دراسة كيميائية نسجية للكشف عن تموضع المحتوى البروتيني للدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda:Pseudophyllida , Bothriocephalidae)

سندس نذير الكلاك[١] و بثينة حاتم السبعاوي[٢] و فاطمة قاسم الحيالي[٣]

[١] فرع العلوم الطبية الأساسية ، كلية التمريض ، جامعة الموصل

[٢] فرع التشريح ، كلية طب الموصل ، جامعة الموصل

[٣] قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة الموصل

(استلم 5 / 9 /2007 ، قبل ٢٦ / ٢ / ٢٠٠٨)

الملخص:

شمل البحث الحالي دراسة كيمياء النسج للدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi* لغرض تحديد موقع وتركيز البروتينات في الأنسجة والأعضاء المختلفة لهذه الشريطية من خلال استخدام تقانات ننهايدرين –شيف وازرق البروموفينول الزئبقي وكاشف ميلون حيث أظهرت المقاطع تفاعلات موجبة شديدة في العضلات الطولية، الغدد المحيه، البيوض، المبيض وكيس الذؤابة مع التقانات الأنفة الذكر مقارنة مع الأنسجة والأعضاء الأخرى والتي أظهرت درجة اقل من التفاعل.

ويستنتج من هذه الدراسة أن التباين الحاصل في المحتوى البروتيني في الأنسجة المختلفة، دلالة على النشاطات الايضية والفسلجية للشريطية الأنفة الذكر، متمثلة بالحماية من العصارات الهاضمة للمضيف وامتصاص المواد الغذائية وغيرها من النشاطات والتي تضمن بقاء وديمومة الطفيلي.

الكلمات الدالة : كيمياء النسج ، ديدان شريطية*Bothriocephalus acheilognathi* ، بروتينات

المقدمة

كانت الديدان الطفيلية ومازالت من أهم أسباب الأمراض البشرية والحيوانية، إذ تعد سببا في هلاك الملايين من البشر والحيوانات الداجنة في كل عام في جميع أنحاء العالم [1]. تبقى مشكلة الأمراض عائقا أساسيا في طريق التوسع في مشاريع الثروة الحيوانية، إذ تأتي في المقدمة الأمراض الطفيلية التي تصيب الأسماك، فالأسماك كسائر الحيوانات الفقرية عرضة للإصابة بمختلف الطفيليات والأمراض، مما يتسبب عن تلك الإصابات خسائر فادحة في الثروة السمكية. من هذا المنطلق حدا بالعديد من الباحثين المعنيين في علم الطفيليات إلى التبحر في تشخيص مختلف طفيليات وأمراض الأسماك، وشهد العالم بمختلف بقاعه توجها جادا نحو ذلك وحظيت دراسة وتشخيص مختلف الطفيليات باهتمام كبير من لدن الباحثين، فقد أنجزت العديد من الدراسات وجرى تأليف العديد من الكتب في هذا المجال المتزايد الأهمية [3,2] .

عرف وشخص جنس *Bothriocephalus* من الطفيليات المهمة التي تصيب الثروة السمكية كاسماك الشبوط *Barbus grypus* والبز *B. esocinus* والكارب *Cyprinion carpio* وهناك نوعين من هذا الجنس واسع الانتشار هما *B. opsariichthydis* والمرادف للنوعين *B. gowkongesis*، *B. phoxini* والنوع الأخر الأقل انتشارا *B. acheilognathi*. [4] هذا وقد أجريت دراسات تضمنت تموضع هذا الجنس من الشريطيات وتوزيعها في مختلف مضيفاتها، ثم توالت فيما بعد دراسات وأبحاثا متعددة منها ما اهتمت بالجوانب المظهرية والتصنيفية والبعض الأخر سجلت في مضيفاتها[٤-١٣]، كما ركزت دراسات أخرى على الجوانب الحياتية والتطرق إلى بعض أجهزتها لتشمل التركيب النسجي وغيرها في حين أخر بينت تداخلاتها مع مضيفاتها [14-19]. أما الدراسات التي أجريت في العراق بشأن جنس الشريطية *Bothriocephalus* فمن خلال استعراض المراجع المتعلقة والمتوفرة لدينا، لوحظ أن هناك دراسات وأبحاثا متعددة شملت محاور هذه الدراسات الناحية المظهرية والتصنيفية وتسجيلها في مضيفاتها[20-23]. في حين أخذت المحاور الأخرى لدراسات لاحقة منحا أخر منها انصبت على دراسة الجهاز العصبي للنوعين *B.gowkongesis* و *B. acheilognathi* أنجزت من قبل ألكلاك [25,24] ، كما وتمت دراسة أخرى [26] ألقي الضوء فيها على التركيب النسجي للشريطية قيد الدراسة . وفي دراسة حديثة أعدتها النفطجي [27] أثبت في إحدى محاورها تباين المحتوى الكيموحيوي للشريطية *Bothriocephalus* عن باقي الشريطيات المفحوصة تبعا لتباين مضيفاتها الفقرية .

يتضح مما سبق ذكره أنفا أن الأبحاث والدراسات بشأن كيميائية النسج سواء لهذه الشريطية أم شريطيات وديدان أخرى فأنها ما تزال قليلة جدا ولم ينجز ولم ينشر منها إلا النزر اليسير، فقد أفادت دراسة ألكلاك[28] تباين الشريطيتين من نوع أحادية ومتعددة الحوين Monozioc and Polyzioc في المحتوى الكيميائي الحيوي وعدت أول دراسة موسعة عنيت بالتركيب النسجي ومكامنه من الجزيئات الأساسية الحيوية كما وأشير إلى دورها الوظيفي في حياتية تلك الشريطيتين. ولكن هذا لا يعني خلو المراجع العلمية من أبحاث في هذا الخصوص، فقد جاءت دراسة اهتمت بالمواد الحيوية المكمونة في أنسجة الكيس العدري للمشوكة الحبيبية *Echinocooccus granulosus* المعزولة من الإنسان وبعض المضائف الوسطية الأخرى [29] . ثم توالت دراسة أخرى تطرقت فيها إلى بعض الجوانب الكيميائية النسجية لأكياس عدد من اليرقات المتكيسة في مضائف فقرية مختلفة[30] وتلاها دراسة [31] تحرى فيها عن ترسبات أملاح الكالسيوم في دودة كبد الماعز، كما جاءت ملاحظات الحيالي[32] نتيجة دراستها للمراحل التطورية والتغيرات النسجية للرؤيسات الأولية protoscolices في الكيس العدري للمشوكة الحبيبية *E. granulosus* لتؤكد ما بينته المشاهدات السابقة حول تمركز الجزيئات الحيوية الأساسية في أنسجة وأعضاء الأطوار البالغة للشريطيات. وحديثا اجري عدد من الدراسات تضمنت بعض محاورها الجوانب الكيميائية النسجية، فقد قام الداؤودي[33] بدراسة مقارنة شملت الكشف عن بعض المكونات الحيوية

لعدد من السركاريا باستخدام عدد من تقانات كيمياء النسج، ومن الجدير بالملاحظة أن معظم الدراسات المشار إليها في أعلاه كانت قد تمت في الطور اليرقي من الديدان ماعدا دراسة [28]، وحديثا أيضا توفرت دراسات اهتمت بتسليط الضوء على الجسيمات الكلسية ودورها الوظيفي في الدودة الكبدية *Fasciola gigatica* [34]، وثمة دراستين حديثتين[35,36] احداهما لازالت قيد النشر فقد تقصت الدراسة الأولى ت عن مواقع وتجمع احد العناصر المعدنية ولاسيما عنصر الكالسيوم وتكوينه للجسيمات الكلسية وإبراز دورها الحيوي لها لغرض التفهم في حياتية وديمومة تطفل الشريطية *B. acheilognathi* في مضيفها، في حين انصبت الدراسة الثانية في التحري عن المواد البروتينية والكربوهيدراتية وأهميتهما في حياتية إحدى الشريطيات من نوع أحادية الحوين .

