مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (18) العدد (5) 1996
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research –Basic Science Series Vol. (18) No (5) 1996

تحديد بعض المؤشرات الكيميائية الحيوية للأجنة المثقلة للسمك Misgurnus Fossilis (في نطاق تحدد الأجنة التجريبي عند الأسماك)

الدكتور حسن ناصر الدين*

(قبل للنشر في 1995/5/2)

☐ الملخص ☐

يمكن الحصول على التوائم عند السمك Misgurnus Fossilis بتثقيل الأجنة ويعتقد أن عملية التثقيل تؤدي إلى تخريب تكامل أجزاء الجنين وقد يكون من أسباب هذا التخريب تسرب بعض المواد من داخل الجنين.

* أستاذ مساعد في قسم العلوم الطبيعية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (18) العدد (5) 1996
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research –Basic Science Series Vol. (18) No (5) 1996

Determination of Some Biochemistry Indicators for Centrifugal Fish Embryos Misgurnus Fossilis (In the Domain of Experimental Twins on the Fish)

Dr. H. NASER-ELDIN*

(Accepted 2/5/1995)

❐ ABSTRACT ❐

Twins may be obtained by centrifuging fish embryos. It is thought that centrifugation causes disintegration of embryos. One of the reasons of this disintegration may be that some materials seep out of the embryos.

* Associate Professor at Natural Science Department, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.

مقدمة:

يعتقد فريق من الباحثين أن الشرط الملائم لحدوث ظاهرة تعدد الأجنة التجريبي عند الفقاريات هو تخريب حادثات التكون الطبيعية الذي يؤدي إلى نزع تكامل الجنين Tokin 1977-1989 وآخرون. وقد استخدم بعض الباحثين عملية التثقيل كعامل يمكن له أن ينزع تكامل الجنين للحصول على تعدد أجنة عند البرمائيات (Pasteels,1940) ،Motomure,1931, أما عند الأسماك فلم نعثر في المراجع على معلومات تشير إلى استخدام عملية التثقيل في الحصول على تعدد أجنة عند الأسماك مع أن الأجنة عند الأسماك، تم الحصول عليها باستخدام عوامل أخرى (Vivien, Hey, 1954; Lutz-Ostertag , 1952) ولقد تبين أنه يمكن استخدام عملية التثقيل في الحصول على تعدد أجنة عند الأسماك أيضاً ويبلغ الحد الأعظمي للتوائم نسبة 25% عند تثقيل البيوض بعد إخصابها مباشرة.إن هذا العمل غير مكرس لإماطة اللثام عن الآليات الورائية-الجزيئية لظهور التوائم وإنما هو عبارة عن محاولة لتقدير درجة التغيرات الاستقلابية التي يجب أن تظهر في الأجنة المتلفة.

طريقة العمل:

تم تحريض إناث السمك Misgurnus Fossilis على إنضاج البيوض اصطناعياً. وبعد خمس دقائق على الإخصاب تم تثقيل البيوض لمدة عشر دقائق بسرعة 1600 دورة/دقيقة أي ما يعادل (565غ) وفي الأجنة المثقلة والشاهدة تم تحديد نشاط أنزيمات الأكسدة: مالات ديهيدروجيناز (King, 1965) ولاكتات ديهيدروجيناز (Bergmeyer et al, 1965) و Ca^{-} و Mg^{-} ادونوزين تري فوسفاتاز بطريقة Beritachvili ومعاونيه 1974 وأيضاً تضمين $CaCl_2$ ،^{45} H^3- تيميدين، H^3-غلوكوز، C^{14}-أحماض أمينية ولهذا الغرض تم حضن البيوض في محاليل مائية لهذه المركبات تحتوي على التوالي: 2،4،3،5 ميكروكوري في الميليمتر. وبعد ذلك غسلنا الأجنة عدة مرات من الأوساط المشعة بواسطة محلول N1 من NaOH ثم عدلنا العينات بواسطة N1 من $HClO_4$ وبعد ذلك تم قياس الفعالية الإشعاعية بواسطة عداد Nuclear Chicago Mark.

في مجموعة تجارب أخذنا السائل الطافي من عملية تثقيل 200 جنين وجرى تحليل طيفه في جهاز الطيف فوق البنفسجي في المجال من طول الموجة (230-280) نانومتر. وفي تجارب أخرى أخضعت الأجنة إلى استخلاص كحولي ثم جرى تحليلها بواسطة جهاز الطيف فوق البنفسجي. لهذه الغاية تمت مجانسة الأجنة في محلول كحولي 75 وترك الناتج لمدة

يوم كامل في درجة الغرفة. وبعد تثفيل المتجانس وتمديد المستخلصات وتكرار عملية ترسيب البروتينات أخضع السائل الطافي للتحليل في جهاز الطيف فوق البنفسجي.

