

352-0068-98

קוד מחקר:

נושא: פיתוח השימוש בסמנים גנטיים ברמת ה-DNA לצורך זיהוי כבשים ואילים הנושאים את גן "בורולה"

מוסד: מינהל המחקר החקלאי

ד"ר אלישע גוטין

חוקר ראשי:

חוקרים שותפים:

1998-1998

תקופת מחקר:

1

מאמרים:

תקציר

מטרת המחקר: הנוכחי אשר מומן לשנה אחת הייתה להמשיך ולבסס את השימוש בסמנים גנטיים במכלואי הבורולה בארץ תוך המשך בנית משפחות בתי אב בהן הגן מתפצל, אפיון הגנוטיפ של בני משפחות אלו תוך שימוש בסמנים שהוזכרו ובסמנים נוספים ובחירה לגידול של פרטים מתאימים תוך התבססות על המידע המתקבל מהסמנים.

תוצאות עיקריות: דגימות דם לצורך קביעת גנוטיפ נלקחו מטלאים וטליות לאחר גמילה במספר משקים. על סמך קביעת הגנוטיפ בשני הסמנים BM1329 ו OarAE101 ובסמנים: Boo4 ו Boo5 ומתוך ידיעת צורת התאחיזה בין הסמנים וגן הבורולה נבחרו פרטים לגידול. תוך העזרות בסמנים הגנטיים הצלחנו לאתר אילים הומוזיגוטים לגן הבורולה.

המסקנות: השימוש בסמנים גנטיים הוכח ככלי יעיל בתוכנית הטיפול שמטרתה החדרת גן הבורולה לגזעי צאן בארץ.

במהלך 1988 אותרו תוך שימוש בסמנים שישה אילים אפק אווסי הומוזיגוטיים לגן הבורולה. אילים אלה הוצבו בתחנת הזרעה. בעונת ההזרעות 1.99-9.98 הוזרעו בזירמתם 800 כבשים בעדרי צאן לחלב באזור הגליל התחתון.

פיתוח השימוש בסמנים גנטיים ברמת DNA לצורך זיהוי כבשים ואילים הנושאים את גן ה"בורולה".

שמות החוקרים:

אלישע גוטוויין, המכון לחקר בעלי חיים, מרכז וולקני, ת.ד. 6 בית דגן 50-250.

Elisha Gootwine, A.R.O., The Volcani Center, PO Box 6, Bet Dagan, 50 250, Israel

מבוא:

הולדנות של האוסי והאסף - גזעי הצאן העיקריים בארץ נמוכה יחסית ועומדת בממוצע על 1.2 ו 1.6 טלאים להמלטה, בהתאמה. מאחר וההכנסה ממכירת טלאים וסליות היא מרכיב חשוב בכלכלת הענף, הגדלת הולדנות הטבעית בעדרים תביא בהכרח לשיפור רווחיותם.

נשיאת האלל B של גן הבורולה שסימנו FecB מביאה להעלאת הולדנות בכבשים הנושאות אותו עד לכדי פי שניים. ב-1986 הוחל בביצוע תוכנית טיפוח שמטרתה להעביר את האלל B בדרך של הכלאות דחיקה מהמרינו בורולה האוסטרלי לאוסי ולאסף המקומיים. כיום, אנו עומדים בשלב סיום של תוכנית הטיפוח זו כאשר לאוסי ולאסף הולדניים נושאי האלל B נרשם שמות מסחרים: אפק אוסי ואפק אסף.

זיהוי כבשים הנושאות את האלל B נעשה בעבר על סמך נתוני וולדנות או תוך הסתמכות על ספירת מספר גופים צהובים על גבי השחלות. זכרים נושאי התכונה זוהו בעזרת מבחן צאצאים. ב-1993 מופה גן הבורולה לכרומתום 6 בכבשים וסמן גנטי מסוג מיקרוסטליט שסימנו OarAE101 מופה במרחק של כ-10 סנטי מורגן מהגן (1).

אנו מצאנו כי הסמן OarAE101 אינפורמטיבי בחלק מהמשפחות של מכלואי בורולה אוסי והחלנו להשתמש בו כעזר לזיהוי מוקדם של פרטים הנושאים את האלל B במכלואים אלו (2). סמן נוסף מסוג מיקרוסטליט - BM1329 מופה ב-1996 במרחק של 7.2 סנטימורגן מגן הבורולה (3). בעבודה שפורסמה על ידינו ב-1998 (4) הראנו כי שני הסמנים: OarAE101 ו-BM1329 מופים משני צדי האתר FecB. תוצאה זו נתמכה על ידי תוצאות של קבוצת מחקר ניו זילנדית (5). מצא זה מאפשר לנו כיום לאתר פרטים נושאי האלל B ברמת דאות הקרובה ל-100% תוך שימוש בשני הסמנים.