نظرا لعدم توافر مصادر علمية وقلة المعلومات المتعلقة بالطبيعة الحيوية لأعضاء الديدان الطفيلية وما تتضمن أنسجتها من مواد حيوية أساسية وضرورية في تفعيل الوظائف الحيوية فيها، تبقى الحاجة إلى إجراء مزيد من الأبحاث والدراسات في هذا المضمار ليستدل من نتائجها بملاحظات ذات قيمة، وبذا تضاف النتائج الحاضرة وغيرها إلى مجمل استنتاجات العديد من الباحثين المعنيين في هذا المجال ،لكونها الواجهة والمدخل إلى دراسات مستقبلية أكثر تطورا. لذا صيغ هدف الدراسة الحالية ليستنتج من خلاله تموضع المحتوى ألبروتيني وإيضاح دوره الوظيفي في بايولوجية هذه الشريطية .

المواد وطرائق العمل

جمعت٦٠ سمكة من اسماك البز *Barbus esocinus* المصطادة حديثا من نهر دجلة المار بمدينة الموصل / شمال العراق. جلبت إلى المختبر، بعدها فتحت بطونها ونزعت الأمعاء منها ووضعت في أواني خاصة هيئت لهذا الغرض احتوت على محلول ملحي تركيز ٠,٦%. فتحت الأمعاء وجرى البحث عن طفيلياتها من الشريطيات، وقد وجدت الشريطيات بأعداد كبيرة في حين البعض منها كانت ملتصقة بالغشاء المخاطي المبطن لأمعاء المضيف، تم إزالتها

وفصلها عن الغشاء المخاطي بوساطة فرشاة صغيرة ونقلها وجمعها بمعدل٣٠ أنموذجا حيا، غسلت بالماء المقطر من بقايا الغشاء المخاطي العالق بها. ثبتت الشريطيات بالمثبتات الخاصة للكشف عن البروتينات، بعدها طمرت بشمع البارافين وقطعت الديدان عرضيا والبعض الأخر طوليا وبشكل متسلسل بالمشراح الدوار وبسمك٧ مايكرون. ثم استخدمت بعض من تقانات كيميائية النسج المتخصصة للبروتين [37] وكالاتي: تقنية ننهايدرين –شيف، تقنية ازرق البروموفينول الزئبقي وتقنية كاشف ميلون.حملت المقاطع النسجية ببلسم كندا وفحصت مجهريا،ولخصت النتائج في الجدولين(١و٢) والموضحة في الصور الفوتوغرافية (١-٦).

النتائج

يوضح الجدولين (١و٢) نتائج تفاعل المقاطع العرضية والطولية للدودة الشريطية *B. acheilognathi* مع تقانات كيميائية النسج للبروتينات. بعد فحص المقاطع النسجية المتسلسلة للشريطية والمتفاعلة مع تقنية ننهايدرين–شيف الموضحة في (الصورتين١و٢) فقد اظهركل من البشرة وتحت البشرة والعضلات المائلة والتفرعات الرحمية تفاعلا سالبا. بدت كل من العضلات الطولية والغدد المحية والمبيض وكيس الذؤابة والبيوض تفاعلا موجبا شديدا وظهرت بلون وردي محمر غامق. أما كل من السايتونات أو خلايا البشرة cytons والرحم والخصى والحيامن اظهرت تفاعلا موجبا معتدلا بلون وردي محمر، بينما أبدى النسيج الميزنكيمي تفاعلا ضعيفا، وأبدى كل من المهبل والكيس الرحمي والحويصلة المنوية تفاعلا موجبا بلون وردي. أما عن تفاعلات أنسجة وأعضاء الشريطية الحالية مع تقنية ازرق البروموفينول الزئبقي الموضحة في (الصورتين ٣ و٤)، فقد أظهرت البشرة والعضلات الطولية والغدد المحية والمبيض والبيوض والحيامن تفاعلا موجبا شديدا بلون ازرق غامق، وأبدى كل من خلايا البشرة أو السايتونات والرحم والخصى وكيس الذؤابة تفاعلا موجبا معتدلا بلون ازرق، في حين اظهر كل من النسيج الميزنكيمي والمهبل والتفرعات الرحمية والحويصلة المنوية تفاعلا موجبا بلون ازرق فاتح، بينما اظهر كل من العضلات المائلة وجدار الرحم والمهبل والكيس الرحمي تفاعلا سالبا وأبدت تحت البشرة تفاعلا ضعيفا.

فيما يتعلق بتفاعل أنسجة وأعضاء الدودة المذكورة مع تقنية كاشف ميلون الموضحة في (الصورتين ٥ و٦)، فقد أظهر كل من البشرة وتحت البشرة والرحم والكيس الرحمي والتفرعات الرحمية تفاعلا سالبا، في حين أظهرت العضلات الطولية تفاعلا موجبا معتدلا بلون احمر قرمزي، وأبدت كل من العضلات المائلة والغدد المحيه والمبيض والخصى تفاعلا موجبا، كما أظهرت البيوض محتوى عال من الحامض الاميني التايروسين، في حين شوهدت أثار منه في كل من خلايا البشرة والنسيج الميزنكيمي والمهبل وكيس الذؤابة والحويصلة المنوية والحيامن .

جدول (١): تفاعلات أنسجة وأعضاء الدودة الشريطية *B. acheilognathi* مع التقانات الكيميائية النسجية للبروتينات.

أنسجة وأعضاء الدودة	التقانات الكيميائية النسجية للبروتينات		
	ننهايدرين– شيف	ازرق البروموفينول الزئبقي	كاشف ميلون
البشرة	–	+++	–
خلايا البشرة السايتونات cytons	++	++	±
تحت البشرة	–	±	–
العضلات الطولية	+++	+++	++
العضلات المائلة	–	–	+
النسيج الميزنكيمي	±	+	±

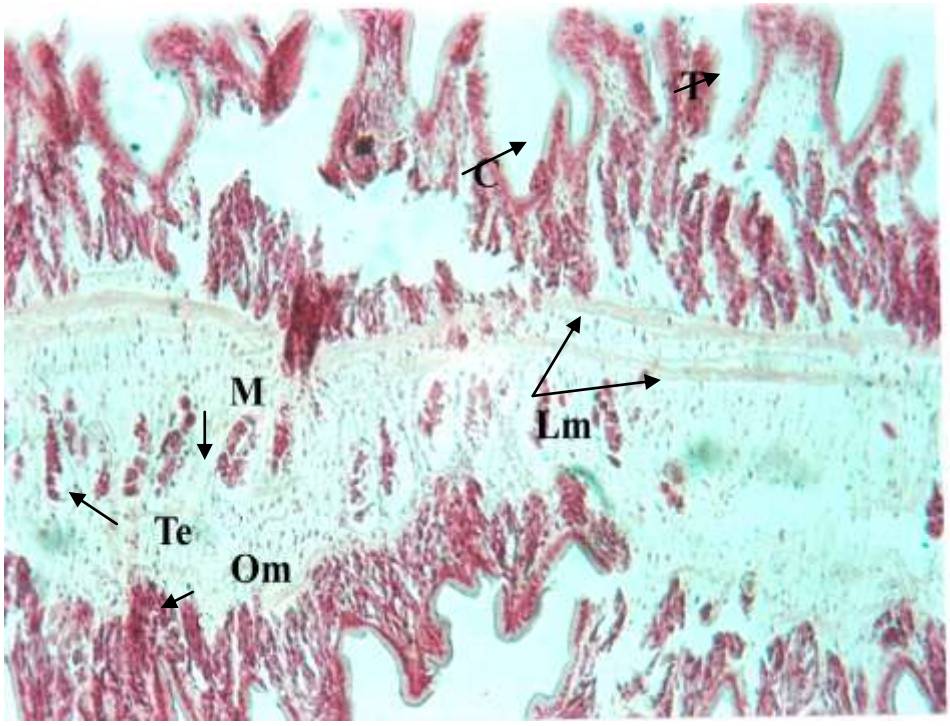
معاني الرموز المؤشرة على الصور الفوتوغرافية

