



מדינת ישראל
המשרד לביטחון הפנים
לשכת המדען הראשי

גילוי חומר נפץ על ידי חולדות: בדיקת היתכנות ראשונית

פרופ' יוסף טרקל
עיריית גזית

המרכז ליישום התנהגות בעלי חיים למשימות ביטחוניות
המחלקה לזואולוגיה אוניברסיטת תל אביב

דצמבר, 2003

גילוי חומר נפץ על ידי חולדות:

בדיקת היתכנות ראשונית

פרופ' יוסי טרקל

המרכז ליישום התנהגות בעלי חיים למשימות ביטחוניות

המחלקה לזואולוגיה אוניברסיטת תל אביב

המחקר המדווח בזה נערך ובוצע בתמיכת לשכת המדען הראשי שבמשרד לביטחון הפנים. המשרד לביטחון הפנים מעודד את החוקרים המבצעים איתה מחקרים במימון ממשלתי, לבטא באופן חופשי את חוות דעתם ושיפוטם המקצועי במהלך ביצוע הפרוייקט. ההצעות וההשקפות המצויות בדו"ח זה אינן משקפות בהכרח עמדתה ו/או מדיניותה הרשמית של מדינת ישראל ו/או המשרד לביטחון הפנים.

דצמבר, 2003

תודות

לפרופ' ישראל ברק, המדען הראשי של המשרד לבטחון פנים ולמר רוני בורוכוב,
עבור התמיכה ועידוד המחקר.
לדר' אלן גולדבלט עבור ייעוץ מקצועי.
לדני, אמיתי ונירית מצוות המחקר, עבור ההתמדה והתושיה לכל אורך הדרך
בביצוע המחקר.
לעירית גזית עבור עזרתה הרבה בסיכום וכתיבת המחקר.
לעידית בלייס לובר עבור הרקע הספרותי בנושא חוש הריח.

תוכן עניינים

עמוד

5	תקציר
7	תקציר מנהלים
9	מבוא : מבנה חוש הריח
14	מטרות המחקר
15	שיטות וחומרים
15	חיות
15	החזקת החולדות
15	חומרי ריח
16	מערכת חילוף אוויר בחדר
16	מבנה המערכת
22	מהלך הניסוי
23	איור 5-1 : מהלך הניסוי מבחינת החולדה
24	איור 5-2 : מהלך הניסוי מבחינת המערכת
25	שלבי אימון החולדות
28	תוצאות
33	דיון ומסקנות
35	המלצות
36	מחקר המשך
37	רשימת ספרות
A	תקציר באנגלית
C	תקציר מנהלים באנגלית

תקציר

לחוש הריח יש תפקיד מכריע בחיי החולדות. כאשר גור חולדה נולד, חושי השמיעה והראייה שלו אינם מפותחים עדיין, ועליו להסתמך על סימני ריח כדי לזהות את אמו ולאתר את חברי השגר. מאוחר יותר במהלך חייהן, חולדות מבצעות שימוש נרחב בכל החושים, אך לחוש הריח נשאר תפקיד חשוב בהתנהגויות שונות כגון: מציאת מזון, מציאת בן-זוג והתחמקות מטורפים.

האמצעים הקיימים היום לגילוי חנ"מ מבוססים על מיכשור טכני או על כלבים. המכשור הטכני הוא גם יקר מאוד וגם אינו בר הזזה ממקום למקום, כך שהמגבלה העיקרית הכרוכה בשימוש בו היא הצורך להביא את החפץ החשוד למכונת הגילוי עצמה. הכלבים, להבדיל מהמכשור הטכני, מסוגלים להגיע לכל מקום, הן למקומות חשודים הנמצאים בתוך מבנים והן לכל נקודה בשטח פתוח.

לאחרונה החלו להשתמש בחולדות לצורך איתור מוקשים אך עדיין יש לחשוב פעמיים על האפשרות של שימוש בחולדות לגילוי אמל"ח בשטחים פתוחים. לעומת זאת, ניתן לשנע חולדות ממקום למקום בהתאם לצרכים ייחודיים. לכן, אם אכן ניתן לאמן חולדות לגילוי חנ"מ, הרי שאפשר יהיה במידה מסויימת למלא באמצעותן את החוסר הקיים באמצעים לגילוי חנ"מ, וזאת עקב העלייה במספר המקומות שבהם יש חשש להכנסת חנ"מ.

הניסוי המתואר בוצע על מנת לבדוק האם חולדות מסוגלות לזהות ריח חנ"מ ולסמנו באמצעות אינדיקציה התנהגותית וכן על מנת לפתח מכשור אשר יאפשר אימון מהיר, איכותי ויעיל של מספר חולדות בו זמנית. במהלך הניסוי נבדקו 11 חולדות נאיביות אשר הושמו במערכת הנשלטת על ידי תוכנת מחשב הקובעת את סדר ותדירות הופעת הריחות בתא בו נמצאת החיה. החולדה בודקת את הריח הנישא באוויר המגיע אליה וכאשר "מחליטה" לסמן על הימצאות הריח הרצוי היא נוגעת בשוקת המים (פעולה הגורמת לסגירת מעגל חשמלי) וכך מועבר איתות למערכת הבקרה (ומשם למחשב), כתוצאה ממנו ניתנת לחולדה טיפת מים כחיזוק. כיום ישנן 8 חולדות עובדות. בשלב זה, התוצאות שהתקבלו עד כה אכן מאשרות שחולדות מסוגלות להבחין בין ריחות שונים, כפי שנאמר לעיל. עתה יש בידינו מערכת אמינה להמשך המחקר, דבר שלא היה בנמצא קודם לכן. החולדות בניסוי הגיעו עד לרמה של כ- 95% זיהוי נכון של הריח, לעומת אחוז שגיאה נמוך של 5%, כאשר החולדות מגיבות לאוויר ללא ריח כמו לאוויר עם הריח הנלמד.

בבדיקה ראשונית זו נבחנה יכולת החולדות לזהות שמן אניס ולהבחין בינו לבין שמנים ריחניים אחרים. בשלב הבא יש להמשיך ולבדוק, באותה מערכת ולפי

אותה שיטה, את יכולת החולדות לזהות חומרי נפץ שונים (תקינים ומאולתרים),
וכן את רמת רגישות החולדות לכמויות קטנות.

המערכת המתוארת בדוח זה משמשת להכשרת החולדות ולשמירה על כשירותן
לכל אורך תקופת פעילותן המבצעית. לצורך יציאת החולדות לפעילות יש לפתח
מערכת נשיאה ותפעול פשוטה אשר תאפשר העברת החולדה מהבסיס לאזור
הפעילות ותפעול החולדה בשטח.

למרות שדרגת האמינות של החולדות בזיהוי ריחות הוכחה כגבוהה, עדיין רצוי
שבכניסה למקום ציבורי יוצבו מספר מערכות, כך שיותר מחולדה אחת תבדוק את
הנכנסים למקום. דבר זה ישפר את אמינות הבדיקה.

תקציר מנהלים

1. האמצעים הקיימים היום לגילוי חנ"מ מבוססים על מיכשור טכני או על כלבים. המכשור הטכני הוא גם יקר מאוד וגם אינו בר הזזה ממקום למקום, כך שהמגבלה העיקרית הכרוכה בשימוש בו היא הצורך להביא את החפץ החשוד למכונת הגילוי עצמה. הכלבים, להבדיל מהמכשור הטכני, מסוגלים להגיע לכל מקום, הן למקומות חשודים הנמצאים בתוך מבנים והן לכל נקודה בשטח פתוח. אולם רכישתם, הכשרתם והחזקתם יקרה ודורשת כוח אדם מיומן.
2. היתרונות של השימוש בחולדות נובעים מהיותן בעלי חיים קטנים ונוחים לניוד, זולים, בעלי חוש ריח מפותח וקלים יחסית לאימון. בנוסף, ניתן להכשיר מספר רב של חולדות בו זמנית.
3. הניסוי המתואר בוצע על מנת לבדוק האם חולדות מסוגלות לזהות ריח חנ"מ ולסמנו באמצעות אינדיקציה התנהגותית וכן על מנת לפתח מכשור אשר יאפשר אימון מהיר, איכותי ויעיל של מספר חולדות בו זמנית.
4. במהלך הניסוי נבדקו 11 חולדות נאיביות אשר הושמו במערכת הנשלטת על ידי תוכנת מחשב הקובעת את סדר ותדירות הופעת הריחות בתא בו נמצאת החיה. החולדה בודקת את הריח הנישא באוויר המגיע אליה וכאשר "מחליטה" לסמן על הימצאות הריח הרצוי היא נוגעת בשוקת המים (פעולה הגורמת לסגירת מעגל חשמלי) וכך מועבר איתות למערכת הבקרה (ומשם למחשב), כתוצאה ממנו ניתנת לחולדה טיפת מים כחיזוק.
5. התוצאות שהתקבלו עד כה מאשרות שחולדות מסוגלות להבחין בין ריחות שונים. החולדות בניסוי הגיעו עד לרמה של כ - 95% זיהוי נכון של הריח, לעומת אחוז שגיאה נמוך של 5%, כאשר החולדות לא מגיבות לאוויר ללא ריח ומגיבות לאוויר עם הריח הנלמד.

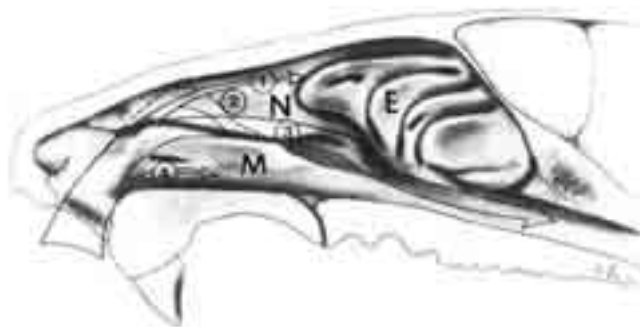
6. בבדיקה ראשונית זו נבחנה יכולת החולדות לזהות שמן אניס ולהבחין בינו לבין שמנים ריחניים אחרים. בשלב הבא יש להמשיך ולבדוק, באותה מערכת ולפי אותה שיטה, את יכולת החולדות לזהות חומרי נפץ שונים (תקינים ומאולתרים), וכן את רמת רגישות החולדות לכמויות קטנות.

7. המערכת המתוארת בדוח זה משמשת להכשרת החולדות ולשמירה על כשירותן לכל אורך תקופת פעילותן המבצעית. לצורך יציאת החולדות לפעילות יש לפתח מערכת נשיאה ותפעול פשוטה אשר תאפשר העברת החולדה מהבסיס לאזור הפעילות ותפעול החולדה בשטח.

למרות שדרגת האמינות של החולדות בזיהוי ריחות הוכחה כגבוהה, עדיין רצוי שבכניסה למקום ציבורי יוצבו מספר מערכות, כך שיותר מחולדה אחת תבדוק את הנכנסים למקום. דבר זה ישפר את אמינות הבדיקה.

