

**משרד החקלאות - דו"ח לתוכניות מחקר
לקרן המדען הראשי**

קוד זיהוי	א. נושא המחקר (בעברית)
362-0230-11	השבחת הצאן בארץ לעמידות כנגד מחלת הסקרייפי

ג. כללי		
מוסד מחקר של החוקר הראשי		
מרכז וולקני		
סוג הדו"ח	תאריכים	
שנתי	תקופת המחקר	תאריך משלוח הדו"ח למקורות המימון
	עבורה מוגש הדו"ח	
	התחלה	סיום
	שנה 3 / 2011	שנה 7 / 2011
	שנה 3 / 2012	שנה 3 / 2012

ב. צוות החוקרים		
שם פרטי	שם משפחה	
אלישע	גוטויין	חוקר ראשי
חוקרים משניים		
מאזן שמואל	אבו סיאם זמיר	1
		2
		3
		4
		5
		6
		7

ד. מקורות מימון עבורם מיועד הדו"ח		
שם מקור המימון	קוד מקור מימון	סכום שאושר למחקר בשנת תיקצוב הדו"ח בשקלים
קרן המדען הראשי		60,000

ה. תקציר שים לב - על התקציר להיכתב בעברית לפי סעיף ה' שבהנחיות לכתיבת דיווחים
סקרייפי היא מחלה רשומה הגורמת לתמותה בצאן כולל בצאן אווסי. מטרת המו"פ היא פיתוח גרעין רבייה של כבשי אווסי הנושא את האלל ARR העמיד למחלת הסקרייפי. מיקומו של גרעין הטיפוח נקבע לעדר הצאן של אשל הנשיא. בעקבות קניה של צאן אווסי והבאתו לאשל הנשיא, יישום של הרבעות/הזרעות מכוונות ובדיקות גנטיות עבור הגן PRNP, יש בידנו כיום גרעין טיפוח של אווסי עמיד לסקרייפי אשר הוא יחיד במינו בעולם. במקביל נוצר גרעין טיפוח של צאן אסף עמיד לסקרייפי.

ו. אישורים

הנני מאשר שקראתי את ההנחיות להגשת דיווחים לקרן המדען הראשי והדו"ח המצ"ב מוגש לפיהן

חוקר ראשי	מנהל המחלקה	מנהל המכון (פקולטה)	אמרכלות (רשות המחקר)	רשות המחקר	תאריך (שנה) (חודש) (יום)
-----------	-------------	---------------------	----------------------	------------	--------------------------

דו"ח לתוכנית מחקר מספר 11-0230-362

השבחת הצאן בארץ לעמידות כנגד מחלת הסקרייפי
Breeding native Awassi sheep for resistance to Scrapie

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות
ע"י

המכון לחקר בעלי חיים, מרכז וולקני.
מרפאה וטרינרית רהט.
השירותים הוטרינריים.

אלישע גוטוויין
מאזן אבו סיאם
שמואל זמיר

Elisha Gootwine, ARO, The Volcani Center, POB 6 Bet Dagan, 50250

gootwine@agri.gov.il

Mazen Abu Siam, Siam Veterinary Clinic, POB 519, Rahat 85357,

Siam3000@hotmail.com

Smual Zamir, Kinron veterinary Institute, Veterinary Services and Animal Health,
POB 12, Bet Dagan, 50250, shmuelz@moag.gov.il

יולי 2012

תמוז תשע"א

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: כן/לא : לא

חתימת החוקר

רשימת פרסומים

סיכום עם שאלות מנחות תוכנית 362-0230-11

נא להתייחס לכל השאלות בקצרה ולעניין, ב-3 עד 4 שורות לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).
שיתוף הפעולה שלך יסייע לתהליך ההערכה של תוצאות המחקר.
הערה: נא לציין הפנייה לדו"ח אם נכללו בו נקודות נוספות לאלה שבסיכום.

