

2005-2005

תקופת המחקר:

364-0193-05

קוד מחקר:

Subject: THE PHYSIOLOGICAL AND GENETICAL BASIS OF PERSISTENCY IN DAIRY COWS

Principal investigator: SEROUSSI EYAL

Cooperative investigator: YEHUDA VELER, EZRA EFRAIM, RON MICHAEL, EPHRAIM MALTZ, NISSIM SILINAKOV

Institute: Agricultural Research Organization (A.R.O)

שם המחקר: הבסיס הפיסיולוגי והגנטי של הפרה המתמדת: מיישום מסחרי לשינוי שיטת מימשק

חוקר ראשי: איל סרוסי

חוקרים שותפים: יהודה ולר, אפרים עזרא, מיכאל רון, אפרים מלך, נסים סילניקוב

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250

תקציר

החלב מכיל מערכת משוב לבקרת הפרשתו החיונית לתאום בין צורכי הוולד ליכולת הפרה לספק צרכים אלה. יש עניין לזהות את המערכת הגנטית האחראית לשינויים אלה, ולבדוק האם מדובר במוטציה בגן מרכזי כגון הגן פלסמינוגן אקטיבטור שמפעיל מערכת משוב זו. זיהוי הגורם הגנטי יאפשר פיתוח מבחן לזיהוי הפרה המתמדת. לפרות בעלות כושר התמדה יש יתרון כלכלי הנובע מהגדלה בייצור החלב, שיפור הרכבו והגברת היעילות ביצורו, ומניעת הפסדים כלכליים כתוצאה מחשיפת הפרות לסיכונים בריאותיים הנלווים להריון והמלטה. **המחקר התמקד** בסקירה של נתוני ההתמדה במשק הבקר בישראל התוצאות התקבלו לפרסום בכתב העט J Dairy Sci. ונצפתה בהם תורשתיות להתמדה. נערכה סריקה של גנום הבקר בישראל לגנים כמותיים להתמדה ואותרו האזורים הגנומיים שהציגו מובהקות סטטיסטית לקיום הגנים האמורים, אך לא אותר גן עיקרי. במקביל נערכו בדיקות ביוכימיות לחלב מתמידות בניסיון לאפיין פרמטרים ייחודיים לחלב זה. בשנה הבאה נתמקד באפיון האזור בכרומוזום 7 שהציג את המובהקות המכסימלית, במקביל לפיתוח מדדים סטטיסטיים וביוכימיים לחיזוי התמדה, בנוסף למדד ההתמדה ששולב השנה במבחן הפרים.

רשימת פרסומים

Weller et. al, Genetic Analysis of Persistency in the Israeli Holstein Population by the multitrait Animal Model. *J. Dairy Sci.* 89: in press.

הבסיס הפיסיולוגי והגנטי של הפרה המתמדת: מיישום מסחרי לשינוי

שיטת ממשק

THE PHYSIOLOGICAL AND GENETICAL BASIS OF PERSISTENCY IN DAIRY COWS

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

סרוסי איל	מינהל המחקר החקלאי, בעלי חיים
סילניקוב ניסים	מינהל המחקר החקלאי, בעלי חיים
ולר יהודה	מינהל המחקר החקלאי, בעלי חיים
רון מיכאל	מינהל המחקר החקלאי, בעלי חיים
מלץ אפרים	מינהל המחקר החקלאי, הנדסת מערכות
עזרה אפרים	התאחדות מגדלי בקר

Eyal Seroussi, Animal Science, ARO, P.O.B. 6 Bet-Dagan 50250. E-mail: seroussi@agri.huji.ac.il

Nissim Silanikove, Animal Science, ARO, P.O.B. 6 Bet-Dagan 50250. E-mail: nsilanik@agri.huji.ac.il

Joel Weller, Animal Science, ARO, P.O.B. 6 Bet-Dagan 50250. E-mail: weller@agri.huji.ac.il

