

דו"ח סופי לתוכנית מחקר מספר 362-0281  
(זיהוי קודם 362-0187 מחודש)

## יישום תגי אוזן מתקדמים בעדר הבקר

Application of advanced eartags in cattle

מוגש להנהלת ענף בקר  
ע"י

סרוסי איל, מכון בעלי חיים, מנהל המחקר החקלאי  
הלחמי אילן, מכון הנדסה חקלאית, מנהל המחקר החקלאי  
אנטלר אהרון, מכון הנדסה חקלאית, מנהל המחקר החקלאי

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

Ilan Halachmi, ARO, Institute of Agricultural Engineering, P.O.B. 6, Bet Dagan, 50250, E mail:  
halachmi@volcani.agri.gov.il

Aharon Antler, ARO, Institute of Agricultural Engineering, P.O.B. 6, Bet Dagan, 50250, E mail:  
antler@volcani.agri.gov.il

מאי 2011

סיון תשע"א

**הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.**

**הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: כן/לא \***  
מחק את המיותר

חתימת החוקר

\*

**הצגת הבעיה:** גנבת בקר הגיעה למימדים של מכת מדינה ונסיונות לבלימת התופעה התגלו עד כה כבלתי אפקטיביים. זיהוי המבוסס על תגי אוזן מתקדמים המשלבים טכנולוגיות חדשניות של זיהוי בתדר רדיו (RFID) וזיהוי גנטי הם אמצעים חדשים שנרתמו למאבק בגנבות. בנוסף, נתן עם תגי האוזן אלה לשפר ניהול העדר ומשק הבקר.

**מטרות המחקר:** לבחון בניסויי שדה, יעילות הסימון בתגים המתקדמים, בהיקף של עשרות אלפי פרטים, תוך תיאום בין הגופים המעורבים ולפתח תפיסת הפעלה שתשלב תגים אלה בניהול העדר. צפוי שמסקנות המחקר ישפיעו על השינויים, המתבקשים בתקנות, שיכללו הנהגת תג מתקדם והקמת מאגר דגימות גנטיות מכל פרט שנולד ומאגר נתונים צמוד שיאפשר זיהוי אלקטרוני מהיר של בקר ושיוכו לנתוני הפרופילים הגנטיים שנקבעו.

**שיטות עבודה:** נרכש קורא בתדר רדיו והותאמו התוכנות הנלוות לסטנדרט התגים המוצע. סמנים גנטיים נבחנו על ידי קביעת רצף הבסיסים הנוקלאוטידיים.

**תוצאות עקריות:** הסתיימו נסיונות השדה במסגרת בדיקת התכנות יישום תגי פלסטיק וצפוי אשרור שימוש התג בתקנות. נבחן קצב נפילת תגי האוזן ברפת כמתואר במאמר שהוגש לפרסום:

Seroussi E, Yakobson E, Garazi S, Oved Z, Halachmi I. (2011) Long-term survival of flag eartags on the Israeli dairy farm.

נקבע רצף הבסיסים באזור לולאת D של המיטוכונדריה ב-107 דגימות דנ"א מתגים גנטיים והוקם מאגר נתונים לסמן זה. התוצאות סוכמו במאמר שפורסם בנושא:

Seroussi E. & Yakobson E. (2010) Bovine mtDNA D-loop haplotypes exceed mutations in number despite reduced recombination: an effective alternative for identity control. *Animal* 4: 1818-1822.

פותחה תוכנה המאפשרת חסכון בראגנטים במהלך קביעת הפרופיל הגנטי. היישום פעיל מרשת האיטרנט ומתואר במאמר שהתקבל לפרסום:

Seroussi Y, Shirak A, Seroussi E. (2011) *SNPplexViewer*—toward a cost-effective traceability system. *BMC Research Notes*. <http://cowry.agri.huji.ac.il/cgi-bin/SNPplexViewer.cgi>

**מסקנות:** קצב נפילת תגי האוזן ברפת גבוה מהצפוי ונגרם ממבנה העולים שמומלץ לשנותו. יישום תגי אוזן מפלסטיק ידרוש מערכת יעילה לאיתור נפילות תגים והחלפתם. הוכחה יעילות השימוש של הרצף המיטוכונדריאלי כסמן גנטי חשוב לניהול העדר ונבנה בסיס נתונים שיאפשר שמוש בו. שימוש בתוכנה *SNPplexViewer* שפיתחנו יאפשר הוזלת קביעת הפרופיל הגנטי בעזרת סמנים של שינוי בבסיס בודד. מוצע ליישם הקמת מאגר מידע גנטי לבקר במסגרת הצעת חוק חובת סימון בקר והקמת מאגר גנטי, התשס"ט-2009 של החכ"ם א. אריאל וש. חרמש שאושרה בועדת השרים לענייני חקיקה.