מטרת המחקר הנוכחי אשר מומן לשנה אחת הייתה להמשיך ולבסס את השימוש בסמנים גנטיים במכלואי הבורולה בארץ תוך המשך בניית משפחות של בתי אב בהן בגן מתפצל, אפיון הגנוטיפ של בני משפחות אלו תוך שימוש בסמנים שהוזכרו ובסמנים נוספים ובחירה לגידול של פרטים מתאימים תוך התבססות על המידע המתקבל מהסמנים.

פרוט הניסויים:

מערכת ההכלאות בורולה-אוסי מתבצעת בעדר הצאן לחלב של קיבוץ עין חרוד איחוד. מערכת ההכלאות בורולה-אסף מתבצעת בעדר המחקר בחוות המרכז. בעדר של קיבוץ נחשון ובשני עדרים מושביים. בכל העדרים מתבצע רישום מדויק של הרבעות/הזרעות הכבשים וכן זיהוי מדויק עם ההמלטה של הקשר אם-ולד.

כל הנתונים נבדקים ונאגרים בעזרת תוכנת "משכוכית". דגימות דם לצורך קביעת גנוטיפ הפרטים נלקחות מטלאים וסליות לאחר הגמילה. הפקת DNA וקביעת הגנוטיפ בשני הסמנים OarAE101 ו-BM1329 נעשית במעבדתנו ברחובות. בדיקת סמנים נוספים לגן הבורולה מתבצעת בשיתוף עם אוניברסיטת אוטגו בניו-זילנד.

פרטים אשר נמצאו כנושאים את הסמנים המתאימים נבחרים לגידול. מטעמים משקיים מושארים לגידול גם חלק קטן מפרטים אשר אינם נושאים את הסמנים הרצויים. מצב זה מאפשר לנו לעקב אחר יעילות השימוש בסמנים.

תוצאות:

מכלואי בורולה אווסי:

רמת הולדנות עד להמלטה רביעית של כבשים בנות דרגות מיכלוא שומת הממוינות בהתאם לנשיאת סמנים אשר נמצאו על ידינו בתאחיזה לאלל B מפורטת בטבלה מס. 1.

טבלה מס. 1

ולדנות עד להמלטה רביעית של כבשים בנות דרגות שומת של מכלואי בורולה אווסי אשר נושאות או אינן נושאות את האלל B כפי שניקבע על סמך נשיאת הסמנים OarAE101 ו-BM1329.

דור מכלוא	נשיאת הסמנים המתאימים	מספר כבשים	ולדנות ממוצעת (טלאים להמלטה לכבשה)			
			המלטה			
			ראשונה	שניה	שלישית	רביעית
BC2	+	42	1.63	1.88	1.90	2.05
		28	1.14	1.12	1.32	1.33
BC3	+	31	1.61	1.92	1.79	2.14
		19	1.06	1.20	1.33	1.57
BC4	+	41	1.80	1.94	-	-
		37	1.10	1.20	-	-

כפי שניתן מעיון בטבלה מס. 1 הרי רמת הולדנות בכבשים שנבחרו על סמך נשיאת הסמנים גבוהה בממוצע בכ 0.6 טלה להמלטה מאשר הולדנות בכבשים שאינן נושאות את האללים הרצויים.

במהלך 1988 אותרו תוך שימוש בסמנים שישה אילים אפק אווסי הומחיגוטיים לגן הבורולה. אילים אלה מצויים כיום בתחנת הדעה. בעונת ההזרעות 1.99-9.98 החדעו בדירמתם 800 כבשים בעודי צאן לחלב באזור הגליל התחתון.

מכלואי בורולה אסף:

שני הסמנים OarAE101 ו-BM1329 נמצאו כלא אינפורמטיביים במכלואי בורולה אסף מאחר ובמשפחות שנבדקו, האללים של הסמנים אשר נמצאו בתאחיזה לאלל B של גן הבורולה, נמצאו בשכיחות גבוהה באופן טבעי באוכלוסיית כבשי אסף. המסקנה שנתקבלה היא כי לשם יישום השתמוש בסמנים במכלואי בורולה אסף יש צורך לבצע לכל פרט בדיקה בו זמנית של מספר סמנים כאשר צפוי כי אחד לפחות יהיה אינפורמטיבי. מצב זה הושג עם הגדלת מספר הסמנים בהם אנד משתמשים כיום (ראה להלן).