Micha Ron, Animal Science, ARO, P.O.B. 6 Bet-Dagan 50250. E-mail: micha@agri.huji.ac.il

Efraim Maltz, Agricultural Engineering, ARO, P.O.B. 6 Bet-Dagan 50250. E-mail: vemaltz@volcani.agri.gov.il

Efraim Ezra, Israel Cattle Breeders Association, P.O.B. 3015 Caesaria 38900. E-mail: hmb-efraim@icba.org.il

אפריל 2006

סיון תשס"ו

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: כן



חתימת החוקר

רשימת פרסומים

Weller et. al, Genetic Analysis of Persistency in the Israeli Holstein Population by the multitrait Animal Model. *J. Dairy Sci.* 89: in press.

תקציר:

החלב מכיל מערכת משוב לבקרת הפרשתו החיונית לתאום בין צורכי הוולד ליכולת הפרה לספק צרכים אלה. יש עניין לזהות את המערכת הגנטית האחראית לשינויים אלה, ולבדוק האם מדובר במוטציה בגן מרכזי כגון הגן פלסמינוגן אקטיבטור שמפעיל מערכת משוב זו. זיהוי הגורם הגנטי יאפשר פיתוח מבחן לזיהוי הפרה המתמידה. לפרות בעלות כושר התמדה יש יתרון כלכלי הנובע מהגדלה בייצור החלב, שיפור הרכבו והגברת היעילות ביצורו, ומניעת הפסדים כלכליים כתוצאה מחשיפת הפרות לסיכונים בריאותיים הנלווים להריון והמלטה.

המחקר עד כה התמקד בסקירה של נתוני ההתמדה במשק הבקר בישראל התוצאות התקבלו לפרסום בכתב העת J Dairy Sci. ונצפתה בהם תורשתיות להתמדה. נערכה סריקה של גנום הבקר בישראל לגנים כמותיים להתמדה ואותרו האזורים הגנומיים שהציגו מובהקות סטטיסטית לקיום הגנים האמורים, אך לא אותר גן עיקרי. במקביל נערכו בדיקות ביוכימיות לחלב מתמידות בנסיון לאפיין פרמטרים יחודיים לחלב זה. בשנה הבאה נתמקד באפיון האזור בכרומוזום 7 שהציג את המובהקות המקסימלית, במקביל לפיתוח מדדים סטטיסטיים וביוכימיים לחיזוי התמדה, בנוסף למדד ההתמדה ששולב השנה במבחן הפרים.

מבוא:

פרת חלב ממוצעת מייצרת חלב במשך כ-350 יום ומיובשת כ-60 יום לפני ההמלטה (להלן ממשק: 350-60). הטיפוח הגנטי הרציף ושיפור ממשק ההזנה הביא לכך שפרת החלב הישראלית הנה שיאנית עולמית בייצור חלב ומייצרת בממוצע כ-11,000 ליטר חלב לתחלובה. במצב הקיים של ייצור החלב בארץ יש יתרון כלכלי לשינוי הממשק ע"י הארכת תקופת התחלובה [1]. היתרונות הכלכליים בהארכת תקופת התחלובה בהשוואה לממשק 350-60 הם: 1. מניעת הפסדים כלכליים כתוצאה מחשיפת הפרות לסיכונים בריאותיים הנלווים להריון ולהמלטה. 2. הגדלת אחוז החלבון ושומן אשר מגדילים את הרווחיות לליטר חלב משווק. 3. ניצול המזון יעיל. הוצאות מזון מהוות כ-50% מההוצאות ברפת לכן התייעלות בנצילות מזון תגדיל את הרווח לרפתן. הפרות המתמידות נמצאות באיזון אנרגטי טוב ומנצלות את המזון באופן אופטימאלי, 4. הקטנת התחלופה בעדר ושיפור רווחת החיה (Welfare): העומס הנובע מהמלטות רצופות הנו גורם מרכזי לתחלופה הרבה בעדר הישראלי (פרה מחזיקה בממוצע כ-3 תחלובות).

