مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2007) ــ المجلد (23) ــ العدد 1 ــ الصفحات: 353 -370

مستوى المتبقيات في الأنسجة وأداء نمو حملان العواسي المعاملة بهرموني البروجيستيرون والاستراديول

سليمان المهيرات[1] وغياث سمينة[2] وسليمان سلهب[3]

الملخص

استخدمت عشرة حملان عواس، بوزن31 كغ كمتوسط وعمر أربعة أشهر. بعد تهيئة الحملان على العليقة وظروف التجربة مدة أسبوعين قسمت إلى ثلاث مجموعات، حيث تمثلت المجموعتان الأولى والثانية بالحيوانات المعاملة على النحو الآتي: حقنت حيوانات المجموعة الأولى (n=4) عضلياً بحقنة مركبة من هرموني البروجيستيرون والاستراديول (100 مغ بروجيستيرون + 10 مغ استراديول/ الرأس) والمجموعة الثانية (n=4) حقنت عضلياً أيضاً بنصف هذه الكمية وتركت حيوانات المجموعة الثالثة شاهداً. ثم سُحبت خمسة حملان وذبحت بعد 28 يوماً من تاريخ الحقن، كما ذبحت الحملان المتبقية بعد 63 يوماً من تاريخ الحقن. أخذت عينات من أنسجة العضلات والكبد والكلى والدهن المحيط بالكلى، وقطعت وطحنت واستخلصت الهرمونات ثم نقيت باستخدام طريقة الاستخلاص بالطور الصلب (SPE)، ثم حللت بتقانة المقايسة المناعية للأنزيم المتصل (ELISA). بينت النتائج أن أنسجة الحملان المعاملة هرمونياً احتوت على مستوى أعلى ($p<0.05$) من المتبقيات الهرمونية، بالإضافة إلى أنها أظهرت وزناً جسمياً أكبر وأعلى في فاعلية تحويل العلف مقارنة بمجموعة الحملان غير المعاملة (الشاهد).

الكلمات المفتاحية: حملان العواس، المقايسة المناعية الأنزيمية، البروجيسترون، الاستراديول، المستوى المتبقي، الاستخلاص بالطور الصلب.

[1] طالب دكتوراه، [2] أستاذ، قسم علوم الأغذية، [3] أستاذ، قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، ص.ب.30621 جامعة دمشق، سورية.

Tissue Residual Levels and Growth Performance of Progesterone and Estradiol Treated Awassi Lambs

S. Al-Meherate[(1)], G. Sumainah[(2)], S. Salhab[(3)]

ABSTRACT

Ten Awassi male lambs, 4 months age and 31 kg weight were used in this study. After two weeks of adaptation on feed and experimental conditions, they were injected intramuscularly with compudose of progesterone and estradiol. They were allocated to dose level 1 (100mg progesterone + 10mg estradiol/ lamb), level 2 (50mg progesterone + 5mg estradiol/lamb), and untreated control group. Five lambs were slaughtered at the day 28 after injection, the other five lambs were slaughtered after 63 days of injection. Samples of muscle, liver, kidney and kidney fat were collected, and hormones extracted , purified by Solid Phase Extraction (SPE) columns, and analyzed by Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). Hormone treated lambs had significantly ($p<0.05$) higher residual level of hormones, showed higher body weight and more feed efficiency than control.

Key words: Awassi ewes, ELISA, Progesterone, Estradiol, Residue Level, and SPE.

[(1)]Ph. D Student, [(2)] Prof., Dept., food sciences, [(3)] Prof., Dept., Animal Sciences. Faculgy of agriculture, P.O.Box 30621, Damascus University, Syria.

المقـــدمـــة

مازال استخدام المركبات الستروئيدية مستمراً في بعض البلدان، على الرغم من منعها في المجتمع الأوربي، بهدف زيادة الوزن والتأثير في تركيب الذبيحة. إن مسألة الأثر المتبقي في أنسجة الحيوانات المعاملة مازالت له اعتبارات مهمة في تقدير الخطورة الصحية. وإن استعمال المركبات البنائية الأندروجينية الطبيعية مثل التيستوستيرون له أهميته في تنظيم النمو الجسماني في ذكور الحيوانات، (Galbraith و Berry 1994) .

فمن المعروف أن المركبات الستروئيدية البنائية تزيد من تراكم البروتينات العضلية، ولكن القليل من المعلومات متوافر عن تأثير هذه المركبات في استقلاب الدهون، (Lough وزملاؤه، 1993). أثبتت الدراسات السابقة أن هناك استجابات متنوعة للمركبات الاستروجينية والأندروجينية سواءً أعطيت بشكل منفرد أو على شكل حقن أم زرعات مركبة. فالحقن المركبة والتي تكون عادة على شكل استرات للمركبات الاستروجينية والأندروجينية الطبيعية (التيستوستيرون والاستراديول مثلاً) درست بشمولية في الأبقار ولكن بشكل أقل كثيراً في الأغنام، (Galbraith و Topps، 1986). بخصوص استعمال المركبات الستروئيدية كعوامل بناء في الأغنام مازال هناك اهتمام عملي بالوسائل التي بواسطتها يمكن تحسين إنتاج اللحوم في الإناث التي تعزل عن قطعان التحسين، وكذلك هناك اهتمام إضافي في دراسة استجابات الحيوانات التي تجاوزت عمر البلوغ، خاصة وأن معظم الدراسات السابقة أجريت لمعرفة تأثيرات مركبات البناء في الحيوانات الفتية. إجمالاً يمكن اعتبار استجابة مؤشرات النمو في إناث الأغنام والأبقار للمركبات الستروئيدية الأندروجينية أكثر إيجابية مقارنة مع المركبات الستروئيدية الاستروجينية (Suleiman وزملاؤه، 1992).

إن الاستروجينات الطبيعية تعطي تأثيراً بنائياً قوياً (في حال استعمالها كمعاملة منفردة)، ويعتمد هذا التأثير على كمية الحقنة المستخدمة. ففي الحقن ذات التركيز المنخفض تعطي أثراً بنائياً، أما في الحقن عالية التركيز فتكون ذات أثر هدمي ومصنع للشحوم (Lipogenic and Catabolic). وتأثيرها كذلك يعتمد على نوع الحيوان المعامل بها، فمثلاً في الأبقار والأغنام تكون ذات أثر بنائي، (Lone و Van Ginkel 1997). أعطت الحقن المركبة المكونة من البروجيستيرون والاستراديول، تأثيرات بنائية إيجابية سواء في الدراسات المبكرة، (Rumsey 1978 و1982) أو في الدراسات اللاحقة، (Galbraith و Lone 2002 Van Ginkel ,1997 JECFA, 1988 و2000).

تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة الأثر المتبقي للمركبات الأندروجينية والاستروجينية (كحقنة مركبة) وتأثيراتها في أداء نمو ذكور حملان العواس والمستخدمة بوصفها مصدراً لاستهلاك اللحوم في كل من سورية والأردن. جاءت هذه الدراسة لأكثر من

مبرر وهو أن المنطقة تفتقر لمعرفة تأثير المركبات الستروئيدية في سلالة الأغنام المنتجة محليا (العواس)، وكذلك لأن استخدام المركبات الاستروجينية والأندروجينية في المجترات مبني على أساس تعويض المركبات الجنسية الطبيعية الموجودة في أجسام الذكور غير المخصية وبشكل أقل كثيراً في أجسام الذكور المخصية، (Galbraith وزملاؤه، 1997) علاوة على أن لحوم ذكور الأغنام هي المفضلة من قبل المستهلك المحلي. سيتم استخدام تقانة المقايسة المناعية للأنزيم المتصل (ELISA) لتحديد الأثر المتبقي للمركبات الستروئيدية في أنسجة الحملان المعاملة.

مواد البحث وطرائقه

تجربة الحملان

تم شراء عشرة حملان عواس من السوق المحلي في أيار 2004، بمتوسط وزن 31 كغ ومتوسط عمر 4 أشهر. وُضعت في حظيرة منفصلة في مزرعة كلية الزراعة في خرابو، وغذيت بمعدل وجبتين يومياً على العلف المركز (55% شعيراً، 20% نخالة) وتبن القمح بنسبة (75 %: 25 %؛ على أساس الوزن الجاف)، مدعماً بالفيتامينات والأملاح المعدنية (ثنائي فوسفات الكالسيوم 1%، ملح الطعام 1%، فيتامينات 0.1% أملاح معدنية 0.1%)، بالإضافة إلى عملية الرعي اليومية بحسب المراد (Ad Libitum). صممت كمية العلف على أساس الوزن الحي للحملان، والجدول (1) يوضح العلاقة بين وزن الحملان وكمية العلف المعطاة. وُزنت كمية الاستهلاك اليومي الفردي لكل حمل، بالإضافة إلى تسجيل الزيادة الوزنية أسبوعياً. بعد تهيئة الحملان على هذه الظروف مدة أسبوعين، ثم وُضعت الحملان تحت المعاملات الآتية:

1 - المستوى الهرموني الأول: خُصّصت أربعة حملان لهذه المعاملة، وحقنت في العضلات الخلفية (الفخد) بحقنة مركبة مكونة من هرمون البروجيستيرون والاستراديول بتركيز (100 ملغ + 10 ملغ) على التوالي.

2 - المستوى الهرموني الثاني: خُصّصت أربعة حملان لهذه المعاملة، وحقنت في العضلات الخلفية (الفخد) بحقنة مركبة مكونة من هرمون البروجيستيرون والاستراديول بتركيز (50 ملغ + 5 ملغ) على التوالي.

3 - الشاهد: خُصّص حملان لهذه المعاملة، أعطيت هذه المجموعة العلف فقط.

بعد ذلك سُحبت أول مجموعة من الحملان وذبحت بعد 28 يوماً من تاريخ حقن الهرمون، مكونة من: حملين من كل مجموعة من المستويات الهرمونية بالإضافة إلى حمل واحد من مجموعة الشاهد. بعد ذلك سُحبت وذبحت المجموعة الثانية والتي تمثل بقية الحملان أي على نحو (1،2،2) للمجموعة الأولى والثانية والثالثة على التوالي، بعد 63 يوماً من إعطاء الهرمون.

الجدول (1) العلاقة بين وزن الحملان ووزن العلف (كغ)على أساس الوزن الجاف، (كغ/اليوم)

وزن الحملان (كغ)	وزن العلف (كغ/اليوم) على أساس الوزن الجاف
30	1.3
35	1.4
40	1.6
45	1.7
50	1.8

أخذت عينات ممثلة من الذبيحة، بوزن يتراوح (500 -1000غ) من أنسجة العضلات والكبد والكلى والدهن المحيط بالكلى، وحُفظت في درجة حرارة -18 م إلى حين تحضيرها للتحليل.

تحضير العينات

قُطعت عينات اللحم وطُحنت (500 1000 غ) مرتين في خلاط اللحم، ثم أخذ 5 غ وجنست مع 10 مل من محلول التعادل (TBME) بواسطة الخلاط الدوامي مدة 30 دقيقة وثفلت مدة 10 دقائق على سرعة3000g. نقل الرائق إلى أنبوب تثفيل آخر وثفل مرة أخرى مع 10 مل أخرى من محلول التعادل (TBME). جمعت الطبقة العضوية وبخرت إلى الجفاف تحت مجرى نيتروجيني على درجة حرارة 40 م. أذيب المتبقي في 5 مل ميثانول مع 1 مل ماءً، ثم أضيف بعد ذلك 3 مل من الهكسان وجنس بالخلاط الدوامي ثم ثفل مدة 6 دقائق على 3000g. أُزيلت طبقة الهكسان بواسطة ماصة باستور (Pastuer Pipette). بخرت الطبقة العضوية تحت مجرى نيتروجيني في حمام مائي على درجة حرارة 40 م إلى حجم 1 مل. بالنسبة لعينات الكبد والكلى فإن العينة المجنسة 1 غ حضنت مع 8 ميكروليترات من أنزيم الجلوكورونيديز أريل سلفتيز (Helix Pomatia:Merk) ثم نُقّي الجزء المتحلل بالطريقة السابقة، ابتداء من الاستخلاص بواسطة محلول التعادل (TBME) (Impens *etal*. 2000).

