# تكوين البيوض في سمكة الشبوط *Barbus grypus* Heckel,1843

*اقين رمضان محسن** *عبد الحكيم احمد الراوي***

*نهلة عبد الرضا البكري****

استلام البحث 20، كانون الاول، 2012
قبول النشر 3، اذار، 2014

**الخلاصة:**

جمعت إناث اسماك الشبوط من نهر دجلة في بغداد ، تضمنت عملية تكوين البيوض تسعة مراحل قسمت على اساس تركيب النواة ، المشتملات الخلوية وتركيب الجريبة المبيضية ، وهي: 1- مرحلة سليفات البيوض Oogonia Stage ، 2- مرحلة النويات المحيطية المبكرة Early Perinucleolar Stage ، 3- مرحلة النويات المحيطية المتقدمة Advanced Perinucleolar Stage ، 4- مرحلة الاسناخ القشرية Cortical Alveoli Stage ، 5- مرحلة المح الابتدائي Primary Yolk Stage ، 6- مرحلة المح الثانوي Secondary Yolk Stage ، 7- مرحلة المح الثالثي Tertiary Yolk Stage ، 8- مرحلة النواة المهاجرة Migratory Nucleus Stage ، 9- مرحلة الاماهة Hydration Stage .

**الكلمات المفتاحية:*Barbus grypus* , Oogenesis**

## المقدمة:

تنتمي أسماك الشبوط (Shabbout) *Barbus grypus* Heckel 1841 إلى عائلة الشبوطيات Cyprinidae وتعد أحدى أسماك التغذية المهمة في المياه العذبة العراقية، وتنتشر في نهري دجلة والفرات وروافدهما وفي معظم المسطحات المائية الداخلية في عموم العراق، [1].

تشير عملية تكوين البيوض Oogenesis إلى تكوين ونضج سليفات البيوض Oogonia ثنائية المجموعة الكروموسوميه لإنتاج بيوض Ova أحادية المجموعة الكروسومية في المبيض [2] ، يكون تركيب الجريبة المبيضية متشابها في اغلب الأسماك إذ تحاط بخلايا جريبية Follicular cells تتألف من طبقتين داخلية وتعرف بطبقة الخلايا الحبيبية Granulosa cell layer ، وطبقة خارجية هي الخلايا القرابية Theca cell layer، ويفصل الطبقتان غشاء قاعدي Basement membrane بالإضافة إلى طبقة لاخلوية تكون مابين طبقة الخلايا الحبيبية وغشاء الخلية البيضية تدعى بالمنطقة الشعاعية Zona radiata [3].

درس العديد من الباحثين المبيض وعملية تكوين البيوض في الأسماك العظمية Bony fish بصورة واسعة وبالاخص الانواع التابعة لعائلة الشبوطيات [9,8,7,6,5,4]، إذ قسم دوروستكال وجماعته [10] مراحل نضج المبايض في سمكة الشبوط إلى سبعة مراحل اعتمادا على المشاهدات النسجية للخلايا البيضية الأكثر نضجا وهي :- (الخلية البيضية الابتدائية Primary oocyte ،الحويصلة المحية Yolk vesicle ،كريات المح الابتدائية Primary yolk globule ،كريات المح الثانوية Secondary yolk globule ،كريات المح الثالثية Tertiary yolk globule ،النواة المهاجرة Migratory nucleus،الاماهة Hydration) ، لكن لا توجد دراسة حول عملية تكوين البيوض لسمكة الشبوط في العراق .