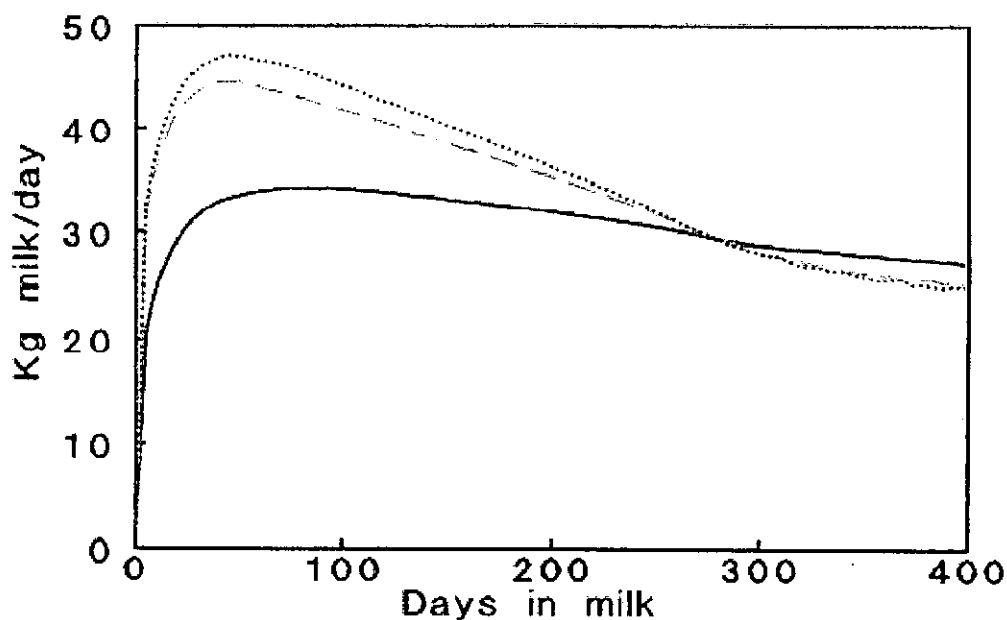
מטרת המחקר:

לגבש טכניקה לזיהוי הפרה המתמידה על ידי שילוב הגישות הביוכימית, הגנטית, הביואינפורמטית והביומטרית-סטטיסטית כדלהלן:
זיהוי שונות ביוכימית (מערכת הפלזמין-פוספופפטידים בחלב [2])
זיהוי שונות גנטית בגנים עיקריים שמשפיעים על התמדה.
זיהוי מאפיינים ביומטריים-סטטיסטיים להתמדה.

הגישה הביומטרית-סטטיסטית

נסקרו נתוני ההתמדה בבקר לחלב בישראל ופורסם מאמר המתאר את הממצאים ונספח לדו"ח זה [3]. נבדקו מעל ל-18 מליון רשומות ספר העדר של מעל לחצי מליון פרות. הושאו התחלובות (ראשונה עד חמישית, איור 1) לשונות ולמתאם בניהן. חושבו מתאמים בין התמדה לתכונות יצור, פוריות ואורך חיים בעדר.

