تاثير احلال كوالح الذرة المعاملة كيميائيا وميكروبياً محل الشعير في علائق النعاج العواسية في معامل الانقسام الخلوي والتركيب الكروموسومي

أحمد عبدا لرضا مناتي* سعد محمد الندا** جميل محمد سعيد الوليد***

الملخص

أجريت التجربة على 51 نعجة عواسي تراوحت أعمارها بين 1.5-3 سنة، قسمت النعاج بالتساوي إلى ثلاث مجموعات اعتبرت المعاملة الأولى (مجموعة سيطرة) حيث قدم لها الشعير كعليقه مركزة بنسبة 4 % من وزن الجسم، بينما تم إحلال كوالح الذرة المعاملة كيميائياً وميكروبيا محل الشعير وبنسب تصاعدية بلغت 5–10% في علائق المجموعتين الثانية والثالثة، بعد إن تم إخضاعها للبرنامج الوقائي المتبع في المحطة. سحبت نماذج الدم شهرياً من الوريد الوداجي للنعاج باستخدام انابيب اختبار نظيفة ومفرغة من الهواء سعة 5 مل احتوت على الهيبارين (كمانع تخثر للدم) ونقلت إلى المختبر للقيام بالدراسة التحليلية الوراثية.

وقد استخدمت تقنية طبعة النواة للكشف عن التركيب الكروموسومي للنعاج لتحديد الانحرافات الكروموسومية وأظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية ($p<0.05$) في معدلات الانقسام الخلوي بين المجموعات الثلاث كما أن حالات الانحرافات الكروموسومية (التشوهات) كانت طبيعية لمجموعات التجربة كافة.

يستنتج من ذلك بان تغذية النعاج على كوالح الذرة المعاملة كيميائياً وميكروبياً ولحد 10% لم يكن له تاثيرات ضارة في التركيب الكروموسومي للنعاج.

المقدمة

تعد الثروة الحيوانية وخاصة الأغنام من مقومات الإنتاج الزراعي الرئيسة في العراق إذ تعد من المصادر الرئيسة للحوم الحمر في البلد وذلك لرغبة المستهلك فيها ولكونها الأكثر ملاءمة للعادات الغذائية مقارنة بالأنواع الأخرى من اللحوم. ولأهمية الأعلاف بالنسبة للإنتاج الحيواني ولحاجة البلد لإيجاد بدائل علفية تم وضع برنامج بحثي في منظمة الطاقة الذرية العراقية للاستفادة من كوالح الذرة الصفراء ورفع نسبة البروتين فيها باستخدام تقانة التخمر الهوائي بتنمية الخمائر عليها لتطوير نسبة البروتين في الكوالح (2). وقد وجد إن تغذية الحملان العواسية على كوالح الذرة الصفراء المعاملة كيميائياً وميكروبياً محل الشعير وبنسب 5 و10% أدت إلى ارتفاع ملحوظ في زيادة الوزن الكلية واليومية (3). تحتوي خلايا الأغنام على 27 زوجاً من الكروموسومات (7) وان هذه الكروموسومات تكون عرضة لتأثير مجموعة من المسببات التي تؤدي الى حدوث تشوهات او اختلافات في التركيب الكروموسومي الاعتيادي او تؤدي الى حدوث انحرافات في معدل الانقسام الوراثي (1). وتختلف هذه التغيرات الكروموسومية المتمثلة في الكسر الكروموسومي او كروموسوم بدون مركز وكذلك ظهور بعض الكروموسومات بصورة حلقية او اشكال اخرى (14). وعلى الرغم من وجود الية خاصة من انظمة اصلاح ألدنا (DNA) مثل نظام الإصلاح بالتنشيط الضوئي ونظام الاصلاح بالاستئصال (القص) والاصلاح بالاتحادات الجديدة والاصلاح بالاستغاثة (4). فان حدوث تشوهات اوتغيرات في التركيب الكروموسومي اوانحرافات في معدل الانقسام الخلوي يؤدي الى حدوث تشوهات جنينية أو نسل ميت (5)، وهذا يؤدي إلى حدوث خسارة اقتصادية او استهلاك سلبي للموارد.