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
מטרת המחקר היא יצירת גרעין טיפוח מסוג אווסי המכיל כבשים הומוזיגוטיות לאלל ARR המקנה עמידות למחלת הסקרייפי
עיקרי הניסויים והתוצאות.
נכון ליולי 2012 הצלחנו לייסד גרעין טיפוח המונה 4 זכרים אווסי הומוזיגוטיים, 7 נקבות אווסי הטרזיגוטיות לאלל ARR 191 נקבות בנות מכלואי אווסי הטרזיגוטיות לאלל ARR.
מסקנות מדעיות והשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?
המטרות לתקופת הדו"ח הושגו. גרעין הטיפוח ישמש מקור להפצת האלל ARR בקרב עדרי האוואסי.
בעיות שנותרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית המחקר?
לא נצפות בעיות מיוחדות בתחום ביצוע הפרויקט.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: פרסומים בכתב - ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; פטנטים - יש לציין שם ומס' פטנט; הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל בפרסום מאמר מדעי.
פרסום ראשון על המצאות גרעין טיפוח אווסי עמיד לסקרייפי במשק אשל הנשיא ניתן ביום עיון למגדלי צאן בדואים שנערך במאי 2011. דיווח נוסף ניתן ביום עיון למגדלי צאן ב2012.
פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)
<input type="radio"/> ללא הגבלה <input type="radio"/> <input type="radio"/>
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי?
המחקר הסתיים

*יש לענות על שאלה זו רק בדוח שנה ראשונה במחקר שאושר לשנתיים, או בדוח שנה שנייה במחקר שאושר לשלוש שנים

מבוא:

סקרייפי היא מחלה צאן אנדמית בארץ אשר זוהתה הן בעדרי אסף והן בעדרי אווסי מקומי. המחלה שייכת לקבוצת מחלות בהן חל ניוון של מערכת העצבים ובהן "מחלת הפרה המשוגעת". ידוע, כי הופעה קלינית של סקרייפי קשורה לשינויים מבניים בחלבון המכונה פריון (PrP) הנמצא באופן טבעי ברקמת העצבים. על פי התקנות הוטרינריות אשר היו נהוגות בארץ עד 2012, גילוי מקרה קליני של סקרייפי הוביל להטלת הסגר על העדר ולהשמדתו, תהליך אשר היה כרוך בנזקים כלכליים כבדים למדינה ולמגדל כאחד.

מחלת הסקרייפי אינה מחלה זואונוטית. החשש מהמחלה נבע מכך כי כבשים עלולות להיות נגועות בספגת המח של בקר, שהיא מחלה זואונוטית. מאחר ולא ניתן להבדיל בבדיקת קלינית בין צאן נגוע בסקרייפי לצאן נגוע בספגת המח של בקר, הוחלט מטעמי זהירות על השמדה כללית של כל עדר צאן בו אובחנה סקרייפי. חיסול עדרים בהם נתגלה סקרייפי לא הביא לירידה בשכיחות המחלה. כך, בשנת 2012, נתגלו עד לכתובת דו"ח זה מקרי סקרייפי חדשים בשלושה עדרים.

הפריון הוא חלבון בן 256 חומצות אמינו. חלבון זה עובר בכבשים חולות בסקרייפי שינוי מבני ממצב PrP^c הנורמלי למצב הפתולוגי PrP^{Sc} . במצב זה החלבון אינו ניתן לפירוק על ידי אנזימים מפרקי-חלבון והוא הולך ונאגר במח. נמצא, כי פולימורפיזם במבנה הפריון בחומצות אמינו מספר 136, 154 ו-171 קשור לעמידות כנגד סקרייפי (Hunter, 2007). המחקר הוכיח כי בעוד שכבשים הנושאות את האלל ARR (הפלוטיפ של פרופיל חומצות אמינו) עמידות להדבקות בסקרייפי הרי נשיאת האללים ARQ ו-VRQ קשורה ברגישות להופעה קלינית של סקרייפי. בסקר שנערך בישראל, נמצא כי האלל הרגיש ARQ הוא האלל הנפוץ בצאן בארץ (תדירות של כ-0.8) בעוד שתדירות האלל המשרה עמידות – ARR נמוכה יחסית (כ-0.1).