غسل العينات وتنقيتها

نقيت النواتج المستخلصة من العينات أيضاً بواسطة لفافات (أعمدة) الاتزان الدهني المائي (Hydrophilic Lipophilic Balance Cartridges) أو ما يسمى الاستخلاص بالطور الصلب (SPE) على النحو الآتي:

تمت تهيئة الأعمدة أولاً بإضافة 3 مل ميثانول عالي النقاوة و3 مل ماء منزوع الأيونات عالي النقاوة بمعدل تدفق 15 نقطة/ الدقيقة. مررت العينات خلال الأعمدة ثم غسلت هذه الأعمدة بخليط من الماء والميثانول 3 مل بنسبة 50:50. تشطف المواد المتحللة بواسطة خليط ميثانول -ماء بنسبة 20:80 بمعدل تدفق 15 نقطة/الدقيقة. أذيب

هذا المستخلص في محلول التعادل وحفظ على درجة حرارة -18 م إلى حين استخدامه وتحليله بطريقة المقايسة المناعية للأنزيم المتصل، (Impens وزملاؤه، 2000).

التحليل بواسطة المقايسة المناعية للأنزيم المتصل

مبدأ التحليل

تعتمد المقايسة المناعية للأنزيم المتصل على مبدأ المنافسة بين الستروئيد في العينة وقرينة (Steroid-HRP) على الارتباط بكمية ثابتة من ضد الهرمون المأخوذ من الأرانب. تحضن الآبار المغطاة بالجلوبيولين المناعي المأخوذ من الأغنام (Goat anti-rabbit IgG) بعد إضافة كمية محدودة 10 ميكروليتراً من الستروئيدات المعيارية والشواهد والعينات و100 ميكروليتر من الهرمون القرين و50 ميكروليتراً من ضد الهرمون الآتي من الأرانب على درجة حرارة 37°س مدة 90 دقيقة. تتنافس كمية محددة من الهرمون الموشوم مع الهرمون الداخلي الموجود في العينات أو المحاليل المعيارية على عدد محدد من أماكن الارتباط في الجسم المضاد الهرموني خلال فترة الحضن. لذا فإن كمية قرين إنزيم البيروكسيديز الهرموني (Hormone Peroxidase Conjugate) المرتبط مناعياً بالآبار يتناقص تدريجياً مع تزايد تركيز الهرمون في العينات، ومن ثم فإن القرين الأنزيمي غير المرتبط يزال بعملية الغسل. يضاف المحلول المنظم (Tris-Hydroxy Methyl Aminomethane:TMB) ويحضن مدة 20 دقيقة على درجة حرارة الغرفة، وينتج عن ذلك تطور اللون الأزرق الذي يوقف بواسطة الحمض. تتناسب شدة اللون الناتجة طرداً مع كمية الإنزيم الموجودة وعكسياً مع كمية الهرمون غير الموشوم في العينة. يحصل على المنحنى المعياري بواسطة رسم التراكيز المعيارية مقابل الامتصاص، ويمكن حساب تركيز الهرمون في العينة من المنحنى المعياري.

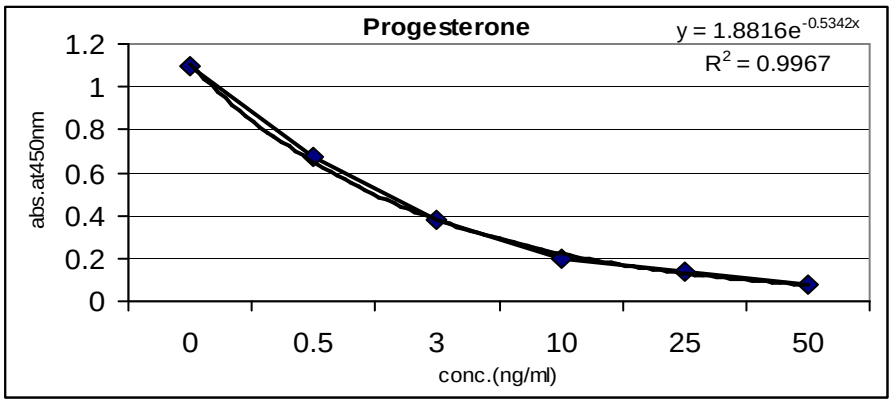
التحليل الإحصائي

حُلّلت البيانات إحصائياً لمعرفة التباين باستخدام النظام الإحصائي (SPSS) نسخة 10.01. حللت البيانات كتصميم عاملي (Factorial: 3*4*2) مكون من ثلاثة عوامل هي: المستوى الهرموني والذي تكون من المستوى الهرموني الأول والثاني والشاهد ونوع الأنسجة المكون من العضلات، الكبد، الكلى، والدهن المحيط بالكلى وزمن السحب المكون من زمن السحب الأول 28 يوماً وزمن السحب الثاني 63 يوماً.

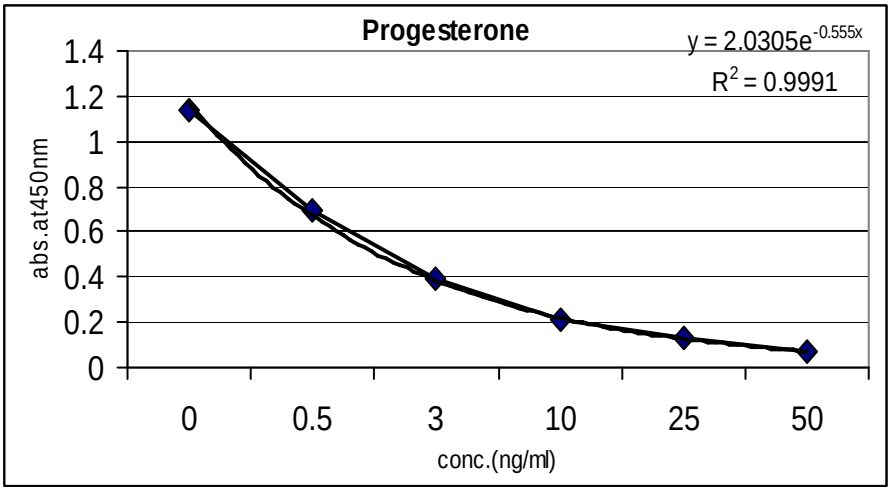
النتائج

1. المنحنيات المعيارية لهرموني البروجيستيرون والاستراديول:

