جامعة الموصل

كلية التربية للبنات

قسـم علوم الحياة

دور ثنائي أوكسيد التيتانيوم في احداث التغيرات المظهرية والنسجية والجزيئية في طائر السمان

Coturnix Coturnix japonica

زينب نوري مهدي عبدالله الجميلي

رسالة ماجستير

علوم في علوم الحياة

بإشراف

المدرس

د. ريا غالب سعدالله السلطان

1444هـ

2022م

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى معرفة التغيرات السلوكية لطائر السمان ونسب الأداء الانتاجي والصفات النوعية للبيض، كذلك التغيرات الكيموحيوية في الدم، والتغيرات المرضية المظهرية لأجنة الطيور المعاملة، وتقييم التغيرات المرضية المظهرية والنسجية في كبد وخصية طائر السمان *Coturnix Coturnix japonica* المحدثة بمادة ثنائي اوكسيد التيتانيوم النانوي TiO_2NPs, Titanium Dioxide Nanoparticles مع التشخيص الجزيئي بتقنية RAPD- PCR.

استعمل في التجربة الحالية 100 طائر من طيور السمان بعمر عشرة ايام، وزعت بشكل عشوائي على أربع مجاميع مجاميع لكل مجموعة 25 طائراً، جرعت فموياً Orally بمادة TiO_2NPs للمجاميع الثلاث لمدة اربعين يوماً بواقع يوم تجريع والتالي بدون تجريع، تعد المجموعة الاولى المجموعة الضابطة جرعت بالماء المقطر اما المجاميع التجريبية الثلاثة فهي المجاميع المعاملة بتراكيز 35,25,15 ppm على التوالي.

أظهرت الدراسة الحالية تغيرات سلوكية في طيور المجاميع التجريبية المعاملة مع اختلاف حدتها بحسب التراكيز المعطاة فكان التركيز 35 ppm أكثر تأثراً من بقية التراكيز حيث تمثلت بحركات سريعة، نشاط مفرط، هيجان مع سلوك عدواني، كما بينت النتائج على اوزان الطيور ظهور زيادة في الوزن وجدت عند مجموعة 15 ppm عمر 25 و50 يوماً مقارنة مع بقية المجاميع، ووجد ايضاً ارتفاع معدل أوزان الافراخ عند التركيز نفسه وبفرق معنوي عن المجموعتين المعاملتين 25،35 ppm على التوالي. كما وجدت أعلى نسبة للهلاكات عند مجموعة 35 ppm ، إذ بلغت 46% كما بينت نتائج التغيرات الوزنية لأعضاء الخصية والكبد، أن أعلى وزن للكبد في مجموعة 15 ppm عند الأعمار 25 و50 يوماً مقارنة مع بقية المجاميع، وفي الخصية لُحظ عدم وجود فروق معنوية للأوزان عند أعمار 25 و 50 يوماً، كما أظهرت الصفات الانتاجية لمجموعة 35 ppm انخفاض عدد البيض وبفرق معنوي$p<0.05$ عند مقارنتها مع باقي المجاميع، اما بالنسبة للصفات الانتاجية للبيض فوجد زيادة وزن البيضة ووزن البياض والصفار كل على حدة عند مجموعة 15 ppm.

بينت نتائج الفحوصات الكيموحيوية عند عمر25 يوماً وجود انخفاضاً معنوياً $P<0.05$ في مستوى الكوليسترول الكلي، الدهون الثلاثية، البروتين الدهني مرتفع الكثافة، البروتين الدهني منخفض الكثافة وارتفاع معنوي في مستوى عامل التعصد. أما عند عمر 50 يوماً فبينت النتائج ارتفاعاً معنوياً في مستوى الكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية والبروتين الدهني مرتفع الكثافة، وعامل التعصد ولُحظ انخفاض في مستوى البروتين الدهني مرتفع الكثافة.