מבוא : מבנה חוש הריח

לחוש הריח יש תפקיד מכריע בחיי החולדות. כאשר גור חולדה נולד, חושי השמיעה והראייה שלו אינם מפותחים עדיין, ועליו להסתמך על סימני ריח כדי לזהות את אמו ולאתר את חברי השגר. מאוחר יותר במהלך חייהן, חולדות מבצעות שימוש נרחב בכל החושים, אך לחוש הריח נשאר תפקיד חשוב בהתנהגויות שונות כגון: מציאת מזון, מציאת בן-זוג והתחמקות מטורפים (review in Brunjes & Frazier 1986, Amiri et al 1998, Kandel et al 2000). איבר ההרחה העיקרי הוא האף. בחלקו האחורי של האף מצויות קונכיות עצם המכוסות באפיתל ריח. קונכיות אלה הן בליטות עצם דקות, המפצלות את תעלת האוויר לסדרה של תעלות צינוריות למחצה (Romer & Parsons 1986) (איור 1). בחולדה אפיתל הריח מכסה חצי משטח חלל האף (Boorman et al 1990). איבר הרחה נוסף הוא איבר יעקובסון (vomeronasal organ). זהו מבנה קטן השקוע ברצפת אזור האף. במכרסמים רבים הוא נפתח לתוך חלל האף הראשי, ובשאר המקרים מתחבר איבר יעקובסון לפה, שדרכו נקלטות מולקולות הריח. סיבי התחושה של איבר יעקובסון מהווים ענף נפרד של עצב הריח, שמוליך לאונת הרחה מסייעת נפרדת במוח (accessory olfactory bulb) (Brunjes & Frazier 2000, Romer & Parsons 1986, Kandel et al 1986). לאיבר זה תפקיד חשוב בקליטת פרומונים ובהתנהגות המינית (Boorman et al 1990, Kandel et al 2000).



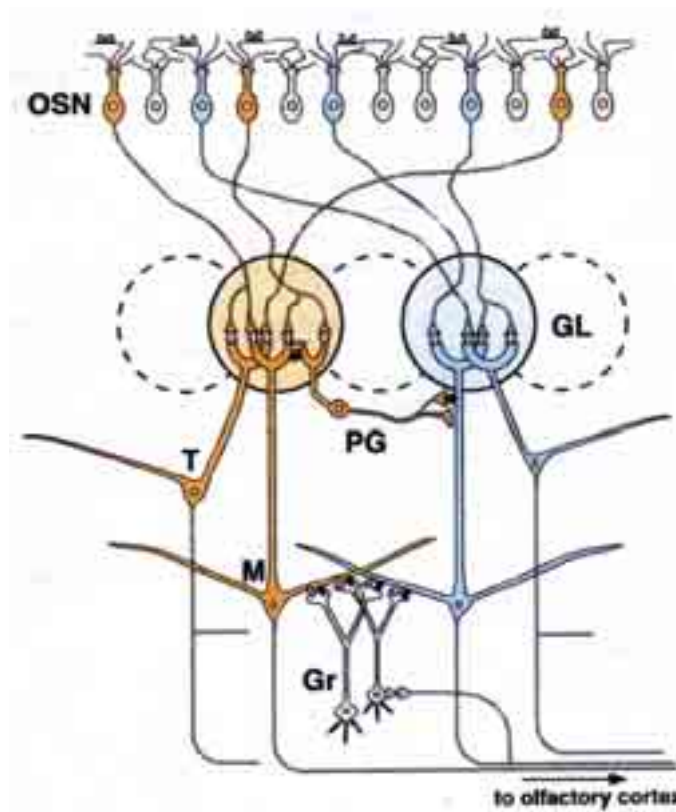
איור 1: חתך בגולגולת של חולדה. ארבעת החצים מציגים את אופן תנועת האוויר בתעלות האף.

(Morgan) Maxilloturbinate (M) ,Nasoturbinate (N) ,Ethmoid turbinate (E)
(et al 1989 in Boorman et al 1990).

מידע על מולקולות הריח נקלט בסופו של התהליך במערכת העצבים, אשר מסוגלת להבחין בין אלפי סוגי ריח שונים. פעולה זו מתבצעת על ידי אקטיבציה של רצפטורים המזהים מבנים כימיים שונים של המולקולות שבאות עימם במגע (Kandel et al 2000). כדי להתמודד עם המגוון הרב של מולקולות הריח, היונקים פיתחו כ- 1000 סוגים של רצפטורי-ריח. רצפטורים אלה נמצאים על פני שטח של הממברנה הריסית של תאי עצב תחושתיים באפיתל הריח (Mori et al 1999, Kandel et al 2000). אלה הם תאים ביפולארים. שלוחה יחידה של דנדריט יוצאת מגוף תא הרצפטור אל פני שטח האפיתל, שם היא מתפצלת לריסים דקים, הנמצאים בתוך שכבת המוקוס החיצונית המכסה את האפיתל. שלוחה זו מגיבה עם מולקולות הריח אשר נקלטו בשכבת המוקוס. השלוחה השנייה הארוכה יותר (אקסון) עולה לכיוון המוח. אקסונים של תאים שונים מצטרפים יחד ליצירת חבילות היוצאות מאזור אפיתל הריח ומגיעות לאונת הריח במוח (Olfactory bulb), שם הם יוצרים סינפסות עם תאי העצב שבאונה. תאי העצב התחושתיים שונים מרוב שאר תאי העצב של היונקים בכך שהם ממשיכים להיווצר במהלך חייה של החיה הבוגרת. תאי רצפטור חדשים נוצרים כל 30-60 יום מתאים בזאליים, ומכאן שהתאים באונת הריח יוצרים כל הזמן סינפסות חדשות. מאונת הריח, מועבר המידע על הריחות ל-olfactory cortex ומשם למגוון אזורים במוח האחראים על ההבחנה המודעת בריחות והשפעתם על הרגשות וההתנהגות. כמו כן, קיימת גם העברת מידע בכיוון ההפוך - מאזורי הריח שבקורטקס, המוח הקדמי והמוח האמצעי (כגון אזור ה-locus ceruleus) לאונת הריח. באופן זה קיים וויסות של תפקוד אונת הריח, כך שריחות מקבלים תפקיד התנהגותי שונה בהתאם למצבו הפיזיולוגי של בעל החיים. למשל, כאשר בעל החיים רעב תהיה עלייה ברגישות לריחות של מזון (Kandel et al 2000).

אפיתל הריח בעכבר מכיל יותר משני מיליון תאי עצב תחושתיים. תא עצב יחיד מבטא סוג אחד בלבד של גן של רצפטור ריח, מתוך מבחר של עד 1000 גנים. תא העצב התחושתי שולח אקסון יחיד לתוך גלומרולר יחיד. גלומרולר אחד מייצג כנראה סוג יחיד של רצפטור ומכאן שהוא מכוון להגיב רק על תכונות ספציפיות של מולקולות חומרי הריח. האופן שבו נקלט הריח במוח נקבע על ידי הקומבינציה של מבני גלומרולר שעוברים אקטיבציה. זה הדין לגבי ריח המורכב ממולקולה יחידה וכן לגבי תערובת של מולקולות ריח. ללא קשר למורכבות של מולקולות הריח שנפלטות מאובייקט מסוים, איכות הריח נקבעת בעזרת שילוב ספציפי של

מבני גלומרולר שעברו אקטיבציה ברמה של אונת הריח, שהיא האתר הראשון שבו מתבצע עיבוד הריח במוח (review in Mori et al 1999, Kandel et al 2000). ייחודה של מערכת הריח בכך שהיא נמצאת במצב משתנה לאורך כל חיי בעל החיים ועל ידי כך מאפשרת למידה גם בגיל בוגר. בנוסף להתחדשות התמידית של תאי הרצפטור, קיימת הגירה של תאים מהאזור ה-subventricular של הקורטקס לאונת הריח, שם הם עוברים דיפרנציאציה לתאי granule (איור 2). הגירה זו מתרחשת לא רק בתקופה שלאחר הלידה, אלא נצפתה גם בבוגר. תאים אלה יוצרים סינפסות עם תאי mitral, שלהם תפקיד חשוב בשלבים הראשונים של תהליך למידת הריח. לאונת הריח תפקיד חשוב כמתווך בין רצפטורי הריח למוח, והיא משתתפת באופן ישיר בעיבוד הראשוני של הריח ליצירת זיכרון הריח. כל שדר שנכנס לאונה מנותח ומעובד למסר ספציפי, שעובר לקורטקס, בהתאם למידע הקודם על הריח (review in Keverne 1995).



איור 2: שרטוט בסיסי של תאי העצב והסינפסות באונת הריח ביונקים. OSN הם תאי העצב הסנסוריים של חוש הריח (olfactory sensory neuron). שני מבני גלומרולרי (GL), בצבעים חום וכחול, מייצגים שני סוגים שונים של רצפטורי ריח.

תאי העצב (M) mitral ו-(T) tufted שולחים שדרים אל מחוץ לאונה, ותאי העצב (Gr) granule ו-(PG) periglomerular הם תאים מקומיים מתווכים (Mori et al 1999).

נמצא כי תאי העצב באפיתל הריח מסודרים כך שתאים המבטאים אותו סוג של מולקולת רצפטור ימצאו באזור מסוים באפיתל (סה"כ קיימים ארבעה אזורים כאלה בחולדה) (Kandel et al 2000), כך שלכל ריח אזור ייחודי לו, בעל רגישות לאותו ריח ("hot spot") (Kent et al 1995, Youngentob and Kent 1995, Youngentob et al 1995). כל אזור כולל סוגים שונים של תאי רצפטור. סדר זה של אזורי ריח נשמר גם כאשר המידע מועבר לאונת הריח (Kandel et al 2000). מיקום האזור הרגיש לריח מסוים זהה בכל החולדות שנבדקו (Youngentob et al 1995, Youngentob and Kent 1995), ואינו משתנה כאשר משנים את ריכוז הריח (Youngentob et al 1995). אולם, כאשר ריכוזו של ריח מסוים עולה מופעלים באותו אזור רצפטורים נוספים והמידע המעובר למוח משתנה (Kandel et al 2000).

בניסויי למידה שונים נמצא שלחולדה יכולת למידה מהירה לזיהוי ריחות. למשל, חולדות הראו יכולת למידה טובה בניסוי שבו הן נדרשו להתאים בין ריח שהוצג בפניהן בתחילת מבדוק T, לריח שהוצג בסופו (מתוך מבחר קבוע של 2 ריחות). החולדות למדו לבצע את המשימה תוך פחות מ- 80 הרצות (לאחר היכרות עם המבדוק) והראו כ- 90% הצלחה (Ravel et al 1994).

Darling & Slotnick (1994) מצאו כי חולדות לומדות במהירות להימנע מריחות שקושרו עם תגמול שלילי, כגון טעם רע של תמיסה, לאחר מספר קטן בלבד של מפגשים עם הריח. החולדות זכרו את הריח גם לאחר 53 יום שבהם הן לא נחשפו אליו, והגיבו בסלידה ממנו.

במחקרים שונים נבדקו ביצועי חולדות במשימות עם מספר ריחות במקביל ועם ריכוזים שונים של הריחות. Youngentob ועמיתיו (1990) בנו מודל שבעזרתו ניתן לאמן חולדות בוגרות לזיהוי סוגי ריח שונים. בעזרת מודל זה בדקו החוקרים את יכולת החולדות להבדיל בין 5 חומרי ריח שונים וכן בין ריכוזים שונים של הריחות. נבנה מתקן המורכב מאזור מרכזי ומ-6 זרועות. זרוע אחת שימשה ליצירת הגירוי (ריח) ושאר הזרועות (5) שימשו לתגובה. כל אחת מזרועות התגובה

הייתה שונה מרעותה בדגם שהואר על כפתור התגובה, בעוצמת התאורה ובסוג הציפוי של רצפת הזרוע. החולדות אומנו כך שהיה עליהן לזהות את סוג הריח שהוכנס ולהגיב על ידי לחיצה על הכפתור בזרוע המתאימה. לחיצה נכונה זיכתה את החולדה בתגמול. לאחר סיום שלב האימונים נבדקה יכולת זיהוי הריחות שהוצגו לחולדות בסדר אקראי. מתוצאות הניסוי הראשון, שבו נבדקה יכולתן להבדיל בין 5 ריחות שונים, ניתן היה להסיק כי החולדות זיהו את סוגי הריחות ברמה גבוהה של דיוק, מעל ל-90% ממשימות הזיהוי הסתיימו בזיהוי נכון. בניסוי השני, שבו הקטינו את ריכוז הריחות בכל שלב, נצפתה ירידה ביכולת להבדיל בין הריחות, אך החולדות עדיין שמרו על ביצועים טובים. הריכוזים הקריטיים שבהם התקשו החולדות להבחין בריח הנכון השתנו בין סוגי הריח השונים. רוב הטעויות שבוצעו בריכוזים אלה היו בין ריחות דומים (Youngentob et al 1990). מערכת זו אף שוכללה על ידי כך שהרחיבו את מגוון הריחות שאותם הייתה החולדה אמורה לזהות ל-10 חומרי ריח שונים. נבנה מתקן המורכב מאזור מרכזי ומ-11 זרועות. זרוע אחת שימשה ליצירת הגירוי (ריח) ושאר הזרועות (10) שימשו לתגובה. החולדה הבדילה בין 10 הריחות ברמה גבוהה של דיוק, על ידי בחירת זרוע התגובה הנכונה לכל ריח בכ-90% מהמקרים (Youngentob et al 1991).