## 1.1 Abstract

**The problem:** In Israel, cattle theft reached epidemic proportions and attempts to handle this situation proved ineffective. Identity control using advanced eartags, which are based on radio frequency identification (RFID) or on the genetic code, are novel technologies that are harnessed to combat theft. Improve herd management is an additional benefit of these eartags.

**Objectives:** To field test the effectiveness of advanced eartags, while coordinating the action of the involved institutions and to developed a concept for the combination of these eartags in heard management. It is supposed that the outcome of this research would influence the current legislation effort aimed the implementation of the advanced eartags and the creation of national database allowing fast identification of cattle and its association with the ascertained genetic profiles.

**Methods:** A RFID reader was purchased and the software that came with the instrument was adjusted to the standard of the tested eartags. Genetic markers were analyzed by the determination of the nucleotide bases at the genomic site of the marker.

**Results:** The field tests that studied implementation of plastic tags ended and the use of these tags is expected to pass the required legislation. A manuscript describing the survival of plastic eartags in dairy cows was submitted to publication: Seroussi E, Yakobson E, Garazi S, Oved Z, Halachmi I. (2011) Long-term survival of flag eartags on the Israeli dairy farm.

The sequence of the bases in the mitochondrial D loop region was determined for 107 individuals sampled with genetic eartag and a database for this type of genetic marker was created. The results were published: Seroussi E. & Yakobson E. (2010) Bovine mtDNA D-loop haplotypes exceed mutations in number despite reduced recombination: an effective alternative for identity control. *Animal* 4: 1818-1822. Software reducing the cost of the determination of genetic profiles was developed and active from the internet. This application was described in a manuscript that was accepted for publication: Seroussi Y, Shirak A, Seroussi E. (2011) *SNPmplexViewer*—toward a cost-effective traceability system. *BMC Research Notes*. <http://cowry.agri.huji.ac.il/cgi-bin/SNPmplexViewer.cgi>

**Conclusions:** The rate of eartag drops in the typical Israeli dairy farm is higher than expected and may be caused by the yoke system. It is advised to change this system structure. Implementation of plastic eartags would require an effective arrangement for monitoring eartag drops and replacing the losses. We proved the efficiency of the mitochondrial sequence as genetic marker, which is important for heard management and a database allowing its use was created. The use of the software *SNPmplexViewer* that we have developed will reduce the cost of genetic profiling using single nucleotide polymorphisms. It is suggested to implement the creation of genetic database for cattle in the frame of the cattle mark bill (2009) establishing the duty to mark cattle and the creation of national genetic database of Knesset members A. Ariel and S. Hermesh approved by the committee of ministers for legislation affairs.

ארגון ISO (International Standards Organization), המפתח תקנים בינלאומיים למוצרים ושירותים מגדיר נעקבות (Traceability) כ – 'יכולת לאתר היסטוריה, ישום או מיקום של דבר נדון'. בתעשיית הבשר תבטא נעקבות כיכולת לעקוב אחר מוצר מאכל לאורך שלבי הגידול, העיבוד וההפצה. להנהגת נעקבות בישראל השלכות כלכליות, בריאותיות וממשקיות חשובות: 1. פוטנציאל להפחתת גנבות וזיופים הנובע מהאפשרות להוכיח משפטית את מקור הבשר במקרה של ספק. 2. עליה כללית במוניטין של משק הבקר והחלב בישראל כמשק מתקדם. צפוי שיפור אמון הצרכן במוצרים ועליה בנכונותו לשלם מחיר הגבוה בכ-10% עבורם. 3. פתיחה של שווקים בחו"ל הדורשים נעקבות כגון האיחוד האירופאי כתנאי ליצוא. 4. צמצום הפסדים במקרה של צורך באיסוף חזרה של מוצר בו התגלו מזהמים, מתאפשרת פעולה מהירה לסילוק מקור הזיהום ממדפי החנויות. 5. משתפרת הבקרה על יצור המוצרים ותמחרם למשל ניתן לאבחן בין משק המייצר בשר איכותי ומבוקש למשק אחר ולתמחרו בהתאם ולטפל נקודתית בבעיות יצור במשק בעייתי. שיפור הבקרה כולל גם חיסכון בזמן לחקלאי הנובע מזיהוי מדויק ואוטומטי של הפרטים בעדר. משבר ספגת המוח ("הפרה המשוגעת") הוביל מדינות המייצרות בשר ליישם דרגות שונות של מערכות נעקבות בבקר. מבחינה זאת, יפן (תמונה 1) היא המדינה המתקדמת ביותר בה מעוגנת בחקיקה מערכת הכוללת: 1- תג-אוזן. 2- דגימות DNA מזמן התיג ומזמן השחיטה, המסומנות במספר הנשמר במאגר נתונים לאומי, האוגר גם נתונים על גיל, מצב הבריאות וההאכלה של החיה. 3- סימון המוצר המשווק במספר האמור. מערכות לאומיות לזיהוי בעלי חיים, המחויבות על פי חוק נהוגות בישראל, באוסטרליה, בקנדה ובאיחוד האירופאי וכוללות דרישה לרישום בעל החיים, המלווה בזיהוי במספר