## المواد وطرائق العمل :

تم وبأشهر متعاقبة من شهر كانون الأول سنة 2009الى شهر تشرين الثاني سنة 2010 جمع(15)نموذج من اسماك الشبوط من نهر دجلة ببغداد ، استخرجت المبايض من الاسماك بعد قتلها ، ثم اخذت الاجزاء الأمامية والوسطى والخلفية من المبيضين الأيمن والأيسر واستخدم محلول بون Bouins solution لتثبيت العينات .حضرت الشرائح المجهرية بطريقة بانكروفت وستيفن [11] وبسمك 6-8 مايكروميتر. فحصت الشرائح باستخدام مجهر مركب من نوع Olympus ، وقيست أقطار الخلايا البيضية باستعمال المقياس المسرحي والمقياس العيني Stage and Ocular micrometers ، وصورت باستعمال الكاميرا من نوع Olympus المحمولة على المجهر الضوئي نوع Olympus BH2.

## النتائج :

أعتمد في تقسيم مراحل تكوين الخلايا البيضية ونموها في مبيض سمكة الشبوط على تركيب

*قسم علوم الحياة ، كلية العلوم للبنات ، جامعة بغداد .
**قسم علوم الحياة ، كلية التربية (ابن الهيثم) ، جامعة بغداد .

النواة ، المشتملات الخلوية وتركيب الجريبة المبيضية وكالاتي:-

1- مرحلة سليفات البيوض Oogonia Stage (12.5 – 32.5 مايكروميتر)

تظهر سليفات البيوض بشكل مفرد أو بشكل اعشاش Nests، و تحاط كل مجموعة بعدد قليل من الخلايا قبل جريبية Prefollicular cells ، تقع معظم هذه المجاميع بالقرب من التجويف ألمبيضي في سدى المبيض . تبدو سليفة البيضة فاتحة اللون ذات شكل كروي- بيضوي، تكون نواتها كروية أو بيضوية الشكل، وتحوي على نوية غالبا ما تكون مركزية الموقع، ويظهر الصبغين Chromatin بشكل حبيبات دقيقة ملتصقة بالغلاف النووي، ويكون سايتوبلازمها ذو مظهر حبيبي ضعيف القاعدية (شكل رقم 1 ).

2- مرحلة النويات المحيطية المبكرة Early Perinucleolar Stage (110 – 125 مايكروميتر)

النواة مركزية الموقع ذات عدد من النويات الملتصقة بالسطح الداخلي للغلاف النووي Nuclear envelope وتكون ذات آلفة شديدة للملونات القاعدية . يتراوح شكل الخلية البيضية بين كروية- بيضوية- مضلعة الشكل ويظهر الصبغين Chromatin في النواة بشكل خيوط متشابكة ،يكون السايتوبلازم شديد الآلفة للملونات القاعدية ،وتحاط الخلية بصف واحد من الخلايا الجريبية Follicular cells (شكل رقم2) .

3- مرحلة النويات المحيطية المتقدمة Advanced Perinucleolar Stage (120 – 180 مايكروميتر)

يكون السايتوبلازم اقل آلفة للملونات القاعدية من المرحلة السابقة ،وعلى مقربة من النواة يوجد جسم كروي الشكل شديد الآلفة للملونات القاعدية يدعى بجسم بلبياني Balbiani body (شكل رقم3)

4- مرحلة الأسناخ القشرية Cortical Alveoli Stage (235 – 380 مايكروميتر)

تتميز هذه المرحلة بظهور الاسناخ القشرية Cortical alveoli في السايتوبلازم على شكل فجوات تترتب في الجزء المحيطي من السايتوبلازم أسفل الغشاء البلازمي لتكون صفاً واحداً من الاسناخ القشرية ذات الأحجام المختلفة .وباستمرار النمو تزداد بالعدد والحجم فتتكون عدة صفوف منها ، تبدو هذه الاسناخ غير أليفة للصبغات في التحضيرات الملونة بالهيماتوكسلين والايوسين ، اذ تكون في المراحل المتقدمة مضببة ، كما و يلاحظ اختفاء جسم بلبياني (شكل رقم4 ) .تحاط الخلية البيضية في نهاية هذه المرحلة بطبقة الخلايا القرابية وطبقة الخلايا الحبيبية والمنطقة الشعاعية (شكل رقم5 ).