Slotnick ועמיתיו (1991) אימנו חולדות להבדיל בין עשרות חומרי ריח שונים. האימון כלל 9 משימות, כשבכל משימה היה על החולדות ללמוד להבחין בין 8 ריחות שונים וחדשים. החולדות למדו את המשימות במהירות והראו שיפור ביכולת הלמידה ממשימה אחת לבאה. החולדות הראו גם יכולת זיכרון מעולה של הריחות הנלמדים לאחר 24 שעות. המסקנה שאליה הגיעו Slotnick ועמיתיו (1991) היא שיכולתה של החולדה לבצע משימות שבהן עליה ללמוד ריחות עולה בהרבה על יכולתה לבצע משימות שמבוססות על חוש הראייה או על הזיכרון המרחבי.

לסיכום, ניתן לומר כי חשיפה לריח יחד עם תגמול בתהליך שבו החולדה לומדת את הריח, גורם לשינויים במערכת העצבים שמעלים את רגישותה של מערכת חוש הריח לריחות הנלמדים (Youngentob & Kent 1995). אף כי מערכת העצבים של הבוגר היא פחות פלסטית מאשר של צעיר, לבוגר עדיין יש יכולת טובה ללמוד ריחות חדשים, כאשר השינויים מתרחשים בעיקר ברמות הגבוהות של המוח וכמעט לא באונות הריח עצמן, בניגוד ללמידת ריח בגיל צעיר (review in Wilson & Sullivan 1994).

האמצעים הקיימים היום לגילוי חנ"מ מבוססים על מיכשור טכני או על כלבים. המכשור הטכני הוא גם יקר מאוד וגם אינו בר הזזה ממקום למקום, כך שהמגבלה העיקרית הכרוכה בשימוש בו היא הצורך להביא את החפץ החשוד למכונת הגילוי עצמה. שיטה זו יעילה במידה מסויימת במקומות כמו שדות תעופה. הכלבים, להבדיל מהמכשור הטכני, מסוגלים להגיע לכל מקום, הן למקומות חשודים הנמצאים בתוך מבנים והן לכל נקודה בשטח פתוח. לאחרונה החלו להשתמש בחולדות לצורך איתור מוקשים אך עדיין יש לחשוב פעמיים על האפשרות של שימוש בחולדות לגילוי אמל"ח בשטחים פתוחים. לעומת זאת, ניתן לשנע חולדות ממקום למקום בהתאם לצרכים ייחודיים. לכן, אם אכן ניתן לאמן חולדות לגילוי חנ"מ, הרי שאפשר יהיה במידה מסויימת למלא באמצעותן את החוסר הקיים באמצעים לגילוי חנ"מ, וזאת עקב העלייה במספר המקומות שבהם יש חשש להכנסת חנ"מ (כמו מקומות ציבוריים מסוגים שונים, שדות תעופה, מבנים, קניונים ועוד).

מטרות המחקר

1. לפתח מכשור אשר יאפשר אימון מהיר, איכותי ויעיל של מספר חולדות בו זמנית לזיהוי והבחנה בין מספר סוגי ריחות.
2. לבדוק האם חולדות מסוגלות לזהות ריחות של שמנים ריחניים שונים ולהבחין בניהם תוך סימון ריח המטרה באמצעות אינדיקציה התנהגותית.

שיטות וחומרים

חיות

לצורך המחקר שימשו 11 חולדות נקבות מזן Sprague-Dawley, אשר נקנו מבית החיות בירושלים. יתרון של חולדות אלו הוא עמידותן למחלה הנגרמת על ידי *Pseudomonas*, התוקפת את אפיתל הריח. התוצאה מתבטאת בשיבוש יכולת ההרחה של החולדות ובכך נמנעת היכולת לבצע איתן ניסויים בהבחנת ריחות. החולדות ניקנו בגיל שישה שבועות, אומנו במשך כארבעה שבועות ושימשו בניסוי במשך שלושה חודשים.

החזקת החולדות

החולדות הוחזקו בחדר מיוחד באוניברסיטת תל אביב בגודל 3×3 מטרים במשטר תאורה של 12 שעות אור ו - 12 שעות חושך, מבוקר על ידי שעון שבת. החולדות הוחזקו בכלובי חולדות סטנדרטיים בגודל $33 \times 38 \times 14$ ס"מ, 3 חולדות בכל כלוב, על מצע של נסורת. מזון תוצרת פורינה ניתן לפי חישוב של כ - 20 גרם לחולדה ליום על מנת לשמור את החולדות במשקל קבוע.

חומרי ריח

במהלך הבדיקה נבחנה יכולת החולדות לזהות מספר סוגי שמנים ריחניים : שמן אניס, 10CC, "פיור אויל", תמר שיווק מוצרי בריאות בע"מ תמצית וניל, 10 CC, "פיור אויל", תמר שיווק מוצרי בריאות בע"מ שמן קינמון עלה, 10 CC, יצרן פרימוורה גרמניה, יבואן ארומה לייף בע"מ. הריחות הוצגו לחולדות בתוך קופסת ריח כאשר הם ספוגים בפיסת צמר גפן לפי מיהול של $100 \mu\text{l}$ שמן ב - 50 מ"ל מים. לאחר שהחולדות זיהו היטב את שמן האניס בריכוז הגבוה ($100 \mu\text{l}$ שמן ב - 50 מ"ל מים) הוקטן ריכוז האניס בהדרגה עד לריכוז של $12 \mu\text{l}$ שמן ב - 100 מ"ל מים. במהלך הבדיקה אומנו החולדות לזהות שמן אניס ("ריח חיובי") ולהבחין בינו לבין ריחות אחרים כגון שמן קינמון או שמן וניל ("ריח שלילי").

מערכת חילוף אוויר בחדר

בחדר בו התקיים המחקר הותקנה מערכת חילוף אוויר המוציאה את האוויר מהחדר ומכניסה במקומו אוויר נקי מבחוץ. מטרת מערכת זו היא למנוע הצטברות ריחות המשמשים לניסוי בחלל החדר. מערכת חילוף האוויר כוללת מזגן אוויר ומערכת ונטה שפעלו רצוף, 24 שעות ביממה.

מבנה המערכת

מערכת הניסוי מורכבת ממספר חלקים: מחשב, יחידת ממשק למערכת הבקרה, מערכת הבקרה, "תא סקינר", "קופסאות ריח" ורכיבים שונים (המורכבים על "תא הסקינר" (כלוב הניסוי) ובקופסאות הריח) (ראה איור 3).

מחשב – המחשב המשמש לניסוי היינו מחשב PC ביתי עליו מותקנת התוכנה Winline. תוכנה זאת של חברת Coulbourn Instruments, המשמשת לצורך ביצוע של ניסויים התנהגותיים בחולדות.

תכנת המחשב - התוכנה מאפשרת תכנון מלא של מהלך הניסוי, לאחר הפעלת הניסוי ועד סופו אין צורך במעקב או התערבות חיצונית. מבנה האימון כפי שמתוכנן בתוכנה בנוי משלבים, כשכל שלב מיוצג כטבלה הכוללת שני חלקים: החלק הראשון היינו לחצנים שתפקידם לקבוע האם רכיבים שונים יעבדו או לא במהלך ביצוע אותו השלב של הניסוי, ואילו החלק השני היינו טבלת התניות (כאשר שורה מייצגת כל אחד מרכבי החישה הקיימים במערכת). ניתן לתכנן בכל שלב ניסוי כיצד המערכת תגיב להתנהגויות שונות של החולדה. כמו כן ניתן לתכנן מתי על המערכת לעבור לשלב אחר בניסוי ולאיזה שלב (ניתן לעבור משלב אחד לשלבים שונים בהתאם להתנהגויות שונות של החולדה). לסיכום כל טבלה, מאופיינת כשלב בניסוי, כוללת הוראות למערכת אילו רכיבים להפעיל/לכבות וכיצד להגיב להתנהגויות שונות של החולדה באותו שלב.

במחשב מותקן כרטיס מסוג L18-16S/C משמש כממשק בין התוכנה המפעילה את מערכת הניסוי לבין מערכת הניסוי. הכרטיס מחובר בכבל נתונים ליחידת הממשק למערכת הבקרה. בשל השימוש בכמה תאי ניסוי, מחובר הכרטיס בכבל להעברת נתונים למפצל מסוג L18-16X המשמש לפיצול התקשורת מהמחשב ליח' הממשק השונות.

יחידת הממשק למערכת הבקרה – יחידה זאת משמשת לצורך ממשק בין המחשב (והתוכנה המפעילה את הניסוי) ובין מערכת הבקרה של מערכת הניסוי. לכל מערכת ניסוי ("תא סקינר" ומערכת הבקרה הצמודה לו), ישנה יחידת ממשק. היחידה היא מסוג L91 – 04S. בכדי לחבר בין יחידת הממשק ובין יחידת הבקרה נעשה שימוש בכבל נתונים מקבילי.

מערכת הבקרה – משמשת הן לצורך בקרה על פעולת הרכיבים השונים הקשורים בניסוי (ראה החלק העוסק ברכיבי מערכת הניסוי), והן בכדי לקלוט את תגובות החולדה במהלך הניסוי ושליחת המידע בחזרה אל המחשב. מערכת הבקרה מורכבת ממערכת אלקטרונית וכולל יציאות שונות המשמשות לחיבור הרכיבים השולטים בתנאי הניסוי ולחיבור רכיבים המשמשים לבדיקת התנהגות החולדה.

"תא סקינר" (כלוב הניסוי) – התאים אשר משמשים בניסוי הנם תאים מלבניים, כאשר חזית התא וגבו מורכבים מפלסטיק שקוף (המאפשר מעקב אחר החולדה במהלך הניסוי), שתי הדפנות האחרות וכן מכסה התא עשויים מתכת. את הדופן הקדמית ניתן לפתוח ולסגור לצורך הכנסת חולדה. אחת מהדפנות המתכת מורכבת משלוש מסילות מתכת עליהן ניתן להרכיב חלקי מתכת (לצורך איטום) או רכיבים שונים הדרושים לניסוי כגון מערכת הספקת המים ומאוורר. תחתית התא הינה תחתית כפולה המורכבת מתחתית מתכת (רצפת התא) וצינורות מתכת עגולים לרוחב התא, (המסודרים במקביל אחד לשני), לאורכו של התא ומחוברים בניהם בחוט מתכתי. החולדה עומדת על הצינורות. בין הצינורות לבין ריצפת התא ישנה מגירת פלסטיק נישלפת המשמשת לאיסוף ופינוי צואה ושתן. מידות תא הניסוי הן: גובה חיצוני (הגובה מרצפת המתכת לתקרת התא) – 32 ס"מ, גובה פנימי (הגובה מהרצפה הפנימית (צינורות המתכת), ועד לתקרת התא) – 30 ס"מ. רוחב התא 31 ס"מ. על התא מותקנים הרכיבים הבאים: מתקן לאספקת מים, צינור ריח, מערכות לבדיקת התנהגות החולדה ומאוורר.

