دراسة علاقة نوع الترانسفرين مع المقاومة لمرض ميرك في فروج الدجاج المحلي .

شكر محمود ياسين*

*مدرس - فرع الصحة العامة - كلية الطب البيطري - جامعة ديالى / جمهورية العراق .Shukr_ Ald @yahoo.com

المستخلص

أجريت الدراسة لتحديد أنواع الترانسفرين في دم الدجاج المحلي وعلاقتها مع مرض ميرك من خلال قياس عدة معايير أسبوعيا وهي وزن الجسم بالغرام ومعدل الآفة العيانية ونسب الهلاك. استخدم في هذه التجربة 120 فرخ دجاج محلي تمت تربيتها على الفرشة من عمر يوم واحد إلى نهاية التجربة 28 أسبوع. أخذت نماذج الدم من القلب مباشرة للأفراخ عند عمر 12 أسبوع وتم عزل مصل الدم من النماذج وحدد نوع الترانسفرين بطريقة الهجرة الكهربائية على الهلام حيث وجدت ثلاثة أنواع منه بعدد وهي نوع A= 48 ونوع AB = 32 ونوع B = 40 ، قسمت الأفراخ لكل نوع عشوائيا إلى مجموعتين ، الأولى مجموعة سيطرة والثانية مجموعة معاملة وبعدد 15 لكل نوع ، وجرعت مجاميع المعاملة بعمر 14 أسبوعا بمحلول محضر مسبقا لفايروس المرض (MDVs) ، وبعد 4 أسابيع من الإصابة التجريبية لوحظت الأعراض السريرية والتغييرات المرضية . أوضحت النتائج وجود فروق معنوية ($P< 0.05$) لمعدلات وزن الجسم ومعدل الآفة العيانية ونسبة الهلاك بين مجموعة السيطرة ومجموعات المعاملة في أنواعها الثلاثة ، وهناك فروق معنوية ($P< 0.05$) بين نوع A مع نوع AB وB ، أظهرت الدراسة أن هناك اختلاف بالمقاومة ضد مرض ميرك بالنسبة لأنواع الترانسفرين الثلاثة وان نوع A المتجانس هو أفضل الأنواع عند مقارنته من ناحية انتخابه ومقاومته للمرض في الأفراخ التي تحمله في دمها .

الكلمات المفتاحية :أفراخ الدجاج المحلي، أنواع الترانسفيرين، الهجرة الكهربائية على الجل، مرض ميرك.

المقدمة

إن مرض ميرك يعتبر من أهم الأمراض الفايروسية والعصبية التي تصيب الدواجن حيث يصيب الأعمار المحصورة مابين 12-25 أسبوع وسببه فايروس من مجموعة الهربيس ، يتميز المرض بإصابته الجهاز العصبي المحيطي مسببا تضخم العصب ألوركي والشلل وتدلي الأجنحة وفقدان المناعة والعمى والهلاك لأغلب الحالات ، كما يصيب المرض الجلد و بويصلات الريش والعضلات والكبد والكلى والطحال والرئتين والمعدة الغدية ويسبب التهاب المفاصل وهزال الأفراخ (AL-Sheikhly ، ٢٠٠٣ ؛ Butcher و Mather ،2003) . استخدمت طريقة الانتخاب والعوامل الوراثية والتي تعتبر من الطرق المهمة للمقاومة الوراثية للسيطرة على المرض (Rashid، 1981 ؛ Hartmann ، 1985) . وهناك اختلافات بين سلالات الدجاج من ناحية المقاومة الوراثية وقابلية الإصابة بالمرض عند مقارنة مجاميع ملقحة وأخرى غير ملقحة حيث إن اللقاح يقلل فرصة الإصابة بالمرض ولا يقضي عليه بصورة كاملة (Spencer وآخرون، 1974) . وجد Rashid (1982) بان هناك علاقة ما بين نوع الترانسفرين ووزن الجسم ووزن البيضة وعمر النضج الجنسي في دجاج سسكس الخفيف حيث تحتوي على ثلاثة أنواع من الترانسفرين وهي AوABوB وان تأثير نوع B يكون اكبر من نوع A من ناحية صفة وزن الجسم وبجميع الأعمار ولا تأثير يذكر للترانسفرين على صفة وزن البيضة وعمر النضج الجنسي . وأوضحت الدراسات التي قام بها Wenn و Williams (1970) أن هناك ثلاثة أنواع من الترانسفرين في مصل دم الدجاج هي نوعان متجانسين A وB وآخر غير متجانس هو AB وان نوع A

