دراسة التركيب الكروموسومي والانقسام الخلوي في النعاج العواسية في العراق

أحمد عبد الرضا مناتي
كلية الزراعة/ جامعة كربلاء

الخلاصة

أجريت التجربة على (15) نعجة عواسية تراوحت أعمارها بين (1.5-3) سنواتجر ت الدراسة من نيسان (2001) ولغاية نهاية تشرين الثاني (2001) في قسم الإنتاج الحيواني التابع لمنظمة الطاقة الذرية العراقية (سابقاً)، تم إخضاع النعاج للبرنامج الوقائي المتبع في المحطة.سحبت نماذج الدم شهرياً من الوريد الوداجي للنعاج وباستخدام أنابيب اختبار نظيفة ومفرغة من الهواء حاوية على الهيبارين (كمانع تخثر للدم) وتم نقله إلى المختبر للقيام بالدراسة التحليلية الوراثية.

أظهرت النتائج إن عدد الكروموسومات هو (54) كروموسوم مع عدم وجود فروقات معنوية في معدلات الانقسام الخلوي كما أن حالات الانحرافات الكروموسومية (التشوهات) كانت طبيعية لكافة حيوانات التجربة. نستنتج من الدراسة ان النعاج العواسية تكون ذات تركيب وراثي مستقر وثابت عبر الأجيال.

Chromosomal structure and Mitotic Index in Blood of Awassi Ewes

Ahmad A. Amnate
Collage of Agriculture/ University of Karbala

Abstract

The Study was conducted on (15) Awassi ewes aged 1.5- 3 years, period from April 2001 to November 2001 in Dep. Animal Production in Iraqi Atomic Energy Association. Blood samples were collected monthly by jugular vein puncture. The Blood were treated with heparin as ant coagulate. The average of the chromosomal deviations and mitotic index was determined at the end of experiment.

The karyotype technique was used to study the chromosomal structure of ewes to detective the chromosomal aberration.

The results of the study revealed that there were no significant difference in chromosomal deviations and mitotic index in different animals.

المقدمة

تعد الثروة الحيوانية وخاصة الاغنام من المقومات الرئيسية في لجانب الزراعي في العراق إذ تعتبر المصدر الأول للحوم الحمراء في القطر وذلك لرغبة المستهلك والاكثر ملائمة للعادات الغذائية مقارنة بالانواع الاخرى من اللحوم.

تحتوي خلايا الأغنام على 27 زوجآ من الكروموسومات (1) وان هذه الكروموسومات تكون عرضة لتأثير مجموعة من لمسببات التي تؤدي الى حدوث تشوهات او اختلافات في التركيب الكروموسومي الاعتيادي او تؤدي الى حدوث انحرافات في معدل الانقسام الوراثي (2).

وتختلف التغيرات الكروموسومية من حيث أنها تمثل في الكسر الكروموسومي او كروموسوم بدون مركز او الكروموسومات بصورة حلقية او اشكال اخرى (3) وعلى الرغم من وجود الية خاصة من انظمة اصلاح للـ(DNA) والتي تتمثل بنظام الاصلاح بالتنشيط الضوئي ونظام الاصلاح بالاستئصال (القص) والاصلاح بالاتحادات الجديدة والاصلاح بالاستغاثة (4) فان حدوث تشوهات وتغيرات في التركيب الكروموسومي اوانحرافات في معدل الانقسام الخلوي يؤدي الى حدوث تشوهات او نسل ميت (5) وهذا يؤدي الى حدوث خسارة اقتصادية او استهلاك سلبي للموارد. لذلك جاءت هذه الدراسة من اجل دراسة ثبات وسلامة وتقييم المحتوى الوراثي للنعاج.

المواد وطرق العمل

جرت الدراسة على 15 نعجة تراوحت اعمارها بين 1.5–3 سنوات بوزن بين 38–61 كغم وقد كانت تابعة لقطيع مربى في حقول الوردية التابع للدائرة الزراعية في منظمة الطاقة الذرية العراقية (سابقا) وقد جرت الدراسة من شهر نيسان 2001 ولغاية نهاية تشرين الثاني 2001.

خضعت الحيوانات للإشراف البيطري العام وبشكل مستمر واتبع نظام علاجي وقائي متكامل لها خلال مدة التجربة. ربيت النعاج في حضائر مغلقة مجهزة بمسارح وتحوي على احواض خاصة لتوفير الماء بشكل دائم وتم تقديم العلف بشكل اعتيادي والقيام بعملية الرعي وتم استخدام ثلاث كباش عواسية ذات خصوبة عالية لتسفيد النعاج طبيعيا وبواقع كبش لكل خمسة نعاج.