במהלך 1998 הימשכנו להגדיל את מספר הבנות בבתי האב שייצרנו וכיום מערך ההכלאות בורולה אסף כולל 16 בתי אב עם למעלה מ-25 בנות. לכל הבנות נאסף מידע בדבר שעור הביזן המושרה שלהן בגיל חמישה חודשים וכן מידע על שעור הולדנות. בדיקות שורת הסמנים אשר תערכנה במהלך 1999 בכל המשפחות יאפשרו לבסס גם במכלואי בורולה אסף את השימוש בסמנים.

בדיקת סמנים נוספים:

דוגמאות DNA מארבע משפחות: שתיים ממכלואי בורולה אוסי ושתיים ממכלואי בורולק אסף הכוללות דוגמאות שנאספו מאבות המשפחות ומבנות אשר להן נתוני ולדנות, נבחנו בנוסף לשני הסמנים שהחכרו גם בשני סמנים נוספים: Boo 5 הנמצא במרחק של 0.9 סנטי מורגן מגן הבורולה והסמן Boo 4 אשר נמצא במרחק 4.9 סנטימורגן מגן הבורולה. על סמך התוצאות איפיינו לכל בית אב מעקובת יחודית של ארבעה סמנים המשתרעת על מקטע באורך של 11.5 סנטימורגן ונמצאת בתאחיזה לאלל B של גן הבורולה.

מסקנות:

ביסוס השימוש בסמנים גנטיים במכלואי בורולה אוסי מאפשר לנו כיום להפעיל באוכלוסייה זו מערכת של "Marker Assisted Selection". השימוש בסמנים איפשר לנו לזהות אילים הומיגוטים BB. הזרעת כבשים בהיקף נרחב בזירמה של אילים אלה כפי שהדבר מתבצע כיום, תביא להגדלת הולדנות והרומיות בעדרי הצאן.

גמר איפיון מערכת סמנים במכלואי בורולה אסף תאפשר לנו בעתיד הקרוב להפעיל מערכת של "Marker Assisted Selection" גם באוכלוסייה זו.

מקורות:

1. Montgomery et al., (1993) Nature Genetics, 4:410-414
2. Gootwine et al., (1994) In: Proc. 5th World Cong. Genet. Appl. Livestock Prod. 21: 260-263
Guelph, Canada
3. Lord et al., (1996) Mamm. Genome 7: 373-376
4. Gootwine et al., (1998) In: Proc. 6th World Cong. Genet. Appl. Livestock Prod. 24: 161-164
University of new England, Armidale, NSW, Australia
5. Lord et al., (1998) In: Proc. 6th World Cong. Genet. Appl. Livestock Prod. 27: 19-22
University of new England, Armidale, NSW, Australia

3. סיכום עם שאלות מנחות לדוחות 1998

1. מטרת המחקר בתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.

מטרת המחקר הנוכחי אשר מומן לשנה אחת הייתה להמשיך ולבסס את השימוש בסמנים גנטיים במכלולאי הבורולה בארץ תוך המשך בניית משפחות בתי אב בהן הגן מתפצל, אפיון הגנוטיפ של בני משפחות אלו תוך שימוש בסמנים שהוזכרו ובסמנים נוספים ובחירה לגידול של פרטים מתאימים תוך התבססות על המידע המתקבל מהסמנים.

2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.

דגימות דם לצורך קביעת גנוטיפ נלקחו מטלאים וטליות לאחר גמילה במספר משקים. על סמך קביעת הגנוטיפ בשני הסמנים OarAE101 ו-BM1329 ובסמנים: Boo4 ו-Boo5 ומתוך ידיעת צורת התאחיזה בין הסמנים וגן הבורולה נבחרו פרטים לגידול. תוך העזרת בסמנים הגנטיים הצלחנו לאתר אילים הומוזיגוטים לגן הבורולה.

3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו.

השימוש בסמנים גנטיים הוכח ככלי יעיל בתוכנית הטיפוח שמטרתה החדרת גן הבורולה לגזעי צאן בארץ. במהלך 1988 אותרו תוך שימוש בסמנים שישה אילים אפק אווסי הומוזיגוטיים לגן הבורולה. אילים אלה הוצבו בתחנת הזרעה. בעונת ההזרעות 1998-1999 הוצעו בזרימתם 800 כבשים בעזרי צאן לחלב באזור הגליל התחתון.

4. הבעיות שנותרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים, ואחרים): התייחסות המשך המחקר לגביהן.

זיהוי גן הבורולה עצמו ופיתוח מבחן זיהוי גנטי הניתן לביצוע בשדה ייעלו את השימוש בטכנולוגיה מולקולרית בתוכנית הטיפוח.

5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח.

חלק מהידע פורסם בספרות מדעית.

4. Gootwine et al., (1998) In: Proc. 6th World Cong. Genet. Appl. Livestock Prod. 24: 161-164

University of new England, Armidale, NSW, Australia