلماء (Johnson *et al.*, 1998 & Marino *et al.*, 2001) أن عملية تمايز النسيج الذكرى فى أسماك *Epinephelus morio* وأسماك *Epinephelus marginatus* على التوالى ليست مرتبطة بأماكن خاصة فى المناسل ولكنها تحدث فى جيوب داخل تجويف المبيض حيث تحدث زيادة للخلايا الأم فى محيط الصفيحات، كما تحدث أيضا زيادة للخلايا البينية ويقل النسيج الأنثوى ويزيد تكوين النسيج الذكرى وتتكون القناة المنوية ويزداد تمايز الخلايا المنوية فى عملية لإعداد المنسل لكى يقوم بوظيفة الخصية. وهذا يتفق مع نتائج البحث الحالى.



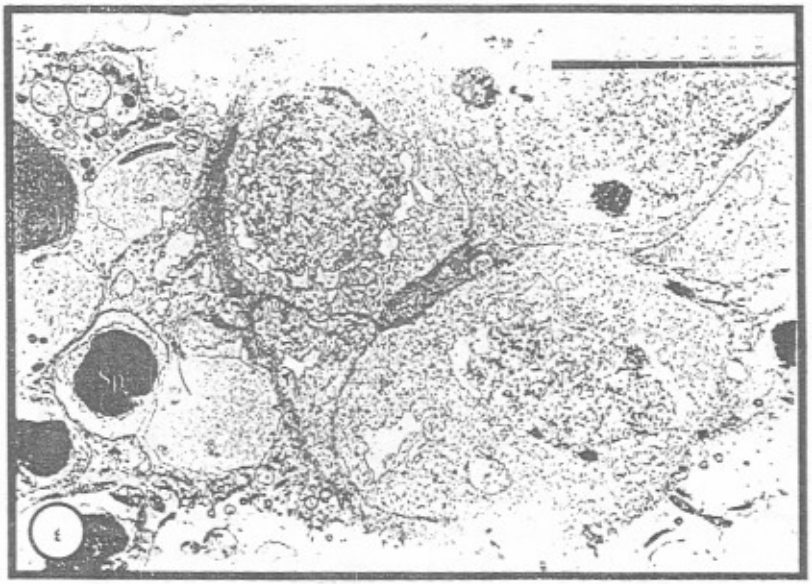
شكل (١): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فى مرحلة التحول الجنسى توضح بويضة فى مرحلة النويات الكروماتينية يظهر بها : النواه (N) – النوية (n) – الغشاء النووى (سهم) – المادة الأسمنتية (رأس سهم) – الخلايا الجرابية (Fc).

(x 5621)

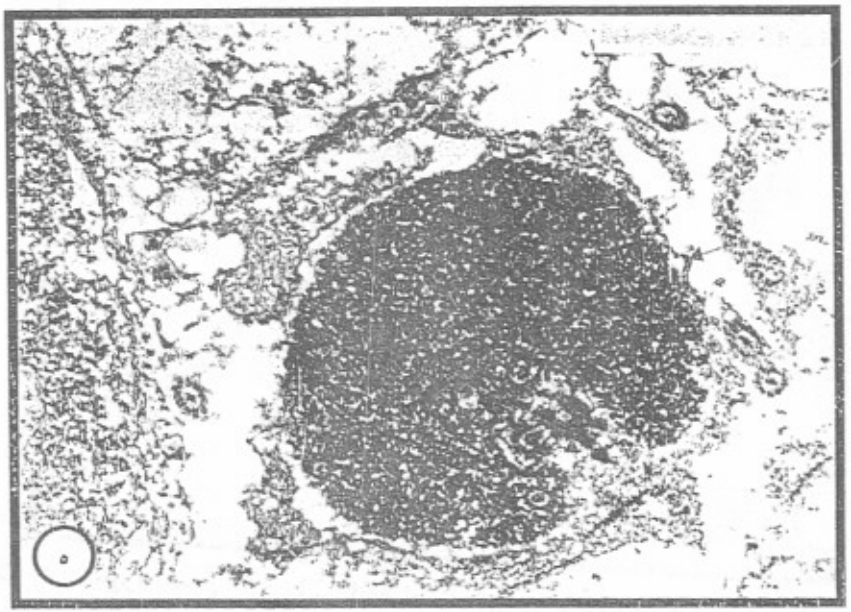


شكل (٢): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فى مرحلة التحول الجنسى توضح الخلايا البينية بين البويضات يظهر بها : النواه (N) – مناطق الإلتحام (أسهم). (x 14186)