البشرة	Tegument(T)
تحت البشرة	Sub tegument(St)
خلايا البشرة	Cytones(C)
العضلات الطولية	Longitudinal muscles(Lm)
العضلات المائلة	Oblique muscles(Om)
النسيج الميزنكيمي	Mesenchymaal tissue
الغدد المحية	Vetellaria glands (Ve)
الخصى	Testis(T)
الكيس الرحمي	Uterus sac(Us)
البيوض	Eggs(E)

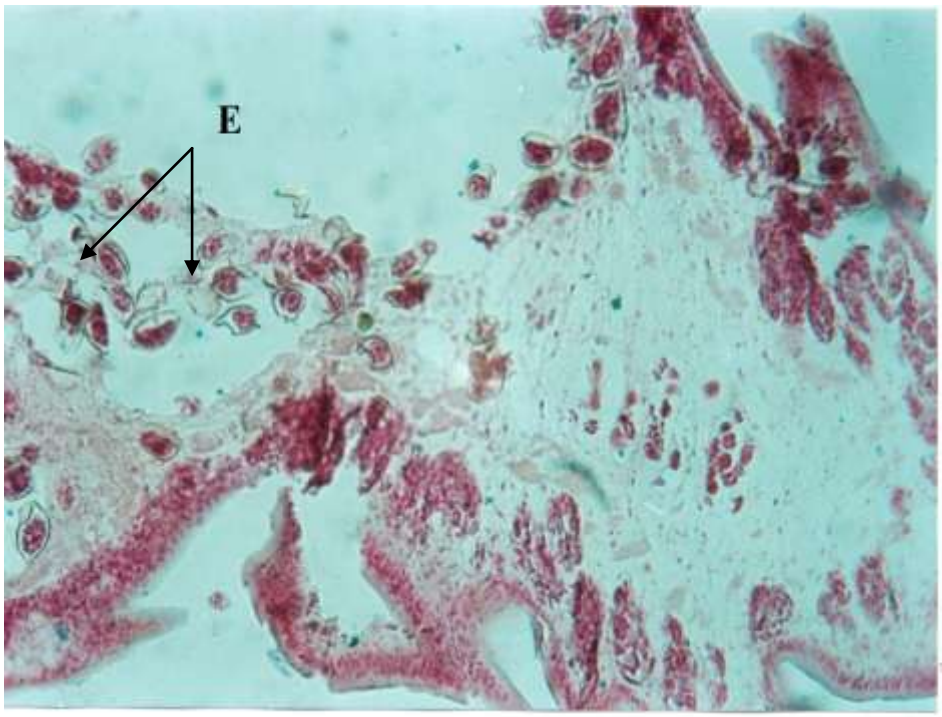
الأعضاء الأنثوية والذكرية للدودة	التقانات الكيميائية النسجية للبروتينات		
	ننهايدرين– شيف	ازرق البروموفينول الزئبقي	كاشف ميلون
المبيض	+++	+++	+
الرحم	++	++ / جداره(–)	–
المهبل	+	+ / جداره(–)	±
الكيس الرحمي	+	–	–
البيوض	++++	++++	+++
التفرعات الرحمية	–	+	–
الغدد المحية	+++	+++	+
الخصى	++	++	+
كيس الذؤابة	+++	++	±
الحويصلة المنوية	+ / جدارها(–)	+	±
الحيامن	++	+++	±

- (+++) و (++++): موجب شديد
- (++): موجب معتدل
- (+): موجب
- (±): ضعيف
- (–): سالب

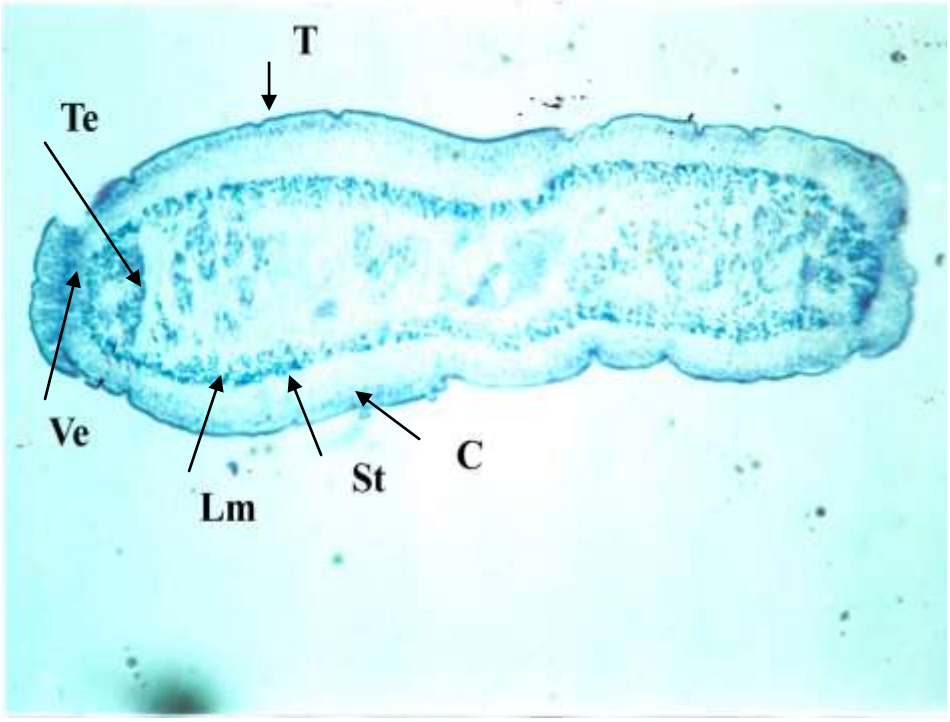
جدول (٢): تفاعلات الأعضاء الأنثوية والذكرية للدودة الشريطية *B. acheilognathi* مع التقانات الكيميائية النسجية للبروتينات.