5- مرحلة المح الابتدائي Primary Yolk Stage (400 – 590 مايكروميتر)

تمتاز هذه المرحلة بظهور حبيبات محية Yolk granules دقيقة أليفة للصبغات الحامضية تتكون ما بين الاسناخ القشرية ثم تتجمع حول النواة ويستمر ترسبها من مركز البيضة نحو محيطها دافعة الاسناخ القشرية نحو المحيط (شكل رقم 6 ) .

6- مرحلة المح الثانوي Secondary Yolk Stage (600 – 725 مايكروميتر)

لوحظ زيادة في حجم الحبيبات المحية، وفي الفتها للصبغات الحامضية (شكل رقم 7 ).

7- مرحلة المح الثالثي Tertiary Yolk Stage (900 – 1100 مايكروميتر)

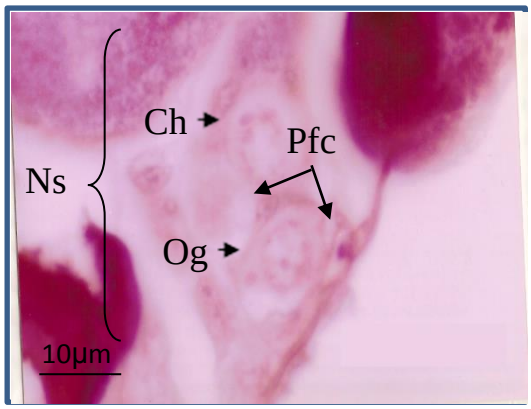
تزداد الحبيبات المحية بالحجم لتصبح كريات محية Yolk globules تكون شديدة الآلفة للتلوين بالملونات الحامضية إذ تملأ حوالي ثلثي 2/3 سايتوبلازم الخلية البيضية دافعة الاسناخ القشرية نحو محيط الخلية (شكل رقم8)

8- مرحلة النواة المهاجرة Migratory Nucleus Stage (1320 – 1420 مايكروميتر)

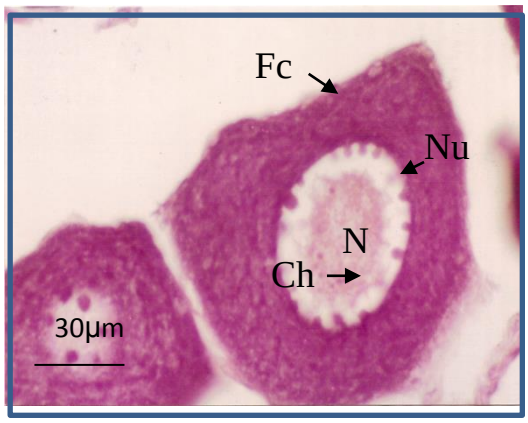
تمتاز هذه المرحلة بهجرة النواة من مركز الخلية نحو محيطها ، كما و تملأ الكريات المحية أكثر من ثلثي حجم السايتوبلازم تاركة منطقة ضيقة من السايتوبلازم تحت الغشاء البلازمي للخلية البيضية (شكل رقم 9,8) .

9- مرحلة الاماهة Hydration Stage (1480 – 1500 مايكروميتر)

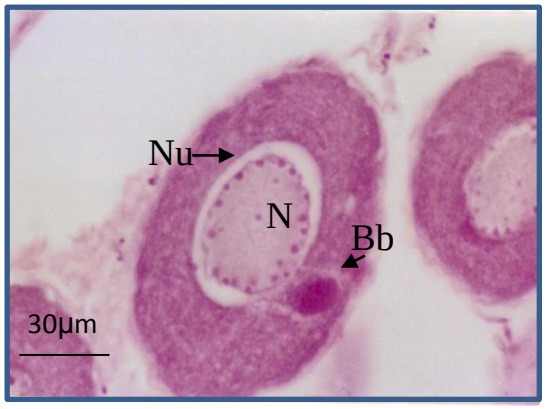
يصبح شكل الخلية البيضية غير منتظم ، وفي بعض الأحيان ينفصل جدار الجريبة عن الخلية البيضية ، ونلاحظ النواة عند جهة القطب الحيواني تحت الغشاء البلازمي مع انحلال غلافها النووي ، كما وتملأ الكريات المحية معظم سايتوبلازم الخلية ، (شكل رقم10) . إضافة لما سبق فانه وجد في بعض المبايض البالغة لسمكة الشبوط نوعين من المشتقات الجريبية (الجريب الرتقيAtretic Follicle و جريب ما بعد الاباضة Postovulatory Follicle).