יחודי וסימונו בשני תגי אוזן ממשלתיים. בישראל היה נהוג תג יחיד אבל במרכז האחרון שפורסם בימים אלה (אוקטובר 2006) נדרשים שני תגי פלסטיק, האחד בכל אוזן גם בישראל. באנגליה חויב משנת 1996 שינוע בקר בדרכו לכל פרט. הדרכון מתעד את מספר הרישום, מקום לידתו והאתרים בהם שהה. בקנדה תג זיהוי שכלל בר-קוד, מוחלף החל משנת 2004, בהדרגה, בתג אוזן אלקטרוני (RFID – Radio Frequency Identification).

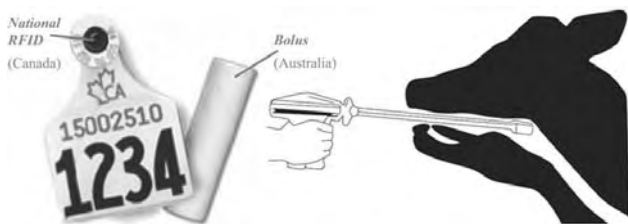


**נעקבות ביפן.** מחשב זה במרכז יפני הוא חלק ממערכת בטיחות המוצר. המערכת מאפשרת ללקוח לקבל מידע על הבשר שירכשו. על עטיפת המוצר מופיע קוד זיהוי בן 10 ספרות. באמצעות הקוד מקבל הצרכן את רשומת הייצור שכוללת: נעקבות מלאה לחקלאי המגדל, אישור ממשלתי על בדיקת BSE, תיעוד החיסונים, המחלות והאנטיביוטיקה שנתנו לחיה ותמונה של המגדל. המערכת גם נגישה דרך האינטרנט מכל מחשב ביתי. צילום מתוך המאמר המסכם: Clemens R. MATRIC Briefing Paper 03-MBP 5 2003

**תמונה 2. שבר זיהוי אלקטרוני להשתלה מתחת לעור.** תגי RFID פסיביים מצוידים בשבר שמאוכסן בו מספר הרישום, וכן באנטנה זעירה. לתג אין מקור אנרגיה פנימי ואת האנרגיה שהוא זקוק לה לפעולתו הוא מקבלת מקרינת רדיו המשודרת לעברו ממתקן סריקה, שפולט קרינת רדיו הנקלטת באנטנה הזעירה וגורמת למעבר זרם חשמלי קטן באנטנה. הזרם החשמלי עובר אל השבר ומשמש לשידור אות רדיו מתוכו, הנושא את מספר הזיהוי. תגים אקטיביים הם בעלי סוללה המגדילה את טווח השידור.

במקרים רבים נדרשנו לזהות עגלים גנובים מבלי שנשמרה דגימת רקמה מהם על ידי החקלאי, אומנם ניתן תאורטית להוכיח בעלות על פי הפרופיל בגנטי של ההורים, אך מחיר הבדיקות מאמיר ונעשה בלתי כלכלי. שיטות אבחון חדשניות ברמת הדנ"א מאפשרות את קביעת הזהות הייחודית של פרט גם מדגימת רקמה זעירה. ממומלץ על כן לחקלאי המעוניין, שתהיה בידו הוכחה לבעלותו ואין ידו משגת להתקין את התג האמור, שישמור במעטפה, במקום יבש וקריר, ובה קבוצת שערות (שלוש שערות לפחות) על שורשיהן מכל פרט שבבעלותו.

הסטנדרט הבין לאומי (ISO11784) מגדיר את מבנה הקוד הספרתי שאגור בתג. במבנה זה מוקצות 15 ספרות למספר הזיהוי היחודי, הבין לאומי, של בעל החיים. שלוש הספרות הראשונות מצינות את המדינה (למשל 376 עבור ישראל). שאר 12 הספרות הן מספר הזיהוי הלאומי שבאחריות המדינה להקצות. תגי זיהוי בתדר רדיו קיימים כבר למעלה מחמישים שנה אך בעשור האחרון קטנו ממדיהן עד כדי כך שכעת ניתן לשתלם מתחת לעור (תמונה 2) או לסמן באמצעותם בעלי חיים זעירים כדבורים. יתרונם על סימון בר-קוד אופטי נובע מכך שאין קריאתם מצריך קו ראייה בלתי מופרע. טווחי הקריאה הטיפוסיים נעים בין 15 ל-90 ס"מ לקוראים ניידים או ניחים, בהתאמה. חסרון ה-RFID הוא