צינור הריח – צינור העשוי מפלסטיק שקוף בקוטר 5 ס"מ. הוא ממוקם בתוך תא הסקינר, בצמוד לדופן הצדדית ותפקידו להעביר את הריח מקופסאות הריח אל מחוץ למערכת ולאפשר (באמצעות פתח) לחולדה לבחון את הריח העובר דרכו. הצינור כולל מספר פתחים (מלמטה למעלה): פתח כניסת הצינור המוביל

מקופסאות הריח לצינור הריח, פתח כניסת מערכת אספקת המים לחולדה, פתח הכנת ראש החולדה (ממוקם מול פתח כניסת מערכת אספקת המים) ופתח יציאת האוויר (בצמוד אליו ישנו מאוורר).

בתוך צינור הריח ממוקמת מערכת אשר תפקידה לבחון האם החולדה הכניסה את ראשה בכדי לבדוק את הריח העובר בצינור הריח. מערכת זאת מורכבת משני תאים פוטואלקטריים (מסוג E20-93A): תא אחד פולט קרן אור בלתי נראה (באורך גל של 940nm) והתא השני קולט את הקרן. על מנת שהמערכת תעבוד כראוי יש לשים את שני התאים הפוטואלקטריים אחד מול השני במדויק. לשם כך נבנתה מערכת "פיגומים" היושבת בתוך צינור הריח ומחזיקה את התאים הפוטואלקטריים אחד מול השני ללא יכולת לזוז. על מערכת "פיגומים" זאת מותקנים גם שתי רשתות מתכת ותעלות מתכת, אשר תפקידן למנוע מהחולדה להגיע אל התאים הפוטואלקטריים ואל חוטי החשמל העוברים בצינור הריח.

מערכת אספקת מים – תפקידה לספק מים (כחיזוק) לחולדה. כמו כן משמשת המערכת לסימון ע"י החולדה על המצאותו של ריח נלמד בצינור הריח. המערכת הינה מסוג E14-04, וכוללת שני חלקים: בקבוק מים (המכיל ליטר מים) ומערכת אספקת מים (המחוברת לבקבוק בצינור פלסטיק). מערכת אספקת המים מורכבת מפייה בצורת שוקת ומשסתום חשמלי (המבוקר ע"י מערכת הבקרה). כמות המים המסופקת לחולדה נקבעת ע"י הגדרת זמן פתיחת השסתום (נעשה בעת כתיבת פרוטוקול הניסוי במחשב), ומושפע מלחץ המים (כמות המים בבקבוק ומקום הבקבוק).

השסתום מחובר למערכת הבקרה באמצעות כבל חשמלי (6 פינים, 28V). מערכת אספקת המים כוללת גם מנורה (28V 40mA), הנשלטת ע"י מערכת הבקרה. למנורה זאת ישנו תפקיד בחלקים עתידיים של הניסוי.

מערכת סימון הימצאות ריח נלמד – כאשר החולדה "מחליטה" כי הריח העובר בצינור הריח הינו הריח אותו למדה עליה לסמן זאת. סימון זה נעשה באמצעות מערכת ה-H24-05. מערכת זאת מבוססת על סגירת מעגל חשמלי דרך החולדה. המערכת כוללת שני כבלים חשמליים. כבל אחד מחובר לתחתית המתכת של תא הסקינר (צינורות המתכת) ואילו הכבל השני מחובר למערכת אספקת המים.

כאשר החולדה "מחליטה" לסמן היא נוגעת בשוקת המים (מה שמביא לסגירת מעגל חשמלי) וכך מועבר איתות למערכת הבקרה (ומשם למחשב). ראה איור 4.

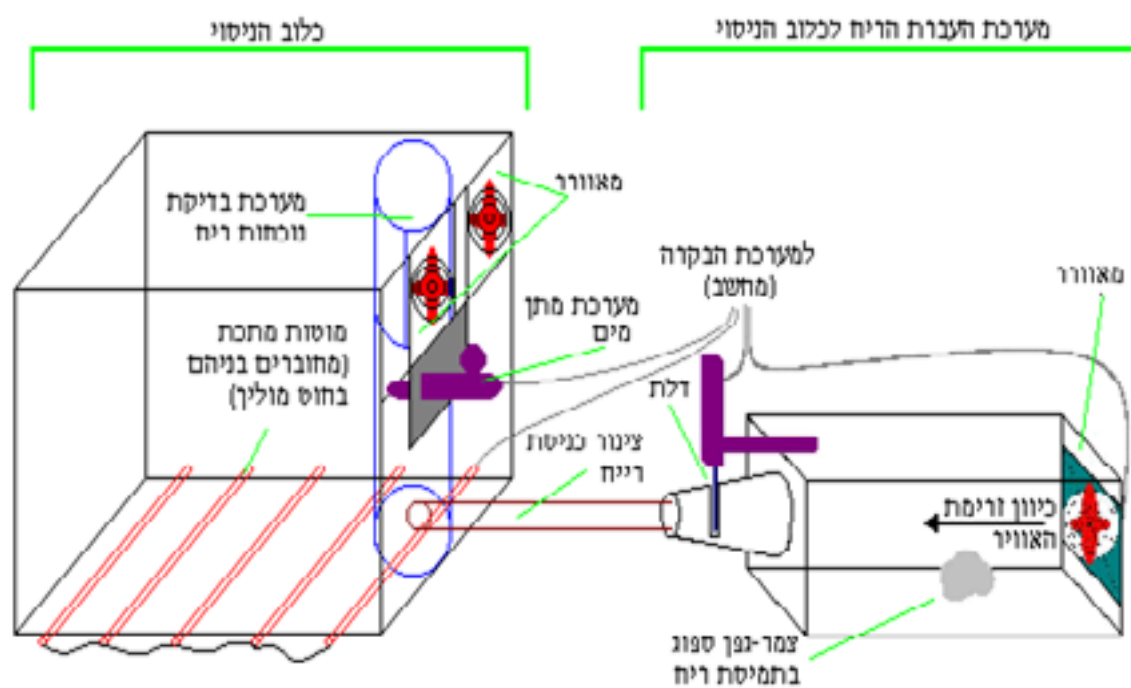
מאוררים – מערכת הניסוי כוללת מספר מאוררים משני סוגים:

E29-05 (המסופקים עם המערכת) - ממוקמים על דופן תא הסקינר בראש צינור הריח. תפקידם ליצור זרימת אוויר קבוע דרך צינור הריח. הם מופעלים ע"י מערכת הבקרה (לאורך כל הניסוי), ופועלים על 24VDC 0.08A. הסוג שני הנם מאוררים אשר פורקו ממחשבים ישנים ומקבלים את אספקת החשמל משנאים (240VAC ל-12VDC). הבקרה על פעולת מאוררים אלה נעשית ע"י מערכת הבקרה דרך ממסרים חשמליים (ויסות אספקת החשמל למאוררים). מאוררים אלא נמצאים על קופסת הריח ותפקידם להזרים אוויר מחוץ לקופסת הריח לתוך הקופסא לכיוון היציאה לצינור הריח.

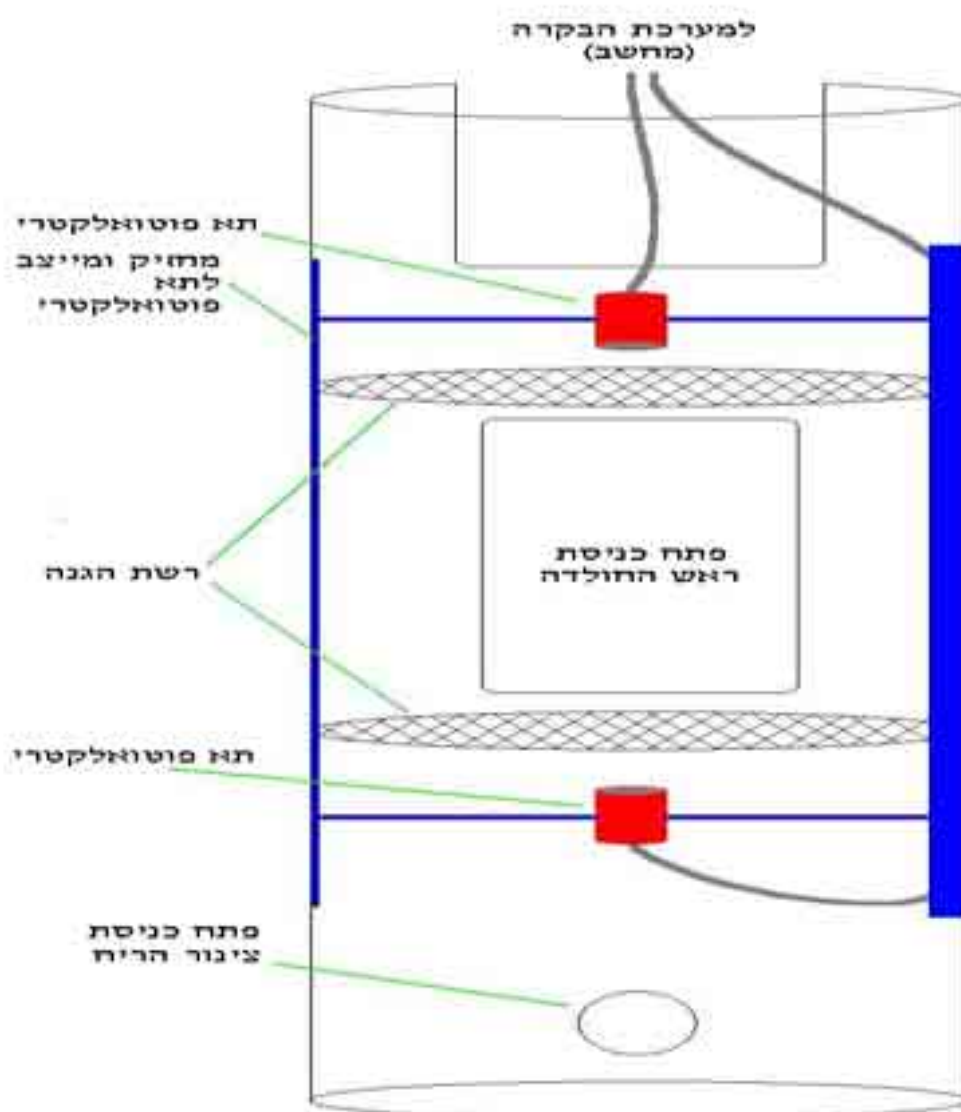
צינורות חיבור – הצינורות המחברים בין קופסאות הריח לבין צינור הריח הנם צינורות פלסטיק שקופים בקוטר פנימי של 1.5 ס"מ. החיבור בין שני הצינורות המגיעים מקופסאות הריח לצינור המחבר לצינור הריח נעשה ע"י מחבר פלסטיק בצורת Y.

קופסאות ריח – קופסת הריח עשויה מפלסטיק ומטרתה להכיל ריח "חיובי" או "שלילי" המשמש לצורך הניסוי. על הקופסאות מותקנים: קונוס פלסטיק, המשמש לתיאום בין הקופסא ובין הצינור דרכו עובר הריח מקופסת הריח אל צינור הריח, מאורר (ראה פירוט על מאוררים) ודלת חשמלית מסוג E10-20D, אשר נשלטת ע"י מערכת הבקרה דרך חיבור של 3 פיגים (28VDC) ותפקידה לוטת את יציאת הריח מקופסת הריח לכיוון צינור הריח.

איור 3 : מערכת חולדות - מראה כללי.