كما بينت نتائج الفحص المظهري لخصية المجاميع المعاملة بمادة TiO_2NP_S لعمر 25 يوماً قبل البلوغ الجنسي تغييرات مظهرية في مجموعة 15 ppm ظهرت بلون مائل الى الاصفرار مع وجود كتلة دموية في أحد جوانب الخصية. اما في مجموعة 25 ppm فلُحظ تطاولها وشحوب لونها وضعف في عدد ولون الاوعية الدموية الموجودة على سطحها الخارجي، أما عند تركيز 35 ppm فلُحظ احتقان الخصية وظهورها بلون مائل الى الاحمرار مع وجود نزف دموي شديد وتجمع المواد القيحية والبقع النزفية. كما بين الفحص المظهري لكبد مجموعة 15 ppm لوناً أحمراً مائلاً الى الاصفرار وقوام لين نسبياً، أما في مجموعة 25 ppm فيبين تغير شكل المظهر الخارجي للكبد واحتقانه مع تضخمه ووجود تآكل لحواف الكبد وعدم تناسق احجام الفصوص ، كما لُحظ عند مجموعة 35 ppm شحوب الكبد مع لين قوامه وانتشار مادة قيحية على سطحه ووجود بقعة سوداء في احد الفصوص.

أما في طيور عمر 50 يوماً بعد البلوغ الجنسي، بين الفحص المظهري لخصية مجموعة 15 ppm صغر حجمها وظهورها بشكل شبه كروي مع وجود احتقان كبير في الاوعية الدموية، أما في مجموعة 25 ppm فلُحظ تضخم حجم الخصية واحتقانها مع حدوث نزف في البربخ، اما عند مجموعة 35 ppm ، فتبين صغر حجم الخصية وتحولها للشكل شبه الكروي تقريباً مع انتشار بقع نزفية وتجمع للمواد القيحية واحتقان البربخ. أما نتائج الفحص المظهري للكبد لمجموعة 15 ppm فقد لُحظ لون أحمر مائل الى الاسوداد مع وجود كتل شحمية على سطحه الخارجي. وفي مجموعة 25 ppm لُحظ ميل لون الكبد الى اللون البني غامق مع حواف مائلة للإصفرار وصغر حجمه مع وجود مواداً قيحيةً على السطح الخارجي. وتبين في مجموعة 35 ppm تضخم الكبد وظهوره بلون احمر قاتم وتنخر وتآكل في بعض مناطقه مع ظهور كتل دهنية بشكل واضح .

من جانب آخر أوضحت النتائج وجود تغييرات شكلية مظهرية على أجنة الافراخ المعاملة أمهاتها بمادة TiO_2NP_S في عمر 16 يوماً حضانة لمجموعة 25 ppm ، إذ لُحظ تأخر نمو منقار الفك العلوي، تقوس الأجنحة، مع تأخر تراجع كيس المح كذلك تلاصق الاطراف السفلية مع تلاصق الاصابع وانحنائها، أما عند المجموعة 35 ppm فلُحظ تسطح المنطقة الرأسية مع انسدال الاطراف العليا، انسدال الاطراف العليا وتلاصقها، تقوس الاطراف السفلى.

أما عند العمر 21 يوماً حضانة فلُحظ على الأجنة في مجموعة 25 ppm انحراف أحد الاطراف السفلى مع تقوسها، تسطح المنطقة الرأسية، مع تضخم تركيب العين بشكل واضح، كما لُحظ انعدام تكون العين، تقوس أحد الأجنحة، فضلاً عن تأخر تراجع كيس المح، مع تشوه أحد الاطراف السفلى وانحرافها وتقوس الأصابع، أما في أجنة مجموعة 35 ppm فوجد تأخر في انسحاب الكيس المحي داخل الجوف الجسمي، انحراف الاطراف العليا والسفلى، تسطح الدماغ، انعدام العين ، تأخر انسحاب كيس المح.