تاريخ استلام البحث ٢٤ / ١٢ / ٢٠١٢ .

تاريخ قبول النشر ٨ / ٧ / ٢٠١٣ .

أسرع من B في جهاز الهجرة الكهربائية على الهلام . وكذلك نفس النتائج حصل عليها Nafei وآخرون (1984) في دجاج الفيومي وان هذه الأنواع الثلاثة يسيطر عليها بواسطة زوج من الاليلات الجسمية . ووجد Rashid (١٩٨١) ؛ Williams وآخرون (1985) ؛ Connor (1994) ؛ Baker و Fine (2004) وان أنواع AوB يحتويان على نهاية نتروجينية تحتوي على ثلاث حزم (واحدة رئيسية بالوسط وأخرى بالأعلى والأسفل) ونهاية كربونية تحتوي نفس التركيب للنهاية النتروجينية لكن حركة النهاية الكربونية أسرع من الأولى وان نوع A يكون أسرع من نوع B. أكد De Jong وآخرون (١٩٩٠) ؛ Giansanti وآخرون (2007) أن دم اللبائن يحتوي على بروتين الترانسفرين واللاكتوفيرين وان الطيور تمتلك على الافوترانسفرين الذي يلعب دور كبير في الوظائف الفسلجية فيها مثل نقل الحديد بالجسم ومضاد لفعل البكتريا والفايروسات منها فايروس مرض ميرك من خلال تقوية الاستجابة المناعية للطير ضد الفايروس . إن الفعالية العالية للاكتوفيرين والافوترانسفرين بالجسم ضد البكتريا والفايروسات تأتي من خلال ارتباط الحديد والبروتين بالدم وارتباطه بمناعة الطائر للوقاية من الإصابات والالتهابات الحاصلة بالجسم (Xie وآخرون ، 2002a ؛ Giansanti وآخرون ، 2007 ؛ Rath وآخرون ، 2009) . وأظهرت الدراسات بان الترانسفرين له وظيفة كبرى خاصة عند حصول التهابات في نسيج أو عضو بالجسم وهجرته وتجهيزه إلى المناطق الملتهبة في جسم الدجاج (Tohjoوآخرون ، 1995 ؛ Xie وآخرون ، 2002b) .تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على أنواع الترانسفرين في الدجاج المحلي بالعراق وعلاقتها مع المقاومة ضد مرض ميرك من خلال قياس عدة معايير منها وزن الجسم ومعدل الآفة العيانية ونسب الهلاك من المرض .

