استخوانی و زیانهای اقتصادی قابل ملاحظه‌ای می شود.

عامل بیماری، مایکوپلاسماملە اگریدیس است که شدت بیماری‌زائی آن متغیر است. در جوجه بوقلمونها عامل بیماری به کلوآك و بورس فابرسیوس و در بوقلمونهای بالغ به آلت تناسلی بوقلمونهای نر و مجاری تخمدان ماده تمایل بیشتری دارد. و به همین علت در برابر آنتی بیوتیك‌ها مقاوم است.

عفونت جانبی از پرنده‌ای به پرنده دیگر بوسیله ذرات آلوده هوای تنفسی انتشار یافته و در اثر تراکم زیاد و شرایط بد بهداشتی جایگاه و ماشین جوجه‌کشی وخیم‌تر می شود.

جفت‌گیری طبیعی، تلقیح مصنوعی و تخم‌مرغهای غیرمعمولی می تواند باعث انتشار بیماری گردد.

سن، وضعیت ایمنی، توأم شدن بیماری با سایر بیماریها خصوصاً E.Coli، گرد و غبار محیطی، آمونیاك و درجه حرارت، شدت بیماری را تحت تأثیر قرار می دهد. عفونت ممکن است در تمام طول پرورش طیور روی دهد.

علائم درمانگاهی:

کاهش میزان رشد، علائم بیماری تنفسی (سینوزیت)، بدشکلی پا به میزان ۱۰٪ (Perosis)، انحراف گردن، غیرطبیعی شدن پرهای اولیه بال، تورم کیسه‌های جناغی (Sternal Bursae) و ضایعات مفصلی از علائم این بیماری است.

بوقلمونهای بالغ ممکن است از نظر درمانگاهی سالم باشند ولی کاهش جوجه‌درآوری و افزایش مرگ و میر جوجه‌های آنها نشانگر وجود بیماری است. ضخیم‌شدن دیواره کیسه‌های هوائی و وجود ترشح در آنها و ریه‌ها ممکن است در بوقلمون‌های زیر ۱۴ هفته سن مشاهده شود.

ناهنجاریهای اسکلتی بر روی استخوانهای درشت نی و قلم‌پاها تأثیر گذاشته ممکن است منجر به کوتاهتر و ضخیم‌ترشدن آنها نسبت به فرم طبیعی شود. گاهی آسیت همراه با ترشح در مفاصل نیز دیده شده است.

تشخیص:

همانند دیگر بیماریهای مایکوپلاسمائی علائم درمانگاهی و آسیب‌شناسی مبیّن وجود بیماری است ولی به‌منظور تشخیص دقیق لازم است عامل بیماری جدا و شناسایی گردد.

آزمایشهای SA و HI بمنظور بررسی پادتن‌های مایکوپلاسماملە آگریدیس لازم است. متأسفانه آزمایشات سرولوژیکی مخصوصاً در بوقلمون‌های بالغ زیاد قابل اعتماد نمی باشد.

کنترل بیماری:

برای این بیماری هیچ نوع واکسنی وجود ندارد. برای درمان می توان از آنتی بیوتیك‌هائی که برای درمان مایکوپلاسماگالی سپتیکوم مورد مصرف دارد، استفاده نمود ولی این مطلب باید در مد نظر باشد که سویه‌های مایکوپلاسماملە آگریدیس بسیار مقاوم هستند. برنامه کنترل بیماری شبیه کنترل سایر مایکوپلاسماهاست. ☆

توسعه انتقال ژن در دامهای اهلی

مترجم: مهندس فرهاد میرزائی

منبع: Pro Veterinario 2/1988

امروزه اصلاح‌نژاد مدرن دامهای اهلی با ابداع و بکارگیری تکنیك‌های جدیدی توأم شده است. تلقیح مصنوعی و، تا حد زیادی، انتقال جنین فاکتورهای پذیرفته شده‌ای در برنامه‌های اصلاح‌نژادی مدرن به حساب آمده و برای صنعت دامپروری، غیرقابل اجتناب می باشند. در اصلاح‌نژاد روتین، از تنوع ژنتیکی قابل دسترس استفاده شده و بدین‌وسیله برنامه‌های مؤثر اصلاح‌نژادی براساس قوانین توارثی مندل توسعه یافته و منجر به بهبود قابل ملاحظهٔ راندمان دامها گردیده است.