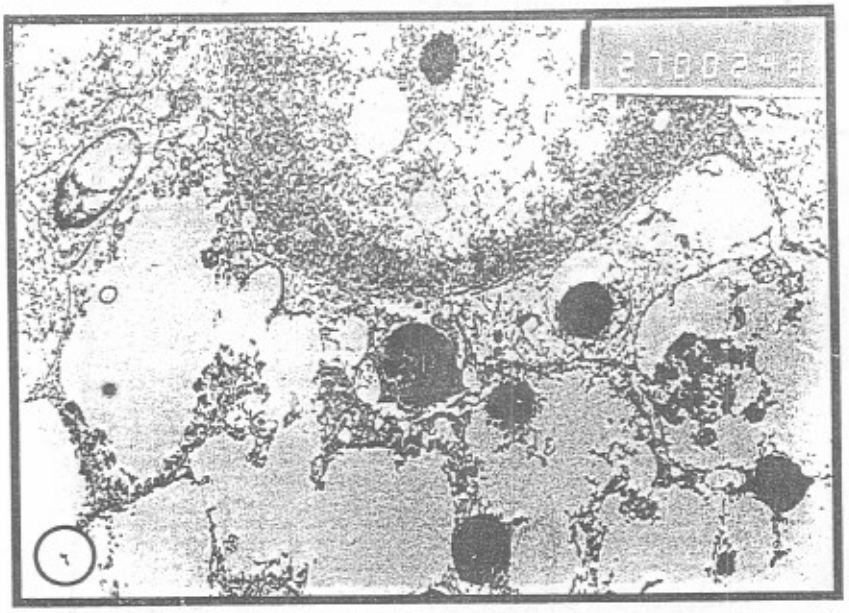
شكل (٣): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فى مرحلة التحول الجنسى توضح خلايا منوية يظهر بها : النواه (N)– النوية (n) ـــ الغشاء النووى (سهم) ـ الميتوكوندريا (M) – nauge (رأس سهم) المادة الأسمنتية (ce). (x 14186)



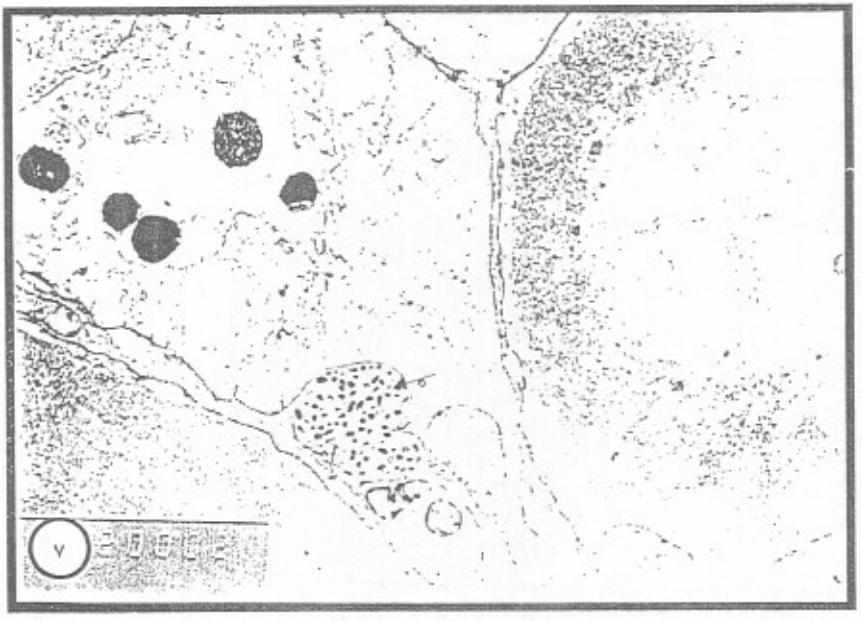
شكل (٤): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فى مرحلة التحول الجنسى توضح أمهات المنى الأولية (أسهم) يظهر بها : النواه (N) – وتحاط بغشاء سميك (رأس سهم) ــ كما يظهر عدد مكن الطلائع المنوية (Sp).