תמונה 3. תגי זיהוי בתדר רדיו. משמאל: תג אוזן, חובה בקנדה. מימין: בולוס מומלץ באוסטרליה

ההפרעה הנגרמת מברזלים בסביבת האנטנה המעוותים את השדה המגנטי שמשרה (השראה) האנטנה ומקטינים את טווח הקליטה של השבב. השימוש בתדר רדיו מאפשר מיקום התג המזהה בתוך גוף החיה שמגן עליו משחיקה או נפילה. ניתן להזריק את שבב הזיהוי במקומות בהם קיים סחוס דחוס, פעולה פשוטה שניתן לבצע בהדרכה מינימלית עם סימון העגל הנולד. החדרת השבב לקיבה (תמונה 3) היא

פעולה מסובכת יותר שמצריכה וטרינר ואינה מתאימה לעגלים מתחת לגיל שלושה חודשים. תג זיהוי אלקטרוני מאפשר זיהוי אוטומטי של בן-בקר בנקודות מפתח. זיהוי הבקר בהליכה על מאזני גשר וצימוד הנתונים עם נתוני משקל. אנטנה הממוקמת ליד שקתות המים במרעה מאפשרת איתור מהיר של עגל חולה או נטרף. אנטנה בשילוב עם מתקן האבסה אוטומטי מאפשרת הקצאת מזון מרוכז לפרטים מסוימים בהתאם לתרומתם הכלכלית או מצבם הפיסיולוגי. ברפת, חשוב לצמד את זיהוי הפרה במכון החליבה עם נתוני תפוקה כגון תנובת חלב. לכן, בשנת 2000 פותח בישראל תג זיהוי פסיבי זול אבל בעל טווח קריאה מוגדל של עשרות מטרים. הפיתוח תועד בספרות המקצועית אבל התג לא מוסחר משום שאינו תואם את תקן ISO, שבדיוק אז אומץ על ידי חלק ממדינות אירופה (Halachmi and Braiman 2000). תג זיהוי אלקטרוני יכול לתעד נתוני בעלות, בריאות, ונתונים אחרים החשובים לנעקבות. הסטנדרטים והאמצעים לעדכון הנתונים פותחו זה מכבר.

גניבת עגלים ופרות נחשבת בישראל למכת מדינה. הנהגת סימון של עדר הבקר בתגי זיהוי אלקטרוניים נשקלת על ידי גופים ממשלתיים בניהם השרות הוטרינרי הפועל להנהגת תג אוזן אלקטרוני לפי חוק. מנהל השירותים הוטרינריים הקים בשנת 2005 וועדה בראשות דר' אילן הלחמי ממינהל המחקר החקלאי (משרד החקלאות) שקבעה את התג האלקטרוני שיונהג בישראל. משמר הגבול בצע ניסיון סימון עגלים בהזרקת שבבים, בדומה לסימון הנהוג בכלבים. הזרקה תקשה על הגנבים הנוהגים לתלוש תגי אוזניים, אך אין בו הגנה מושלמת אם השבב ניתן לנטרול. נוסף לכך מתרבים המקרים של שחיטה בשטח, בהם מסתפק הגנב בנתחים היקרים של הפרה, כאשר החלקים המסומנים נותרים באתר. פתרון שעשוי לספק בסיס להרשעה של הגנב הוא שימוש בפרופיל הגנטי היחודי של כל פרט בעדר כסמן לזיהויו. הבעיה בפתרון זה היא מחיר האנליזות הנדרשות לקביעת הפרופיל הגנטי ובזמן הארוך יחסית הנדרש לבצוען במעבדה. תג המנצל את ניקוב האוזן לדגימת רקמה (תמונה 4) הוא אמצעי חדשני לסמון העדר.

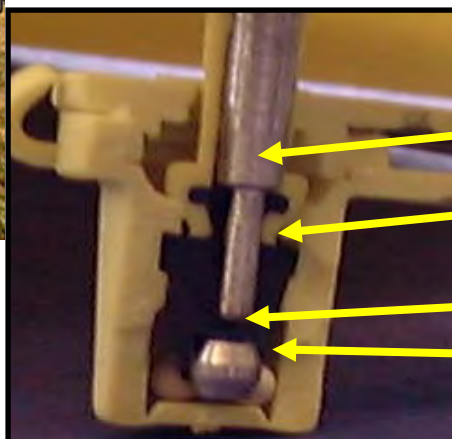
במקרים רבים נדרשנו לזהות עגלים גנובים מבלי שנשמרה דגימת רקמה מהם על ידי החקלאי, אומנם ניתן תאורטית להוכיח בעלות על פי הפרופיל בגנטי של ההורים, אך מחיר הבדיקות מאמיר ונעשה בלתי כלכלי. שיטות אבחון חדשניות ברמת הדנ"א מאפשרות את קביעת הזהות הייחודית של פרט גם מדגימת רקמה זעירה. ממומלץ על כן לחקלאי המעוניין, שתהיה בידו הוכחה לבעלותו ואין ידו משגת להתקין את התג האמור, שישמור במעטפה, במקום יבש וקריר, ובה קבוצת שערות (שלוש שערות לפחות) על שורשיהן מכל פרט שבבעלותו.