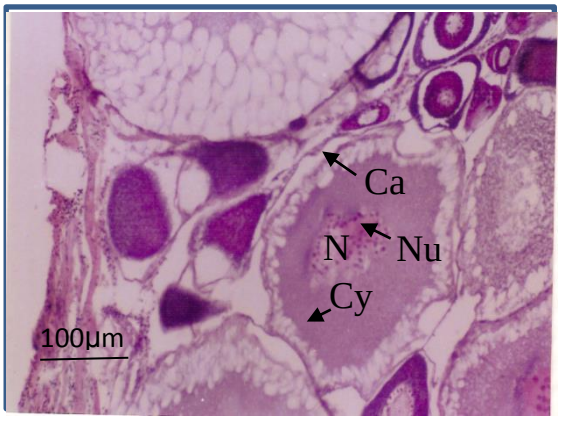

شكل (1) سليفات البيوض في مبيض سمكة الشبوط ، (Ch)صبغين ، (Ns) عش، (Og) سليفات البيوض ، (Pfc) خلايا قبل جريبية . (ملون H &E )



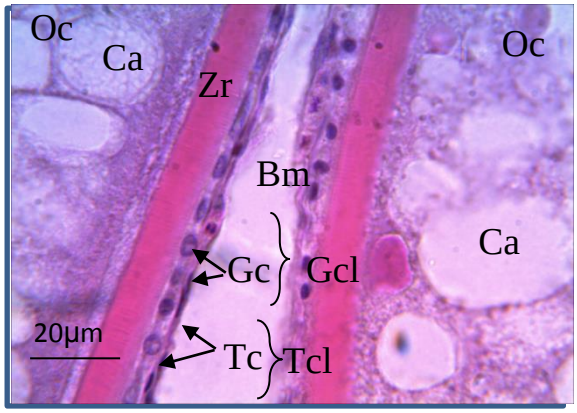

شكل (2) خلية بيضية في مرحلة النويات المحيطية المبكرة(Ch) صبغين ، (Fc) خلية جريبية ، (N) نواة ، (Nu) نوية . (ملون H &E )



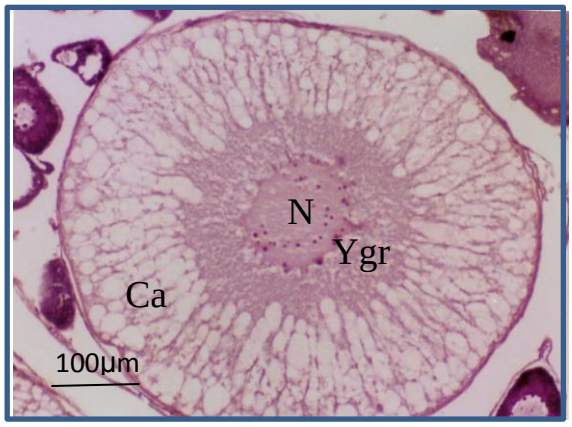

شكل (3) خلية بيضية في مرحلة النويات المحيطية المتقدمة ، (Bb) جسم بلبياني ، (N) نواة ، (Nu) نوية.(ملون H &E )