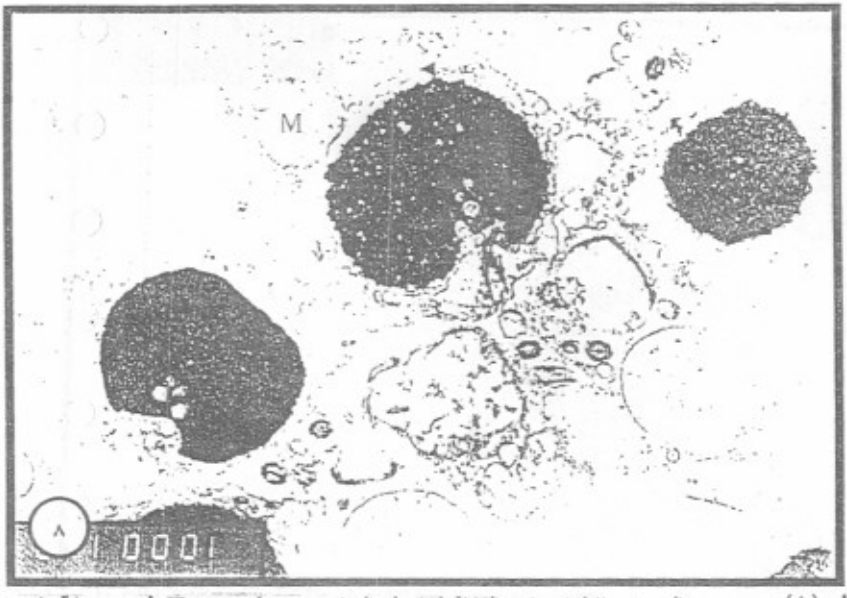
شكل (٥): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فى مرحلة التحول الجنسى توضح طليعة منوية يظهر بها : النواه (N) ـــ الغشاء النووى (سهم) ــ الجسيم المركزى (رأس سهم).



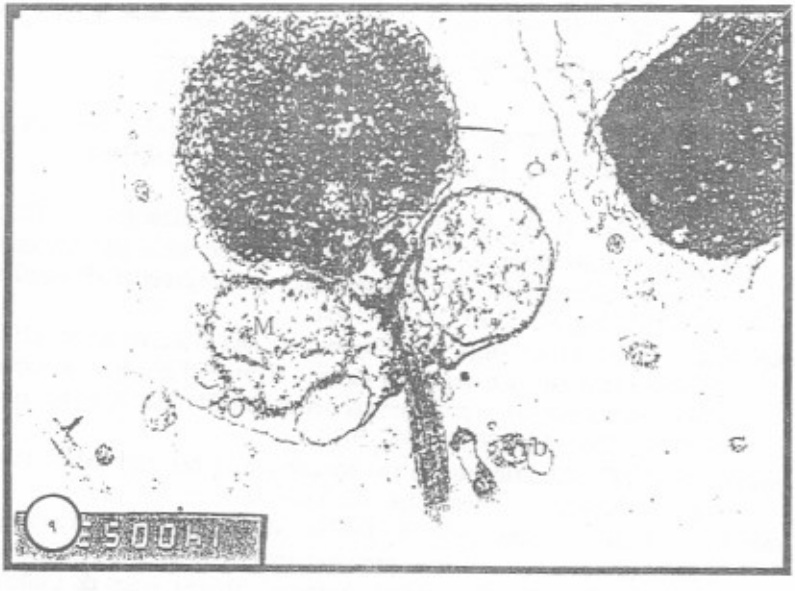
شكل (٦): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فى مرحلة التحول الجنسى توضح إحدى أمهات البيض يظهر بها : النواه (N) – النوية (n) وسيتوبلازم رقيق كثيف إلكترونيا (سهم).