#### תמונה 4. תג אוזן המשמש גם כדוגם רקמה.

מצבטים תואמים מתקינים את התג על האוזן. בעת ההתקנה, טבעת מתכתית מנקבת את האוזן והרקמה נאספת ונאטמת בתא מסומן בבר-קוד. חומר סופח מים בתא משמר את הרקמה לטווח ארוך בטמפרטורת החדר. פעולת הניקוב מונעת לחץ ברקמה ומחישה את ריפוי הפצע בניגוד לתגים המבוססים על החדרה בלבד.



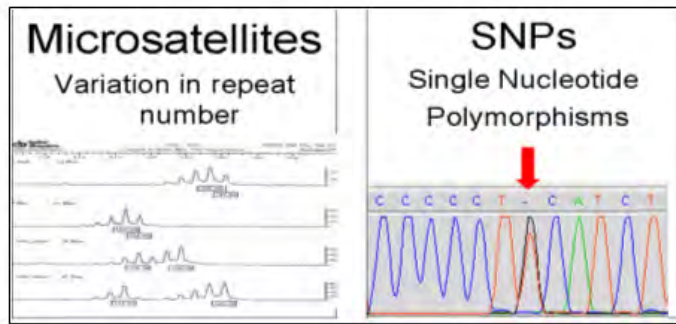
תג האוזן מיד אחרי התקנתו עם תא הדגימה הנתיק.



חתך בתא הדגימה בעת הניקוב.  
פין המצבט  
פקק אוטם  
טבעת מנקבת  
חומר מיבש

יחידת הפיצו"ח (פיקוח חי וצומח) של המשרד החלואות דווחה לאחרונה על תפיסת בשר בקר, שנשחט באופן לא חוקי, ושחלקו היה בתוך אריזות של חברת "זוגלובק", בכלי רכב של תושב המשולש. הבשר שהועבר ללא קירור ובתנאים סניטריים לא ראויים מצא את דרכו למסעדות בתל אביב. הנהגת נעקבות המתבססת על הפרופיל הגנטי חיונית, על כן, במשק הישראלי הסובל גם מהפצה של בשר מזויף. ישום כלכלי של נעקבות גנטית תלוי בהזלתה. האנליזה של הסמנים הגנטיים הקיימים מסובכת ודורשת מומחיות רבה. סמנים גנטיים, המבוססים על שינוי בסיס יחיד (SNP – Single Nucleotide Polymorphism), הם בעלי אופי בינארי המתאים ליישום במערכת קריאה ממוכנת. הורדת העלויות של קביעת הפרופיל הגנטי צפויה עם המעבר לשימוש בסמני SNP, במקום הסמנים המיקרוסטליטים המקובלים (תמונה 5). כ- 20 סמני SNP יעניקו מובהקות סטטיסטית העולה על זאת שמתקבלת בשימוש בסמנים המיקרוסטליטים המקובלים לקביעת אבהות (ולר ושו"ת 2006)

לסכום, זיהוי אלקטרוני מאפשר שליטה אוטומטית בתקופת הגידול וזיהוי מהיר של הפרטים בעדר. נעקבות אחרי השחיטה רצוי שתהיה מבוססת על זיהוי גנטי של הפרט בעדר. זיהוי גנטי הוא הפתרון המועדף לזיהוי מהימן של הבשר לאורך כל שלבי הייצור והצריכה. ההכרה בערך נעקבות להגנה על הצרכן, להעלאת אמון הצרכן ולשיפור כלכלי הובילה מדינות רבות להפעיל נעקבות בדרגות שונות. מוצע בתחילה להנהיג מערכת נעקבות, בקנה מידה מצומצם, המבוססת על איסוף אוטומטי של דגימות רקמה בעת סימון העגל בתג האוזן. הדגימות ישמרו לטווח ארוך במאגר לאומי. קביעת הפרופיל הגנטי תידחה למקרים בהם יש צורך לאתר מקור זיהום, זיוף, או להוכיח בעלות על בקר גנוב. ניתן לשלב במערכת זאת סריקה לגנים המשפיעים על תכונות כלכליות ולגורמי זיהומים ומחלות. שילוב התג הגנטי עם שבב אלקטרוני מצטייר כפתרון מועדף, שצפוי ישומו בישראל בקרוב. היוזמה זאת להנהגתו, משותפת לארגון מגדלי בקר לבשר, למנהל למחקר חקלאי, ולשרותים הוטרינריים ותמקם את ישראל בשורה הראשונה של המדינות המתקדמות בתחום.