النتائج والمناقشة:

إن تحديد فعالية -Ca و -Mg ATP_{as} –وهما مكونان أساسيان في جملة تنظيم الاتزان الشاردي للخلية– لم يسمح بملاحظة اختلافات موثوقة في هذا المجال بين الأجنة المثقلة والأجنة الشاهدة. في نفس الوقت كانت فعالية مالات ديهيدروجيناز في الأجنة المثقلة أعلى بكثير بالمقارنة مع الأجنة الطبيعية وهذا ما يدل على تأثير التثفيل على مجموعة محددة من أنزيمات الأكسدة كما هو بين في الجدول (1).

الجدول (1): تأثير التثفيل على فعالية كل من لاكتات ديهيدروجيناز (µM,NADH\embryo\min) ومالات ديهيدروجيناز (µM,NAD\embryo\min) و Ca^- و $Mg^- ATP_{as}$ (µg P\embryo\min).
تمت إعادة كل نقطة ثلاث مرات.

	LDH	MDH	$Mg^- ATP_{as}$	$Ca^- ATP_{as}$
الأجنة المثقلة	0.72±0.02	1.18±0.18	0.47±0.08	0.68±0.16
الأجنة الشاهدة	0.75±0.025	0.8±0.066	0.15±0.07	0.17±0.04

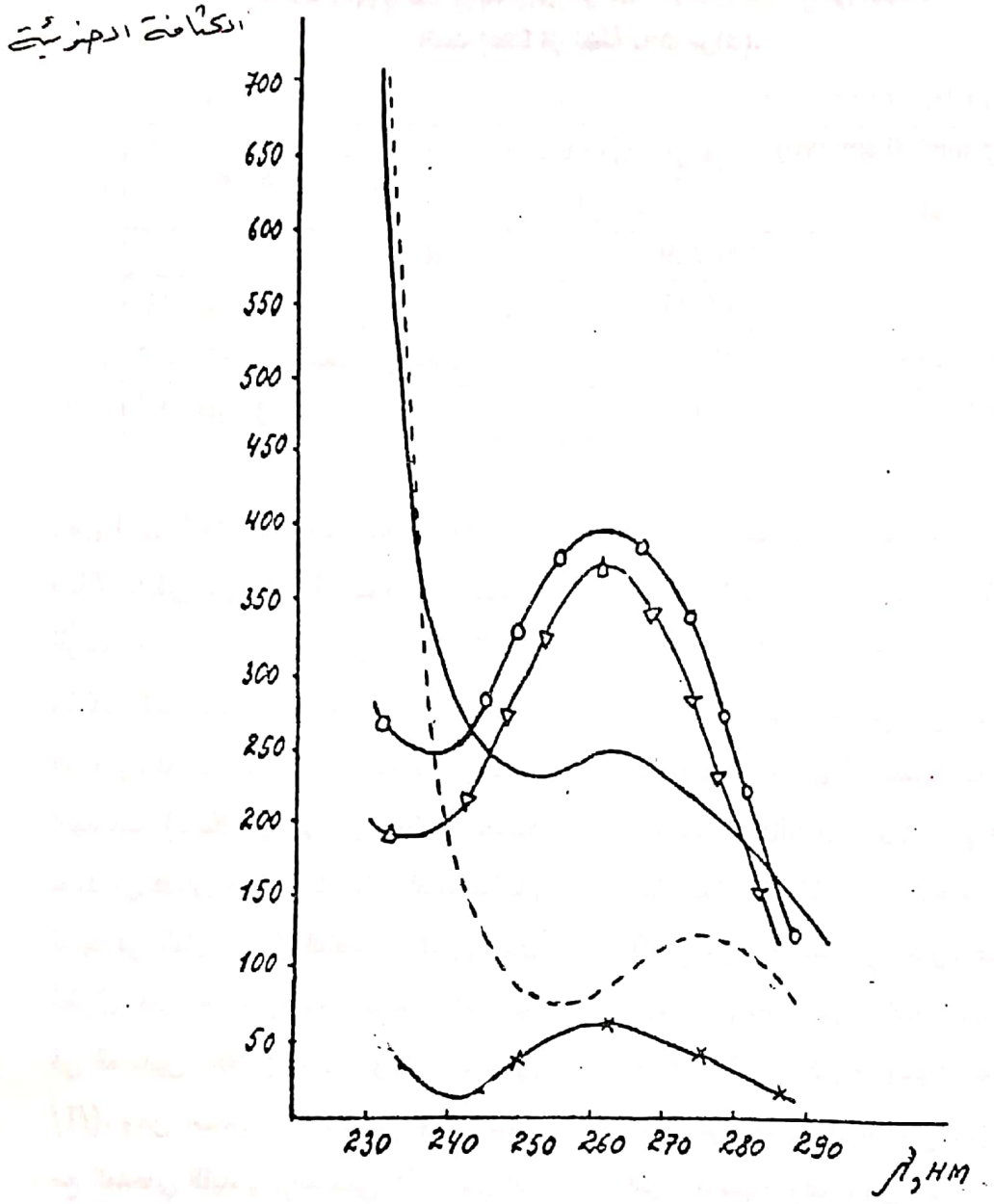
وقد أظهرت التجارب باستخدام المركبات الموسومة أن شدة تضمينها في الأجنة التي عرضت للتثفيل كانت أعلى منها في الشاهدة. وكان تضمين المركب $^{45}CaCl_2$ أعلى بكثير من تضمين المركبات الأخرى المستخدمة. وبشكل خاص لوحظ هذا الأمر بوضوح عند حضن البيوض بوجود H^3 تيميدين وC^{14}، الأحماض الأمينية. إذ كان مستوى تضمين المركبات الموسومة في الأجنة المثقلة ضعف ما هو عليه في الأجنة الشاهدة كما هو مبين في الجدول (2) ويمكن الافتراض أن مثل هذا الارتفاع في فعالية تضمين مركبات مختلفة الطبيعة في الأجنة المثقلة يعتبر كفعل تعويضي يجري بواسطته تعويض مركبات يمكن أن تكون قد ضاعت تحت تأثير التسارع.