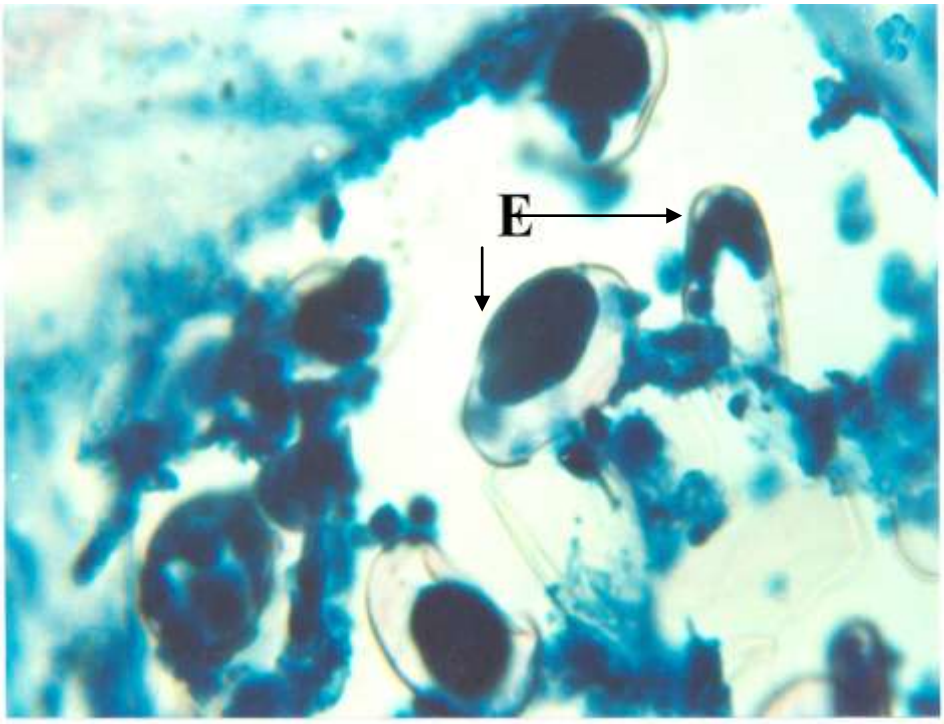
صورة (1) : مقطع طولي لقطعة ناضجة للدودة *B. achielognathi* يبين البشرة(T) وخلايا البشرة (C) والعضلات الطولية (Lm) والعضلات المائلة (Om) والخصى (Te) والنسيج الميزنكيمي (M)، قوة التكبير (40X). تقنية ننهايدرين– شيف .



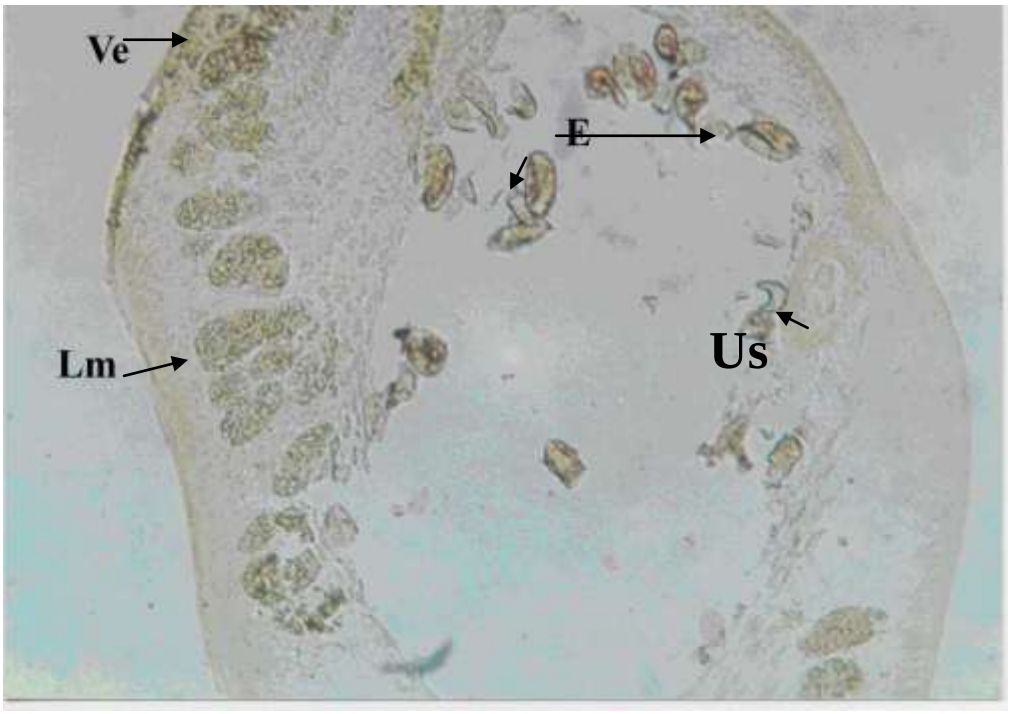
صورة(٢) : مقطع طولي لقطعة حبلى للدودة*B. achielognathi* يبين البيوض (E)، قوة التكبير (40X). تقنية ننهايدرين– شيف .



صورة (3) : مقطع عرضي لقطعة ناضجة للدودة*B. achielognathi* يبين البشرة (T) وخلايا البشرة (C) وتحت البشرة (St) والعضلات الطولية (Lm) والغدد المحية (Ve)،قوة التكبير (4X). تقنية ازرق البروموفينول الزئبقي .



صورة (4) : مقطع عرضي لقطعة حبلى للدودة*B. achielognathi* يبين البيوض (E)، قوة التكبير (40X). تقنية ازرق البروموفينول الزئبقي .



صورة (5) : مقطع عرضي لقطعة حبلى للدودة*B. achielognathi* يبين العضلات الطولية (Lm) والغدد المحية (Ve) والكيس الرحمي (Us) البيوض (E)، قوة التكبير(10X). تقنية كاشف ميلون.

صورة (6) : مقطع عرضي لقطعة حبلى للدودة*B. achielognathi* يبين البيوض (E)، قوة التكبير (40X). تقنية كاشف ميلون.

المناقشة

في ضوء نتائج الفحص المجهري للمقاطع النسجية لمختلف أعضاء الدودة الشريطية قيد الدراسة والمتفاعلة مع تقنية ننهايدرين –شيف، تبين تمركز المحتوى ألبروتيني بشكل كثيف في الأعضاء ذات الوظيفة الحيوية كالعضلات الطولية والغدد المحية والمبيض فضلا عن كيس الذؤابة (الجدولان ١و٢، الصورتان ١و٢). إن هذه النتيجة اتفقت مع ما أوضحته عدد من الدراسات السابقة وأكدت توافر محتوى بروتيني عال في مثل هذه الأعضاء للديدان الطفيلية[28,36,38,39]، وعدت البروتينات أساسا لجميع العمليات الحيوية في الخلايا، وهي اكبر الجزيئات تعقيدا في الخلية،

وتنتشر في جميع أجزاء خلايا الطفيلي خلال التغذية نتيجة تواجدها في الموطن الطبيعي للتطفل في مضيفه، مما يجعلها عرضة للاستهلاك من قبل الطفيلي الذي يعتمد بصورة مباشرة على مضيفه بكل ما يحتاجه من مواد غذائية للنمو والتكاثر والتغيرات الكيميائية في الخلايا الحية التي تؤمن توفير الطاقة الضرورية للنشاطات الحيوية في غياب جهازي الهضمي والدوران للشريطيات.

إن اختفاء المحتوى ألبروتيني في بشرة الشريطية قيد الدراسة ربما يعزى إلى ما أكدته الدراسات والأبحاث العديدة التي عنيت بدراسة التركيب الدقيق للديدان الطفيلية، من اقتران المحتوى ألبروتيني مع جزيئات سكرية وأخرى دهنية ضمن طبقة الدهن الثنائية لغشاء البلازما الدقيق للديدان[40-41]، ومن جهة أخرى أن هذه النتيجة جاءت موافقة لما سجله كل من Bogitsch [42]،Howells و Erasmus [43] ولكن اختلف أراء الباحثين تبعا لنتائج بحوثهم وتناقضت استنتاجاتهم بهذا الصدد، بحيث لم تتفق مع ما أورد في دراسة ألكلاك ومحمد[36]، من الممكن أن نستدل من نتيجة الدراسة الحالية وغيرها من دراسات سابقة تباين الشريطيات على اختلاف أنواعها في محتواها ألبروتيني، لذا فان مزيدا من الدراسات تشمل رتب الشريطيات جمعاء، تبدو مفيدة لأجل تقييم التصنيف الذي اعتمد بصورة أساسية على الهيئة الشكلية ومحاولة ربط ذلك مع المحتوى ألبروتيني ونوعيته وخصوصيته في أجناس كل رتبة من رتب الشريطيات.