כרומטוגרמות של סממים גנטיים  
כפי שמתקבלות במכשיר קביעת  
הרצף

## 2.2 מטרות המחקר

הנהלת משרד החקלאות החליטה לקיים ניסויי שדה בתגים מתקדמים. הניסויים יבחנו יעילות התג האלקטרוני והתג הגנטי. המחקר יכלול ארגון, תיעוד, אנליזה ותיאום של נסיונות השדה במטרה לגבש המלצות לקראת הנהגה של תגים אלה בתקנות השירותים הוטרינאריים. מטרת המחקר היא לפתח תפיסת הפעלה משולבת לתג זיהוי אלקטרוני (עד השחיטה) ותג זיהוי גנטי (ממועד השחיטה כאשר העגלה/ חולק לחלקיו).

## 3. פירוט עיקרי הניסויים.

נערך ניסיון שדה מטעם השרותים הוטרינאריים בשיתוף שלוש חברות, שנבחנו בשני אתרים, כרי דשא (בקר לבשר) ורפת גת (בקר לחלב). היקף כל חברה כ- 800 תגי אוזן, מתוכם כ-250 תגי שבב אלקטרוניים והשאר תגי פלסטיק. הבקר סומן בשתי האוזניים, כאשר כל המידע שמופיע על התווית מלפנים נראה גם מאחור והיה זהה באוזן ימין ובשמאל וכלל את המספר הממשלתי ובר-קוד של 12 ספרות (שלושת הספרות הראשונות היו סמל המדינה, 7 ספרות הפעילות והספרה האחרונה ספרת בקורת). השבב נכלל רק באחד מזוג התגים והוספת השבב לא שנתה את צורת התווית ועיצובה. מעקב אחרי השבבים נעשה בעזרת קוראים ניידים שהותקנו בשני האתרים (תמונה 6). עיקר הממון בשנה זאת הופנה לרכישת קורא נייד המתאים גם לקריאת בר-קוד. קליטת מכשור זה, לאחר התאמת התוכנה לסטנדרט התגים האמור, הסתיימה בימים אלה.

חברת בקטום בחרה להתקין במקום 400 תגי פלסטיק רגילים תגים גנטיים. סיכום הניסוי והמכרז עוד לא אושרו לפרסום על ידי השרותים הוטרינאריים.





### תמונה 6. שער ובו מאזני שקילה ואנטנת RFID, נסוי שדה ברפת קבוץ גת.

פרות סומונו בתגי זיהוי בתדר רדיו משלוש חברות שונות. הזיהוי האוטומטי וההדירות שלו נבחנים בעת מעבר בשער בין מכון החליבה לסככת הרביצה. בקטע העליון מופיעה האנטנה, המוגנת בלוח עץ. בקטע התחתון מופיעה פרה העומדת על מתקן השקילה, בעת מעבר בשער. האנטנה שממוקמת מאחורי לוח העץ מספקת את נתון הזיהוי בצמוד למשקל הנמדד על ידי מאזני הגשר האוטומטיות. במצב יחודי המתואר בתמונה זאת נצמדה חברתה מהצד השני של הלוח, מצב שעלול לשבש את הנתונים המתקבלים.

### 3.1 מעקב אחר שרידות התגים.

למרות שתגים משתי לוחיות המנקבות את האוזן פותחו כבר במאה התשע עשרה, מעטה האינפורמציה בספרות המדעית לגבי שרידותם ברפת. פתחנו שיטה שמקלה על הערכת שיעור השרידות. השרידות השנתית שאיתרנו היתה נמוכה מהצפוי (0.9) על בסיס מבחן שדה ארוך טווח (מעל שלוש שנים). מבנה התג וממשק העולים התגלו

כגורמי מפתח בשיעור השרידות. הממצאים סוכמו במאמר (רצ"ב) שהוגש לכתב העת *Journal of Dairy Science* Seroussi E, Yakobson E, Garazi S, Oved Z, Halachmi I. (2011) Long-term survival of flag eartags on the Israeli dairy farm.

### 3.2 אנליזה גנטית של סמנים של שינוי בבסיס יחיד.

בשיתוף חברת בקטום הדנ"א שמוצה מתגים גנטיים שהותקנו בניסוי השדה נבחן בנסוי נעקבות (Traceability) שסוכם במאמרו Karniol et al., 2009. מערכת הסמנים המוצגת במאמר זה נמצאה מתאימה וכלכלית ליישום בישראל.