جزء من رسالة ماجستير الباحث الأول.

* كلية الزراعة- جامعة كربلاء–كربلاء، العراق.

** مركز التقانات الاحيائية– جامعة النهرين– بغداد، العراق.

*** كلية الزراعة– جامعة تكريت– صلاح الدين، العراق.

لذا هدفت الدراسة الحالية تقويم تأثير أحلال كوالح الذرة المعاملة كيميائيا وميكروبياً في علائق النعاج العواسية على معامل الانقسام الخلوي والتركيب الكروموسومي.

المواد و طرائق البحث

أجريت الدراسة في حقول قسم الإنتاج الحيواني /منظمة الطاقة الذرية العراقية الملغاة في نيسان عام2001 إذ تم إخضاع 51 نعجة للتجربة تراوحت أعمارها بين 1.5–3 سنة ومعدل وزن 49.5 كغم.قسمت مدة التجربة إلى ثلاثة مراحل كل مرحلة عبارة عن ثلاثة أشهر لسهولة عرض النتائج.

تم الاعتماد في تغذية حيوانات التجربة على الشعير باعتباره مصدر غذاء رئيس للحيوان، إذ قدم بنسبة 4% من وزن الحيوان مع توفير العلف الأخضر ومكعبات الأملاح المعدنية في الحقل بصورة مستمرة، استبدل الشعير بكوالح الذرة المعاملة كيميائياً وميكروبيا بنسب تصاعدية 0، 5 و10% وللمعاملات الأولى، الثانية والثالثة على التوالي.

تمت معاملة كوالح الذرة عن طريق القيام بتحضير وسط جاهز يحوي على 20 غم خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae*، 60 غم سكر و4 لتر ماء، وحضنت لمدة 24 ساعة وعدل الرقم الهيدروجيني إلى=5، وتمت عملية التخمير بأضافة 30 كغم كوالح ذرة مجروشة ، وأضيف إليها 1200 غم من هيدروكسيد الصوديوم و40 لتر ماء، وعرضت إلى حرارة عالية، ولمدة ساعة ثم أضيفت باقي مواد المعاملة (80 لتر ماء و12 لتر مولاس و1500 غم يوريا، وعدل الوسط باستخدام حامض الهيدروكلوريك إلى = 5، واستمر حضن جميع المواد لمدة 72 ساعة ثم جففت النماذج طبيعيا في الهواء إذ كانت الكمية النهائية للمنتوج لكل وجبة تحضير حوالي 27– 28 كغم وبنسبة بروتين خام 15%.

سحبت عينات الدم من النعاج شهريا من الوريد الوداجي باستخدام أنابيب اختبار نظيفة ومفرغة من الهواء سعة 5مل احتوت على الهيبارين (كمانع تخثر للدم) تم خلط (مزج) الأنبوبة بعد سحب الدم وبهدوء لمزج الدم بالهيبارين وحفظت العينات في حافظة مبردة لنقله الى المختبر وبالسرعة الممكنة.

حضرت الكروموسومات حسب طريقة Crossen (10) بإضافة 0.5 مل من نماذج الدم الى انابيب الزرع المحضرة سابقا والتي احتوت على 4.5 مل من الوسط الزرعي RPMI-1940 و0.2 مل من مادة PHA (phytohemagglutinin) أضيفت إلى كل أنبوبة اختبار ثم حضنت بدرجة حرارة 37 م ولمدة 72ساعة في حاضنة معقمة. ولأجل إيقاف الانقسام في الطور الاستوائي تمت إضافة 0.1 مل من مادة الكولجسين المحضر سابقا قبل انتهاء مدة الزرع بثلاث ساعات. ثم أكملت مدة الحضن. بعد انتهاء مدة الحضن نبذت النماذج بجهاز النبذ المركزي بسرعة 1800دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة وأخذت الخلايا وأهمل الراشح. أضيف 5 مل من محلول ناقص القوة (Hypotonic) (KCL) ذي عياريه 0.075 إلى الخلايا, وحضنت بدرجة حرارة 37م ولمدة 40 دقيقة, ثم نبذت الخلايا بجهاز النبذ المركزي وبسرعة 1800 دورة/دقيقة لمدة 10دقيقة وأهمل الراشح، أضيف المثبت (fixative) والمحضر انيا الى الخلايا وغسلت الخلايا ثلاث مرات متتالية.