איור 4 - מערכת בדיקת נוכחות ריח



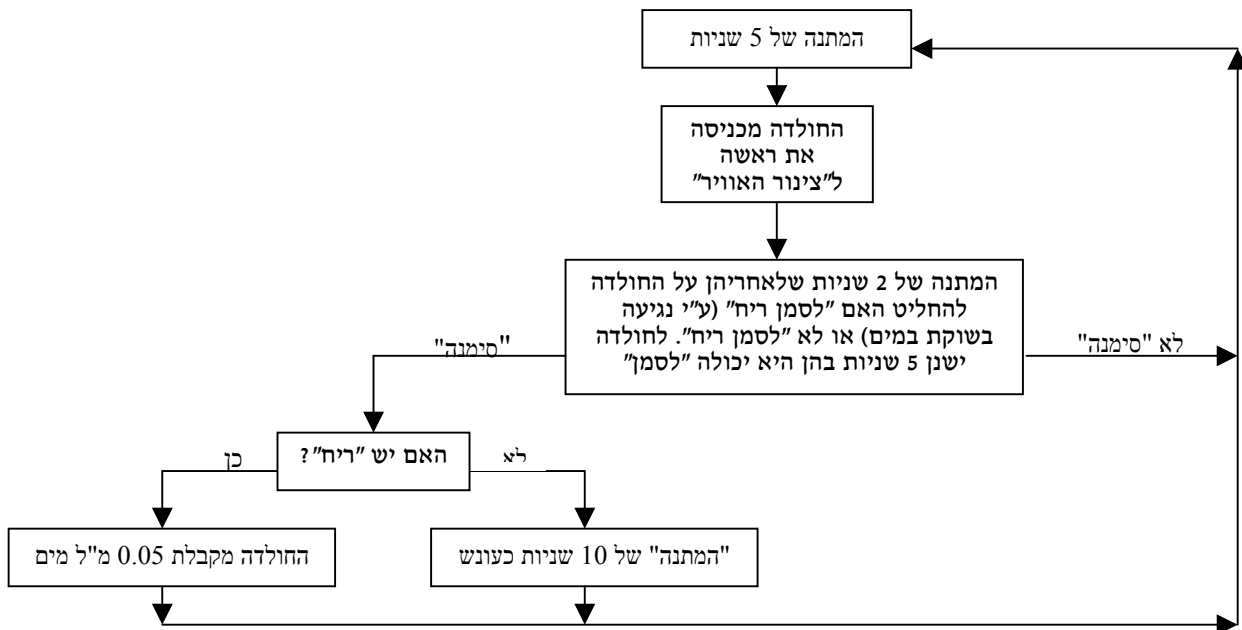
מהלך הניסוי

הניסוי מתחיל בהמתנה של 5 שניות. לאחר שלב זה נכנסת המערכת להמתנה עד אשר החולדה מכניסה את ראשה ל"צינור הריח". הכנסת הראש מזוהה ע"י התאים הפוטואלקטריים, המידע מועבר למחשב וכתוצאה מכך מזרימה המערכת ריח מאחת מקופסאות הריח אל צינור הריח. ישנם שני סוגי ריח: ריח "חיובי" (ריח אשר נלמד ע"י החולדה ועל סימון של נוכחותו היא מקבלת חיזוק), וריח "שלילי" (כל ריח אחר שאינו נלמד ע"י החולדה ועל סימון של נוכחותו היא מקבלת עונש בצורה של פסק זמן בניסוי למשך 15 שניות). הבחירה איזה ריח יועבר נקבעת באופן אקראי ע"י המחשב (הסתברות של 0.5 לכל אפשרות). העברת הריח מאחת מקופסאות הריח לעבר צינור הריח מתבצעת ע"י הפעלת המאוורר בקופסת הריח המתאימה והרמת הדלת החוסמת את היציאה. לאחר תחילת העברת הריח ישנה המתנה של 2 שניות בהן תגובות החולדה לא ישפיעו על המשך הניסוי. מטרת שלב זה היא לאפשר לריח להגיע לצינור הריח.

לאחר סיום שלב ההמתנה של 2 השניות מתחיל שלב בן 5 שניות, אשר במהלכו נמשכת הזרמת הריח לצינור הריח ובמהלכו על החולדה להחליט האם לסמן (ע"י נגיעה בשוקת המים) או שלא. במידה והחולדה לא סימנה במהלך חמש השניות, מופסקת הזרמת הריח (סגירת הדלת וכיבוי המאוורר). במידה והחולדה סימנה ישנן שתי אפשרויות: אם הריח שהוזרם היה הריח החיובי תופסק הזרמת הריח והחולדה תקבל 0.05 מ"ל מים (כחיזוק). אם הריח שהוזרם היה ריח שלילי תופסק הזרמת הריח והמערכת תעבור ל"פסק זמן" של 10 שניות (המעכב את המשך הניסוי ואת יכולתה של החולדה לקבל מים, ומהווה ענישה של החולדה). לאחר סיום אחת מאפשרויות שלב זה (אי סימון למשך 5 שניות או קבלת מים או "פסק זמן") חוזרת המערכת לשלב ההתחלה, המתנה של 5 שניות. שלב זה נועד לאפשר לחולדה לסיים לשתות את המים (במידה וקיבלה) ולהוציא את הראש מצינור הריח. בכדי להמשיך לשלב הבא על החולדה להוציא את ראשה מתוך צינור הריח (זאת על מנת שהמערכת תוכל לקלוט את הכנסת הראש ע"י התאים הפוטואלקטריים). בכל שלבי הניסוי פועל המאוורר הנמצא בראש צינור הריח וזאת בכדי להוציא מתוך צינור הריח שאריות של ריח. הניסוי מסתיים לאחר שמתקיים אחד מהתנאים הבאים (הראשון שמתרחש): החולדה מקבלת 10 מ"ל מים (200 חיזוקים) או שעוברת שעה וחצי מתחילת הניסוי (ראה איורים 5-1 וכן 5-2, תרשימי זרימה).

איור 5: תרשים זרימה.

5-1: מהלך הניסוי מבחינת החולדה

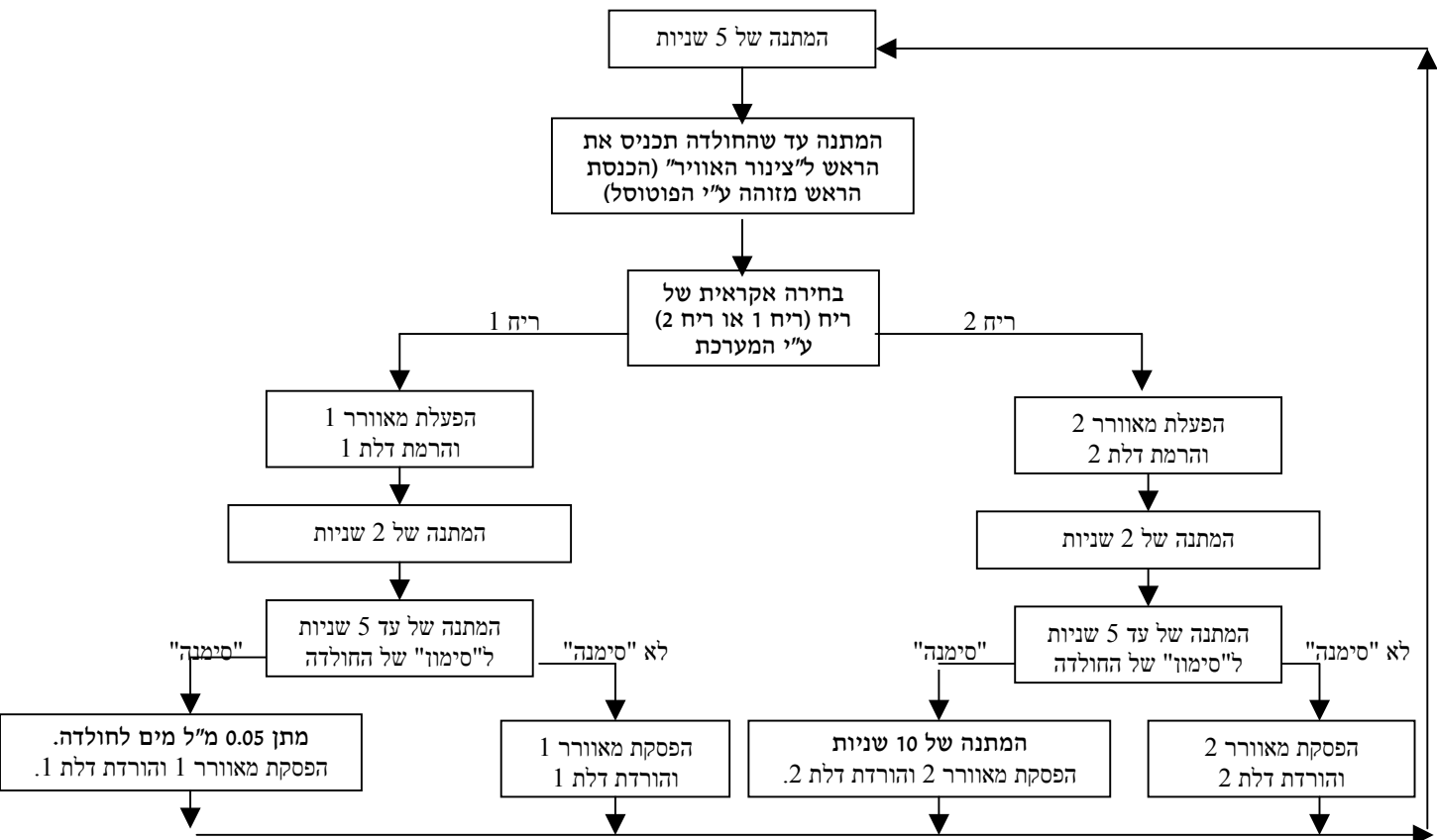


הניסוי מסתיים לאחר שהחולדה מקבלת 10 מ"ל מים (200 חיזוקים) או לאחר שעתיים.

"ריח" – הריח אותו למדה/לומדת החולדה לזהות.

הזמן העובר בין סיום ההמתנה של 5 שניות בהתחלת כל סיבוב ניסוי ועד הכנסת הראש ע"י החולדה ל"צינור האוויר" תלוי בחולדה ואינו קבוע.

איור 5-2 : מהלך הניסוי מבחינת המערכת



שלבי אימון חולדה :

1. הרגלה לסביבת המגורים (קופסת פלסטיק המכילה נסורת). שלב זה נמשך כשבוע מיום הגעת החולדה. בשלב זה מקבלת החולדה מים ומזון ללא הגבלה (אספקת המזון נשארת ללא הגבלה לאורך כל שלבי האימון).

2. א. הרגלה למגע יד – נעשה ע"י הנחת הידיים ליד החולדה (מאפשר לה להריח ולהכיר את ריח הידיים), החזקת החולדה ביד וליטופה.

ב. הרגלה לסביבת הניסוי – נעשה ע"י הנחת החולדה בתוך תא הניסוי (תא סקינר), למשך מספר דקות בכל יום.

ג. הורדת כמות המים המסופקת לחולדה. שלב זה מתבצע במספר שלבים יומיים (או דו יומיים): הורדת זמן אספקת המים, מאספקה חופשית לאספקה למשך 3 שעות ביום. יום או יומיים לאחר מכן הורדת זמן אספקת המים למשך שעתיים ביום, שעה ביום וחצי שעה ביום. בימים בהם לא מתקיים ניסוי מקבלות החולדות חצי שעה מים ביום. תהליכים אלה מבוצעים במקביל במשך שבוע.

3. הרגלה של החולדה לדרך קבלת המים במערכת הניסוי. הרגלה זאת נעשית בשני שלבים :

I. החולדה מוכנסת לתא הניסוי. כאשר החולדה מכניסה את ראשה לתוך צינור הריח (מזוהה ע"י התאים הפוטואלקטריים), היא מקבלת 0.05 מ"ל מים. שלב זה נועד בכדי ללמד את החולדה את מקור קבלת המים ולהרגילה לשתות ממתקן זה.