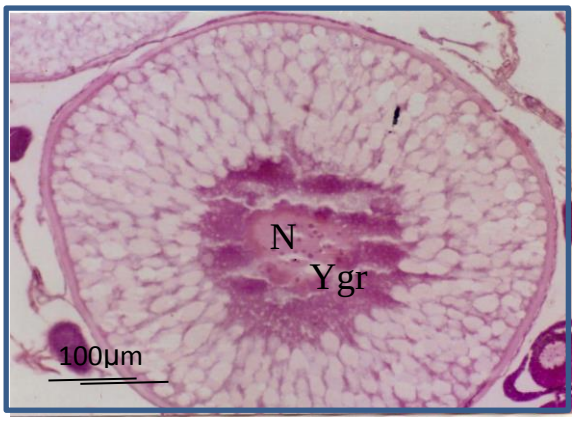

شكل (4) خلية بيضية في مرحلة الاسناخ القشرية ، (Ca) اسناخ قشرية ، (Cy) سايتوبلازم ، (N) نواة ، (Nu) نويات (ملون H &E )



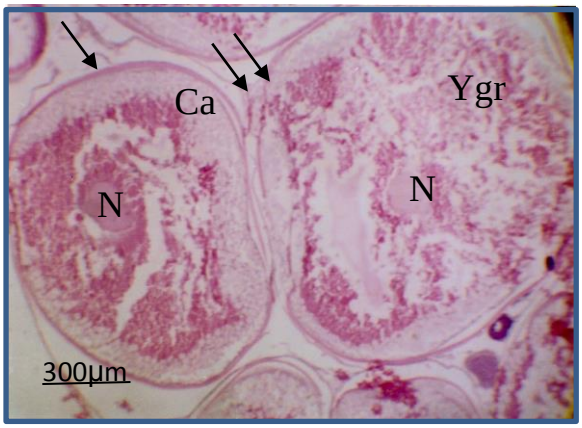

شكل (5) خلية بيضية في مرحلة الاسناخ القشرية وطبقاتها الجريبية المبيضية ، (Bm) غشاء قاعدي ، (Ca) اسناخ قشرية ، (Gc) خلايا حبيبية ،(Gcl) طبقة خلايا حبيبية، (Oc) خلية بيضية ، (Tc) خلايا قرابية ، (Tcl) طبقة خلايا قرابية ، (Zr) منطقة شعاعية (ملون H &E )




شكل (6) خلية بيضية في مرحلة المح الابتدائي ، (Ca) اسناخ قشرية، (N) نواة ، (Ygr) حبيبات محية . (ملون H &E )




**شكل ( 7) خلية بيضية في مرحلة المح الثانوي، (N) نواة ، (Ygr) حبيبات محية (ملون H &E)**




**شكل ( 8) خلية بيضية في مرحلة المح الثالثي (لليسار ⟵) وخلية بيضية في مرحلة النواة المهاجرة (لليمين ⟷) ، (Ca) اسناخ قشرية ، (N) نواة ، (Yg) كريات محية(ملون H &E )**

**شكل (9) خلية البيضية في مرحلة الاماهة ، (Yg) كريات محية (ملون H &E )**

## المناقشة :

حددت في الدراسة الحالية تسعة مراحل لتكوين الخلايا البيضية لأسماك الشبوط في نهر دجلة واعتمد في هذا التقسيم على التقسيم الذي وضعه كلا من سمث وولكر ودورستكال وجماعته [10,7] مع بعض التحويرات، إذ رأينا انه من الأفضل تقسيم أطوار النمو الابتدائي Primary growth إلى مرحلة سليفات البيوض و مرحلة النويات المحيطية المبكرة والمتقدمة وذلك لتميز تلك المراحل في السمكة المدروسة ، كذلك رأينا وجوب تقسيم مرحلة النويات المحيطية إلى مرحلتين مبكرة ومتقدمة لوجود فروق بينهما أهمها وجود جسم بلبياني Balbiani body في المرحلة المتقدمة فقط . لم يشر دورستكال وجماعته [10] إلى المراحل التالية: (مرحلة سليفات البيوض و مرحلة النويات المحيطية المبكرة و مرحلة النويات المحيطية المتقدمة ) ولكنهم أشاروا إلى إن مرحلة الخلية البيضية الابتدائية Primary oocyte stage هي