حضرت الشرائح لغرض الفحص المجهري بعد صبغها بصبغة جميزا لإجراء فحص نسبة الانقسام الخلوي وملاحظة التشوهات الكروموسومية، وبعد ذلك حللت الاختبارات الكروموسومية على النحو الاتي:

معامل انقسام الخلايا (Mitotic index (M.I.

أحتسب معامل الانقسام حسب طريقة Stich وSan (15) إذ قسم عدد الخلايا المنقسمة على العدد الكلي للخلايا على إن لايقل عن 1000خلية/شريحة كما في المعادلة الاتية:

$$\text{نسبة معامل الانقسام الخلوي} = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{عدد الخلايا الكلية}} \times 100$$

التشوهات الكروموسومية (Chromosomal Aberration (C.A.

حسبت التشوهات الكروموسومية في (100 خلية/شريحة) عشوائيا بالطور الاستوائي واستخرج المعدل. وكانت النتائج كما في الجدولين (1 و2).

التحليل الاحصائي

حللت بيانات ألتجربة أحصائياً وفق التصميم ألعشوائي التام باستخدام ألنموذج ألرياضي:

$$Yijk=M+Ai+eijk$$

باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز (17)، ولاختبار معنوية ألفروق بين ألمعدلات أستخدم أختبار دنكن المتعدد ألمديات (11).

النتائج والمناقشة

معامل أنقسام الخلايا اللمفاوية للاغنام

تمت دراسة معامل الانقسام الخلوي للأغنام المغذاة على كوالح الذرة المعاملة كيميائيا فأظهرت النتائج في الجدول (1) عدم وجود اختلافات معنوية ($p<0.05$) بين معدلات الانقسام الخلوي بين المجموعات الثلاث من النعاج خلال مدة التجربة.

جدول 1: معامل الانقسام الخلوي للنعاج العواسية المغذاة على كوالح الذرة المعاملة (المعدل ± الخطأ القياسي)

الشهر المجموعة / المجموعات	المدة الأولى نيسان–أيار–حزيران	المدة الثانية تموز–أب–أيلول	المدة الثالثة تشرين الأول–تشرين الثاني–كانون الأول
المجموعة الأولى السيطرة (0%)	a 0.06 ±4.5	a 0.04 ±4.48	a 0.05 ±4.6
المجموعة الثانية (5%)	a)0.04 ±4.4	a 0.05 ± 4.5	a 0.04 ±4.4
المجموعة الثالثة (10%)	a 0.07 ±4.3	a 0.04 ±4.5	a 0.05 ±4.4

* كل مدة عبارة عن موسم من ثلاثة أشهر.

** الأحرف الصغيرة المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية ($p<0.05$).

وهذا يؤكد عدم وجود تأثير للمواد الكيميائية المستخدمة في تحضير المركز ألعلفي على أحداث أضرار في دورة أنقسام الخلايا من خلال التجربة بينما وجد أن بعض المعاملات تعمل على إيقاف انقسام الخلايا حيث تكون هذه الخلايا قادرة على الابقاء على جميع مكوناتها بصورة سليمة وكذلك الاستمرار بفعاليتها الايضية ولكنها لا تستطيع الانقسام بشكله الطبيعي ولذلك تسمى بالخلايا العقيمة التوالد (Sterilized Reproductive) وبذلك ينخفض معامل الانقسام الخلوي (9) وقد بينت بعض البحوث أن استخدام المواد الكيمائية (المبيدات العشبية و الحشرية) المختصة بالمكافحات الزراعية التي تفرضها الحاجة لزيادة الانتاج قد سببت انخفاضاً في معامل الانقسام الخلوي للحيوانات المعاملة (13) كذلك لوحظ ان استخدام بعض العقاقير مثلاً البندازول ادى الى احداث انخفاض في معامل انقسام الخلايا

اللمفاوية للاغنام (16) وكذلك في المعز (8)، في حين لاحظ **Delorenzi** وجماعته (12) وجود تثبيط معنوي للانقسام الخلوي في أوساط الزراعية لدم العجول التي تمت أضافة السم الفطري إليها (**fumonisin B1**).