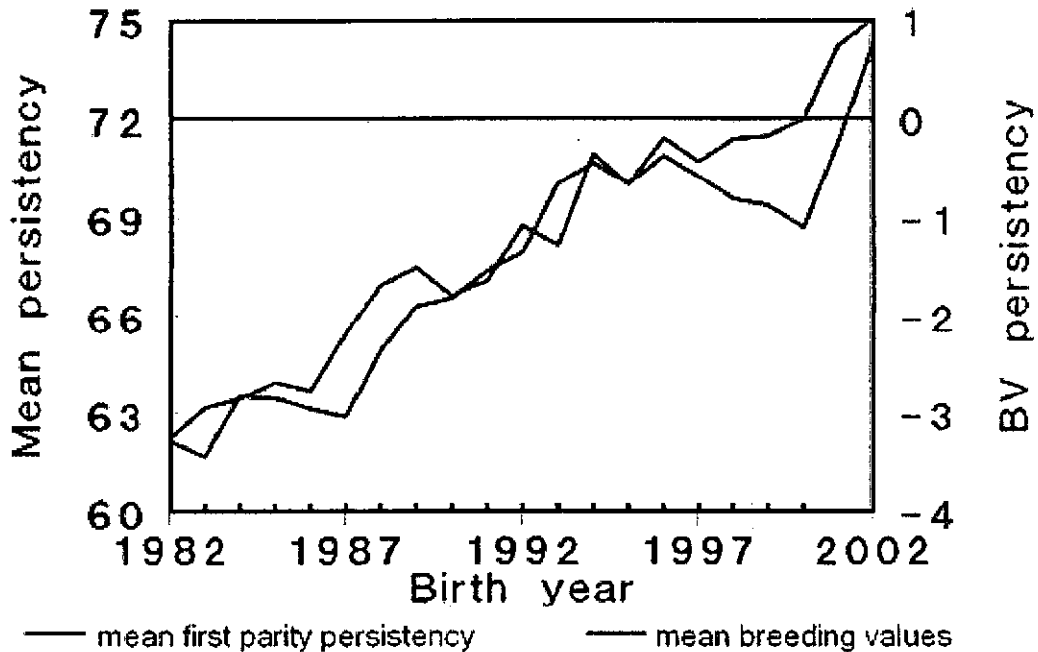
הגדרת איור 1: תפוקת חלב הממוצעת כפונקציה של ימים בתחלובה
 — תחלובה ראשונה — תחלובה שנייה
 ... תחלובה שלישית (זהה לרביעית והחמישית)



בעקבות השונות שנצפתה בין התחלובה הראשונה לאחרות (איור 1) הוגדרה ההתמדה כמשתנה רציף (Production in percent- PER): היחס בין תפוקת השיא לתפוקה שהתקבלה שישה חודשים אחריו. עבור תחלובה ראשונה: $PER1 = 100\% * PROD(270) / PROD(90)$ ועבור התחלובות שניה ומעלה: $PER2+ = 100\% * PROD(225) / PROD(45)$.

נתוני ספר העדר הצביעו על תורשתיות להתמדה ועל נטייה גנטית לעליה בהתמדה (איור 2). נטייה זאת מעידה שקיימת שונות גנטית בעדר וניתן להשביח את העדר לתכונה זאת. התורשתיות המירבית שנמדדה מגיעה ל-27% וערך גבוה זה ניכר בתחלובה השלישית. התורשתיות המינימאלית נמדדה עבור תחלובה ראשונה 17.3%. קיים מתאם גנטי גבוה בין התחלובות (0.9 בין ראשונה לשנייה). במידה שרפתן יהיה מעוניין לנצל את פוטנציאל ההתמדה של הפרות בעדר שלו, הוא יוכל להתבסס על נתוני ההתמדה בתחלובות הקודמות.

אזור 2: ההתמדה בבקר לחלב בישראל בעליה
בשני העשורים האחרונים הנטייה הגנטית 0.22% לשנה