### 3.2.1 פתוח תוכנת *SNPmplexViewer*.

כדי להפחית את מחיר האנליזה הגנטית פתחנו תוכנה שמאפשרת בצוע ראקצית *SnaPshot* ללא שמוש בסמני גודל פלאורוצנטים. ראגנט זה מהווה כמחצית מעלות הראקציה. התוכנה *SNPmplexViewer* מטביעה אלקטרונית סמני גודל בכרומטוגרמת המטרה שהתקבלה מראקציה ללא סמני גודל על ידי השואתה לכרומטוגרמת יחוס שהיא תוצר ראקציה שבוצעה בנוכחות הסמנים. התוכנה נתנת להפעלה מאתר האינטרנט <http://cowry.agri.huji.ac.il/cgi-bin/SNPmplexViewer.cgi> ומאמר המתאר אותה (רצ"ב) התקבל לפרסום:

Seroussi Y, Shirak A, Seroussi E. (2011) *SNPmplexViewer*—toward a cost-effective traceability system. *BMC Research Notes*, In press.

### 3.3 שמוש בלולאת D במיטוכונדריה כסמן גנטי.

מכיון שהמיטוכונדריה מופיעה באלפי העתקים לתא שמוש בדנ"א ממקור זה רווח בזיהוי פלילי, בעקר מדגימות שניזוקו. נבדק אזור לולאת D של המיטוכונדריה שמתאפיין בשונות רבה (תמונה 7). במדגם של 107 פרטים זיהינו 90 אללים הפלוטיפיים שונים. הפלוטיפ השכיח מביניהם הופיע שש פעמים. בשישה עשר פרטים (15%) זוהתה הטרופלזיה (תמונה 7). בד"כ פרטים אלה כוללים שני אללים בעלי שינוי באורך רצף הנקלאוטידים C בעמדות 614-619 של תוצר



ה-PCR שאופין. לעיתים גם בזמן ההכפלה במבחנה נוצרים תוצרים עם שנויי אורך דומים, דבר המסבך את האנליזה ביחוד של הרצף הנקבע מהכיוון ההופכי ולכן עדיפה קביעת הרצף מהפריימר הקדמי בלבד. בבסיס 90 ההפלוטיפים שאותרו צרופים שונים של 56 מוטציות שונות, יחסית לרצף הגנום המטוכונדריאלי של בקר, המרוכזות באתרים היפר-וריאבליים לאורך הרצף (תמונה 7). בסקר זה אובחנו 9 מוטציות שלא תוארו עד כה בבקר. תוצאות אלה דווחו במאמר Seroussi, E., & Yakobson, E., (2010).

#### 4. סיכום ומסקנות

קיימת תשתית לבחינת הנהגה של תגים מתקדמים לעדר הבקר בהיקף לאומי. פיתוח הסמן המטוכונדריאלי ואפיון האללים שלו יאפשר שמוש בדנ"א ממקור זה בזיהוי פלילי, בעקר מדגימות שניזוקו. משום שרצף זה מורש באופן אימהי, קיים בו מגוון נרחב בניגוד לרצפים ממקור אבהי, שמועברים על ידי מספר מצומצם של פרי הזרעה, ולכן הוא מהווה פיתרון מצוין לתמיכה בזיהוי אינדיבידואלי של פרטים, בנוסף למערכות הסמנים הקיימות. קיימת בעיתיות בסמן זה עקב תופעת הטרופלזיה ודרוש פיתוח שיאפשר קביעה ממוכנת אמינה של האללים המעורבים במקרי הטרופלזיה. במהלך ניסויי השדה הקיימים מדדנו שרידות התגים ותפקודם ותוצאות שולבו בדו"ח השו"ט שיפורסם בכפוף לפרסום תוצאות המכרז. המעקב אחר התגים האמורים הסתיים בהתאם לתוכנית המחקר והתוצאות פורסמו. המידע שהתקבל ממחקר זה ישתלב בהכנת החוק והתקנות הקשורות בו בהתאם להצעת חוק חובת סימון בקר והקמת מאגר גנטי, התשס"ט-2009 של החכ"ים א. אריאל וש. חרמש שאושרה בוועדת השרים לענייני חקיקה.

#### 5. רשימת ספרות

Staden, R., Beal, K.F. and Bonfield, J. K., (2000) The Staden package, 1998. *Methods Mol. Biol.*, 132, 115-130.

Karniol, B., Shirak A., Baruch, E., Singrün, C., Tal, A., Cahana, A., Kam, M., Skalski, Y., Brem, G., Weller, J.I., Ron, M., Seroussi, E. (2009) Development of a 25-plex SNP assay for traceability in cattle. *Animal Genet.* 40, 353-356

Halachmi I., Braiman M. (2000) Remote Animal Identification and Location. *Proceeding of The ASAE Annual International Meeting*, paper #004080, July 9-12, Milwaukee, Wisconsin, USA

Halachmi I; Andrei R; Uner E; Malamud R; Keren Z; (2001) Method and apparatus for electronic identification of small ruminants such as sheep and goats using RF antenna built-in the milking cups and nearby ID tag attached to animal's leg. Patent application no. 005747 (10/2001)

Grossman L. (2002) Meet the chipsons. *Time.* 159:56-57.