سحبت نماذج الدم من النعاج بشكل متكرر شهريا وبواقع خمسة عينات كل شهر بصورة عشوائية وتم اخذ نماذج الدم عن طريق الوريد الوداجي للنعاج باستخدام أنابيب اختبار مفرغة من الهواء حاوية على الهيبارين (كمادة مانعة للتخثر) وسحب من كل حيوان (5مل) دم وتم خلط (مزج) الأنبوب بعد سحب الدم وبهدوء ليتم مزج الدم بالهيبارين وحفظت العينات في حافظة مبردة لنقله الى المختبر.

أما بالنسبة لتحضير الكروموسومات فقد تمت حسب طريقة (6) وذلك بإضافة (0.5 مل) من نماذج الدم الى انابيب الزرع المحضرة سابقا والحاوية على (4.5 مل) من الوسط الزرعي (RPMI-1940) وإضافة (0.2 مل) من مادة PHA (phytohemaglutinin) إلى كل أنبوبة اختبار ثم حضنت بدرجة حرارة (37مْ) ولمدة (72ساعة) في حاضنة معقمة.

ولأجل إيقاف الانقسام في الطور الاستوائي تم إضافة (0.1 مل) من مادة الكولجسين المحضر سابقا، قبل انتهاء مدة الزرع بـ(3ساعات) ثم أكملت مدة الحضن.

وبعد انتهاء مدة الحضن تم القيام بعملية الطرد المركزي بجهاز النبذ المركزي بسرعة (1800دورة/ دقيقة) ولمدة (15 دقيقة) وأخذت الخلايا وأهمل الراشح.

تم إضافة (5 مل) من محلول ناقص التقوى (Hypotonic) (Kcl) ذي عيارية (0.075 مل) إلى الخلايا، وحضنت بدرجة حرارة (37مْ) ولمدة (40) دقيقة، نبذت الخلايا بجهاز الطرد المركزي وبسرعة 1800دورة/دقيقة ولمدة 10 دقيقة وأهمل الراشح وتم إضافة المثبت (fixative) والمحضر آنيا إلى الخلايا حيث غسلت الخلايا لثلاث مرات متتالية.

تم تحضير الشرائح لغرض الفحص المجهري حيث صبغت بصبغة جمزا لاجراء فحص نسبة الانقسام الخلوي وملاحظة التشوهات الكروموسومية، وبعد ذلك حللت الاختبارات الكروموسومية على النحو الأتي:–

1. معامل انقسام الخلايا Mitotic index (M.I.): تم احتساب معامل الانقسام حسب طريقة (7) إذ يقسم عدد الخلايا المنقسمة على العدد الكلي للخلايا على إن لا يقل عن (1000خلية/شريحة) كما في المعادلة الآتية:–

$$M.I. = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{عدد الخلايا الكلية}} \times 100$$

2. التشوهات الكروموسومية(Chromosome Aberration (C.A.: حسبت التشوهات الكروموسومية في (100خلية /شريحة) عشوائيا بالطور الاستوائي ويستخرج المعدل. تم القيام بوضع جدول حددت فيه انواع التشوهات ومقدارها والعداد الكلي لها كما موضح في جدول (2).

- التحليل الإحصائي:

حللت بيانات التجربة إحصائيا وفق التصميم العشوائي التام باستخدام النموذج الرياضي:-

$$Yijk=M+Ai+eijk$$

ولقد أستخدم في لتحليل البرنامج الإحصائي الجاهز (8)، لاختبار معنوية الفروقات بين المعدلات أستخدم اختبار دنكن متعدد المديات (9).

النتائج والمناقشة

1. معامل الانقسام الخلوي للنعاج:

يوضح جدول (1) عدم وجود فروقات معنوية فيما بين حيوانات التجربة بالنسبة للانقسام الخلوي للنعاج خلال أشهر التجربة. وجاءت هذه النتائج مطابقة لما أشار إليه (10) في دراسته للنعاج العواسية، كما بين (11) إلى أ ذ إضافة الـ((fungicide euparen multi(containing 50% tolylflganid) إلى غذاء أغنام المرينو لم يظهر فروقات معنوية بين أغنام السيطرة والمعاملة في معامل الانقسام الخلوي على الرغم من وجود فروقات معنوية في التشوهات الكروموسومية.