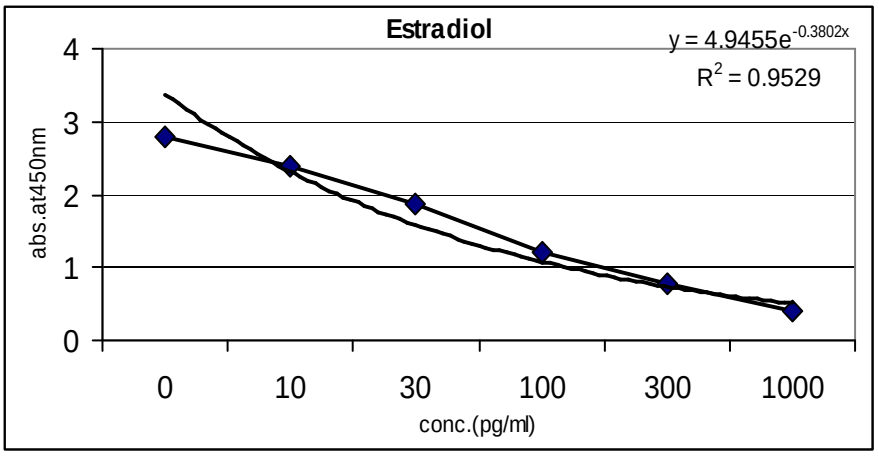
تحتوي طواقم المقايسة المناعية للأنزيم المتصل (ELISA) على تراكيز معيارية مرجعية (0 0.5 3.0 10 25 50 نانوغ/مل) بروجستيرون و(0 10 30 100 300 1000 بيكوغ/مل) استراديول. رُسمت المنحنيات المعيارية بواسطة متوسط الامتصاص 450 نانومتراً مقابل كل تركيز مرجعي وكان معامل التعيين لهرمون البروجستيرون (R^2=0.9969, 0.9991) في زمني السحب الأول والثاني على التوالي، وكذلك معامل التعيين لهرمون الاستراديول (R^2=0.9529, 0.9442) في زمني السحب الأول والثاني على التوالي. الشكلان (1) و(2) يمثلان المنحنيين المعياريين لهرمون البروجستيرون في زمني السحب الأول والثاني على التوالي، وأيضاً الشكلان (3) و(4) يمثلان المنحنيين المعياريين لهرمون الاستراديول في زمني السحب الأول والثاني على التوالي. استعمل متوسط قراءات الامتصاص لكل عينة لتحديد التركيز المقابل لها بواسطة المنحنى المعياري لكل هرمون. حُددت حساسية طريقة التحليل خلال مجموعة التجارب من خلال تحديد أقل مستوى كشف (LDL)، والتي كانت (0.085 -0.09 نانوغ/مل) و(60 -70 بيكوغ/مل) لهرمون البروجستيرون والاستراديول.



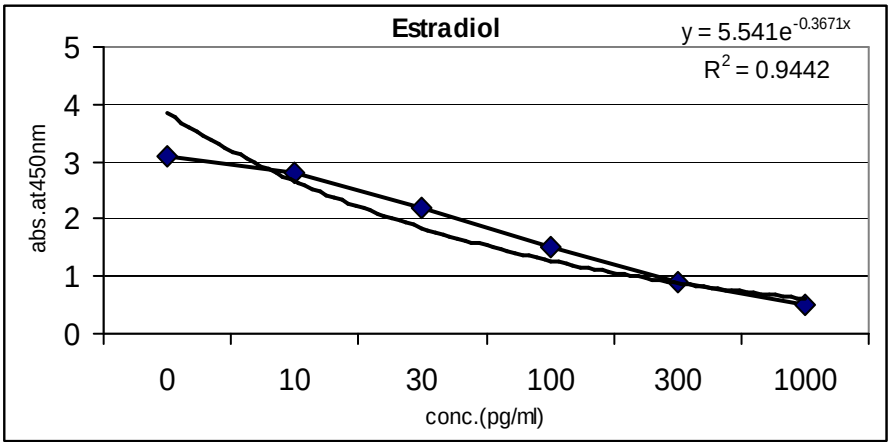
الشكل (1) المنحنى المعياري لهرمون البروجيستيرون مبيناً فيه المعادلة ومعامل التعيين عند زمن السحب الأول (28) يوماً.



الشكل (2) المنحنى المعياري لهرمون البروجيستيرون مبيناً فيه المعادلة ومعامل التعيين عند زمن السحب الأول 63 يوماً



الشكل (3) المنحنى المعياري لهرمون الاستراديول مبيناً فيه المعادلة ومعامل التعيين عند زمن السحب الأول 28 يوماً.



الشكل (4) المنحنى المعياري لهرمون الاستراديول مبيناً فيه المعادلة ومعامل التعيين عند زمن السحب الثاني 60 يوماً.

2.الأثر المتبقي في الأنسجة

أولاً ــ هرمون البروجستيرون:

أظهر جدول تحليل التباين (ANOVA) (الجدول 2) الخاص ببيانات الأثر المتبقي لهرمون البروجيستيرون وجود فروق ذات دلالة إحصائية على مستوى أقل من ($P<0.05$) بين مستويات المتغير العاملي الأول (تركيز الأثر في الأنسجة)، حيث كانت قيمة مستوى الدلالة (Sig.= 0.0001)، وهي أقل من المستوى المقبول ($p=0.05$)، كذلك أظهر المتغير العاملي الثاني وهو (نوع الأنسجة) فروقاً ذات دلالة إحصائية على مستوى أقل من ($p<0.05$)، حيث كان مستوى الدلالة أيضاً (Sig.= 0.0001) وهي أيضاً أقل من المستوى المقبول. أما المتغير العاملي الثالث (زمن السحب) فلم يظهر فروقا ذات دلالة إحصائية، حيث كانت قيمة مستوى الدلالة (Sig.= 0.259) وهي أكبر من المستوى المقبول ($p<0.05$). كذلك أظهر جدول تحليل التباين أثر لتفاعل المتغيرات العاملية الثلاثة (تركيز الأثر المتبقي، نوع الأنسجة، زمن السحب) حيث كانت قيمة الدلالة المعنوية (Sig= 0.0001) وهي أقل من المستوى المقبو ($p<0.05$).

الجدول (2) تحليل التباين (ANOVA) للأثر المتبقي لهرمون البروجيستيرون في الأنسجة لمجموعات حملان الشاهد والحملان المعاملة (المستوى الهرموني الأول والثاني).