ومن هنا تشير النتائج إلى إن تغذية الأغنام على كوالح الذرة المعاملة كيميائيا لم يتسبب في دخول الخلايا حالة الانخفاض لمعامل الانقسام الخلوي أي أن الخلايا الحيوانية لم تدخل مرحلة عقم التوالد الخلوي.

التغيرات الكروموسومية للاغنام

تمت دراسة الانحرافات الكروموسومية من خلال وجود الكسور بالكروموسوم والكروموسوم الحلقي والكروموسومات بدون المركز وكذلك الكروموسوم ذي المركزين حيث لوحظ ان عدد الكروموسومات في الاغنام العواسية قيد التجربة هو 54 كروموسوماً ستة منها شبه وسطية الجسم المركزي (**submeta centric**) والبقية طرفية الجسم المركزي (**Acro centric**) كما هو موضح في الشكل (**A-1\B**) وهو مشابه لعدد الكر وموسومات المدجنة في العالم ولكنه يختلف عن الاغنام البرية بعدد وشكل الكروموسومات (7).

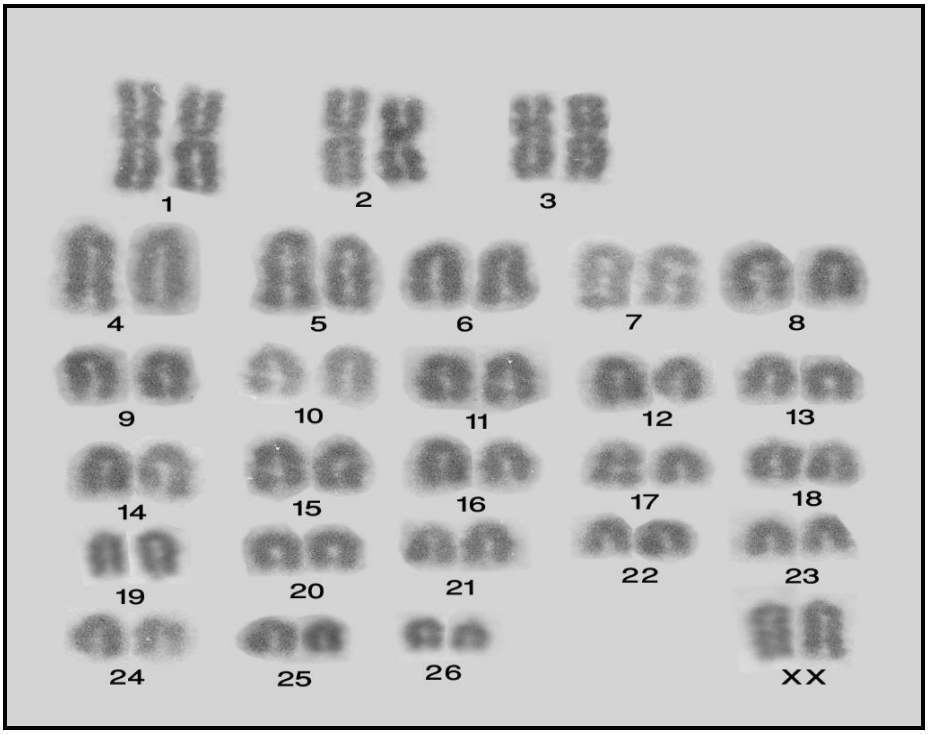
لقد أظهرت النتائج المبينة في الجدول (2) وكذلك في الشكلين (2 و3) وجود حالات من الانحرافات الكروموسومية التي لوحظت خلال مدة التجربة إنها لم تكن بشكل معنوي ($p<0.05$) مقارنةً مع مجموعة السيطرة وظهر أن هذه الانحرافات لم تحدث نتيجة تناول الحيوانات كوالح الذرة المعاملة كيميائيا وميكروبيا بل لأسباب أخرى حيث يعود ذلك الى ان الكروموسوم خلال دورة حياته تعرض إلى أشكال عديدة من الضرر المستمر وذلك نتيجة لظروف مختلفة من داخل الخلية أو من خارجها (الحرارة، الأشعة فوق البنفسجية وحتى ضوء الشمس الاعتيادي) (6). وان تأثير الحرارة الاعتيادية يزيد من الطفرات التلقائية حيث إن كل زيادة (10 درجات مئوية) يزيد خمسة إضعاف في تكرار التطفير (5). لكن معظم هذه الأضرار تقوم الخلية باصلاحه بآلية خاصة من أنظمة اصلاح (DNA) التي تتمثل بنظام الاصلاح بالتنشيط الضوئي ونظام الاصلاح بالاستئصال (القص) والاصلاح بالاتحادات الجديدة والاصلاح بالاستغاثة (5). ونستنتج من ذلك إن المعاملة الكيميائية والميكروبية لكوالح الذرة لم تسبب إي خلل للأغنام المغذاة عليها.