انتقال ژن، روش جدیدی برای اصلاح‌نژاد است که باتمام توان درحال رشد و گسترش است. واژه انتقال ژن تعریفی برای انتقال انفرادی ژنهاست که طی آن ژنهای ایزوله‌شده‌ای که «خاصیت و صفت» مطلوبی را کُد می کنند، بداخل یك جمعیت وارد می نمایند. همچنین برای اولین بار، انتقال اطلاعات ژنتیکی از گونه‌ای به‌گونهٔ دیگر نیز توسط این روش عملی شده است. قبل از اقدام به انتقال ژن‌ها، شرایط مختلفی باید مهیا شود، که مهمترین آن جداسازی و Cloning ژنهای مورد نظر است. چنین ژنهائی قبل از اینکه بتوانند اثر مطلوبی روی دام داشته باشند، باید به عناصر تنظیم‌کنندهٔ ساختمان ژنی متصّل شوند. روشهای مورد نیاز برای اینگونه دستکاریهای ژنی در زمینهٔ بیولوژی مولکولی در سالهای ۱۹۷۰ ابداع گردید. در مورد دامهای اهلی، باید کارهای بسیار زیادی برای Cloning ژنها و عناصر تنظیم‌کننده صورت گیرد. برای توضیح نحوهٔ انتقال ژن، داشتن اطلاعاتی در مورد بیولوژی ضروری است. ساختمان موجودات زنده براساس DNA استوار است که در پستانداران عالی حاوی حدود ۳ بیلیون جفت «باز» است. تنها حدود ۵-۳ درصد ازکل DNA، تشکیل ۱۰۰۰۰۰ ژنی را می دهند که «ژنوم» پستانداران را بوجود می آورند. این مجموعه از اطلاعات ژنتیکی در هستهٔ هر کدام از ۶۰ بیلیون سلول بدن وجود دارد.

اگر طول بدن یك خوك را ۱۰۰۰ کیلومتر فرض کنیم، که در این صورت قطر هر سلول به حدود ۱۰ متر خواهد رسید. DNA پیچیده شده در اطراف هسته چنین سلولی مشابه نخی خواهد بود که فقط ۳ میلی‌متر ضخامت داشته ولی طول آن ۱۵۰۰ کیلومتر است!

درحال حاضر، امیدوارکننده‌ترین راه انتقال ژن در دامهای اهلی، تزریق میکروسکوپی (Micro – injection) فرآوردهٔ DNA است. اگر ژنهای انتقال شده باید در همه سلولهای بدن وارد شده و از همان طریق بطور موروثی وارد فرزندان شود، تزریق میکروسکوپیك باید هرچه زودتر بر روی جنین درحال تکامل دام انجام شود تا مواد تزریقی وارد «ماده توارثی» بشود. بهترین مرحله، تخمك لقاح یافته است چون در این مرحله، جنین بیش از یك سلول ندارد. انتقال ژن به داخل پرونوکلئوس یك تخمك بارو از طریق Micro-injection با تحقیقاتی روی موش شروع شد. بدنبال آن، خرگوش، گوسفند، خوك و گاوهای ترانس ژنیك نیز تولید شدند (حیواناتی که از طریق انتقال ژن بوجود آمده بودند). در این قسمت روش استفاده شده برای خوك اجمالاً توضیح داده میشود.