في حين لاحظ (12) وجود تثبيط معنوي للانقسام الخلوي في الأوساط الزراعية لدم العجول التي تم أضافت السم الفطري (fumonisin B1) في غذائها.

كذلك وجد (13) أن استخدام المواد الكيمياوية أو المبيدات العشبية أو الحشرية المختصة بالمكافحات الزراعية التي تفرضها الحاجة لزيادة الإنتاج قد سببت انخفاضاً في معامل الانقسام الخلوي للحيوانات المعاملة.

بينما لاحظ(14) إن استخدام بعض العقاقير مثلاً البندازول في الماعز قد أد د إلى انخفاض معنوي في معامل الانقسام الخلوي لها.

2. التركيب الكروموسومي في النعاج:

تتميز الأغنام العواسية بأنها تمتلك 2N=54 كروموسوم كما موضح في الشكل(B،A/1) وهو مشابه لعدد الكروموسومات للأغنام المدجنة في العالم (15) في حين انه يختلف عن الأغنام البرية التي تمتلك مدى كروموسومي يتراوح بين 52–58 كروموسوم (16).

وأما فيما يخص شكل الكروموسومات في النعاج فأنها تقارن عن طريق وصفها لشكلها الخارجي في الدور الاستوائي وكما موضح في الشكل(A/1) حيث أنها تمتلك ثلاث أزواج كبيرة ذات موقع سنترومير شبه وسطي وأما بقية الكروموسومات الجسمية فهي طرفية السنترومير ويتبين من هذه النتائج أن النعاج العواسية لا تختلف أشكال الكروموسومات فيها عن أشكال الكروموسومات في الأغنام المدجنة الأخرى كما وجدها(17).

أما الكروموسومات الجنسية XX فان موقع السنترومير يكون فيه شبه طرفي وكما أشار إليه (18) وهو يخالف ما توصل إليه (19) حيث أوضح إلى أنه وسطي السنترومير.

كما بينت الدراسة من خلال جدول (2) والشكلين (2) و(3) الانحرافات الكروموسومية من خلال وجود الكسور بالكروموسوم والكروموسوم الحلقي والكروموسوم بدون مركز وكذلك الكروموسوم ذي المركزين حيث لوحظ وجود حالات من الانحرافات الكروموسومية خلال مدة التجربة وبعد تقييم تأثير هذه الحالات بشكل معنوي ظهرت بأنها من الحالات الطبيعية حيث أن الكروموسوم وخلال دورة حياته يتعرض إلى أشكال عديدة من الضرر المستمر وذلك نتيجة لظروف مختلفة من داخل الخلية وخارجها كدرجة الحرارة، والأشعة البنفسجية وحتى ضوء الشمس الاعتيادي (1)، كما أن إصابة الخلايا بالفيروسات والتعرض للإشعاعات التي تطلقها المواد المشعة الطبيعية مثل الراديوم والبلوتانيوم تؤدي إلى حدوث تغيرات في التركيب الكروموسومي (4).

في حين لاحظ (20) إن عند إضافة Chlorine لماء الشرب للنعاج الصغيرة قد أد ى إلى حدوث تشوهات كروموسومية وبصورة معنوية.

إن معظم هذه الإضرار لحسن الحظ تقوم الخلية بإصلاحها بواسطة آلية خاصة من أنظمة إصلاح الـ(DNA) التي تتمثل بنظام الإصلاح بالتنشيط الضوئي ونظام الإصلاح بالاستئصال (القـ ص) والإصلاح بالاتحادات الجديدة والإصلاح بالاستغاثة (5).

نستنتج من الدراسة أن التركيب الكروموسومي ومعامل الانقسام الخلوي في النعاج العواسية يكون ضمن للمستو ى الطبيعي ومستقر و ثابت عبر الأجيال (21).