المواد وطرائق البحث

استخدمت في هذه الدراسة 120 فرخ دجاج محلي تم الحصول عليها من بيض مخصب لدجاج محلي تم تفقيسه في مفقس أهلي ، ربيت الأفراخ على الفرشة من عمر يوم واحد ولحين انتهاء فترة التجربة 28 أسبوع . تم إجراء قياس الصفات وهي وزن الجسم بالغرام ومعدل الآفة العيانية ونسب الهلاك . أخذت نماذج الدم من القلب مباشرة لجميع الأفراخ عند عمر 12 أسبوع ووضعت في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة وغير حاوية على مادة مانعة للتخثر ، نقلت بعدها إلى الحاضنة بدرجة حرارة 37 مه لمدة ساعة واحدة ثم نقلت إلى الثلاجة لمدة 24 ساعة ، ثم أخذت النماذج إلى جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 20 دقيقة ليتم عزل مصل الدم ، وباستخدام جهاز (Multiphore Bromma N; 2117 LKB) حددت نوعية الترانسفرين بطريقة الهجرة الكهربائية على الهلام المناسبة لأخذ 20 عينة ، علما انه تم تحضير الملطفات والمثبتات والصبغات ومزيل الصبغات بشكل قياسي وهي ملطف التريس كلايسين ومحاليل الاكريلمايد والهلام وبيرسلفات الصوديوم ومحاليل التثبيت والصبغة وإزالة الصبغة (Williams ، 1975)وضعت قطرة واحدة من كل عينة دم في المكان المخصص لها على الهلام في الجهاز ووضعت النقطة الدالة من صبغة بروم فينول الزرقاء معها واستخدم تيار كهربائي مستمر 500 فولت ، بعدها رفعت العينات بعد 2 ساعة ثم وضعت في محلول التثبيت لمدة نصف ساعة ثم في محلول الصبغة لمدة ساعة واحدة ثم حوض إزالة الصبغة لمدة 3 ساعة إلى أن ظهر شكل الحزم المنفصلة للترانسفرين وحدد عددها وسرعتها حيث لوحظت حزمة رئيسية غامقة اللون وحزمتان ثانويتان للأعلى والأسفل ذات لون باهت وكان نوع A هو الأسرع من الأنواع الأخرى.

قسمت الأفراخ لكل نوع من الترانسفرين عشوائيا إلى مجموعتين ، الأولى مجموعة سيطرة والثانية مجموعة معاملة وبعدد 15 فرخ لكل نوع في المجموعة ، جرعت مجموعة المعاملة بعمر 14 أسبوع بمحلول محضر مسبقا بالفم ومحفوظ بالتجميد بدرجة حرارة - 20 مئوية لفايروس مرض ميرك الضاري (MDVs) تم تحضيره عن طريق اخذ 10غم من أعضاء الطيور المصابة منها الكبد والكلى والطحال والمعدة والقلب وتم سحقها مع إضافة 90مل من المحلول الفسلجي الطبيعي وعزل المحلول الرائق بواسطة جهاز الطرد المركزي وإجراء عملية الترشيح والحفظ بالتجميد تحت درجة - 20 مئوية لحين

استعماله ، جرعت الأفراخ منه بمعدل 0.5 مل لكل طير ولوحظت الأعراض المرضية الشائعة للمرض بعد أربعة أسابيع من الإصابة التجريبية وتم تشريح الحالات الهالكة، كذلك تمت عملية وزن الجسم أسبوعيا للأفراخ واستخرج معدل الأوزان(Flecher ، 1971) وتم أيضا حساب معدل الآفة العيانية من خلال تسجيل الأعراض السريرية وتشريح الأفراخ الهالكة وملاحظة التغيرات المرضية كما تم حساب نسب الهلاك عن طريق حساب عدد الطيور النافقة يوميا (ALSheikhly ، 2003). أجريت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) وتم اختبار معنوية الفروق بين المتوسطات وفق اختبار اقل فرق معنوي L.S.D عند مستوى احتمال 0.05 .