الجدول (2): تأثير التثفيل على تضمين المركبات المشعة في الأجنة.
(تمت إعادة كل نقطة ثلاث مرات).

المركبات الموسومة	النشاط الإشعاعي في (imp\min\10 embryo)	
	في الشاهدة	بعد التثفيل
$^{45}CaCl_2$	809±95	847±29
H^3- تيميدين	170±18	350±62
C^{14}- الحمض الأميني عن الحلمهة	656±54	1336± 196
H^3- غلوكوز	131±22	190±17

ومن أجل إثبات هذا الافتراض تم إجراء تحليل طيفي في الأشعة فوق البنفسجية للوسط السائل الذي كانت فيه الأجنة المثقلة وكذلك للمستخلصات الكحولية الخالية من البروتين للأجنة نفسها ومن معطيات هذه القياسات (الشكل) يظهر أن تثفيل الأجنة يستدعي فقدان مركبات ذات امتصاص شديد في الطيف فوق البنفسجي في كل أطوال الموجة المدروسة وبصورة أعظمية في المجالين 260 و230 نانومتر (المنحني /1/). ومن صفات هذا المنحني ومقارنته مع المنحني القياسي (المنحني 5) نستدل أنه يجري لدى التثفيل تسرب مواد داخلية ذات طبيعة نكليوتيدية وبروتينية-ببتيدية. وفي المستخلصات الكحولية للأجنة المثقلة يلاحظ بالمقابل أن كمية المركبات التي تمتص الطيف فوق البنفسجي أقل مقارنة مع الشاهد (منحنيات 3-4).

واستناداً للنتائج التي تم الحصول عليها يمكن القول أن عملية تثفيل أجنة السمك Misgurnus Fossilis التي استخدمت لإحداث تعدد الأجنة عند هذا النوع من الأسماك هي عبارة عن تأثير يتبدى في تغيير مؤشرات حيوية كيميائية بما في ذلك -على ما يبدو- نفوذية الغشاء البلاسمي مما يؤدي لضياع كميات مرموقة لمواد داخلية. وقد يكون هذا الأمر أحد العوامل التي تؤدي إلى تخريب تكامل الجنين الآخذ في التكون.



١- ـــــ للمواد المتسربه من الاجنه المثفله •

٢- ـــ×ـــ للمواد المتسربه من الاجنه الشاهده •

٣- ـــ△ـــ للمواد الموجوده في الاجنه بعد التثفيل •

٤- ـــ○ـــ للمواد الموجوده في الاجنه الشاهده

٥- ـ ـ ـ ـ للابومينات / ١ ملغ / مل + الغليسين / مغ / مل

أطياف امتصاص لمواد داخلية وخارجية لجنين السمك.

REFERENCES المراجع

- Bergmeyer H.U., Berut E.K, Hess B. Lactis dehydrogenase. - In: methode of Enzym. Anal. N.Y.L., 1965,736-743.
- King J. Malete dehydrogenase. - In: Practical Clinical Enzymology, Toronto, 1965, p.93-99.
- Lutz H., Lutz-Ostertag Y. La production experimentale de jumeaux chez L'embryon d'un Salmonide. Comp. Rend. Acad, sci. 1952, Vol.234, p.468-471.
- Motomure J. Notes of the effect of centrifugal force on the frogs egg. Sci. Repts Tokohu Univ. 1931, Vol.4, p.251-258.
- Pasteels J. Recherches sur les facteurs initiaux de la morphogenese chez les amphibiens anoures. IY Centrifugation axiale de L'oeuf feconde et insegmente. -Arch. Biol. 1940, Vol.51, p.335-385.
- Vivien J., Hey D. Monstruosité doubles et polyembryonie obtenus experimentalement chez un Selacien Scylliorhinus canicula. Compt. Rendus des seances de L'acad. des Sc. 1954, Vol.238, p.1914-1916.