كما شملت نتائج الفحص النسجي ظهور تغييرات واضحة في أعضاء الطيور المعاملة عند عمر 25 يوماً، ففي الخصية أظهر الفحص النسجي لمجموعة 15 ppm ضموراً عاماً خفيفاً للخصيتين تاركاً فجوة بين الغلالة البيضاء والنبيبات المنوية نتيجة فقدان الخلايا المولدة وخلايا ليدك، وفي مجموعة 25 ppm تبين اختزال الظهارة المولدة وتنكس لخلايا الظهارة، تمزق، تآكل وتنخر للنسيج الظهاري، مع ارتشاح بؤري للخلايا الالتهابية، أما عند مجموعة 35 ppm لُحظ تآكل وتنكس فجوي لظهارة النبيبات المنوية، احتقان الاوعية الدموية واختزال الطبقات الظهارية للغشاء القاعدي.

أما في الكبد فبين الفحص النسجي لمجموعة 15 ppm وجود تنكس فجوي للخلايا الكبدية، أما عند مجموعة 25 ppm فلُحظ انسلاخ الغشاء الظهاري للأقنية الصفراوية مع فرط تنسج خلايا الظهارة وبينت مجموعة 35 ppm ارتشاحات بؤرية منتشرة في متن الكبد، مع فرط تنسج الخلايا الظهارية المبطنة للأقنية الصفراوية.

كما بينت نتائج الفحوصات النسجية لخصية الطيور بعمر 50 يوماً في مجموعة 15 ppm وجود احتقان للأوعية الدموية، ظهور مراحل تطور تكوين الحيوانات المنوية spermatogenesis، ظهرت النبيبات المنوية بحجم طبيعي، ظهور خلايا سرتولي غير منتظمة الشكل، تظهر نُبيبات المنوية تنخراً في الطبقات الظهارية المولدة، أما في مجموعة 25 ppm شوهد فصل الغلالة البيضاء عن نُبيبات المنوية، تفجي خلايا سيرتولي، وزيادة فاعلية تكوين الحيوانات المنوية، وإختزال خلايا ليدك مصحوباً باختزال النسيج الضام الخلالي، ضمور المحفظة، توسع نُبيبات المنوية، تنخر نُبيبات المنوية، بينما في مجموعة 35 ppm لُحظ التوسف الكامل للأنابيب المنوية مع فجوات واحتقان الأوعية الدموية، نقص تكوين الحيوانات المنوية، عدم انتظام الغلالة البيضاء واختزال محتويات النسيج الضام.

أما في الكبد عمر 50 يوماً فلُحظ في مجموعة 15 ppm فقدان الترتيب الطبيعي لنسيج الكبد، اما عند مجموعة 25 ppm فلُحظ وجود تثخن في جدار الأوعية الدموية المحيطة بالباحة البابيه مع ملاحظه بؤر التهابية في متن الكبد على شكل تجمعات لمفاوية، أما في مجموعة 35 ppm ظهور تنكس فجوي لخلايا ظهارة الأقنية الصفراوية وترسب الليفين داخل الجيبانيات تثخن الأوعية الدموية المركزية والأوعية الدموية حول الباحة البابية مع وجود تنخر تجلطي شديد ولُحظ ايضاً احتقان شديد للأوعية الدموية.

كما أشارت نتيجة تفاعلات RAPD- PCR إلى أن مادة TiO_2NP_S أحدثت تغييراً جزئياً في DNA خصية طائر السمان ، فكان هناك اختلاف واضح بين المجموعة الضابطة ومجموعة تركيز 35 ppm.

Summary

The current study aimed to know the behavioral changes of the quail, the rates of productive performance and the qualitative characteristics of the eggs, as well as the biochemical changes in the blood, the phenotypic pathological changes of the treated bird embryos, and the evaluation of the phenotypic and histopathological changes in the liver and testes of the quail Coturnix japonica updated with nanoscale titanium dioxide, TiO2NPS. Titanium Dioxide Nanoparticles with Molecular Diagnosis by RAPD-PCR Technology.