مصدر التباين	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيم الاحتمالات الإحصائية لF
التركيز	2	7.129	3.564	63	0.0001
الأنسجة	3	6.564	2.188	9.820	0.0001
زمن السحب	1	.472	.472	1.299	0.259
الأنسجة * التركيز	6	3.098	0.516	6.029	0.0001
التركيز* الأنسجة*زمن السحب	6	22.087	3.68	64	0.0001

أظهرت نتائج اختبـــاري (Tukey and Scheffe) للمقارنـــات البعديـــة (Post Hoc) لمستوى الأثر المتبقي لهرمون البروجيستيرون في الأنسجة المختلفة للحمـــلان المعاملـــة الموضحة في الجدول (3)، أن أنسجة الدهن الفوق كلوي (المحيط بالكلى) احتوت أعلـــى تركيز (3.276 ميكروغ/كغ) من الأثر المتبقي من هرمون البروجيستيرون، تلاها محتوى الكلى 2.82 ميكروغ/كغ، وأظهرا هذان النسيجان فروقاً ذات دلالة معنوية على مـــستوى أقل من المستوى المقبول ($p<0.05$) عن باقي الأنسجة (الكبد والعضلات)، في حين لـــم يظهرا فروقاً ذات دلالة إحصائية بين محتواهما، لذلك وُضعا في العمود نفسه من الجدول المذكور، كذلك الحال في أنسجة الكبد والعضلات اللذين وضعا في عمود منفصل، إذ لـــم يظهرا فروقاً ذات دلالة إحصائية بين محتواهما.

الجدول (3) الاختبارات الإحصائية البعدية (Post Hoc) التي تبين الفروق المعنوية لبيانات الأثر المتبقي لهرمون البروجيستيرون في أنسجة الحيوانات المعاملة (المـــستوى الأول والثاني) ومجموعة الشاهد.

الاختبار	مصدر التباين	عدد المكررات	المجموعات	
			1	2
Tukey a, b	الكبد	20	2.5470	
	العضلات	20	2.5970	
	الكلى	20		2.8225
	الدهن	20		3.2765
	المعنوية		0.477	0.092
Scheffe a, b, c	الكبد	20	2.5470	
	العضلات	20	2.5970	
	الكلى	20		2.8225
	الدهن	20		3.2765
	المعنوية		0.558	0.141

أما عند مقارنة المحتوى الكلي للأنسجة بين مستويات هرمون البروجيستيرون المختلفة (المستوى الأول، المستوى الثاني، الشاهد)، فقد أظهرت نتائج اختباري (Tukey and Scheffe) للمقارنات البعدية (Post Hoc) (جدول 4) أن متوسط الأثر المتبقي في أنسجة الحملان المعاملة بالمستوى الهرموني الأول كانت أعلى (3.16 ميكروغ/كغ) وبفروق ذات دلالة إحصائية على مستوى أقل من ($p<0.05$)، عن كل من الحملان ذات المستوى الهرموني الثاني وحملان مجموعة الشاهد (2.656 2.419، ميكروغ/كغ) على التوالي.

الجدول (4) الاختبارات الإحصائية البعدية (Post Hoc) التي تبين الفروق المعنوية لبيانات الأثر المتبقي لهرمون البروجيستيرون في الحيوانات المعاملة (المستوى الأول والثاني) ومجموعة الشاهد.

الاختبار	مصدر التباين	عدد المكررات	المجموعات	
			1	2
Tukey a, b	الشاهد	16	2.4194	
	المستوى الثاني	32	2.6566	
	المستوى الأول	32		3.1606
	المعنوية		0.367	1.000
Scheffe a, b, c	الشاهد	16	2.4194	
	المستوى الثاني	32	2.6566	
	المستوى الأول	32		3.1606
	المعنوية		0.367	1.000

يتبين من نتائج البيانات الإحصائية السابقة لمحتوى الأنسجة من الأثر المتبقي لهرمون البروجيستيرون أن هناك أنسجة يبقى الأثر المتبقي فيها عالياً (الكلى، الدهن المحيط بالكلى) مقارنة بأنسجة الكبد والعضلات عند معاملة الحيوانات بمستوى هرموني عالٍ (100 مغ بروجيستيرون/الحقنة/حمل)، لكن هذا الفرق في محتوى الأنسجة ينخفض في زمن السحب الثاني 63 يوماً، وأيضاً في حالة معاملة الحيوانات بمستوى هرموني منخفض (50 مغ بروجيستيرون/الحقنة/حمل).

ثانياً ــ هرمون الاستراديول:

أظهر هرمون الاستراديول نتائج مختلفة مقارنة بنتائج هرمون البروجيستيرون، يُبين جدول تحليل التباين (ANOVA) (الجدول 5) الخاص ببيانات الأثر المتبقي لهرمون الاستراديول وجود فروق ذات دلالة إحصائية على مستوى أقل من ($p<0.05$) بين مستويات المتغير العاملي الأول (تركيز الأثر في الأنسجة)، حيث كانت قيمة مستوى

الدلالة (Sig.= 0.0001)، وهي أقل من المستوى المقبول ($p<0.05$)، كذلك أظهر المتغيران العامليان الثاني والثالث وهما (نوع الأنسجة، وزمن السحب)، فروقاً ذات دلالة إحصائية على مستوى أقل من ($p<0.05$)، حيث كانت مستوى الدلالة أيضاً (Sig.= 1 0.000) وهي أيضاً أقل من المستوى المقبول. كذلك أظهر جدول تحليل التباين أثراً لتفاعل المتغيرات العاملية الثلاثة (تركيز الأثر المتبقي، نوع الأنسجة، زمن السحب) حيث كانت قيمة الدلالة المعنوية (Sig.= 0.0001) وهي أقل من المستوى المقبول ($p<0.05$).

الجدول (5) تحليل التباين (ANOVA) للأثر المتبقي لهرمون الاستراديول في أنسجة مجموعات حملان الشاهد والحملان المعاملة (المستوى الهرموني الأول والثاني).