النتائج والمناقشة

لقد أوضحت النتائج من خلال تحليل نماذج مصل الدم للأفراخ بان هناك ثلاثة أنواع من الترانسفرين (اثنان متجانسة وهي نوع A وB وآخر غير متجانس AB وهذه متفقة مع Wenn و Williams (١٩٧٠) ؛ Tohjo وآخرون (1995) . إن عدد الأنواع كانت كآلاتي : نوع A = 48 ونوع AB = 32 ونوع B = 40 وان نوع A هو السائد وانه أسرع من نوع B ، ويتكون من ثلاث حزم ، واحدة رئيسية غامقة اللون والأخريات بسيطة باهتة من الأعلى والأسفل وهذه متفقة مع ما وجده Williams (1975) ؛ Rashid (1981) ؛ Rashid (1982) وغير متفقة مع Nafei وآخرون (1984) و فيما يخص نوع B هو السائد على الأنواع الأخرى .وبينت الدراسة لمعرفة علاقة أنواع الترانسفرين لدم الأفراخ المحلية مع مرض ميرك من خلال قياس عدة معايير ومقارنتها بين المجاميع وبين الأنواع المختلفة للترانسفرين وهي نوع A ونوع AB ونوع B حيث وجد عند مقارنة معدلات الأوزان لمجموعة السيطرة 63.931 ±1098.27غم و 65.174 ±1019.93غم و ± 1084.87 63.655غم على التوالي ومجموعة المعاملة 46.102 ± 1002.0غم و 40.203 ± 983.2غم و 40.109 ± 933.40غم على التوالي (جدول 1) بان هناك فروق معنوية (P< 0.05) بين المجاميع ، وهناك فروق معنوية عند نفس المستوى أعلاه بين أنواع مجموعة المعاملة وهي نوع A مع أنواع AB وB و لم يلاحظ وجود فروق معنوية لنوع B مع AB وهذا يدل على أن نوع A هو السائد وله تأثير أكثر من الأنواع الأخرى وهو المقاوم للمرض من خلال الحفاظ على وزن الجسم وهذه النتيجة لا تتفق مع Rashid (1982) فيما يخص تأثير نوع الترانسفرين على وزن الجسم حيث أن نوع B يؤثر أكثر من نوع A .

جدول 1 . المعدلات ± الخطأ القياسي لأوزان الجسم والآفة العيانية ونسبة الهلاك بين الأنواع المختلفة

	مجموعة السيطرة			مجموعة المعاملة			
	نوع A	نوع AB	نوع B	نوع A	نوع AB	نوع B	L.S.D 0.05
وزن الجسم (غم)	1098.77± 63.93	1019.93± 65.174	1084.87± 63.655	1002.0± 46.104	983.2± 40.203	933.40± 40.109	43.22
معدل الآفة العياني	00±00	00±00	00±00	3.62±1.058	4.65±10.388	5.83±1.782	2.60
نسبة الهلاك	00±00	00±00	00±00	2.59±0.98	3.76±1.63	3.79±1.58	2.43

وعند مقارنة معدلات الأوزان للأنواع الثلاثة ولكافة المجاميع (جدول 2) وجد هناك فروق معنوية عند نفس المستوى أعلاه لأنواع A مع AB لكن لا توجد أي فروق معنوية مابين نوع B مع A وAB . وعند مقارنة معدلات الأوزان لمجموع الأنواع مابين مجموعة السيطرة ومجموعة المعاملة (جدول 3) لوحظ هناك فروق معنوية بين المجموعتين.

جدول 2 . المعدلات ± الخطأ القياسي لأوزان الجسم ومعدل الآفة العيانية ونسبة الهلاك .

المعايير	A	AB	B	L.S.D 0.05
وزن الجسم /غم	1050.13±39.77	1003.55±37.69	1008.11±39.56	43.22
الآفة العيانية	1.81±0.61	2.31±0.81	2.89 ±1.03	1.81
نسبة الهلاك	1.28 ±0.64	1.89 ± 0.91	1.87 ± 0.95	1.72