In the current experiment, 100 quail birds at the age of ten days were used, distributed randomly into four groups, each group of 25 birds, dosed orally with TiO2NPS for the three groups for a period of forty days by day of dose and the next without dose, the first group is the control group dosed with distilled water As for the three experimental groups, they are the treated groups with concentrations of 35, 25, and 15 ppm, respectively.

The current study showed behavioral changes in the birds of the experimental groups treated with different intensity according to the concentrations given, so the concentration was 35 ppm more affected than others concentrations, as it was represented by rapid movements, excessive activity, agitation with aggressive behavior, and the results on the weights of the birds showed an increase in weight found at Group 15 ppm, age 25 and 50 days, compared with the others groups. It was also found that the average weights of chicks were higher at the same concentration, with a significant difference from the two treated groups, 25.35 ppm, respectively. The highest mortality rate was also found in the 35 ppm group, which amounted to 46%. The results of weight changes for the organs of the testis and liver showed that the highest weight of the liver was in the 15 ppm group at ages 25 and 50 days compared to the others groups. In the testis, there were no significant differences in weights at ages 25 and 50 days, The productive traits of the 35 ppm group also showed a decrease in the number of eggs and a significant difference $p < 0.05$ when compared with the others groups. As for the productive traits of eggs, it was found that the weight of the egg and the weight of the white and yolk increased separately at the 15 ppm group.

The results of biochemical examinations at the age of 25 days showed a significant decrease ($P<0.05$) in the level of total cholesterol, triglycerides, high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and a significant increase in the level of thermogenic factor. At the age of 50 days, the results showed a significant increase in the level of total cholesterol, triglycerides, high-density lipoprotein, and thermogenic factor, and a decrease in the level of high-density lipoprotein was noted.

The results of the phenotypic examination of the testicles of the groups treated with TiO2NPS material at the age of 25 days before puberty showed phenotypic changes in the 15 ppm group, which appeared in a yellowish color with a bloody mass in one side of the testis. As for the group of 25 ppm, it was noticed that it was elongated, pale in color, and weak in the number and color of blood vessels on its outer surface. As for the concentration of 35 ppm, testicular congestion was noted, and it appeared in a reddish color with severe hemorrhage, collection of purulent materials and hemorrhagic spots. The phenotypic examination of the liver of the 15 ppm group showed a reddish-yellow color and a relatively soft texture, while the 25 ppm group showed a change in the external appearance of the liver, its congestion with its enlargement, the presence of erosion of the edges of the liver, and the inconsistency of the sizes of the lobes. It was also noted in the 35 ppm group that the liver was pale with a soft texture, the spread of purulent material on its surface, and the presence of a black spot in one of the lobes.

In the birds of 50 days of age after sexual puberty, the phenotypic examination of the testis of the 15 ppm group showed its small size and the appearance of a semi-spherical shape with a large congestion in the blood vessels, while in the 25 ppm group it was noted that the size of the testicle was enlarged and congested with bleeding in the epididymis, while in the group of 35 ppm, the small size of the testicle and its transformation into a semi-spherical shape, with the spread of hemorrhagic spots, collection of purulent material, and congestion of the epididymis. As for the results of the phenotypic examination of the liver for the 15 ppm group, a red-black color was noted with the presence of fatty masses on its outer surface. In the group of 25 ppm, the color of the liver tended to be dark brown with yellowish edges, and its small size,

with the presence of pus material on the outer surface. And it was found in the 35 ppm group that the liver was enlarged and appeared in a dark red color, necrosis and erosion in some of its areas, with the appearance of clear fatty masses.