مصدر التباين	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F	قيم الاحتمالات الإحصائية لF
التركيز	2	7262.517	3631.259	126.636	0.0001
الأنسجة	3	1475.203	491.734	17.149	0.0001
زمن السحب	1	121.245	121.245	13.76	0.0001
التركيز *الأنسجة	6	1848.135	308.023	10.742	0.0001
التركيز *الأنسجة*زمن السحب	6	32175.294	5362.5	193.506	0.0001

أظهرت نتائج اختباري (Tukey and Scheffe) للمقارنات البعدية (Post Hoc) لمستوى الأثر المتبقي لهرمون الاستراديول في الأنسجة المختلفة للحملان المعاملة الموضحة في الجدول (6)، أن أنسجة الدهن الفوق كلوي (المحيط بالكلى) احتوت أعلى تركيز (42.03 نانوغ/كغ) من الأثر المتبقي من هرمون الاستراديول، تلاها محتوى الكلى (40.533 نانوغ/كغ)، وأظهرا هذان النسيجان فروقاً ذات دلالة معنوية على مستوى أقل من المستوى المقبول ($p<0.05$) عن أنسجة العضلات التي احتوت بدورها على أثر هرموني (36.29 نانوغ/كغ) أعلى وبفروق ذات دلالة إحصائية من محتوى أنسجة الكبد (28.12 نانوغ/كغ). بينما عند مقارنة محتوى أنسجة الدهن المحيط بالكلى وأنسجة الكلى، لم تكن هناك فروق ذات دلالة إحصائية بين محتواهما، لذلك وضعتا في العمود نفسه من الجدول المذكور، أما محتوى أنسجة الكبد والعضلات فإن الحال يختلف فقد وضعت كل في عمود منفصل، حيث أظهرتا فروقاً ذات دلالة إحصائية بين محتواهما.

الجدول (6) الاختبارات الإحصائية البعدية (Post Hoc) التي تبين الفروق المعنوية لبيانات الأثر المتبقي لهرمون الاستراديول في الحيوانات المعاملة (المستوى الأول والثاني) ومجموعة الشاهد.

الاختبار	مصدر التباين	عدد المكررات	المجموعات		
			1	2	3
Tukey a, b	الكبد	20	28.1165		
	العضلات	20		36.292	
	الكلى	20			40.5330
	الدهن	20			42.0315
	المعنوية		1.000	0.070	0.813
Scheffe a, b, c	الكبد	20	28.1165		
	العضلات	20		36.292	
	الكلى	20			40.5330
	الدهن	20			42.0315
	المعنوية		1.000	0.112	0.853

عند مقارنة مستويات المجموعة المعاملة (المستوى الهرموني الأول، المستوى الهرموني الثاني) والمجموعة غير المعاملة بالهرمون (الشاهد) كمتوسط محتوى كلي من هرمون الاستراديول في الأنسجة المعاملة، فقد أظهرت نتائج اختباري (Tukey and Scheffe) للمقارنات البعدية (Post Hoc) (الجدول 7) أن متوسط الأثر المتبقي في أنسجة الحملان المعاملة بالمستوى الهرموني الأول كانت أعلى (45.489 نانوغ/كغ) وبفروق ذات دلالة إحصائية على مستوى أقل من ($p<0.05$)، عن كل من الحملان ذات المستوى الهرموني الثاني وحملانٍ مجموعة الشاهد (36.67، 19.396 نانوغ/كغ) على التوالي، اللذين أظهرا أيضاً فروقاً ذات دلالة إحصائية على مستوى أقل من ($p<0.05$) عند مقارنة محتواهما من الأثر المتبقي لهرمون الاستراديول.

يمكن القول من خلال نتائج التحليل الإحصائي لبيانات هرمون الاستراديول إن مستوى الأثر المتبقي في الأنسجة المعاملة يبقى عالياً حتى على زمن السحب الثاني 63 يوماً، وكذلك بينت النتائج أن محتوى الأنسجة من الأثر المتبقي أظهر فروقاً ذات دلالة إحصائية خلال المتغير العاملي الأول (مستوى الهرمون) وكذلك خلال المتغير العاملي الثاني (زمن السحب).

الجدول (7) الاختبارات الإحصائية البعدية (Post Hoc) التي تبين الفروق المعنوية لبيانات الأثر المتبقي لهرمون الاستراديول في أنسجة الحيوانات المعاملة (المستوى الأول والثاني) ومجموعة الشاهد.

الاختبار	مصدر التباين	المكررات	المجموعات		
			1	2	3
Tukey a, b	الشاهد	16	19.3962		
	المستوى الثاني	32		36.6709	
	المستوى الأول	32			45.4891
	المعنوية		1.000	1.000	1.000
Scheffe a, b, c	الشاهد	16	19.3962		
	المستوى الثاني	32		36.6709	
	المستوى الأول	32			45.4891
	المعنوية		1.000	1.000	1.000

3. أداء النمو الجسماني للحملان

بينت نتائج تحليل أداء النمو الجسماني للحملان، (الجدول 8)، أن هناك فروقاً في الوزن الحي النهائي، وزيادة الوزن الحي بين الحملان المعاملة هرمونياً وبين الحملان غير المعاملة من ناحية، وفروقاً بين مجموعتي الحملان المعاملة من ناحية أخرى. إذ أظهرت النتائج أن مجموعة الحملان المعاملة بالمستوى الهرموني الأول (100 ملغ بروجيستيرون+ 10 ملغ استراديول) أعطت أعلى نسبة في الزيادة الوزنية مقارنة مع مجموعة الشاهد، إذ حسبت على أساس الفرق بين متوسطات الوزن النهائي والوزن الابتدائي، وبلغت (38.9%، 35%) في زمن السحب الأول والثاني على التوالي. أما مجموعة الحملان المعاملة بالمستوى الهرموني الثاني (50 ملغ بروجيستيرون+ 5 ملغ استراديول)، فقد بلغت نسبة الزيادة الوزنية مقارنة مع مجموعة الشاهد (4.76 % 17.15 %) في زمن السحب الأول والثاني على التوالي. بينت نتائج مؤشرات الأداء النموي الموضحة في الجدول المشار إليه سابقاً ومنحنيا النمو لزمن السحب الأول والثاني، (الشكلان 5 6) على التوالي، أن زمن السحب الأول أعطى أفضل نتائج نموية لهرمون الاستراديول، في حين أعطى هرمون البروجيستيرون أفضل نتائج على زمن السحب الثاني. أما عند مقارنة المعاملة الهرمونية (كوحدة واحدة) مع مجموعة الشاهد، فيمكن القول: أن أفضل نتائج نموية كانت على زمن السحب الأول، وهذا واضح عند مقارنة المنحنيات النموية في زمن السحب الأول (شكل 5) مع المنحنيات النموية في زمن السحب الثاني (شكل 6)، إذ يمكن تمييز الفارق النموي بوضوح بين المنحنيات الثلاثة في

زمن السحب الأول، في حين تقترب المنحنيات المذكورة من بعضها بعضاً، وتظهر صعوبة في تمييز الفارق النموي بينها في زمن السحب الثاني. وهذه النتائج تتفق مع نتائج الأثر المتبقي في الأنسجة، حيث يقل مستوى الأثر المتبقي مع الزمن، ليبلغ أقل مدى له عند زمن السحب الثاني، خاصة بالنسبة لهرمون البروجيستيرون.