أول مرحلة من مراحل تكوين البيوض في سمكة الشبوط ،أما سمث وولكر[7] فقد أشارا إلى وجود مرحلة النويات المحيطية فقط ضمن طور النمو الابتدائي وذلك في سمكة الكارب. أما بالنسبة لمرحلة الاماهة فقد أشار الى وجودها دورستكال وجماعته [10] في سمكة الشبوط ، ولم يشر اليها سمث وولكر [7] في سمكة الكارب تحاط سليفة البيضة بخلية واحدة إلى خليتين من الخلايا الجريبية Follicular cells ،وأشار إلى ذلك أيضا دورستكال وجماعته [10]، وتصبح في مرحلة النويات المحيطية صفا واحدا من الخلايا الجريبية ، ووصولا إلى المراحل الناضجة يصبح جدار الجريبة مؤلفا من الطبقة القرابية Theca layer ، الطبقة الحبيبية Granulose layer ، والمنطقة الشعاعية Zona radiata، وجاءت هذه النتائج مطابقة لما جاء به كل من [6,4].أما بالنسبة إلى مرحلة النويات المحيطية المبكرة فتمتاز بسايتوبلازم قَعد ، إذ إن الخلية البيضية في مرحلة النمو الابتدائي تمتاز بصنع كميات كبيرة من الحمض النووي الريبي RNA [14,13,12]، كما تمتاز خلايا تلك المرحلة بتعدد النويات ، إذ اشار المختار والراوي [15]الى ان النويات تزداد في الخلايا الفعالة في بناء البروتين، ويعود السبب في ذلك إلى تضاعف الحمض النووي الريبي الرايبوسومي rRNA داخل النواة أو التضاعف الكبير لجين منظم النوية Nucleolar organizer gene اذ تتكون نويات اضافية كروموسومية Extra chromosomal nuclei لتلبي احتياجات الخلية من rRNA [16,14].كما يظهر في مرحلة النويات المحيطية المتقدمة تركيب يدعى جسم بلبياني ،وجاءت هذه النتيجة موافقة لما تم الإشارة إليه في سمكة القدّ ***Danio rerio*** ، اذ اشير الى انه يتركب من تجمعات من المايتوكوندريا ، جهاز كولجي ، الشبكة الاندوبلازمية الملساء ، أجسام متعددة الحويصلات ، وقطيرات دهنية [17,14,12] ، وقد كان جسم بلبياني سابقا يدعى بالنواة المحية Yolk nucleus لدوره في تكوين المح ، كما يدعى أيضا بسحب المايتوكوندريا Mitochondria clouds ، و يرجح البعض تكوّن جسم بلبياني ناتج عن صدمة التثبيت Fixation shock [14,5].

يزداد عدد النويات ابتداءا من مرحلة النويات المحيطية المتقدمة وتستمر الزيادة في مراحل تكوين المح الأولي والثانوي والثالثي مما يدل على إن النويات تبدي نشاطا في ايض الخلايا البيضية متعلقا بتخليق rRNA وتجهيزه للسايتوبلازم وخاصة عند بدء تكوين المح ، لذلك فان زيادة حجم الخلايا الحبيبية خلال مراحل تكوين المح يشير إلى زيادة الارتباط الايضي بين الخلايا الحبيبية وخلية البيضة وهي وسيلة نقل المواد الأولية (مولد المح Vitellogenin ،المغذيات، عوامل النمو) من خارج الخلايا البيضية إلى سايتوبلازمها ، وان ما يزيد هذا الارتباط بين الخلايا الحبيبية والخلية البيضية هو تكوين المنطقة الشعاعية التي تحوي زغيبات متداخلة تتكون كبروزات من سايتوبلازم الخلايا الجريبية وسايتوبلازم الخلية البيضية تزيد من سطح التبادل الايضي بينها [2].