اتضح من تتبع المقاطع النسجية المتفاعلة مع تقنية ازرق البروموفينول الزئبقي وجود وانتشار كميات وفيرة من المحتوى ألبروتيني في مختلف الأعضاء للشريطية قيد الدراسة (الجدولان ١ و٢ ، الصورتان ٣ و٤)، لتؤكد ما بينته الأبحاث والدراسات السابقة فقد أشار Halton وجماعته [44] ومعظم الباحثين الآخرين [45-47] إلى دور البروتين في تفعيل مختلف الوظائف الحيوية، حيث عدت الأحماض الامينية من المكونات التركيبية المهمة، وأن معظمها من النواقل العصبية فقد تميزت أكثر من ٣٠ نوعا في الجهاز العصبي للديدان المسطحة، ويمكن القول هنا أن الأحماض الامينية قد تمثل معبرا لإيصال آلية الجهاز العصبي لأحداث آليات متناسقة إلى مختلف الأعضاء الجسمية في الطفيلي، عندها تستكمل فسلجته ويديم تطفله. وتظهر النتائج الحالية تشابها مع تلك التي أوردها العديد من الباحثين والدارسين لكيمياء النسج للشريطيات من إبداء البشرة محتوى عال من البروتين [٣٦،٣٨،٣٩،٤٨] ليستدل من هذه النتيجة عن دور البروتينات في بناء جسم الكائن الحي، وتنظيم العمليات الايضية الضرورية لإصلاح السايتوبلازم ونمو وتطور وتمايز خلايا الجسم. كما وتعد البروتينات من المكونات التركيبية الأساسية، فضلا عن ارتباطها الوثيق مع الجهاز العضلي والنقل والحماية ضد المستضدات والذيفانات والهورمونات[46]. وتماثلت نتائج الدراسة الحالية مع استنتاجات الدراسات السابقة عند كشفها عن المحتوى ألبروتيني لخلايا البشرة [28,39,49] والدراسة الحديثة [٣٦]، فقد أشير إلى دور هذه الخلايا في بناء البروتين وعبوره خلال الامتدادات السايتوبلازمية ووصوله إلى السايتوبلازم البعيد للبشرة لكي يستقر ويعد فيما بعد من مضامين البشرة، كما أُكد ذلك في البحوث العلمية التي عنيت بدراسة البشرة للديدان الطفيلية وأهمية دور فاعليتها في حماية الطفيلي من العصارات الهاضمة للمضيف [46,48]

. ومن خلال ما ذكر في أعلاه يمكن التكهن بأن خلايا البشرة cytons قد تكون معبرا تنفذ خلاله الأحماض الامينية والبروتينات المتواجدة في المحيط إلى مداخل أنسجة وأعضاء الطفيلي، وبذا يصل المحتوى ألبروتيني إلى الأنسجة كافة، فقد أشارت معظم الأدلة في المراجع العلمية إلى دور أنزيمات الفوسفاتيز في عملية نقل المواد الغذائية والمواد الحيوية إلى مختلف الأنسجة والأعضاء الحيوية للديدان الطفيلية [28,49,50] وتعقيبا على أهمية هذه الخلايا ودورها الوظيفي في عبور مختلف المواد الحيوية من ضمنها المحتوى ألبروتيني، فقد تبين وجوده في النسيج الميزنكيمي للشريطية قيد الدراسة (الجدول ١ والصورة ١)، أن وجود البروتين في هذا النسيج الفعال يفسر بوضوح ما توصل إليه Malcolm [52] في دراسته بشأن الطبيعة النسجية للنسيج الميزنكيمي وما يؤول له الدور الوظيفي في الشريطيات، حيث ذكر انه يحافظ على تشكل الطبقة الطلائية للديدان وصيانتها، كذلك دوره في تكوين الطبقة الطلائية للرحم التي بدورها تؤدي دورا هاما في نمو وتطور حاملات البيوض، كما يقي محافظ البيوض الداخلية الرحمية. كل هذه وتلك فأن تواجد البروتينات في النسيج الميزنكيمي تعد تراكيب فعالة مسؤولة عن ايض البروتين كما اعتقد ذلك كل منAlam و Nizami [53] وأناط الباحثان بناء هيكلية النسيج الميزنكيمي إلى توافر المواد البروتينية ودورها الفعال فيه، وعلى أية حال فقد تكون هذه التوضيحات مقبولة لتفسير ظهور التفاعل الموجب في النسيج الميزنكيمي للشريطية قيد الدراسة، ولعل امتداد الدراسة باستخدام المجهر الالكتروني وما يترتب على ذلك مزيد من الأبحاث في مجال كيمياء النسج، يمكن أن تضفي بمعلومات وافية عن التركيب الدقيق ومجمل وظائف مختلف خلايا النسيج الميزنكيمي والأنسجة الأخرى لأجل التقصي والتفهم عن المحتوى الكيمو حيوي وتفسير دوره الوظيفي في جسم الطفيلي.

بينت نتائج الدراسة الحالية توافر محتوى بروتيني في مكامن الأعضاء التكاثرية للشريطية قيد الدراسة (الجدول ٢) لتؤكد ما أورد في الدراسات السابقة، فقد أشارت إلى الايض ألبروتيني الفعال في نسج هذه الأعضاء الفعالة وظيفيا ، كما وأيدت دور البروتينات فيها لإنتاج كميات كافية من الخلايا الجرثومية والمح والكريات القشرية فضلا عن إنتاج البيوض، وبهذا الصدد فقد أفاد Arlene [14] أن مصدر الطاقة للبيضة المخصبة في الشريطية *B. scorpii* هو نتيجة تواجد المحتوى ألبروتيني في المبيض، ومن جهة أخرى أن نتائج الدراسة الحالية جاءت موافقة لما وثقته العديد من الدراسات السابقة كما سيرد ذكرها فيما بعد، بخصوص توافر محتوى بروتيني في الأنسجة التكاثرية، وفسرت أهميته وفاعليته في نمو ونضج وتطور الحيامن وتدفقها عبر القنوات التناسلية والاستمرار في تفعيل العمليات التكاثرية لأجل ديمومة حياة الطفيلي في مضيفه [28,36,39,54] ومن خلال ما اتضح في أعلاه نرى أهمية دور البروتين وفاعليته في الأعضاء التكاثرية وغيرها من أعضاء الديدان الطفيلية وان دل على شيء فإنما يدل على وجود علاقة وثقى بين الطفيلي وغذاء مضيفه، وهذا ما اكدته الدراسات السابقة، فقد وجد Kuravskaya [16]علاقة بين نسبة البروتين في الشريطية *B. acheilognathi* وتغذية المضيف، وبهذا الصدد فقد سُجل تباين في المحتوى ألبروتيني للشريطيات تبعا لنوعية المضيف [28,27]، والأكثر أهمية في هذا الخصوص فقد عنيت دراسة

[28] بمعرفة التركيز الكلي للبروتين لشريطيتين مختلفتين مظهريا وتركيبيا ولوحظ تباين واضح باستخدام تقنية الهجرة الكهربائية واعتمدت الدراسة هذه التباينات معايير يمكن الاعتماد عليها في التصنيف والتمايز بين انموذجات الشريطيات. لذا جاءت هذه الاستنتاجات امتدادا لنتائج سابقة [58-55] .