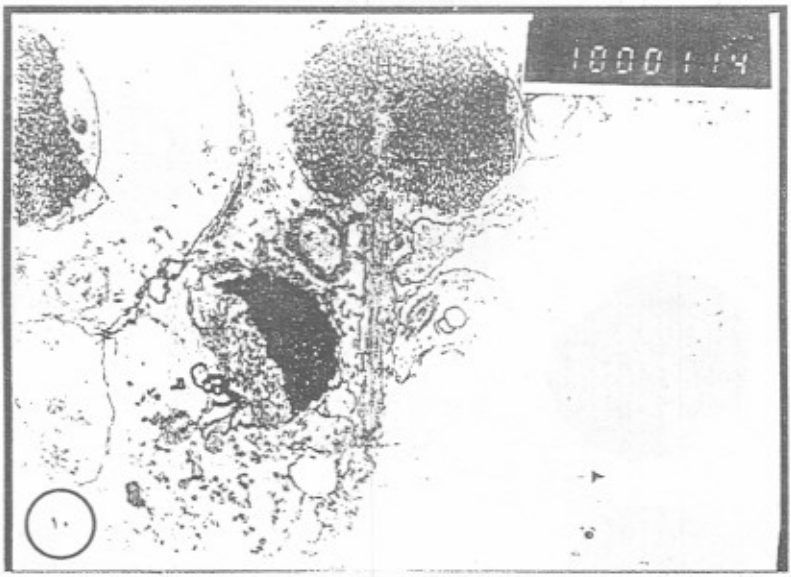
شكل (٧): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فى مرحلة التحول الجنسى يوضح الخلايا المحببة يظهر بها : الحبيبات الكثيفة إلكترونيا (سهم) النواه (N).



شكل (٨): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فى مرحلة التحول الجنسى يوضح طليعة منوية يظهر بها : النواه (N) ــ الغشاء النووى (رأس سهم) ــ الجسيم المركزى القريب (سهم) ــ الميتوكندريا(M). (x 25714)



شكل (٩): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فى مرحلة التحول الجنسى توضح طليعة منوية يظهر بها : النواه (N) ــ الجسيم المركزى القريب (سهم) ــ الجسيم المركزى البعيد (رأس سهم)ــ الميتوكندريا (M) ــ السوط (F) ــ الأجسام المتبقية (rb). (x 388447)



شكل (١٠): صوره بالمجهر الإلكترونى النفاذ لمنسل الهامور *E. tauvina* فـى مرحلـة التحول الجنسى توضح حيوان منوى يظهر به : الرأس (H) ــ القطعة الوسطية (P)ــ الذيل (T) ــ ويظهر أيضا مقاطع عرضية فى السوط (سهم). (x 27915)

المراجع:

الكعبى، نوره أحمد عبيد وسالم، هدى فؤاد أحمد (٢٠٠٢): دراسات إلكترومجهريـة على مناسل سمك الهامور فى الخليج العربى. المجلة المصرية للعلوم التطبيقية ١٧٠ (١١): ٧١ــ٨٠.

Abu-Hakima, R. (1987): Aspects of the reproductive biology of the grouper Epinephelus tauvina (Forskal) in Kwaiti waters. J. Fish Biol., (2): 213-222.

Bhandari, R.K.; Komuro, H.; Nakamura, S.; Higa, M. and Nakamura, M. (2003): Gonadal restructuring and correlative steroid hormone profiles during natural sex change in protogynous honey comb grouper (Epinephelus merra). Zoolog. Sci., 20(11): 1399-1404.