جدول (1) معدل معامل الانقسام الخلوي للنعاج

الأشهر	العينة الأولى	العينة الثانية	العينة الثالثة	العينة الرابعة	العينة الخامسة	معدل معامل الانقسام الخلوي± الخطأ القياسي
الشهر الأول (نيسان)	5	4.7	4.4	4.5	4.8	a 0.106±4.68
الشهر الثاني (أيار)	4.4	4	4.6	4.3	4.7	0.122±4.4 a
الشهر الثالث (حزيران)	4.6	4.4	4.2	4.7	4.9	0.12±4.56 a
الشهر الرابع (تموز)	5	4.7	4.5	4.4	4.6	a 0.102±4.64
الشهر الخامس (أ ب)	4.7	4.3	4.6	4.5	4.1	a 0.107±4.44
الشهر السادس (أيلول)	4.6	4.2	4.4	4.7	4.5	a 0.327 ±4.48
الشهر السابع (تشرين الأول)	4.3	4.5	4.6	5	4.4	a 0.12±4.56
الشهر الثامن (تشرين الثاني)	4.6	4	4.4	4.5	4.7	a 0.12 ±4.44

– القيم تمثل معامل الانقسام الخلوي لخمسة نعاج.

– القيم تمثل معدل الانقسام الخلوي ± الخطأ القياسي.

– الأحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية.

جدول (2) عدد حالات التشوهات الكروموسومية للنعاج العواسية

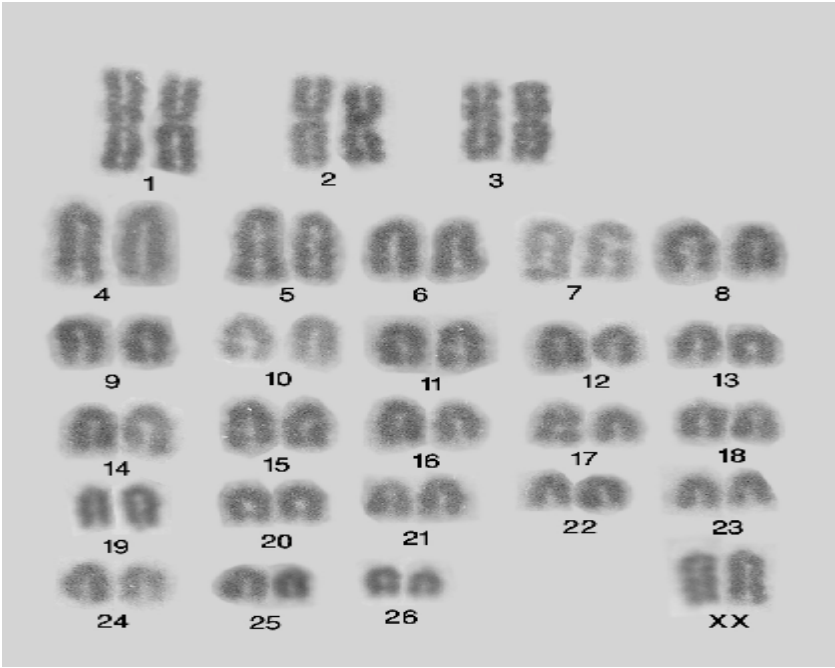
الأشهر	كسور	كروموسوم	كروموسوم ذو	كروموسوم	التشوهات الكلية	معدل التشوهات %

	كروموسومية	حلقي	مركزين	بدون مركز		
الشهر الأول (نيسان)	3	–	2	1	6	a 1.2
الشهر الثاني (أيار)	2	2	1	–	5	a 1.0
الشهر الثالث (حزيران)	3	1	1	1	6	a 1.2
الشهر الرابع (تموز)	3	2	1	1	7	a 1.4
الشهر الخامس (أ ب)	2	1	2	1	6	a 1.2
الشهر السادس (أيلول)	2	2	1	1	6	a 1.2
الشهر السابع (تشرين الأول)	1	–	2	–	3	a 0.6
الشهر الثامن (تشرين الثاني)	2	1	–	–	4	a 0.8