ההתמודדות עם מחלת הסקרייפי בארצות אירופה כוללת השמדת בעלי החיים הנגועים במחלה, והפעלת תוכניות טיפוח גנטי לשיפור העמידות הטבעית של העדר לסקרייפי תוך העלאת שכיחות האלל העמיד ARR. זאת בדרך של הרבעות או הזרעות תוך שימוש באילים נבחרים שעברו זיהוי גנטי (European Commotion, 2010). תנאי למימוש תוכנית כזו בארץ וכן להעלאת העמידות הגנטית של הצאן בארץ לסקרייפי הוא מצאי של עדרי טיפוח מהם ניתן יהיה לגדל ולהפיץ לכלל העדרים בארץ טלאים וטליות ARR/ARR.

במסגרת תוכנית טיפוח הממומנת על ידי הנהלת ענף הצאן פעלנו ליצירת גרעיני טיפוח של צאן אסף עמיד לסקרייפי בעדר בית דגן ובעדר אשל הנשיא. מטרת התוכנית הנוכחית הייתה להקים במקביל גרעין טיפוח עמיד לסקרייפי לגזע האווס, אליו משתייך רוב הצאן בדרום הארץ (כחצי מאוכלוסיית הכבשים במדינה) המגודל ברובו על ידי מגדלים בדואים. במהלך השנים האחרונות חלו תמורות רבות בגידול הצאן אצל הבדואים וביניהן במעבר לגידול אינטנסיבי ופתיחות להכנסת גנוטיפים יצרניים השונים מהאווס.

פירוט עיקרי הניסויים שבוצעו וכלל התוצאות שהתקבלו לתקופת הדו"ח.

הפעילות שנעשתה בשנה הראשונה לפרויקט כללה איתור משק בו ניתן יהיה לבצע מו"פ גנטי לאורך זמן. עדר אשל הנשיא המונה כ-150 ראש נמצא כמקום המתאים ליסוד גרעין הטיפוח לצאן אווסי. למשק זה הובאו מעדר עין חרוד איחוד קבוצה של כבשי אווסי שלא נשאו את האלל ARR, ואיל אווסי אשר היה הומוזיגוט לאלל זה. איל זה נמצא לאחר סריקה מקיפה של אילים וטלאים במשק עין חרוד אשר נעשתה על סמך מידע קודם כי האלל ARR נמצא בעדר זה (Gootwine et al., 2008). ניסיון נוסף לאתר בעדרי בדואים אילי אווסי נושאי האלל ARR נכשל.

עם הכנסת הצאן לעדר אשל הנשיא הונהג בו רישום ממוחשב של תנועת הפרטים בעדר תוך שימוש בתוכנת "משכוכית".

בשנה השנייה לפרויקט החלנו בביצוע הכלאות / הזרעות מכוונות אשר היו מלוות בבדיקות גנטיות. זאת, במטרה לייצר פרטים אווסי ומכלואי אווסי הנושאים את האלל הרצוי. פעילות זו של הכלאות, בחינת הצאצאים ושמירה לגידול של המתאימים נמשכה גם בשנה השלישית של הפרויקט. כיום (יולי 2012), יש בידנו בגרעין טיפוח האווסי ארבעה אילי אווסי הומוזיגוטים ושבע כבשי אווסי הטרזיגוטים לאלל הרצוי וכן, 54 כבשים הטרזיגוטים שהן מכלואי אווסי (טבלה 1). במקביל, פותח בעדר אשל הנשיא גם גרעין טיפוח עמיד לסקרייפי על רקע של אסף שהוא עצמו מכלוא של אווסי. נתוני צאן זה גם הם מוצגים בטבלה 1.

טבלה 1. התפלגות צאן בעדר אשל הנשיא לפי הגנוטיפ באתר PRNP - יולי 2012

מספר כבשים נוכחות				מספר אילים נוכחים				
גנוטיפ באתר PRNP (קודון אחרון)				גנוטיפ באתר PRNP (קודון אחרון)				
סה"כ	לא נבדק/ QQ	RQ, RH	RR	לא ידוע	QQ	RQ, RH	RR	גזע
23	16	7	-	-	-	-	4	אווסי
82	54	27	1	-	-	-		מכלואי אווסי
58	15	30	13	-	-	-	3	אסף
163	85	64	14	-	-	-	7	סה"כ

בנוסף, נמצאים במכלאות אשל הנשיא עוד טלאים וטליות שהם צאצאי אילי וכבשות האוסי. בדיקה שלהם תביא לאיתור פרטים נוספים שהם הומוזיגוטים לאלל ARR.