إن ظهور الآفات العيانية من أعراض سريريه وتغيرات مرضية بعد الأسبوع الرابع من الإصابة التجريبية لمجموعة المعاملة جاءت متطابقة مع Spencer وآخرون (1974) ؛ AL- Hartmann (1985) ؛ Sheikhly (2003) ؛ Francesco وآخرون (2005) وأهمها خمول الأفراخ وفقدان الشهية ونفش الريش وتدلي الأجنحة والعرج والضعف العام ومد الأرجل للإمام والخلف وإعراض الشلل والعمى والهلاك لأغلب الحالات ، وعند تشريح الحالات النافقة لوحظت إصابات الجلد والريش وضمور العضلات والتهاب وتضخم العصب الوركي والعضدي في الجناح ، وعند مقارنة معدلاتها إحصائيا سجلت فروق معنوية ($P<0.05$) بين أنواع مجموعة السيطرة مع أنواع مجموعة المعاملة (جدول 1) ويعزى سبب الاختلاف إلى تأثير المرض على أنواع المجموعة المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة .ولا توجد أي فروق معنوية مابين الأنواع معا لمجموعة السيطرة والمعاملة وكذلك مابين الأنواع الثلاثة بالمجاميع (جدول 2 و3) . سجلت نسب الهلاك للأفراخ حيث كان هناك فروق معنوية عند مستوى $P<$ 0.05 بين أنواع السيطرة وأنواع المعاملة (جدول 1) ويعزى سبب الاختلاف بينهما نتيجة تعرض أنواع المجموعة المعاملة إلى المرض وبالتالي سجل نسبة عالية من الهلاك خاصة لنوع B وAB مقارنة بنوع A وهذه النتيجة تتفق مع Hartmann (1985) فيما يخص علاقة التأثير الوراثي على مرض ميرك من خلال مقارنة معايير الآفة العيانية ونسب الهلاك ، ولم تسجل أي فروق معنوية ما بين الأنواع الثلاثة للمجاميع معا ومابين الأنواع معا لمجموعة السيطرة مع مجموعة المعاملة (جدول 2 و3).ونستنتج من النتائج أعلاه بان نوع A المتجانس كان أفضل من الأنواع الأخرى الغير متجانسة AB و المتجانسB وبالتالي يمكن انتخابه لمقاومة الأفراخ التي تحمله في دمها للمرض مقارنة بالأنواع الأخرى.

جدول 3. المعدلات ± الخطأ القياسي للمعايير المختلفة بين المجموعتين .

المعايير	مجموعة السيطرة	مجموعة المعاملة	L.S.D 0.05
وزن الجسم / غم	1066.89 ± 36.56	972.86 ± 24. 21	24.97
الآفة العيانية	0.0±0.0	4.69 ± 0.82	1.49
نسبة الهلاك	0.0±0.0	3.38 ± 0.81	1.39

المصادر

AL -Sheikhly, F. 2003 . Viral disease in poultry . Avian Diseases ,2nd Editor, Baghdad-_Iraq. PP: 411- 430 .

Baker, E.N. 1994 . Structure and reactivity of transferrins. *Advances in Inorganic Chemistry*, 41 PP: 389–463.

Butcher, G. D. and F. B. Mather. 2003 . Mareks Disease from Wikipedia , the free encyclopedia *institute of food and Agricultural sciences* , university of Florida, *Gainesville* . vol : 82 No: 9 pp: 1228-1290.

Connor, J.R. and R. E. Fine. 2004 . Development of Transferrin – positive oligodendrocytes in the rat central nerves system . *J. Neuro. Science Research* V : 17 pp: 51- 59.

De Jong, G. ; van Dijk,J.P and H.G. van Eijk. 1990 . Critical review: The biology of transferrin. *Clin. Chim. Acta* . 190: 41 -46.

Flecher, O.J.Jr. 1971 . lmmunoquantition of Transferrin in chicken with lymphoid tumors . *Am.J.Vet.Res*.32: 1121 – 1123.

Francesco , G. , Teresa, M. , Giardi, M.F., Fabrizio , N. , EmyPulsinelli, Claudio, N. , Dario,B. and A. , Giovanni. 2005. Antiviral activity of ovotransferrin derived peptides . *Biochem and Biophysiol* . Research Communication. V: 331 lssue : 1 pp: 69-73.

Giansanti , F., Giardi , M. , Massucci,Mt., Botti, D. and G, Anatonini. 2007. Ovotransferrin expression and release by chicken cell lines lnfected with Mereks Disease virus . *Biochem* . *Cell Biology* . 85 (1) ; 150 – 155.

Hartmann, W . 1985. The effect of selection and genetic factors on resistance to diseases in fowls . *Areview World Poultry Sci. J*. 41 ; 20 -34.

H. Xie , Huff, G. R. , Huff , W . E. , Balog , J. M. , Holt, P. and N. C. Rath. 2002. identification of ovotransferrin as an Acute phase protein in chickens. *Poultry Sci.* 81 ; 112 – 120.