جدول 2: عدد حالات التشوهات الكروموسومية للنعاج العواسية المغذاة على كوالح الذرة المعاملة (المعدل ± الخطأ القياسي)

المدة	التركيز %	كسور Brek	حلقي Ring	ذو مركزين Dicentric	بدون مركز Acentric	التشوهات الكلية	مدى المعنوية
المدة الأولى للتجربة نيسان–أيار–حزيران	0	1	–	1	–	2	a
	5	1	1	–	1	3	a
	10	–	1	–	1	2	a
المدة الثانية تموز–أب–أيلول	0	2	–	–	1	3	a
	5	1	1	1	–	3	a
	10	2	2	–	–	4	a
المدة الثالثة تشرين الأول–تشرين الثاني–كانون الأول	0	1	–	1	–	2	a
	5	–	1	1	1	3	a
	10	1	1	–	–	2	a

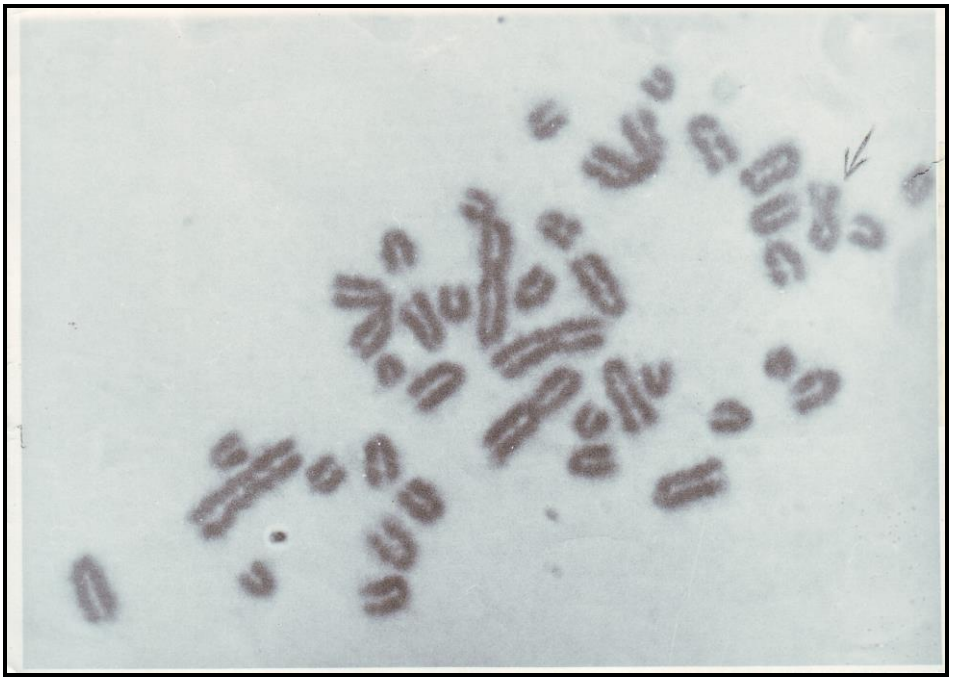
* كل مدة عبارة عن موسم من ثلاثة أشهر

** الأحرف الصغيرة المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية ($p<0.05$).

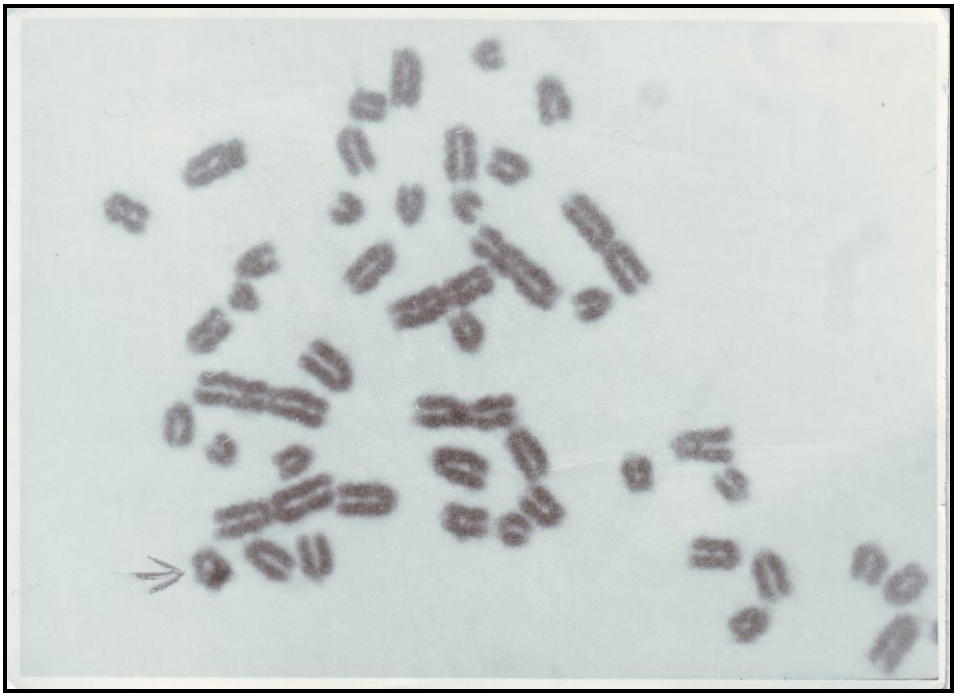


شكل A-1: يوضح الكر وموسومات الطبيعية (طبعة النواة) لنعجة.

شكل B-1: يوضح الكروموسومات الطبيعية في المرحلة الاستوائية للخلايا اللمفاوية لنعجة من حيوانات التجربة.



شكل 2: يوضح التغيرات التركيبية الكروموسومية من نوع الكروموسوم ذي المركزين (المشار اليه بالسهم).



شكل 3: يوضح التغيرات التركيبية الكروموسومية من نوع الكروموسوم المكسور (المشار اليه بالسهم).

المصادر

1- البلداوي، عبد للطيف؛ عبد الرزاق عبد الحميد الراوي وهيثم جسام العاني (1980). الوراثة. جامعة بغداد– وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، العراق.

2- المعاضيدي، جبار فرحان عبد الرزاق (1999). معاملة كوالح الذرة الصفراء بالخمائر لرفع قيمتها الغذائية. تقرير موثق، منظمة الطاقة الذرية العراقية سابقاً.

3- الخزرجي، عبد الجبار عبد الحميد؛ احمد حسين خطار؛ محمد طالب التميمي وجبار فرحان المعاضيدي (2008). تأثير إحلال نسب تصاعدية من كوالح الذرة المعاملة كيمياوياً وميكروبيا محل الشعير في بعض مظاهر الأداء للحملان العواسية. (مقبول للنشر) المؤتمر العلمي السابع –وزارة الزراعة، العراق.