كذلك لوحظ في النتيجة الحالية ظهور مرحلة الاماهة Hydration stage إذ يزداد حجم الخلية البيضية كثيرا وتكون مملوءة بالكريات المحية Yolk globule ،واشار الى هذه المرحلة أيضا كل من دورستكال وجماعته وشيك وجماعته وجانياس وجماعته على التوالي[19,18,10] ، في حين لم يشر سمث وولكر[7] الى وجود هذه المرحلة في دراسته على سمكة الكارب ***Cyprinus carpio*** في استراليا. ليس هناك دليل على اندماج الكريات المحية في كتلة متجانسة ذات مح غير متبلورNon-crystalline yolk ، وهذا ما تم الإشارة إليه في سمكة Rosy barb [18] . إن مرحلة الاماهة تسبق الاباضة وان ظهور تلك المرحلة دليل على إن عملية السرء وشيكة [20] ،وان زيادة حجم الخلية البيضية في تلك المرحلة يعود إلى اخذ الماء مما يسبب زيادة كبيرة في حجم ووزن المبيض ، وان انطلاق الخلايا البيضية من جريباتها بعملية الاباضة يتم نتيجة لزيادة الضغط الأزموزي ، عندها تدعى بيوض eggs [21] . كما لوحظ انفصال الطبقات الخلوية عن بعض الخلايا البيضية لتلك المرحلة، إذ اشار ايفانز[3] الى ان ذلك يعود الى انفصال زغيبات الخلية البيضية Oocyte microvilli عن زغيبات الخلايا الحبيبية الذي يعقبه تمزق في طبقة الخلايا الجريبية وانطلاق البيضة . كما لم يتم الإشارة إلى الجريبات الرتقى في سمكة الشبوط من قِبل دورستكال وجماعته [10] ولكن أشار فقط إلى وجود جريبات ما بعد الاباضة . إن وجود جريبات ما بعد الاباضة في المبيض يعد دليلا قاطعا على حداثة حدوث الاباضة [22]،كما أشار بعض الباحثين إلى إن الخلايا الحبيبية فيها قد يكون لها دور في إنتاج هرمونات جنسية [24,23,4].

## المصادر:

[1] الدهام ، نجم قمر .(1977) . اسماك العراق والخليج العربي ، الجزء الأول ، منشورات مركز دراسات الخليج العربي ، مطبعة الإرشاد ، بغداد ،135pp.

[2] Balinsky,B.I.(1981) .An Introduction to Embryology.5Th Ed.Holt-Saunders CO.,Japan ,Tokyo. PP: xiv+768.