مرحله اول بدست آوردن جنین‌هاست. برای افزایش تولید جنین‌ها، دامهای «دهنده» (donor) را تحت سوپر اوولاسیون قرار می‌دهند. یك روز پس از تلقیح، جنین‌ها از طریق شستشوی لوله تخم‌بر (oviduct) جمع‌آوری می‌شوند. یك میکروسکوپ برای شناسائی تخمك‌ها در مایع شستشو بکار برده می‌شود تا مناسب بودن آنها برای تزریق میکروسکوپیك تعیین گردد. انتقال فرآورده ژنی با تزریق آن بداخل پرونوکلئوس زیگوت (تخمك لقاح شده) صورت می‌پذیرد.

مسئله‌ای که در دامهای فارمی دیده میشود (برخلاف حیوانات آزمایشگاهی) اینست که تشخیص ساختمانهای هسته در دامهای فارم مشکل است. سیتوپلاسم تخمك بسیار تیره بوده و حاوی گرانولها و نقاط کوری در پرونوکلئوس است. درحالیکه، کشف شده است که سانتریفوژکردن زیگوت‌ها محتویات سیتوپلاسمی را می‌تواند بنحوی جابجا کند که پرونوکلئوس را بتوان با روشهای ویژه میکروسکوپی مشاهده نمود. Micro-injection نیازمند میکروسکوپی با بزرگ‌نمائی ۴۰۰، دو manipulator برای وارد کردن ابزار میکروسکوپی بداخل سلول و یك سیستم تزریق است. تخمك سانتریفوژ شده‌درقطره کوچکی از محیط کشت (medium) زیر میکروسکوپ قرار داده میشود. پی‌پت تزریق، که دارای قطری حدود یك میکرومتر است با فرآوردهٔ DNA پُرشده و به سیستم تزریق متصل می‌شود، زیگوت جهت انجام تزریق بوسیلهٔ یك پی‌پت‌نگهدارنده تثبیت می‌گردد. سپس پی‌پت تزریق از طرق لایهٔ شفاف تخمك (Zona pellucida)، غشای سلولی و غشای هسته بداخل پرونوکلئوس نفوذ کرده و DNA تزریق می‌گردد (شکل ۱).

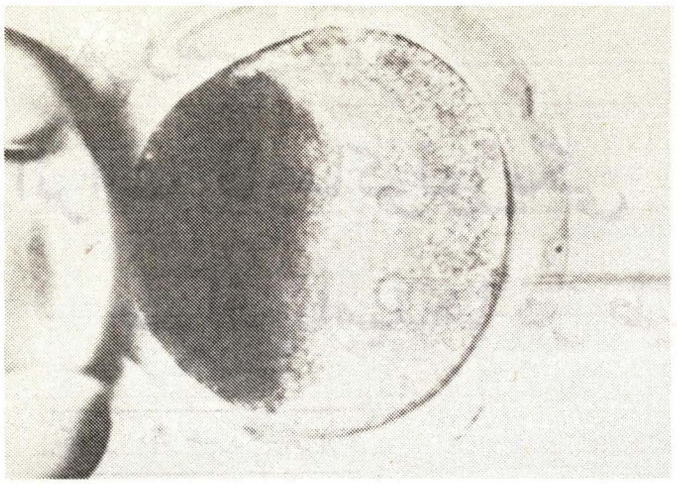
تزریق یك تا دو پیکولیتر (10^{-12} لیتر) از فرآوردهٔ DNA حجم محتویات پرونوکلئوس را ۵۰ درصد افزایش می‌دهد. این بزرگ‌شدگی قابل رؤیت نوکلئوس علامت ورود موفقیت‌آمیز DNA بداخل هسته است.