II. שלב זה זהה לשלב א מלבד שבשלב זה הכנסת הראש אינה מספקת לחולדה את כל כמות המים כמו בשלב א אלא רק שליש ממנו. שני השלישים הנותרים ניתנים לחולדה כתגובה ל"סימון" על ידה (באמצעות נגיעה בשוקת המים). מטרת שלב זה היא ללמד את החולדה כי עלייה לגעת בשוקת המים בכדי לקבל מים.

בשני שלבים אלה הכנסת הראש מביא להזרמת ריח "חיובי" לצינור הריח למשך 7 שניות. מטרת הזרמת הריח ה"חיובי" היא לחשוף את החולדה לריח זה ולהתחיל בהתניה של קבלת המים בריח ה"חיובי". במהלך שלב זה מופעלים ומכובים המאוורר והדלת החוסמת של קופסת הריח השלילי (בצורה אקראית), וזאת בכדי למנוע התניה של החולדה לרעשים אלה כסימן לריח.

4. לימוד הבחנה בין ריח חיובי לריח שלילי – שלב זה היינו השלב העיקרי של הלימוד והאימון. מהלך הניסוי בשלב זה היינו כפי שתואר בסעיף מהלך הניסוי, כאשר השלב מתחלק לתת שלבים כמפורט:

I. ריח "חיובי" (שמן אניס) לעומת "אין אוויר" – בשלב זה מחוברת למערכת הניסוי רק קופסת ריח אחת ואילו השנייה מחוברת למערכת הבקרה אך אינה מקושרת בצינור לצינור הריח. הקופסא המחוברת מכילה פיסת צמר גפן הספוגה ב- 1 מ"ל של שמן אניס מהול במים ($100\mu\text{l}$ שמן אניס ב- 50 מ"ל מים). מטרת שלב זה היא ללמד את החולדה לבדוק איזה ריח עובר בצינור הריח ובמידה והוא הריח ה"חיובי" – לסמן זאת (ע"י נגיעה בשוקת המים).

II. ריח "חיובי" לעומת אוויר – בשלב זה מחוברות למערכת הניסוי ולצינור הריח שתי הקופסאות כאשר אחת מכילה צמר גפן הספוג בשמן אניס מהול (כמתואר בשלב א), ואילו הקופסא השנייה אינה מכילה דבר. מטרת שלב זה היא ללמד את החולדה כי זרימת אוויר אינה סימן לקיומו של ריח "חיובי" ושעליה לבדוק את סוג הריח.

III. ריח "חיובי" לעומת ריח "שלילי" – בשלב זה מכילה הקופסא השניה פיסת צמר גפן הספוגה ב- 1 מ"ל של שמן קינמון מהול במים ($100\mu\text{l}$ שמן קינמון ב- 50 מ"ל מים). מטרת שלב זה היא לחזק את ההבחנה של החולדה בין הריח ה"חיובי" לבין ריחות אחרים. שלב זה חוזר על עצמו פעמיים עם שינוי הריח ה"שלילי" מקינמון לוניל (באותו ריכוז).

IV. הקטנת ריכוז הריח ה"חיובי" (אניס) – שלב זה זהה לשלב הקודם, מלבד הקטנת ריכוז האניס בחצי. שלב זה חוזר על עצמו מספר פעמים, כאשר בכל פעם קטן ריכוז האניס בחצי עד לריכוז של $12\mu\text{l}$ שמן אניס ב- 100 מ"ל מים.

V. החלפת האניס בחנ"מ – בשלושת הימים הראשונים של שלב זה מכניסים לקופסת הריח החיובי הן חנ"מ והן אניס. ביום הראשון ריכוז האניס היינו $12\mu\text{l}$ שמן אניס ב- 100 מ"ל מים. ריכוז זה יורד בשני הימים הבאים ל- $6\mu\text{l}$

ו- $3\mu\text{l}$ שמן אניס ב- 100 מ"ל מים (בהתאמה). מטרת שלב זה היא לעזור לחולדה לבצע את המעבר בין הריחות ה"חיוביים" השונים. החל מהיום הרביעי מוכנס לקופסת הריח ה"חיובי" חנ"מ בלבד. שלב זה כולל למעשה את כל השלבים הקודמים.

השימוש באניס בהתחלה נובע מתוך כך שלשמן האניס ריח חזק, מה שמקל על החולדה להבין את מטרת הניסוי. לאחרונה התחלנו לאמן חולדה חדשה ישר על ריח של חנ"מ ללא השלבים של האניס. מטרת ניסוי זה היא לבדוק האם ניתן להתחיל ישר עם ריח חנ"מ ללא צורך בשלב מקדים של אניס.

תוצאות

הניסוי החל עם 8 חולדות. לאחר מספר ניסויים, הוצאו 3 חולדות מהניסוי בשל אי התאמה לצרכי הניסוי (החולדות לא למדו להבחין בין הריחות ולסמן בהתאם או שהתוצאות היו לא עיקביות). 5 לרוב הוצאת חולדה מהניסוי מתבצעת כבר בשלבים הראשונים של הלימוד. חולדות אשר בתחילת הניסוי הראו למידה נכונה ויציבות בעבודה ממשיכות להראות יציבות בהמשך. היכולת להחליט כבר בשלב מוקדם, האם החולדה מתאימה לניסוי או לא, חוסך זמן אימונים רב ומאפשר להחליף את החולדה בחולדה חדשה. החולדות הנותרות המשיכו בניסוי בהתאם לשלבים המפורטים (עם אניס כריח "חיובי").

גרף מס' 1 מראה את תוצאות האימונים של חולדה אחת המייצגת בהתנהגותה את חמשת החולדות שנבדקו.

בגרף: Odor1 – אחוז הסימון של ריח "חיובי" מתוך כל הפעמים שהחולדה נחשפה לריח "חיובי" במהלך אותו ניסוי. Odor2 – אחוז הסימון של ריח "שלילי" מתוך כל הפעמים שהחולדה נחשפה לריח "שלילי" במהלך אותו ניסוי. כל ניסוי מיוצג בגרף כשתי נקודות: האחת על גרף ה-Odor1 והשנייה על גרף ה-Odor2. הגרפים המצורפים מעודכנים לרגע כתיבת הדו"ח וכוללים את כל השלבים אליהם הגיעו החולדות.

ניתן לראות כי בתקופה הראשונה החולדה סימנה בתדירות גבוהה גם ריח "חיובי" וגם ריח "שלילי", אולם במהלך הזמן, עם צבירת הניסיון והתקדמות בשלבי הניסוי, התקבלה יציבות הן בסימון "החיובי" התייצב בסביבות ה-90% - 100% והן בסימון "השלילי" התייצב בסביבות ה-10%.

במהלך ספטמבר, כאשר חמשת החולדות היו לקראת סיום שלבי האימון עם אניס כריח "חיובי", הוחל לעבוד עם 3 חולדות חדשות. החולדות החדשות חולקו לשתי קבוצות: הקבוצה הראשונה, שכללה 2 חולדות, החלה את שלבי הלימוד כמו החולדות "הותיקות" (אניס כריח "חיובי"), ואילו החולדה השלישית "דילגה" על השלב הראשון (אניס כריח "חיובי"), והחלה ישר עם חנ"מ כריח "חיובי".

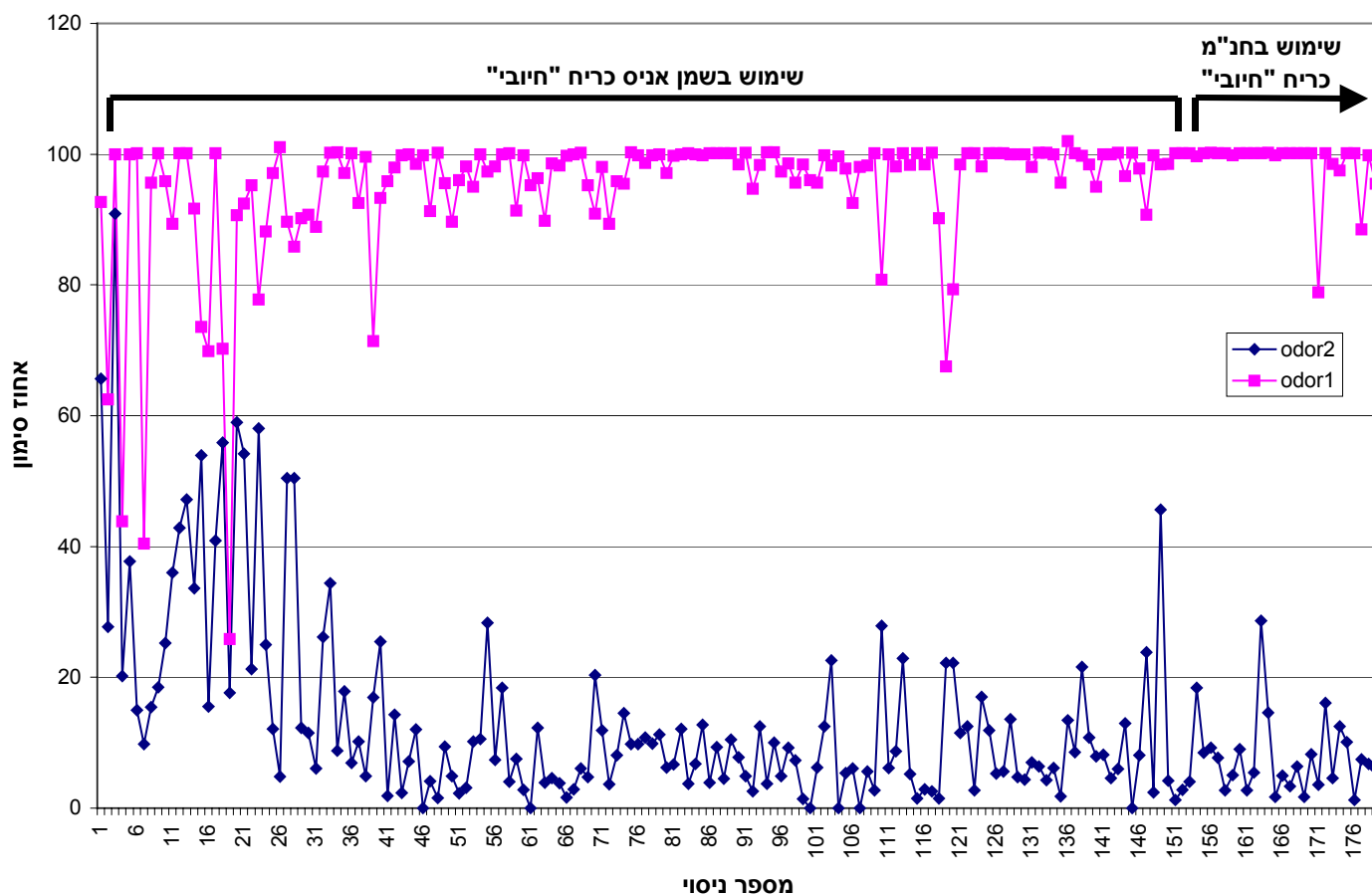
לאחר מספר אימונים התקבלו תוצאות אשר הראו כי החולדה אשר החלה לעבוד ישר על חנ"מ כריח "חיובי", הראתה תוצאות טובות מאוד (גרף מס' 2), ואילו שתי החולדות האחרות הראו תוצאות "בינוניות" (גרף מס' 3).