الجدول (8) متوسط مؤشرات أداء النمو الجسماني لمجموعات حملان الشاهد والحملان المعاملة (المستوى الهرموني الأول والثاني).

المؤشر	المستوى الهرموني الثاني	المستوى الهرموني الأول	الشاهد
أ - زمن السحب الأول			
الوزن الحي الابتدائي (كغ) [1]	33.5	29.75	30.5
الوزن الحي النهائي (كغ) [2]	40.1	38.5	36.8
الزيادة في الوزن الحي (غ/اليوم)	235.7	312.5	225
الزيادة النسبية في الوزن (%)	4.76%	38.9%	
ب - زمن السحب الثاني			
الوزن الحي الابتدائي (كغ)	29.2	27.25	30.8
الوزن الحي النهائي (كغ)	45.25	45.75	44.5
الزيادة في الوزن الحي (غ/اليوم)	254.75	299.2	217.5
الزيادة النسبية في الوزن (%)	17.15%	35%	

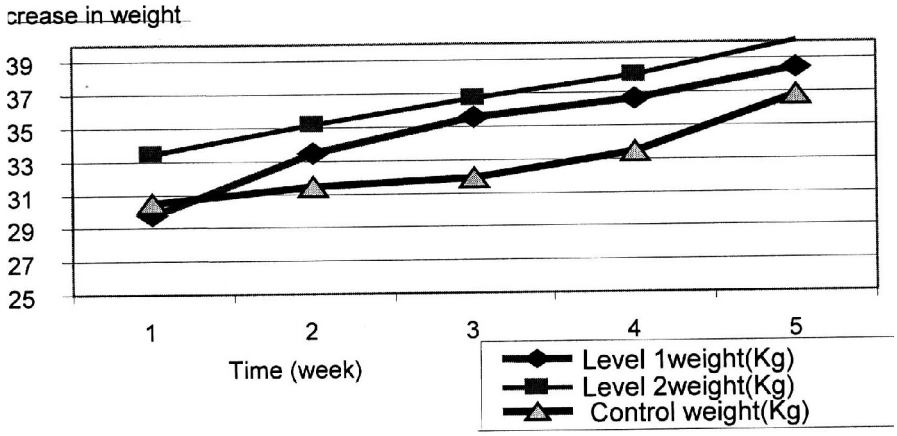
(1): الوزن الحي الابتدائي يمثل متوسط أوزان الحملان بعد تهيئتها على العلف، وعند بدء معاملتها بالهرمونات.

(2) : الوزن الحي النهائي يمثل متوسط أوزان الحملان عند ذبحها (28 يوماً للسحب الأول، 63 يوماً للسحب الثاني).

المناقشة

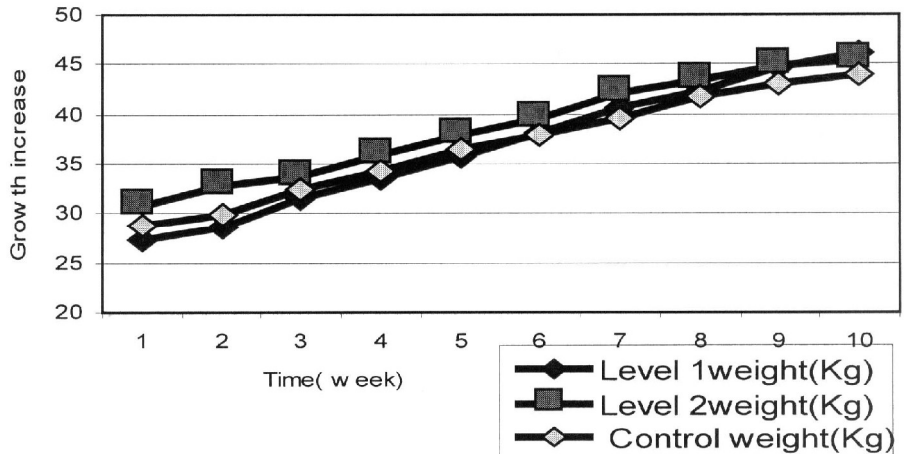
هناك عدد محدود من الأوراق العلمية التي ناقشت موضوع الأثر المتبقي في أنسجة الأغنام، مقارنة مع تلك التي تعاملت مع الأبقار. فمثلاً قام (Oxley وزملاؤه، 1960) بحقن ذكور الأغنام المخصية بمركبي بنزوات الاستراديول (5 ملغ) وبروبيونات التيستوستيرون (50 ملغ) فأعطت نسبة زيادة وزنية بمقدار 50 %. وفي دراسة أخرى زُرعت حقنة مركبة (20 ملغ استراديول + 140 ملغ خلات الترنبولون) تحت جلد أذن العديد من الحيوانات، من بينها ذكور الحملان. فأعطت الحملان المخصية نسبة زيادة وزنية مقدارها 26.6 % (Grandadam وزملاؤه، 1975). وفي دراسة قام بها Galbraith وزملاؤه (1997) على ذكور الأغنام المخصية، حُقنت تحت جلد الأذن بالاستراديول والتيستوستيرون أو الترنبولون بشكل منفرد أو على شكل حقن مركبة. أعطت الحملان المعاملة بالاستراديول نتائج إيجابية لمؤشرات الأداء النموي (كانت هناك زيادة في مدخول العلف الجاف، وزيادة الوزن الحي، وزيادة وزن الجسم الفارغ، وزيادة

ترسب البروتين الخام، ونقصان نسبة وليس وزن الدهن المترسب في الذبيحة). أما المعاملة بالاندروجينات (الترنبولون والتيستوستيرون) فلم يكن لها تأثير (كمتوسط) في مؤشرات النمو. وفي دراسة أخرى قام بها (Galbraith و Berry 1994) لبيان تأثير الاندروجينات الطبيعية والصنعية في أداء نمو وتركيب الجسم والمستقبلات العضلية للجلوكو كورتيكويدات (Glucocorticoid) في ذكور الأغنام المخصية. المعاملة بالتيستوستيرون أدت إلى زيادة في الوزن الحي، ووزن الجسم الفارغ، ونقصان في سمك الدهن الخلفي ووزن الدهن حول الصفاق وخلفه. وهناك دراسات عن تأثير مركب خلات الترنبولون في إناث الأغنام مثل (Suleiman وزملاؤه، 1992).