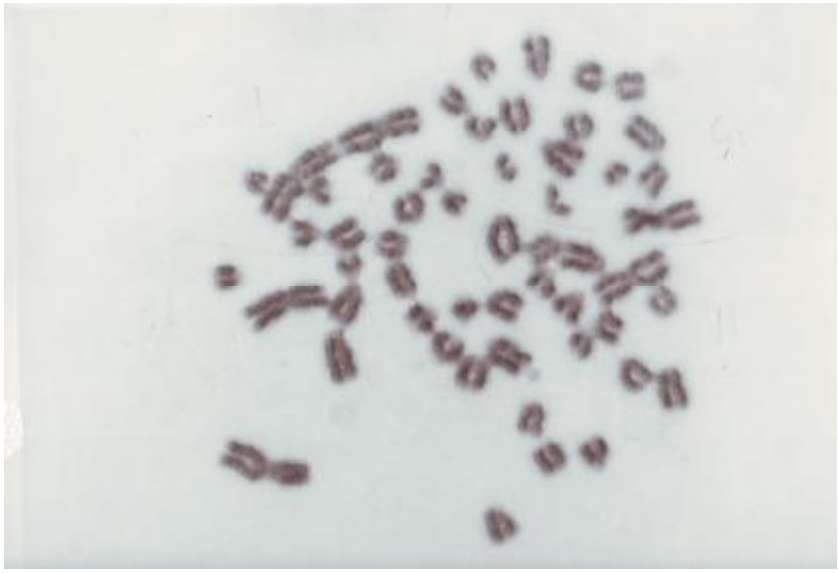
– عدد الحيوانات خمس نعاج.

– القيم تمثل التشوهات الكروموسومية/100خلية لكل نعجة.

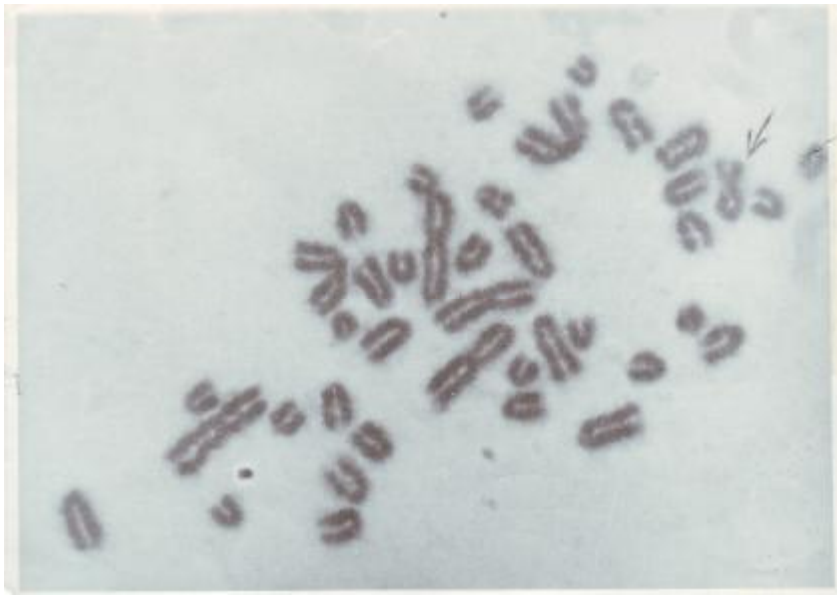
– الأحرف المتشابهة تعني عدم وجود فروقات معنوية بين المتوسطات.



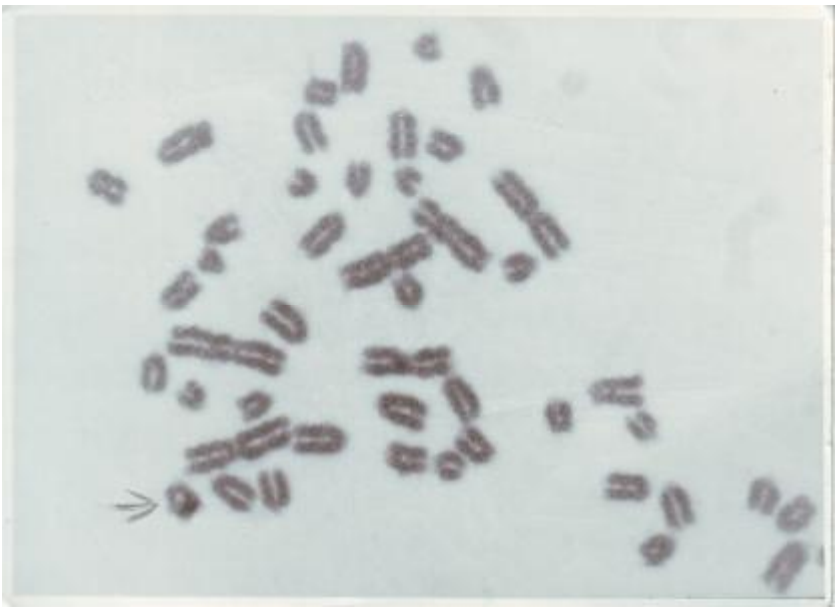
شكل (A–1) يوضح الكروموسومات الطبيعية (طبعة النواة) لنعجة