לאור נתונים אלה הוחלט להפסיק את העבודה עם שתי חולדות אלה חמשך מספר ימים ואז לעבור איתן ישר לעבודה עם חנ"מ כריח "חיובי", ללא שלב מעבר (עם

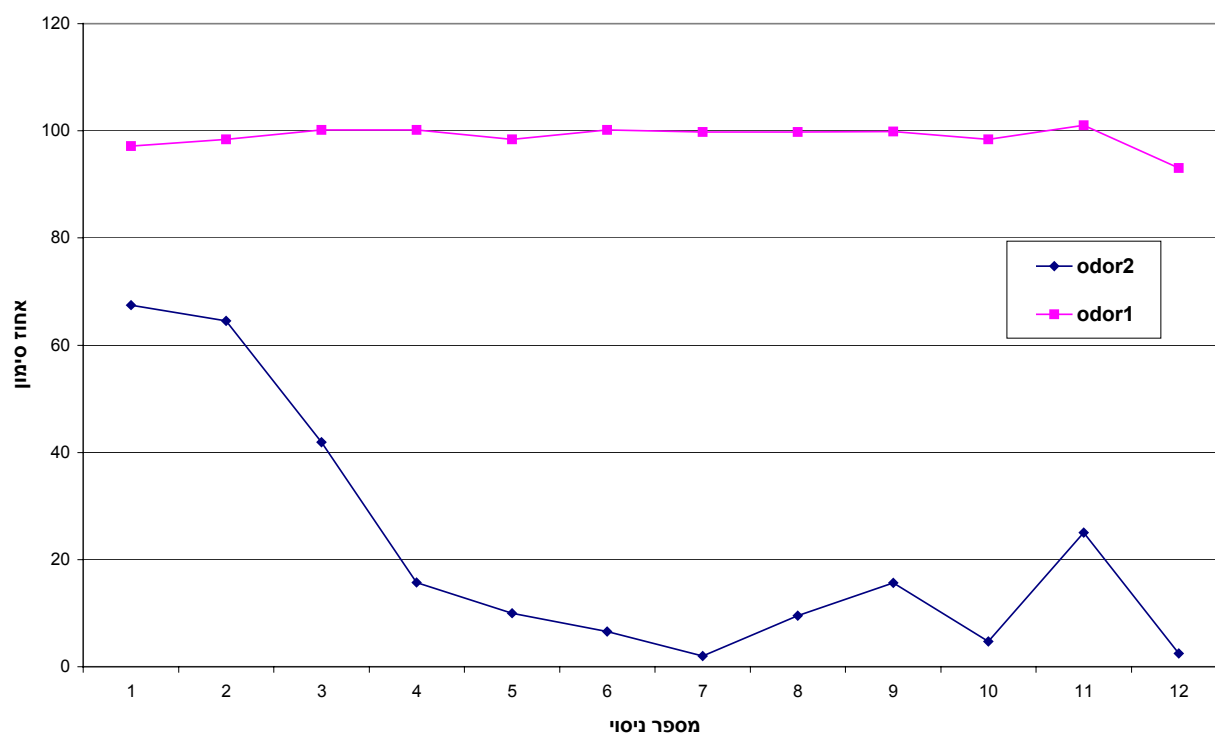
אניס, ראה שלב 4 בשלבי האימון). לאחר מספר ימים נבחנו התוצאות שוב וכפי שניתן לראות בגרף התוצאות השתפרו מאוד.

המעבר לעבודה ישר עם חנ"מ ללא שלב האניס, ביחד עם שיפור תפקוד המערכת ופתרון בעיות טכניות שהיו קימות, קיצר מאוד את משך אימון החולדה. תוך חודש עד חודש וחצי לאחר התחלת האימון שלהן "הדביקו" החולדות החדשות את הפער והגיעו לאותו שלב כמו החולדות "הותיקות".

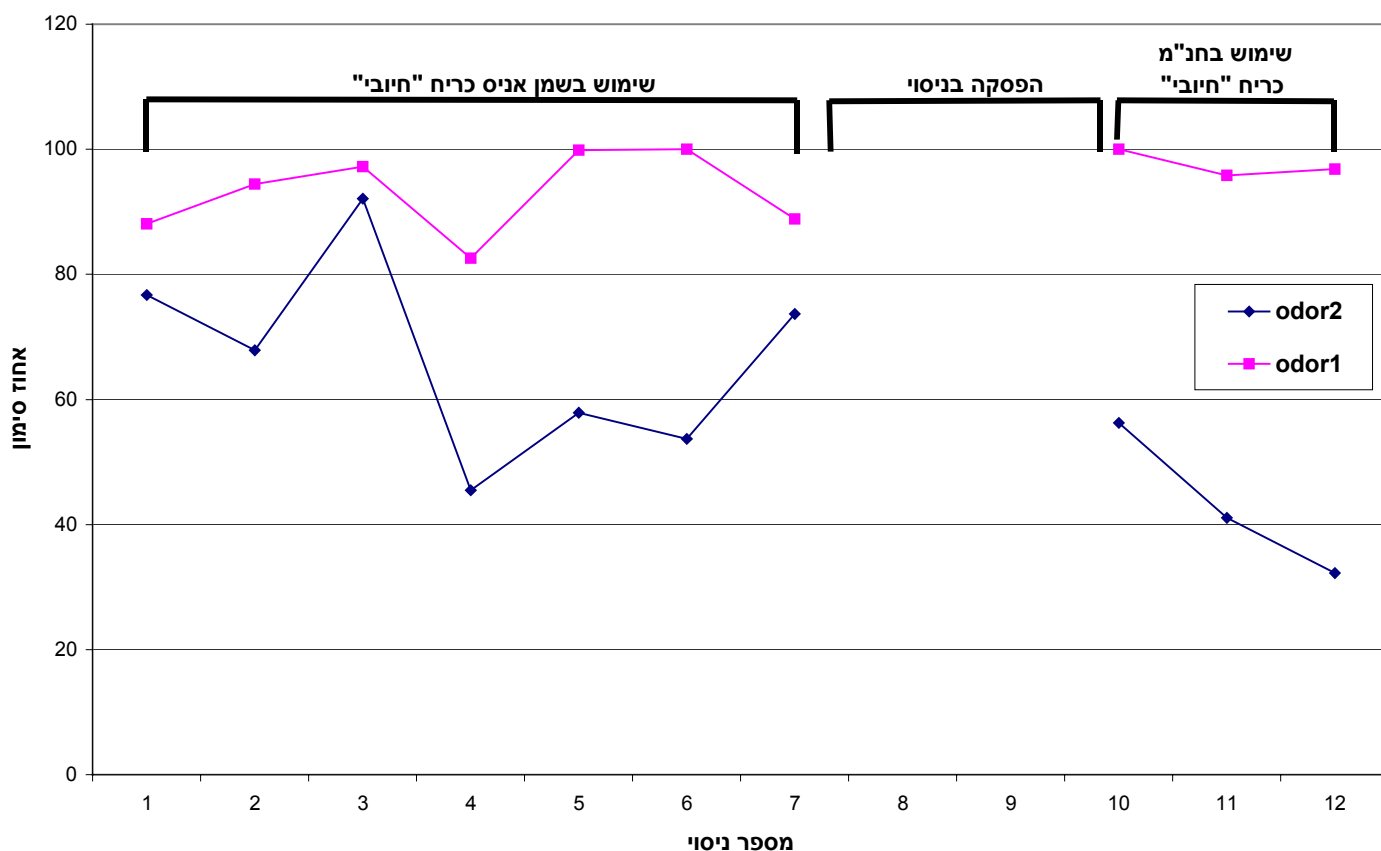
כיום כל 8 החולדות המצויות בניסוי נמצאות בשלב זה של חנ"מ מול שני ריחות שליליים. ובימים הקרובים יחלו שלב חדש בו יהיה אליהן ללמוד מתי עליהן לבדוק (שימוש בסימן אור ע"י המנורה הנמצאת מעל לשוקת המים).



גרף 1. התוצאות של אחת החולדות (המייצגת את הקבוצה של 5 החולדות אשר התחילו את הניסוי עם שמן אניס כריח חיובי), במהלך האימונים. ניתן לראות כי בתקופה הראשונה החולדה סימנה בתדירות גבוהה גם ריח חיובי וגם ריח שלילי, אולם במהלך הזמן, עם צבירת הניסיון והתקדמות בשלבי הניסוי, התקבלה יציבות הן בסימון החיובי התייצב בסביבות ה- 90% - 100% והן בסימון השלילי התייצב בסביבות ה- 10%.



גרף 2. התוצאות אותן השיגה במהלך האימונים החולדה אשר החלה את הניסוי עם חנ"מ כריח "חיובי". ניתן לראות כי במהלך שני האימונים הראשונים החולדה סימנה בתדירות גבוהה גם ריח "חיובי" וגם ריח "שלילי". החל מהאימון השלישי חלה ירידה חדה (מאימון לאימון) במספר הסימונים של ריח "שלילי" עד להתיצבות ברמה נמוכה.



גרף 3. התוצאות של אחת החולדות (המייצגת את הקבוצה של 2 החולדות אשר הגיעו במהלך ספטמבר והתחילו את הניסוי עם שמן אניס כריח "חיובי"), במהלך האימונים. ניתן לראות כי בתקופה הראשונה החולדה סימנה בתדירות גבוהה גם ריח "חיובי" וגם ריח "שלילי". לאור נתונים אילו ולאור התוצאות אשר התקבלו אצל החולדה אשר החלה לעבוד ישירות על חנ"מ (גרף מס 2), הוחלט לעשות עם חולדות אליו הפסקה למשך מספר ימים ואז להתחיל איתן שוב מהתחלה אלא שהפעם עם חנ"מ כריח "חיובי".

דיון ומסקנות

מהספרות ידוע שחולדות מסוגלות להבחין בין ריחות שונים (e.g. Slotnick et al., 1991) כאשר מרבית המחקרים בחנו את יכולתן הטבעית של החולדות כפי שהתפתחה במהלך חייהן. עד כה לא הייתה קיימת מערכת שבעזרתה ניתן לאמן את החולדות להבחנה בין ריחות ולבצע ניסויים מבוקרים. הבעיה העיקרית בבדיקות הבחנה היא לקבל מערכת אמינה. בעלי חיים אינם עובדים כמו מכונות, ובימים שונים הם עשויים להגיב באופן שונה. עקב כך, על המערכת שבה נבחנות החולדות להיות מדויקת דיה על מנת לנטרל, עד כמה שניתן, את ההבדלים בביצועי החולדות בימים השונים.

ההתגברות על בעיה זו נעשתה באמצעות מערכת, שבה החולדה צריכה להגיב מספר רב של פעמים לגירוי מסוים. ככל שמספר החזרות שהחולדה מבצעת גדול יותר, כך ההסתברות לאמינות גבוהה יותר. עד כה, ברוב הבדיקות להבחנה בבעלי חיים, השתמשו החוקרים בתגמול על בסיס מזון. חיות הניסוי הורעבו, ובזמן הניסוי קיבלו פתיתי מזון כתגמול על ביצוע המטלה. בשיטה זו החולדה מגיעה לשובע לאחר מספר קטן יחסית של חזרות, וכתוצאה מכך מצטמצמות החזרות בכל סט ניסויים, ולכן הלמידה איטית ואמינות הבדיקה נמוכה. על מנת להגדיל את מספר החזרות, עברנו, במערכת הנוכחית, לתגמול של מים. ב-12 השעות שקדמו לניסוי נמנעו מהחולדות מי שתייה, ובמהלך הניסוי, כאשר החולדות ביצעו בחירה נכונה, הן תוגמלו על ידי כמות זעירה של מים. מתברר, שכאשר התגמול ניתן כמים, חיית הניסוי מבצעת מספר רב יותר של חזרות, וכתוצאה מכך עולה האמינות של התוצאות. מכל זה ניתן להסיק שאכן נכון להשתמש במים כתגמול במקום בפיתיתי מזון.