[3] Evans,D.H.(1993) .The physiology of fishes.1ed.CRC press. Florida, :591pp.
[4] AL-Daham,N.K.and Bhatti,N. (1979) . Annual changes in the ovarian activity of the fresh water teleost *Barbus luteus* (Heckel) from southern Iraq.J.Fish Biol.,14:381-367.
[5] Selman,K.;Wallas,R.A.;Sarka,A. and Qi,X.(1993) .Stages of oocyte development in the Zebra fish *Branchydanio rerio* .J. Morphol., 218(2):203-224. (Abstract).
[6] AL-Daham,N.K.;Al-Noor,S.S. and Sauod,H.A.(2004) . Seasonal changes in the ovary of the Cyprinid fish *Acanthobrama marmid* in the river Shatt AL-Arab southern Iraq. Iraq J.Aqua.,1:9-16.
[7] Smith,B.B.and Walker,F.(2004) .Spawning dynamics of common carp in the river Murray south Australia shown by macroscopic and histological staging of gonads. J. FishBiol.,64:336-355.
[8] Cakici,O.and Ucuncu,S.I.(2007) .Oocyte development in the zebra fish *Danio rerio*. E.U.J. ofFisheries & AquaticSciences,24:137-141.
[9] Koc,N.D.;Aytekin,Y.and Yuce,R. (2008) .Ovary maturation stages and histological investigation of ovary of Zebra fish *Danio rerio*. Braz. Arch. Biol.Technol.,51(3):125-135.
[10] Dorostghoal, M.;Peyghan, R.; Papan, F.and Khalili,L.(2009) .Macroscopic and microscopic studies of annual ovarian maturation cycle of Shirbot *Barbus grypus* in Karoon river of Iran .Iranian Journal of veterinary research.Shiraz University, 10(2):1-27.
[11] Bancroft,J.and Stevens,A.(1982) .Theory and Practice of histological technique ,2nd ed. Churchill Livingstone, Edinburgh and London,: xiv +662.
[12] Tyler,C.R.and Sumpter,J.P.(1996) .Oocyte growth and development in teleosts:areview .Fish Biology and Fisheries.,6:287-318.
[13] Grier,H.J.(2002) .The germinal epithelium .Gulf and Caribbean Fisheries Institute,53:537-552.
[14] Babin,P.J.;Cerda,J.and Lubzens, E.(2007) . The fish oocyte :From the basic studies to biochemical application.Springer.The Netherlands,: xiv+ 508 (e- book
[15]المختار ،كواكب عبد القادر والراوي ،عبد الحكيم احمد .(2000) . علم النسج ،الجزء الثاني . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة بغداد.
[16] Thiry,M.and Poncin,P.(2005) .Morphological changes of the nucleolus during oogenesis in oviparous teleost fish *Barbus barbus* .Journal of Structural Biology.,152:1-13.
[17] Wallas,R.T.and Selman,K.(1981). Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts.Amer.Zool.,21:325-343.
[18] Cek,S.;Bromage,N.;Randal,c.and Rana,K.(2001) .Oogenesis hepato-somatic and gonado-somatic indexes and sex ratio in Rosy Barb *Puntius conchonius*.Turkish J. of Fisheries and Aquatic Sciences,1:33-41.
[19] Ganias,K.;Somarakis,S.;Machias, A. and Theodorou,A.(2004) .Pattern of oocyte development and batch fecundity in the mediterrranean Sardine.Fisheries research,67:13-23.
[20] West,G.(1990) .Methods of assessing ovarian development in fishes: areview. Aust. J. Mor.Fresh Water Res.,41:199- 222.(Abstract).
[21] Stahi,J.P.and Kruse,G.H.(2008) .Classification of ovarian stages of Walleye Pollock *Theragra Chalcogramma* .Resiliency of gadid stocks to fishing and climate change,AK-SG-08-01.2008.
[22] Maddock, D.M. and Burton, M.P.M.(1999) .Gross and histological observation of ovarian development and related condition changes in American Plaice.J.Fish Biol.,53:928-944.

the oviparous teleost fish *Cyprinus carpio* :a histochemical study. Proc.Indian Acad. Sci. (Anim.Sci.) ,91:587-597.

[23] Hoar,W.S.(1969) .Reproduction.in Fish physiology .(Hoar and Kandall eds.)Vol.3.NewYork.Acad.press,:pp1-19.

[24] Guraya,S.S.and Kaur,S.(1982) .Cellular sites of steroid synthesis in

# Oogenesis in Shabout *Barbus grypus* Heckel , 1843

***Aveen R.Mohsin**** ***Abedelhakim A.Al-Rawi****

***Nahla A.Al-Bakri*****

*Department of Biology, college of Science for Women, Baghdad University.
** Department of Biology, College of Education(Ibn Al-Haitham),Baghdad University.

## Abstract:

The female Shabout were collected as samples from Dijla river in Baghdad. The oocyte developmental stages were divided in to nine stages, based on nucleus structure , cellular inclusions and ovarian follicle structure ,they are:-( Oogonia stage , Early Perinucleolar Stage , Advanced Perinucleolar Stage , Cortical Alveoli Stage , Primary Yolk Stage , Secondary Yolk Stage , Tertiary Yolk Stage , Migratory Nucleus Stage , Hydration Stage)