H. Xie , Newbery , L. , Clark, F. D. , Huff, W.E. , Huff, G.R. ,Balog, J.M. and N.C.Rath. 2002. changes in serum ovotransferrin Levels in chicken with experimentally induced inflammation and disease . *Avian Dis*. V: 46 lssue : 1 pp: 122 – 131.

Nafei, H. A. , Saad, F.and H. M. Ahmed. 1984 . Genetic polymorphism in Egyptian livestock. Genetic variation in blood serum transferrin albumin and ceruloplasmin and loci in Egyptian Fayommi Fowls. *Egypt. J. of Genetic and cytology.* 13: 101 – 107.

Rashid , A. M. 1981. The location of structural differences between ovotransferrin types A and B in hens . *Animal Blood Groups and Bioch. Genet*. 12: 241 – 248.

Rashid , A. M. 1982. ovotransferrin (canalbumin) polymorphisem and economic characters in the domestic fowl . *British poult.Sci.* 23 : 539 – 540

Rath ,N.C. , Anthony,N.B. , Kannan, L. , Huff,W.E. , Huff,G.R. , Chapman,H.D., Erf,G.F.and P.Wakenell. 2009. Serum ovotransferrin as a biomarker of diseases in chickens, *Poult. Sci*. 88 PP: 2069–2074.

Spencer, J. , Gaora, L.S. , Grander, A.A. , Robertsor and A. Speckmannel. 1974. immunization against Mareks disease lnfluence of strain of chicken . *Avian Disease* 18 : 33 – 51.

Tohjo, H. , Miyoshi , F. , M, Syuto , B. Moritsu. and M. Takeuchi. 1995. polyacrylamide gel electrophoresis patterns of chicken serum in acute inflammation lnduced by intramuscular injection of turpentine. *Poult.Sci*. : 74 (4) : 648 – 655.

Wenn, R.V. and J. Williams. 1970 . Radioactive peptide maps of the major and minor components of hens egg ovotransferrin. *Biochem.J*.116 : 533 – 535.

Williams, J. 1975. Iron – binding fragments from the carboxyl terminal region of hen ovotransferrin . *Biochem. J.* 149: 235 – 244.

Williams,J. ,K. Moreton . and A.D. Goodearl. 1985 . Selective reduction of a disulphide bridgein hen ovotransferrin, *Biochem. J.* 228 (3) PP: 661–665.

STUDY OF RELATIONSHIPS OF THE TRANSFERRIN TYPE TO RESISTANCE AGAINST MAREKS DISEASE IN NATIVE CHICKEN.

Shukur Mahmood Yaseen*

*Public Health- College Of Veterinary Medicine - Univ. of Diyala -Republic of Iraq.

ABSTRACT

This study was conducted to identify transferrin types in blood native chicken and relationships to Mareks' disease by measuring many parameters weekly such as Body weight , Lesion signs and Mortality rate .in this study was carried out on 120 chick one day old which reared on a litter until the end of experiment 28 wks'.in the 12 wks'old, blood samples have taken directly from heart and blood serum was isolated . Transferrin types were isolated by gel electrophoresis technique , three types of transferrin were identified and value A= 48 , AB= 32 , B=40 . The chicks were divided in such type as random to two groups , First is control and the second is Treated , and divide into subgroups 15 chicks . The treated subgroups were infected with the Mareks' disease virus (MDVs) suspension at 14 wks' of age . The usual clinical signs and the postmortem signs which associated with Mareks' disease were noticed 4wks' after the artificial infection . The results explained that , there were

significant differences at Level P< 0.05 of the mean of body weight , Lesion signs and Mortality rate between control and treated groups , there was also significant differences in means at the same Level in treated subgroups especially type A with AB, B. This study was explained that a different in resistance against Mareks' disease between types of Transferrin, but (Homozygosity) type A gave the best result' when compared with another types of Transferrin in case of selection and resistance against disease in native chicken.

Key words: Native Chicks, Transferrin Types, Gel Electrophoresis, Mareks Disease ,Resistant.