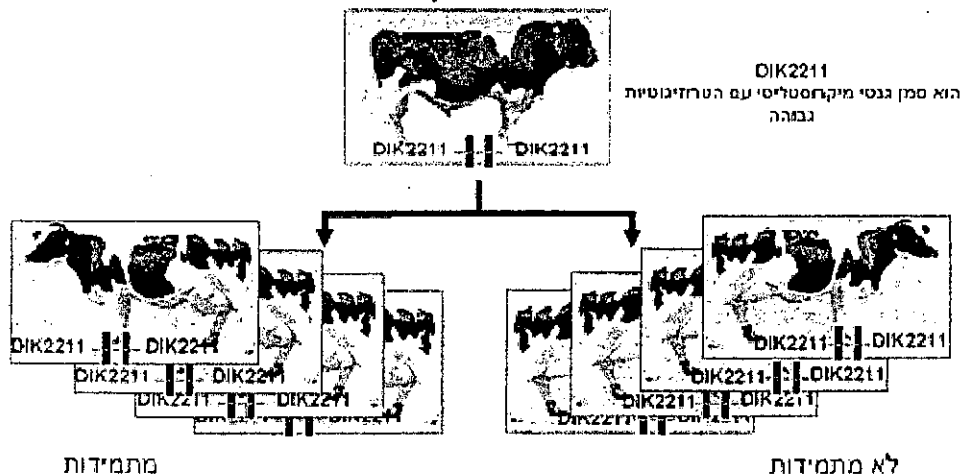


הגישה הגנטית

בסריקת גנום הבקר לחלב בישראל לגנים כמותיים [4], נקבעו בתחילה גנוטיפים ל- 90 סמנים מיקרוסטליטיים, פזורים בכל האוטוזומים, במשפחות מובילות. נאסף דם מ-12,034 פרות, בנות 11 פרים והופק דנ"א מ-10,000 מדגמים. במהלך 7 השנים האחרונות, הורחב הפרויקט, ונקבעו גנוטיפים ל-5949 פרות, בנות 11 פרים, עבור 120 סמנים גנטיים מיקרוסטליטיים. השתמשנו בנתונים שנצברו כדי לסרוק את הגנום לגנים להתמדה בהתאם למדדים שהוגדרו בפסקה הקודמת. הסריקה נעשתה במבני בתי אב בהם מחולקות בנות הפר, עבור כל סמן גנטי, לשתי קבוצות על פי האלל האבאי שהורש להן (איור 3).

איור 3: מבנה בית אב

כדי לאתר את הגנים להתמדה נבחנו תשע משפחות של חצאי אחיות
(בממוצע 350 בנות למשפחה)

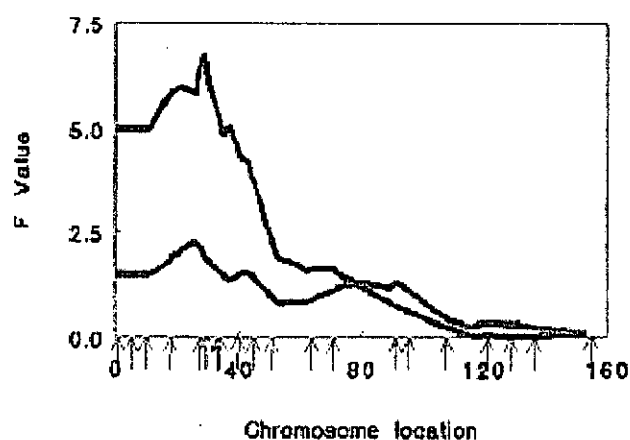


שונות מובהקת בין קבוצות של סמן מסוים, כמודגם באיור 3, מעידה על גן מתפצל להתמדה באב באזור הכרומוזומלי של הסמן זה. התוצאות סריקת הגנום להתמדה מובאות בטבלה 1.

טבלה 1: סריקת הגנום להתמדה (עקב ריבוי מבחנים בערכי F צפויים 6 מובהקים במקרה)