Bhandari, R.K.; ALam, M.A.; Higa, M.; Soyano, K. and Nakamura, M. (2005): Evidence that estrogen regulates the sex change of honeycomb grouper (*Epinephelus merra*), a protogenous hermaphrodite fish. J. Exp. Zoolog. A. Comp. Exp. Biol., 303(6): 497-503.

Brusle-Sicard, S. (1983): Contribution to the sexuality of a hermaphroditic teleost, Serranus hepatus L., J. Fish Biol., 22: 283-292.

Brusle-Sicard, S.; Debas, L. and Cauty, C. (1989): Morphological and Cytological aspects of sex inversion in a protogynous Hermaphrodite, *Epinephelus microdon* (Teleostei, Serranidae). Aquacop. Ifremer Actes de Colloque., 9: 559-562.

Brusle-Sicard, S.; Debas, L.; Fourcault, B. and Fuchs, J. (1992): Ultrastructural study of sex inversion in a protogynous hermaphrodite, *Epinephelus microdon* (Teleostei, Serranidae). Reprod. Nutr. Dev., 32(4): 393-406.

Doshac, B.J.; Nemella, A.M. and Buhler, E.M. (1982): Electron microscopical studies of gonads in primary and secondary males of protogynous hermaphrpditic fish *Coris julis* L. (Labridae, Teleostei). Experientia, 39: 1376-1380.

Echlin, P. (1964): Intra-cytoplasmic membranous inclusion in the blue green alga *Anacystis ridulaus*. Archiv fur Mikrobiologie, 49: 267.

Gow, J.C. and Gow, H.H. (1993): Spermatogenesis in the black porgy, *Acanthopargus schlegeli* (Teleostei : Perciformes : Sparidae). Molecular Reprod. And Development, 36(1): 75-83.

Jhonson, A.K.; Thomas, P. and Wilson, R.R. (1998): Seasonal cycles of gonadal development and plasma sex steroid levels in *Epinephelus morio*, aprotogynous grouper in the eastera gulf of Mexico. J. Fish. Biol., 52(3): 502-518.

Marino, G.; Azzuro, E.; Massari, A.; Finoia, M.G. and Mandich, A. (2001): Reproduction in the dusky grouper from the sothern Mediterranean. J. Fish Biol., 58(4): 909-927.

Reinboth, R. and Brusle-Sicard, S. (1997): Histological and ultrastructural studies on the effects of HCG on sex inversion in the protogynous teleost *Coris julis*. J. Fish Biol. 51(4): 738-749.

Rowden, G. and Lewis, M.G. (1974): Experience with a three-hour electron microscopy service. J. Clinic. Pathol., 27: 505.

Sabatini, D.D.; Bensh, K. and Barnett, R.J. (1963): Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular structure and enzymatic activity by aldehyde fixation. J. Cell Biol., 17: 19.

Sadovy, Y. and Colin, P.L. (1995): Sexual development and sexuality in the Nassau grouper. J. Fish Biol., 46(6): 961-976.

FINE STRUCTURE FOR GONADS OF GROUPER FISH (*Epinephelus tauvina*) DURING STAGES OF SEX INVERSION

BY

Noura A.O.Alkaabi

Zoology Department , Faculty of Science for Girls, Dammam, Saudi Arabia.

ABSTRACT

The study was done on twenty-one grouper fish (*Epinephelus tauvina*) during stages of sex inversion. The gonads were examined during normal histological methods to identify gonads in sex inversion stages only for ultrastructural techniques. Our study revealed that the gonads of *E. tauvina* showed primordial stages of oocytes development (Especially perincleolar chromatin stage) at the beginning of sex inversion stages. Many of spermatids were observed in the gonads, which were characterized by that it was smaller in size and more compact nucleus. There was a granulocytes, which have few cytoplasmic processes that contained electron dense granules. The gonads of grouper fish characterized by presence of many sperm differentiating stages during stages of sex inversion

Key words: Gonads, grouper fish, *Epinephelus tauvina*, sex inversion, fine structure, protogynous hermaphrodite