واهتمت الدراسة الحالية بخصوصية أكثر لمضمون المحتوى ألبروتيني فقد تم التقصي عن واحد من هذا المحتوى وهو الحامض الاميني التايروسين في مكامن أنسجة الشريطية قيد الدراسة باستخدام تقنية كاشف ميلون، ليستدل من ذلك تواجد الحامض الاميني التايروسين في الأعضاء الفعالة وظيفيا كما موضح في(الجدولان ١ و ٢ والصورتان٥ و ٦)، وبذلك توافق لما سجله Gupta و Kapoor [59]في نتائج دراستهما، إذ لاحظا غنى البشرة والعضلات الطولية والعضلات المائلة بالحامض الاميني التايروسين، من دون إعطاء تفسير لدور الحامض الاميني في أعضاء وعضلات الشريطية *Cotugonia digonopora*، ويمكن أن يستنتج من نتائج الدراسة الحالية أن دور الحامض الاميني التايروسين والمتواجد ضمن المحتوى ألبروتيني العال ربما يكمن في آلية الجهاز العضلي المتطور والمتمثل بالعضلات الطولية، هذا وقد اعتبرت الأدلة الحديثة أن العضلات الطولية منطقة توضيحية مهمة تميز جسم الشريطيات إلى منطقة القشرة واللب [60,61]، ومن جهة أخرى فأن وجود أثار من الحامض الاميني التايروسين في النسيج الميزنكيمي للشريطية قيد الدراسة أيدته نتائج الدراسات السابقة التي أجريت من قبلMonne [62] و Chowdhuryوجماعته[63] وبهذا الصدد فقد اختلفت أراء الباحثين تبعا لاستنتاجات أبحاثهم، فقد اثبت Hayunga [64] وجود محتوى معتدل من الحامض الاميني التايروسين في خلايا رؤيس ثلاثة أنواع من شريطيات أحادية الحوين، في حين لم تعط دراسة Howells و Erasmus [43] توضيحا مقبولا لتفسير نتائج دراستهما وأشارا بأنها غير مقنعة Unsatisfactory results. وأظهرت نتائج الدراسة الحالية تشابها بشأن تموضع الحامض الاميني التايروسين في الأعضاء ذات الوظيفة الحيوية مع ما أشارت إليه الدراسات السابقة[39,65,66] ولكنها لم تفسر مغزى توافر الحامض الاميني التايروسين ودوره في الوظائف الحيوية في جسم الطفيلي، كما تماثلت النتائج الحاضرة مع ما أورده الباحث Muthakrishnan في كلتا دراستيه [67,68]غياب هذا الحامض الاميني في البشرة. ومن الجدير بالذكر لا يتواجد البروتين بشكل حر في بشرة الديدان الطفيلية حسب ما دونته المراجع العلمية وأثبتته النتائج الحالية والسابقة، بل يكون مقترنا مع السكريات المتعددة الحامضية المخاطية، وعند هذه الحالة فأن توافر المواد الحيوية جمعاء تعد ذات أهمية عظمى في حياتية الطفيلي، والمسؤولة عن وقايته من تأثير العصارة الهاضمة للمضيف، ومن الملاحظات البارزة التي توصل إليها Katchlasky [69] أن دور وجود الحامض الاميني التايروسين في بشرة الطفيلي هو لتثبيط عمل آلية السكريات المتعددة الحامضية المخاطية، وعند هذه الحالة سوف تتعرض الطفيليات إلى عمل آلية الأنزيمات المحللة والمكمونة ضمن العصارة الهاضمة للمضيف، ولهذا أُثبت غيابه بشكل حر كما هو الحال في نتائج الدراسة الحالية. لذا فان مزيدا من إجراء الدراسات بشأن استخدام تقنية كاشف ميلون في بشرة الشريطيات جمعاء قد تكون مفيدة مستقبلا لمعرفة واثبات ما أشار إليه الباحث في دراسته .

أما عن اختفاء الحامض الاميني التايروسين في الرحم والكيس الرحمي والتفرعات الرحمية للشريطية قيد الدراسة ربما يفسر بوضوح ويشير إلى النقصان الحاصل في المحتوى ألبروتيني للقطع الحبلى نتيجة ارتباطه مع الكوينين quinine المتكون والذي يشكل فيما بعد السكليروتين sclerotin، ولهذا أظهرت بيوض الشريطية الحالية محتوى بروتيني عال عند استخدام التقانات الخاصة للكشف عنه، هذه ما أيدته الدراسات السابقة والحالية، فقد أشارت إلى مكونات الغطاء الخارجي للبيضة من البروتينات السكرية فضلا عن السكريات المتعددة الحامضية حيث تقوم بدور الواقي حتى تصبح صلبة Refractory تجاه العصارات الهاضمة الموجودة في المحيط الخارجي للتطفل [70].

المصادر

1- F. Hect and B.K. Hecht. Leishmania comes home with troops health and information. Centers for disease control. (2005).

٢- محيسن ، فرحان ضمد.أمراض وطفيليات الأسماك،مطبعة جامعة البصرة . (١٩٨٣). ص: ٢٢٧.

3- R. J. Roberts. Fish Pathology. Bailliere tindal books.(2003) London.

4- D.W. Pool and J.C. Chubb.A critical scaning electron microscope study of the *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti 1934, with a review of the taxonomic history of the genus Bothriocephalus parasitizing Cyprinid fishes Syatematic Parasitology. 79(1985): 199- 211.

5- O. M. Amin. Intestinal helminthes of some nile fishes near Cairo Egypt with redescriptions of *Camallanus kirandesis* Baylis 1928 (Nematoda) and Bothriocaphalus aegypticus Rysavy and Moravic 1975(Cestoda).The journal of Parasitology. 64(1978)1: 93-101.

6- D. J. Marcogliese and G. Esch. J. Alteration in seasonal dyanamics of *Bothriocephalus acheilognathi* Carolina cooling reservoir over a seven-year period. Parasitology. 75(1989) 3: 378-382.

7- A. M. Cogentti- Varriale, G. Macchion and R. Papini.Infiuenza della luce schiusa della uova di *Bothriocephalus scorpii* (Cestoda: Pseudophyllidea).Parasitology. 33(1991): 199-201.

8- J.R. Arthur and E. Albert.A survy of the parasite of Greenland halibut (Reinhardtius hippoglossoides) caught of Atlantic Canada with notes on their zoogeography in this fish .Canadian J. of Zoology. 72(1994) 4: 765-778.

9- C. Pretii, R. Agonigi, A. M. Berni and C.Varriale. Astudy of *Bothriocephalus barbatus* and *B. Gregarious* (Cestoda: Pseudophyllidea) in scophthalmus rhombus and Psetta maxima (Pleuronnectiforms: Scophthlmidea).Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 15(1995)4: 112-114.