الشكل (5) مقارنة منحيات النمو للحملان المعاملة بهرموني البروجيستيرون والاستراديول (المستوى الأول والثاني) والحملان غير المعاملة (الشاهد) على زمن السحب الأول 28 يوماً.

ودراسة أخرى عن تأثير هذا المركب على الأداء النموي ودهون البلازما وصفات الذبيحة في إناث وذكور الأغنام غير المخصية. لم يتأثر كل من الوزن الحي والمدخول العلفي في حين حدثت زيادة في وزن الذبيحة الفارغ ووزن الذبيحة الصلد في الدراسة الأولى. وكذلك لم يتأثر متوسط الزيادة اليومية في الوزن في كل من ذكور الأغنام وإناثها في الدراسة الثانية.



الشكل (6) مقارنة منحيات النمو للحملان المعاملة بهرمــوني البروجيــستيرون والاســترادیول (المستوى الأول والثاني) والحملان غير المعاملة (الشاهد) على زمن السحب الثاني 63 يوماً.

أما نسبة الزيادة الوزنية في الحملان المعاملة، خلال التجربة الحالية مقارنة مع الشاهد فقد بلغت (35 -38.9 %) فــي المــستوى الهرمــوني الأول و(4.76 -17.15%) فــي المستوى الهرموني الثاني، في زمني السحب الأول والثاني على التوالي. هذه النتائج متفقة مع ما توصل إليه كل من (Oxley وزملائه، 1960) و(Grandadam وزملائه، 1975) والذين توصلوا إلى نتيجة في نسبة الزيادة الوزنيــة مقــدارها (50%، 26.6%) علــى التوالي.

الاســتنتاجــات

يمكن الاستنتاج من قراءة البيانات السابقة أن معاملة ذكور حملان العواس بحقنــة مركبــة مــن هرموني البروجيستيرون والاستراديول أدت إلى نتائج إيجابية كعوامل بناء (زيادة في مؤشرات الأداء النموي)، فضلاً عن زيادة أولية في مستوى الأثر المتبقي للهرمونات في الأنسجة، والتــي انخفــضت تدريجياً مع الزمن لتصل إلى المستوى الفسيولوجي الطبيعي للحيوانات غير المعاملة، خاصة في حالة هرمون البروجيستيرون في زمن السحب الثاني 63 يوماً.

REFERENCES

Galbraith, H. 2002. Hormones in International Meat Production: Biological, Sociological, and Consumer Issues. Nutrition Research Reviews, 15:293-314.

Galbraith, H., S. B. Singh, and J. R. Scaife. 1997. Response of Castrated Male Sheep to Oestrogenic and Androgenic Compounds Implanted Alone or in Combination. British Society of Anim. Sci, 64:261-269.

Galbraith, H, and J. H. Topps. 1986. Response of Castrated Male Sheep to Estrogenic and Androgenic Compounds Implanted Alone or in Combination. *Animal Science, 64: 261-269.*

Galbraith, H. and A. D. Berry. 1994. Effect of Naturally Occuring and Synthetic Androgens on Growth, Body Composition and Muscle Glucocorticoids Receptors in Wether Lambs. *Animal Production, 58: 357-364.*

Grandadam. J. A., J. P., Schied; A. Jobard.; H. Dreux and J. M. Boisson. 1975. Results Obtained with Trenbolone Acetate in Conjunction with Estradiol in Veal Calves, Feedlot Bulls, Lambs and Pigs. J. Anim. Sci, 41: 965-970.

Impens, S. K. De Wasch., M. Cornelis and H. F. De Brabander. 2000. Analysis on Residues of Estrogens, Gestagens and Androgens in Kidney Fat and Meat with Gas Chromatography - Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromat. A, 1: 367-372.*

JECFA.1988. Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives (FAO Food and Nutrition Paper no.41: Residue of Some Veterinary Drugs in Animal and Food. Rome. Italy.

JECFA.2000. Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives (FAO Food and Nutrition Paper no.41/1: Residue of Some Veterinary Drugs in Animal and Food. Rome. Italy.

Lone, K.P., and Van Ginkel. 1997. Natural Sex Steroids and Their Xenobiotic Analogs in Animal Production: Growth, Carcass Quality, Pharmacokinetics, Metabolism, Mode of Action, Residues, Methods, and Epidemiology. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 37(2): 209-293.

Lough, D. S, S.. Kahl, M. B. Solomon. and T. S. Rumsey. 1993. The Effect of Trenbolone Acetate on Performance, Plasma Lipids, and Carcass Characteristics of Growing Ram and Ewe Lambs. *J. Anim. Sci. 71:2659-2665.*

Oxley, P. W., C. J. Kercher; O. L. Nicholls., M. W. Wall, L. C. Patterson, P. W. Cox and R. G. Hiser. 1960. Effects of Hormonal Implants on Suckling Lambs. J. Anim. Sci. 19:965-970

Rumsey, T. S. 1978. Effect of Dietary Sulphur Addition and Synovex-S Ear Implants on Feedlot Steers Fed An. All- Concentrate Finishing Diet.*J. Anim. Sci., 46: 463-470.*

Rumsey, T. S. 1982. Effect on Synovex-S Implants and Kiln Dust on Tissue Gain by Feedlot Beef Steers. *J. Anim. Sci., 54: 1030-1036.*

Suleiman, A. H., H. Galbraith., and T. J. H. Opps. 1992. Growth Performance and Body Composition of Mature Female Sheep Implanted with Trenbolone Acetate. *Animal Production, 54: 53-58.*

Received	2005/03/29	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2005/07/31	قبول البحث للنشر