زیگوتهائی که بدون آسیب این تزریق را تحمّل کرده‌اند از طریق جراحی بداخل مجرای تخم بریك دام گیرنده که از نظر فحلی آماده شده است انتقال می‌یابند. زمانیکه نوزاد متولد شد از نظر ورود ژن تزریق شده بداخل مادهٔ توارثی مورد آزمایش قرار می‌گیرد. بدین‌منظور سلولهای هسته‌داری از بافتها یا خون بدست آمده و DNA آن جداسازی می‌شود. بکمك تکنیکهای مخصوص ملکولی بیولوژیکی می‌توان مطمئن شد که آیا ژن کارسازی شده وارد DNA کروموزومی شده یا نه. بدامهائی که دارای ژن تزریق شده در DNA خود باشند اصطلاحاً «دامهای ترانسژنیك» گفته می‌شود.

برنامهٔ انتقال ژن با تولید دامهای ترانسژنیك اولیه خاتمه نمی‌یابد. قدم بعدی تعیین این مسئله است که آیا ژن انتقال شده بنحو مطلوب عمل می‌کند یعنی اینکه آیا از این ژن نسخه‌برداری می‌شود، آیا پروتئین کدکننده برای این ژن وجود دارد؟ همچنین آیا این پروتئین جدید واقعاً در بدن اعمال اثر می‌نماید یا نه؟

نقش نهائی و قاطع یك برنامهٔ انتقال ژن، تولید فرزندان از دامهای ترانسژنیك است و همچنین کشف این مسئله است که آیا ژن انتقال شده به فرزندان آن دام منتقل می‌شود یا نه؟ عملاً حدود نصف فرزندان ژن جدید را از والدین ترانسژنیك خود دریافت می‌کنند. چون این DNA جدیدالورود از قوانین وراثتی مندل تبعیّت می‌کند.

در حدود ۳۰ درصد از دامهای ترانسژنیك احتمالاً بخاطر اینکه DNA به‌همهٔ سلولهای بدن وارد نشده است، بویژه سلولهای جنسی، این عمل اتّفاق نمی‌افتد.



اصطلاحاً به چنین دامهائی «دامهای موزائیك» گفته می‌شود.

وقوع توارث متوالی ژنهای انتقال یافته نشان می‌دهد که چرا تکنیك اصلاح نژاد برای صنعت دامداری اینقدر مهم است.

وقتی یك لاین ترانسژنیك بوجود آمد دیگر هیچ احتیاجی به تکرار تولید دامهای ترانسژنیك نیست. دستکاری و توزیع جمعیّت درحالت معمولی ممکن است دیده شود. همچنین می‌توان دامهای ترانسژنیك خالص (Homozygote) بدست آورد. ولی وارد شدن ژن جدید بداخل مواد توارثی بشکل تصادفی صورت می‌گیرد بنحویکه بعضی از افراد ژن جدید را بعنوان یك ژن مؤثر دارا خواهند بود.

تولید اینچنین «موتانهای تداخلی»، پیشگویی در مورد دامهای ترانسژنیك خالص را غیرممکن می‌سازد. در نتیجه کارآئی برنامه‌های انتقال ژن برای دامهای اهلی نسبتاً ضعیف است، برای مثال بمنظور تولید یك خوك ترانسژنیك حدود ۲۰۰ عدد تخمك باید تزریق شده و به خوکهای مادهٔ گیرنده انتقال یابد. حدود پنج دام ترانسژنیك برای تشکیل یك لاین ترانسژنیك با وضعیت ژنی ثابت مورد نیاز است.

هرچند تلاشهای گسترده‌ای برای بهبود کارآئی انتقال ژن صورت می‌گیرد، باید درنظر داشت که میزان موفقیّت این روش در چند سال آینده نسبتاً پائین باقی خواهد ماند.