10- Cogentti- Varriale, A. M. Berni, and G. Monni.A study on the distribution of *Bothriocephalus andresi*

(Cestoda: Pseudophyllidea) Parasitologia. 38(1996): 517-519.
11- P. Nie, G.T. Wang, W. J. Yao, Y.A. Zhang and Q. Gao.Occurrence of *Bothriocepgalus acheilognathi* in cyprinid fish from three lakes in the flood plain of the Yangtze river.China Disea. Of Aquat. Organ. 41(2000): 81-82.
12- H. Crystal and P. Kenneth. tttp://wildfishsurvey.fws.gov.(2005).
13- N.O. Dronen and C.H.K. Blend. *Clestobothrium gibsoni* n. Sp. (Cestoda: Bothriocephalidae) from the bullseye grenadier bathygadus macrops good and bean (Macrouridae) in the gulf of Mexico .Systematic Parasitology. 60(2005) 1: 59-63.
14- J. Arlene. Morphology of *Bothriocephalus scorpii* (Muler) (Pseudophyllidea: Bothriocephalidae) from littoral fishes in Britain.Journal of Helminthology. 49(1975): 251-261 .
15- Z. Jara, K. Kozubek, A. Poloczek-Adamowicz, and B. Kamyk. Activity of acid phosphatase in internal organ of craps (Cyprinus crapio L.) infection with.Wiadom. Palazytol. 3(1984)2: 207- 221.
16- L. Kuravskaya. Arate of protein in the cestode *Bothriocephalus acheilognathi* of experimental feeding and starvation . Parazitologin. 27(1993) 6 : 505-518.
17- O.Verneau, F. Thomas, A. Mees, F. Catzeflis, and F. Renaud. Evidence of two genetic entities in *Bothriocephalus funicukus* (Cestoda) detection random amplified polymorpgic DNA fingerprinting. Parasitol. Res. 81(1995): 591-594.
18- O.Verneau, F.M. Catzeflis and F. Renaud. Molecular relationships between closely related species of *Bothriocephalus* n. (Cestoda:Platyhelmithes).Molcular Phylogenetics and Evolution. 7(1997)2: 201-207.
19- D.A. Zelmer and H. Arai. The contribution of host age and size to the aggregated distribution of parasites in yellow perch perca flavescens, from garner lake Alberta ,Canada..J. Parasitology. 84(1998) 1: 24-28.
20- F. T. Mhaisen, N. K Al-Salim and N. R Khamees.The parasitic fauna of two cyprinid and a mugilid fish from Mehaigeran greek Basrah. Journal of Biology Science Research. 17(1986) 3: 63-73.
21- N. M. Ali, A. R. Al-Jafery, and K. N. Abdul-Ameer,Parasitic fauna of freshwater fishes in Diyala river Iraq . JBSR. 18(1987)1: 163-181.
22- F.T. Mhaisen, N.R. Khamees and S.A.M. Al-Draji.Parasites and disease agents of craps in Iraq.A check- list. Basrah J. Agric. Sci. 4(1991) 162: 133-139.
23- Z. I. F. Rahemo, and S. N. H. Al-Kallak.Parasitic fauna of the freshwater fish *Barbus luteus*, from Tigris river passing through Hammam Al- Alil ,mosul, iraq. Acta Parasitologica Turcica. 22(1998)3 :330- 333.
٢٤- سندس نذير حميد الكلاك،دراسة مقارنة للجهاز العصبي في ثمانية انواع من الديدان الشريطية ،رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل(١٩٩٢)، ص: ١١٥ .
٢٥- سندس نذير حميد الكلاك.الجهاز العصبي للدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi*(Cestoda: Pseudophyllidea).مجلة دراسات (العلوم الطبية والحياتية)، ٢٥ (١٩٩٨)٢: ١٥٧-١٦٣
٢٦- سندس نذيرالكلاك؛ اسرار اسماعيل ياسين ، ونجوى محفوظ احمد.التركيب النسيجي للدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi* 1934, المتطفلة في اسماك المياه العذبة *Barbus esocinus* .علوم الرافدين ١٥ (٢٠٠٤) الرابع خاص بعلوم الحياة: 78-86.
٢٧- منى طاهر محمد النفطجي.دراسة نسيجية وكيموحيوية لبعض من الديدان الشريطية في مضائف فقرية مختلفة، اطروحة دكتوراه، جامعة الموصل،(٢٠٠٦)، الموصل، العراق، ص: ٢٢٤ .
٢٨- سندس نذير حميد الكلاك،دراسات مظهرية ونسيجية وكيميائية لأنموذجين من الديدان الشريطية المتطفلة في الاسماك، اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل(٢٠٠١) ،ص :١٩٨.
٢٩- فاطمة قاسم محمد الحيالي،دراسة نسجية وكيميائية نسجية لجدار الكيس العدري للمشوكات الحبيبية*Echinocooccus granulosus* من الانسان وبعض المضائف الوسطية الاخرى ، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل(١٩٩٩) ،ص :٩٢.
٣٠-محمد صلاح الدين عبد الفرج محمد،دراسات مرضية نسيجية وكيمياء نسيجية لأكياس يرقات الديدان في عدد من الفقريات في محافظة نينوى ، اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل(٢٠٠٢)ص : ١٤٣.
٣١- جاسم محمد عبدو الهسنياني،دراسة تشخيصية ومرضية للأصابة بديدان الكبد *Fasciola gigantica* في المعز في محافظة نينوى ، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل،(٢٠٠٢) ص: ٧٧.
32- F. Q. Al-Hayyali. Histological and histichemical studies on developmental *Echinococcus granulosus* protoscolices. Raf. Sci. Jour. 15(2004)4: Biology, Special Issue, 37-44.
٣٣- احمد عقيل الداؤودي، دراسة بايولوجية وكيموحيوية مقارنة لعدد من المذنبات ، اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل(٢٠٠٦).
٣٤- سندس نذير الكلاك، بثينة حاتم السبعاوي و ساهرة ادريس حميد؛دراسة عن الجسيمات الكلسية في الدودة الكبدية *Fasciola gigantica* (Piatyhelmithes: Trematoda).مجلة التربية والعلم، ١٨(٢٠٠٦)٢ ٥٢- ٦٤ .
35- S. N. H. Al- Kallak. Ivestigation of the calcareous corpuscles in adult *Bothriocephalus acheilognathi(*Cestoda: Pseudophyllidea) (in press).
٣٦- سندس نذير الكلاك و محمد صلاح الدين عبد الفرج محمد ، دراسة كيميائية نسيجية للتحري عن المواد البروتينية والكربوهيدراتية ودورها الوظيفي في الدودة الشريطية *Khawia lutei* (Cestoda: Lytocestodae). مجلة التربية والعلم ٢٠ (٢٠٠٧)١ ،عدد خاص لبحوث المؤتمر العلمي الاول لعلوم الحياة :٧٠ –٨٥ .
37- A.G.E. Pearse. In Histochemistry: Theoretical and applied. II edition J. & A. Churchill Ltd., London.(1968).

38- J.A. Waitz and J.L. Schardein.Histochemical studies of four cyclophyllidean cestodes.The Journal of Parasitology. 50(1964) 2: 271-277.

39- R. Chakravarty and V. Tandon, Histochemical. Studies on *Lytocestus indicus* and Djombandia penetrns CARYOPHYLLIDEAN CESTODE PARASITES OF Clarias batrachus (L.) Hinthologia. 26(1989): 259-272

40- J.D. Smyth and D.P. McManus. The Physiology and Biochemistry of Cestoda. Cambridge university press. Pp: 1-22(1989). 60- 62, 114-130.

41- S. Mader. "Biology". WCB Mcmgraw Hill. Companres. (1998).

42- B.J. Bogitsch. . Histochemical. Studies on *Hymenolepis microtome* (Cestoda: Hymenolepididae) J. Parasitology. 49(1963): 989-997.