Marker Name	BTA (Loc)	Number of		Prob. F	Sire	Cows	Effect	Prob. T
		Sires	cows					
BM2113	2	9	2475	0.0096	מפי	371	0.69	0.0169
	106.2				גנדי	271	0.68	0.0453
					בוטח	594	0.53	0.0218
IDVGA2	2	2	425	0.0251	בוטח	264	0.84	0.0194
	117.6							
BM9289	7	5	1782	0.0112	בוטח	383	0.82	0.0055
	14.7				טבע	283	0.68	0.0462
DIK2211	7	7	2004	3×10^{-6}	מפי	365	1.08	0.0004
	15.6				בוטח	416	0.90	0.0016
					סינבד	289	0.91	0.0116
BMS1318	10	7	1035	0.0213	גנדי	140	1.43	0.0038
	73				בוטח	198	1.05	0.0290
IDVGA57	12	6	982	0.0067	מפי	168	0.89	0.0260
	29.9				גולית	162	1.16	0.0043
BM4305	14	3	543	0.0270	סיר	72	2.08	0.0034
	66.4							
SPS115	15	4	589	0.0384	גולית	103	4.00	0.0241
	70							
BM745	19	5	989	0.0072	גנדי	187	1.25	0.0058
	15.9							
BM4505	26	6	1116	0.0070	סינבד	221	0.84	0.0400
	40				פצפון	197	1.08	0.0057
					סינבד	192	0.83	0.0352
BMC6004	29	5	950	0.0195	בוטח	280	1.21	0.0045
	57.9							

ערך ה-F המובהק ביותר נמצא עבור הסמן הגנטי DIK2211 בכרומוזום 7 (מודגש במסגרת כחולה בטבלה 1), באזור המזהה עם גן כמותי



Interval mapping of daughters of two bulls for milk production traits. —, fertility; - -, persistency. Positions of markers are indicated by arrows.

איור 4

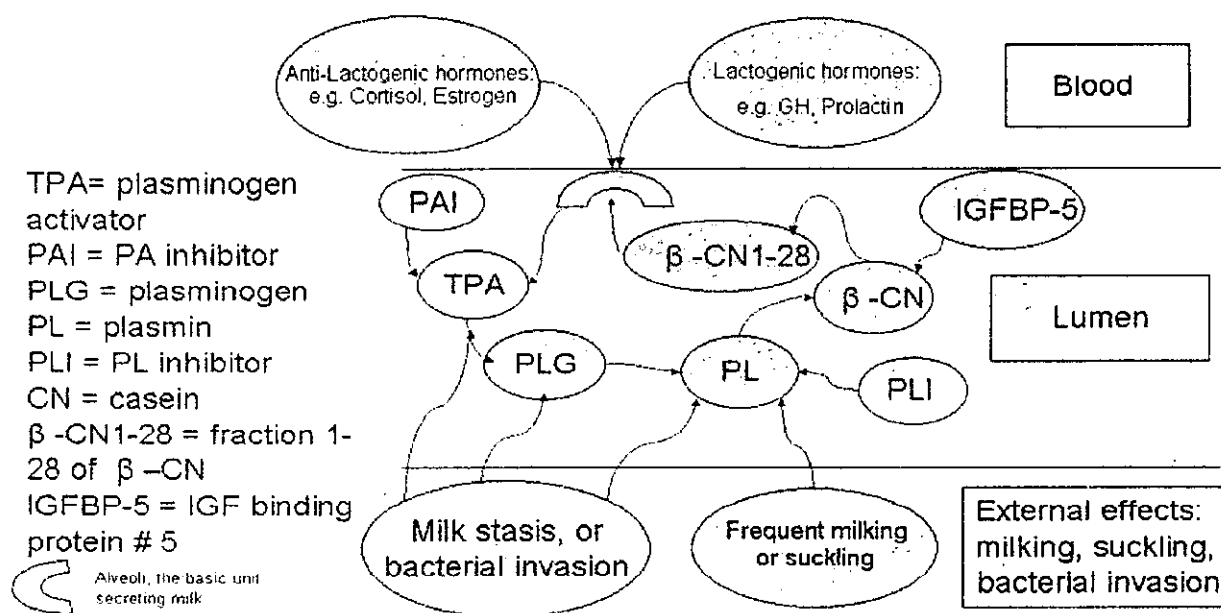
לפוריות. בצענו מיפוי במרווחים מסביב אזור זה שהעיד על החפיפה בין התכונות להתמדה ופוריות (איור 4). קיים גם מתאם גבוה בין הפרים שהתפצלו להתמדה ובין אלה שהתפצלו לפוריות. יתכן שמדובר בגן זהה או בתאחיזה הדוקה. בפרים המתפצלים האלל עם ההתמדה הגבוהה היה גם האלל עם הפוריות הגבוהה. תוצאה זאת מפתיעה כי ניתן היה לצפות שהריון יגביר את קצב הירידה בתנובת החלב. קשר חיובי בין התמדה ופוריות בו עגלות פוריות (הרו בהזרעה ראשונה) נטו להתמיד, תואר בעבר