ביצוע הבדיקות הגנטיות: הבדיקות הגנטיות נערכו במעבדה רפרנטית לבדיקות הגנוטיפ של האתר PRNP באמצעות אוניברסיטת הוהנהיים, שטוטגרט, גרמניה. הדבר היה כרוך במשלוח דוגמאות הרוק שנאספו בארץ לחו"ל. בשנה האחרונה לפרויקט פיתחנו יכולת לבצע את הבדיקות הגנטיות במעבדתנו אשר במרכז וולקני. זאת לאחר ריצוף חלקי של הגן PRNP.

דיון:

עם סיום הפרויקט יש בידינו גרעין טיפוח של צאן אוסי הנושא עמידות גנטית לסקרייפי. למיטב ידיעתנו גרעין טיפוח זה הוא יחודי בעולם. מכאן, פתוחה הדרך להפצת טלאים וטליות נושאי האלל ARR לעדרים מסחריים.

יצירת גרעיני טיפוח לעמידות לסקרייפי באוסי וכן באסף (גוטויין וחוב' 2012) תרמה לשינוי במדיניות השירותים הוטרינריים בכל הנוגע להתמודדות במחלת הסקרייפי. מדיניות חדשה זו מאמצת את הגישה האירופאית לטיפול במחלה: שילוב שני מהלכים: ביעור מעדרי הצאן של פרטים נגועים קלינית בסקרייפי ושל צאצאיהם יחד עם הגברה בדרך של טיפוח גנטי של העמידות הטבעית לסקרייפי.

לאחרונה התפרסמו עבודות המראות כי לנשיאת האלל ARR עלול להיות חיסרון בכל הקשור להתבטאות מספר תכונות משקיות (Sawalha et al., 2007; Psifidi et al., 2011). מן הראוי היה לבדוק עד כמה מידע זה רלוונטי לממשק גידול צאן בארץ.

ספרות:

גוטויין וחוב' 2012: דו"ח לתוכנית מדען מס. 11-0258-362. יצירת של אוכלוסיות אסף הומוזיגוטיות ARR/ARR אשר ישמשו כמקור לאילים וטליות עמידים למחלת הסקרייפי.

Doeschl-Wilson, A., Sawalha, R., Gubbins, S., Villanueva, B. (2009) Implications of conflicting associations of the prion protein (PrP) gene with scrapie susceptibility and fitness on the persistence of Scrapie. PLoS ONE 4(11): e7970. doi:10.1371/journal.pone.0007970.

European Commission, (2010). Communication from the commission to the European Parliament and the council no. 384: The TSE road map 2 - A strategy paper on transmissible spongiform encephalopathies for 2010-2015; Brussels.

Gootwine, E., Abdulkhaliq, A. Jawasreh, K.I.Z., Valle Zárata, A. (2008). Screening for allele frequency at the PrP locus in Awassi and Assaf populations in Israel, the Palestinian Authority and Jordan. *Small Ruminant Research* 77: 80-83.

Hunter, N., 2007. Scrapie—uncertainties, biology and molecular approaches. *Biochim. Biophys. Acta* 1772, 619–628.

Sawalha, R.M., Brotherstone, S., Conington, J., Villanueva,, B. (2007). Lambs with Scrapie susceptible genotypes have higher postnatal Survival. *PLoS ONE* 2(11): e1236. doi:10.1371/journal.pone.0001236

Psifidi, A, Z., Basdagianni, Z., Dovas, C. I., Arsenos, G., Sinapis, E., Papanastassopoulou, M., Banos, G. (2011). Characterization of the PRNP gene locus in Chios dairy sheep, and its association with milk production and reproduction traits. *Anim. Genet.* 42: 406-414.