Ron, M., Domochofsky, R., Golik, M., Seroussi, E., Ezra, E., Shturman, C., Weller, J. I. (2003) Analysis of vaginal swabs for paternity testing and marker-assisted selection in cattle. *J. Dairy Sci.* 86, 1818-1820

Seroussi, E., & Yakobson, E., (2010) Bovine mtDNA D-loop haplotypes exceed mutations in number despite reduced recombination: an effective alternative for identity control. *Animal* 4: 1818-1822.

Weller J. I., Seroussi E., and Ron M. (2006) Estimation of the number of genetic markers required for individual animal identification accounting for genotyping errors. *Animal Genet.* 37, 387-389.



**Fig. 7 Development of genetic marker in the D loop region of the bovine mitochondrial DNA (mtDNA).** GenBank nucleotide database was BLAST searched for records containing sequence of the D loop region of the bovine mtDNA and the 243 records obtained were downloaded, assembled using GAP4 (Staden, 2000), and compared to the reference mitochondrial genome (NC\_006853). The variations encountered were labeled (blue boxes) below the delineation of the D-loop region. Primers (Forward-GCCCATACACAGACCACAGA; Reverse-GGGGCCTGCGTTTATATATTG) amplifying a 773 bp PCR product (positions 15921-16338; 0-355 on NC\_006853) were designed in regions without recorded variation. To test this design and to further record its allele-variations we sequenced from both directions 107 PCR products obtained from different individuals (Bactochem DNA bank, Karniol et al., 2009) and purified from the electrophoresis gel. Variations encountered in our sample were labeled (brown boxes) above a 732 bp of the de-novo sequenced D-loop region. An example sequence of this PCR product sequence between positions 70-150 is presented below the region delineation and arrows are pointing from this drawing towards the matching sequence in Join Editor where the actual differences between an individual sample and the reference sequence is visualized (red exclamation marks). Below the Join Editor the actual corresponding chromatogram is presented and double peak indicating mitochondrial heteroplasia in this particular individual is observed below the base that was not called (red box).

מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
מטרת המחקר היא לפתח תפיסת הפעלה משולבת לתג זיהוי אלקטרוני (עד השחיטה) ותג זיהוי גנטי (ממועד השחיטה כאשר העגלה/חולק לחלקיו).
עיקרי הניסויים והתוצאות.
התנהלו ניסויי שדה בהיקף של כ-750 תגים אלקטרוניים ו-400 גנטיים.
נבחנו יעילות מערכת נעקבות המבוססת על 25 סמנים של שינוי בבסיס יחיד.
פותח סמן גנטי המבוסס על רצף לולאת D במיטוכונדריה של בקר.
מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?
מטרות המחקר לתקופת הדו"ח הושגו חלקית ולא יושמה החלטת הנהלת משרד החקלאות בדבר ניסוי שדה נרחב בבקר.
מוצע ליישם הקמת מאגר מידע גנטי לבקר במסגרת הצעת חוק חובת סימון בקר והקמת מאגר גנטי, התשס"ט-2009 של החכ"ים א. אריאל וש. חרמש שאושרה בועדת השרים לענייני חקיקה.
בעיות שנתרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית המחקר?
צפוי שהמידע שהתקבל ממחקר זה ישתלב בהכנת החוק האמור ובכך יושגו מטרות המחקר המוצעות. המכשולים העיקריים הם בירוקרטיים ומשפטיים והתנהלות איטית של הועדות המעורבות.
הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: <b>פרסומים בכתב</b> - <u>ציטט</u> ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; <b>פטנטים</b> - יש לציין שם ומס' פטנט; <b>הרצאות וימי עיון</b> - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל בפרסום מאמר מדעי.
Karniol B, Shirak A, Baruch E, Singrün C, Tal A, Cahana A, Kam M, Skalski Y, Brem G, Weller JI, Ron M, Seroussi E. (2009) Development of a 25-plex SNP assay for traceability in cattle. <i>Anim Genet.</i> 40, 353-356
Seroussi E. & Yakobson E., (2010) Bovine mtDNA D-loop haplotypes exceed mutations in number despite reduced recombination: an effective alternative for identity control. <i>Animal</i> 4 1818-1822.
Seroussi Y, Shirak A, Seroussi E. (2011) <i>SNPmplexViewer</i> —toward a cost-effective traceability system. <i>BMC Research Notes</i> In press.
פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)
רק בספריות <
<b>לא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) X</b> <
חסוי – לא לפרסם <
האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? לא