הגישה הביוכימית

בחינת הגורמים הביוכימיים המובילים להתמדה עשויה לעזור בזיהוי הגנים והמסלולים המטבוליים המובילים להתמדה. הסכמה של הקהילייה המדעית לקשר בין התמדה ומערכת הפלזמין-פוספופפטידים בחלב (איור 5) התבטאה לאחרונה בקבלתו לפרסום של המאמר מסכם של ניסים סילניקוב הנספח לדו"ח זה [2].

איור 5: הגורמים המשתתפים- מודל סכמתי

The Negative Feedback Mechanism Flow-Chart: The ARO View.



→ denotes flow of signal along the feedback loop, → denotes positive effect and → denotes suppressive effect.

מטרת הגישה הביוכימית האמורה הן: ניבוי התמדה על ידי מדידת פעילויות וכמויות פלזמין, פלסמינוגן ופלזמין-אקטיבטור בחלב; ניבוי התמדה על ידי מדידת כמויות הפוספופפטידים ופרוטאז-פפטון בחלב; ניבוי התמדה על ידי מדידת פעילויות וכמויות פלזמין, פלסמינוגן ופלזמין-אקטיבטור (TPA) בחלב. נאספו דגימות חלב מ-22 פרות מתמידות, לפי ההגדרה שאחת מתחלובות שלהן ערכה מעל 600 יום. שלוש דגימות מהן היו של פרות בסביבות יום 100 בתחלובה והשאר מעל 600 יום. בשלוש הדגימות לא ניכרה חריגה מובהקת מהנורמה. התגלו בעיות באופן לקיחת המדגם הנובעות מזיהומים חיידקיים ושוני בין הרבעים והוחלט לשתף וטרינר בדגימה (דר. גבי לייטנר). התגלתה בעיות בהגדרה הנ"ל של הפרה המתמידה, משום שפרות

בודדות בלבד מתאימות לדגימה. הגן ל-TPA ולפלסמינוגן ממוקמים על כרומוזום 27 ו-9 שבהם לא אותרה שינוי גנטית בסריקת הגנום, ולכן סביר שהם לא גנים כמוטיים עיקריים להתמדה.

סיכום

- הוגש לפרסום סקר מקיף של התמדה בעדר החלב הישראלי [3].
- הוכח כי קיימת תורשתיות של התמדה [3]
- במידה שרפתן יהיה מעוניין לנצל את פוטנציאל ההתמדה של הפרות בעדר שלו, הוא יוכל להתבסס על נתוני ההתמדה בתחלובות הקודמות ולהסתייע במדד לחלב הצפוי.
- רפתן המעוניין להגביר את שכיחות המתמידות יוכל לבחור להזריע בפרים מתמידים, עם שילוב המדד להתמדה בלוח הפרים ובאינדקס ההשבחה.
- הודגם שהנטייה הגנטית להתמדה בעליה. דבר המעיד על שונות קיימת באוכלוסיה לגנים האחראיים לתכונה זאת.
- הוחלט להתמקד באפיון גן כנ"ל על כרומוזום 7. מתבצע מיפוי עדין ואפיון גנים מעמדים.
- תבחן יכולת החיזוי של התמדה בעזרת שיטה מבוססת על ELISA ונוגדן מונוקלונלי, כנגד הפוספו-פפטיד (β -CN1-28).