بعنوان جایگزین تزریقی، آزمایشاتی با استفاده از ناقلین ویروسی و سلولهای ساقه‌ایکه از نظر ژنتیکی ترانسفرمه شده‌اند در دست انجام است. هردو تکنیك با موفقیت در موش مورد آزمایش قرار گرفته است ولی هنوز نمی‌توان از نتایج آن برای دامهای اهلی استفاده کرد. موارد بالقوهٔ استفاده از انتقال ژن در اصلاح نژاد دام‌ها مشتمل بر موارد زیر است:

- *انتقال ژنهای انفرادی مقاومت‌زا یا ژنهائی که مکانیسمهای دفاعی بدن را بر علیه عوامل بیماری‌زا برای مقابله دامهای حساس فارم به بیماری افزایش می‌دهد.*
- *انتقال ژن در جهت تولید پروتئین‌هائی خاص که قابل تغییر یا افزوده‌شدن به «کشت ژنی» می‌باشند.*
- *انتقال ژن برای تغییر متابولیسم دامهائی که برای مقاصدی خاص مورد استفاده هستند.*
- *انتقال ژن (عمدتاً برای هورمونهای خاص پروتئینی) جهت افزایش تولید و باروری دامهای اهلی.*

شده به صلاح باشد. در عوض باید تلاش شود تا تکنیکهای جدید در زمینه‌هائی بکار گرفته شود که بشکل معمولی از موفقیت‌های کمی برخوردار بوده‌اند. قبلاً یادآوری شده است که اصلاح وضعیت بهداشتی و مقاومت نسبت به بیماری می‌تواند اساس ژنتیکی داشته باشد. گروه تحقیقاتی ما احتمال انتقال ژن MX (ژن موشی) برای مقاومت در برابر انفلوانزا) را به خوکها، به منظور بدست آوردن دامهای مقاوم به انفلوانزا مورد آزمایش قرار داده‌اند. به علت پیچیدگی پروسه‌های بیولوژیکی، هیچگونه موفقیت سریع و قابل توجهی نمی‌توان از این آزمایش انتظار داشت.

وقتی به موارد بالقوهٔ انتقال ژن فکر می‌شود باید به این مسئله نیز فکر کرد که این روش بسیار پرهزینه است.

مع‌ذالك معقول و لازم به نظر می‌رسد تا موارد چندی از آزمایشات انتقال ژن صورت گیرد تا تحقیقات فشرده‌ای با اهداف اصلاح راندمان دامها و تسهیل در اصلاح نژاد آنها شکل گیرد.

خلاصه

قطعاتی از DNA مشتمل بر عناصر تنظیم‌کننده و ژنهای ساختمانی که به شکل In vitro بازسازی شده است بوسیلهٔ تزریق میکروسکوپی بداخل ژنوم دامها قابل انتقال است تخمکهای بارور از دامهای دهنده سوپر اووله شده بدست آمده و پرونوکلئوس‌ها توسط سانتریفوژ می‌توانند قابل رؤیت گردند. سپس حدود هزار نسخه از ژن به فضای نوکلئوس با استفاده از میکروپیپت (به قطر یك میکرومتر) وارد می‌شود. این جنین‌ها به مجرای تخم‌بر دام گیرنده تحمل انتقال داده می‌شوند. وقتی نوزاد متولد شد آزمایشاتی صورت می‌گیرد تا معلوم شود که آیا ژن مورد نظر در ساختمان ژنوم تخمك قرار گرفته و آیا این ژن بشکل مطلوب ایفای نقش می‌کند یا نه. در مورد دامهای اهلی اطمینان از این مسئله بسیار مهم است که ژن انتقال یافته براساس قوانین توارثی مندل به فرزندان منتقل می‌شود یا نه.

وضعیت‌های بسیار جالب مختلفی در مورد انتقال ژن در اصلاح نژاد دامها و طب دامپزشکی وجود دارد. این مقاله به بحث در مورد روشهای کسب مطلوبترین قدرت تولیدی و تولید مثلی و همچنین استفادّه از «کشت ژنی» برای تغییر روشهای متابولیك و انتقال ژنهای مقاومت در برابر بیماری می‌پردازد. ✡