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 إليه بالسهم)



شكل (3) يوضح التغيرات التركيبية الكروموسومية من نوع الكروموسوم المكسور (المشار إليه بالسهم)

المصادر

1. كوادينوف، اورسولا. (1985). علم الوراثة. ترجمة: العذار ي، عدنان حسن محمد. مديرية مطبعة الجامعة، جامعة الموصل، الجزء الأول.
2. البلداوي، عبد اللطيف فالح؛ الراوي، عبد الرزاق عبد الحميدو العاني،هيثم جسام. (1980). الوراثة. جامعة بغداد، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، العرا ق.
3. Savage, J. R. (1975). Classification and relationships of induced chromosome structural changes. J. Med. Genet.
4. الدلالي، باسل كامل. (1994). أساسيات الكيمياء الحيوية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.
5. هيرسكوفيتس، اروين. (1983). أسس علم الوراثة. ترجمة: حسين، عاصم محمود وعزيز، جبرائيل برصوم. مديرية مطبعة الجامعة، جامعة الموصل.
6. Crossen, P. E. (1982). SEC in lymphocytes in "sister chromatied exchange" (Ed Sandberg A.A) Alan Rliss in New York.
7. Stich, M. and San, C. (1981). Topics in environmental physiology and medicine in short-term tested for chemical carcinogens. Springer veriag. New York.
8. SAS/STAT. (1996). Statistical Analysis System. User.s Guide Statistics. SAS Inst. Inc., Cary NC.USA.
9. Duncan .D. (1955). Multiple ranges and multiple F. test Biometrics.11: 1- 42.
10. Shuber, E.; Altaif, K.; Al-Khateeb, G.; Sultan, A.; Khaleel, A.; Salman, M.; Al-Allak, B.; Salman, S.; Al-Zuhaiy, M. and Mahdi, H. (1991). Cytogenetic studies on blood lymphocytes from sheep infected with *Fasciola gigantica* and treated with Albendazole. The Iraq J. Vet. Med., 15:10-22.
11. Sutiakova, I.; Kovalkovicova, N.; Pistl, J.; Novotny, J.; Legath, J.; Kovac, G.; Hlincikova, S. and Sutiak, V. (2006). Chromosomal aberrations and frequency of micronuclei in sheep subchronically exposed to the fungicide Euparen Multi (tolylfluanid). J. of Ecotoxicology and Environmental Safety.3:312-320.

12. De lorenzi, L.; De Giovanni, A.; Malautti, L.; Molteni, L.; Sciaaffia, F.; Tamburini, A. and Zannotti, M. (2005). Genotoxic activity of the Fumonisin B1mycotoxin in cultures of bovine lymphocytes. Ital. J.Anim.Sci.4:395-402.
13. Nicholas, A. H.; Michele, V. and Berhe, H. V. (1979). Indication of sister chromatied exchange in culture human cells by an organophosphrus insecticide. malathion. Mut. Res.
14. الندا، سعد محمد. (1998). تأثير عقار البندازول على المحتوى الوراثي والحيوي في اللبائن. رسالة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.
15. Bruer, A. N. and Mclaren, R. D. (1967). The ideogram of the sheep with particular reference to secondary constriction. Can. j. Genet. Cytol.,9:543.
16. Bunch, T. D. (1978). Fundamental karyotype in domestic and wild species of sheep. The J. of Hered. 69:77.
17. Bunch, T. D. and Foote, W. C. (1976). Chromosme, hemesglobins, and Transferrins of Iranian domestic sheep. The J. of Heredity 67:167.
18. Piper, L. and Ruvinsky, A. (1997). The genetics of sheep. CAB International. USA, New York.
19. Lasley, J. F. (1987). Cell, Chromosome and gametes. In: Genetics of livestock Improvement. Lasley, J. F(ed.).Third Ed. Hall and Cliffs, New Jersey.
20. Utiakov, I.; Utiak, V.; Rimkov, S. and Porov, J. (2004). Chromosome damage in peripheral lymphocytes of sheep induced by Chlorine in drinking water. International J. of Environmental Health Research.(14):381-390.
21. الندا، سعد محمد؛ ماجد، سوسن علي؛ كامل، هدى فاهم وشبر، إسماعيل كاظم. (2000). تشخيص الانتقال الرايبوسومي في الأغنام. مجلة إباء للأبحاث الزراعية. 1: 10.