בשלב זה, התוצאות שהתקבלו עד כה אכן מאשרות שחולדות מסוגלות להבחין בין ריחות שונים, כפי שנאמר לעיל. כעת יש בידינו מערכת אמינה להמשך המחקר, דבר שלא היה בנמצא קודם לכן. החולדות בניסוי הגיעו עד לרמת דיוק של כ-95% זיהוי נכון של הריח, לעומת אחוז שגיאה נמוך של 5%, כאשר החולדות אינן מגיבות לאוויר ללא ריח ומגיבות בסימון לאוויר עם הריח הנלמד (ראה גרף 1).

ראוי לציין שבבדיקות של הבחנה בין ריחות שונים וזיהוי ריחות ספציפיים יש להקפיד וללמד את החולדות לזהות את הריח בהדרגה – שלב אחר שלב. בשלב הראשון החולדה למדה להבחין בריח (בניסוי זה השתמשנו בריח אניס, אך אפשר להשתמש בכל ריח אחר) המוזרם אליה דרך צינור שמגיע ממקור ריח שמועבר על

ידי דחיסת אוויר. הביקורת בשלב זה היא שמהצינור השני כלל לא מוזרם אוויר. הגורמים המשתנים בשלב זה הם אוויר בתוספת ריח לעומת חוסר ריח ואוויר. כך קל יותר לחולדה ללמוד את הגירוי הנכון, מכיוון שההבדל בין שני המצבים הוא גדול. תרגול זה נמשך כ - 20 יום. ניתן לראות (בגרף 1, עד ניסוי 22) שבשלב זה, הקפיצות בדיוק הבחירה שמבצעת החולדה עדיין רבות, והחולדות מדייקות יותר ביום אחד ושוגות יותר ביום אחר.

לקראת סוף שלב זה של הניסוי החולדות מראות יציבות יחסית בבחירה הנכונה. כעת ניתן להכניס גורם נוסף - הזרמת אוויר ללא ריח. בשלב זה יש רק משתנה אחד – הריח. בשני המקרים (ניסוי וביקורת) מוזרם אוויר, כך שהחולדה חייבת להתרכז באיכות האוויר המוזרם, ולאחר באיזה מקרה האוויר נושא את הריח שעליה לזהות. בסיום שלב זה, שנמשך גם הוא כ - 20 יום, החולדות מגיעות לרמת זיהוי גבוהה, המגיעה לכ - 100%.

מסקנת ביניים היא שיש ללמד הכרת ריח בשלבים ובהדרגה. פיתוח המערכת לקח זמן רב, מכיוון שהבעיות הטכניות היו רבות. לא ניתן היה להעתיק מערכת זו מהספרות המקצועית או לקנותה מוכנה מחברה מסחרית. פרט לחלקים ספציפיים כמו תאי אור, מעגלים מודפסים, מאווררים, צינורות ואלמנטים אחרים שנרכשו בחנויות אלקטרוניקה ובחנויות אחרות, כל התכנון וההרכבה עצמה הן תוצרת בית. כתוצאה מכך, גם השינויים שנעשו במשך הבדיקות וההרצות הראשונות היו רבים.

בשלב זה יש להמשיך ולבדוק, באותה מערכת ולפי אותה שיטה, את יכולת החולדות לזהות חומרי נפץ שונים (תקינים ומאולתרים), וכן את רמת רגישות החולדות לכמויות קטנות.

סיכום המסקנות

1. כפי שכבר ידוע מהספרות המקצועית, ואושש בניסוי זה, החולדות מסוגלות להבחין בין סוגי ריחות שונים.
2. ניתן לאמן חולדות לסמן ריח רצוי מבין מספר ריחות אפשריים באמצעות אינדיקציה התנהגותית (הכנסת הראש לצינור בו מופיע הריח הרצוי).
3. שימוש במי שתיה כתגמול המשמש לצורך עיצוב התנהגות רצויה מאפשר ביצוע חזרות רבות בפרק זמן קצר ובכך מגביר את אמינות התוצאה.
4. הכשרת החולדה צריכה להתבצע בהדרגה. יש להתקדם בשלבי האימון רק לאחר שהחולדה הגיעה לקריטריון שנקבע לכל שלב. הקריטריון הרצוי יקבע

על ידי החוקר/מאמן בהתאם לדרישות ולמאפיינים הספציפיים של כל מחקר.

5. בבדיקת ייתכנות זו פותח אב טיפוס של מערכת אוטומטית המאפשרת לאמן חולדות לזהות ולהבחין בין מספר סוגי ריחות. המערכת מאפשרת אימון יעיל, מהיר ואמין של מספר חולדות בו זמנית.

המלצות: השלכות לגבי פעילות המשרד לביטחון פנים

המערכת המתוארת בדוח זה משמשת להכשרת החולדות ולשמירה על כשירותן לכל אורך תקופת פעילותן המבצעית. מערכת מסוג זה תוצב במספר בסיסים מרכזיים ברחבי הארץ בהם יוחזקו החולדות, יערכו אימוני החולדות ויבוצעו אימונים שוטפים לצורך שמירה על כשירותן. מתוך בסיסים אלו יצאו החולדות לפעילות המבצעית הנדרשת בחלקי הארץ השונים, ואליהם יחזרו בתום הפעילות. לצורך יציאת החולדות לפעילות יש לפתח מערכת נשיאה ותפעול פשוטה אשר תאפשר העברת החולדה מהבסיס לאזור הפעילות ותפעול החולדה בשטח. המערכת צריכה להיות פשוטה לתפעול, עמידה לטילטולים וחבטות קלות, קלה ל"ניקוי ריח" - כך שניתן יהיה להעביר דגימות אוויר בזו אחר זו ללא זיהום ריח בין דגימה לדגימה, ונוחה לתפעול במתארי פעולה שונים (בדיקת חפצים כגון מזוודות, בדיקת אנשים, עבודה בשטח פתוח או בתוך ביניין). המערכת צריכה לכלול ארגז נשיאה ובו דוושה אשר עם לחיצתה (על ידי החולדה) נדלקת נורה אדומה בגג הארגז או על גבי צג נישא אשר יוחזק בידי המפעיל. צינור אוויר יזרים אוויר ובו ריח הנדגם מהאביזרים השונים אשר על החולדה לבדוק. דגימת הריח תתבצע באמצעות השבת אוויר על גבי האובייקט אשר ינותב בסופו לתוך צינור האוויר המסתיים בכלוב החולדה. מערכת תגמול אוטומטית תתגמל את החולדה על כל סימון נכון.

למרות שדרגת האמינות של החולדות בזיהוי ריחות הוכחה כגבוהה, עדיין רצוי שבכניסה למקום ציבורי יוצבו יותר ממערכת אחת, כך שיותר מחולדה אחת תבדוק את הנכנסים למקום. דבר זה יעלה את אמינות הבדיקה. השימוש במערכת במקומות ציבוריים יוכל להתבצע רק לאחר סדרת בדיקות נוספות.

מחקר המשך

בשלב זה פותחה מערכת ייחודית המאפשרת אימון אוטומטי, מהיר ויעיל של החולדות לזיהוי ריחות שונים. לצורך השלמת פרוייקט זה יש עדיין לפתח את מערכת הנשיאה וההפעלה בשטח וכן את מערכת התגמול האוטומטי. כמו כן יש לבצע סדרת בדיקות נוספות לצורך השלמת האינפורמציה הנחוצה על מנת לתפעל את המערכת ביעילות, שאלות לדוגמא:

1. מה משך ההכשרה המינימלי הנחוץ לצורך אימון החולדות עד הגיען לרמת זיהוי גבוהה וללא סימוני סרק של ריח "שלילי" שאינו ריח המטרה?
2. מה מספר החולדות המקסימלי שניתן לאמן בו זמנית מבלי להאריך את משך ההכשרה או לפגוע ביעילותה?
3. כמה ריחות שונים יכולה החולדה להכיר ולזהות מבלי שתיפגע רמת הזיהוי.
4. כמה שעות ברציפות יכולה החולדה לתפקד? ולאורך כמה שנים?
5. כמה חולדות נחוצות על מנת לקבל תוצאה אמינה שאינה מושפעת מהבדלי התנהגות ותפקוד בין חולדות?
6. כמה סוגי חנ"מ יכולה החולדה לזהות?
7. מה הוא ריכוז החנ"מ המינימלי הניתן לגילוי על ידי החולדות? יש לבחון לגבי כל סוגי החנ"מ עליהם מאמנים את החולדה.
8. הא קיים ריכוז ריח מקסימלי שמעליו יכולת החולדה לאתר ריח חנ"מ נפגעת? האם ריכוז זה משתנה במידה משמעותית בין חומרי נפץ שונים?
9. מה הוא משטר ההכשרה וההפעלה האופטימלי של החולדות במערכת זו?

1. Amiri L., Dark T., Noce K.M. and Kirstein C.L. 1998. Odor preference in neonatal and weanling rats. *Dev. Psychobiol.* 33: 157-162.
2. Boorman G.A., Morgan K.T. and Uriah L.C. 1990. Nose, larynx, and trachea. In "Pathology of the Fischer rat, reference and atlas". (Boorman G.A., Eustis S.L., Elwell M.R., Montgomery C.A. and MacKenzie W.F., ed) Academic Press. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo and Toronto.
3. Brunjes P.C. and Frazier L.L. 1986. Maturation and plasticity in the olfactory system of vertebrates. *Brain Res. Rev.* 11: 1-45.
4. Darling F.M.C. and Slotnick B.M. 1994. Odor-cued taste avoidance: a simple and efficient method for assessing olfactory detection, discrimination and memory in the rat. *Physiol. Behav.* 55: 817-822.
5. Kandel E.R., Schwartz J.H. and Jessell T.M. (ed). 2000 (fourth edition). Principles of neural science. McGraw-Hill Companies. U.S.A.
6. Keverne E.B. 1995. Olfactory learning. *Curr. Opin. Neurobiol.* 5: 482-448.
7. Morgan K.T., Monticello T.M., Fleishman A. and Patra A.L. 1989. Preparation of rat nasal airway casts and their application to studies of nasal airflow. In "Extrapolation of dosimetric relationships for inhaled particles and gases". (Crapo J.D., ed.). Academic Press. San Diego, California.
8. Mori K., Nagao H. and Yoshihara Y. 1999. The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science.* 286: 711-715.
9. Ravel N., Elaagouby A. and Gervais R. 1994. Scopolamine injection into the olfactory bulb impairs short-term olfactory memory in rats. *Behav. Neurosci.* 108: 317-324.
10. Romer A.S. and Parsons T.S. The vertebrate body. Sixth edition. 1986. Saunders College Publishing. Philadelphia, New York, Chicago, San

Francisco, Montreal, Toronto, London, Sydney, Tokyo, Mexico city, Rio de Janeiro and Madrid.

11. Slotnick B.M., Kufera A and Silberberg A.M. 1991. Olfactory learning and odor memory in the rat. *Physiol. Behav.* 50: 555-561.
12. Wilson D.A. and Sullivan R.M. 1994. Neurobiology of associative learning in the neonate: early olfactory learning. *Behav. Neural Biol.* 61: 1-18.
13. Youngentob S.L. and Kent P.F. 1995. Enhancement of odorant-induced mucosal activity patterns in rats trained on odorant identification task. *Brain Res.* 670: 82-88.
14. Youngentob S.L., Kent P.F., Sheeche P.R., Schwob J.E. and Tzoumaka E. 1995. Mucosal inherent activity patterns in the rat: evidence from voltage-sensitive dyes. *J. Neurophysiol.* 73: 387-398.
15. Youngentob S.L., Markert L.M., Hill T.W., Matyas E.P. and Mozell M.M. 1991. Odorant identification in rats: an update. *Physiol. Behav.* 49: 1293-1296.
16. Youngentob S.L., Markert L.M., Mozell M.M. and Hornung D.E. 1990. A method for establishing a five-odorant identification confusion matrix task in rats. *Physiol. Behav.* 47: 1053-1059.