43- R.E. Howells and D.A. Erasmus. Histochemical observation on the tegumentary epithelium and interproglottidal gland of *Moniezia expansa*(Rud.1805)(Cestoda:Cyclophyllidea). Parasitiligy. 59(1969): 505-518.

44- D.W. Halton, G.P. Brennan, A.G. Maule, C. Shaw, C.F. Jobnston and J. Fairweather.The ultrastructure and immunogold labling of pancreatic polypeptide-immunoreactive cells associated with the egg-forming apparatus of parasite Diclidophora merlangi.. Parasitology. 120(1991): 429-436.

45- J.D. Smyth. The Physiology of Cestodes. Oliver and Byod. 2nd ed.(1969):pp-279.

46- J. Barrett. Biochemistry of Parasitic Helminthes. The Scientific & Medical Division McMillan Publisher Ltd. London & Basingstoke.(1981):pp- 380.

47- D. J. A. Brownlee, G. P. Brennan, D. W. Halton, J. Fairweater and C. Shaw Ultrastructure localization of FMRF amide and pancreatic polypeptide-immunoreactivities within the central nervous system of the liver fluke *Fasciola hepatica* (Trematoda:Diagenea) Parasitol. Res. 80(1994): 117-124.

48- A. H. Rothman and J. E. Elder. Comparative Biochemistry and Physiology. 33(1970) 4: 745-762.

49- R.D. Lumsden,Surface ultrastructure and cytochemistry of parasitic helminthes. Experimentanl parasitology. 37(1975): 267-339.

50- A.M. Abdeen, S.H. Hassan, H.A. Ibrahim, and M.F. Mansour. Histochemical Studies of proteins and nucleic acids in *Paramphistomum microbothrium* ,fischoeder 1901 (Trematoda: Digenea). Proc. Zool. Soc. A. R. Egypt. 18(1990): 189- 201.

51- M.A. Mansour, E.P. Kelada, A.I. Khalil and A.M. Aabou Laban. Histochemical. Study on *Fasciola hepatica* (Digenea,Fasciolidae) , Bulletin of the faculty of Science. Zagazig University. 19 (1997) 1: 300-321.

52- K.J. Malcolm. Structure and diversity of cestods epithelia. International Journal for Parasitology. 28(1998): 913-923.

53- S.M. Alam, and W.A. Nizami. Histochemical and hitoenzymological Studies on the metacercaria of *Clinostomum complanatum* (Trematoda:Digenea).Helminthollogy. 21(1984): 21-31.

54- M.A. Mansour, E.P. Kelada, A.I. Khalil, and A.M. Abou Laban. Histochemical study on *Coliphoro microbothrium* (Digenea:Paramphistomidae).Proceedings of the zoological Society Arab Republic of the Egypt. 27(1996): 81-102.

55- W.J. Knowles and J.A. Oaks. isolation and partial biochemical characterization of the brush border plasma membrane from the cestodes, *Hymenolepis diminuta*.The Journal of Parasitology. 65(1979) 5: 715-731.

56- C. C. Bursey, J. A. Mckenzie and M. D. B. Burt.Polyacrylamide gel electrophoresis in the differentiation of (cestoda) by total protein . International Journal for Parasitlogy. 10 (1980): 167.

57-B. G. Atkinson, and R. B. Podesta.Tow- dimensional electropgoretic separation and flurographic analysis of the gene products synthesized by *Hymenolepis diminuta* with particular reference to the parasite specific polypeptides in the brush border membrane. Molecular and Biochemical Parasitology. 6(1982): 33-43.

58- M.K. Gustafsson and K. Eriksson.Never ending growth and a growth factor I immunocytocgemical evidence for the presence of basic fibroblast growth facter in a tapeworm. Growth Factors. 7(1992): 327-334.

59- N. K. Gupta and M. Kapoor,. .Histochemical studies on *Cotugnia aigonopora* (Pasquale,1890) in Gallus gallns domesticus. Rivista Di Parassitologia. 15(1979) (1\2) : 63-79.

60- A. A. Rego.Anew classification of the cestode order proteocephalidea,Mola. Revta Brasielense Zoologie. 12(1995)4: 791-814 .

61-T. Scholz,. and V. Hanzelova.Speciees of proteocephalus Weinland 1858(Cestoda:Proteocephalidae)from Cyprinid fishes in north American.The journal of Parasitology. 85(1999)1: 150-154.

62- L. Monne.On the external cuticales of various helmithes and their role in the host parasite relationship . Ark. Zool. 12(1959): 343- 358.

63- A.B.B. Chowdhury, D.A.S. Gupta and H.N.On the nature and the structure of the calcareous corpuscles in *Taenia saginata*.Ray. Parasitology. 52(1962): 153-157.

64- G.H. Hayunga.The structure and function of the scolex glands of three caryophyllid tapeworm . Proc. Helminthology Soc. Wash. 46(1979) 2: 171- 179.

65- P. M. Nollen. Uptake and incorporation of glucose, tyrosine,lucine and thymidine by adult *Philophthalmus megalurus* (Cort,1914)(Trematoda) as determined by autodiography.The J. of Parasitology. 54(1968) 2: 295- 304.

66- E. G. Hayunga and J. S. Mackiewicz. . Comparative histiligy of the scolex and neck region of *Glaridacris*

integument of the neck region of *Taenia*. *hydategena* Acta Histochemica. 52 (1975)S: 234-238.
69- A. Katchlasky.Polyelectrolytes and their biological interactions. Biophys. J. 4(suppl.).(1964): 9-42.
70-Z. Swiderski, R.V. Salamatin, B.G. Ziecina, V.V. Kornyushin and D.B. Conn. Electron microscope study on oncospheral envelope morphogenesis in the dilepidid cestode *Dilepis undola* (Schrank, 1788). Acta Parasitologica. 49 (2004)4: 300- 308.
laruei (Lamont,1921)(Cestoda:Caryophyllidea). Canadian Journal of Zoology. 66 (1988): 790-803.
67-S. Muthakrishnan, Studies on the integument of cestodes I. histology and histochemistry of the integument of the adult cestode *Taenia hydategena* .Acta Histochemica. Bd. 50, S. (1974): 174-180.
68- S. Muthukrishnan. Studies on the integument of cestodes V. histichemical observations on the

Histochemical study for detection of localized protein in *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda: Pseudophyllida, Bothriocephalidae)

Sundus N.H. Al-Kallak[1] & Buthaina H.H. Al-Sabawi[2] & Fattema K.M .Al-Hyali[3]

[1]*Dep. of Med. Basic Sciences , College of Nursing , University of Mosul*
[2]*Dep. of Anatomy , College of Medicine , University of Mosul*
[3]*Dep. of Anatomy , College of Sciences , University of Mosul*

Key words: Histochemical study, *Bothriocephalus achreilognath*i , cestoda, proteins

ABSTRACT:
This research include the histochemical study of Cestoda, *Bothriocephalus achreilognathi* in order to determine, location and concentration of the proteins in different tissue and organs of above mentioned cestoda, by using, Ninhydrine- Schiff, Mercurical Bromophenol blue and millone reagent techniques.
Histochemical sections revealed, great positive reaction on longitudinal muscles, vitelline glands, ova, ovary and cirrus pouch, compared with other tissue and organs, which appear lesser degree of reaction with above mentioned technique. From this study, we conclude that the variation occurs in protein content in different tissues and organs, show indicator for the physiological and metabolic activity of this cestoda, represented by protection from digestive juice of the host, absorption of nutrient and other activities, which involve survival and continuance of parasite.