4- دلالي، باسل كامل (1994). أساسيات الكيمياء الحيوية. دار الكتب للطباعة والنشر–جامعة الموصل، العراق.

5- هيرسكوفيتس، اروين (1983). أسس علم الوراثة. ترجمة: حسين، عاصم محمود وعزيز، جبرائيل برصوم. مديرية مطبعة الجامعة – جامعة الموصل، العراق.

6- كوادينوف، اورسولا (1985). علم الوراثة. ترجمة: العذارى، عدنان حسن محمد. مديرية مطبعة الجامعة– جامعة الموصل، العراق. الجزء الأول.

7- ندا، سعد محمد (1981). طبعة النواة لأغنام العواسي والماشية الجنوبية في العراق. اطروحة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق.

8- ندا، سعد محمد (1998). تأثير عقار البندازول على المحتوى الوراثي والحيوي في اللبائن. أطروحة دكتوراه– كلية الزراعة – جامعة بغداد، العراق.

9- Grisham J.W. and G.J. Smith (1984). Predictive and mechanistic evaluation of toxic response in mammalion cell culture system. Pharmacol Rev., 36:151-171.

10- Crossen P.E. (1982). Sister Chromatied Exchange in lymphocytes in ''sister chromatied exchange'' (Ed Sandberg A.A) Alan Rliss in New York. USA.

11- Duncan D. (1955). Multiple ranges and multiple F-test. J. of Biometrics.

12- De lorenzi L.; A. De Giovanni; L. Malautti; L. Molteni; F. Sciaaffia; A. Tamburini and M. Zannotti (2005). Genotoxic activity of the Fumonisin B1mycotoxin in cultures of bovine lymphocytes. Ital. J. Anim. Sci., 4: 395-402.

13- Nicholas A.H.; V. Michele and H.V. Berhe (1979). Indication of sister chromatied exchange in culture human cells by an organophosphrus insecticide: malathion. Mut. Res., 67:167-172.

14- Savage J.R. (1975). Classification and relationships of induced chromosome structural changes. J. Med. Genet, 12:103-122.

15- Stich M. and C. San (1981) Topics in environmental physiology and medicine. In short-term teste for chemical carcinogens. Springer veriag. New York.

16- Subber E.K.; K.I. Alltaif; G.H. Al-Kateep; A. Sultan; A. Khalee; M. Salman; B. Al-Allak; S. Salman; M. Al-Zuhaiy and H. Mahdi (1991). Cittogenetic studies on blood lymphocytes from sheep infected with fasciola gigantica and treated with Albendazole. The Iraq J. Vet. Med., 15:10-23.

17- SAS/STAT (1996). Statistical Analysis System Users Guide Statistics. SAS Inst. Inc. Cary, NC, USA.

EFFECT OF SUBSTITUTION GRADUALLY PERCENTAGES OF CHEMICAL AND MICROBIAL TREATED CORN COBS ON CHROMOSOMAL ABERRATION AND MITOTIC INDEX OF AWASSI EWES

A. A. Amnate* **S.M. Nada**** **J. M. Al-Walled*****

ABSTRACT

The Styudy was conducted on 51 Awassi ewes Aged (1.5- 3 years). The ewes devided into three equal Groups, The animal were fed different levels of chemical and microbial treated corn cobs (0, 5 and 10%).

Blood samples were collected monthly by jugular vein puncture, blood was collected in hapinized evacuated tukes.

The average of the chromosomal deviations and mitotic index was determined to the end of experiment.

Results obtained revealed that there were no significant differences in chromosomal deviations and mitotic index in different groups.

We concluded that feeding the Awassi ewes on treated corn cobs up to (10%) without undesirable effects.

Part of MSc. Thesis of the first author.

***Collage of Agric.- Karbala Univ. - Karbala, Iraq.**

**** Research Center for Biotechnology- Al-Nahrain Univ.- Baghdad, Iraq.**

*****Collage of Agric.- Tikrit Univ. - Salah Aldean, Iraq.**