On the other hand, the results showed that there were morphological changes in the embryos of chicks treated with TiO2NPS at the age of 16 days of incubation for the 25 ppm group, as it was noted that the growth of the beak of the upper jaw was delayed, the wings curved, with the delay in the retraction of the yolk sac, as well as the adhesion of the lower limbs with the contact and bending of the fingers. At the 35 ppm group, it was noted that the vertical region was flattened, with the upper limbs retracted, the upper extremities retracted and sticky, and the lower extremities bowed.

As for the age of 21 days of incubation, it was observed on the embryos in the 25 ppm group, a deviation of one of the lower limbs with its curvature, the flatness of the vertical region, with an enlargement of the eye structure clearly, as well as the absence of the formation of the eye, the curvature of one of the wings, in addition to the delay in the retraction of the yolk sac, with deformation One of the lower limbs and its deviation and curvature of the fingers, while in the fetuses of the 35 ppm group, a delay in withdrawal of the yolk sac inside the body cavity, deviation of the upper and lower limbs, flattening of the brain, lack of eyes, and delay in withdrawal of the yolk sac were found.

The results of the histological examination also included the emergence of clear changes in the organs of the treated birds at the age of 25 days. In the testis, the histological examination of the 15 ppm group showed mild general atrophy of the testicles, leaving a gap between the tunica albuginea and the seminiferous tubules as a result of the loss of mesenchymal cells and Leydeck cells, and in the 25 ppm group, a reduction of the epithelium was found. meristematic and degeneration of epithelial cells, rupture, erosion and necrosis of the epithelial tissue, with focal infiltration of inflammatory cells, while at the 35 ppm group, vacuolar erosion and degeneration of the epithelium of the seminiferous tubules, congestion of blood vessels and reduction of the epithelial layers of the basement membrane were noted.

In the liver, the histological examination of the 15 ppm group showed the presence of vacuolar degeneration of the hepatocytes, while the 25 ppm group showed epithelial sloughing of the bile ducts with hyperplasia of the epithelial cells, and the 35 ppm group showed diffuse focal infiltrates in the parenchyma of the liver, with hyperplasia of the epithelial cells lining the bile ducts.

The results of histological examinations of the testicles of 50-day-old birds in the 15 ppm group also showed the presence of congestion of blood vessels, the appearance of stages of spermatogenesis development, the seminal tubules of normal size, the appearance of irregularly shaped Sertoli cells, the seminal tubules showing necrosis in the generative epithelial layers.

In the 25 ppm group, separation of the tunica albuginea from the seminiferous tubules, Sertoli cells vacuolation, increased spermatogenesis activity, Leydeck cell reduction accompanied by interstitial connective tissue reduction, capsular atrophy, dilatation of the seminiferous tubules, and necrosis of the seminiferous tubules, while in the 35 ppm group, desquamation was observed. Complete seminiferous tubules with vacuoles and vascular congestion, decreased spermatogenesis, irregular tunica albuginea and reduction of connective tissue contents.

As for the liver at the age of 50 days, it was noted in the ppm 15 group the loss of the normal arrangement of the liver tissue, while in the ppm 25 group a thickening of the wall of the blood vessels surrounding the portal area was noted with the observation of inflammatory foci in the parenchyma of the liver in the form of lymphatic aggregations, while in the ppm 35 group the appearance of Vacuolar degeneration of the biliary ductal epithelium cells and fibrin deposition within the sinusoids. Thickening of the central blood vessels and periportal vasculature with severe coagulative necrosis and severe congestion of blood vessels.

As the result of RAPD-PCR reactions indicated that TiO2NPS caused a partial change in the DNA of quail testis, there was a clear difference between the control group and the 35 ppm concentration group.

University of Mosul

College of Education for Girls
Department of Biology

The Role of Titanium Dioxide in Causing Phenotypic and Histological and Molecular Changes in Quail

Coturnix Coturnix japonica

Zainab Nori Mahdi Abdullah Al-jomaily

Master Thesis of Science

in Biology

Supervised by

Lecturer

Dr. Rayya Ghalib Saadallah Al-Sultan

1444 A.H. 2022 A.D.