1. Arbel, R; Bigun, Y; Ezra, E; Sturman, H; Hojman, D. 2001. The effect of extended calving intervals in high-yielding lactating cows on milk production and profitability. *J. Dairy Sci.* 84: 600-608.
2. Silanikove, N; Merin U; Leitner, G; 2006. Physiological role of indigenous milk enzymes: An overview of an evolving picture. *International Dairy Journal* 16 (2006) 533-545.
3. Weller, JI; Leitner, G; Ezra, E; 2006. Genetic Analysis of Persistency in the Israeli Holstein Population by the multitrait Animal Model. *J. Dairy Sci.* 89: in press.
4. Ron M., Feldmesser E., Golik M., Tager-Cohen I., Kliger D., Reiss V., Domochofsky R., Alus O., Seroussi E., Ezra E, Weller JI. (2004) A complete genome scan of the israeli holstein population for quantitative trait loci by a daughter design. *J. Dairy Sci.* 87:476-490.
5. Muir, BL; Fatehi, J; Shaeffer, LR, (2004) Genetic relationships between persistency and reproductive performance in first-lactation Canadian holsteins. *J. Dairy Sci.* 87:3029-3037.

3. סיכום עם שאלות מנחות

נא לענות על כל השאלות, בקצרה ולעניין, ב 3 עד 4 שורות מכסימום 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 לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.

- 1- זיהוי מאפיינים ביומטריים-סטטיסטיים להתמדה.
- 2- זיהוי שונות גנטית בגנים עיקריים שמשפיעים על התמדה.
- 3- זיהוי שונות ביוכימית (מערכת הפלזמין-פוספופפטידים בחלב)

עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.

- 1- ניתוח נתוני העדר בישראל הראה כי קיימת נטיה תורשתית לעליה בהתמדה ומתאם ברכיב הגנטי של ההתמדה בין התחלובות.
- 2- סריקת הגנום של עדר החלב בישראל לא הצביעה על גן עיקרי אם כי על מספר גנים כמותיים להתמדה. הבולט שבהם נמצא באזור של גן כמותי לפוריות.
- 3- אנליזה הביוכימית של גורמים הקשורים למערכת הפלזמין-פוספופפטידים בחלב המתמידות לא איתרה בשלב זה תכונה שיכולה לאפשר חיזוי אמין של התמדה

המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.

מטרות המחקר (1,2) לתקופת הדו"ח הושגו. הוכח כי קיימת שונות גנטית להתמדה בעדר החלב בישראל. הוחלט להתמקד באיתור גן כמותי על כרומוזום 7 באזור הקשור גם לפוריות. הקשר החיובי בין פוריות להתמדה, שאיתרנו באזור זה, הודגם במחקר לא תלוי אחר. בנוסף גובש מדד להתמדה שיושם בתוכנית ההשבחה. חקלאי המעוניין בניצול כלכלי של ההתמדה במשקו יכול להשתמש בזרמת פרים עם ערך גבוה להתמדה. בנוסף הוא יכול להאריך תחלובה, על ידי המנעות מהזרעה, של פרות עם פוטנציאל התמדה לפי המדד המחשב חלב צפוי.

הבעיות שנותרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנותרה לביצוע תוכנית המחקר.

זיהוי שונות ביוכימית נתקל בבעיות מדידה הקשורות למדגם מצומצם וזיהומים חיידקיים. פיקוח וטרינרי הונהג בעת לקיחת הדגימות. צפוי שמטרות המחקר יושגו בכפוף להשגה של מימון נוסף לשלב אפיון הגנים. בגישה הביומטרית-סטטיסטית אפשרי ניצול מידי של הידע שנצבר להשגת יתרון הכלכלי בתנאי שתוגבר מודעות הרפתנים לתופעת ההתמדה.

האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - **יש לפרט**: פרסומים – כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך.

Weller et. al, Genetic Analysis of Persistency in the Israeli Holstein Population by the multitrait Animal Model. *J. Dairy Sci.* 89: in press.

פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות)

ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)